

Respuestas de dos variedades de vid (*Vitis vinifera*) contrastantes al aumento de temperatura: fotosíntesis, eficiencia en el uso del agua y composición química de la baya

Por: Ingeniera Agrónoma

Agustina Eugenia Gallo

Director: Dr. Jorge Alejandro Prieto

Codirector: Dr. Jorge Esteban Perez Peña

Comité tutorial: Dra. Carina Verónica González

Dr. Thierry Simonneau

Jurado: Dra. Josefina Bota

Dra. Cecilia Rousseaux

Dr. Federico Berli

Tesis presentada como requerimiento parcial para obtener el grado de:

DOCTORA EN AGRONOMÍA

Universidad Nacional de Cuyo

Facultad de Ciencias Agrarias

2022



RESUMEN

El cambio climático impactará en la sostenibilidad de los sistemas tanto naturales como agrícolas. Debido al calentamiento global, para Mendoza se estima un aumento de temperatura de entre 2 a 3.5 °C para fin de siglo. La temperatura es uno de los principales factores que afecta el crecimiento y el rendimiento de las plantas. Además, la vid se caracteriza por una gran variabilidad intra-específica en las respuestas fisiológicas a variaciones ambientales. Al respecto, Syrah y Grenache son dos variedades estudiadas por presentar comportamientos contrastantes frente al déficit hídrico. Se espera que frente a un aumento de temperatura, estas variedades presenten respuestas diferentes. El objetivo de esta tesis fue evaluar el efecto de un aumento en la temperatura media aplicado durante todo el ciclo vegetativo, sobre la fotosíntesis, la eficiencia en el uso del agua y la composición química de la baya, en plantas de Syrah y Grenache en un viñedo de Luján de Cuyo, Mendoza. Se llevó a cabo un ensayo a campo durante 3 temporadas, en el que se compararon plantas sin restricción hídrica, crecidas a temperatura ambiente con plantas expuestas a un calentamiento medio de 1.1 (2016/17), 2.7 (2017/18) y 1.5 °C (2018/19), cuya variabilidad se asocia al uso de un sistema pasivo. Las respuestas evaluadas fueron capacidad fotosintética (carboxilación de la Rubisco y tasa de transporte de electrones), asimilación neta de CO₂, conductancia, longitud y densidad estomáticas, eficiencia en el uso del agua intrínseca (moles de CO₂ asimilado por mol de conductancia estomática) y del rendimiento (kg de uva respecto a lámina de riego aplicada), madurez y composición polifenólica de la uva. Los resultados obtenidos evidenciaron respuestas varietales en la aclimatación fotosintética y en la eficiencia en el uso del agua intrínseca. Las plantas calentadas de Grenache aumentaron la asimilación de C y la capacidad fotosintética con respecto al control; mientras que Syrah mantuvo tasas similares en las condiciones control y calentado. En ambas variedades se incrementó la temperatura óptima de la asimilación neta, pero en menor grado a medida que el calentamiento fue mayor. Esto indica que cuando la temperatura de crecimiento excede la óptima de la fotosíntesis, hay una limitación en la aclimatación. Además, Grenache calentado incrementó la conductancia estomática y la longitud de los estomas, lo que llevó a una disminución en la eficiencia en el uso del agua intrínseca con respecto al control. En Syrah, el comportamiento bajo el calentamiento y las condiciones control fue similar. Estos resultados mostraron que Grenache modificó su funcionamiento foliar para hacer frente al aumento de temperatura mientras que Syrah fue tolerante y mantuvo valores cercanos al óptimo. Debido al buen estado hídrico de las plantas, ambas variedades pudieron mantener la temperatura de la hoja en valores próximos a la del aire. No obstante, tanto Syrah como Grenache disminuyeron la eficiencia en el uso del agua del rendimiento en respuesta al calentamiento. Finalmente, se observó un mayor contenido de sólidos solubles y pH en la uva y un menor rendimiento en plantas calentadas de ambas variedades, con respecto a las plantas control. Los antocianos totales disminuyeron en las uvas de plantas calentadas, pero con mayor plasticidad en Syrah que en Grenache. Estos cambios en la uva pueden afectar negativamente la calidad del vino en ambas variedades. Los resultados de este estudio amplían la comprensión de los comportamientos varietales en respuesta a la temperatura para desarrollar estrategias de mitigación y adaptación de la viticultura al cambio climático.

Palabras clave: cambio climático, Syrah, Grenache, velocidad de carboxilación de la Rubisco, tasa de transporte de electrones, eficiencia en el uso del agua intrínseca, eficiencia en el uso del agua del rendimiento, plasticidad fenotípica.

ABSTRACT

Climate change will impact the sustainability of natural and agricultural systems. Due to global warming, an increase between 1.5 and 3.5 °C in mean temperature is expected for the grape-growing region Mendoza. Temperature is one of the main factors affecting plant growth and yield. Furthermore, grapevine is characterized by a high intra-specific variability in the physiological responses to environmental factors. In this regard, Syrah and Grenache are two varieties reported for having contrasting behaviors in response to water deficit. It is expected that under high temperature, these varieties would respond differently. The objective of this thesis was to evaluate the effect of an increase in the mean temperature applied throughout the vegetative cycle, on photosynthesis, water use efficiency and berry chemical composition in Syrah and Grenache plants, in a vineyard located at Luján de Cuyo, Mendoza. A field experiment was carried out for 3 seasons, in which well-watered plants grown at ambient temperature were compared with plants exposed to a mean heating of 1.1 (2016/17), 2.7 (2017/18) and 1.5 °C (2018/19). Variability in heating was due to the use of a passive system. The responses were evaluated in terms of photosynthetic capacity (Rubisco carboxylation rate and electron transport rate), net CO₂ assimilation, stomatal conductance, density and length, intrinsic water use efficiency (net assimilation related to stomatal conductance), yield water use efficiency (plant productivity related to total amount of water applied), and grape ripening and polyphenolic composition. The results evidenced varietal responses in photosynthetic acclimation and water use efficiency. Grenache heated plants increased the C assimilation and the photosynthetic capacity compared to control; while Syrah maintained similar rates in the control and heated conditions. In both varieties, the optimum temperature for net assimilation increased, but to a lesser degree as warming was higher indicating that when growth temperature exceed optimum temperature for photosynthesis, acclimation is limited. On the other hand, Grenache heated plants increased stomatal conductance and length, which led to a decrease in water use efficiency compared to control plants. While in Syrah, stomatal conductance and water use efficiency under heating and control conditions were similar. These results showed that Grenache modified its leaf functioning to cope with heating; whereas Syrah was tolerant since it maintained stomatal conductance and water use efficiency close to optimum values. As plants were under non-limiting water conditions, leaf temperature was near to air temperature. Nevertheless, yield water use efficiency decreased in heated plants for both varieties. Finally, a lower yield and a higher soluble solids content and pH were observed in grapes from heated plants, compared to control grapes. Anthocyanins decreased in heated grapes, but with higher plasticity in Syrah than in Grenache. These changes in grape composition may negatively affect wine quality. These results expand our understanding of varietal behaviors in response to temperature in order to develop strategies that help mitigate or adapt viticulture to climate change.

Key words: climate change, Syrah, Grenache, Rubisco carboxylation rate, electron transport rate, intrinsic water use efficiency, yield water use efficiency, phenotypic plasticity.

ÍNDICE

RESUMEN.....	2
ABSTRACT	3
ÍNDICE	4
LISTA DE TABLAS	8
LISTA DE FIGURAS.....	10
ABREVIATURAS	16
PRODUCCIÓN CIENTÍFICA Y DE DIVULGACIÓN	17
1. Artículos	17
2. Eventos científico-tecnológicos	17
3. Artículos de divulgación.....	17
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL.....	18
1. Contexto general de cambio climático	18
2. Contexto regional de cambio climático	19
2.1. Efectos observados	19
2.2. Proyecciones	20
3. Viticultura en un contexto de cambio climático	21
3.1. Consideraciones generales.....	21
3.2. Impacto de la temperatura sobre la fotosíntesis y el comportamiento estomático	23
3.3. Impacto de la temperatura sobre la madurez y la composición química de la uva	23
3.4. Estrategias de mitigación	24
4. Características de las variedades Syrah y Grenache	25
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	27
1. Hipótesis	27
1.1. Hipótesis general	27
1.2. Hipótesis específicas	27
2. Objetivos	28
2.1. Objetivo general.....	28
2.2. Objetivos específicos	28
CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES	29
1. Sitio y material vegetal	29
2. Diseño experimental.....	30
3. Sistema de calentamiento pasivo	31
4. Caracterización del tratamiento de temperatura	32
5. Condiciones meteorológicas.....	33

6. Estado hídrico	34
CAPITULO 3: MECANISMOS DE ACLIMATACIÓN FOTOSINTÉTICA A LA TEMPERATURA	35
1. Introducción.....	35
1.1. Fotosíntesis	35
1.2. Aclimatación de la fotosíntesis a la temperatura	36
1.3. Antecedentes en vid	38
2. Hipótesis específica	39
3. Objetivo específico	40
4. Materiales y métodos	40
4.1. Sitio y diseño experimental, material vegetal y tratamiento de temperatura	40
4.2. Curvas de respuesta de la fotosíntesis al CO ₂ a diferentes temperaturas	40
4.3. Marco teórico del modelo de Farquhar, von Caemmerer y Berry	41
4.4. Obtención de los parámetros velocidad de carboxilación de la Rubisco (V _{cmax}) y tasa de transporte de electrones (J _{max}).....	43
4.5. Respuesta a la temperatura de la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V _{cmax}) y de la tasa de transporte de electrones (J _{max})	44
4.5. Respuesta a la temperatura de la asimilación neta (A _n)	45
4.6. Análisis estadístico	46
4.7. Esquema del ensayo	47
5. Resultados	48
5.1. Condiciones meteorológicas durante el ensayo	48
5.2. Efectos del sistema de calentamiento pasivo en la temperatura del aire y en el déficit de presión de vapor a nivel de la canopia.....	48
5.3. Curvas A _n /C _i	50
5.4. Efectos del régimen térmico y de la variedad en la respuesta a la temperatura de la velocidad máxima de carboxilación de la Rubisco (V _{cmax})	50
5.5. Efectos del régimen térmico y de la variedad en la respuesta a la temperatura de la tasa máxima de transporte de electrones (J _{max}).....	55
5.6. Respuesta de la asimilación neta (A _n) a la temperatura	58
6. Discusión.....	61
6.1. Condiciones de temperatura alcanzadas durante el experimento	62
6.2. Las variedades se diferenciaron en la respuesta a la temperatura de los parámetros fotosintéticos.....	62
6.3. Las variedades difirieron en la aclimatación de la fotosíntesis a la alta temperatura	65
CAPÍTULO 4: ESTRATEGIAS VARIETALES PARA HACER FRENTE AL AUMENTO DE TEMPERATURA: COMPORTAMIENTO ESTOMÁTICO Y EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA....	68
1. Introducción.....	68
1.1. Definición de eficiencia en el uso del agua.....	68

1.2. Estrategias frente a estrés ambiental: evitar o tolerar	71
1.3. Respuestas de la eficiencia en el uso del agua a la temperatura en la vid	72
2. Hipótesis específica.....	74
3. Objetivo específico	74
4. Materiales y métodos	75
4.1. Sitio, material vegetal y caracterización del tratamiento	75
4.2. Tamaño y densidad estomáticos.....	75
4.3. Mediciones de intercambio de gases	76
4.4. Lámina de riego aplicada y eficiencia en el uso del agua del rendimiento.....	76
4.5. Análisis estadístico	77
5. Resultados	77
5.1. Condiciones climáticas durante el ensayo.....	77
5.2. Efectos del calentamiento pasivo en la temperatura de aire, de la hoja y en el déficit de presión de vapor	77
5.3. Efectos del régimen de temperatura en el tamaño de los estomas	81
5.4. Efectos del régimen de temperatura y la variedad en el intercambio de gases	82
5.5. Efectos del régimen de temperatura en la eficiencia en el uso del agua del rendimiento	88
6. Discusión.....	88
CAPÍTULO 5: PLASTICIDAD VARIETAL EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA BAYA	95
1. Introducción.....	95
1.1. Crecimiento y desarrollo de la baya	95
1.2. Familias de compuestos polifenólicos	98
1.3. Efectos de la temperatura en la composición de la baya.....	99
1.4. Plasticidad fenotípica	101
2. Hipótesis específica	102
3. Objetivo específico	102
4. Materiales y métodos	102
4.1. Sitio, material vegetal, diseño experimental y caracterización del tratamiento	102
4.2. Seguimiento de madurez y componentes del rendimiento	103
4.3. Determinaciones de antocianos y taninos totales.....	104
4.4. Plasticidad fenotípica: Normas de reacción.....	105
4.5. Análisis estadístico	106
5. Resultados	107
5.1. Efecto del calentamiento pasivo.....	107
5.2. Parámetros de madurez y componentes del rendimiento.....	108
5.3. Composición polifenólica: respuestas fenotípicas varietales	112

5.4. Relación sólidos solubles – antocianos.....	115
6. Discusión.....	116
CAPÍTULO 6: DISCUSIÓN DE HIPÓTESIS ESPECÍFICAS	121
Hipótesis específica 1 - Capítulo 3.....	121
Hipótesis específica 2 - Capítulo 4.....	122
Hipótesis específica 3 - Capítulo 5.....	123
CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES GENERALES	124
ANEXOS.....	125
Anexo S5. Protocolo para extracción de fenoles a partir de hollejos de bayas y para determinación de proantocianidinas y pigmentos poliméricos mediante el empleo de seroalbumina bovina.....	134
BIBLIOGRAFÍA.....	138

LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1: Parámetros (k_{25} , H_a , H_d y ΔS) de la respuesta a la temperatura de la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}), temperatura óptima (T_{opt}) y tasa óptima (V_{copt}) para plantas control y calentadas de Grenache y Syrah, en dos años de ensayos ajustados individualmente (2016/17 y 2017/18) y globalmente (2016/18).

Tabla 3.2: Test de F comparando los ajustes de las respuestas de la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax} , Figura 3.6) y de la tasa de transporte de electrones (J_{max} , Figura 3.7). El análisis estadístico se realizó para comparar el régimen de temperatura (control y calentado) dentro de cada variedad (Grenache o Syrah), las variedades entre sí, las temporadas individuales y el ajuste global.

Tabla 3.3: Parámetros (k_{25} , H_a , H_d y ΔS) de la respuesta a la temperatura de la tasa de transporte de electrones (J_{max}), temperatura óptima (T_{opt}) y tasa óptima (J_{opt}) para plantas control y calentadas de Grenache y Syrah, en dos años de ensayos ajustados individualmente (2016/17 y 2017/18) y globalmente (2016/18).

Tabla 3.4: Parámetros (A_{opt} , T_{opt} and $\Delta T_{80\%}$) de la respuesta a la temperatura de la asimilación neta (A_n). Temperatura óptima (T_{opt}), tasa de A_n a esa temperatura (A_{opt}) y rango de temperaturas para 80% de A_n optima ($\Delta T_{80\%}$), en plantas control y calentadas de Grenache y Syrah.

Tabla 4.1: Asimilación neta (A_n), conductancia estomática (g_s), eficiencia en el uso del agua intrínseca (EUA_{int}) y transpiración (E) en hojas del lado este y oeste de plantas de Grenache y Syrah, bajo condiciones calentadas y control.

Tabla 4.2. Eficiencia en el uso del agua del rendimiento (kg m^{-3}) en plantas de Grenache y Syrah, control y cultivadas en campo calentadas durante las cosechas 2017, 2018 y 2019.

Tabla 5.1: Fechas de cosecha y contenido de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) promedio para cada tratamiento (combinación variedad y régimen térmico) y año de cosecha.

Tabla 5.2: Soluciones auxiliares empleadas para la determinación de antocianos totales y taninos totales en extracto acuoso de uvas de Syrah y Greanche.

Tabla 5.3: Índices bioclimáticos de caracterización vitícola (grados días acumulados, Winkler y Heliotérmico) durante los meses octubre-marzo de las temporadas 2016/17, 2017/18 y 2018/19 en plantas de Syrah y Grenache calentadas y control.

Tabla 5.4: Parámetros medios de madurez (peso de baya, sólidos solubles, pH y acidez) en uvas de Grenache y de Syrah expuestas a dos regímenes de temperatura (control y calentadas) durante las temporadas 2017, 2018 y 2019.

Tabla 5.5: Componentes del rendimiento (kg pl⁻¹, racimos pl⁻¹ y peso del racimo) en plantas de Grenache y de Syrah expuestas a dos regímenes de temperatura (control y calentadas) en las cosechas 2017, 2018 y 2019.

Tabla 5.6: Compuestos polifenólicos totales determinados en envero, media madurez y cosecha, en plantas de Grenache y Syrah expuestas a temperatura ambiente y a calentamiento pasivo, durante las temporadas 2017, 2018 y 2019.

Tabla S3.1: Velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y tasa de transporte de electrones (J_{max}) en hojas de Syrah y Grenache calentadas y control, a temperaturas controladas de 20 a 40 °C. Los valores fueron determinados a través de las curvas A_n/C_i a temperaturas controladas de 20 a 40 °C (en intervalos de 5 °C) distintas temperaturas, durante dos temporadas de ensayos (2016/17 y 2017/18).

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1: Plano del viñedo donde se realizó el ensayo. Se aplicó un diseño de parcelas divididas, con el factor variedad asignado a la parcela principal (color verde oscuro para Syrah, verde manzana para Grenache) y el factor temperatura asignado a la subparcela (recuadro azul para el control y rojo oscuro para el calentado). Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, INTA.

Figura 2.2: Sistema de calentamiento pasivo (SCP) en parcelas de Syrah en brotación (izquierda) y Grenache en verano (derecha). Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, INTA.

Figura 2.3: Termocuplas de medición de temperatura de aire con abrigo de protección de la radiación solar.

Figura 2.4: Termocuplas de medición de temperatura de hoja adheridas a la cara abaxial.

Figura 3.1: Esquema simplificado de la fotosíntesis, las etapas fotoquímicas y bioquímicas y su localización en el cloroplasto. Tomado de Plant Physiology and Development, sexta edición, Taiz y Zeiger, 2015a.

Figura 3.2: Representación conceptual de los diferentes cambios que indican aclimatación de la asimilación de CO₂ a un aumento en la temperatura de crecimiento. Las condiciones control están representadas por la línea gruesa continua, la línea vertical de guiones largos y el punto negro. Las condiciones de elevada temperatura de crecimiento están representadas por la línea gruesa punteada, la línea vertical de guiones cortos y el punto blanco. Las flechas indican los cambios en la tasa de asimilación y la temperatura óptima discutidos en el texto (Capítulo 3, sección 1.2). Figura tomada de Way y Yamori, 2014 (Photosynthesis Research).

Figura 3.3: Ejemplo de una curva de Asimilación neta (A_n) en respuesta al CO₂ (representado en este caso como C_i en presión parcial, Pascales). Se muestran los valores observados de A_n (puntos azules), la fotosíntesis limitada por Rubisco (línea roja), por regeneración de la RuBP (línea verde) o por TPU (línea amarilla). Extraída de Sharkey et al., 2007.

Figura 3.4: Esquema general del ensayo indicando los tratamientos de temperatura (a y b) y la caracterización (c), duración del calentamiento (d) y período (e) de las mediciones de intercambio de gases. De las curvas A_n /CO₂ a diferentes temperaturas (f) se obtuvieron la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y la tasa de transporte de electrones (J_{max}) cuyas respuestas a la temperatura fueron caracterizadas con la ecuación de Arrhenius y los parámetros derivados (g). De los valores de asimilación neta (A_n) medidos a 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ CO₂ se construyó la respuesta a la temperatura de A_n y se caracterizó con la ecuación parabólica y los parámetros derivados (j).

Figura 3.5: Evolución estacional de la temperatura media diaria para los tratamientos control (azul) y calentado (rojo) durante las temporadas 2016/17 (A) y 2017/18 (B). Los valores representan la

media de 4 réplicas, dos en Syrah y dos en Grenache. La temperatura fue medida con termocuplas en la zona de racimos y registrada cada 20 minutos.

Figura 3.6: Respuesta a la temperatura de la Velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en plantas de Grenache control (A), Grenache calentado (B), Syrah control (C) y Syrah calentado (D). Los símbolos representan la media \pm error estándar para 3 o 4 réplicas por tratamiento. Las líneas representan la función de Arrhenius modificada, ajustada en cada estación individualmente (rojo y azul para 2016/17, gris y fucsia para 2017/18) y para ambas temporadas en conjunto (línea negra sólida). Se indican la temperatura y la tasa óptima de V_{cmax} (T_{opt} °C, V_{opt}) para el ajuste global de 2016/18. Los parámetros del ajuste de la ecuación de Arrhenius están presentados en la tabla 3.1.

Figura 3.7: Respuesta a la temperatura de la tasa de transporte de electrones (J_{max} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en plantas de Grenache control (A), Grenache calentado (B), Syrah control (C) y Syrah calentado (D). Los símbolos representan la media \pm error estándar para 3 o 4 réplicas por tratamiento. Las líneas representan la función Arrhenius modificada, ajustada en cada estación individualmente (rojo y azul para 2016/17, gris y fucsia para 2017/18) y para ambas temporadas en conjunto (línea negra sólida). Se indican la temperatura y la tasa óptima de J_{max} (T_{opt} °C, J_{opt}) para el ajuste global de 2016/18. Los parámetros del ajuste de la ecuación de Arrhenius están presentados en la tabla 3.3.

Figura 3.8: Respuesta a la temperatura de la asimilación neta (A_n , $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D) bajo tratamientos control (azul) y calentado (rojo), durante las temporadas 2016/17 (A-C) y 2017/18 (B-D). Los símbolos representan la media de 3 o 4 réplicas por tratamiento y las líneas representan la función parabólica ajustada. Las figuras insertadas representan la relación entre la temperatura de crecimiento (T_c , °C) y la temperatura óptima de A_n (T_{opt} , °C).

Figura 4.1: Eficiencia en el uso del agua (EUA) a diferentes escalas de medición y de incidencia de factores externos, desde nivel de hoja hasta el nivel de cuenca. A la izquierda se indican los factores que intervienen en las diferentes escalas, abreviaturas: H humedad, T temperatura, V viento y DPV déficit de presión de vapor. A la derecha en los recuadros de indica la relación que determina la eficiencia en el uso del agua para cada nivel. Abreviaturas: EUA_{int} eficiencia en el uso del agua intrínseca, EUA_{ins} instantánea, A_n asimilación neta de CO_2 , g_s conductancia estomática, E transpiración foliar, Qq quintales (100 kg). Se colorearon los recuadros de la EUA rendimiento y la EUA intrínseca, estudiadas en este trabajo. Adaptado de Medrano et al. (2014, 2018).

Figura 4.2: Flujos de carbono y agua que componen la eficiencia en el uso del agua a escala de la hoja. Esquema simplificado de la sección transversal de una hoja, mostrando la vía para la fijación CO₂ y la salida de H₂O. Tomado de Leakey et al., 2019.

Figura 4.3: Temperatura diaria del aire (A, C, E, G, I) y de la hoja (B, D, F, H, J) medidas en plantas calentadas (rojo) y control (azul). Un día al mes es presentado para ilustrar el patrón diario de temperatura. Los valores presentados son la media de 4 termocuplas para aire y hoja. El área sombreada gris coincide con el horario al cual se condujeron las mediciones de intercambio gaseoso.

Figura 4.4: Temperatura Media diaria del aire y de la hoja (A) y enfriamiento de la hoja (B, temperatura hoja – temperatura aire) para plantas de Grenache y Syrah calentadas (rojo, rosado) y control (azul, celeste). La barra representa la media para todo el periodo de ensayo (octubre-febrero) para n=2 en cada condición (variedad, temperatura y lado), la barra de error representa el error estándar. Las letras en la figura indican una diferencia significativa para un test LSD ($\alpha=0.05$), comparando el régimen de temperatura y el lado de la canopia, para cada variedad por separado (mayúsculas para Grenache, minúsculas para Syrah).

Figura 4.5: Déficit de presión de vapor medio del aire y de hoja-aire para plantas de Grenache y Syrah calentadas (rojo, rosado) y control (azul, celeste). La barra representa la media para todo el periodo de ensayo (octubre-febrero) para n=2 en cada condición (variedad, temperatura y lado), la barra de error representa el error estándar. Las letras en la figura indican una diferencia significativa para un test LSD ($\alpha=0.05$), comparando el régimen de temperatura y el lado de la canopia, para cada variedad por separado (mayúsculas para Grenache, minúsculas para Syrah).

Figura 4.6: Distribución de frecuencia relativa de la longitud de estomas para hojas del lado este y oeste de plantas de Grenache (A) y Syrah (B) calentadas (rojo) y control (azul). La significancia entre frecuencias relativas a cada intervalo está indicado con ** (p valor<0.05) y *** (p valor<0.01).

Figura 4.7: Evolución estacional de la asimilación neta (A_n) medida cada 15 días, desde 11/11/2016 (A-C, hojas lado este) o 26/12/2016 (B-D, hojas lado oeste) al 20/02/2017 en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D), bajo dos regímenes térmicos, calentadas (rojo) y control (azul). Los símbolos representan la media ± error estándar para n=8 plantas por tratamiento. Las letras indican un test LSD para $\alpha=0.05$ para la interacción de variedad y régimen térmico, comparando toda la curva y separadamente hojas del lado este (mayúsculas) y oeste (minúsculas).

Figura 4.8: Evolución estacional de la conductancia estomática (g_s) medida cada 15 días, desde 11/11/2016 (A-C, hojas lado este) o 26/12/2016 (B-D, hojas lado oeste) al 20/02/2017 en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D), bajo dos regímenes térmicos, calentadas (rojo) y control (azul). Los símbolos representan la media ± error estándar para n=8 plantas por tratamiento. Las letras

indican un test LSD para $\alpha=0.05$ para la interacción de variedad y régimen térmico, comparando toda la curva y separadamente hojas del lado este (mayúsculas) y oeste (minúsculas).

Figura 4.9: Evolución estacional de la transpiración foliar (E) medida cada 15 días, desde 11/11/2016 (A-C, hojas lado este) o 26/12/2016 (B-D, hojas lado oeste) al 20/02/2017 en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D), bajo dos regímenes térmicos, calentadas (rojo) y control (azul). Los símbolos representan la media \pm error estándar para $n=8$ plantas por tratamiento. Las letras indican un test LSD para $\alpha=0.05$ para la interacción de variedad y régimen térmico para hojas del lado oeste (minúsculas) y sólo para variedad en hojas del lado este (mayúsculas), comparando toda la curva.

Figura 4.10: Evolución estacional de la eficiencia en el uso del agua intrínseca (EUA_{int} , A_n/g_s) medida cada 15 días, desde 11/11/2016 (A-C, hojas lado este) o 26/12/2016 (B-D, hojas lado oeste) al 20/02/2017 en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D), bajo dos regímenes térmicos, calentadas (rojo) y control (azul). Los símbolos representan la media \pm error estándar para $n=8$ plantas por tratamiento. Las letras indican un test LSD para $\alpha=0.05$ para la interacción de variedad y régimen térmico, comparando toda la curva y separadamente hojas del lado este (mayúsculas) y oeste (minúsculas).

