

Evaluación de la variabilidad genética inter e intra cultivar en la eficiencia del uso del agua en viña

I. Tortosa¹, J.M. Escalona¹, J. Bota¹, M. Tomás¹, E. Hernández-Montes¹, E. García Escudero² e H. Medrano¹

¹Research Group on Plant Biology under Mediterranean Conditions Department of Biology, IMEDEA (CSIC-Universitat de les Illes Balears) Carretera de Valldemossa Km 7.5, 07122 Palma de Mallorca, Spain

²Instituto de las Ciencias de la Vid y el Vino. Logroño. La Rioja, Spain

Resumen

La escasez de agua de riego es la limitación más importante que afecta a la producción agrícola mundial. Además, a causa del cambio climático y del aumento de la población mundial, esta situación está agravándose, por lo que un objetivo global para mejorar la sostenibilidad de la producción es la mejora de la eficiencia del uso del agua (EUA). En el caso de la viña, este problema es mayor, ya que la producción se concentra en zonas semiáridas y el ciclo vegetativo coincide con los meses más secos. La introducción de nuevos cultivares más resistentes en zonas productoras se complica debido a las preferencias hacia determinadas variedades de uva en cada región, por lo que la selección clonal de variedades locales puede jugar un rol muy importante en el futuro. El objetivo de este estudio fue comparar la variabilidad genética en la EUA entre variedades y entre clones de una sola variedad. Para ello, se estudiaron 23 variedades y 30 clones de Tempranillo en condiciones de campo en Mallorca y La Rioja (España) en diferentes grados de estrés hídrico. La EUA se calculó a partir de parámetros de intercambio de gases (eficiencia del uso del agua intrínseca, EUA_i). Bajo un estrés moderado, se encontró una variación importante en la EUA_i entre cultivares (desde $117 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$ hasta $69 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$ en Esperó de Gall y Syraz, respectivamente). Tempranillo mostró una EUA_i intermedia ($96 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$). En cuanto a la variabilidad clonal, los valores en EUA_i estuvieron entre 79 y $136 \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$ en el mismo rango de estrés. Estos resultados indican que puede haber variabilidad suficiente para llevar a cabo una mejora por selección clonal, ya que la variación entre clones supuso el 80% de la variación entre cultivares.

Palabras clave: *Vitis vinifera*, EUA, EUA_i , selección clonal, variabilidad genética.

INTRODUCCIÓN

El cultivo de la vid (*Vitis vinifera* L.) se desarrolla en zonas semiáridas y su ciclo vegetativo se concentra en los meses más cálidos, que es cuando sus necesidades hídricas son mayores (Hannah et al., 2013), lo que supone que el cultivo requiere aportes extra de

agua para obtener una cosecha razonable. En consecuencia, la mejora de la eficiencia del uso del agua (EUA) en los viñedos es un objetivo fundamental para mantener la sostenibilidad y rentabilidad en el futuro.

La gran cantidad de variedades comerciales de vid existentes (This et al., 2007) ofrecen una amplia variabilidad genética, que constituye un recurso genético de gran valor para la adaptación a diferentes condiciones ambientales, presentes o futuras. Estudios previos han demostrado una elevada variabilidad intra varietal en la EUA (Bota et al., 2001, Tomás et al., 2012, 2014). Por otra parte, tradicionalmente se han llevado a cabo programas de selección clonal que han permitido la obtención de clones con una mayor resistencia a enfermedades, una productividad ajustada o a ambientes concretos (Rühl et al., 2004; Meneghetti et al., 2013; Van Leeuwen et al., 2013). En particular, dentro de la variedad Tempranillo se han llevado a cabo diferentes programas en diversas regiones españolas (Ibáñez et al., 2015), Sin embargo, en ningún caso se ha considerado la EUA como criterio de selección clonal. Por esta razón, el presente trabajo se centra en un estudio sobre la variabilidad intra varietal de la EUA en Tempranillo, comparándola con la variabilidad inter-varietal, abriendo la posibilidad a futuros programas de selección por alta EUA en las variedades con amplia distribución mundial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Material vegetal

