

## **El ratio isotópico del carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) como indicador válido de la eficiencia en el uso del agua en vid**

J.M. Escalona<sup>\*1</sup>, M. Tomás<sup>1</sup>, M. Ribas-Carbó<sup>1</sup>, A. Bechir<sup>1</sup>, J. Bota<sup>1</sup>, L.G. Santesteban<sup>2</sup>, C. Miranda<sup>2</sup>, J.B. Royo<sup>2</sup>, J.R. Castel<sup>3</sup>, D.S. Intrigliolo<sup>4</sup>, F. de Herralde<sup>5</sup>, X. Aranda<sup>5</sup>, R. Savé<sup>5</sup>, M. Nadal<sup>6</sup>, A. Sánchez-Ortiz<sup>6</sup>, H. Medrano<sup>1</sup>.

1 Grupo de Investigación de Biología de las plantas en condiciones mediterráneas, Universidad de las Islas Baleares. Ctra. Valldemossa, km 7.5. 07122, Palma de Mallorca (Islas Baleares). \*E-mail: jose.escalona@uib.es

2 Dpto. Producción Agraria, Univ. Pública de Navarra. Campus de Arrosadia, 31006, Pamplona (Navarra).

3 Instituto Valenciano de Investigaciones Agrarias (IVIA). Carretera Moncada - Náquera, Km. 4,5 46113 Moncada (Valencia).

4 CEBAS-CSIC. Campus Universitario de Espinardo. Espinardo. Murcia. 30100 España.

5 IRTA Torre Marimon E-08140 - Caldes de Montbui (Barcelona).

6 Grup Vitivinicultura. F. Enología, Dept. Bioquímica i Biotecnologia, U. Rovira i Virgili, Campus Sescelades, 43007, Tarragona.

### **Resumen**

**La eficiencia del uso del agua del viñedo (EUA) se define como la relación entre la producción de uva y el agua total aplicada (precipitación efectiva + riego). La determinación del ratio isotópico de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) medida en la hoja o en la baya se puede considerar un parámetro válido e integrador de la EUA en vid. Sin embargo, los valores obtenidos pueden variar en función del genotipo, de la disponibilidad hídrica y de las condiciones edafoclimáticas del viñedo. En este trabajo se estudió la variación de  $\delta^{13}\text{C}$  en viñedos de diferentes regiones en un amplio gradiente de condiciones climáticas y edáficas y regímenes de riego y para diferentes cultivares. El análisis de los resultados ha permitido estimar el rango de variación de  $\delta^{13}\text{C}$  en condiciones de campo, y de explorar su correspondencia con la EUA lo largo de esta amplia gama de variaciones ambientales y genotípicas. Dicho rango es mayor cuando se analizaron muestras de uva tomadas en la cosecha en relación a los valores obtenidos en materia seca de hoja (de -21 a -29 ‰ y de -25 a -28 ‰ respectivamente). En dicho rango se pueden establecer diferentes estados hídricos a los que se ha sometido el viñedo. Además el valor de  $\delta^{13}\text{C}$  medido en fruto ha proporcionado la mejor correspondencia con la EUA del viñedo, pudiéndose considerar por tanto como un parámetro integrador de la misma.**

**Palabras clave:** *Vitis vinifera*, disponibilidad hídrica, riego.

### **INTRODUCCIÓN**

La disponibilidad de agua es el principal factor limitante de la producción agrícola en ambientes mediterráneos. Los cambios de las condiciones climáticas imponen la necesidad de mejorar la eficiencia del uso del agua en vid (EUA) con el fin de conseguir una viticultura sostenible. La eficiencia del uso del agua (EUA) se puede definir a diferentes escalas: foliar, definida como la relación entre la fotosíntesis neta y la conductancia estomática ( $A_N/g_s$ ), de planta entera, definida como la relación entre la

biomasa y el agua transpirada y por último agronómica, definida como la relación entre la producción del cultivo y el agua aportada por riego y precipitación.