Figura 5.1: Desarrollo y crecimiento de la baya. Se indican la primera fase de formación (cuaje y división celular), la segunda fase (lag), el envero y la tercera fase (madurez). Se indica en cada una la duración estimada en días después de floración (eje X), los principales eventos (recuadros verdes), los compuestos que se sintetizan y acumulan (rectángulo gris) y las vías de transporte a la baya (celeste xilema y rosado floema). Figura tomada de Keller, 2015b, adaptada de Coombe y McCarthy, 2000.

Figura 5.2: Resumen de los efectos de las temperaturas diurnas y/o nocturnas elevadas en los flavonoides de uvas. Se indican diferentes escalas de aplicación de los tratamientos de temperatura, planta entera, racimo y baya. PAs corresponde a proantocianidinas. Extraído de Gouot et al., 2019.

Figura 5.3: Diferencia en la temperatura del aire media diaria entre plantas calentadas y control durante los meses de octubre a principios de marzo para las temporadas 2016/17 (turquesa), 2017/18 (violeta) y 2018/19 (naranja).

Figura 5.4: Evolución estacional del peso fresco de baya (g) medido cada 10 días, desde enero a cosecha en uvas de plantas de Grenache (\blacktriangle , línea continua) y Syrah (\blacksquare , línea punteada) bajo condiciones control (azul) y calentadas (rojo); durante las temporadas 2017 (A) y 2018 (B). Los símbolos representan la media \pm error estándar para 5 repeticiones por tratamiento. Las líneas representan una ecuación cuadrática ajustada para cada tratamiento.

Figura 5.5: Evolución estacional del contenido de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) medido cada 10 días, desde envero a cosecha en uvas de plantas de Grenache (\blacktriangle) y Syrah (\blacksquare) bajo condiciones control (azul) y calentadas (rojo); durante las temporadas 2017 (A) y 2018 (B). Los símbolos representan la media \pm error estándar para 5 repeticiones por tratamiento. Las líneas unen las diferentes fechas de muestreo.

Figura 5.6: Evolución estacional del pH medido cada 10 días, desde envero a cosecha en uvas de plantas de Grenache (\blacktriangle) y Syrah (\blacksquare) bajo condiciones control (azul) y calentadas (rojo); durante las temporadas 2017 (A) y 2018 (B). Los símbolos representan la media \pm error estándar para 5 repeticiones por tratamiento. Las líneas unen las diferentes fechas de muestreo.

Figura 5.7: Norma de reacción de taninos totales (mg baya^{-1}) para Grenache (\blacktriangle , línea continua) y Syrah (\blacksquare , línea punteada) en respuesta a la media ambiental según el tratamiento de temperatura (calentado, rojo; control, azul). Los puntos representan los valores de taninos totales de las temporadas 2017 y 2018, de muestras tomadas en envero, media madurez y cosecha.

Figura 5.8: Norma de reacción de antocianos totales (mg baya^{-1}) para Grenache (\blacktriangle , línea continua) y Syrah (\blacksquare , línea punteada) en respuesta a la media ambiental según el tratamiento de temperatura (calentado, rojo; control, azul). Los puntos representan los valores de antocianos totales de las temporadas 2017 y 2018, de muestras tomadas en envero, media madurez y cosecha.

Figura 5.9: Relación entre sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) y antocianos totales (mg baya^{-1}) para plantas de Grenache (\blacktriangle , línea continua) y Syrah (\blacksquare , línea punteada) calentadas (rojo) y control (azul). Las líneas representan una regresión lineal, ajustada considerando en conjunto las determinaciones en 2017 y 2018.

Figura S2.1: Plano de viñedo experimental donde se realizó el ensayo. El viñedo cuenta con 13 variedades de vid, hileras plantadas norte-sur y formando 9 bloques en sentido este-oeste. La unidad de cada bloque está formada por dos claros consecutivos, con 5 plantas cada uno. Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, INTA.

Figura S2.2: Temperatura de aire para un día representativo (28/12/2016) medida a tres alturas del espaldero (A 0.8, B 1.2 y C 1.5 m) en plantas calentadas mediante el Sistema de Calentamiento Pasivo (rojo) y control (azul). Se observa mayor temperatura en las plantas calentadas para las alturas 0.8 y 1.2 m, a partir de 1.5 m no hay diferencias. Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, INTA.

Figura S2.3: Potencial hoja (Ψ , MPa) medio día (A, B línea en guiones) y pre amanecer (A, línea continua) medido cada 15 días en plantas de Grenache (\blacktriangle) y Syrah (\blacksquare) expuestas a condiciones control (azul) y calentadas (rojo) durante las temporadas 2017/18 (A) y 2018/19 (B). Los valores representan la media \pm error estándar de 5 plantas por tratamiento (combinación variedad-temperatura).

Figura S3.1: Evolución estacional de la temperatura máxima diaria para los tratamientos control (azul) y calentado (rojo) durante las temporadas 2016/17, 2017/18 (B) y 2018/19 (C). Los valores representan la media de 4 réplicas, dos en Syrah y dos en Grenache. La temperatura fue medida con termocuplas en la zona de racimos y registrada cada 20 minutos.

Figura S3.2: Evolución estacional de la temperatura mínima diaria para los tratamientos control (azul) y calentado (rojo) durante las temporadas 2016/17, 2017/18 (B) y 2018/19 (C). Los valores representan la media de 4 réplicas, dos en Syrah y dos en Grenache. La temperatura fue medida con termocuplas en la zona de racimos y registrada cada 20 minutos.

Figura S3.3: Curvas A_n/C_i a 25, 30 y 40 °C en plantas de Grenache control (A), Grenache calentado (B), Syrah control (C) y Syrah calentado (D) durante 2016/17. Las curvas a 20 y 35 °C no se presentan para mejor claridad en la figura. Los valores representan la media ± desvío estándar para 3 o 4 réplicas por tratamiento.

Figura S3.4: Curvas A_n/C_i a 25, 30 y 40 °C en plantas de Grenache control (A), Grenache calentado (B), Syrah control (C) y Syrah calentado (D) durante 2017/18. Las curvas a 20 y 35 °C no se presentan para mejor claridad en la figura. Los valores representan la media ± desvío estándar para 3 o 4 réplicas por tratamiento.

Figura S4.1: Evolución estacional de la eficiencia en el uso del agua instantánea (EUA_{ins}) medida cada 15 días, desde 11/11/2016 (A-C, hojas lado este) o 26/12/2016 (B-D, hojas lado oeste) al 20/02/2017 en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D), bajo dos regímenes térmicos, calentadas (rojo) y control (azul). Los símbolos representan la media ± error estándar para n=8 plantas por tratamiento. Se realizó un MLM para medidas repetidas en el tiempo (factores fijos variedad, temperatura y día de medición; factores aleatorios parcela principal, subparcela y planta). Las letras indican un test LSD para $\alpha=0.05$ para la interacción de variedad y régimen térmico, comparando toda la curva y separadamente hojas del lado este (mayúsculas) y oeste (minúsculas).

ABREVIATURAS

C_i	Concentración de CO ₂ en los espacios intercelulares ($\mu\text{mol mol}^{-1}$)
e_{sat}	Presión de vapor de agua en saturación (kPa)
e_a	Presión de vapor de agua actual (kPa)
a	Pendiente de norma de reacción (adimensional)
A_n	Asimilación neta de CO ₂ ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
A_{opt}	Asimilación neta de CO ₂ a la temperatura óptima ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
a_{opt}	Pendiente de regresión lineal entre la temperatura óptima de la asimilación neta y la temperatura de crecimiento ($^{\circ}\text{C} ^{\circ}\text{C}^{-1}$)
DPV	Déficit de presión de vapor (kPa)
E	Transpiración foliar ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
EUA	Eficiencia en el uso del agua
EUA_{ins}	Eficiencia en el uso del agua instantánea ($\mu\text{molCO}_2/\text{molH}_2\text{O}$)
EUA_{int}	Eficiencia en el uso del agua intrínseca ($\mu\text{molCO}_2/\text{molH}_2\text{O}$)
g_m	Conductancia del mesófilo
g_s	Conductancia estomática ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
H_a	Energía de activación (kJ mol ⁻¹)
H_d	Energía de desactivación (kJ mol ⁻¹)
IH	Índice heliotérmico
IW	Índice de Winkler
J_{max}	Tasa máxima de transporte de electrones ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
J_{max}²⁵	Tasa máxima de transporte de electrones a la temperatura de referencia (25 °C, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
J_{opt}	Tasa de transporte de electrones a la temperatura óptima ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
SCP	Sistema de calentamiento pasivo
T_{aire}	Temperatura de aire (°C)
T_c	Temperatura de crecimiento (°C)
T_{hoja}	Temperatura de hoja (°C)
T_{opt}	Temperatura óptima (°C)
V_{cmax}	Velocidad máxima de carboxilación de la Rubisco ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
V_{cmax}²⁵	Velocidad máxima de carboxilación de la Rubisco a la temperatura de referencia (25 °C, $\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
V_{copt}	Velocidad de carboxilación de la Rubisco a la temperatura óptima ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)
ΔS	Término de entropía (adimensional)
Ψ_m	Potencial hídrico de hoja a mediodía (MPa)
Ψ_p	Potencial hídrico de hoja en pre-amanecer (MPa)

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA Y DE DIVULGACIÓN

1. Artículos

- Mechanisms underlying photosynthetic acclimation to high temperatures are different between *Vitis vinifera* cv. Syrah and Grenache. Gallo A.E., Perez Peña J.E., Prieto J.A. 2020. **Functional Plant Biology**, 48, 342-357. <https://doi.org/10.1071/FP20212>
- Syrah and Grenache (*Vitis vinifera*) revealed different strategies to cope with high temperature. Gallo A.E., Perez Peña J.E., Gonzalez C.V, Prieto J.A. **Australian Journal of Grape and Wine Research**. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12530>

2. Eventos científico-tecnológicos

- Temperature responses of Rubisco carboxylation rate and electron transport rate in two grapevine varieties with contrasting stomatal behavior. Gallo A., Perez Peña J., Prieto J.A. 2018. XXXII Reunión Argentina y XVI Congreso Latinoamericano de Fisiología Vegetal. Córdoba, Argentina.
- Effects of temperature on gas exchange and berry composition in two grapevine varieties. Gallo A., Bustos M., Fanzone M., Sari S., Martinelli D., Pelegrina L., Calabrese N., Perez Peña J., Prieto J.A. 2018. 41º Congreso Mundial de la Vid y el Vino. Punta del Este, Uruguay.
- Temperature response of photosynthesis in field-grown grapevine varieties. Gallo, A., Prieto, J.A, Gomez Talquenca, S., Perez Peña, J. 2017. Simposio de Genómica Funcional de Plantas. Rosario, Argentina.
- Photosynthetic response to temperature in two grapevine varieties (*Vitis vinifera* L.) Gallo A., Prieto J.A., Perez Peña J. 2016. XXXI Reunión Argentina de Fisiología Vegetal. Corrientes, Argentina.

3. Artículos de divulgación

- Cambio climático: qué esperar de las variedades Garnacha y Syrah. Agustina Gallo. **Diario Los Andes**, suplemento Fincas, Mendoza, 15/05/2021.
(<https://www.losandes.com.ar/fincas/cambio-climatico-que-esperar-de-las-variedades-garnacha-y-syrah/?fbclid=IwAR3YRx9RfniT9WeU7zU3Y3srCnyX8CGx27VRF7745EYSzRMxNBtSc1sxhLg>, accedido el 11/07/2021)
- Photosynthetic acclimation to high temperature in Syrah and Grenache. **Science & Wine Blog**. A. Gallo, J. Perez Peña, J.A. Prieto, 28/03/2021.
(<https://www.ciencia-e-vinho.com/2021/03/28/photosynthetic-acclimation-to-high-temperature-in-syrah-and-grenache/>, accedido el 05/08/2021)

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL

1. Contexto general de cambio climático

El cambio climático es uno de los procesos que más urge atender en términos ecológicos, económicos y sociales. Según la Convención Marco de las Naciones Unidas sobre el Cambio Climático (CMNUCC) se trata del “**cambio de clima atribuido directa o indirectamente a la actividad humana que altera la composición de la atmósfera global y que se suma a la variabilidad natural del clima observada durante períodos de tiempo comparable**”. Esta definición distingue entre los cambios producto de la combinación de las variaciones climáticas inducidas por las actividades humanas y los cambios sobrepuertos en la variabilidad natural propia del sistema climático (Informe sobre la Evaluación del Grupo de Expertos sobre Cambio Climático, IPCC por sus siglas en inglés, 2013; Villalba, 2007). El impacto y la necesidad de atender esta problemática son de tal magnitud, que diversos sectores de la sociedad se refieren a estos procesos como crisis climática.

Los principales factores ambientales que tendrán variaciones a nivel global son la temperatura y las precipitaciones. En cuanto a la temperatura, ya se registra un aumento de alrededor de 0.87 °C para la temperatura media global (tierra y océano) y de 1.53 °C para la temperatura media de la tierra, con respecto a valores del período pre industrial (1850-1900; IPCC, 2019a). Este calentamiento es debido a la emisión de gases de efecto invernadero, de origen principalmente antropogénico. Los mismos actúan como un filtro opaco a la radiación infrarroja re-emitida por la superficie terrestre, y consecuentemente aumenta la temperatura de la atmósfera (Boninsegna, 2014). El vapor de agua (H_2O), el dióxido de carbono (CO_2), el óxido nitroso (N_2O), el metano (CH_4) y el ozono (O_3) son los gases de efecto invernadero primarios de la atmósfera terrestre a los que se suman otros enteramente antropogénicos como los halocarburos y otras sustancias con bromo y cloro. Debido al efecto invernadero, es probable que el calentamiento global en superficie llegue a 1.5 °C entre 2030 y 2052 (IPCC, 2019b). Este incremento no es uniforme en toda la tierra, sino que se concentra especialmente en las zonas continentales del hemisferio norte, alterando la circulación atmosférica y la distribución de precipitaciones (Boninsegna, 2014). En consecuencia, se proyecta para diferentes regiones un aumento de los episodios de calor extremo, de precipitaciones intensas, de la probabilidad de sequía y de déficits de precipitación (IPCC, 2019a). Es importante señalar que el aumento a nivel global ya es palpable y observable; por ejemplo la década 2011-2020 ha sido la más cálida, mientras que los años 2016 y 2020 han sido los años más calurosos desde que se tienen registros.

Otros aspectos a considerar con respecto al cambio climático incluyen un aumento en la desertificación de tierras por interacciones entre el incremento de la temperatura y la evapotranspiración, y la disminución en las precipitaciones (IPCC, 2019a). En los océanos se espera un aumento del nivel de entre 0.26 y 0.70 m debido al derretimiento de los glaciares polares (IPCC,

2019b). También en los océanos habrá una mayor acidificación y una menor disponibilidad de oxígeno con efectos varios como alteraciones en la distribución de especies y disminuciones de los arrecifes de coral y de los recursos pesqueros. Se estima, por otro lado, una pérdida de biodiversidad que llevará a la transformación de entre el 4% y el 10% de los ecosistemas de la superficie terrestre (IPCC, 2019b).

Si bien existe gran variabilidad debido a la multiplicidad de factores que intervienen en las proyecciones del cambio climático, se puede generalizar que hay un riesgo en aumento para los sistemas naturales y humanos. Algunos efectos negativos para las poblaciones humanas serán sobre la salud, la seguridad alimentaria, el suministro de agua y el crecimiento económico. Una gran parte de este riesgo guarda estrecha relación con el impacto que puede tener el cambio climático sobre la agricultura, debido a que los rendimientos de los cultivos están fuertemente influenciados por las condiciones climáticas (Cabré y Nuñez, 2020). No obstante, en regiones de latitudes elevadas el rendimiento de algunos cultivos extensivos (como maíz, remolacha azucarera, trigo) ha cambiado positivamente en las décadas recientes (IPCC, 2019a). El incremento de temperatura media también podría permitir expandir zonas de cultivos (como por ejemplo la vid) en latitudes extremas (Mosedale et al., 2016).

Una alternativa para mitigar los efectos negativos del cambio climático es implementar rápida y efectivamente estrategias globales de adaptación. A tal efecto, las tasas netas de emisión de CO₂ y de otros gases de efecto invernadero deberían llevarse a valores iguales a cero o negativas (IPCC, 2019b). Incluso en escenarios de bajas emisiones, se estiman aumentos de temperatura de alrededor de 1.5 °C para fin de siglo (IPCC, 2014). Otras acciones posibles de ejecución son la disminución en el consumo, uso de recursos y desperdicio de alimentos, así como disminuir el consumo de alimentos asociados a altas emisiones de gases de efecto invernadero. Cambios en el uso de suelo, fomento de la forestación y uso de energías renovables también tendrán un alto impacto. Es importante considerar que para lograr mitigar efectivamente los efectos del cambio climático múltiples actores de la sociedad como agentes estatales y privados, inversionistas, la sociedad civil y las instituciones científicas deben colaborar en su conjunto.

2. Contexto regional de cambio climático

2.1. Efectos observados

Los oasis productivos del centro-oeste de Argentina son zonas altamente vulnerables a los cambios de temperatura y de precipitaciones (Boninsegna, 2014). Esta región, comprendida por las provincias de Mendoza y San Juan, debe su desarrollo agrícola al aporte hídrico de la nieve que se acumula en la cordillera de los Andes durante el invierno. En primavera y verano, la fusión de la nieve

incrementa los caudales de los ríos, de los que dependen las actividades de agroindustria, turismo, generación de hidroelectricidad y consumo poblacional.

En esta región (precisamente el valle, al este de la cordillera), se ha observado una tendencia al aumento de las temperaturas media y mínima de primavera y verano, particularmente a partir de la década del 1970 (Boninsegna, 2014; Deis et al., 2015). Este aumento también se ha observado en la cordillera, con el consecuente cambio en el régimen hídrico de los ríos. Las elevadas temperaturas primaverales producen una fusión temprana de la nieve y por ello se adelanta el pico de escorrentía de los ríos, que puede ocasionar una menor disponibilidad hídrica para los cultivos a fines de verano (Boninsegna, 2014; Villalba, 2007). Otra alteración en el régimen hídrico de la región de Cuyo tiene que ver con un aumento de las precipitaciones estivales, caracterizadas por manifestarse en eventos cortos, abundantes y en ocasiones acompañados de granizo (Boninsegna, 2014). A modo de ejemplo, recientemente se registró en un día (el 12/11/2020) en Mendoza una precipitación de 56 mm, la cual representa un 25% de las precipitaciones que deberían ocurrir en un año y es la tormenta de mayor intensidad registrada históricamente para el mes de noviembre (Servicio Meteorológico Nacional, www.smn.gob.ar)

Por otro lado, existe una alta correlación entre la cantidad de nieve caída en la estación invernal con los caudales de los ríos durante el periodo estival. Se ha observado una tendencia negativa general en los caudales de los ríos desde 1950, con algunos períodos de recuperación (Boninsegna, 2014). Sin embargo, en años donde las precipitaciones níveas en la cordillera son escasas, los ríos mantienen caudales mayores a los esperados y esto se debe a un aporte extra de agua por derretimiento de los glaciares de montaña. De este modo, los glaciares constituyen un elemento de gran utilidad para estudiar variaciones climáticas debido a su estabilidad y a que los cambios producidos quedan evidenciados en el paisaje. Se ha observado que existe en los glaciares de la región de Cuyo una marcada retracción iniciada a principios del siglo XX (Boninsegna, 2014; Villalba, 2007). La misma puede estar relacionada al aumento de temperatura, a la menor precipitación nívea o a ambas en conjunto (Boninsegna, 2014).

2.2. Proyecciones

La variabilidad y los cambios observados en la temperatura y las precipitaciones presentes representan una fuente de información valiosa para estimar las condiciones climáticas futuras. Esta información es un insumo clave para modelos de simulación que arrojan como resultado posibles escenarios futuros. Los modelos son capaces de simular las características globales del clima y de sus cambios en el pasado reciente y por lo tanto son útiles como herramientas para el desarrollo de escenarios climáticos futuros a nivel global. No obstante, su precisión a escala regional es menor (Centro de Investigaciones del Mar y la Atmósfera, CIMA, 2015). Por esto, el uso reciente de modelos

de circulación locales ha permitido incrementar la resolución y la precisión en las estimaciones para zonas de gran variabilidad espacial como las cordilleranas (Boninsegna, 2014). Estos modelos se basan en diferentes escenarios que consideran acciones de mitigación y sus consecuentes emisiones de gases de efecto invernadero y calentamiento asociado. Tomando un modelo local (denominado MM5; Cabré et al., 2016) y un escenario moderadamente pesimista (escenario A2), se proyecta en Mendoza para fines de este siglo un aumento en la temperatura media anual de alrededor de 1.5 °C en la zona del valle y de alrededor de 3.5 °C en las zonas de cordillera (Cabré y Nuñez, 2020; Cabré et al., 2016). Una consecuencia de este calentamiento podría ser una reducción de alrededor del 50% en el área de la cuenca cordillerana con nieve permanente. Esta variación tendría mayor impacto en las cuencas del sur de la provincia de Mendoza debido a su menor altura (Boninsegna, 2014).

Con respecto a las precipitaciones, se esperan tendencias opuestas en el valle (precipitaciones estivales) y en la cordillera (precipitaciones invernales). Por un lado, se advierte que dentro de 70 años las precipitaciones de verano podrían aumentar considerablemente en el valle y el piedemonte de las provincias de Mendoza y San Juan. Por el contrario, se produciría una reducción de las precipitaciones invernales en la Cordillera. Estas proyecciones son consistentes con las tendencias observadas durante fines del siglo XX y principios del siglo XXI (Hulme y Sheard, 1999; Villalba, 2007). No obstante, estudios del CIMA (2015) proyectan incrementos o disminuciones en las precipitaciones del orden del 10% con respecto a los valores actuales. Esta variación podría estar dentro del rango de error de las estimaciones, y en consecuencia se podría asumir que no habría mayores cambios en la precipitación en un futuro cercano o incluso lejano (CIMA, 2015). En los trabajos previamente citados (Boninsegna 2014; Cabré y Nuñez, 2020; Cabré et al., 2016) tanto la temperatura como la precipitación fueron estimadas con un grado de confianza medio a alto (CIMA, 2015; Hulme y Sheard, 1999). Es importante tener en cuenta que las proyecciones de cambio climático tienen mucha variabilidad y no siempre representan adecuadamente el clima de una región. El uso de modelos climáticos de menor escala geográfica ayuda a una mayor precisión en las estimaciones.

3. Viticultura en un contexto de cambio climático

3.1. Consideraciones generales

La vid (*Vitis vinifera* L.) es el cultivo frutal más importantes del mundo, con alrededor 7 millones de ha cultivadas a lo largo de todo el mundo (FAO, 2018). Presenta una gran diversidad genética, con más de 5000 variedades conocidas (Wolkovich et al., 2018). Su producción y su calidad están determinadas por fuertes interacciones entre factores genéticos, climáticos y edáficos como así también con las prácticas humanas y la cultura de cada región. Esto convierte a la viticultura en un área de gran interés para evaluar los impactos del cambio climático, por la variabilidad de escenarios donde

se cultiva y por el posible desarrollo de estrategias de mitigación de implementación en el corto y largo plazo (Wolkovich et al., 2018). Además, los cambios en el ciclo fenológico del cultivo observados en diferentes regiones, pueden utilizarse como indicadores del cambio climático (Cabré et al., 2016; Mosedale et al., 2016). Por este motivo, la viticultura ha sido fuente de estudio para los cambios climáticos históricos y contemporáneos (Mosedale et al., 2016). En Argentina, la vid es el cultivo frutícola más importante y representa el 38% de la superficie cultivada con frutales (Sanchez, 2020). Abarca 215300 ha de las cuales el 91.5% se concentra en las provincias de Mendoza y San Juan, con 151490 y 45337 ha cada una (INV, 2019).

Con respecto a las proyecciones climáticas, el aumento de temperatura puede ser perjudicial para algunas zonas vitícolas mientras que otras podrían verse beneficiadas. De manera general, el calentamiento medio de entre 1.5 a 4 °C tendría un impacto negativo en Mendoza y San Juan, en particular en algunas zonas que actualmente son cálidas (por ej. Norte y Este de Mendoza). En estas regiones, las consecuencias de un aumento de temperatura podrían implicar un mayor consumo hídrico por parte del cultivo, un adelanto en el ciclo fenológico con una mayor exposición a heladas primaverales y cambios en la composición de la uva que podrían afectar negativamente su calidad para vinificar (Mira de Orduña, 2010; Petrie y Sadras, 2008). Sin embargo, zonas próximas a la cordillera y a mayor altitud (algunos valles cordilleranos de Mendoza, San Juan y otras provincias como La Rioja y Catamarca), podrían verse beneficiadas, permitiéndose el cultivo de mayor diversidad de variedades tanto actuales como nuevas. Esta misma situación se presenta en otras regiones vitícolas del mundo, en las que la estación de crecimiento es más corta por estar localizadas en altura o a elevadas latitudes, como las del norte y centro de Europa. En estas zonas frías, una mayor acumulación de temperatura y una prolongación en la estación de crecimiento serían favorables para la estabilidad en los rendimientos (Cabré et al., 2016; Mosedale et al., 2016). Por el contrario y tal como se señaló anteriormente, los modelos climáticos indican que las áreas actualmente cálidas pueden evolucionar hacia condiciones climáticas más desfavorables poniendo en riesgo su sostenibilidad en el largo plazo (Mosedale et al., 2016; Santillán et al., 2019).

Otro de los aspectos a considerar es el cambio en las precipitaciones, tanto en su magnitud como en la distribución estacional. Pese a los resultados variables que hay en torno a las proyecciones, la disminución de las precipitaciones níveas a nivel local perjudicará el cultivo de la vid ya que habrá menos agua disponible para la agricultura bajo riego y para las demás actividades humanas. Esto podría ocasionar estrés hídrico en el cultivo que si no es controlado en el tiempo o moderado en su intensidad, puede afectar el rendimiento, la calidad y la sostenibilidad del viñedo (Chaves et al., 2010; Flexas et al., 2010; Medrano et al., 2014). Por lo tanto, aumentar la eficiencia en el uso del agua tanto en la distribución como a nivel del cultivo, puede tener un impacto positivo en el resto del oasis, debido al gran área que ocupan los viñedos y al volumen de agua que se les destina. En cuanto a la variación

estacional, el incremento de precipitaciones estivales, al ser de gran magnitud e intensidad, y a menudo acompañadas de granizo, serían difíciles de aprovechar en el balance hídrico de los cultivos. Además, las lluvias estivales afectarían la producción de uva al favorecer (con condiciones de mayor humedad) el desarrollo de enfermedades criptogámicas (podredumbres principalmente), haciendo más difícil su control y afectando el rendimiento y la calidad de la uva (Villalba 2007).