Se estudiaron 23 variedades de vid, en un viñedo experimental en Palma de Mallorca (Islas Baleares, España) y 30 genotipos de Tempranillo, en diferentes parcelas en Logroño (La Rioja, España) durante agosto de 2011 y 2015, respectivamente. Estas variedades incluyen variedades locales mallorquinas (Argamusa, Callet, Callet Blanc Escursac, Esperó de Gall, Galmeter, Giró Ros, Gorgollosa, Malvasia de Banyalbufar, Manto Negro, Moll, Sabater, Valent Blanc, Valent Negre, Vinater Blanc y Vinater Negre) y variedades con una distribución amplia (Cabernet Sauvignon, Chardonnay, Garnacha, Macabeo, Merlot, Syrah y Tempranillo). La colección de genotipos de Tempranillo fue seleccionada para abarcar un rango amplio de diferentes parámetros agronómicos (duración del ciclo, índice de cosecha, madera de poda etc.) e incluyen clones comerciales distribuidos por diferentes viveros y genotipos procedentes de una colección pública (ICVV).

Estatus hídrico de las plantas

El estatus hídrico de las plantas se estimó por el potencial hídrico de tallo (Ψ_{tallo}) medido con una cámara de presión de Scholander (Soil moisture Equipment Corp. Santa Bárbara, California USA). El Ψ_{tallo} se midió a mediodía (entre las 13:00 y las 14:00, hora local) en hojas embolsadas con papel de aluminio al menos una hora antes de la medida. Se midió una hoja por planta y de 3 a 6 repeticiones por genotipo.

Medidas de intercambio de gases

La fotosíntesis neta (A_N) y la conductancia estomática (g_s) se midió en hojas completamente expuestas y maduras (una por planta, $n=3-6$) el mismo día que las medidas de potencial hídrico. Todas las medidas realizaron entre las 10:00 y las 13:00 (hora local) usando un analizador infrarrojo de intercambio de gases (Li-6400xt, Li-cor Inc., Lincoln, Nebraska, USA). Se utilizó una cámara abierta de 2 cm², la concentración en el interior de la cámara fue de 400 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ mol}^{-1}$ aire, y el PAR siempre estuvo por

encima del nivel de saturación. La eficiencia intrínseca en el uso del agua (EUA_i) se calculó como la ratio entre la A_N y la g_s .

Análisis estadístico

Las correlaciones y diagramas presentados se realizaron usando el programa Sigmaplot (SPSS; Chicago, IL, USA). El coeficiente de variación (CV) se define como el ratio entre la desviación estándar y la media.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Condiciones climáticas

Las condiciones climáticas de las dos localizaciones presentan un clima típico del Mediterráneo, con altas temperaturas y radiación durante el verano. La ETo fue similar los dos años, aunque la temperatura en el ensayo de Palma fue mayor (2-3°C de diferencia) y la radiación menor. A pesar de estas diferencias los resultados, el estatus hídrico de las plantas fue parecido en las dos localizaciones.

Variabilidad genética de la EUA

La variabilidad en los resultados de g_s y Ψ_{tallo} (Fig. 1 y 2) sugiere que dentro de una misma parcela se alcanzaron diferentes grados de estrés hídrico. Debido a que la EUA_i depende de la g_s , y con el fin de poder comparar genotipos en un mismo estatus hídrico se dividieron en tres categorías, de acuerdo con la clasificación propuesta por Medrano et al. (2002) y Flexas et al. (2002): Plantas no estresadas ($g_s > 150 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$), estrés hídrico moderado ($75 < g_s < 150 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y estrés hídrico severo ($g_s < 75 \text{ mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$).

