



**Universitat de les
Illes Balears**

Facultat de Ciències

Memòria del Treball de Fi de Grau

Evaluación de caracteres relacionados con la Eficiencia en el uso del agua para la identificación de genotipos de alta eficiencia en vid

Andreu Mairata Pons

Grau de Biologia

Any acadèmic 2017-18

Treball tutelat per Hipólito Medrano Gil
Departament de Biologia

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

EUA (eficiencia en el uso del agua), viña, transpiración, conductancia estomática, genotipo, evo transpiración, tratamiento, medioambiente, clon

Índice

Introducción	4
Material y métodos	6
Localización y parámetros climáticos	6
Material vegetal y tratamientos	6
Intercambio de gases	7
Medidas de crecimiento y biomasa	7
Análisis estadístico	8
Resultados	8
Crecimiento y ganancia de biomasa	8
Intercambio de gases	10
Discusión	12
Bibliografía	13

Introducción

La agricultura constituye el 80-90% del gasto de agua a nivel global (Morison et al., 2008). Con el constante crecimiento de la población humana y con una menor disponibilidad de agua, a causa del cambio climático y la contaminación, se predice que la demanda de agua va a seguir aumentando en el futuro (Sheffield et al., 2008). El cultivo de viña se localiza principalmente en zonas semi-áridas (Medrano et al., 2015a; Flexas et al., 2010). El ciclo de estas plantas necesita un elevado aporte de agua que provoca una situación de gasto económico y de recursos naturales. Este hecho sumado a la alta demanda de esta en la temporada seca del año, y a la limitada disponibilidad en según qué regiones acentúan y dificultan la práctica de la viticultura (Hannah et al., 2013; Zarrouk et al., 2016).

España es el país con mayor superficie dedicada a la viña en el mundo (OIV, 2017a). Este cultivo representa el 5.6% del total del área cultivada en el país. En los últimos años, el terreno cultivado ha ido decreciendo de 1,316,281 ha en 1990 a 1,128,735 ha en 2005, 957,573 ha en 2013 y 966,962 ha en 2017 (MAGRAMA, 2017). Alrededor del 60% de esta área está dedicada a viñedo denominado VCPD (Vino de Calidad Producido en una Región Determinada) (MAGRAMA, 2012). En 2017, España fue el tercer país con más producción de vino, seguido de Italia y Francia, con 33,5 millones de hectolitros (OIV, 2017b).

Hay una gran variedad de vid en España: en 2009 había 127 variedades cultivadas, de las cuales 65 eran variedades locales con una extensión de cultivo no mayor a 500 ha. Las variedades más utilizadas son Airén, Tempranillo y Bobal que representan el 52% del total de la superficie. Las principales variedades han disminuido la superficie cultivada. Por ejemplo, Airén (que continúa siendo la variedad más cultivada en España) ha reducido en 200,000 ha desde 1990 a 2009. En cambio, la variedad de Tempranillo ha quintuplicado sus hectáreas de cultivo en los mismos años (Cabello et al. 2012).

A diferencia de otras especies, la viña (*Vitis vinifera* L.) generalmente se cultiva en condiciones sub-óptimas para mejorar su calidad. El estrés hídrico moderado reduce la tasa de crecimiento, reduciendo el sumidero de carbohidratos e indirectamente mejorar la calidad de la uva (Smarter et al., 1990; Chaves et al., 2007). Un estrés hídrico moderado temprano y tarde en el desarrollo del fruto produce un incremento de azúcares y antocianinas a la uva (Matthews et al., 1990), y consecuentemente un aumento en la calidad de la uva principalmente debido a la reducción del tamaño del fruto. Estas características son muy importantes en el mundo de la enología, especialmente para los vinos tintos (Gérard, 1983; Kounduras et al., 1999). Bajo este punto de vista resulta interesante buscar genotipos que rindan bien en ambientes de sequía moderada.

La deficiencia del agua es el factor limitante en la producción y calidad de vino (Chaves et al., 2007). Los actuales datos y futuras predicciones señalan la importante necesidad de mejorar la eficiencia en el uso del agua (EUA) para llevar una práctica de la viticultura sostenible. Se ha demostrado que el déficit de agua sirve para optimizar el turgor excesivo de la planta, mejorando la EUA y la calidad del fruto (Flexas et al., 2010; Tomás et al., 2012; Medrano et al., 2015b). El concepto de EUA hace referencia al balance entre la ganancia de biomasa y los costes en la pérdida de agua. El balance se puede medir en diferentes niveles desde el flujo instantáneo de CO₂ y el vapor de agua en la hoja, la

producción de biomasa por litro consumido, o la producción de cosecha por litro consumido (Pou et al., 2011).

En la hoja, la cantidad de CO₂ asimilado (A_N), la transpiración (E) y la conductancia estomática en vapor de agua (g_s) determinan la EUA. Se utilizan dos relaciones para determinar la eficiencia en uso del agua: la instantánea (A_N/E , EUA_{inst}) y la intrínseca (A_N/g_s , EUA_i) (Fisher and Turner, 1978). En este nivel, se puede medir la EUA de la planta, pero siempre en un intervalo de tiempo muy corto. Las comparaciones con los datos de la planta entera mostraron ser significativas a veces, pero pobre en otros experimentos (Medrano et al., 2015a; Tomás et al., 2012; Tomás et al., 2014b). La falta de correlación entre los datos se relaciona con la complejidad del dosel en la estructura de vid (Medrano et al., 2012), la transpiración nocturna (Escalona et al., 2013), y el importante papel de la respiración de la planta (Escalona et al., 2012; Tomás et al., 2014a).