3.2. Impacto de la temperatura sobre la fotosíntesis y el comportamiento estomático

Uno de los procesos fisiológicos más sensible a la temperatura es la fotosíntesis. En un contexto de calentamiento global, entender los mecanismos involucrados en su respuesta a la temperatura resulta de gran importancia para la agricultura en general (Yamori et al., 2014). Cuando aumenta la temperatura a la que crece la planta (temperatura de crecimiento, T_c), la fotosíntesis puede aclimatarse resultando en una optimización de la tasa fotosintética en el ambiente más cálido, con respecto al ambiente inicial (Berry y Bjorkman, 1980). Los mecanismos involucrados en la aclimatación no están bien dilucidados, pero en una especie con metabolismo C3 como la vid, incluyen procesos como la carboxilación de la Ribulosa por parte de la Rubisco, la tasa de transporte de electrones (Farquhar et al., 1980) y la respiración (Way y Yamori, 2014). Este punto se abordará en detalle en el capítulo 3. Por otra parte, en vid se han reportado comportamientos estomáticos contrastantes (de tipo aniso/isohídrico) entre variedades frente a déficit hídrico (Prieto et al., 2010; Schultz, 2003a; Soar et al., 2006). Al respecto, las variedades Syrah y Grenache son dos de las más estudiadas. La respuesta frente al déficit hídrico podría tener relación con la respuesta a la temperatura (Edwards et al., 2011; Soar et al., 2009). Algunos estudios han reportado un incremento en la conductancia estomática, acompañada por un mayor tamaño de los estomas en plantas expuestas a un calentamiento (Galat Giorgi et al., 2019; Sadras et al., 2012). No obstante, la respuesta estomática y su relación con la EUA frente a un aumento de temperatura ha sido poco estudiada. El impacto de la temperatura sobre el comportamiento estomático y la eficiencia en el uso del agua se tratará en el capítulo 4.

3.3. Impacto de la temperatura sobre la madurez y la composición química de la uva

La temperatura afecta la fenología, el rendimiento, la acumulación de azúcar y la síntesis de metabolitos secundarios en la baya, con consecuencias en su composición y por lo tanto, en el vino. Frente a un aumento de temperatura, se han evidenciado respuestas variables en diferentes estudios, pero generalmente se observa un mayor contenido de sólidos solubles y pH y una menor acidez total en algunas variedades (Sadras et al., 2013). Estas diferencias se relacionaron con la plasticidad

fenotípica, es decir, cuánto se modifica un determinado rasgo fenotípico de un genotipo, frente a variaciones en el ambiente (Sadras et al., 2009a). En variedades tintas, se ha reportado un menor contenido de antocianos frente a un aumento de temperatura (Mori et al., 2007a, 2007b), habiendo un desacople en la acumulación de azúcares y síntesis de antocianos que podría perjudicar la calidad del vino (Sadras et al., 2013). A su vez, el perfil de antocianos cambia, aumentando la proporción de antocianos trihidroxilados, metoxilados o acilados, que son las formas más estables (de Rosas et al., 2017; Fernandes de Oliveira et al., 2015). Por otro lado, el impacto de la temperatura sobre otros compuestos de importancia para los vinos como los taninos ha sido variable. Los efectos de un aumento de temperatura sobre la madurez de la uva y su composición química se abordan en el capítulo 5.

3.4. Estrategias de mitigación

Para el correcto diseño de estrategias de mitigación del cambio climático y en particular al aumento de temperatura, es importante contar con conocimiento previo sobre sus posibles impactos. Es por ello que una mayor comprensión de los efectos de un aumento de temperatura sobre la fotosíntesis, la eficiencia en el uso del agua y la madurez y la composición de la uva es fundamental para garantizar la sostenibilidad del viñedo en las condiciones pronosticadas.

Una estrategia de adaptación a largo plazo sería la plantación de nuevos viñedos en zonas donde actualmente se experimentan bajas temperaturas y por lo tanto no se cultiva la vid. Debido al aumento de temperatura, estos sectores serían más aptos en el futuro (Cabré y Nuñez, 2020; Cabré et al., 2016). Esta estrategia está siendo llevada adelante por numerosas empresas locales. También debería explorarse la alta diversidad genética existente buscando nuevas variedades con tolerancia a altas temperaturas, estrés hídrico y enfermedades (Bigard et al., 2018; Morales-Castilla et al., 2020; Wolkovich et al., 2017). El uso de recursos genéticos locales, es una herramienta actualmente explorada para adaptarse a condiciones de sequía y mayor temperatura (Florez-Sarasa et al., 2020). Localmente, la oferta varietal podría ampliarse con la puesta en valor de variedades criollas de buenas aptitudes enológicas, que por haberse generado en nuestra región podrían estar mejor adaptadas a las condiciones semiáridas de la provincia (Prieto, 2021). Otras estrategias apuntarían a minimizar la intercepción de radiación por parte de las plantas a nivel viñedo, pudiendo ensayarse diferentes orientaciones de hileras, así como la colocación de paneles solares en los viñedos. Éstos producen energía renovable y proyectan sombra sobre las plantas, lo que podría disminuir la temperatura de la canopia y el consumo hídrico. Medidas a corto y mediano plazo, incluyen la implementación de prácticas culturales que tienden a alterar la relación hoja/fruto o a atrasar el ciclo fenológico del cultivo (Gutierrez-Gamboa et al., 2021). Por un lado, las estrategias que buscan atrasar el ciclo fenológico (por ejemplo poda tardía o forzado de yemas francas) permiten escapar a heladas primaverales, y potencialmente favorecer la madurez de la baya en condiciones menos calurosas (Gutierrez-Gamboa

et al., 2021). Por otro lado, las técnicas que disminuyen la relación hoja-fruto (por ejemplo despuñes severos, deshoje apical) permiten disminuir la velocidad de desarrollo de la uva, en particular, la acumulación de azúcares (Palliotti et al., 2014; Parker et al., 2015).

En síntesis, las características de la vid que hacen que sea sensible a los factores ambientales pueden ser también una herramienta que proporcione los medios por los cuales la viticultura se adapte al cambio climático, mediante la manipulación y selección de condiciones en los viñedos que impacten en las respuestas de las plantas (Mosedale et al., 2016). Es de gran importancia entonces, conocer el impacto de los factores climáticos pronosticados, como el aumento de temperatura, en las respuestas fisiológicas de la vid para poder diseñar estrategias de mitigación de implementación local y a corto o mediano plazo.

4. Características de las variedades Syrah y Grenache

La vid se caracteriza por un gran número de variedades, que diversos autores y autoras estipulan entre 10000 y 5000 (Lacombe et al., 2013; Wolkovich et al., 2018). Esto permite contar con una gran variabilidad de genotipos adaptados a los diferentes ambientes. No obstante, la viticultura es una actividad con una tradición conservada y asociada históricamente a diversos terrenos, principalmente en los países del llamado viejo mundo (Francia, Italia, España). Asimismo, el mercado mundial de vinos es dominado por pocas variedades (por ej.: Cabernet Sauvignon, Chardonnay, Merlot, Tempranillo, Syrah) que abarcan el 80% de la superficie mundial de viñedos y son en su mayoría francesas, italianas y españolas (Medrano et al., 2018; OIV, 2017). El panorama varietal de los países del nuevo mundo (Argentina, Chile, Australia) no es ajeno a esta situación y en ellos se encuentran las mismas variedades dominantes (Van Leeuwen et al., 2019). Una excepción es el Malbec en Argentina, que representa el 22% del encepado nacional y no es frecuente en otros países (INV, 2019).

Es interesante destacar que en la vid, muchas respuestas fisiológicas a diversos factores, tanto bióticos como abióticos, dependen de la variedad. Las respuestas al déficit o estrés hídrico a nivel suelo o atmósfera son de las más estudiadas, encontrándose genotipos con diferentes grados de tolerancia y eficiencias en el uso del agua (Chaves et al., 2010). Esta diversidad de respuestas ha llevado a una generalización y a una clasificación de los genotipos de vid en isohídricos y anisohídricos. Esta primera clasificación surgió de un trabajo que comparaba especies diferentes (Tardieu y Simonneau, 1998) mientras que Schultz (2003a) fue el primero en demostrar que dos variedades de la misma especie, Syrah y Grenache, podían presentar un comportamiento estomático contrastante. Grenache presenta una mayor regulación de la conductancia estomática y una mayor conductividad hídrica foliar en respuesta al déficit hídrico, manteniendo el potencial hídrico de la hoja al mediodía relativamente estable (es decir, un comportamiento isohídrico). En contraposición, Syrah muestra una mayor fluctuación del potencial hídrico foliar en respuesta al déficit hídrico debido a que cuentan con una

menor regulación estomática, pero también realizan ajuste osmótico y cambios en la elasticidad de la pared celular (es decir, comportamiento anisohídrico; Chaves et al., 2010; Lovisolo et al., 2010). Estos resultados se han encontrado como respuesta al agotamiento del agua del suelo (Schultz, 2003a), al déficit de presión de vapor del aire (DPV; Soar et al., 2006) o ambos (Prieto et al., 2010). Las respuestas observadas frente al déficit hídrico y su implicancia en la EUA podrían surgir de diferencias varietales en el intercambio gaseoso de la hoja, la capacidad de la planta para realizar ajuste osmótico y las características hidráulicas de la planta (Chaves et al., 2010). Los mecanismos subyacentes estarían relacionados con la capacidad de conducir agua de las hojas, raíces y tallos y la síntesis y sensibilidad al ácido abscísico, entre otros (Dayer et al., 2020).

En virtud de las respuestas contrastantes evidenciadas en la literatura, las variedades Syrah y Grenache son modelos apropiados para estudiar el efecto del aumento de temperatura en términos de fotosíntesis y eficiencia en el uso del agua.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. Hipótesis

1.1. Hipótesis general

La temperatura de crecimiento a la que se exponen las plantas desde brotación a cosecha, modifica la respuesta de la fotosíntesis a la temperatura, la eficiencia en el uso del agua y la madurez y la composición química de la baya y las respuestas son dependientes de la variedad.

1.2. Hipótesis específicas

1.2.1 La aclimatación de la fotosíntesis a un aumento en la temperatura de crecimiento (T_c) está relacionada a un cambio en la respuesta a la temperatura de las variables bioquímicas velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y tasa de transporte de electrones (J_{max}). Estos cambios implican un desplazamiento del óptimo de V_{cmax} y J_{max} hacia mayores temperaturas o un incremento en la tasa de estos procesos. Estos cambios contribuyen a aclimatar la asimilación neta (A_n) a la nueva temperatura de crecimiento. Los mecanismos subyacentes en la respuesta a la temperatura de V_{cmax} y J_{max} así como la aclimatación de A_n al aumento en la temperatura de crecimiento son dependientes de la variedad (Capítulo 3).

1.2.2. Frente a un aumento en la temperatura de crecimiento, las plantas incrementan la transpiración foliar (E) a través de una mayor conductancia estomática (g_s) para mantener la temperatura de las hojas cercana a la temperatura del aire. El aumento en E y g_s produce una disminución de la eficiencia en el uso del agua (EUA). El incremento de g_s y del tamaño de estomas es mayor en las plantas calentadas de la variedad Syrah que en Grenache (Capítulo 4).

1.2.3. El aumento de temperatura de crecimiento modifica la composición química de la uva, aumenta la concentración de sólidos solubles y el pH y disminuye el peso de baya, la acidez y los compuestos polifenólicos (antocianos y taninos). Las variedades Syrah y Grenache presentan diferente plasticidad de los compuestos polifenólicos en respuesta al calentamiento (Capítulo 5).

2. Objetivos

2.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de un aumento en la temperatura de crecimiento, aplicado durante todo el ciclo vegetativo, sobre la fotosíntesis y las variables que la determinan, la eficiencia del uso del agua y sobre la madurez y la composición de la baya, en plantas de Syrah y Grenache en un viñedo de Luján de Cuyo, Mendoza. Generar mayor conocimiento sobre la respuesta de diferentes variedades al aumento de temperatura para contribuir al diseño de estrategias de mitigación y adaptación al cambio climático.

2.2. Objetivos específicos

2.2.1. Evaluar la respuesta a la temperatura de la asimilación neta de CO₂ (A_n), la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y la tasa de transporte de electrones (J_{max}) en hojas de Syrah y Grenache desarrolladas en condiciones de temperatura ambiente y de un incremento medio de 1.5 °C en la temperatura de crecimiento. Dilucidar los mecanismos subyacentes implicados en la respuesta a la temperatura de las variables V_{cmax} , J_{max} y A_n (Capítulo 3).

2.2.2. Determinar el efecto de un incremento medio de 1.5 °C en la temperatura de crecimiento sobre la conductancia estomática (g_s), la densidad y tamaño de estomas y la eficiencia en el uso del agua intrínseca y del rendimiento (EUA_{int}, EUA_{rendimiento}) en plantas bien regadas de las variedades Syrah y Grenache (Capítulo 4).

2.2.3. Determinar el efecto de un aumento de 1.5 °C en temperatura de crecimiento sobre la composición química de la uva para vinificar, en parámetros relacionados al crecimiento (peso de baya), la madurez (sólidos solubles, pH) y a la composición química de la uva (antocianos, taninos) y la plasticidad varietal de los compuestos polifenólicos frente al calentamiento, en uvas de plantas de las variedades Syrah y Grenache (Capítulo 5).

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS GENERALES

1. Sitio y material vegetal

El ensayo se llevó a cabo en un viñedo implantado en la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza del INTA (33°00'S, 68°52'O, 920 msnm) durante las temporadas 2016/17, 2017/18 y 2018/19. Para Mendoza, durante la estación de crecimiento de la vid (octubre a marzo), la precipitación acumulada es de 170 mm, la temperatura media es 22.8 °C y la temperatura máxima media es 29.7 °C. Los meses más cálidos son enero y diciembre (1981-2010, Servicio Meteorológico Nacional).

El viñedo fue plantado en 2004 y cuenta con 13 variedades, entre ellas Syrah y otras no tradicionales en nuestra región, como Grenache. Las plantas de una misma variedad están dispuestas en una misma hilera (orientada norte-sur), con 10 plantas consecutivas, formando una unidad de dos claros (distancia entre dos postes) de 5 plantas cada uno (Anexo Figura S2.1). Estas unidades experimentales de 10 plantas por variedad se repiten en el viñedo 9 veces de manera aleatoria. Para el ensayo, de las 9 repeticiones se eligieron solo 5 (Figura 2.1). Además, cada hilera cuenta al inicio y al final con dos claros consecutivos de Syrah que cumplen la función de bordura y que no fueron tenidos en cuenta para las determinaciones. Esto permitió una comparación directa entre las variedades por encontrarse en la misma parcela (es decir en el mismo viñedo). Las plantas están enraizadas a pie franco y conducidas en espaldero alto con una poda en cordón bilateral con 24-26 yemas por planta. La distancia de plantación es de 2.5 m entre hileras orientadas norte-sur y de 1.5 m entre plantas. El suelo del viñedo es franco en superficie y franco-limoso a partir de los 30 cm de profundidad. El riego se aplicó por goteo, dos veces por semana con goteros de 1.6 Lh^{-1} y distanciados 0.5 m en la dirección de la hilera. La lámina se calculó considerando valores locales de coeficiente del cultivo (K_c , Vallone 1998) y la ET_0 calculados por una estación meteorológica próxima al viñedo (METOS, Compact D96, Pessl Instruments, Weiz, Austria). La evapotranspiración de referencia (ET_0) acumulada durante el ciclo fue de 949 mm mientras que la ET de cultivo fue de 766 mm. El riego total aplicado para el período octubre-marzo fue de 783 mm.



Figura 2.1: Plano del viñedo donde se realizó el ensayo. Se aplicó un diseño de parcelas divididas, con el factor variedad asignado a la parcela principal (color verde oscuro para Syrah, verde manzana para Grenache) y el factor temperatura asignado a la subparcela (recuadro azul para el control y rojo oscuro para el calentado). Se observan en sentido este-oeste las repeticiones para cada tratamiento. Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, INTA.

2. Diseño experimental

El ensayo consistió en comparar plantas de ambas variedades en condiciones control y calentadas mediante un sistema pasivo. Las plantas se encuentran distribuidas en el viñedo en grupos de 10, abarcando dos claros (distancia entre dos postes) consecutivos con 5 plantas cada uno. Por este motivo, se aplicó un diseño de parcelas divididas al que se le asignó el factor variedad (Syrah o Grenache) a la parcela principal que abarcó las 10 plantas consecutivas y el factor tratamiento de temperatura (control o calentado) a la subparcela que se asignó de manera aleatoria y que consideró las 5 plantas de cada claro. La unidad experimental estuvo formada por las 5 plantas de un mismo claro, con la asignación de un tratamiento (combinación variedad-temperatura). Se incluyeron 5 repeticiones (de cada unidad experimental) por tratamiento, sobre las diferentes hileras del viñedo. Durante las 3 temporadas del ensayo, se utilizaron las mismas repeticiones. Las plantas fueron elegidas por homogeneidad en el peso de poda invernal medido antes del inicio del ensayo (en 2016), que osciló entre 0.5 y 0.7 kg pl⁻¹ para Grenache y entre 0.8 y 1.0 kg pl⁻¹ para Syrah. La riqueza de poda fue de 24 a 26 yemas pl⁻¹. No se realizó raleo de racimos, solo se eliminaron manualmente brotes y chupones según el manejo del viñedo. Además, de las 5 plantas que forman la unidad experimental (coincidente con el claro) se utilizaron las dos centrales como unidad observacional para las mediciones de

intercambio de gases (Capítulos 3 y 4). Para los muestreos de baya se tomó una muestra compuesta de la unidad experimental (5 plantas), excluyendo los dos brazos de los extremos para evitar efectos de bordura (Capítulo 5).

3. Sistema de calentamiento pasivo

El sistema de calentamiento pasivo (SCP, Figura 2.2), desarrollado previamente por Sadras y colaboradores (2009b) consistió en placas de policarbonato (Lexan Thermoclear, Sabic Innovative Plastics, Riyadh, Arabia Saudita) de 1.1 m de altura y longitud variable, adheridas a un marco de aluminio rectangular con un pie de apoyo. Estas placas se colocaron por debajo del cordón, a ambos lados de la hilera y apoyadas con el pie sobre el bordo para formar un ángulo aproximado de 45° entre el suelo y las plantas. Las placas se ubicaron contiguas para generar una unidad de 8 m de longitud, en coincidencia con el claro. Los extremos y las uniones entre placas consecutivas fueron cerrados con polietileno de 100 µm de espesor. Esta disposición genera un tipo de invernadero pequeño, debajo de las plantas y que cuenta en su parte superior con una abertura de unos 40 cm aproximadamente (Figura 2.2). El principio de funcionamiento del SCP se basa en que la radiación solar calienta el aire encerrado en la carpa, el mismo asciende y calienta la canopia, con mayor efecto en los 40 cm próximos a los brazos de las plantas (Anexo Figura S2.2). El SCP fue colocado desde brotación (estadio 4 del sistema desarrollado por Eicchorn y Lorenz (EL) y modificado por Coombe, 1995) hasta cosecha (estadio 38; considerado a 24 °Bx). La ventaja principal del SCP es que puede modificarse la temperatura sin alterar la radiación interceptada por la canopia, como ocurre en otros sistemas de calentamiento que encierran la planta entera para aumentar la temperatura (por ejemplo, las cámaras abiertas en superficie u OTC, *open top chambers*, por sus siglas en inglés). Una desventaja es que al ser pasivo, depende de la radiación solar y no tiene efecto durante la noche. No obstante, en Mendoza los días de baja radiación solar son muy escasos. En base a Malovini (2016) durante las temporadas 2017/18 y 2018/19 se colocó al interior de la carpa y entre los troncos, una tela media sombra negra que permitió incrementar el efecto del calentamiento pasivo.

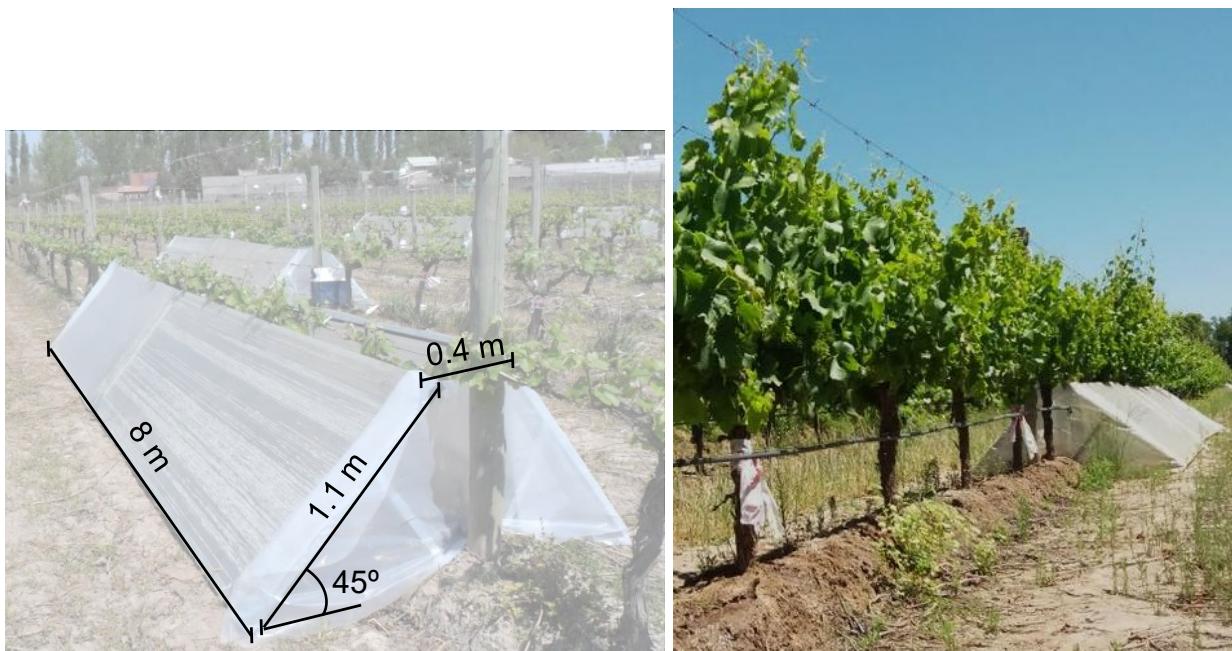


Figura 2.2: Sistema de calentamiento pasivo (SCP) en parcelas de Syrah en brotación (izquierda) y Grenache en envero (derecha). Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, INTA.

4. Caracterización del tratamiento de temperatura

Para caracterizar el tratamiento de calentamiento se midió la temperatura del aire y de las hojas con termocuplas (24 American Wire Gauge, tipo T, de Cobre-Constantán, Santiago, Chile). Los valores se registraron cada 20 minutos con colectores de datos (DT80 y DT600, Datataker, Biolab, Melbourne, Australia y CR1000, Campbell Scientific, Utah, Estados Unidos). Se instalaron termocuplas en 2 repeticiones por tratamiento. Las termocuplas de aire se colocaron a 1.2 m de altura con respecto al bordo y fueron protegidas de la radiación solar directa con un abrigo de aluminio construido a medida (Figura 2.3; Tarara y Hoheisel, 2007). Las termocuplas de hoja fueron colocadas en dos plantas por repetición, una a cada lado de la hilera (este y oeste) y fueron adheridas a la cara abaxial de la hoja con cinta adhesiva de papel (Figura 2.4). Se midió la temperatura en las hojas ubicadas entre el 4^{to} y el 7^{mo} nudo. De esta manera, un total de 8 termocuplas registraron la temperatura del aire y un total de 32 la temperatura de hoja. El registro de temperatura en cada temporada se realizó desde la instalación del ensayo en brotación (principios de octubre) hasta pre-cosecha (fines de febrero).

En la primera temporada, se midió la temperatura del aire a 0.8, 1.2 y 1.5 m de altura (con respecto al bordo) para determinar el efecto del SCP en sentido vertical. Se constató que el SCP aumentaba la temperatura del aire hasta los 1.2 m (Anexo Figura S2.2). Por este motivo, se seleccionaron hojas en ese rango (correspondientes al 4^{to} a 7^{mo} nudo) para las mediciones de intercambio gaseoso (Capítulos 3 y 4).



Figura 2.3: Termocuplas de medición de temperatura de aire con abrigo de protección de la radiación solar.



Figura 2.4: Termocuplas de medición de temperatura de hoja adheridas a la cara abaxial.

5. Condiciones meteorológicas

La temperatura del aire, las precipitaciones y la humedad relativa (HR) fueron medidas cada 1 hora con una estación meteorológica automática (METOS, Compact D96, Pessl Instruments, Weiz, Austria) ubicada a 30 m del viñedo. Con los valores de temperatura medidos, se calculó para cada día la temperatura mínima, máxima y media. La presión actual de vapor (e_a) fue calculada por la estación meteorológica, teniendo en cuenta los valores de temperatura de aire y HR medidos. Teniendo en cuenta la temperatura del aire medida a nivel de canopia (T_{aire} , con las termocuplas y los colectores de datos), la correspondiente presión de vapor de saturación (e_{sat}) a esa temperatura y la e_a de la estación meteorológica, se calculó el déficit de presión de vapor entre la canopia y el aire ($DPV_{canopia-aire}$).

6. Estado hídrico

Durante las temporadas 2017/18 y 2018/19 se midió el potencial hídrico de hoja al mediodía (Ψ_m), y en 2017/18 adicionalmente el potencial hídrico de hoja en pre-amanecer (Ψ_p ; Anexo Figura S2.3), en una hoja por repetición (n=5). Las mediciones se realizaron con una cámara de presión (Modelo 2, Biocontrol, Buenos Aires, Argentina), el día posterior a un riego y en intervalos quincenales entre grano de arveja (fines de noviembre) y madurez previa a la cosecha (fines de febrero). Para evitar la deshidratación, las hojas fueron colocadas en bolsas plásticas transparentes al momento de escindirlas de la planta en la determinación de Ψ_m . En la temporada 2017/18, las plantas se mantuvieron a un Ψ_m de -1.1 y a un Ψ_p de -0.3 MPa. En 2018/19, Ψ_m fue en promedio -1.2 MPa.

CAPITULO 3¹: MECANISMOS DE ACLIMATACIÓN FOTOSINTÉTICA A LA TEMPERATURA

1. Introducción

El cambio climático está amenazando los ecosistemas naturales (IPCC, 2019a) así como también las regiones cultivadas, incluidas las vitícolas (Flexas et al., 2010; Jones et al., 2005). Alrededor del mundo, muchas áreas vitícolas enfrentan actualmente escasez de agua, aumento de la temperatura y olas de calor (Santillán et al., 2019). Mendoza no es una excepción a estos escenarios climáticos, debido a que para esta región, se pronostica para 2080-2099 un aumento en la temperatura media de entre 1.5 y 3.5 °C (Cabré et al., 2016). La temperatura afecta el crecimiento y el rendimiento de los cultivos (Berry y Bjorkman, 1980). Ambos procesos dependen de la fotosíntesis y de cómo ésta es afectada por el ambiente (Taiz y Zeiger, 2015a). Además, la fotosíntesis es uno de los procesos fisiológicos más sensibles a la temperatura. Entender los mecanismos que explican esta respuesta resulta de gran importancia para la agricultura en el contexto de calentamiento global (Yamori et al., 2014).