Para evaluar la variabilidad inter varietal de la EUA_i , se realizó una regresión entre la EUA_i y el Ψ_{tallo} , y la EUA_i y la g_s (Fig. 1 y 2). La mejor correlación hallada entre la g_s y la EUA_i indica que la g_s ha resultado un mejor indicador de estrés fisiológico que el Ψ_{tallo} , que en el caso de las variedades no resultó estadísticamente significativo (Fig. 1A). Esto podría ser debido a diferencias inter varietales en el control estomático. Analizando la regresión g_s y EUA_i , en estrés moderado destacan las variedades Esperó de Gall y Galmeter (117 y $111 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$, respectivamente), frente a las variedades Argamusa y Syrah (82 y $67 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$, respectivamente). Los rangos de variación de g_s y EUA inter varietal están dentro del rango de experimentos anteriores, realizados tanto en maceta como en campo (Gibberd et al., 2001; Bota et al., 2001; Tomás et al., 2012 y 2014).

Cabe destacar que la EUA_i promedio de los diferentes clones de Tempranillo del estudio es similar a la obtenida en otros trabajos previos (Gibberd et al., 2001; Tomás et al., 2012 y 2014). En nuestras condiciones de estudio los clones en estrés moderado que presentaron la EUA_i más elevadas fueron los clones del ICVV 260 y 814 (136 y $131 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$, respectivamente) frente a los clones RJ51 y 1041 (108 y $99 \text{ } \mu\text{mol CO}_2 \text{ mol H}_2\text{O}^{-1}$, respectivamente).

La medida de la discriminación isotópica de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) se utiliza como un parámetro indicador del estado hídrico y de la EUA del cultivo de la vid (Santesteban et al. 2015). El $\delta^{13}\text{C}$ medido en la baya se considera el mejor indicador ya que el cuajado del fruto se produce en los meses de mayor estrés hídrico (Bchir et al., 2016). La variabilidad inter varietal en la relación entre el $\delta^{13}\text{C}$ y la EUA_i observada mostró una tendencia poco

significativa ($R^2=0.30$, $p\text{-value}<0.01$) (Fig 3A). En cambio, cuando se analiza esta relación a partir del estudio intraclonal, se obtiene un mejor coeficiente de regresión ($R^2=0.70$, $p\text{-value}<0.001$) (Fig. 3B). Estas diferencias podrían deberse a diferencias en la difusión del CO_2 entre variedades, habiendo una mayor uniformidad entre clones de una misma variedad.

Por otra parte, el coeficiente de variación de la EUA_i fue mayor en el caso de las variedades respecto a los clones de Tempranillo (32 % frente al 26 % respectivamente), Por tanto, los datos muestran que la dispersión intra varietal supone un 80 % de la variación inter varietal. Esta elevada variación intra varietal es, en cualquier caso, fenotípica, y puede estar sujeta a variaciones en el vigor y la carga de las plantas, así como de las micro condiciones en las que se encontraba cada genotipo evaluado. Sin embargo, es esperable que la genética permita realizar programas de mejora atendiendo a la EUA_i en Tempranillo.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó con el apoyo financiero del Ministerio español de Ciencia y Tecnología (AGL2014-30408-C04-01), con fondos INIA (652615-ERA-NET FACCE Sorplus , RTA2013-00068-C03-03), y una beca predoctoral BES-2015-073331. También queremos agradecer la colaboración de Viveros Provedo SA, Viveros Vitis Navarra SA y al Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV).