Otra aproximación fisiológica a la EUA es el uso de técnicas de discriminación isotópica del carbono 13 ($\delta^{13}C$). El isótopo de C¹³ se encuentra en la masa seca de la planta debido al proceso de fijación de carbono producido con la fotosíntesis. La difusión de C¹² y C¹³ entre la atmósfera y los cloroplastos son distintos, debido a la discriminación del C¹³ en la reacción de Ribulosa Bifosfato carboxilasa/oxidasa (RuBisCo). Esta discriminación se atenúa cuando las concentraciones de CO₂ en los cloroplastos disminuyen debido al cierre estomático. La diferencia entre las proporciones de carbono es un indicador que relaciona la tasa fotosintética y la abertura estomática (EUA) en el periodo de crecimiento (Farquhar et al., 1984; Santesteban et al., 2015). Por tanto, cuando menor sea la discriminación de C¹³ en la planta mayor será su EUA. Este análisis se puede realizar por tejidos, aportando información integradora de la planta cuando el tejido se formó (Bchir et al., 2016)

Estudios genéticos demuestran la gran diversidad del género *Vitis* (Lacou et al., 2011; Guo et al., 2012), que cuenta con más de 5000 variedades distribuidas a lo largo del mundo, aunque es esta consideración pueda haber fenómenos de homonimia (Galet, 2000). Dentro de esta gran diversidad, se ha demostrado la existencia de variabilidad en la EUA entre diferentes variedades (Gaudillere et al., 2002; Tomás et al., 2012; Gómez-Alonso et al., 2010; Bota et al., 2016).

Sin embargo, por las particularidades del mercado del vino, no resulta sencilla la sustitución de unas variedades por otras en las regiones productoras (Ibáñez et al., 2015). Es por ello que la selección de genotipos dentro de una misma variedad ha sido un proceso ampliamente utilizado en los últimos 50 años. Por ejemplo, se han obtenido genotipos con una mayor producción, o con resistencia a plagas o hongos como el mildew (Reynolds, 2015). Más recientemente, métodos moleculares y genéticos han demostrado variabilidad dentro un mismo cultivar entre clones. Usando marcadores, Houcquiny et al. (2003) encontró diferencias entre 145 clones del cultivar Pinot Noir, y Cervera et al. (2002) variabilidad entre 50 clones de Tempranillo, entre otros.

En este trabajo se pretende identificar la variabilidad en la EUA entre distintos clones de Tempranillo. Para ello se han seleccionado los más representativos de dos colecciones clonales que cuentan con más de 1500 biotipos de la variedad Tempranillo. Los resultados de este experimento pueden abrir una nueva ventana hacia la selección de un grupo de élite dentro de la variedad que permita una mejor adaptación a la escasez hídrica. Esa variabilidad se intenta abarcar a dos niveles; la EUA a nivel de producción de biomasa y a nivel foliar.

Material y métodos

Localización y parámetros climáticos

El experimento se llevó a cabo de junio a septiembre de 2017, en la zona de experimentación de vid en la Universidad de las Islas Baleares, España (39°35'N, 2°39'E). El clima se corresponde con el general de una zona mediterránea: veranos secos y cálidos, y con una época de precipitaciones concentrada durante otoño e invierno. Las condiciones ambientales de la zona han sido monitorizadas durante el experimento a través la estación meteorológica (Meteodata 3000, Geónica SA, Madrid, Spain) instalada en el campo experimental El verano del 2017 destaca por la media de temperatura elevada y mucha precipitación en el mes de junio (Tabla 1) y la sequía en el mes de septiembre. A demás, este verano se caracteriza por la poca radiación debido a la abundancia de días con nubes.

Tabla 1. Temperatura media diaria, evotranspiración de referencia acumulada (ET_0), radiación y precipitación mensual acumulada durante los meses del verano de 2017 en la Universidad de las Islas Baleares, España. Se muestran las desviaciones estándar de las medias.

Mes	Tª diaria (°C)	ET_0 (mm)	Radiación (MJ m ⁻² d ⁻¹)	Prec. (mm)
Junio	24,5 ± 2,3	156,8	26,6±3,7	28,9
Julio	26,3 ± 1,	155,8	24,9± 3,5	1,9
Agosto	26,8 ± 2,6	135,7	21,3± 3,7	7,1
Septiembre	21,3 ± 1,9	90,1	17,0±4,0	11,5

Las plantas se cultivaron en macetas de 15 L y se injertaron en un portainjerto 110-Ritcher dejando dos brotes de crecimiento por planta. Se utilizó un sustrato hortícola comercial de sustrato orgánico mezclado con perlita (4:1), y se añadió una capa de perlita a la superficie de cada maceta para reducir la evaporación del suelo. Las plantas disponen de un tutor para su crecimiento vertical.

Material vegetal y tratamientos

Se han analizado 24 genotipos de vid: 3 comerciales, 13 de Roda y 8 procedentes de la colección pública de ICVV (Instituto de las Ciencias de la Vid y el Vino) de un año de edad. Se han utilizado cinco réplicas de cada genotipo. Se han realizado dos tratamientos consecutivos a todas las plantas, con un tiempo entre tratamientos de dos días. En el primer tratamiento se somete a las plantas a un riego normal (sin estrés hídrico) durante 23 días: esto consiste en dos riegos por semana de hora y media, mediante dos goteros con un caudal de 0,5 litros por hora, con un sistema de reintroducción del agua del plato de la maceta en la maceta para evitar pérdidas. El segundo tratamiento consiste

en someter a las plantas a un estrés hídrico del 50 % (estrés hídrico moderado). Para ello, se realizan dos riegos por semana durante 36 días mediante dos goteros de 0,5 litros por hora durante 30 min, con un sistema de reintroducción de agua del plato en la maceta igual al anterior tratamiento. En tiempo entre tratamientos es de dos días sin riego, para bajar la disponibilidad de agua en la planta y aumentar el estrés hídrico.