1.1. Fotosíntesis

La fotosíntesis es el proceso mediante el cual plantas, algas y algunas bacterias usan la energía solar para sintetizar compuestos carbonados complejos, que almacenan energía química. En plantas superiores, la energía lumínica es utilizada para oxidar agua liberando oxígeno, y para reducir dióxido de carbono, formando compuestos carbonados, principalmente azúcares. La energía almacenada en los carbohidratos puede ser utilizada posteriormente para el metabolismo celular en la planta y como fuente de energía para otras formas de vida. La fotosíntesis puede simplificarse en la siguiente ecuación:



La fotosíntesis comprende etapas de difusión, en las cuales el CO₂ atmosférico ingresa a la hoja hasta el sitio de carboxilación, y etapas de fijación del CO₂ en los compuestos carbonados. El ingreso de CO₂ es regulado por el grado de apertura de los estomas. Luego el CO₂ es disuelto en el apoplasto y difunde hidratado (HCO₃⁻) a través de la pared celular, la membrana plasmática, el citosol, la membrana del cloroplasto y el estroma, hasta la Rubisco (Terashima et al., 2011). La fijación de C tiene

¹Parte del presente capítulo corresponde a la publicación: Mechanisms underlying photosynthetic acclimation to high temperatures are different between *Vitis vinifera* cv. Syrah and Grenache. Gallo A.E., Perez Peña J.E., Prieto J.A. 2020. Functional Plant Biology, 48, 342-357. (<https://doi.org/10.1071/FP20212>)

lugar en los cloroplastos, ubicados principalmente en las células del mesófilo de las hojas. Este proceso incluye múltiples reacciones intermedias, que pueden separarse en reacciones fotoquímicas y reacciones bioquímicas. Las primeras ocurren en los tilacoides de los cloroplastos, que son membranas internas especializadas; mientras que las bioquímicas se producen en el estroma, que es la fase acuosa que rodea los tilacoides (Taiz y Zeiger, 2015a). En la cadena transportadora de electrones (reacciones fotoquímicas) se producen ATP y NADPH. Estas moléculas de alta energía son utilizadas en el ciclo de Calvin-Benson (CCB, o reacciones bioquímicas) para fijar el CO₂ a un acceptor primario, la Ribulosa-1,5-bifofasto; la cual es regenerada en otras etapas del mismo ciclo. La enzima responsable de la carboxilación (o fijación del CO₂) es la Rubisco. De las reacciones de fijación de C, se liberan ADP y NADP⁺ que son necesarios para la continuidad de la cadena transportadora de electrones (Bernacchi et al., 2009). Las relaciones ADP/ATP y NADP+/NADPH son el vínculo entre las reacciones fotoquímicas y las bioquímicas; por este motivo están mutuamente reguladas (Bernacchi et al., 2009).

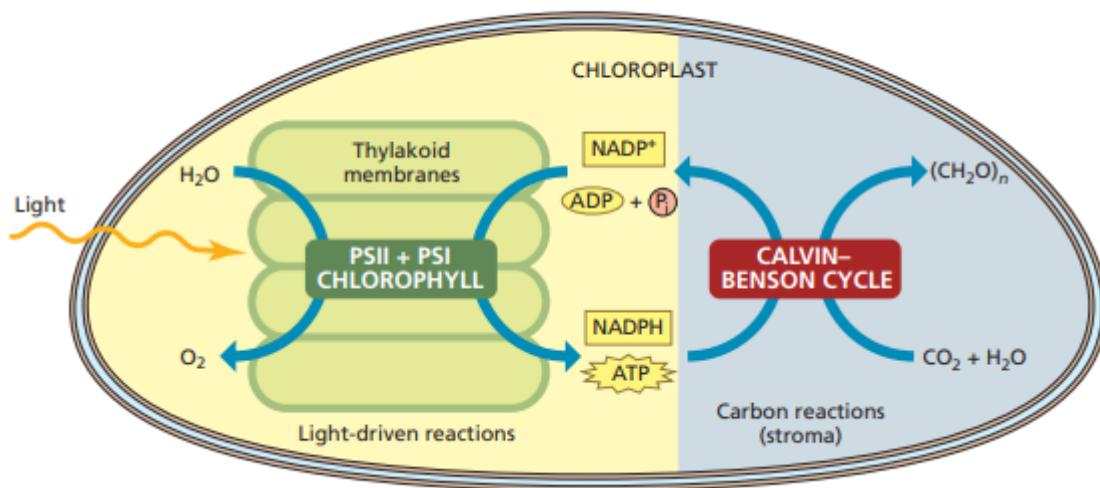


Figura 3.1: Esquema simplificado de la fotosíntesis, las etapas fotoquímicas y bioquímicas y su localización en el cloroplasto. Tomado de Plant Physiology and Development, sexta edición, Taiz y Zeiger, 2015a.

1.2. Aclimatación de la fotosíntesis a la temperatura

Uno de los procesos fisiológicos más sensibles a la temperatura es la fotosíntesis. La respuesta típica de la fotosíntesis a la temperatura tiene una forma de campana: a medida que aumenta la temperatura, la tasa de fotosíntesis primero aumenta hasta alcanzar un valor óptimo o máximo y luego disminuye (Figura 3.2). Esta respuesta tipo campana está caracterizada por parámetros como la temperatura óptima (T_{opt}), la tasa de asimilación a la temperatura óptima (A_{opt}) y el rango de temperaturas en el cual se mantienen tasas al 80% de la óptima ($\Delta T_{80\%}$; Vico et al., 2019). Berry y Björkman (1980) definieron la aclimatación de la fotosíntesis a la temperatura de crecimiento como los

cambios en los parámetros fotosintéticos, inducidos por el ambiente y que resultan en una mejor performance en el ambiente más cálido.

La respuesta más frecuentemente reportada es un cambio en la temperatura óptima de la fotosíntesis (T_{opt}) a medida que aumenta la temperatura de crecimiento (T_c), lo que lleva a un aumento en la eficiencia fotosintética en las nuevas condiciones (Gunderson et al., 2010; Yamori et al., 2014; Zaka et al., 2016; Zhou et al., 2018). Otros cambios observados incluyen un aumento de la tasa de asimilación, ya sea a temperaturas elevadas o a la nueva temperatura de crecimiento, con respecto a la planta en condiciones más frías (Way y Yamori, 2014). Por otro lado, en algunas especies como el álamo o entre distintas variedades de alfalfa, se observó una respuesta homeostática en las que la tasa asimilación neta a la temperatura óptima (A_{opt}) se mantiene en la mayor temperatura de crecimiento, sin que haya un aumento en la asimilación de C (Way y Yamori, 2014; Zaka et al., 2016). En este tipo de respuesta se evidencia un rango de T_{opt} para la asimilación de C muy amplio (Cerasoli et al., 2014). Sin embargo, no hay acuerdo entre diferentes estudios acerca de los tipos y magnitudes de los cambios, que varían entre especies e incluso entre ecotipos o variedades de la misma especie (Yamori et al., 2014).

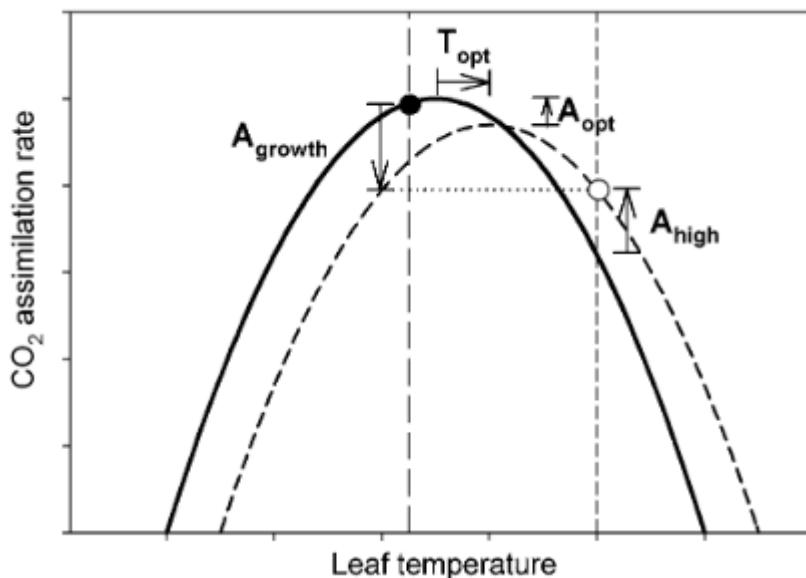


Figura 3.2: Representación conceptual de los diferentes cambios que indican aclimatación de la asimilación de CO_2 a un aumento en la temperatura de crecimiento. Las condiciones control están representadas por la línea gruesa continua, la línea vertical de guiones largos y el punto negro. Las condiciones de elevada temperatura de crecimiento están representadas por la línea gruesa punteada, la línea vertical de guiones cortos y el punto blanco. Las flechas indican los cambios en la tasa de asimilación y la temperatura óptima discutidos en el texto (Capítulo 3, sección 1.2). Figura tomada de Way y Yamori, 2014 (Photosynthesis Research).

Los mecanismos que subyacen la aclimatación de la tasa de asimilación de C a la temperatura de crecimiento son diversos. La respuesta global de la fotosíntesis a la temperatura depende de

cambios en las respuestas individuales de los procesos de difusión y bioquímicos que controlan la tasa de asimilación (Yamori et al., 2014). Entre los procesos de difusión se encuentran la conductancia estomática (g_s) y la conductancia del mesófilo (g_m), mientras que los bioquímicos comprenden las reacciones asociadas al transporte de electrones y al ciclo de Calvin-Benson (CCB). En especies con metabolismo C3, como la vid, la respuesta de la asimilación de C a la temperatura está determinada por cambios en la tasa de carboxilación de la RuBP (o actividad de la Rubisco) y por la fotoquímica del transporte de electrones para la producción de ATP y NADPH, que en parte se utilizan en la regeneración de la RuBP en el CCB (Farquhar et al., 1980; Lin et al., 2013; Medlyn et al., 2002a). Ambos procesos pueden ser estimados respectivamente a través de la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y la tasa de transporte de electrones (J_{max}) que, en conjunto, determinan la capacidad fotosintética de la hoja (Farquhar et al., 1980). Se ha demostrado que la respuesta a la temperatura de V_{cmax} y de J_{max} varía entre especies (Kattge y Knorr, 2007; Medlyn et al., 2002b) y dentro de la misma especie (Bauerle et al., 2007; Crous et al., 2013; Weston y Bauerle, 2007), incluidos algunos genotipos de vid (Greer, 2018). Además, la aclimatación de V_{cmax} y J_{max} puede inducir cambios en el tipo de respuesta de la asimilación neta (A_n) a la temperatura (Way y Yamori, 2014). A partir del trabajo pionero de Berry y Björkman (1980), gran parte de la literatura ha resaltado la habilidad de las plantas para aclimatarse a la fotosíntesis y mejorar su performance a mayores temperaturas. Si bien en ese trabajo los autores remarcan que no todas las especies y/o variedades se aclimatan igual de bien, la cita es usada únicamente para resaltar esta capacidad de aclimatación (Way y Yamori 2014). Sin embargo, trabajos más recientes comparando especies diferentes y con distintos orígenes geográficos, han comenzado a señalar que esta aclimatación puede no existir o ser menor dependiendo del genotipo (Katge y Knorr 2007; Way y Yamori 2014).

1.3. Antecedentes en vid

La vid (*Vitis vinifera* L.) es una especie que evidencia una gran variabilidad intra-específica, particularmente en las respuestas fotosintéticas y estomáticas al estrés hídrico (Charrier et al., 2018; Chaves et al., 2010; Flexas et al., 2010). Sin embargo, las respuestas fotosintéticas a la alta temperatura no han sido ampliamente estudiadas, en particular cuando se considera un aumento sostenido de temperatura, aplicado durante toda la estación de crecimiento. Algunos estudios han reportado la respuesta de V_{cmax} y de J_{max} a cambios instantáneos en la temperatura de la hoja, pero sin considerar los procesos de aclimatación en el largo plazo, ya que en los mismos no se modificó la temperatura de crecimiento de las hojas (Greer, 2020, 2019, 2018; Greer y Weedon, 2012; Schultz, 2003b). Otros antecedentes evidenciaron un aumento de A_n en plantas en maceta expuestas a altas temperaturas (Salazar-Parra et al., 2015, 2012) o a breves períodos de calor (Galat Giorgi et al., 2019; Soar et al., 2009). Contrariamente, otros estudios evaluando olas de calor, reportaron efectos negativos

de la temperatura en la fotosíntesis (Edwards et al., 2011; Greer y Weston, 2010). En términos generales, las temperaturas máximas alcanzadas en estos trabajos oscilaron entre 28 °C (Salazar Parra et al., 2012) y 40-45 °C (Edwards et al., 2011; Galat Giorgi et al., 2019; Greer y Weston 2010; Soar et al., 2009), con periodos de calentamiento de entre 2 y 7 días. A su vez, el momento fenológico en el que se aplicó el calentamiento fue entre floración y cuaje (Greer y Weston 2010; Soar et al., 2009) o cercanos al envero (Edwards et al., 2011; Galat Giorgi et al., 2019; Salazar Parra et al., 2012; Soar et al., 2009). Estos resultados ilustran que, por un lado las respuestas de la vid a un aumento de temperatura pueden variar de acuerdo al momento del ciclo fenológico en el que ocurra el calentamiento y a su intensidad y duración (Greer y Weston, 2010; Soar et al., 2009) y por otro lado, dependen de la variedad. La mayor parte de estos trabajos han sido realizados en macetas y en invernáculo o cámaras de cultivo mientras que los estudios realizados a campo (de Rosas et al., 2017; Malovini, 2016; Sadras et al., 2013; Sadras y Moran, 2012) se focalizaron más en las características de la uva y no en los procesos de asimilación de C. Por otro lado, los ensayos donde se aplicó un aumento de temperatura durante un periodo breve (por ejemplo 2 a 7 días) reflejan parcialmente lo pronosticado por modelos de cambio climático para Mendoza, ya que simulan olas de calor. No obstante, también se espera un aumento sostenido de la temperatura (de entre 1.5 a 3.5 °C) que afectaría a las plantas durante toda la estación de crecimiento (Cabré y Nuñez, 2020; Cabré et al., 2016). Por lo tanto, las respuestas de aclimatación de la fotosíntesis a un aumento en la temperatura de crecimiento deben ser exploradas en mayor profundidad (Sadras et al., 2012).

Como se discutió previamente (Capítulo 1, sección 4), Syrah y Grenache son dos variedades caracterizadas por presentar comportamientos estomáticos contrastantes frente al déficit hídrico. Considerando la fuerte dependencia de la fotosíntesis de la conductancia estomática, estas dos variedades resultan de gran interés para evaluar la variabilidad intra-específica de la vid en las respuestas fotosintéticas a la temperatura.

2. Hipótesis específica

La aclimatación de la fotosíntesis a un aumento en la temperatura de crecimiento (T_c) está relacionada a un cambio en la respuesta a la temperatura de las variables bioquímicas velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y tasa de transporte de electrones (J_{max}). Estos cambios implican un desplazamiento del óptimo de V_{cmax} y J_{max} hacia mayores temperaturas o un incremento en la tasa de estos procesos. Estos cambios contribuyen a aclimatar la asimilación neta (A_n) a la nueva temperatura de crecimiento. Los mecanismos subyacentes en la respuesta a la temperatura de V_{cmax} y J_{max} así como la aclimatación de A_n al aumento en la temperatura de crecimiento son dependientes de la variedad.

3. Objetivo específico

Evaluar la respuesta a la temperatura de la asimilación neta de CO₂ (A_n), la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y la tasa de transporte de electrones (J_{max}) en hojas de Syrah y Grenache desarrolladas en condiciones de temperatura ambiente y de un incremento medio de 1.5 °C en la temperatura de crecimiento. Dilucidar los mecanismos subyacentes implicados en la respuesta a la temperatura de las variables V_{cmax}, J_{max} y A_n.

4. Materiales y métodos

4.1. Sitio y diseño experimental, material vegetal y tratamiento de temperatura

El experimento se llevó a cabo en un viñedo localizado en la EEA Mendoza de INTA, durante las temporadas 2016/17 y 2017/18. Tal como se detalló en el Capítulo 2, se compararon plantas de las variedades Syrah y Grenache, expuestas a condiciones ambientales con plantas calentadas mediante el sistema de calentamiento pasivo (SCP, Figura 2.2). En ambas temporadas se utilizaron las mismas plantas. El diseño experimental fue en parcelas divididas, con la variedad asignada a la parcela principal y el régimen térmico (control o calentadas) a la subparcela, y contó con 5 repeticiones por tratamiento. La unidad experimental consistió en un claro, al que se le asignó un tratamiento (combinación variedad-régimen térmico). Para evitar efectos de bordura, las mediciones se realizaron en una de las dos plantas centrales (unidad observacional) de cada unidad experimental. El efecto del tratamiento de calentamiento fue caracterizado con termocuplas y colectores de datos que registraron la temperatura del aire a nivel de canopia.

4.2. Curvas de respuesta de la fotosíntesis al CO₂ a diferentes temperaturas

Se realizaron curvas de fotosíntesis en respuesta a la concentración de CO₂ intercelular (curvas A_n/C_i) entre cierre de racimo (estadio 31, bayas tamaño grano de arveja o 7 mm de diámetro, sistema E-L modificado; Coombe, 1995) y envero (estadio 35, bayas comienzan a colorear y agrandarse), en hojas completamente expandidas y bien expuestas, ubicadas entre el 4^{to} y el 7^{mo} nudo desde la base del pámpano. Las curvas fueron realizadas a temperaturas predeterminadas de 20, 25, 30, 35 y 40 °C. Las curvas se realizaron entre las 08:30 y las 13:00 h (hora local, GMT+3) con un analizador de gases por infrarrojo (*Infra Red Gas Analyser* o IRGA por sus siglas en inglés, CIRAS-2 PP Systems, Amesbury, Estados Unidos) equipado con una cámara automática (PLC6(U) PP Systems, Amesbury, Estados Unidos) y un módulo de luz led de 1500 µmol m⁻² s⁻¹ de flujo de fotones fotosintéticos

(*Photosynthetic Photon Flux Densitiy* o PPFD por sus siglas en inglés), en un área foliar de 2.5 cm². Previo al inicio de la curva, se estabilizó la hoja en la cámara automática a la temperatura de la curva durante 10 minutos. Las curvas se completaron registrando tasas de A_n estables, a concentraciones de CO₂ variables. Se inició a 400 µmol mol⁻¹, luego se descendió en etapas (300, 200, 100, 50 µmol mol⁻¹) hasta 0, se incrementó a 400 nuevamente y se continuó (600, 800, 1000 µmol mol⁻¹) hasta 1200 µmol mol⁻¹. La humedad relativa (HR) en el interior de la cámara fue controlada para reproducir la humedad ambiente pero evitando condensación al interior de la cámara, debida a las altas temperaturas y a la transpiración de las hojas. Esto llevó a un DPV al interior de la cámara de 1.4 kPa y de 4.6 kPa para las curvas a 20 y a 40 °C respectivamente. Durante la temporada 2016/17 las curvas a 20 °C no se pudieron completar en Grenache, debido a dificultades del equipo para descender la temperatura foliar con respecto a la ambiental. Las curvas se realizaron en la planta central de cada repetición, en un tratamiento (combinación variedad-régimen de temperatura) por día, siguiendo el aumento de temperatura ambiental, comenzando por la curva a 20 °C a las 08:30 h y finalizando por la de 40 °C a las 13:00. En los días consecutivos, se realizaron las curvas en los tratamientos complementarios de manera aleatoria. Se realizaron 3 a 4 repeticiones por tratamiento durante el periodo grano de arveja – envero. El mismo protocolo de mediciones se aplicó durante las dos temporadas.

4.3. Marco teórico del modelo de Farquhar, von Caemmerer y Berry

El modelo de Farquhar, von Caemmerer y Berry (FvCB; Farquhar et al., 1980) proporciona el marco para obtener parámetros de fotosíntesis que permiten el estudio de mecanismos de aclimatación a factores como la temperatura (Zhou et al., 2018). Se trata de un modelo mecanístico, es decir que establece relaciones causales entre los procesos representados a través de los parámetros obtenidos (Thornley y France, 2007). Ha sido ampliamente utilizado para modelar los efectos del cambio climático global en el crecimiento y desarrollo de las plantas, así como también extrapolar la asimilación de C de hojas a canopias (Bernacchi et al., 2009; Medlyn et al., 2002a). Una característica del modelo FvCB es que permite estimar qué proceso limita la fotosíntesis a diferentes temperaturas y a otros factores ambientales (Bernacchi et al., 2009). La forma general del modelo propone:

$$A_n = \min(A_c, A_j) - R_d \quad (1)$$

Donde A_n es la asimilación neta, A_c es la asimilación bruta cuando la actividad de la Rubisco es limitante, A_j es la asimilación bruta cuando la regeneración de la RuBP es limitante y R_d es la respiración mitocondrial. El modelo FvCB establece que la fotosíntesis neta es limitada por la menor tasa de dos procesos: (i) la máxima tasa de carboxilación de la RuBP por parte de la Rubisco y (ii) la regeneración de la RuBP controlada por la tasa de transporte de electrones (Farquhar et al., 1980; Lin et al., 2013;

Medlyn et al., 2002a). Estos procesos son estimados a través de la tasa de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y la tasa de transporte de electrones (J_{max}), respectivamente. Para resolver el modelo, se asume que la fotosíntesis es limitada únicamente por Rubisco o por regeneración de RuBP; es decir, las limitaciones no son simultáneas (Bernacchi et al., 2009). El modelo FvCB estipula una tercera limitación a la fotosíntesis, generada por la exportación y utilización de triosas fosfato (*triose phosphate utilization* o TPU por sus siglas en inglés) en el CCB (Farquhar y Sharkey, 1982). Esta limitación puede darse en condiciones de alto CO₂, bajo O₂, alta irradiancia, baja temperatura, estrés hídrico o en situaciones donde se limite la exportación de fotoasimilados de las hojas a los órganos de destino (Bernacchi et al., 2009; Sharkey, 1985). Sin embargo, usualmente se considera que la limitación por TPU no es frecuente (Kumarathunge et al., 2019) y por lo tanto no fue tenida en cuenta en este trabajo.

El insumo para el cálculo de los parámetros del modelo son las curvas A_n/C_i. El ajuste de las curvas A_n/C_i permite determinar V_{cmax} mediante la ecuación:

$$A_c = \frac{V_{cmax} (C_i - \Gamma^*)}{C_i + K_c \left(1 + \frac{O_i}{K_o}\right)} \quad (2)$$

donde, A_c es la tasa de asimilación limitada por la actividad de la Rubisco, C_i y O_i son las concentraciones intracelulares de CO₂ y O₂, K_c y K_o son las constantes de Michaelis-Menten (constantes de semi-saturación o concentración de sustrato, CO₂ o O₂, a la que la reacción enzimática alcanza la mitad de su velocidad máxima) para actividad carboxilasa y oxigenasa y Γ^* es el punto de compensación de CO₂ en ausencia de respiración.

La tasa aparente de transporte de electrones (J_{max}) se calculó con la ecuación:

$$A_j = \frac{J_{max} (C_i - \Gamma^*)}{4 (C_i + 2\Gamma^*)} \quad (3)$$

donde A_j es la tasa de fotosíntesis limitada por la regeneración de la RuBP, expresada según la estequiometría de la utilización de NADPH. J_{max} es considerada máxima ya que depende de la luz incidente y las curvas A_n/C_i fueron realizadas a saturación lumínica (1500 μmol m⁻² s⁻¹). Debido a la estrecha relación entre las reacciones fotoquímicas y las bioquímicas, dada por las proporciones de ADP/ATP y de NADP⁺/NADPH, la estimación de A_j depende de J_{max} (Bernacchi et al., 2009).

La figura 3.3 ilustra una curva de fotosíntesis en respuesta al CO₂, donde se muestran los valores de A_n observados a cada concentración de CO₂ en conjunto con las ecuaciones del modelo de FvCB de las limitaciones por Rubisco, regeneración de la RuBP o TPU.

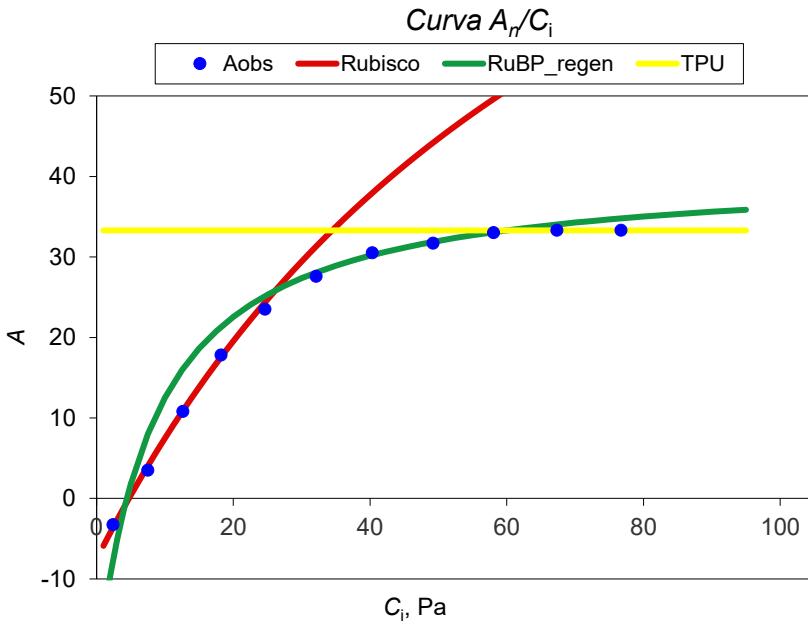


Figura 3.3: Ejemplo de una curva de Asimilación neta (A_n) en respuesta al CO_2 (representado en este caso como C_i en presión parcial, Pa). Se muestran los valores observados de A_n (puntos azules), la fotosíntesis limitada por Rubisco (línea roja), por regeneración de la RuBP (línea verde) o por TPU (línea amarilla). Extraída de Sharkey et al., 2007.

Existen diversas metodologías (Duursma, 2015; Sharkey et al., 2007) para la obtención de los parámetros V_{cmax} y J_{max} , pero todas se basan en el ajuste de las ecuaciones 2 y 3. Para cada valor de C_i (concentración de CO_2 en la cámara subestomática) se obtiene un valor de fotosíntesis neta el cual correspondería a A_c o A_j , según la fotosíntesis esté limitada por Rubisco o por regeneración de RuBP. A valores bajos de C_i , la fotosíntesis es limitada por A_c (parte inicial de la curva, línea roja en la Figura 3.3) y a valores mayores es limitada por A_j (cambio de pendiente entre 30 y 40 Pa, línea verde en la Figura 3.3). Los demás parámetros de las ecuaciones (O_i , K_c , K_o y Γ^*) son constantes obtenidas de la bibliografía. Conociendo el valor de A_c o A_j y las constantes, se resuelve la ecuación para obtener V_{cmax} y J_{max} .