La discriminación del isótopo del carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) que ocurre durante el intercambio de gases fotosintético en plantas C3 (Farquhar et al., 1982; Farquhar et al., 1988) considera el fraccionamiento de la difusión del  $\text{CO}_2$  a través de la capa límite (2.9‰), de los estomas (4.4‰), del agua (0.7‰), de la disolución del  $\text{CO}_2$  (1.1‰) y el fraccionamiento neto de PEPC y de la actividad de RuBisCO (estimado en 29‰). Este modelo de discriminación isotópica del carbono en plantas C3 es un modelo para el intercambio gaseoso fotosintético en estado estacionario, que ha sido ampliamente usado en el análisis de  $\delta^{13}\text{C}$  como indicador de EUA de las plantas. Numerosos autores han mostrado que  $\delta^{13}\text{C}$  puede ser un parámetro fácil y rápido de medir, representativo de la eficiencia en el uso del agua (EUA) en la vid (Souza et al., 2005; Chaves et al., 2007; Medrano et al., 2010; Santesteban et al., 2012). Sin embargo, los resultados obtenidos pueden variar en función del genotipo, las condiciones experimentales, los momentos de muestreo, órgano muestreado, etc.

La EUA a escala de cultivo debe ser considerada como un aspecto determinante en el cultivo de la vid, ya que los nuevos escenarios de cambio climático prevén una mayor escasez de agua que puede representar una amenaza para el cultivo de la vid. Por tanto, es necesario profundizar en metodologías que nos permitan determinar la EUA de manera rápida, así como conocer las condiciones de cultivo que permitan incrementar la eficiencia en el uso del agua. En este trabajo se pretende evaluar el efecto del genotipo, la disponibilidad hídrica y el manejo del suelo en las variaciones de  $\delta^{13}\text{C}$  medidas tanto en hoja como en fruto con el fin de determinar los rangos de variación debidos a dichos efectos y la relación entre  $\delta^{13}\text{C}$  y la EUA.

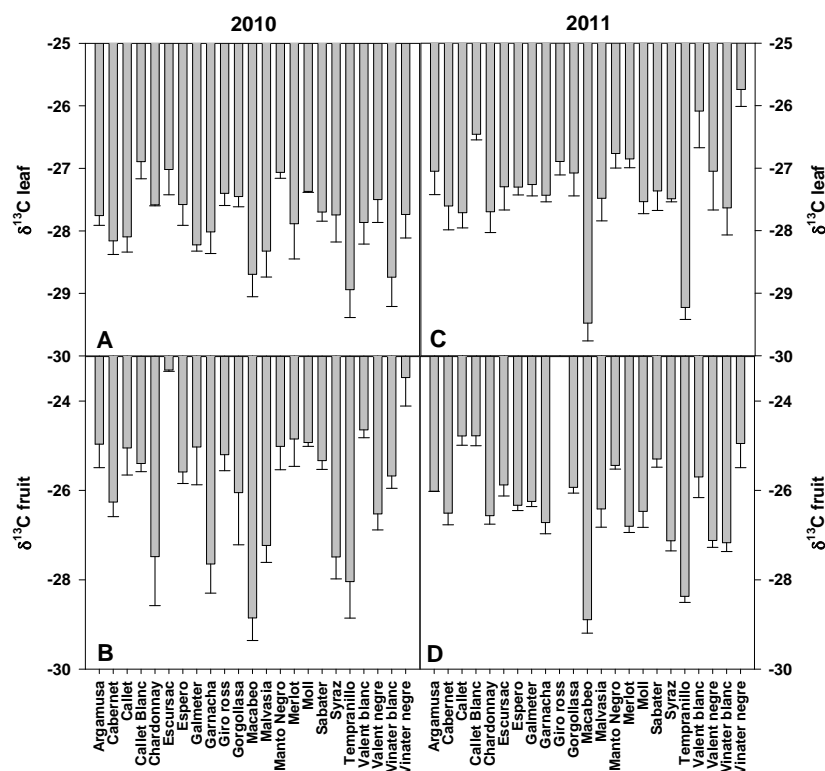
## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo en 4 localizaciones: Mallorca, Valencia, Barcelona y Navarra. En Mallorca, se evaluó el efecto del genotipo en la eficiencia en el uso del agua (EUA) determinando el ratio isotópico de carbono ( $\delta^{13}\text{C}$ ) en hoja adulta y en uva en cosecha en un total de 23 genotipos diferentes de vid localizados en una parcela colección situada en Palma, durante los años 2010 y 2011. En Valencia se evaluó el efecto de diferentes estrategias de riego deficitario (50%  $\text{ET}_c$ ) que consisten en aplicar riego deficitario sostenido, desde pre-envero o desde post-envero, en comparación con un testigo (100%  $\text{ET}_c$ ) en EUA en el cultivar 'Tempranillo'. Se determinó  $\delta^{13}\text{C}$  en muestras de fruto en cosecha. En Barcelona se evaluó el efecto del portainjerto en la EUA. Para ello se compararon tres portainjertos R-110, 140Ru y 41B en los se injertaron las variedades 'Cabernet Sauvignon', 'Garnacha' y 'Marselán'. Las plantas de 3 años de edad se cultivaron en secano. Se determinó  $\delta^{13}\text{C}$  en hojas y frutos en vendimia. En Navarra se evaluó durante cinco años consecutivos para la variedad 'Tempranillo' el efecto de dos manejos de suelo (cubierta vegetal y laboreo) en la EUA en un terreno franco arcilloso, comparándose con la de un suelo casajoso con una dinámica hídrica distinta. Se determinó  $\delta^{13}\text{C}$  en muestras de uva en el momento de la cosecha. En todas la localizaciones se calculó la eficiencia de agua por el cultivo para cada tratamiento estudiado como la relación entre la producción unitaria y el agua total aportada a cada cepa ( $\text{kg uva/m}^3$  agua riego + precipitación). También se determinó el estado hídrico de las plantas mediante la medida del potencial hídrico del tallo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Influencia del genotipo en la EUA y su relación con $\delta^{13}\text{C}$