Tabla 2. Evotranspiración de referencia instantánea acumulada (ET_0 ins), litros de riego por planta y el coeficiente de cultivo (K_c) durante el período de los dos tratamientos: sin estrés hídrico (SE) y con estrés hídrico moderado (EM).

Tratamiento	Fecha	ET_0 Ins (mm)	Riego + Prec.(Lplanta ⁻¹)	K_c
SEH	19/7 – 11/8	110,3 ± 0,9	23,41	0,21
EHM	13/8 – 17/9	135,6 ± 1	14,44	0,11

Se midió la evotranspiración instantánea acumulada (mm), el riego y la precipitación acumulada por planta (maceta) y el coeficiente de cultivo (K_c) para cada tratamiento (Tabla 2). Se observa que para el periodo SEH (sin estrés hídrico) hay menos evotranspiración y una acumulación de riego y lluvia mayor que el tratamiento de estrés hídrico moderado (EHM). Consecuentemente, la K_c es mayor para el tratamiento SEH.

Intercambio de gases

La fotosíntesis neta en la hoja (A_N) y la conductancia estomática (g_s) se miden en una hoja madura completamente expuesta. Las mediciones se realizan entre las 10:00 y la 13:00 (hora local) utilizando un analizador de intercambio de gases por infrarrojos (Li-6400, Li-cor Inc., Lincoln, Nebraska, USA). La concentración de CO_2 dentro de la cámara es de 400 $\mu\text{mol } CO_2 \text{ mol}^{-1}$ al aire. La radiación fotosintéticamente activa (RFA) está sobre los niveles de saturación (1000 mmoles fotones $\text{m}^{-2}\text{s}^{-1}$) y la temperatura está entre los 30 y 33°C. La eficiencia en el uso del agua intrínseca (EUA_i) se ha calculado como el ratio entre A_N y g_s . Al igual que en la prueba del estado hídrico de la planta, las mediciones se realizan antes y después de cada tratamiento en una hoja de cada planta. Por tanto, de ambas pruebas se tendrá cuatro mediciones.

Medidas de crecimiento y biomasa

Para medir el crecimiento y la producción de biomasa se midieron las longitudes de los pámpanos y el número de hojas de todas las plantas antes y al terminar cada tratamiento. Al final del experimento se cortaron las plantas, diferenciando el tallo y las hojas en cada una de ellas. Después se secaron las partes en un horno a 70°C hasta peso constante, para obtener la masa seca de la planta.

Cuando se obtuvo la biomasa total se hizo un modelo de predicción teniendo en cuenta los dos parámetros medidos. Con este modelo se pudo estimar cuanta biomasa poseía la planta antes y después de cada tratamiento en relación a la longitud de los pámpanos y el número de hojas.

Análisis estadístico

Los cálculos estadísticos se llevaron a cabo mediante el software R versión 3.3.1 (R Core Team, 2017). En todos los casos se evaluaron los efectos de los factores de estudio y su interacción (tratamiento, clon) sobre los diferentes parámetros medidos mediante un análisis de varianzas (ANOVA) de dos factores. Los valores promedio entre tratamientos se compararon entre ellos aplicando el test HSD de Tukey con un nivel de significación $\alpha < 0.05$. Los coeficientes de regresión y las correlaciones entre pares de variables fueron analizados utilizando coeficientes de determinación (r^2) y p – valores. La normalidad de los datos fue verificada mediante el test estadístico de Shapiro - Wilk. La homogeneidad de varianzas se comprobó utilizando el test de Barlet. Para observar diferencias entre pendientes de la relación $A_N - g_s$ se realizó un análisis de covarianza (ANCOVA).

Resultados

Crecimiento y ganancia de biomasa

El estrés hídrico ha provocado una disminución severa del crecimiento y la tasa de aparición de hojas en todos los genotipos, variando el crecimiento de 102 a 17 cm de media, y la ganancia de hojas de 17 a 6,4 hojas nuevas. Esta variación en el riego supone la reducción del 83% del crecimiento y el 67% en la ganancia de hojas (Tabla 3). Todos los genotipos han sufrido el mismo descenso como se demuestra en análisis factorial donde la interacción genotipo y ganancia de biomasa no es significativa.

Como se puede observar en la tabla 3, el tratamiento SEH ha mostrado una mayor significancia estadística en todos los parámetros evaluados, tanto en crecimiento, ganancia de hojas e incremento de biomasa estimado. El genotipo que mayor crecimiento ha mostrado ha sido el 232, alcanzando una ganancia de biomasa de 33 gramos. Por el contrario, los genotipos 137 y el 336 han mostrado un crecimiento significativamente menor, de apenas 19 gramos en el período de estudio. Para la ganancia de hojas destaca el genotipo 215 con 23,6 hojas. En contraste, la media para el genotipo 1371 es de 12,7 hojas y el grupo formada por RJ51, 1052 y 336 es de 17 hojas aproximadamente.

Tabla 3. Lista de los genotipos indicando el crecimiento, ganancia de hojas, biomasa y la eficiencia en el uso del agua (EUA) en los dos tratamientos aplicados. Se muestran las desviaciones estándar de las medias.