4.4. Obtención de los parámetros velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y tasa de transporte de electrones (J_{max})

Las curvas A_n/C_i fueron analizadas con el paquete “Plantecophys” desarrollado por Duursma (2015) para el software R (R Core Team, 2020). Obtener los parámetros del modelo de FvCB puede ser complicado debido a que la fotosíntesis neta es calculada como el mínimo de dos ecuaciones no lineales (ecuaciones 2 y 3, sección 4.3, Duursma, 2015). El ajuste del modelo FvCB a los datos (curvas A_n/C_i) se logra mediante iteraciones hasta minimizar la suma de cuadrados de residuos. Los requerimientos de entrada del paquete “Plantecophys” son A_n , C_i y la temperatura foliar. De esta

manera, se obtienen estimaciones de V_{cmax} , J_{max} y de la respiración mitocondrial (R_d) con sus errores correspondientes. Como este estudio se focalizó en la bioquímica de la fotosíntesis, R_d no fue considerada en este trabajo, aunque presente variaciones con la temperatura y la edad de la hoja en vid (Zufferey, 2016). Alrededor de la concentración ambiental de CO_2 ($400 \mu\text{mol mol}^{-1}$) la fotosíntesis puede estar co-limitada por la actividad de la Rubisco y por la regeneración de RuBP (observar cruce de líneas roja y verde en Figura 3.3). El paquete “Plantecophys” permite determinar automáticamente la transición entre ambas. Otras herramientas disponibles requieren la selección arbitraria de dichas transiciones (Sharkey et al., 2007).

A pesar de tener un rol en la respuesta a la temperatura (Bernacchi et al., 2002), la conductancia del mesófilo (g_m) no fue explícitamente incluida en este estudio debido a que es un componente difícil de estimar con curvas A_n/C_i (Lin et al., 2013). Por este motivo, V_{cmax} y J_{max} se calcularon en base a C_i y no en base a la concentración de CO_2 en el cloroplasto (C_c).

Para el cálculo de V_{cmax} y J_{max} intervienen parámetros como K_c , K_o y Γ^* , que son considerados constantes. Tanto K_c , K_o y Γ^* pueden considerarse como propiedades intrínsecas de la Rubisco y por ello invariables entre especies C3 (Bernacchi et al., 2001). No obstante, estas variables tienen una dependencia a la temperatura que puede afectar las estimaciones de V_{cmax} y J_{max} . La dependencia a la temperatura de K_c , K_o y Γ^* está caracterizada por parámetros cuyos valores pueden variar de acuerdo al método utilizado para su obtención (*in vitro*, *in vivo*; Medlyn et al., 2002a). En este trabajo, se tomaron las constantes y los valores de la dependencia a la temperatura de K_c , K_o y Γ^* de Bernacchi y colaboradores (2001), considerados como la referencia, y que están incorporados en el paquete “Plantecophys” (Duursma, 2015).

4.5. Respuesta a la temperatura de la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y de la tasa de transporte de electrones (J_{max})

Los parámetros V_{cmax} y J_{max} se obtuvieron de las curvas A_n/C_i realizadas a diferentes temperaturas de hoja (intervalos de a 5°C , de 20 a 40°C). La respuesta a la temperatura de V_{cmax} y J_{max} fue estimada con la ecuación de Arrhenius modificada. Esta ecuación incluye un término de desactivación que describe los cambios en las enzimas a altas temperaturas y que impiden que la actividad continúe incrementándose (Greer, 2018; Medlyn et al., 2002a):

$$f(T_k) = k_{25} \exp \left[\frac{H_a(T_k - 298)}{(298RT_k)} \right] \frac{1 + \exp \left(\frac{298\Delta S - H_d}{298R} \right)}{1 + \exp \left(\frac{T_k\Delta S - H_d}{T_k R} \right)} \quad (4)$$

En la ecuación 4, k_{25} es el valor de referencia de $V_{c\max}$ o J_{\max} a 25 °C (V_c^{25} y J^{25} , respectivamente), T_k es la temperatura foliar en Kelvin, H_a es la energía de activación, H_d es la energía de desactivación, ΔS es el término de entropía y R es la constante universal de gases (0.008314 kJ K⁻¹ mol⁻¹). H_a describe la parte exponencial del incremento por debajo de la temperatura óptima, mientras que H_d y ΔS en conjunto describen la parte decreciente y determinan la temperatura óptima (T_{opt}) del proceso. Las respuestas a la temperatura de $V_{c\max}$ y J_{\max} se calcularon (es decir, se obtuvieron los parámetros k_{25} , H_a , H_d y ΔS) para cada variedad (Syrah y Grenache), régimen de temperatura (calentado y control) y temporada (2016/17 y 2017/18) por separado y para ambas temporadas en conjunto (2016/18); dando un total de 12 modelos ajustados (2 variedades, 2 regímenes térmicos, 3 “temporadas”) para cada variable ($V_{c\max}$ o J_{\max}).

La temperatura óptima (T_{opt}) de $V_{c\max}$ y J_{\max} fue calculada según la siguiente ecuación (Crous et al., 2013; Medlyn et al., 2002a):

$$T_{opt} = \frac{H_d}{\Delta S - R \ln \left(\frac{H_d}{H_d - H_a} \right)} \quad (5)$$

Con la T_{opt} , se obtuvieron $V_{c\max}$ y J_{\max} , además de los valores de k_{25} , H_a , H_d y ΔS que fueron utilizados para comparar las variedades y los regímenes térmicos.

4.5. Respuesta a la temperatura de la asimilación neta (A_n)

Los valores de A_n medidos a CO₂ ambiental (400 µmol mol⁻¹) en las curvas A_n/C_i fueron utilizados para construir la respuesta de A_n a temperaturas entre 20 y 40 °C (en coincidencia con los valores de medición de las curvas). Luego, se ajustó una parábola según Vico et al., (2019):

$$A_n = k_0 + k_1 T_{leaf} + k_2 T_{leaf}^2 \quad (6)$$

donde k_0 , k_1 y k_2 son constantes que permiten calcular parámetros de la parábola asociados a procesos de aclimatación de la fotosíntesis, tales como T_{opt} , la tasa de asimilación a T_{opt} (A_{opt}) y el rango de temperatura para tasas cercanas al óptimo de A_n ($\Delta T_{80\%}$, donde $A_n \geq 0.8 A_{opt}$)

El cambio a largo plazo en T_{opt} con la temperatura de crecimiento (T_c) fue estimado mediante el cálculo de una pendiente lineal entre T_{opt} y T_c (a_{opt} °C°C⁻¹, Vico et al., 2019). Para ello, siguiendo el criterio de Medlyn y colaboradores (2002a) y de Kattge y Knorr (2007), se tomaron las temperaturas medias del aire a nivel de canopia, de los meses de diciembre y enero como T_c , en coincidencia temporal con la realización de las curvas A_n/C_i . La pendiente a_{opt} relacionó el cambio en la T_{opt} de A_n

con el cambio en la T_c entre plantas calentadas y control, y se calculó para cada variedad y temporada por separado.

4.6. Análisis estadístico

Para la caracterización del tratamiento, se consideró la temperatura del aire medida a nivel de la canopia en plantas calentadas y control, sin tener en cuenta la variedad ya que no se observó un efecto de la variedad sobre la respuesta al calentamiento. Se contó con dos repeticiones por tratamiento (2 réplicas con termocuplas de aire en cada combinación variedad-régimen de temperatura). Se compararon las temperaturas del aire media, mínima y máxima diaria durante toda la temporada (octubre a fines de febrero).

Las respuestas a la temperatura de V_{cmax} y de J_{max} se ajustaron a la ecuación de Arrhenius mediante una regresión no lineal, usando el paquete “nls” del software R (R Core Team, 2020). El ajuste de la ecuación a los datos se evaluó con análisis de correlación de los valores ajustados versus los observados, obteniéndose un p valor del ajuste y un R^2 . Los efectos de la variedad, régimen térmico y temporada fueron evaluados con una prueba de F para regresiones no lineales. Esta prueba realiza comparaciones de a pares, contrastando la suma de cuadrados de residuos (SCR) de ajustes globales con la SCR de ajustes individuales, según los efectos que se desean comparar. El estadígrafo de prueba F se calcula según la ecuación:

$$F = \frac{(SRS_f - \sum SRS_i)/[(n - 1)k]}{\sum SRS_i/[(N_{data} - 1)k]} \text{ with } df = n - k \quad (7)$$

donde SCR es la suma de cuadrados de residuos del ajuste global (f) o individual (i), n es el número de regresiones individuales, k es el número de parámetros a ajustar y N_{data} es el número de observaciones (Lebon et al., 2006). Los grados de libertad para cada SCR se calcularon como $N_{data} - k$. La prueba de F permite realizar comparaciones de a pares

Las T_{opt} (de V_{cmax} , J_{max} y A_{opt}) y A_{opt} fueron comparadas con ANOVA multifactorial (factores variedad y régimen de temperatura) y contrastes *post-hoc* para las comparaciones de a pares (entre variedades o entre regímenes de temperatura dentro de la misma variedad), siguiendo el criterio de la prueba de F.

El nivel de significancia para todos los análisis estadísticos fue $\alpha = 0.05$.

4.7. Esquema del ensayo

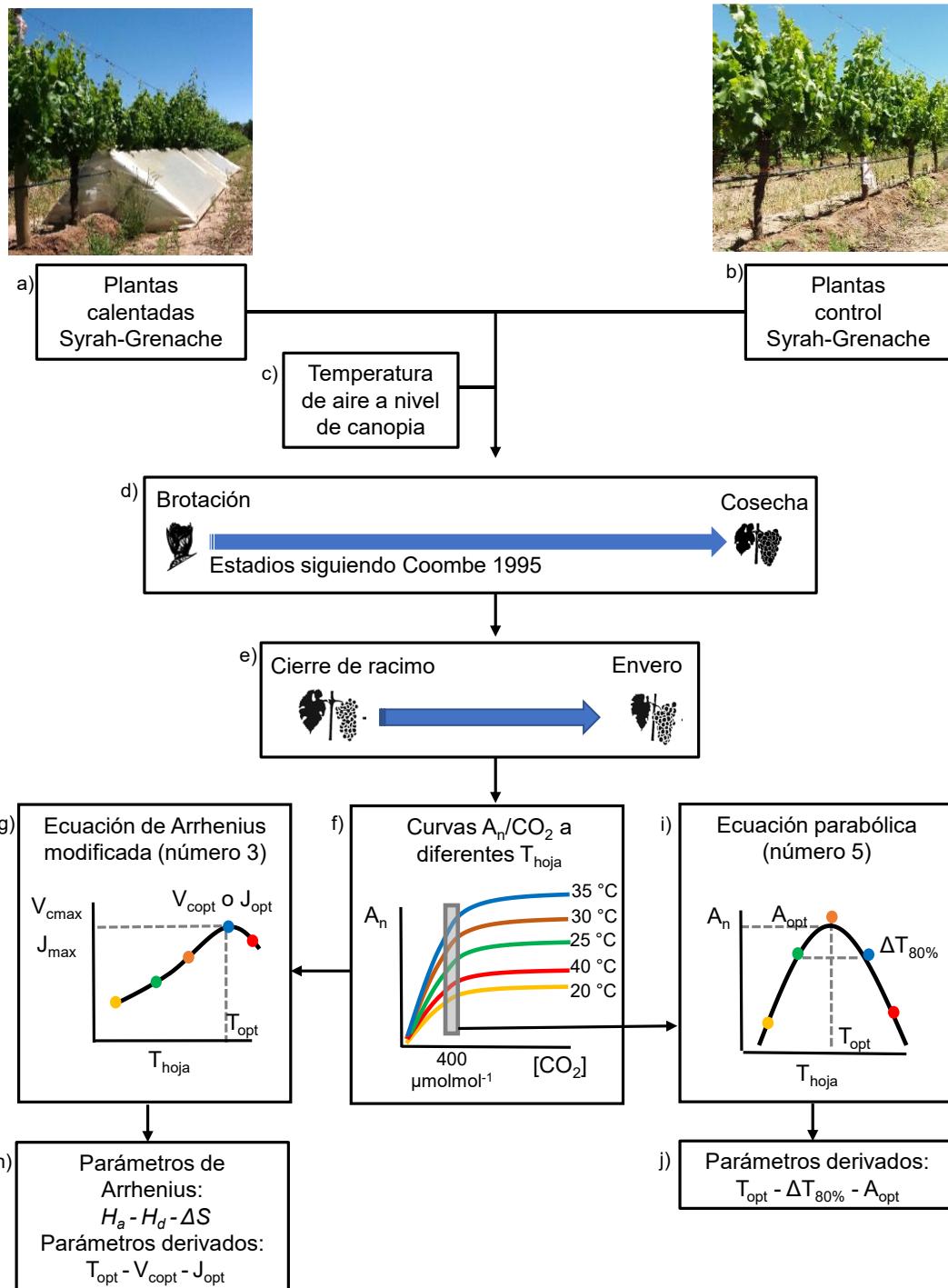


Figura 3.4: Esquema general del ensayo indicando los tratamientos de temperatura (a y b) y la caracterización (c), duración del calentamiento (d) y período (e) de las mediciones de intercambio de gases. Con las curvas A_n/CO_2 a diferentes temperaturas de medición (f) se calcularon mediante el modelo de FvCB la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y la tasa de transporte de electrones (J_{max}). La respuesta a la temperatura de estas dos variables (V_{cmax} y J_{max}) fue caracterizada con la ecuación de Arrhenius y los parámetros derivados (g). De los valores de asimilación neta (A_n) medidas a 400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$ CO_2 se construyó la respuesta a la temperatura de A_n y se caracterizó con la ecuación parabólica y los parámetros derivados (j). Este esquema representa el protocolo repetido durante las temporadas 2016/17 y 2017/18.

5. Resultados

5.1. Condiciones meteorológicas durante el ensayo

Las temporadas 2016/17 y 2017/18 pueden ser consideradas como típicas de la provincia de Mendoza, con temperaturas de aire levemente inferiores y precipitaciones similares a la histórica en valor acumulado, pero con diferente distribución en los meses de verano con respecto a los valores históricos. Las precipitaciones acumuladas entre octubre y marzo fueron 205 y 185 mm en 2016/17 y 2017/18 respectivamente. Estos valores fueron levemente superiores al histórico de 170 mm para el mismo período (Servicio Meteorológico Nacional, 1981 – 2010), que representa más del 70% de la precipitación anual. Durante las dos temporadas del ensayo, más del 50% de la precipitación ocurrió entre noviembre y diciembre, siendo enero y febrero los meses de mayor precipitación histórica.

Las temperaturas medias del período octubre-marzo fueron 19.2 °C para 2016/17 y 18.4 °C para 2017/18. Los meses de mayor temperatura media diaria fueron enero y febrero, mientras que diciembre y enero los de mayor temperatura máxima en ambas temporadas. La temperatura media máxima diaria fue 27 °C para 2016/17 y 26.8 °C para 2017/18, para el período marzo-octubre.

5.2. Efectos del sistema de calentamiento pasivo en la temperatura del aire y en el déficit de presión de vapor a nivel de la canopia

La temperatura del aire fue medida a nivel de la canopia (1.2 m de altura), para caracterizar el efecto del sistema de calentamiento pasivo (SCP, Figura 2.2). Como los efectos del calentamiento en la temperatura del aire fueron similares entre las variedades, los resultados se presentan como medias para los tratamientos de temperatura (control o calentados). La temperatura media diaria durante la primera temporada fue 22.7 °C para las plantas calentadas y 21.6 °C para las plantas control (1.1 °C de diferencia); mientras que en la segunda temporada la temperatura media diaria fue 24.3 °C y 21.6 °C para las plantas calentadas y control, respectivamente (2.7 °C de diferencia). Esta mayor diferencia en 2017/18 fue debida al efecto de la media sombra negra colocada al interior del SCP. En la figura 3.5 se presenta la temperatura media diaria para el período de ensayo (octubre-marzo) para ambas temporadas en plantas calentadas y control.

Durante el crecimiento de la hoja, desde octubre hasta mediados de noviembre, las temperaturas medias del aire fueron 17.9 °C para las plantas calentadas y 16.4 °C para las plantas control (1.5 °C de diferencia) en 2016/17. Para el mismo período, en 2017/18 las temperaturas medias del aire fueron 22.2 y 20.1 °C (2.1 °C de diferencia) para las plantas calentadas y control. La mayor diferencia entre plantas calentadas y control se observó durante diciembre y enero, en coincidencia con las mediciones de intercambio de gases. La temperatura media diaria del aire de diciembre y enero fueron

consideradas como temperatura de crecimiento (T_c), siguiendo el criterio propuesto por Medlyn y colaboradores (2002a) y Kattge y Knorr (2007). Para las plantas control fueron 23.7 °C y 23.9 °C en 2016/17 y 2017/18 respectivamente; mientras que para las plantas calentadas fueron 25.3 °C y 27.5 °C. Esto representó una diferencia de 1.5 °C para la primera temporada y de 3.6 °C para la segunda. Además, las temperaturas máximas medias para 2016/17 fueron 31.7 y 29.8 °C (1.9 °C de diferencia) y para 2017/18 34.7 y 29.5 °C (5.2 °C de diferencia), en plantas calentadas y control (Anexo Figura S3.1). Debido al SCP, no se observaron diferencias en la temperatura mínima diaria entre plantas calentadas y control, en ninguna de las dos temporadas (Anexo Figura S3.2).

En la temporada 2016/17, durante el crecimiento de la hoja en el mes de octubre y hasta mediados de noviembre, las plantas calentadas y control estuvieron expuestas a un $DPV_{canopia-aire}$ de 2.5 y 2.3 kPa, respectivamente. Para 2017/18, el $DPV_{canopia-aire}$ incrementó a 3.9 kPa para las plantas calentadas y a 3.3 kPa para las plantas control. En ambas temporadas, la diferencia máxima de $DPV_{canopia-aire}$ se observó en enero.

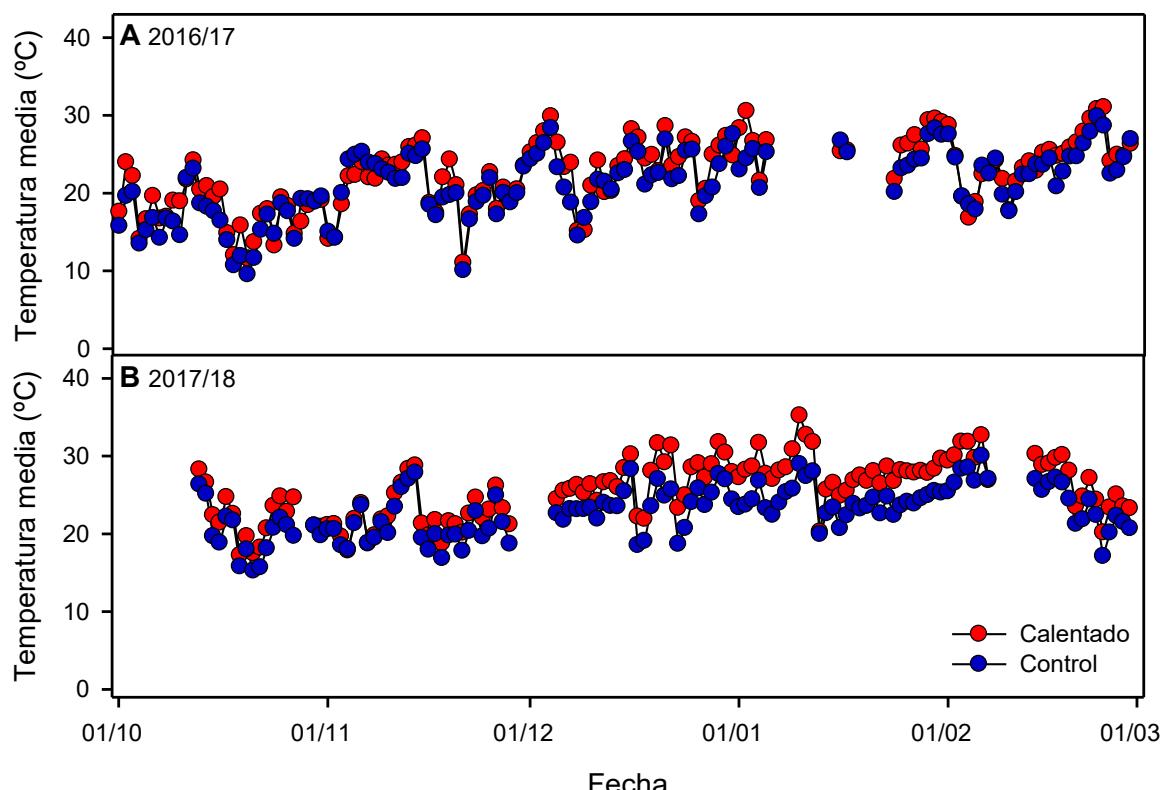


Figura 3.5: Evolución estacional de la temperatura media diaria para los tratamientos control (azul) y calentado (rojo) durante las temporadas 2016/17 (A) y 2017/18 (B). Los valores representan la media de 4 réplicas, dos en Syrah y dos en Grenache. La temperatura fue medida con termocuplas en la zona de racimos y registrada cada 20 minutos.

5.3. Curvas A_n/C_i

En términos generales, la asimilación neta (A_n) aumentó marcadamente a medida que la concentración de CO₂ incrementó desde la mínima CO₂ (0-50 µmol mol⁻¹) hasta 600 µmol mol⁻¹. Por debajo de 100 µmol mol⁻¹, las tasas de A_n fueron negativas. Por encima de 600 µmol mol⁻¹ el incremento en A_n fue gradual y se alcanzó una meseta de saturación, donde a mayores concentraciones de CO₂ (1000 - 1200 µmol mol⁻¹), A_n se mantuvo. Las tasas máximas de A_n oscilaron alrededor de 25 y 30 µmol m⁻² s⁻¹. De manera más específica, en 2016/17 para Grenache la máxima A_n se observó en la curva a 25 °C para las plantas control y en la curva a 30 °C para las plantas calentadas. En 2017/18, la máxima A_n se observó en la curva a 30 °C tanto en las plantas calentadas como control pero con mayores tasas en las primeras. Syrah en 2016/17 no presentó diferencias en la máxima A_n entre temperaturas de curva o tratamientos térmicos. En la temporada siguiente, se observó una mayor A_n máxima en las plantas control y en la curva a 30 °C. La pendiente de la parte inicial de las curvas A_n/C_i así como el cambio de pendiente hacia la zona del *plateau* de A_n corresponden al cálculo de las variables V_{cmax} y J_{max} respectivamente, y se presentan en detalle a continuación. En los anexos Figura S3.3 y Figura S3.4 se presentan las figuras de las curvas A_n/C_i.

5.4. Efectos del régimen térmico y de la variedad en la respuesta a la temperatura de la velocidad máxima de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax})

La ecuación de Arrhenius modificada se ajustó a los datos en todos los casos (variedades, regímenes térmicos y temporadas) y los R² variaron entre 0.69 y 0.95 (Tabla 3.1). En ambas temporadas y variedades, V_{cmax} aumentó exponencialmente siguiendo el incremento en la temperatura de la hoja, con una leve caída a altas temperaturas, que definió un valor máximo (V_{copt}) y una temperatura óptima para V_{cmax} (Figura 3.6, T_{opt}).

En la temporada 2016/17, V_{cmax} en las plantas calentadas de Grenache fue 69.5 ±4.3 µmol m⁻² s⁻¹ a 25 °C y duplicó la tasa a 40 °C (Anexo Tabla S3.1). Para las plantas control, V_{cmax} a 25 °C fue similar a las calentadas, incrementó un 80% a 35 °C y luego descendió un 35% a 40 °C. Para Syrah, V_{cmax} a 20 °C fue 55.6 ±5.2 y 51.0 ±7.3 µmol m⁻² s⁻¹ para las plantas calentadas y control, respectivamente. La tasa máxima observada en Syrah para ambos regímenes térmicos se observó a 40 °C y representó un incremento de casi 3 veces con respecto a la V_{cmax} a 20 °C. Grenache respondió al régimen térmico, aumentando la T_{opt} en las plantas calentadas respecto al control (ANOVA, p < 0.01) en tanto que Syrah no presentó diferencias entre plantas calentadas y control, con T_{opt} similares (p = 0.46; Figura 3.6, Tabla 3.1). Al comparar las variedades en la condición control, Syrah presentó mayores valores de V_{copt} y T_{opt} (p < 0.01) que Grenache.

En 2017/18, V_{cmax} en las plantas calentadas de Grenache fue de 51.2 ±6.1 a 20 °C e incrementó 1.7 veces a 40 °C (Anexo Tabla S3.1). Para las plantas de control de Grenache, V_{cmax} a 20 °C fue 44.3

$\pm 5.2 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, alcanzó el máximo ($134.9 \pm 2.6 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a 35°C y disminuyó un 15% a 40°C con respecto al máximo. Pese las diferencias observadas, no hubo diferencias estadísticas en Grenache entre plantas calentadas y control (prueba F no significativa, Tabla 3.2). Al igual que en la temporada anterior, las plantas de Syrah calentadas y control mostraron una V_{cmax} similar, con un promedio de $45 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a 20°C y con un aumento de 2.5 veces, alcanzando el máximo ($116 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) a 40°C para las plantas calentadas y a 35°C para las plantas control. Durante la segunda temporada, la respuesta a la temperatura de V_{cmax} siguió un patrón similar al de la temporada 2016/17, con T_{opt} más altas para las plantas calentadas de Grenache que las controles (ANOVA, $p < 0.01$). Por otro lado, para Syrah y en similitud a la primera temporada, no se observaron diferencias entre las plantas calentadas y las controles en T_{opt} (Tabla 3.1, $p = 0.05$). En la segunda temporada, las variedades bajo la condición control también se diferenciaron en la respuesta de V_{cmax} y en la T_{opt} ($p < 0.01$).

La media de respuesta a la temperatura de V_{cmax} obtenida de los datos de las dos temporadas en conjunto, confirmó los resultados observados en las temporadas individualmente. Se observó un efecto del régimen térmico para Grenache (prueba F significativa, Tabla 3.2) con una mayor T_{opt} en las plantas calentadas (Tabla 3.1, $p < 0.01$) lo que indica un desplazamiento de V_{cmax} hacia una mayor temperatura debido al calentamiento durante el crecimiento de la hoja. Por el contrario, las plantas Syrah calentadas y control mostraron una respuesta de V_{cmax} (prueba F no significativa, Tabla 3.2) y una T_{opt} similares (Tabla 3.1, $p = 0.56$), confirmando que esta variedad no respondió al calentamiento.

Con respecto a los parámetros de Arrhenius que describen la respuesta a la temperatura de V_{cmax} , H_a (que se relaciona con el incremento exponencial) fue similar entre tratamientos de temperatura y variedades (Tabla 3.1). Los otros parámetros, H_d y ΔS fueron mayores en Grenache control que en el calentado, explicando la disminución más pronunciada de V_{cmax} a temperaturas por encima de 35°C . Por otro lado, H_d y ΔS no cambiaron con el régimen térmico en Syrah.

En resumen, se encontró un efecto del régimen térmico en la respuesta a la temperatura de V_{cmax} para Grenache. El mecanismo para la aclimatación a una mayor temperatura de crecimiento consistió en incrementar T_{opt} a través de una disminución menos pronunciada de V_{cmax} a temperaturas foliares mayores a 35°C . Esta respuesta se confirmó estadísticamente en 2 (2016/17 y global) de los 3 modelos ajustados (Tabla 3.2). Para Syrah, no hubo efecto del tratamiento térmico y este resultado se confirmó en los 3 ajustes evaluados (2016/17, 2017/18 y global, Tabla 3.2).