El estudio comparativo de la EUA de 23 genotipos diferentes, determinado a partir de medidas de  $\delta^{13}\text{C}$  en hoja y en fruto en el momento de cosecha muestra un elevado rango de variación (Figura 1). Así, genotipos locales de Mallorca como ‘Escursac’ bien adaptados a condiciones de déficit hídrico severo o genotipos de amplia distribución descritos en bibliografía como resistentes a la sequía como la ‘Garnacha’, muestran valores menos negativos de  $\delta^{13}\text{C}$  en relación a otras variedades como ‘Tempranillo’ o ‘Macabeo’, y por tanto reflejan una mayor eficiencia en el uso del agua. Estos resultados se observan tanto en la  $\delta^{13}\text{C}$  determinada en muestras de hoja como en muestras de fruto, si bien es cierto que el rango de variación de éstas últimas es mayor, oscilando entre -29 y -23 ‰ y por tanto permiten discriminar mejor diferentes estados hídricos y niveles de EUA.



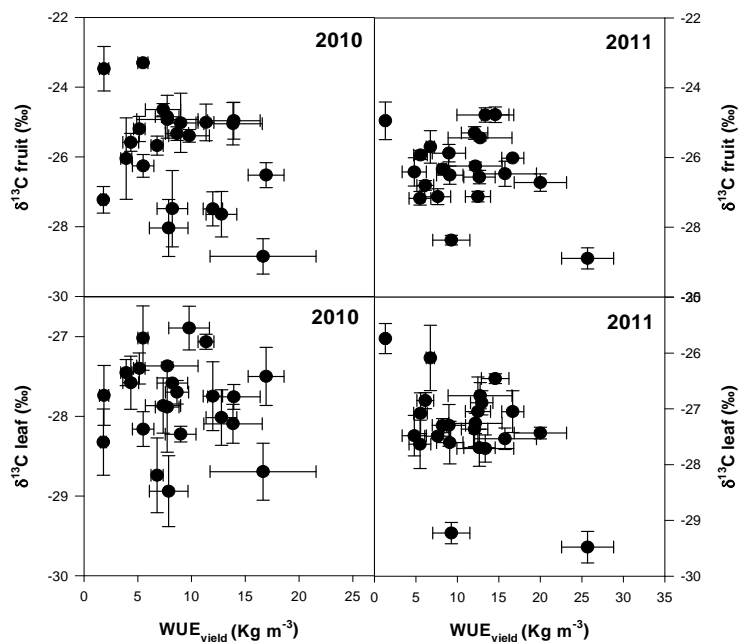
**Figura 1.** Variación genotípica de  $\delta^{13}\text{C}$  medio en hoja y en fruto en 23 variedades de vid de vinificación.