Genotipo	Sin estrés hídrico				Estrés hídrico moderado			
	Crecimiento (cm)	Ganancia de hojas	Biomasa (gr)	EUA (gr/L)	Crecimiento (cm)	Ganancia de hojas	Biomasa (gr)	EUA (gr/L)
6	125±28,5 ^{ABC}	18,8±4,9 ^{ABC}	28,8±6,9 ^{ABC}	1,5±0,3	16,7±12,9 ^{AB}	5,8±3,1	6,1±3,4	0,7±0,4
108	112,2±40,8 ^{ABCD}	17,6±6,7 ^{ABC}	23,9±8,3 ^{BCD}	1,2±0,4	11,8±8,9 ^{AB}	6,2±1,5	5,3±1,3	0,6±0,1
137	70,3±11,2 ^{DE}	17,7±0,6 ^{ABC}	18,7±1,7 ^D	0,9±0,1	19,7±19,1 ^{AB}	8,3±2,1	7,1±3,3	0,8±0,4
156	80±19,3 ^{CDE}	21,2±4,7 ^{AB}	21,8±3,6 ^{CD}	1,1±0,2	11,7±5,7 ^{AB}	8,8±3,3	6,5±2,1	0,7±0,2
166	97,8±17 ^{ABCDE}	20,3±1,3 ^{AB}	23,9±2,7 ^{BCD}	1,2±0,1	17,3±11,2 ^{AB}	7,5±0,6	6,6±1,1	0,8±0,1
178	118,8±14,9 ^{ABC}	21±3,5 ^{AB}	26,3±2,9 ^{ABCD}	1,3±0,1	20,3±6,3 ^{AB}	7±0,9	6,5±0,7	0,7±0,1
203	100,2±23 ^{ABCDE}	21,2±1,9 ^{AB}	23,9±2,6 ^{BCD}	1,2±0,1	14,8±14,4 ^{AB}	6,4±4	5,4±3,4	0,6±0,4
215	136,8±27,9 ^A	23,6±3,6 ^A	30,7±5,5 ^{AB}	1,6±0,3	22,2±6,8 ^{AB}	7,6±6,3	7,5±4,8	0,9±0,5
232	128,2±44,3 ^{AB}	21,2±2,6 ^{AB}	32,9±6,9 ^A	1,7±0,4	20,8±11,7 ^{AB}	5,8±1,8	7,2±2,5	0,8±0,3
243	104±36,2 ^{ABCD}	20,3±3,5 ^{AB}	24,9±5,5 ^{BCD}	1,3±0,3	18,3±16,5 ^{AB}	5,3±2,5	5,4±2,3	0,6±0,3
326	92±39,6 ^{BCDE}	18,2±3,6 ^{ABC}	24,8±6,6 ^{BCD}	1,3±0,3	20,6±21,2 ^{AB}	4,4±1,8	5,8±3,8	0,7±0,4
336	61,8±47 ^E	16,5±2,4 ^{BC}	18,6±5,2 ^D	0,9±0,3	30±40,4 ^A	6,3±2,6	7,8±6	0,9±0,7
360	115,5±29,5 ^{ABCD}	18,3±5,3 ^{ABC}	24,6±6,4 ^{BCD}	1,2±0,3	14,5±7,1 ^{AB}	6±2,2	5,4±2,1	0,6±0,2
365	94,8±13,5 ^{ABCDE}	19,5±1,9 ^{AB}	23,5±2,7 ^{BCD}	1,2±0,1	9±8,1 ^B	6±4,1	4,7±2,9	0,5±0,3
452	95,2±22,2 ^{ABCDE}	21,8±2,8 ^{AB}	23,7±3,6 ^{BCD}	1,2±0,2	24,8±5,8 ^{AB}	7,8±1,8	7,3±1,6	0,8±0,2
1048	91,8±29,1 ^{BCDE}	19,5±5 ^{AB}	26,4±7,4 ^{ABCD}	1,3±0,4	18,3±14,2 ^{AB}	5,5±3,7	6,5±4,4	0,7±0,5
1052	79,8±31,1 ^{CDE}	16,8±5,3 ^{BC}	21,5±7,3 ^{CD}	1,1±0,4	13,8±12,9 ^{AB}	6,4±2,5	6±2,7	0,7±0,3
1078	114,4±34,7 ^{ABCD}	19±5,5 ^{AB}	27,9±7,8 ^{ABC}	1,4±0,4	8,2±9,3 ^B	5,8±1,3	4,9±2	0,6±0,2
1084	87,3±25,8 ^{BCDE}	17,5±2,6 ^{ABC}	24,5±4,2 ^{BCD}	1,2±0,2	14±16,7 ^{AB}	5,8±3,9	6,1±4,3	0,7±0,5
1371	93,7±1,2 ^{ABCDE}	12,7±3,2 ^C	23,8±2,3 ^{BCD}	1,2±0,1	14,7±7,5 ^{AB}	7±1	7,6±0,3	0,9±0
RJ43	119,8±17,6 ^{ABC}	20,4±3 ^{AB}	26,4±3,4 ^{ABCD}	1,3±0,2	15,2±14,1 ^{AB}	7±2,5	6±3,1	0,7±0,4
RJ51	95,4±49,6 ^{ABCDE}	16±6,2 ^{BC}	27,3±12,5 ^{ABCD}	1,4±0,6	18,6±9,7 ^{AB}	4,6±3	6,4±2,2	0,7±0,2
RJ78	113,2±30,1 ^{ABCD}	17,5±2,8 ^{ABC}	24,3±5 ^{BCD}	1,2±0,3	23,5±23 ^{AB}	6,2±2,6	6,6±3,9	0,8±0,4

*Diferentes letras muestran diferencias significativas según el test de Tukey (p -valor < 0.05).