Referencias

- Bota, J., Flexas, J. and Medrano, H. 2001. Genetic variability of photosynthesis and water use in Balearic grapevine cultivars, *Ann. Appl. Biol.* 138:353-361.
- Farquhar, G.D. and Richards R.A. 1984. Isotopic composition of plant carbon correlates with water-use efficiency of wheat genotypes. *Funct. Pl. Bio.* 11(6) :539-552.
- Gibberd, M.R., Walker, R.R., Blackmore, D.H. and Condon, A.G. 2001. Transpiration efficiency and carbon-isotope discrimination of grapevines grown under well-watered conditions in either glasshouse or vineyard., *Aust. J. Grape Wine Res.* 7(3):110-117.
- Hannah, L., Roehrdanz, P.R., Ikegami, M., Shepard, A.V., Shaw, M.R., Tabor, G., Zie L., Marquetf, P.A. and Hijmans, R.J. 2013. Climate change, wine, and conservation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 110:6907-12.
- Ibáñez, J., Carreño, J., Yuste, J. and Martínez-Zapater. J.M. 2015. Grapevine breeding and clonal selection programmes in Spain, in: *Grapevine*, Elsevier: p. Chapt 9; pp.183-209.
- Medrano, H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulías, J. and Flexas, J. 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.
- Meneghetti, S., Bavaresco, L., Calò, A. and Costacurta, A. 2013. Inter- and Intra-Varietal Genetic Variability in *Vitis vinifera* L. in; *The Mediterranean Genetic Code - Grapevine and Olive*. B. Sladonja (Ed.) InTech.
- Rühl. E., Konrad. H., Linder. B. and Bleser. E. 2004. Quality criteria and targets for clonal selection in grapevine, *Acta Hort.* 652:29-33.
- Santesteban, L.G., Miranda, C., Barbarin, I. and 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.

This, P., Lacombe, T., Cadle-Davidson, M. and Owens, C.L. 2007. Wine grape (*Vitis vinifera* L.) color associates with allelic variation in the domestication gene *VvmybA1*, *Theor. Appl. Genet.* 114:723-730.

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

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

Tomás, M., Medrano, H., Pou, A., Escalona, J.M., Martorell, S., Ribas-Carbó, M. and Flexas, J. 2004. Water-use efficiency in grapevine cultivars grown under controlled conditions: effects of water stress at the leaf and whole-plant level, *Aust. J. Grape Wine Res.* 18:164-172.

Van Leeuwen, C., Roby, J.P., Alonso-Villaverde, V. and Gindro, K. 2013 Impact of clonal variability in *Vitis vinifera* cabernet franc on grape composition, wine quality, leaf blade stilbene content, and downy mildew resistance, *J. Agric. Food Chem.* 61:19-24.

Figuras

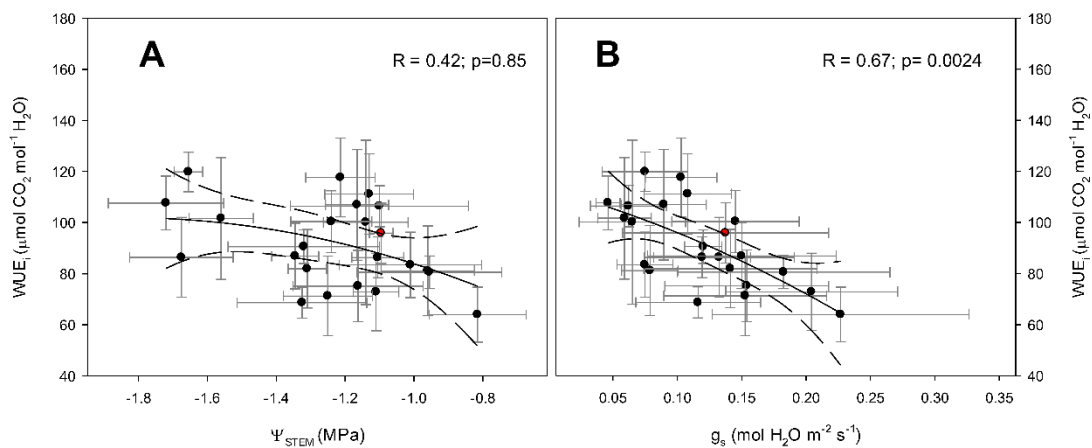


Fig. 1. Correlaciones entre la EUA_i (WUE_i) y el Ψ_{tallo} (A) y la g_s (B) obtenidas en diferentes variedades de vid. Los datos son la media con el error estándar. Las líneas de puntos son el intervalo de confianza de la regresión (95 %).