Por otra parte, no se observa una relación universal entre la eficiencia del uso del agua del cultivo entendida como la relación entre la producción de la cepa y el total de agua aplicada a la planta (precipitación), y la discriminación isotópica de carbono medido tanto en muestras de hoja como en muestras de fruto (Figura 2). Sin embargo, sí se aprecia una mayor relación del  $\delta^{13}\text{C}$  con el estado hídrico de la planta en el momento de la cosecha (datos no mostrados).

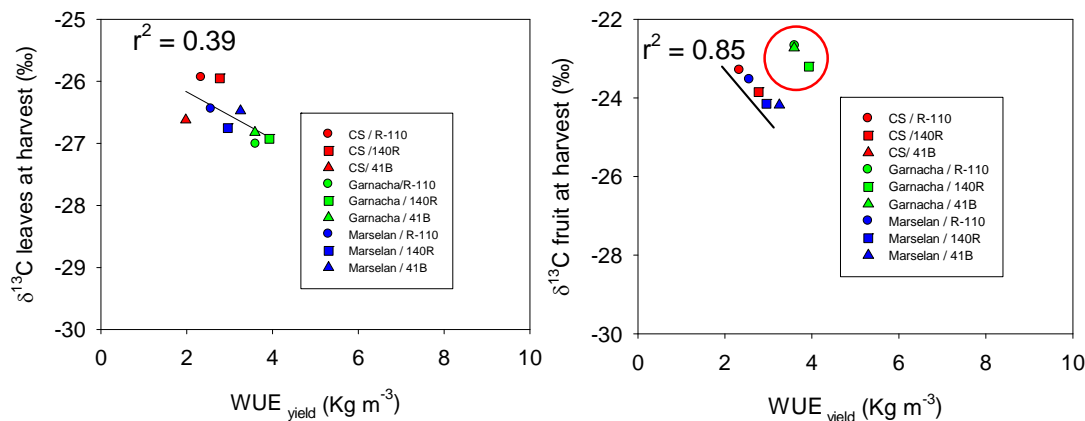
### Efecto combinado del portainjerto x cultivar en la EUA y su relación con $\delta^{13}\text{C}$

Como puede observarse en la Figura 3, los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  obtenidos en el ensayo de comparación de portainjertos indican que los medidos en hojas fueron menos

negativos a los encontrados en muestras de fruto, ambas tomadas en momento de cosecha (-26 a -27‰ y -23 a -25‰, en hojas y fruto respectivamente). Estos valores son del mismo orden que los que se muestran en la Figura 1.



**Figura 2.** Correspondencia entre la EUA y  $\delta^{13}\text{C}$  medio en hoja y en fruto en 23 variedades de vid de vinificación.



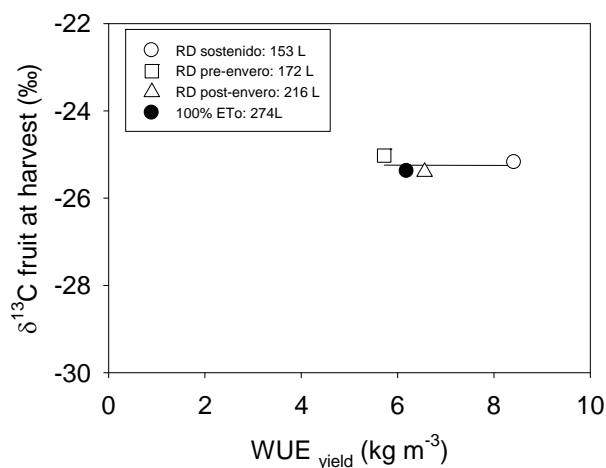
**Figura 3.** Correspondencia entre la EUA y  $\delta^{13}\text{C}$  medidas en muestras de hojas y frutos en vendimia en las variedades ‘Cabernet Sauvignon’ (símbolos rojos), ‘Garnacha’ (símbolos verdes) y ‘Marselán’ (símbolos azules) injertadas en los portainjertos R-110 (círculos) 140R (cuadrados) y 41B (triángulos).