El rango de variación de la ganancia de biomasa en el tratamiento EHM (Tabla 3) ha sido menor, variando a penas 4 gramos entre el genotipo que más ha crecido y el que menos. El único parámetro que ha mostrado diferencias significativas entre los genotipos evaluados ha sido el crecimiento de tallo, donde el genotipo 336 es el que mayor crecimiento ha presentado (30 cm en el período de estudio) y los genotipos 1078 y 365 los de menor (apenas 10 cm). Los 3 genotipos comparados presentan la misma ganancia de hojas, por lo que el genotipo 336 ha tendido a una elongación de los entrenudos.

En cuanto a la EUA, ha variado en 1,5 gramos de incremento de biomasa por litro de agua consumida sin estrés a una ganancia de 0,6 gramos litro⁻¹ con estrés hídrico (Tabla 3). Esta reducción supone que las plantas han frenado el crecimiento de forma más drástica que la reducción del agua aplicada. Además, el hecho de haber aplicado el mismo riego al conjunto de los genotipos reduce estas diferencias, que no llegan a ser significativas entre genotipos en ninguno de los dos tratamientos aplicados.

Intercambio de gases

El intercambio de gases en la hoja está limitado por la conductancia estomática (g_s), como muestran los resultados en la gráfica 1. Esta limitación es más estricta a conductancias bajas ($g_s < 120 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), donde la pendiente es mayor que en valores de g_s mayores a 200 (51.1 frente a 25.4, p-valor < 0.001). A su vez, la g_s regula las pérdidas de agua por transpiración, de forma que a mayor entrada de CO_2 (A_n) mayor pérdida de agua (E) y viceversa (Figura 1.A y 1B). En referencia a la respuesta en EUA_{int} respecto a la apertura estomática, se observa que a menor nivel de g_s mayor eficiencia (Figura 1C), demostrando que una reducción de la conductancia estomática es la primera respuesta fisiológica para optimizar el consumo. Aunque a nivel general la regresión tiene un elevado grado ajuste ($r^2 = 0.95$ y 0.93 respectivamente, p-valor > 0.001), cuando se separan los tratamientos el ajuste cae y se hacen más evidentes las diferencias entre genotipos a un nivel similar de g_s .

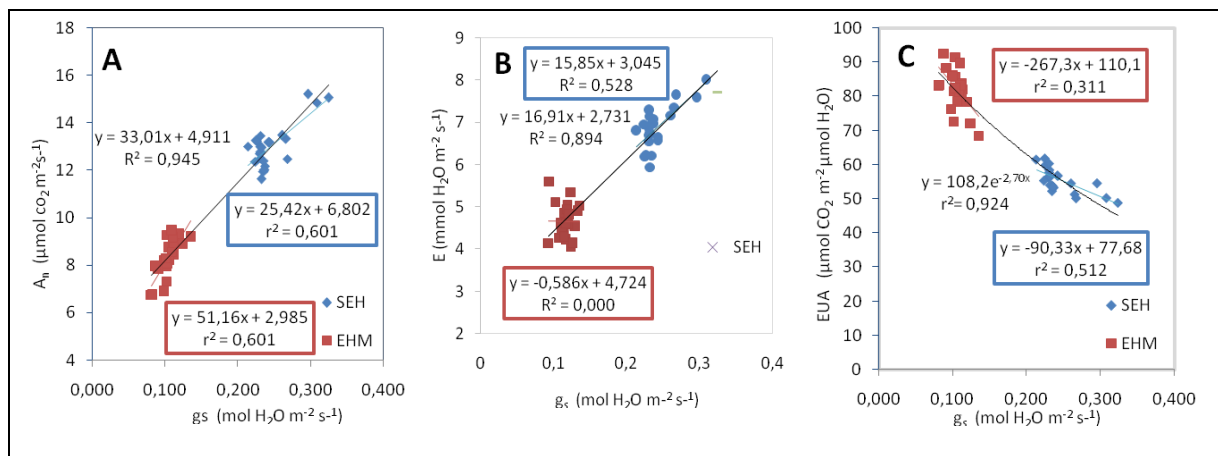


Figura 1. Correlaciones entre la conductancia estomática (g_s) y la tasa fotosintética neta (A_n) (A), la transpiración (E) (B) y el uso en la eficiencia del agua (EUA) (C) de todos los genotipos diferenciando los tratamientos: sin estrés hídrico (SEH) y estrés moderado (EHM). Se muestra las ecuaciones de los datos y los valores de r^2 .

Como se puede observar en la tabla 4, las diferencias entre tratamientos en los parámetros de intercambio de gases analizados son importantes; siendo SEH el que ha mostrado mayor g_s (0,324) y

mayor A_N (15,2). Debido a estas diferencias en g_s , la EUA_{int} se ha incrementado un 33% con el tratamiento EHM, aumentado de 55,2 a 82,6.

De nuevo, se observan diferencias en EUA_{int} únicamente en el grupo SEH, siendo los genotipos 6 y 203 los más eficientes con valores de $61 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mmol}^{-1} \text{ H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ frente a los genotipos RJ78, RJ43 y 108 con valores de 50 aproximadamente (Tabla 4). En este grupo, la fotosíntesis presenta variaciones menores que la g_s , que es la que parece condicionar la EUA_{int} del genotipo. Así, con la misma disponibilidad hídrica, hay genotipos con una g_s en torno a los $300 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (genotipos RJ78, 243 y 108) frente a otros con una g_s de $230 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$.