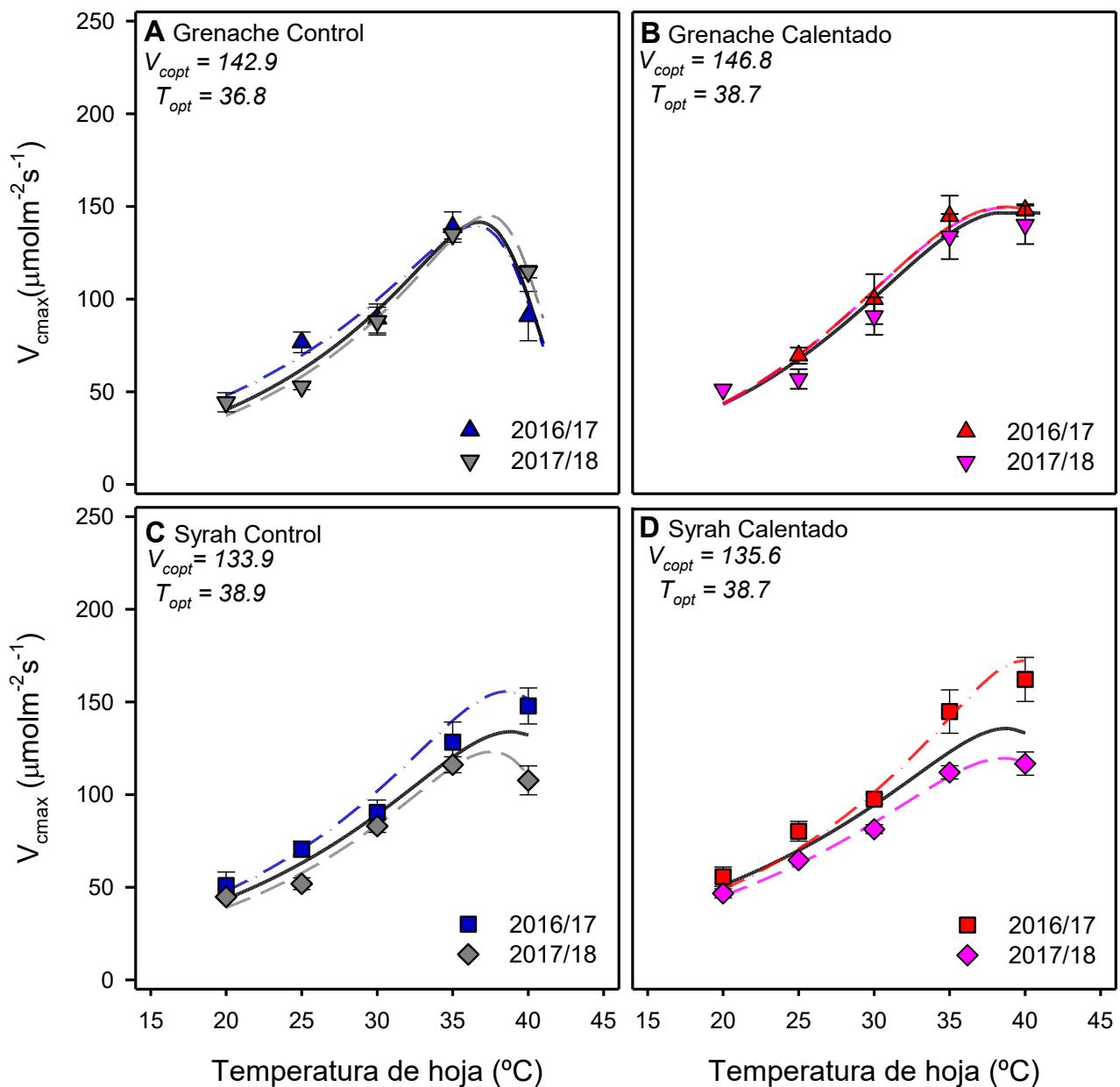


Figura 3.6: Respuesta a la temperatura de la Velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax} , $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$) en plantas de Grenache control (A), Grenache calentado (B), Syrah control (C) y Syrah calentado (D). Los símbolos representan la media \pm error estándar para 3 o 4 réplicas por tratamiento. Las líneas representan la función de Arrhenius modificada, ajustada en cada estación individualmente (rojo y azul para 2016/17, gris y fucsia para 2017/18) y para ambas temporadas en conjunto (línea negra sólida). Se indican la temperatura y la tasa óptima de V_{cmax} (T_{opt} $^{\circ}\text{C}$, V_{copt}) para el ajuste global de 2016/18. Los parámetros del ajuste de la ecuación de Arrhenius están presentados en la tabla 3.1.

Tabla 3.1: Parámetros (k_{25} , H_a , H_d y ΔS) de la respuesta a la temperatura de la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}), temperatura óptima (T_{opt}) y tasa óptima (V_{copt}) para plantas control y calentadas de Grenache y Syrah, en dos años de ensayos ajustados individualmente (2016/17 y 2017/18) y globalmente (2016/18).

Grenache						
	2016/17		2017/18		2016/18	
k_{25} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Control 68.8 ± 8.2	Calentado 68.6 ± 6.0	Control 69.9 ± 3.5	Calentado 62.8 ± 7.9	Control 61.2 ± 4.4	Calentado 65.9 ± 4.8
H_a (kJ mol $^{-1}$)	54.4 ± 11.7	73.0 ± 17.9	54.0 ± 6.1	63.6 ± 21.1	62.7 ± 6.8	63.4 ± 10.8
H_d (kJ mol $^{-1}$)	485.0 ± 0.8	166.5 ± 0.2	392.4 ± 0.3	166.8 ± 0.4	499.5 ± 0.3	196.0 ± 0.2
ΔS	1.549 ± 0.003	0.530 ± 0.005	1.251 ± 0.002	0.552 ± 0.008	1.595 ± 0.002	0.6 ± 0.003
T_{opt} (°C)	36.5	39.4	36.7	39.8	36.8	38.7
V_{copt} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	139.7	149.4	139.4	136.3	142.9	146.8
p	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
R ²	0.69	0.90	0.93	0.84	0.82	0.86

Syrah						
	2016/17		2017/18		2016/18	
k_{25} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	Control 69.7 ± 6.0	Calentado 69.9 ± 5.9	Control 56.9 ± 2.6	Calentado 61.9 ± 2.4	Control 62.3 ± 3.7	Calentado 69.2 ± 4.4
H_a (kJ mol $^{-1}$)	56.1 ± 9.1	53.9 ± 8.4	56.7 ± 5.0	46.8 ± 4.5	54.4 ± 7.1	45.7 ± 7.0
H_d (kJ mol $^{-1}$)	318.5 ± 0.5	397.0 ± 0.8	373.2 ± 0.3	289.0 ± 0.3	288.0 ± 0.5	331.0 ± 0.7
ΔS	1.009 ± 0.003	1.259 ± 0.003	1.187 ± 0.001	0.913 ± 0.002	0.9 ± 0.003	1.0 ± 0.004
T_{opt} (°C)	38.5	38.5	37.5	38.6	38.9	38.7
V_{copt} ($\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$)	155.6	172.4	123.0	119.5	133.9	135.6
p	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
R ²	0.88	0.90	0.95	0.95	0.84	0.77

k_{25} representa la V_{cmax} de referencia a 25 °C, H_a es la energía de activación, H_d es la energía de desactivación y ΔS es el término de entropía. Los valores representan el parámetro ajustado \pm error estándar. T_{opt} es la temperatura óptima calculada según la ecuación 5 y V_{copt} es la tasa a esa temperatura. p y R² representan la significancia y el coeficiente de correlación de la ecuación modificada de Arrhenius ajustada a los datos para cada tratamiento y temporada.

Tabla 3.2: Test de F comparando los ajustes de las respuestas de la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax} , Figura 3.6) y de la tasa de transporte de electrones (J_{max} , Figura 3.7). El análisis estadístico se realizó para comparar el régimen de temperatura (control y calentado) dentro de cada variedad (Grenache o Syrah), las variedades entre sí, las temporadas individuales y el ajuste global.

Factor de comparación	V_{cmax} Valor de F		J_{max} Valor de F	
Tratamiento de temperatura				
2016/17				
Grenache Co x Grenache Ca	9.75	*	8.14	*
Syrah Co x Syrah Ca	0.56	ns	1.36	ns
2017/18				
Grenache Co x Grenache Ca	2.21	ns	3.46	*
Syrah Co x Syrah Ca	1.43	ns	0.86	ns
Variedades				
2016/17				
Grenache Co x Syrah Co	5.43	*	13.97	*
Grenache Ca x Syrah Ca	1.56	ns	7.41	*
2017/18				
Grenache Co x Syrah Co	4.84	*	7.99	*
Grenache Ca x Syrah Ca	0.13	ns	1.21	ns
Temporadas				
Grenache Control				
2016/17 x 2017/18	0.01	ns	5.77	*
Grenache Calentado				
2016/17 x 2017/18	1.29	ns	12.16	*
Syrah Control				
2016/17 x 2017/18	4.19	*	0.56	ns
Syrah Calentado				
2016/17 X 2017/18	15.25	*	1.82	ns
Global 2016/18				
Grenache Co x Grenache Ca	10.59	*	2.10	ns
Syrah Co x Syrah Ca	0.61	ns	1.54	ns
Grenache Co x Syrah Co	5.10	*	60.71	*
Grenache Ca x Syrah Ca	1.34	ns	10.94	*

ns indica no significativo, * indica significativo ($p < 0.05$)

Co indica plantas control y Ca plantas calentadas.

5.5. Efectos del régimen térmico y de la variedad en la respuesta a la temperatura de la tasa máxima de transporte de electrones (J_{max})

El ajuste de la ecuación modificada de Arrhenius a los datos fue en todos los casos significativa, y el R^2 varió entre 0.54 a 0.97 (Tabla 3.3). J_{max} aumentó exponencialmente hasta alcanzar una T_{opt} y luego disminuyó, evidenciando una respuesta de tipo campana para ambas variedades y temporadas (Figura 3.7). Las diferencias en la respuesta a la temperatura de J_{max} estuvieron explicadas por cambios en T_{opt} , J_{opt} y en los parámetros J_{max}^{25} , H_d y ΔS (Tabla 3.3). En consistencia con los resultados observados para V_{cmax} , se encontraron diferencias entre tratamientos de temperatura para Grenache y entre variedades (Tabla 3.2).

En la temporada 2016/17, J_{max} en las plantas calentadas de Grenache osciló entre 115.4 ± 1.4 a 25°C e incrementó un 30% a 40°C . Para las plantas control, la máxima J_{max} medida fue de 153.4 ± 4.3 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a 35°C y disminuyó un 45% a 40°C . En ambos regímenes térmicos, J_{opt} fue similar pero la T_{opt} aumentó de 34.8°C en las plantas control a 38.1°C en las calentadas (ANOVA, $p < 0.01$). En Syrah, J_{max} a 20°C fue 111.2 ± 18.2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para las plantas control y 130.4 ± 10.5 para las calentadas y en ambos casos, J_{opt} alcanzó $205.5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A pesar de que T_{opt} fue más alta en las plantas calentadas respecto al control, no hubo diferencias significativas en la respuesta a la temperatura de J_{max} entre los tratamientos térmicos de Syrah (prueba F no significativa, Tabla 3.2). Al comparar variedades, se evidenciaron diferencias en ambos tratamientos térmicos. Syrah presentó J_{opt} y J_{max}^{25} mayores que Grenache para plantas tanto calentadas como control.

En la temporada 2017/18, J_{max} a 20°C para Grenache control promedió 100.1 ± 9.4 y 116.1 ± 10.5 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para las plantas calentadas, luego incrementó cerca de 2 veces y alcanzó la J_{opt} a 36°C . De manera similar a lo encontrado la temporada anterior, a 40°C J_{max} disminuyó un 50% para las plantas control pero solamente un 20% para las calentadas. Esto llevó a una mayor J_{opt} para Grenache calentado, respecto al control, evidenciándose el efecto del tratamiento térmico en esta variedad; a pesar de que la T_{opt} fue similar ($p = 0.81$). Para Syrah control, la J_{max} a 30°C fue la mayor tasa encontrada ($226.8 \pm 3.8 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$), dando lugar a una mayor J_{opt} respecto a las plantas calentadas. No obstante, la respuesta a la temperatura de J_{max} fue similar entre ambos tratamientos térmicos (Tabla 3.2). En esta segunda temporada, las variedades se diferenciaron únicamente en la condición control, repitiéndose la mayor J_{max}^{25} y J_{opt} para Syrah respecto a Grenache.

Cuando se ajustó la ecuación de Arrhenius para ambas temporadas en conjunto, las diferencias entre regímenes térmicos para Grenache no se confirmaron. En esta variedad, la respuesta de J_{max} a la temperatura fue diferente entre temporadas (Tabla 3.2). Para Syrah, la respuesta de J_{max} fue similar entre regímenes de temperatura, alcanzando 34°C para la T_{opt} y $197 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ para J_{opt} . Al comparar variedades, se encontró que las plantas de Syrah bajo ambos regímenes térmicos presentaron mayor

J_{opt} y J_{max}^{25} y menores H_d y ΔS , indicando por estos últimos parámetros una menor sensibilidad a la temperatura que Grenache (Tabla 3.3).

En resumen, la respuesta de J_{max} a la temperatura fue más variable entre temporadas que la de V_{cmax} . La tendencia general no evidenció cambios en J_{max}^{25} o H_a entre regímenes térmicos para ninguna de las dos variedades. Para Grenache calentado, H_d y ΔS fueron menores que para las plantas calentadas en los modelos ajustados en las temporadas individualmente.

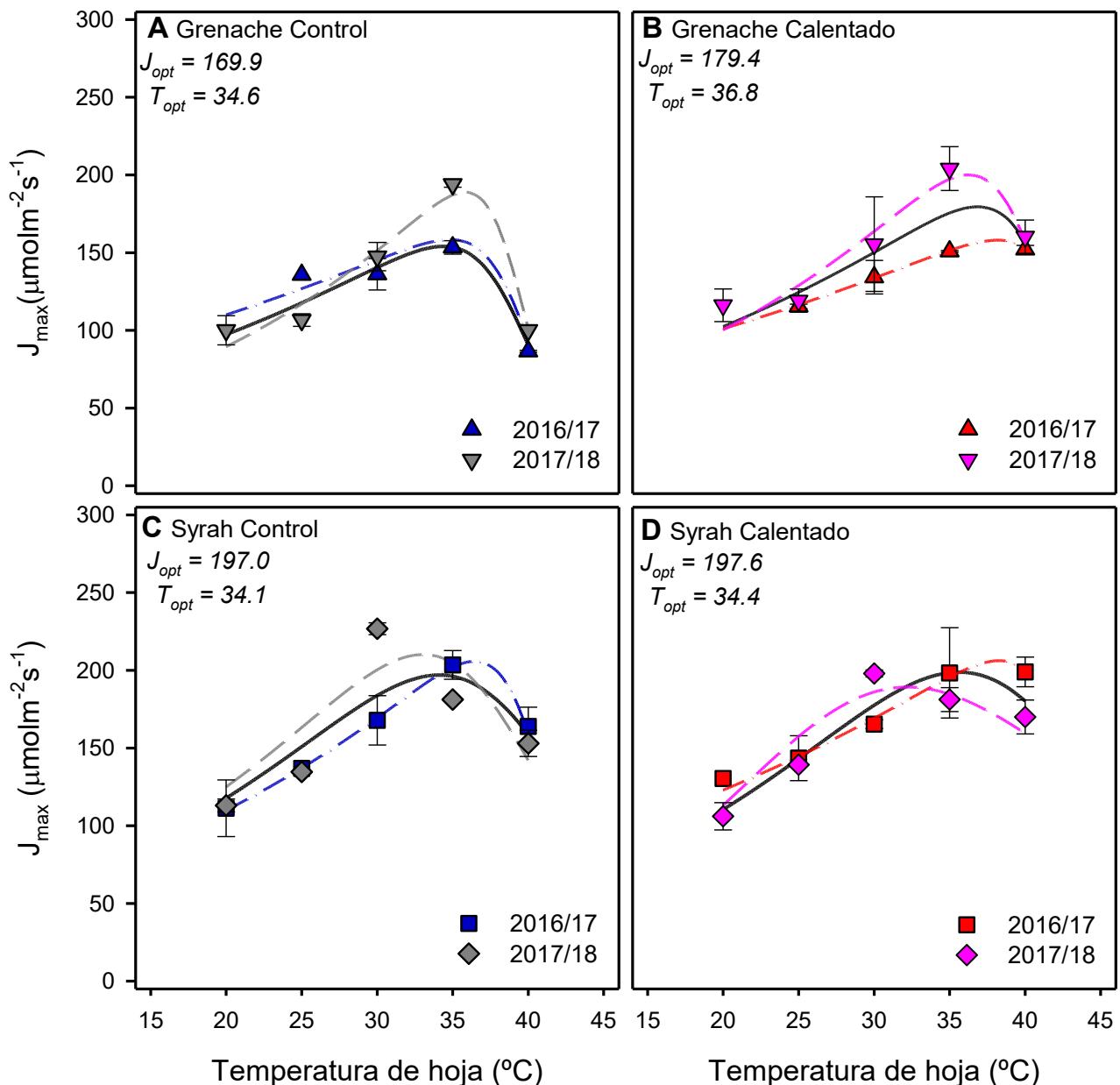


Figura 3.7: Respuesta a la temperatura de la tasa de transporte de electrones (J_{max} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en plantas de Grenache control (A), Grenache calentado (B), Syrah control (C) y Syrah calentado (D). Los símbolos representan la media \pm error estándar para 3 o 4 réplicas por tratamiento. Las líneas representan la función de Arrhenius modificada, ajustada en cada estación individualmente (rojo y azul para 2016/17, gris y fucsia para 2017/18) y para ambas temporadas en conjunto (línea negra sólida). Se indican la temperatura y la tasa óptima de J_{max} (T_{opt} $^{\circ}\text{C}$, J_{opt}) para el ajuste global de 2016/18. Los parámetros del ajuste de la ecuación de Arrhenius están presentados en la tabla 3.3.

Tabla 3.3: Parámetros (k_{25} , H_a , H_d y ΔS) de la respuesta a la temperatura de la tasa de transporte de electrones (J_{\max}), temperatura óptima (T_{opt}) y tasa óptima (J_{opt}) para plantas control y calentadas de Grenache y Syrah, en dos años de ensayos ajustados individualmente (2016/17 y 2017/18) y globalmente (2016/18).

Grenache						
	2016/17		2017/18		2016/18	
k_{25} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Control 126.3 ± 9.6	Calentado 116.0 ± 2.1	Control 116.0 ± 5.1	Calentado 127.9 ± 9.0	Control 116.1 ± 6.4	Calentado 123.8 ± 7.4
H_a (kJ mol $^{-1}$)	17.7 ± 7.7	20.7 ± 1.8	38.9 ± 5.2	36.6 ± 7.9	37.14 ± 6.5	28.4 ± 6.4
H_d (kJ mol $^{-1}$)	481.6 ± 0.4	442.9 ± 0.2	574.0 ± 0.6	399.5 ± 0.5	410.0 ± 0.4	410.0 ± 0.5
ΔS	1.538 ± 0.003	1.398 ± 0.001	1.8 ± 0.002	1.272 ± 0.003	1.313 ± 0.002	1.301 ± 0.003
T_{opt} (°C)	34.8	38.1	35.8	36.2	34.6	36.8
J_{opt} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	158.4	158.1	188.9	200.1	169.9	179.4
p	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
R 2	0.87	0.97	0.87	0.66	0.77	0.55

Syrah						
	2016/17		2017/18		2016/18	
k_{25} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Control 136.2 ± 9.7	Calentado 144.0 ± 11.3	Control 162.2 ± 11.2	Calentado 156.2 ± 10.3	Control 149.8 ± 7.4	Calentado 142.2 ± 5.0
H_a (kJ mol $^{-1}$)	32.0 ± 7.5	23.6 ± 8.7	41.1 ± 12.6	75.4 ± 26	38.3 ± 8.7	40.2 ± 7.3
H_d (kJ mol $^{-1}$)	470.8 ± 0.6	478.4 ± 1.4	223.9 ± 0.4	129.0 ± 0.2	200.0 ± 0.3	181.0 ± 0.3
ΔS	1.499 ± 0.003	1.512 ± 0.009	0.718 ± 0.004	0.425 ± 0.002	0.6 ± 0.003	0.6 ± 0.003
T_{opt} (°C)	36.4	38.2	33.0	32.2	34.1	34.4
J_{opt} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	205.8	206.2	210.2	189.2	197.0	197.6
p	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
R 2	0.68	0.54	0.76	0.87	0.59	0.75

k_{25} representa la J_{\max} de referencia a 25 °C, H_a es la energía de activación, H_d es la energía de desactivación y ΔS es el término de entropía. Los valores representan el parámetro ajustado \pm error estándar. T_{opt} es la temperatura óptima calculada según la ecuación 5 y J_{opt} es la tasa a esa temperatura. p valor y R 2 representan la significancia y el coeficiente de correlación del ajuste de la ecuación modificada de Arrhenius ajustada a los datos para cada tratamiento y temporada.

5.6. Respuesta de la asimilación neta (A_n) a la temperatura

La respuesta de la asimilación neta (A_n) a la temperatura se ajustó a la ecuación de la parábola descripta en la ecuación 6 (Figura 3.8). Las variedades presentaron diferente respuesta en la aclimatación de la A_n a la temperatura de crecimiento. La respuesta general fue un aumento de la temperatura óptima (T_{opt}) en las plantas calentadas, para ambas variedades y temporadas. Para Grenache, el incremento de T_{opt} en las plantas calentadas con respecto a las control fue de 0.5 °C en ambas temporadas pero no fue estadísticamente significativo (p = 0.07); mientras que para Syrah T_{opt} incrementó en las plantas calentadas con respecto al control 1 °C y 1.2 °C (p = 0.03) la primera y segunda temporada, respectivamente. Considerando T_c como la temperatura media del aire de los meses de diciembre y enero, las diferencias entre plantas calentadas y control fueron de 1.5 °C la

temporada 2016/17 y de 3.6 °C la 2017/18. A través de la relación lineal entre T_{opt} y T_c , se calculó la pendiente a_{opt} que refleja la aclimatación a la temperatura de crecimiento en el largo plazo (Vico et al., 2019). Se evidenció que a_{opt} presentó en ambas variedades un valor más elevado la primera temporada que la segunda. Fue de 0.35 °C °C⁻¹ para Grenache y de 0.61 °C °C⁻¹ para Syrah en 2016/17; a diferencia de los valores de 2017/18 que fueron de 0.14 °C °C⁻¹ para Grenache y de 0.33 °C °C⁻¹ para Syrah. También se encontró en las plantas de Grenache calentadas que A_{opt} aumentó 1.2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ la primera temporada ($p < 0.01$) y 2 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ la segunda ($p < 0.01$). Por otra parte, Syrah incrementó levemente A_{opt} la primera temporada (0.4 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, $p = 0.61$) y no presentó cambios la segunda. Considerando ambas variedades y temporadas, $\Delta T_{80\%}$ osciló entre 13.6 ± 0.6 y 22.9 ± 1.4 °C (Tabla 3.4); indicando un amplio rango de temperaturas para valores casi óptimos de A_n .

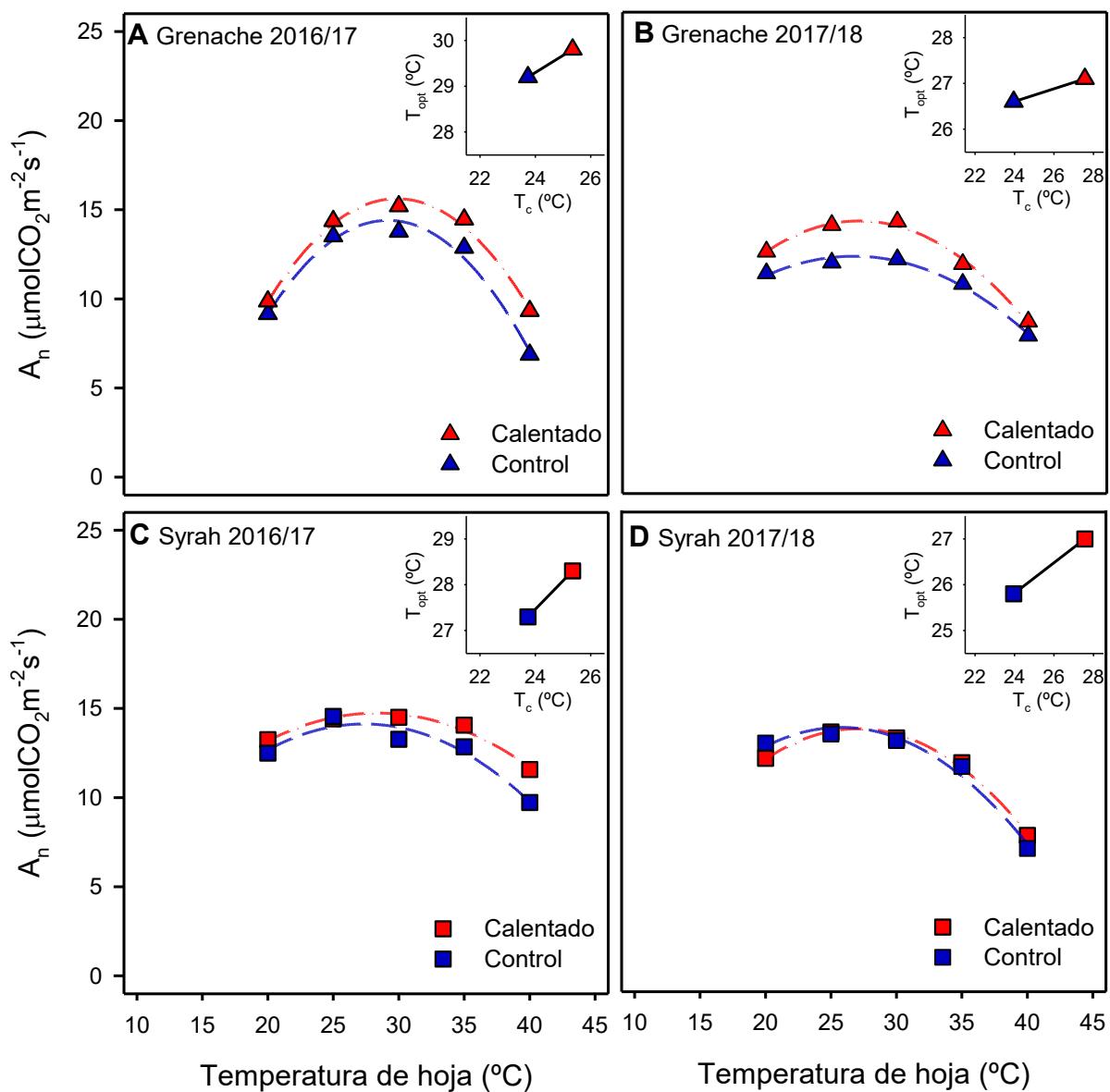


Figura 3.8: Respuesta a la temperatura de la asimilación neta (A_n , $\mu\text{mol CO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D) bajo tratamientos control (azul) y calentado (rojo), durante las temporadas 2016/17 (A-C) y 2017/18 (B-D). Los símbolos representan la media de 3 o 4 réplicas por tratamiento y las líneas representan la función parabólica ajustada. Las figuras insertadas representan la relación entre la temperatura de crecimiento (T_c , °C) y la temperatura óptima de A_n (T_{opt} , °C).