Por otra parte, los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  medidos en muestras de hoja en vendimia muestran una cierta correspondencia con la eficiencia en el uso del agua independientemente del portainjerto utilizado. Además, la variedad de vinífera determina

variaciones en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  en fruto y EUA, siendo más eficiente la variedad ‘Marselán’ y menos eficiente la variedad ‘Cabernet Sauvignon’. Por tanto, la eficiencia en el uso del agua está más determinada por la vinífera que por el portainjerto utilizado. Cuando se analizan los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  medidos en fruto, se observa una mayor regresión con la EUA salvo para el caso de ‘Garnacha’ que muestra un comportamiento independiente, siendo ésta variedad la que presenta la EUA más alta de las tres variedades estudiadas.

### Efectos de las estrategias de riego deficitario en la EUA y su relación con $\delta^{13}\text{C}$

El riego deficitario pretende reducir los consumos hídricos en vid a la vez que se persigue mejorar la calidad de la uva y mantener la capacidad productiva de la cepa. Por tanto como consecuencia se incrementa la eficiencia del uso del agua del cultivo. Los datos recogidos en la Figura 4 indican que no se observan diferencias en  $\delta^{13}\text{C}$  medido en fruto en el momento de cosecha en plantas sometidas a condiciones de riego deficitario (50%  $\text{ET}_c$ ), en comparación con un riego para cubrir las necesidades hídricas de las cepas (100%  $\text{ET}_c$ ), independientemente de la estrategia a seguir. Estos resultados indican que las tres variantes de riego deficitario permitieron mantener un estado hídrico de la planta favorable independientemente a la estrategia de aplicación. Sin embargo, sí se observa un cierto efecto en la EUA del cultivo. Así, las plantas sometidas a riego deficitario sostenido presentaron las EUA más elevadas. El resto de los tratamientos mostraron valores muy similares de la EUA. Estas diferencias se deben tanto a un menor aporte de agua (153 L en RD sostenido y 172 L, 216 L y 274 L en RD pre-envero, RD post-envero, y 100% $\text{ET}_c$  respectivamente) y a un mantenimiento de la producción unitaria en relación al tratamiento testigo (100%  $\text{ET}_c$ ).

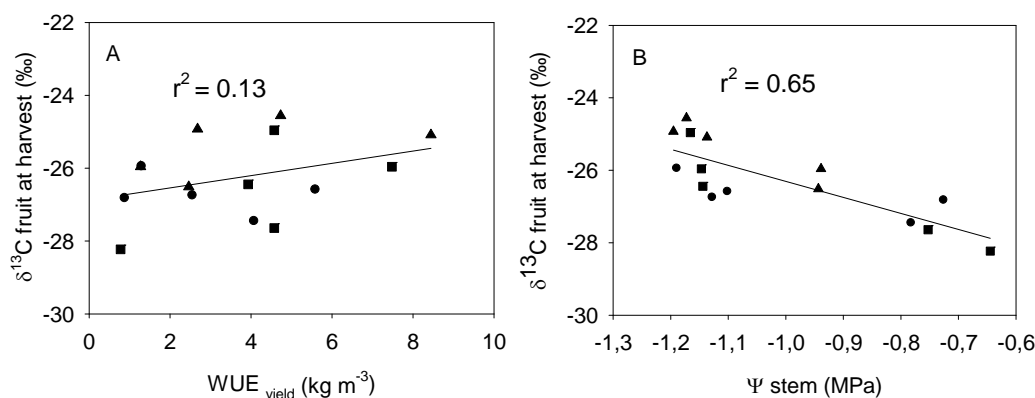


**Figura 4.** Correspondencia entre  $\delta^{13}\text{C}$  medido en fruto en cosecha y la EUA en plantas sometidas a diferentes estrategias de riego deficitario.