Respecto al tratamiento SEH, no se observan diferencias significativas en ninguno de los parámetros medidos (Tabla 4). Los rangos de fotosíntesis oscilan entre valores de 9,5 y $6,7 \mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. La conductancia estomática fluctúa entre valores de 135 y $81 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Los valores de EUA_{int} son similares con valores que varían entre 92,4 a 71,9.

Tabla 4. Lista de los genotipos representando la media de fotosíntesis neta (A_N), conductancia estomática (g_s) y eficiencia en el uso del agua (EUA) en los dos tratamientos estudiados.

Genotipo	Sin estrés hídrico			Estrés hídrico moderado		
	A_N	g_s	EUA_{int}	A_N	G_s	EUA_{int}
6	13,2±2,4 ^{ABCD}	0,225±0,075 ^D	61,9±14,1 ^A	8,9±1,4	0,124±0,012	71,9±10,9
108	14,9±3,2 ^{ABC}	0,308±0,094 ^{AB}	50,3±11,7 ^C	9,2±2	0,113±0,018	81,9±17,2
137	13,2±1,6 ^{ABCD}	0,226±0,042 ^D	59,9±10 ^{AB}	7,8±1,9	0,091±0,027	88,3±13,6
156	12,2±2,2 ^D	0,237±0,058 ^{CD}	53,3±12,3 ^{ABC}	9,3±1,8	0,103±0,021	91,5±18,1
166	12,5±2,8 ^{CD}	0,231±0,109 ^D	57,8±10,9 ^{ABC}	8,7±2,7	0,104±0,037	85,7±9,4
178	12,7±2,7 ^{BCD}	0,23±0,059 ^D	56,4±9 ^{ABC}	8,4±1,8	0,112±0,036	80,6±23,5
203	13±2,6 ^{ABCD}	0,213±0,049 ^D	61,6±6,8 ^A	8,2±2,3	0,106±0,024	78,5±16,1
215	12±3,3 ^D	0,235±0,073 ^{CD}	52,3±13,2 ^{ABC}	8,2±1,7	0,1±0,034	86,1±15
232	13±2,5 ^{BCD}	0,231±0,074 ^D	58,5±10,4 ^{ABC}	8±1,4	0,102±0,027	81,5±16,5
243	15,2±3,1 ^A	0,296±0,108 ^{ABC}	54,6±13,6 ^{ABC}	6,8±3,3	0,081±0,027	83,2±25,8
326	12,4±2,4 ^{CD}	0,224±0,036 ^D	55,4±7,2 ^{ABC}	6,9±1,1	0,098±0,029	76,1±26,2
336	13,3±3,9 ^{ABCD}	0,266±0,08 ^{ABCD}	51,3±10,7 ^{BC}	8,9±1,6	0,11±0,024	82,2±11,5
360	13,5±2,7 ^{ABCD}	0,261±0,091 ^{ABCD}	54,6±10,1 ^{ABC}	9,2±0,7	0,135±0,015	68,4±4,6
365	12,8±2,1 ^{BCD}	0,231±0,05 ^{CD}	56,7±10,8 ^{ABC}	8,8±1,8	0,112±0,035	83,8±21
452	12,4±2 ^{CD}	0,235±0,041 ^{CD}	54±11,4 ^{ABC}	9,3±2	0,119±0,025	78,4±2,5

Genotipo	Sin estrés hídrico			Estrés hídrico moderado		
	A _N	g _s	EUA _{int}	A _N	G _s	EUA _{int}
1052	11,6±1,8 ^D	0,232±0,077 ^{CD}	54±14,2 ^{ABC}	7,9±2	0,087±0,026	92,4±16,2
1078	13,2±2,7 ^{ABCD}	0,242±0,076 ^{CD}	56,9±11,7 ^{ABC}	6,7±1	0,082±0,016	83,2±5,2
1084	12±2,4 ^D	0,236±0,078 ^{CD}	53,6±12,5 ^{ABC}	9,2±2,9	0,11±0,035	83,1±4,9
1371	13,5±2,1 ^{ABCD}	0,231±0,058 ^D	60,4±11,2 ^{AB}	7,3±1,3	0,102±0,023	72,5±3,4
RJ43	12,5±2,5 ^{CD}	0,268±0,091 ^{ABCD}	50,2±14,2 ^C	8,1±2	0,103±0,036	82,4±21,3
RJ51	13,2±4 ^{ABCD}	0,243±0,112 ^{BCD}	56,8±10,8 ^{ABC}	9,5±2,4	0,11±0,035	89,7±18
RJ78	15,1±3,1 ^{AB}	0,324±0,095 ^A	48,8±11,3 ^C	8,3±2,1	0,100±0,033	85,9±16

*Diferentes letras muestran diferencias significativas según el test de Tukey (p-valor < 0.05).

Discusión

Debido al progresivo aumento de competencia por los recursos hídricos limitados, es imprescindible la mejora en la eficiencia en el uso del agua (EUA), que es un factor de vital importancia medioambiental. En este trabajo se analizaron 24 genotipos de vid midiendo el intercambio de gases y el crecimiento en dos tratamientos de riego diferenciados.

El tratamiento hídrico ha sido un factor diferenciador en todos los parámetros evaluados, afectando el consumo de agua directamente al crecimiento y la fijación de CO₂. Aunque algunos autores reportan un incremento de la EUA a nivel de planta entera cuando se reduce el nivel de riego (Zsófi et al., 2008; El Aou-Quad et al., 2015), otros muestran que la EUA cae cuando se aplica estrés hídrico (Pou et al., 2008; Tomás et al., 2012; Tomás et al., 2014b). En el presente experimento, el descenso en la producción de biomasa por litro de agua aplicada puede ser debido a que al ser tratamientos continuos – todas las plantas estaban bien regadas y a continuación se redujo el riego- las plantas no han tenido tiempo de ajustar parámetros clave en la EUA, tales como el área foliar, junto con procesos metabólicos y anatómicos no evaluados (ajustes de potencial osmótico, engrosamiento de la parénquima, etc).