Tabla 3.4: Parámetros de la respuesta a la temperatura de la asimilación neta (A_n). Temperatura óptima (T_{opt}), tasa de A_n a esa temperatura (A_{opt}) y rango de temperaturas para 80% de A_n optima ($\Delta T_{80\%}$), en plantas control y calentadas de Grenache y Syrah.

Grenache				
	2016/17		2017/18	
A_{opt} ($\mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Control 14.4 ± 0.4	Calentado 15.6 ± 0.3	Control 12.3 ± 0.2	Calentado 14.3 ± 0.2
T_{opt} ($^{\circ}\text{C}$)	29.2 ± 0.3	29.8 ± 0.2	26.6 ± 0.5	27.1 ± 0.3
$\Delta T_{80\%}$ ($^{\circ}\text{C}$)	13.6 ± 0.6	14.5 ± 0.5	20.0 ± 1.1	18.2 ± 0.7

Syrah				
	2016/17		2017/18	
A_{opt} ($\mu\text{molCO}_2 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$)	Control 14.3 ± 0.4	Calentado 14.7 ± 0.2	Control 13.8 ± 0.3	Calentado 13.7 ± 0.2
T_{opt} ($^{\circ}\text{C}$)	27.3 ± 1.0	28.3 ± 0.5	25.8 ± 0.9	27.0 ± 0.3
$\Delta T_{80\%}$ ($^{\circ}\text{C}$)	20.4 ± 2.5	22.9 ± 1.4	18.5 ± 1.5	17.8 ± 0.7

Valores representan el parámetro ajustado con la ecuación $6 \pm$ error estándar.

6. Discusión

Este trabajo demuestra que las variedades de vid estudiadas presentaron diferentes mecanismos de aclimatación de la fotosíntesis frente a un aumento en la temperatura de crecimiento. Únicamente Grenache aumentó la asimilación óptima (A_{opt}), llevando a una mayor asimilación de C bajo el tratamiento de calentamiento. A su vez, las plantas calentadas de Grenache mantuvieron la velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y la tasa de transporte de electrones (J_{max}) a temperaturas foliares de 35 y 40 °C mientras que en las plantas control, las tasas disminuyeron marcadamente a esas temperaturas. Esto se debió a menores valores de energía de desactivación (H_d) y término de entropía (ΔS) en Grenache calentado, explicando las mayores tasas de V_{cmax} y J_{max} a altas temperaturas de hoja. Por otro lado, Syrah presentó una respuesta homeostática, sin cambios en A_{opt} , en la capacidad fotosintética (V_{cmax} , J_{max}) o en sus respuestas a la temperatura; confirmando resultados previos en esta variedad en los que demuestra tolerar diversas condiciones ambientales (Rogiers et al., 2009; Sadras et al., 2012; Sadras y Soar, 2009; Schultz, 2003a; Soar et al., 2009). Ambas variedades mostraron un aumento de la temperatura óptima para A_n (T_{opt}) siguiendo el aumento de la temperatura de crecimiento, pero este fue mayor en Syrah. Durante la segunda temporada, la temperatura de crecimiento en las plantas calentadas fue mayor que durante la primera, pero esto no condujo a un incremento de T_{opt} mayor debido a que la T_c alcanzó valores por encima del óptimo de la fotosíntesis y por lo tanto, la aclimatación de la fotosíntesis fue limitada (Vico et al., 2019).

6.1. Condiciones de temperatura alcanzadas durante el experimento

En este estudio, se empleó un calentamiento experimental que logró aumentar la temperatura media del aire en 1.5 y 3.6 °C a principios de verano, cuando las hojas alcanzaron el estado adulto y se realizaron las mediciones de intercambio de gases. El mayor incremento de temperatura logrado en la segunda temporada del ensayo fue gracias a la implementación de la tela media sombra negra, al interior del SCP (Capítulo 2, sección 3). El calentamiento alcanzado en este experimento es consistente con aumentos de temperatura proyectados para fines de siglo en la principal región vitícola de Argentina (Cabré y Nuñez, 2020; Cabré et al., 2016) y para otras en el mundo (Santillán et al., 2019). Los efectos de la temperatura en la vid han sido estudiados principalmente aplicando períodos cortos de calentamiento en plantas en maceta (Edwards et al., 2011; Galat Giorgi et al., 2019; Kriedemann, 1968), cámaras de cultivo o invernaderos (Ferrini et al., 1995; Greer y Weston, 2010; Kizildeniz et al., 2015; Salazar-Parra et al., 2015, 2012). No obstante, en esos estudios la temperatura de crecimiento se mantuvo estable, lo que no sucede en el campo, donde la temperatura fluctúa a múltiples escalas y por lo tanto, las plantas deben aclimatarse a condiciones más variables (Vico et al., 2019). Incluso si bien se suele utilizar la temperatura media de los 30 días previos como una estimación de la T_c , aún no se conoce cómo las plantas se aclimatan a las temperaturas medias o máximas o a las fluctuaciones en el corto (diarias) o largo plazo. En este estudio, las temperaturas medias máximas del aire en 2016/17 fueron 29.8 y 31.7 °C para plantas control y calentadas; y en 2017/18 fueron 29.5 y 34.7 °C. El rango de temperaturas alcanzado en este estudio es superior a la mayoría de los trabajos que evalúan la aclimatación de la fotosíntesis en diversas especies (Kattge y Knorr, 2007; Medlyn et al., 2002a; Sage y Kubien, 2007). Los trabajos de campo que incrementan la temperatura son escasos en especies frutales en general (Miserere et al., 2019; Walcroft et al., 2002) y en vid, en particular (Galat Giorgi et al., 2020; Sadras et al., 2012; Sadras y Soar, 2009; Soar et al., 2009). Hasta la fecha, no se han reportado estudios que evalúen a campo la aclimatación de la fotosíntesis en vid, aplicando un calentamiento sostenido durante toda la estación de crecimiento vegetativo.

6.2. Las variedades se diferenciaron en la respuesta a la temperatura de los parámetros fotosintéticos

Los resultados de este trabajo evidenciaron diferencias entre las variedades en las respuestas a la temperatura de V_{cmax} y de J_{max} . En Grenache, las plantas calentadas fueron capaces de mantener mayores tasas de V_{cmax} y de J_{max} a temperaturas foliares por encima de 35 °C, disminuyendo la energía de desactivación (H_d) y el término de entropía (ΔS) con respecto al control. Esto condujo a un aumento en la T_{opt} para V_{cmax} y J_{max} . Además, Syrah presentó respuestas de V_{cmax} y J_{max} a la temperatura similares entre plantas calentadas y control. Algunos trabajos previos en otras especies han reportado que las respuestas de V_{cmax} y J_{max} a la temperatura, dependen del genotipo (Bunce, 2000; Crous et al.,

2013; Medlyn et al., 2002b), incluso recientemente demostrado en vid, para las variedades Merlot y Chardonnay (Greer, 2018). El trabajo de Greer (2018) demostró diferencias varietales en la fotosíntesis, explicadas en Merlot por una mayor g_s a temperaturas foliares moderadas y una mayor J_{max} a temperaturas elevadas, en comparación con Chardonnay. Promediando entre temporadas, V_{cmax} osciló entre 56 y 69 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ medido a la temperatura de referencia (25°C), en similitud con valores observados en un estudio a campo en Syrah (Greer, 2019), pero mayores que los valores observados en Riesling (Schultz, 2003b), una variedad de clima frío, o en Merlot y Chardonnay en un estudio con plantas en maceta (Greer, 2018). Tanto las variedades como los regímenes térmicos presentaron V_{cmax}^{25} similares, en consistencia con estudios previos en los que no se encontró efecto de la temperatura de crecimiento sobre V_{cmax}^{25} (Kattge y Knorr, 2007; Way y Yamori, 2014). Los resultados del presente trabajo mostraron un incremento exponencial de V_{cmax} (caracterizado por el parámetro H_a) siguiendo el incremento de la temperatura de la hoja, con disminuciones leves a altas temperaturas para Syrah y Grenache bajo ambos regímenes térmicos. Esta disminución, fue más pronunciada en Syrah calentado o control y en las plantas de Grenache control que en las calentadas. Este tipo de respuesta ha sido observada en otras variedades de vid (Greer, 2019, 2018; Greer y Weedon, 2012) como así también en plantas herbáceas, arbustos y árboles (Bunce, 2000; Crous et al., 2013; Leuning, 2002). La disminución de V_{cmax} a altas temperaturas puede estar relacionada con una reducción en la actividad de la Rubisco activa que no logra mantener a la Rubisco activa (Sage y Kubien, 2007; Salvucci y Crafts-Brandner, 2004), más que con una desactivación de la Rubisco en sí misma (Galmés et al., 2015). En este trabajo, no hubo disminución de V_{cmax} en Grenache calentado a temperaturas mayores a 35°C . Algunas especies cuando crecen bajo altas temperaturas, pueden producir una isoforma de Rubisco activa que confiere mayor tolerancia a la alta temperatura y logra mantener la Rubisco activa (Way y Yamori, 2014). Adicionalmente, en un estudio reciente de Greer (2018) en dos variedades de vid, se demostró que V_{cmax} no disminuye a temperaturas foliares de hasta 40 y 45°C . El resultado de Greer en conjunto con los de este estudio, sugieren que algunas variedades de vid podrían producir una Rubisco activa estable cuando se exponen a altas temperaturas de crecimiento; una característica de gran relevancia para la aclimatación de la fotosíntesis. Alternativamente, la disminución en la actividad de la Rubisco a altas temperaturas podría ser una respuesta co-regulada por una limitación en el transporte de electrones (como se explica a continuación) y no por la Rubisco activa (Sage y Kubien, 2007; Yamori et al., 2014).

La tasa de transporte de electrones (J_{max}), aumentó exponencialmente hasta alcanzar la T_{opt} y luego disminuyó de manera marcada, particularmente en Grenache control y Syrah. Esta respuesta de tipo campana es común en vid (Greer, 2019, 2018; Greer y Weedon, 2012; Schultz, 2003b) y en otras especies (Crous et al., 2013; Zaka et al., 2016). A temperaturas elevadas, el transporte cíclico de electrones en torno al PSI es activado a expensas del transporte lineal. Esto ocasiona carencia de

NADPH disponible para el CCB y puede limitar la fijación de C (Sage y Kubien, 2007). Este último mecanismo, recientemente demostrado en vid (Sun et al., 2017), podría explicar la disminución marcada de J_{max} a temperaturas elevadas, observada en plantas de Syrah y en Grenache control. Por otra parte, las altas tasas de J_{max} observadas en Grenache calentado a temperaturas foliares mayores a 35 °C, podrían estar relacionadas con una modificación en la composición de la membrana, alterándose la relación de ácidos grasos saturados e insaturados (Sage y Kubien, 2007; Yamori et al., 2014). La saturación de ácidos grasos incrementa las interacciones hidrofóbicas entre ácidos grasos adyacentes, aumentando la rigidez de la membrana y contribuyendo a la aclimatación a altas temperaturas (Sage y Kubien, 2007). También podría relacionarse con la expresión de proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*), que tienen un rol central en preservar la integridad de la membrana celular durante un estrés térmico (Carvalho et al., 2015). Ambas variedades presentaron una temperatura óptima para J_{max} en el mismo rango que otras especies leñosas (Medlyn et al., 2002a). Sin embargo, hubo diferencias en la J_{max}^{25} , con mayores valores en Syrah (148 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) que en Grenache (121 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$). Estas tasas son similares a valores previamente reportados en vides cultivadas a campo (Greer, 2019; Greer y Weedon, 2012) pero son más elevados que otros resultados en variedades de clima frío o en plantas cultivadas en maceta (Greer, 2018; Schultz, 2003b). J_{max} es comúnmente más variable que V_{cmax} (Bernacchi et al., 2009), como ha sido reportado por Greer (2018) para dos variedades de vid. Las diferencias observadas en V_{cmax} y J_{max} podrían explicarse por variaciones en la partición de nitrógeno dentro de la hoja, en favor de las proteínas que intervienen en el transporte de electrones (Kattge y Knorr, 2007; Lin et al., 2013; Medlyn et al., 2002b).

Entre los cuatro parámetros de la ecuación de Arrhenius (k_{25} , H_a , H_d y ΔS) que explican la aclimatación a la temperatura, en este trabajo se encontraron menores energías de desactivación (H_d) y término de entropía (ΔS) para las plantas calentadas de Grenache, lo que condujo a las mayores tasas de V_{cmax} y J_{max} observadas a temperaturas foliares mayores a 35 °C. En concordancia con estos resultados, Kattge y Knorr (2007) también encontraron un menor ΔS en plantas leñosas crecidas en ambientes más cálidos, pero en su trabajo toda la parte de disminución de la curva de Arrhenius fue capturada por este parámetro ya que H_d fue fijado a 200 kJ mol⁻¹. De manera similar, otros estudios reportaron que mayores ΔS conducen a menores tasas de fotosíntesis a altas temperaturas (Lin et al., 2012). En Grenache, que respondió al tratamiento de temperatura, la energía de activación (H_a) fue similar entre las plantas calentadas y control. A pesar de que algunos estudios han relacionado menores H_a con mayores temperaturas de crecimiento (Bunce, 2019, 2018; Crous et al., 2013), en otros trabajos no pudo establecerse una relación clara (Bunce, 2018; Kattge y Knorr, 2007; Lin et al., 2013). Otros componentes que afectan la modelización de la respuesta de V_{cmax} y J_{max} a la temperatura son las constantes cinéticas de la Rubisco (Diaz-Espejo, 2013), la Rubisco activasa (Salvucci y Crafts-Brandner, 2004), la conductancia del mesófilo (Bernacchi et al., 2002; Flexas et al., 2008), la respiración

(Yamori et al., 2014) y la fotorrespiración (Brooks y Farquhar, 1985). Estos factores no fueron considerados en este trabajo. Las constantes cinéticas de la Rubisco son consideradas universales, pero puede haber variaciones entre especies o entre la metodología utilizada para su determinación (Diaz-Espejo 2013; Medlyn et al., 2002a). La conductancia del mesófilo permite modelar V_{cmax} y J_{max} en respuesta a la concentración cloroplástica de CO₂ (C_c), en tanto que en este trabajo se calcularon tasas aparentes de las variables bioquímicas por estar en base a C_i (Bernacchi et al., 2002). La respiración aumenta con la temperatura de la hoja, pero también se aclimata a la temperatura de crecimiento (Yamori et al., 2014). Finalmente, la fotorrespiración incrementa con la temperatura de la hoja debido a que por un lado aumenta más la solubilidad del O₂ con respecto al CO₂ y por otro lado a que la afinidad de la Rubisco por el CO₂ (constante de Michaelis-Menten K_m para CO₂) aumenta más que para el O₂ (Sage y Kubien, 2007). Finalmente, los resultados del presente estudio sugieren que los cambios en H_d y ΔS son importantes variables para modelar la respuesta a la temperatura de los parámetros de fotosíntesis, como ha sido demostrado recientemente (Stinziano et al., 2018). El citado estudio compara la capacidad predictiva de diferentes modelos de flujo de carbono a nivel de canopia en escenarios de elevada temperatura y demuestra que la performance del modelo es fuertemente afectada por los parámetros H_d y ΔS .

6.3. Las variedades difirieron en la aclimatación de la fotosíntesis a la alta temperatura

La temperatura óptima de A_n mostró un incremento de alrededor de 0.5 °C en Grenache y de 1.2 °C en Syrah para un incremento en la temperatura media del aire de 1.5 y 3.6 °C en la primera y segunda temporada, respectivamente. La temperatura de crecimiento se consideró, al igual que en otros estudios (Medlyn et al., 2002a; Kattge y Knorr, 2007) como la temperatura media de los 30 días previos a la realización de las mediciones, para reflejar la aclimatación a largo plazo. Sin embargo, se ha reportado un ajuste en T_{opt} al incrementar T_c en períodos más cortos (14 días) en plantas de la variedad Chasselas evaluadas al momento de envero (Zufferey y Murisier, 2002). Los incrementos de T_{opt} reflejados a través de la pendiente a_{opt} fueron mayores en la primera temporada que en la segunda, y además similares a los observados en otras especies (Slot y Winter, 2017; Way y Yamori, 2014). El menor aumento de T_{opt} en la segunda temporada, podría indicar que cuando la temperatura de la hoja ya es elevada o cercana al óptimo, como las registradas durante 2017/18, un incremento en la temperatura de la hoja puede no ser positivo como cuando las temperaturas iniciales de la hoja son más bajas (Vico et al., 2019). Estas respuestas son comunes cuando el incremento en la T_c excede la T_{opt} (Slot y Winter, 2017; Vico et al., 2019). Además del aumento en la T_{opt} , en ambas temporadas las plantas calentadas de Grenache evidenciaron una mayor tasa de asimilación óptima (A_{opt}), en relación con los incrementos de V_{cmax} y J_{max} ya mencionados, indicando que esta variedad se aclimató al

calentamiento (Yamori et al., 2014). Por otro lado, Syrah mostró sólo un ajuste de la T_{opt} y no de la asimilación, lo que corresponde a una respuesta de tipo homeostática en la que hay un ajuste de la fotosíntesis neta a la temperatura de crecimiento, sin que esto implique ganancias en la asimilación de C (Way y Yamori, 2014). A su vez, la limitación a la aclimatación fotosintética observada en la segunda temporada puede deberse a cambios epigenéticos, que modifiquen la respuesta de las hojas previamente expuestas al calentamiento. La yema de la vid tiene de 8 a 10 hojas preformadas en la temporada anterior que brotan en la temporada siguiente (Keller, 2015a). Sobre estas hojas (preformadas en la temporada 2016/17 y expuestas a un calentamiento medio de 1.5 °C), podría haber una respuesta de sensibilización (*priming* en inglés) asociada a cambios epigenéticos, que hace que las plantas sean más resistentes a futuras exposiciones al estrés, mediante la adquisición de una “memoria” (Crisp et al., 2016).

Este estudio en condiciones de campo, demostró que las dos variedades de vid evaluadas podrían presentar diferentes estrategias para hacer frente a un aumento en la temperatura de crecimiento aplicado durante todo el ciclo vegetativo. En estas condiciones, un aumento de temperatura de 1.5 a 3.6 °C podría no ser perjudicial para la asimilación de C en condiciones bien regadas. No obstante, esta situación de ausencia de déficit hídrico es difícil de encontrar y mantener en viñedos comerciales. Además, como será discutido en las próximas secciones, este mismo incremento de temperatura del aire podría implicar un mayor consumo de agua así como consecuencias negativas en la madurez y en la composición de la uva con destino a vinificación (de Rosas et al., 2017; Sadok et al., 2021; Sadras et al., 2013). Considerando que Syrah y Grenache presentan diferentes estrategias para enfrentar el déficit hídrico, que habrá una disminución en la disponibilidad hídrica en el futuro (Cabré et al., 2016) y que los estudios a campo que evalúan condiciones de calentamiento son escasos (Galat Giorgi et al., 2020; Sadras y Moran, 2012; Sadras y Soar, 2009; Soar et al., 2009), sería interesante continuar este estudio combinando un calentamiento durante todo el ciclo vegetativo en conjunto con la aplicación de un déficit hídrico. Algunos trabajos recientes combinaron calentamiento aplicado como olas de calor y déficit hídrico (Edwards et al., 2011; Galat Giorgi et al., 2019) y los resultados de los mismos son contradictorios. Por un lado, en la variedad Cabernet Sauvignon el calentamiento agravó los efectos del déficit hídrico con una mayor disminución de la conductancia estomática (g_s) y de A_n (Edwards et al., 2011). Por otra parte, en Malbec bajo déficit hídrico, el calentamiento hizo que la disminución de g_s y A_n fuera menos marcada (Galat Giorgi et al., 2019). Estos resultados contrastantes sugieren efectos interactivos de la disponibilidad hídrica y de la temperatura además de las respuestas varietales, reforzando la necesidad de ampliar estos estudios. Las respuestas de aclimatación fotosintética encontradas en el presente trabajo mostraron diferentes mecanismos en cada genotipo y ayudan a ilustrar la variabilidad genética existente de la vid. Continuar

explorando esta variabilidad podría ser de gran utilidad para generar conocimiento aplicable a programas de mejoramiento y de selección de variedades mejor adaptadas al cambio climático.

CAPÍTULO 4²: ESTRATEGIAS VARIETALES PARA HACER FRENTE AL AUMENTO DE TEMPERATURA: COMPORTAMIENTO ESTOMÁTICO Y EFICIENCIA EN EL USO DEL AGUA

1. Introducción

El suelo y el clima son los factores ambientales principales que en su interacción con las prácticas de manejo y la variedad determinan la producción vitivinícola. Sin embargo, en las últimas décadas las condiciones climáticas han tomado gran relevancia debido a los cambios y a la variabilidad asociada al cambio climático (Van Leeuwen et al., 2019). La escasez de agua, el calentamiento y la mayor frecuencia e intensidad de olas de calor son los eventos más comúnmente reportados en varias áreas vitícolas (Santillán et al., 2019); y como consecuencia, se esperan pérdidas en el rendimiento de los cultivos (Sadok et al., 2021). Para Mendoza, las proyecciones climáticas para fines de este siglo incluyen un aumento de la temperatura media de alrededor de 2 °C durante los meses de octubre a abril (Cabré y Nuñez, 2020; Cabré et al., 2016). También se pronostica una disminución en las precipitaciones níveas en la cordillera de los Andes, que son la única fuente de agua para la agricultura y otras actividades humanas (Boninsegna, 2014; Cabré y Nuñez, 2020). Para regiones vitícolas áridas y cálidas, el calentamiento sostenido y el estrés hídrico podrían impactar en la fisiología de la vid, el rendimiento y la calidad de la fruta, y por lo tanto, comprometerían la sostenibilidad de los viñedos (Medrano et al., 2014; Van Leeuwen et al., 2019). En este escenario, incrementar la eficiencia en el uso del agua (EUA), es decir, la cantidad de C fijado relativa a la pérdida de agua, es esencial para garantizar la sostenibilidad de un viñedo en el largo plazo (Flexas et al., 2010; Medrano et al., 2014; Salazar-Parra et al., 2012). Es por lo tanto necesario comprender cómo el cambio climático impactará el crecimiento y el consumo de agua de las plantas para poder diseñar estrategias que permitan maximizar la EUA (Hatfield y Dold, 2019).

1.1. Definición de eficiencia en el uso del agua

La EUA es un concepto introducido hace más de 100 años y su definición varía de acuerdo al contexto en el que se utiliza (Bacon, 2009). En términos generales, refiere a la biomasa producida por una planta por unidad de agua consumida (Hatfield y Dold, 2019). Esta relación puede estimarse a diferentes escalas, tanto espaciales (desde lo regional hasta el nivel hoja) como temporales (mediciones instantáneas o integradas). Los factores que influyen en cada uno de los niveles son diferentes (Figura 4.1). Por este motivo, para poder diseñar estrategias que maximicen la EUA a cada una de las escalas es necesario conocer cómo interactúan esos determinantes.

² Parte de este capítulo corresponde a la publicación: Syrah and Grenache (*Vitis vinifera*) revealed different strategies to cope with high temperature. Gallo A.E., Perez Peña J.E., Gonzalez C.V, Prieto J.A. Australian Journal of Grape and Wine Research.

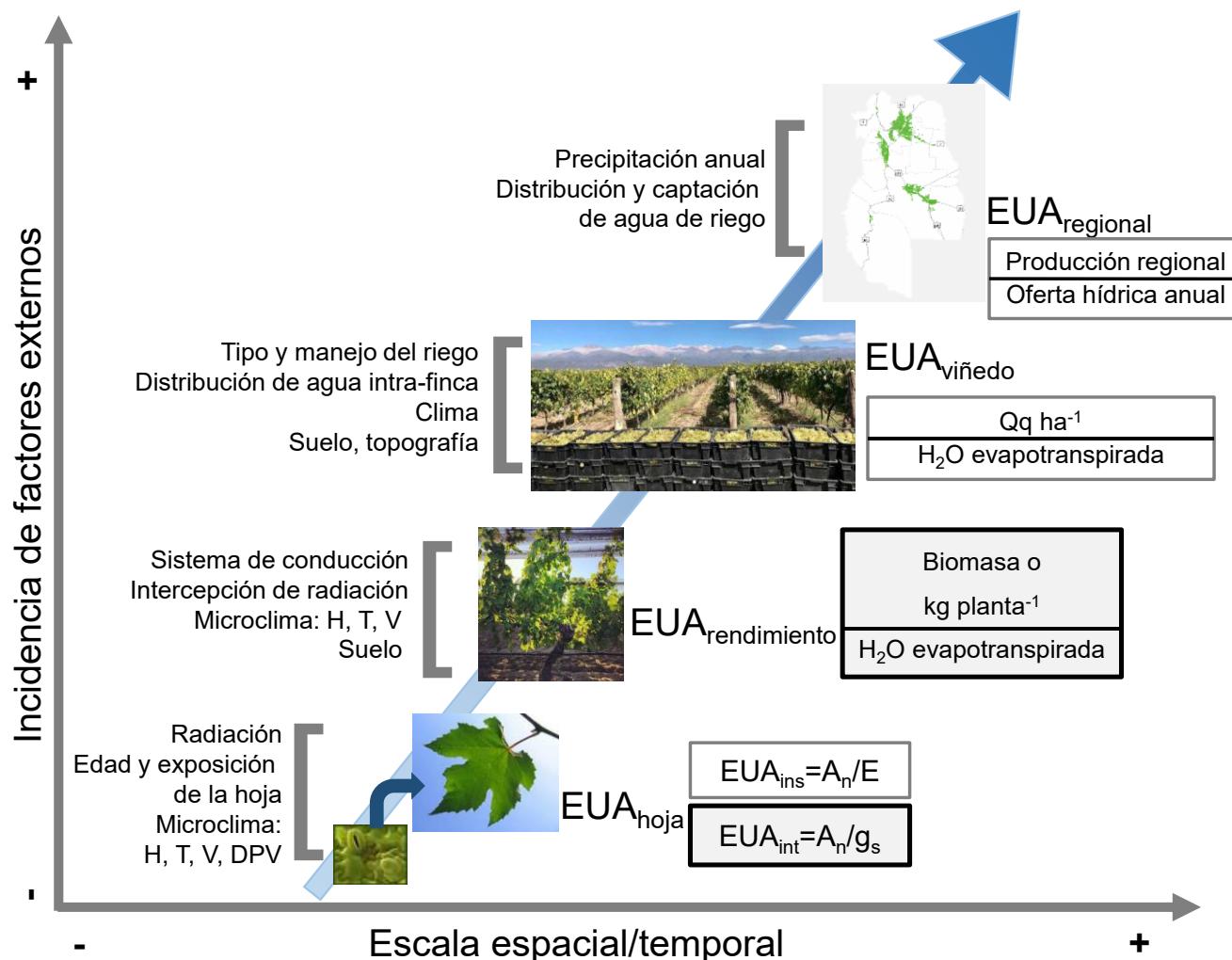


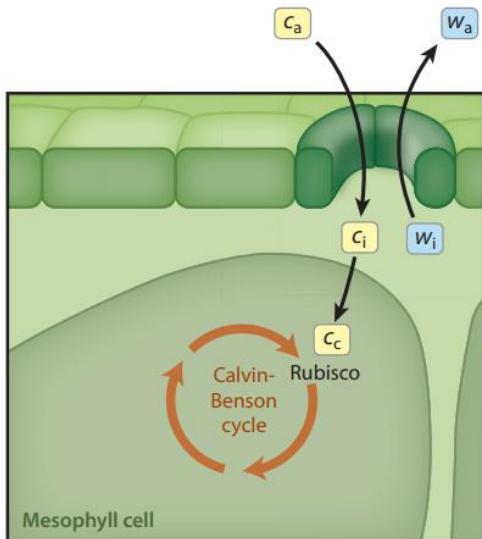
Figura 4.1: Eficiencia en el uso del agua (EUA) a diferentes escalas de medición y de incidencia de factores externos, desde nivel de hoja hasta el nivel de cuenca regional. A la izquierda se indican los factores que intervienen en las diferentes escalas, abreviaturas: H humedad, T temperatura, V viento y DPV déficit de presión de vapor. A la derecha en los recuadros de indica la relación que determina la eficiencia en el uso del agua para cada nivel. Abreviaturas: EUA_{int} eficiencia en el uso del agua intrínseca, EUA_{ins} instantánea, A_n asimilación neta de CO₂, g_s conductancia estomática, E transpiración foliar, Qq quintales (100 kg). Se muestran en color gris los recuadros de la EUA rendimiento y la EUA intrínseca que fueron estudiadas en este trabajo. Adaptado de Medrano et al. (2014, 2018).