### Efectos del manejo de suelo en $\delta^{13}\text{C}$ y su relación con la EUA y el estado hídrico

Las diferentes modalidades de gestión de suelo pueden modificar la disponibilidad de agua en el suelo para la planta y como consecuencia provocar un efecto en el estado hídrico de la vid que determine cambios en el crecimiento y la producción de la cepa. Dichos efectos pueden determinar variaciones en los consumos hídricos de la cepa y como consecuencia modificar la eficiencia en el uso del agua. Los datos recogidos en la

Figura 5A muestran que el efecto interanual en los valores de  $\delta^{13}\text{C}$  y en la EUA entendida como la relación entre producción unitaria y agua aportada es el predominante. Por tanto, las diferentes modalidades de gestión del suelo no determinan cambios sustanciales en los parámetros estudiados. Por otra parte las variaciones encontradas en  $\delta^{13}\text{C}$  responden a cambios en el estado hídrico de las plantas motivado por la diferente disponibilidad hídrica del suelo. El viñedo con suelo cascajoso mostró un mayor nivel de estrés hídrico, que se refleja en valores menos negativos de  $\delta^{13}\text{C}$ , siendo los viñedos con cubierta los que consiguieron mantener unas condiciones hídricas más favorables (Figura 5B), probablemente como consecuencia de su menor desarrollo vegetativo y carga.



**Figura 5.** Relación entre  $\delta^{13}\text{C}$  medido en el fruto en el momento de cosecha y el potencial hídrico del tallo (A) y la EUA (B) en viñedos con cubierta vegetal (círculos), con laboreo tradicional (cuadrados) y con cascajo (triángulos). Los datos corresponden a 5 años consecutivos.

## CONCLUSIONES

Un análisis global de los resultados expuestos en este trabajo permite concluir que la medida de  $\delta^{13}\text{C}$  se puede considerar como un buen indicador de la EUA. Las medidas de  $\delta^{13}\text{C}$  en fruto parece ser más consistente como medida integradora de la EUA. De todos los factores estudiados, el genotipo (portainjerto/vinífera) parece determinar en mayor medida cambios en  $\delta^{13}\text{C}$ . Sin embargo las variaciones interanuales de las condiciones del cultivo representan la mayor fuente de variación de la  $\delta^{13}\text{C}$ . Por otra parte, en la mayoría de los estudios realizados, se observa una mayor correlación de  $\delta^{13}\text{C}$  con el estado hídrico de la planta en comparación con la encontrada con la EUA, sugiriendo que  $\delta^{13}\text{C}$  puede ser considerado como un parámetro indicador del estado hídrico del cultivo, más que de su eficiencia en el uso del agua, dado que la EUA es un variable en la que influyen más factores además del propio nivel de disponibilidad de agua en el suelo.

## Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado con fondos FEDER y el proyecto AGL2011-30408-C04

## Referencias

- Chaves, M.M., Santos, T.P., Souza, C.R., Ortuño, M.F., Rodrigues, M.L., Lopes, C.M., Maroco, J.P. and Pereira, J.S. (2007). Deficit irrigation in grapevine improves water-use-efficiency without controlling vigour and production quality. *Annals of Applied Biology* 150, 237–252.
- Farquhar, G.D., Hubick, K.T., Condon, A.G., Richards, R.A. (1988). Carbon isotope fractionation and plant water-use efficiency. En: Rundel, P.W., Ehleringer, J.R. y Nagy, K.A. (eds.). *Stable isotopes in ecological research*, pp 21-40. Springer-Verlag, New York, USA.
- Farquhar, G.D., O'Leary, M.H., Berry, J.A. (1982). On the relationship between carbon isotope discrimination and the inter-cellular carbon-dioxide concentration in leaves. *Australian Journal of Plant Physiology*, 9, 121-137.
- Medrano, H., Flexas, J., Ribas-Carbó, M., Gulías, J., (2010). Measuring Water Use Efficiency in Grapevines, En: *Methodologies and Results in Grapevine Research*, S. Delrot, H. Medrano, E. Or, L. Bavaresco, S. Grando (eds), pp. 123-134, Springer: Dordrecht, The Netherlands.
- Santesteban, L.G., Miranda, C., Urretavizcaya, I., Royo, J.B. (2012) Carbon isotope ratio of whole berries as an estimator of plant water status in grapevine (*Vitis vinifera* L.) cv. 'Tempranillo'. *Scientia Horticulturae*, 146, 7-13.
- Souza, C.R., Maroco, J., Santos, T., Rodrigues, M.L., Lopes, C.M., Pereira, J.S., Chaves, M.M. (2005). 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, 2163–2172.