Cuando las plantas se encuentran en estrés hídrico se produce un cierre estomático regulado por el turgor en las células guarda y otros mediadores, principalmente el ácido abscísico (Tardieu & Davies, 1993). Este cierre estomático provoca un aumento de la EUA_i, como muestran los datos analizados. Sin embargo, debido a este cambio inverso en ambas eficiencias cuando se ha aplicado el estrés hídrico ha provocado una falta de correlación entre lo que sucede a nivel fisiológico y agronómico, acorde con la mayoría de resultados publicados en bibliografía (Medrano et al., 2015).

Los resultados muestran variabilidad de comportamiento entre genotipos; algunos han resultado tener un crecimiento elevado en condiciones de riego y en condiciones de estrés hídrico, tales como el genotipo 215 y RJ78; mientras que otros muestran bajas tasas de crecimiento en condiciones de riego y un crecimiento importante cuando son sometidos a limitaciones hídricas, como los genotipos

336 y 137. Por el contrario, los genotipos 360 y el 1052 son los que menores tasas de crecimiento muestran en ambas situaciones.

Para el futuro, una vez realizado el cribado sobre un amplio número de genotipos, se proponen estos genotipos para su estudio en mayor profundidad, a fin de determinar los parámetros fisiológicos que condicionan estas diferencias en producción de biomasa y crecimiento.

Bibliografía

Bchir, A., Escalona, J. M., Gallé, A., Hernández-Montes, E., Tortosa, I., Braham, M., & Medrano, H. (2016). Carbon isotope discrimination ($\delta^{13}C$) as an indicator of vine water status and water use efficiency (WUE): Looking for the most representative sample and sampling time. *Agricultural Water Management*, 167, 11-20.

Bota, J., Tomás, M., Flexas, J., Medrano, H., & Escalona, J. M. (2016). Differences among grapevine cultivars in their stomatal behavior and water use efficiency under progressive water stress. *Agricultural Water Management*, 164, 91-99.

Cabello, F., Ortiz, J. M., Muñoz, G., Rodríguez, I., Benito, A., Rubio, C., García-Muñoz, S., & Sáiz, R. (2011). Variedades de vid en España. *Madrid, Comunidad de Madrid and Editorial Agrícola*.

Cervera, M. T., Cabezas, J. A., Rodríguez-Torres, I., Chavez, J., Cabello, F., & Martínez-Zapater, J. M. (2002). Varietal diversity within grapevine accessions of cv. Tempranillo. *VITIS-GEILWEILERHOF*, 41(1), 33-36.

Chaves, M. M., Santos, T. P., Souza, C. R. D., Ortuño, M. F., Rodrigues, M. L., Lopes, C. M., Maroco J.P., & Pereira, J. S. (2007). Deficit irrigation in grapevine improves water-use efficiency while controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology*, 150(2), 237-252.

El Aou-Ouad, H., Florez-Sarasa, I., Ribas-Carbó, M., Flexas, J., Medrano, H., & Gulías, J. (2015). Trade-offs between seedling growth, plant respiration and water-use efficiency in two Mediterranean shrubs *Rhamnus alaternus* and *Rhamnus ludovici-salvatoris*. *Photosynthetica*, 53(4), 537-546.

Escalona, J. M., Fuentes, S., Tomás, M., Martorell, S., Flexas, J., & Medrano, H. (2013). Responses of leaf night transpiration to drought stress in *Vitis vinifera* L. *Agricultural water management*, 118, 50-58.

Escalona, J. M., Tomàs, 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. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 18(3), 308-318.

Farquhar, G. D., & Richards, R. A. (1984). Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Functional Plant Biology*, 11(6), 539-552.

Fischer, R. A., & Turner, N. C. (1978). Plant productivity in the arid and semiarid zones. *Annual Review of Plant Physiology*, 29(1), 277-317.

Flexas, J., Galmés, J., Gallé, A., Gulías, J., Pou, A., Ribas-Carbó, M., Tomás, M., & Medrano, H. (2010). Improving water use efficiency in grapevines: potential physiological targets for biotechnological improvement. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(s1), 106-121.

Galet, P. (2000). *Dictionnaire encyclopédique des cépages*. Hachette.Reynolds, AG 2015, 'Grapevine Breeding Programs for the Wine Industry', Ed. Elsevier.

Gaudillère, J. P., Van Leeuwen, C., & Ollat, N. (2002). Carbon isotope composition of sugars in grapevine, an integrated indicator of vineyard water status. *Journal of experimental Botany*, 53(369), 757-763.

Gérard, S. E. G. U. I. N. (1983). Influence des terroirs viticoles sur la constitution et la qualité des vendanges. *Bulletin de l'OIV*, 56(623), 3-18.

Gómez-alonso, S., & García-romero, E. (2010). Effect of irrigation and variety on oxygen ($\delta^{18}O$) and carbon ($\delta^{13}C$) stable isotope composition of grapes cultivated in a warm climate. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(2), 283-289.

Guo, D., Zhang, J., Liu, C., Zhang, G., Li, M., & Zhang, Q. (2012). Genetic variability and relationships between and within grape cultivated varieties and wild species based on SRAP markers. *Tree genetics & genomes*, 8(4), 789-800.