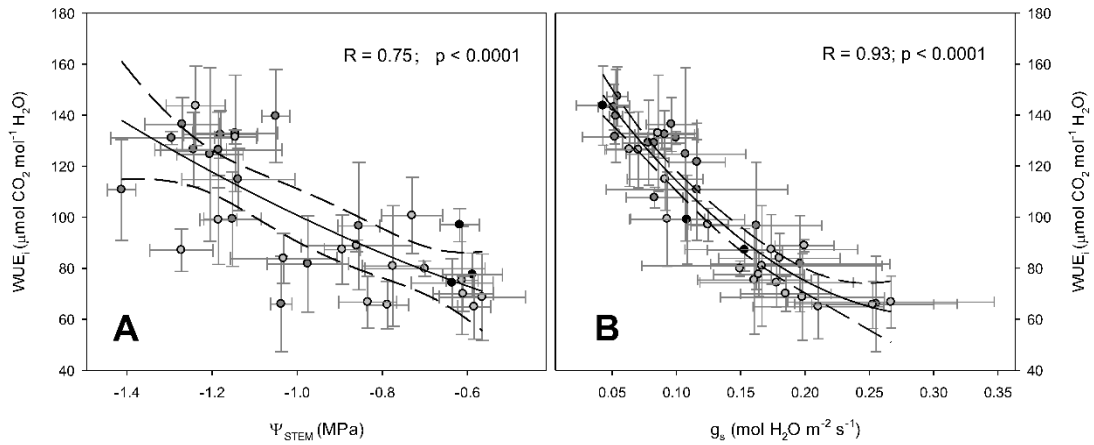


Fig. 2 Correlaciones entre la EUA_i (WUE_i) y el Ψ_{tallo} (A) y la g_s (B) obtenidas en diferentes variedades de vid. Los datos son la media con el error estándar. Las líneas de puntos son el intervalo de confianza de la regresión (95 %).

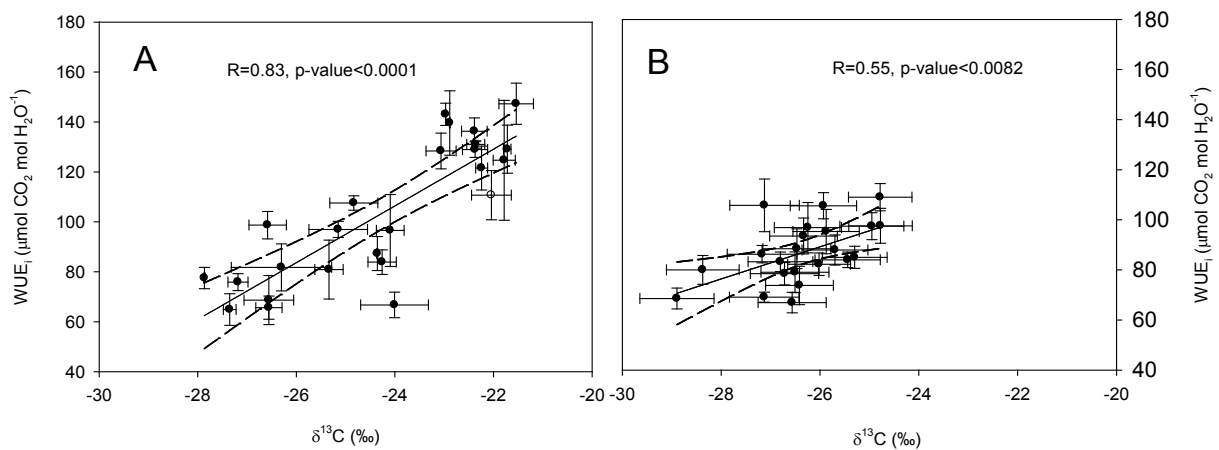


Fig. 3. Correlaciones entre la EUA_i y el δ¹³C en variedades (A) y clones de Tempranillo (B). Los datos son la media con el error estándar. Las líneas de puntos son el intervalo de confianza de la regresión (95 %).