Hannah, L., Roehrdanz, P. R., Ikegami, M., Shepard, A. V., Shaw, M. R., Tabor, G., Zhi, L., Marquetf, P.A., & Hijmans, R. J. (2013). Climate change, wine, and conservation. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110(17), 6907-6912.

Hocquigny, S., Merdinoglu, D., Heloir, M. C., & Pelsy, F. (2002, August). Chimerism and genetic diversity within the cultivar group of Pinots. In *VIII International Conference on Grape Genetics and Breeding 603* (pp. 535-544).

Ibáñez, J., Carreño, J., Yuste, J., & Martínez-Zapater, J. M. (2015). Grapevine breeding and clonal selection programmes in Spain. In *Grapevine breeding programs for the wine industry* (pp. 183-209).

Koundouras, S., Van Leeuwen, C., Seguin, G., & Glories, Y. (1999). Influence of water status on vine vegetative growth, berry ripening, and wine characteristics in Mediterranean zone (example of Nemea, Greece, variety Saint-George, 1997). *International Journal of Vine and Wine Sciences*.

Laucou, V., Lacombe, T., Dechesne, F., Siret, R., Bruno, J. P., Dessup, M., Dessup, T., Ortigosa, P., Parra, P., Roux, C., Santoni, S., Varès, D., Perós, J.P., & Boursiquot, J.M. (2011). High throughput analysis of grape genetic diversity as a tool for germplasm collection management. *Theoretical and Applied Genetics*, 122(6), 1233-1245.

MAGRAMA. (2012). Encuesta base de viñedo 2009. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. [Consultado en: <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/encuestas-de-vinedo/>].

MAGRAMA. (2017). Encuesta sobre Superficies y Rendimientos de Cultivos. Análisis de las plantaciones de viñedo en España. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. [Consultado en: <http://www.mapama.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/esyrce/>].

Matthews, M. A., Ishii, R., Anderson, M. M., & O'Mahony, M. (1990). Dependence of wine sensory attributes on vine water status. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 51(3), 321-335.

Medrano, H., Pou, A., Tomás, M., Martorell, S., Gulias, J., Flexas, J., & Escalona, J. M. (2012). Average daily light interception determines leaf water use efficiency among different canopy locations in grapevine. *Agricultural Water Management*, 114, 4-10.

Medrano, H., Tomás, M., Martorell, S., Escalona, J. M., Pou, A., Fuentes, S., Jaume, F., & Bota, J. (2015a). Improving water use efficiency of vineyards in semi-arid regions. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 35(2), 499-517.

Medrano, H., Tomás, M., Martorell, S., Flexas, J., Hernández, E., Rosselló, J., Pou, A., Escalona, J.M., & Bota, J. (2015b). From leaf to whole-plant water use efficiency (WUE) in complex canopies: limitations of leaf WUE as a selection target. *The Crop Journal*, 3(3), 220-228.

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

OIV. (2017a). OIV Statistical Report on World Vitiviculture. International Organisation of Vine and Wine, France. [Consultado en: <http://www.oiv.int/public/medias/5479/oiv-en-bilan-2017.pdf>]

OIV. (2017b). LOS DATOS SOBRE LA COYUNTURA VITIVINÍCOLA MUNDIAL. International Organisation of Vine and Wine, France. [Consultado en: www.oiv.int/public/medias/5682/es-communicu-depresse-octobre-2017.pdf]

Pou, A., Flexas, J., Alsina, M. D. M., Bota, J., Carambula, C., De Herralde, F., ... & Rusjan, D. (2008). Adjustments of water use efficiency by stomatal regulation during drought and recovery in the drought-adapted Vitis hybrid Richter-110 (V. berlandierix V. rupestris). *Physiologia plantarum*, 134(2), 313-323.

Pou, A., Gulias, J., Moreno, M., Tomas, M., Medrano, H., & Cifre, J. (2011). Cover cropping in Vitis vinifera L. cv. Manto Negro vineyards under Mediterranean conditions: Effects on plant vigour, yield and grape quality. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 45(4), 223-234.

Santesteban, L. G., Miranda, C., Barbarin, I., & Royo, J. B. (2015). Application of the measurement of the natural abundance of stable isotopes in viticulture: a review. *Australian journal of grape and wine research*, 21(2), 157-167.

Sheffield, J., & Wood, E. F. (2008). Global trends and variability in soil moisture and drought characteristics, 1950–2000, from observation-driven simulations of the terrestrial hydrologic cycle. *Journal of Climate*, *21*(3), 432-458.

Smart, R. E., Dick, J. K., Gravett, I. M., & Fisher, B. M. (2017). Canopy management to improve grape yield and wine quality-principles and practices. *South African Journal of Enology and Viticulture*, *11*(1), 3-17.

Tardieu, F., & Davies, W. J. (1993). Integration of hydraulic and chemical signalling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. *Plant, Cell & Environment*, *16*(4), 341-349.

Tomás, M., Medrano, H., Brugnoli, E., Escalona, J. M., Martorell, S., Pou, A., Ribas-Carbó, M., & Flexas, J. (2014a). Variability of mesophyll conductance in grapevine cultivars under water stress conditions in relation to leaf anatomy and water use efficiency. *Australian journal of grape and wine research*, *20*(2), 272-280.

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

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. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, *18*(2), 164-172.

Zarrouk, O., Costa, J. M., Francisco, R., Lopes, C., & Chaves, M. M. (2016). Drought and water management in Mediterranean vineyards. *Grapevine in a Changing Environment: A Molecular and Ecophysiological Perspective*, 38-67.

Zsófi, Z., Tóth, E., Váradi, G., Rusjan, D., & Bálo, B. (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.