A nivel planta entera, la EUA se estima como la cantidad de biomasa producida por unidad de agua evapotranspirada (Hatfield y Dold, 2019). En el caso de cultivos como la vid, se considera el órgano de la planta con interés productivo (es decir, la fruta) y se define la EUA del rendimiento (también llamada Productividad del agua) como la relación entre los kg de uva cosechados y el agua evapotranspirada, que en este caso se estimó mediante el riego aplicado (EUA_{rendimiento}, Medrano et al., 2018). Por otro lado, a escala de la hoja la EUA tiene como ventaja que permite estudiar la respuesta fisiológica a distintos factores como el estado hídrico, la temperatura, el DPV, la concentración de CO₂ y sus interacciones (Hatfield y Dold, 2019). Los componentes que determinan la EUA a nivel hoja son

la fotosíntesis, la conductancia estomática (g_s), la conductancia del mesófilo y la transpiración (E) y se suele expresar de dos formas diferentes (Leakey et al., 2019):

- Eficiencia en el uso de agua intrínseca (EUA_{int}), que relaciona A_n y g_s
- Eficiencia en el uso del agua instantánea (EUA_{ins}), que relaciona A_n y E

Por lo tanto, la EUA a nivel de hoja está determinada por los procesos de intercambio de CO₂ y H₂O entre las hojas y la atmósfera, que suceden a través de los estomas. Los estomas son una estructura formada por un poro rodeado de un par de células especializadas llamadas células guardianas (Dow y Bergmann, 2014). Este complejo se ubica en la superficie de los tejidos vegetales (principalmente hojas) y permite la comunicación entre el interior de una hoja y el ambiente externo (Taiz y Zeiger, 2015b). La apertura del poro está regulada por el cambio de turgencia de las células guardianas, que depende del ingreso y egreso de agua a estas células. Para ello, se transportan iones orgánicos e inorgánicos a través de la membrana y del tonoplasto de las células guardianas, y además se sintetizan aniones orgánicos (Leakey et al., 2019). La apertura de los estomas permite la difusión de CO₂ para la fotosíntesis y, por lo tanto, la posibilidad de fotoasimilar para el crecimiento y el rendimiento (Sadok et al., 2021). Sin embargo, la pérdida de H₂O de los tejidos aéreos de las plantas, mientras asimilan CO₂ desde la atmósfera, es un fenómeno biofísico inevitable (Figura 4.2, Leakey et al., 2019). De hecho, se estima que entre el 80-90%, incluso el 97% del agua utilizada por una planta se transpira a la atmósfera a través de los estomas (Sadok et al., 2021; Taiz y Zeiger, 2015b). No obstante, el consumo de agua en la hoja está regulado por g_s, aunque depende fuertemente de la energía incidente, del DPV y del intercambio aerodinámico (Hatfield y Dold, 2019). El funcionamiento de los estomas está regulado para optimizar el intercambio de gases, ya sea minimizando la salida de H₂O o maximizando el ingreso de CO₂ (Damour et al., 2010). Se ha postulado que, en condiciones de humedad estable, la apertura estomática se regula para mantener constante la concentración de CO₂ en los espacios intercelulares (C_i). A su vez, en condiciones de déficit hídrico el cierre estomático ocurre para prevenir la formación de embolismos que lleven a pérdida de funcionalidad (es decir, cavitación) y daño en el xilema. Cuando hay cierre estomático, C_i disminuye en la cámara subestomática. Esto ocasiona que el gradiente entre la concentración ambiental de CO₂ (C_a) y C_i aumente, incrementándose también la fuerza impulsora para la asimilación de CO₂, mientras que el gradiente que regula la pérdida de agua (W_i/W_a) permanece constante (Figura 4.2). En consecuencia, la eficiencia en el uso del agua intrínseca está inversamente relacionada con C_i/C_a. (Bacon, 2009). En síntesis, la apertura estomática se regula para optimizar C_i en relación a la mínima pérdida de agua (Damour et al., 2010). En este proceso intervienen la capacidad fotosintética y la transpiración (Jones, 2009)



- C_a : [CO₂] atmosférico
 C_i : [CO₂] cámara subestomática
 C_c : [CO₂] sitio de carboxilación
 W_a : [H₂O] atmosférico
 W_i : [H₂O] cámara subestomática

Figura 4.2: Flujos de carbono y agua que componen la eficiencia en el uso del agua a escala de la hoja. Esquema simplificado de la sección transversal de una hoja, mostrando la vía para la fijación CO₂ y la salida de H₂O. Tomado de Leakey et al., 2019.

1.2. Estrategias frente a estrés ambiental: evitar o tolerar

Cuando un factor ambiental, por ejemplo la temperatura, excede los límites considerados normales para determinada especie, se convierte en un factor de estrés (Taiz y Zeiger, 2015c). Esto lleva a cambios en las plantas que buscan evitar el daño potencial de las condiciones de estrés. Cuando los cambios ocurren a nivel genético y poblacional, llevan a la adaptación de esa especie. Las plantas también pueden modificar su morfología o fisiología, a veces de manera reversible, y de este modo aclimatarse a las variaciones periódicas en el ambiente. Además, pueden haber cambios que alteren la expresión de genes, sin producir cambios estables en la secuencia de ADN (es decir, cambios epigenéticos) y que pueden potencialmente hacer heredables las respuestas de aclimatación y extenderlas en el largo plazo (Crisp et al., 2016; Taiz y Zeiger, 2015c). Como las plantas son organismos sésiles, la habilidad que tengan para aclimatarse al factor ambiental de estrés es esencial para su supervivencia así como la eficiencia para utilizar los recursos externos para su crecimiento y desarrollo (Dayer, 2017; Yamori et al., 2014). La aclimatación se refiere a los cambios no permanentes que mejoran la respuesta individual de la planta frente a la exposición repetida al factor de estrés (Taiz y Zeiger, 2015c).

En lo que concierne al estrés hídrico, se han definido dos tipos de estrategias principales que caracterizan las respuestas de las plantas para afrontar dicho estrés: la tolerancia y la evitación (Leakey et al., 2019). La tolerancia implica una mayor capacidad para mantener las respuestas celulares y fisiológicas, incluido el crecimiento, cuando la planta experimenta el estrés (Leakey et al., 2019). En contraposición, la evitación está asociada a un escape a la situación de estrés y caracterizada por una mejor capacidad de captar agua o reducir el uso (Leakey et al., 2019). En relación a la respuesta a la temperatura, las plantas han sido tradicionalmente clasificadas en cuanto a su adaptación a ambientes más cálidos o más fríos. No obstante, considerando el calentamiento al que estarán expuestas debido

al cambio climático, sería necesario definir estrategias de aclimatación. Al respecto, en algunas plantas de ambientes desérticos y otras forestales se ha reportado una estrategia “evitadora” para enfrentar temperaturas elevadas (Aparecido et al., 2020; Sadok et al., 2021; Urban et al., 2017a). Este mecanismo implica un aumento de la conductancia estomática que favorece un enfriamiento de la hoja mediante la evaporación latente, gracias a un buen aprovisionamiento de agua (Slot y Winter, 2017). El enfriamiento de la hoja protegería al aparato fotosintético de mayores daños por la alta temperatura (Sadok et al., 2021). Sin embargo, esta estrategia puede llevar a un estrés hídrico severo que comprometa la supervivencia debido al rápido consumo de agua. La estrategia evitadora también puede llevar a disminuciones en la eficiencia en el uso del agua, debido al incremento en la transpiración foliar y/o a la disminución en la asimilación de C (Aparecido et al., 2020). Por otro lado, se ha reportado que otras especies presentan una estrategia de “tolerancia” a la temperatura, donde el aparato fotosintético resiste mayores temperaturas foliares y pueden fijar C en estas condiciones. La tolerancia a altas temperaturas puede implicar estabilidad en las membranas que permitan continuar funcionando a los complejos proteicos en los cloroplastos y las mitocondrias (Taiz y Zeiger, 2015d).

1.3. Respuestas de la eficiencia en el uso del agua a la temperatura en la vid

En vid, existe una gran cantidad de trabajos referidos a la eficiencia en el uso del agua en respuesta al déficit hídrico, los cuales han reportado una alta variabilidad intra-específica entre cultivares (Bota et al., 2016, 2001; Chaves et al., 2010; Levin et al., 2019). En particular, estas respuestas están relacionadas al comportamiento estomático de las variedades. Otros estudios recientes han evaluado por separado el impacto de un incremento de temperatura en la fotosíntesis y en la conductancia estomática; ya sea aplicando calentamientos de corto plazo (Edwards et al., 2011; Galat Giorgi et al., 2019; Greer y Weston, 2010; Sadras et al., 2012; Soar et al., 2009) o de largo plazo (Gallo et al., 2020; Salazar-Parra et al., 2015).

Los trabajos en los que se aplicaron períodos cortos de calentamiento han reportado resultados contradictorios en los efectos de la temperatura sobre la fotosíntesis. Por ejemplo, A_n disminuyó marcadamente en plantas de Semillón (Greer y Weston, 2010) pero se mantuvo en Cabernet Sauvignon (Edwards et al., 2011; Hochberg et al., 2015a) o incluso incrementó en las variedades Malbec y Syrah (Galat Giorgi et al., 2019; Soar et al., 2009). En estos trabajos realizados en cámaras de cultivo o invernaderos, la temperatura máxima alcanzada estuvo entre 40 y 45 °C. Considerando exposiciones a altas temperaturas (35 °C) en el largo plazo, se observó un aumento de A_n en plantas de Tempranillo cultivadas en macetas (Salazar-Parra et al., 2015) y como se demostró en el capítulo 3, en plantas de Grenache cultivadas a campo (Gallo et al., 2020). Además de diferentes variedades, estos estudios aplicaron duraciones e intensidades de calentamiento variables (de 3 a 6 días o

calentamiento sostenido y de 35 a 45 °C de temperatura máxima), lo que podría explicar la variabilidad en los resultados observados. Por otro lado, las respuestas estomáticas a la temperatura son menos claras. En respuesta a períodos cortos de exposición a altas temperaturas, plantas de Semillón disminuyeron g_s (Greer y Weston, 2010). Contrariamente, en Cabernet Sauvignon, Malbec y Syrah, g_s se mantuvo o aumentó y en consecuencia también lo hizo E (Edwards et al., 2011; Galat Giorgi et al., 2019; Soar et al., 2009). Plantas de Tempranillo expuestas a altas temperaturas en un largo plazo también aumentaron g_s (Salazar-Parra et al., 2015). Las variedades en las que g_s se mantuvo o incrementó en el tratamiento de alta temperatura estuvieron a su vez expuestas a altos DPV (entre 3.5 y 6 kPa) y en buenas condiciones hídricas.

Por lo tanto, el impacto de la temperatura en la EUA puede ser dependiente de la variedad. Cuando se evalúa un calentamiento sostenido y en el largo plazo, puede haber una aclimatación de la fotosíntesis y de la respuesta estomática, y en consecuencia, modificarse la EUA. Los mecanismos responsables de la aclimatación de la fotosíntesis fueron discutidos en el capítulo anterior. Los estomas, por su parte, pueden aclimatarse modificando su tamaño y en relación con la hoja, modificando la densidad o el índice estomático (Dow et al., 2014; Leakey et al., 2019). Por ejemplo, en Syrah se reportó un aumento de la longitud y del ancho de los estomas frente a un calentamiento sostenido (Sadras et al., 2012). En Malbec, la densidad y el índice estomático incrementaron en hojas expuestas a un periodo corto (7 días) de aumento de temperatura y en interacción con déficit hídrico (Galat Giorgi et al., 2019). No obstante, podría tratarse de un efecto indirecto ya que las hojas calentadas y en déficit hídrico fueron de menor tamaño. En el mismo estudio pero bajo condiciones bien regadas, se incrementó la longitud de los estomas. Algunos de los estudios mencionados anteriormente también registraron un aumento en la EUA a nivel hoja debido al calentamiento, pero en interacción con déficit hídrico (en Cabernet Sauvignon, Edwards et al., 2011; en Malbec, Galat Giorgi et al., 2019; y en Tempranillo, Salazar Parra et al., 2012). La EUA_{rendimiento} también puede ser afectada por la temperatura. Considerando que en ambientes más cálidos y con disponibilidad hídrica la transpiración aumenta, puede haber un mayor consumo de agua a nivel planta entera. Por otro lado, la producción de uva es menos afectada por la temperatura cuando hay una adecuada disponibilidad hídrica, como se ha reportado en ensayos de calentamiento sostenido en Syrah y Malbec (Malovini 2016; Sadras y Soar 2009). En ambos trabajos las plantas calentadas tuvieron un rendimiento similar al control. En contraposición, Salazar Parra y colaboradores (2012) reportaron una disminución de la EUA_{rendimiento} en plantas sometidas a estrés hídrico, pero no hubo cambios en plantas expuestas a alta temperatura y CO₂ ambiental.

Las dos variedades elegidas para este estudio, Syrah y Grenache, han sido reportadas por tener comportamientos contrastantes bajo estrés hídrico (Prieto et al., 2010; Schultz, 2003a; Soar et al., 2006). Syrah tolera mayor fluctuación en el potencial hoja medio día y preamanecer a lo largo de la

temporada, también tolera un potencial hídrico de las hojas al mediodía más bajo y tiene un control estomático más flexible (es decir, comportamiento anisohídrico); mientras que Grenache regula estrictamente la conductancia estomática para evitar fluctuaciones en el potencial hídrico de las hojas al mediodía (es decir, comportamiento isohídrico; Chaves et al., 2010; Martínez-Vilalta y García-Fornier 2017). Algunos trabajos sugieren que podría haber una relación entre las respuestas estomáticas al déficit hídrico y a la temperatura (Edwards et al., 2011; Soar et al., 2009). Como se expuso previamente, en la vid las estrategias para enfrentar el aumento de temperatura podrían depender de la variedad. Esta variabilidad en la respuesta estomática es fundamental en la determinación de EUA en vid y podría ser tomada en cuenta para seleccionar o cultivar variedades que estén mejor adaptadas a las condiciones climáticas futuras (Chaves et al., 2010; Flexas et al., 2010).

En el capítulo anterior se demostró que frente al aumento de temperatura, ambas variedades incrementaron la temperatura óptima de la fotosíntesis pero en diferente magnitud. Adicionalmente, Grenache incrementó la asimilación de C y la capacidad fotosintética (V_{cmax} , J_{max}) mientras que Syrah presentó una respuesta homeostática. Es decir, que ambas variedades presentaron mecanismos diferentes para aclimatar la fotosíntesis al calentamiento en condiciones de buena disponibilidad hídrica. En este capítulo se evalúa la respuesta al aumento de temperatura de los estomas y su relación con la EUA_{int} y la EUA_{rendimiento}.

2. Hipótesis específica

Frente a un aumento en la temperatura de crecimiento, las plantas incrementan la transpiración foliar (E) a través de una mayor conductancia estomática (g_s) para mantener la temperatura de las hojas cercana a la temperatura del aire. El aumento en E y g_s produce una disminución de la eficiencia en el uso del agua (EUA). El incremento de g_s y del tamaño de estomas es mayor en las plantas calentadas de la variedad Syrah que en Grenache

3. Objetivo específico

Determinar el efecto de un incremento medio de 1.5 °C en la temperatura de crecimiento sobre la conductancia estomática (g_s), la densidad y tamaño de estomas y la eficiencia en el uso del agua intrínseca y del rendimiento (EUA_{int}, EUA_{rendimiento}) en plantas bien regadas de las variedades Syrah y Grenache.

4. Materiales y métodos

4.1. Sitio, material vegetal y caracterización del tratamiento

El sitio, el material vegetal, el diseño del ensayo y el sistema de calentamiento fueron descriptos en materiales y métodos generales (Capítulo 2). Los resultados de intercambio gaseoso, caracterización de estomas, T_{hoja} y DPV corresponden a la temporada 2016/17. La EUA_{rendimiento} y la T_{aire} corresponden a las 3 temporadas.

Para caracterizar el tratamiento térmico, se midió la temperatura del aire (T_{aire}) y de la hoja (T_{hoja}) cada 10 minutos, en una repetición por tratamiento, utilizando termocuplas tipo T (calibre de alambre americano 24 [AWG], tipo T [cobre-constantán], Santiago, Chile) conectadas a dos colectores de datos (DT80 y DT600, Datataker, Biolab, Melbourne, Australia). Las termocuplas que registraron T_{aire} se colocaron a 40 cm por encima del cordón y se protegieron de la luz solar directa con abrigos de aluminio hechos a medida (Figura 2.3; Tarara y Hoheisel, 2007). Para medir T_{hoja} , se colocaron dos termocuplas por planta en las plantas centrales, una en el lado este y otra en el lado oeste de la planta. Las termocuplas se pegaron en el lado abaxial de la hoja con cinta adhesiva de papel que permitió la transpiración de la hoja (Figura 2.4). Se calculó el enfriamiento de las hojas como la diferencia entre la T_{hoja} y la T_{aire} correspondiente medida al nivel de la canopia. Debido a problemas técnicos con los colectores de datos, de los 166 días del experimento (1 de octubre - 15 de marzo), T_{aire} se registró en 122 días y T_{hoja} en 85 días.

El déficit de presión de vapor ($DPV = e_s - e_a$) se calculó considerando la presión de vapor de agua en saturación (e_s), para la T_{aire} (DPV_{aire}) y T_{hoja} ($DPV_{hoja-aire}$) medidas. Según Sadras y Soar (2009) el SCP no modifica la humedad relativa (HR), por lo que se tuvo en cuenta la presión de vapor de agua actual (e_a) registrada en la estación meteorológica.

4.2. Tamaño y densidad estomáticos

En el enero de la temporada 2016/17 se tomaron improntas de estomas en dos hojas adultas por repetición ($n=10$), una a cada lado de la hilera (este y oeste). Se esparció esmalte de uñas transparente en la cara abaxial de la hoja, a ambos lados de la nervadura central en el lóbulo central (Gago et al., 2019). El esmalte se dejó secar al aire y luego se retiró con cinta adhesiva doble faz que fue adherida a un portaobjetos y protegida con un cubreobjetos (Coupel-Ledru et al., 2014). Con aumento 40x, se tomaron 5 fotografías (cubriendo 0.05 mm^2 cada una) por impronta, con una cámara (Micrometrics 318 CU, Beijing, China) vinculada a un microscopio óptico (Nikon Eclipse E200, Tokyo, Japón). Se determinó la longitud y la densidad estomática utilizando el software libre Image J (ImageJ).

Para el análisis estadístico, la longitud estomática se agrupó en intervalos de 7 μm y se determinó la frecuencia relativa de estomas en cada intervalo.

4.3. Mediciones de intercambio de gases

Se midieron la asimilación neta de CO_2 (A_n), la conductancia estomática (g_s) y la transpiración (E) en intervalos quincenales en hojas completamente expandidas, bien expuestas y sanas, durante la temporada 2016/17. Dado que las hileras en el viñedo están orientadas norte-sur, se midieron hojas en ambos lados de la canopia (este y oeste), siguiendo la exposición a la radiación a lo largo del día. Las hojas del lado este fueron medidas en la mañana, entre las 10:00 y las 12:00 h (hora local, GMT+3) desde el 11/11/2016 (considerado como día 41 del ensayo) hasta el 20/02/2017 (considerado día 142). Las hojas del lado oeste y por ello expuestas en la tarde, fueron medidas entre las 14:00 y las 16:00 h, desde el 27/12/2016 (día 87) hasta el 20/02/2017. Dentro del rango horario de cada lado (este u oeste) se aleatorizó en cada día de medición el orden de los tratamientos de acuerdo a su disposición en el viñedo. Se midieron las dos plantas centrales de 4 unidades experimentales por tratamiento (claro de 5 plantas, $n=8$). Las mediciones se realizaron con un analizador de gases por infrarrojo (IRGA, CIRAS-2 PP Systems, Amesbury, Estados Unidos), provisto de una cámara automática (PLC6(U) PP Systems), en un área foliar de 2.5 cm^2 . Las condiciones configuradas en la cámara fueron luz, temperatura y CO_2 ambiente (400 $\mu\text{mol mol}^{-1}$). La radiación incidente promedió $1660 \pm 211 \text{ PPFD } (\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1})$. La eficiencia en el uso del agua intrínseca (EUA_{int}) se calculó como A_n/g_s .

4.4. Lámina de riego aplicada y eficiencia en el uso del agua del rendimiento

La eficiencia en el uso del agua del rendimiento ($\text{EUA}_{\text{rendimiento}}$) se calculó considerando la relación entre la producción de uva por planta y la lámina de agua total aplicada durante la estación de crecimiento. El riego total aplicado para el período octubre-marzo fue de 783 mm. El caudal y el distanciamiento entre goteros fueron 1.6 Lh^{-1} y 0.5 m. La evapotranspiración de referencia (ET_0) acumulada durante el ciclo fue de 949 mm mientras que la ET de cultivo fue de 766 mm. El riego se aplicó dos veces por semana, considerando valores locales de coeficiente del cultivo (K_c , Vallone 1998) y la ET_0 calculados por la estación meteorológica próxima al viñedo. Al momento de madurez de la baya (24 °Bx, estadio 38 del sistema E-L, modificado por Coombe 1995), se cosecharon individualmente 5 plantas por unidad experimental (subparcela) y se midió la producción de uva (kg planta^{-1}). Se determinaron en total 20 plantas por tratamiento (combinación variedad-régimen de temperatura) y por año, durante tres temporadas (2017, 2018 y 2019).

4.5. Análisis estadístico

La longitud estomática fue analizada con una prueba de Chi-cuadrado para comparar las frecuencias relativas a cada intervalo de longitud. La temperatura de hoja, el DPV, la densidad estomática, las mediciones de intercambio gaseoso y la EUA_{rendimiento} fueron analizadas con modelos lineales mixtos. Según el objetivo del análisis, se consideraron la Variedad (V), el tratamiento de temperatura (T), el lado de la canopia, los días de medición (D) y las respectivas interacciones como factores fijos. Los efectos aleatorios que denotan la estructura de parcelas (parcela principal, subparcela) o la estructura de los datos (planta en el caso de medidas repetidas en el tiempo) se utilizaron para correlacionar errores cuando fuese apropiado. Para comparaciones post-hoc, se utilizó la prueba LSD (*least significant difference*). Todos los análisis fueron realizados con el software Infostat (Di Rienzo et al., 2018).

5. Resultados

5.1. Condiciones climáticas durante el ensayo

Las tres temporadas (2016/17, 2017/18 y 2018/19) pueden considerarse como típicas para Mendoza, a pesar de pequeñas diferencias con respecto a los registros históricos. La temperatura media del aire durante la estación de crecimiento (octubre-marzo) fue de 21.1, 18.4 y 18.2 °C para 2016/17, 2017/18 y 2018/19 respectivamente. La temperatura media mínima fue de 13.4, 9.9 y 10.4 °C; mientras que las máximas medias fueron 25.3, 26.8 y 25.9 °C durante el periodo octubre-marzo en el primer, segundo y tercer año de ensayo. La precipitación acumulada durante la temporada (octubre-marzo) fue de 205, 185 y 200 mm para 2016/17, 2017/18 y 2018/19 respectivamente. Cerca del 50% de estas precipitaciones acontecieron en noviembre y diciembre.

5.2. Efectos del calentamiento pasivo en la temperatura de aire, de la hoja y en el déficit de presión de vapor

La temperatura del aire (T_{aire}) y de las hojas (T_{hoja}) en el transcurso del día incrementó en las plantas calentadas con respecto a las plantas control, en especial entre las 09:00 y las 17:00 h. En la Figura 4.3 se presentan ejemplos de las marchas diarias de temperatura para plantas calentadas y control, de un día por mes para los meses del ensayo durante 2016/17 (octubre-febrero). A lo largo de la primera temporada (de octubre a marzo), la T_{aire} media fue 21.6 ± 1.01 y 22.7 ± 1.01 °C para las plantas control y calentadas, respectivamente (Figura 4.4). El incremento medio en la T_{aire} debido al tratamiento de calentamiento fue de 1.4 °C durante el crecimiento foliar (octubre) y de 1.7, 1.4 y 1.0 °C para diciembre, enero y febrero respectivamente, cuando se realizaron las mediciones de intercambio

gaseoso. Para la temporada 2017/18, la temperatura media del aire fue de 21.6 ± 1.22 para las plantas control y de 24.3 ± 1.22 °C para las plantas calentadas. En 2018/19, las mismas fueron 22.9 ± 0.4 y 24.4 ± 0.4 °C respectivamente. Esto llevó a una diferencia media de temperatura de 1.1, 2.7 y 1.5 °C (Capítulo 5, Figura 5.3) entre plantas calentadas y control, para cada una de las temporadas ensayadas.

Cuando se analizó toda la temporada 2016/17, se encontró un efecto del régimen de temperatura ($p < 0.01$) y del lado de la canopia ($p < 0.01$) para cada variedad por separado. De este análisis, se confirmó que la temperatura media fue mayor para las hojas calentadas ($p < 0.01$) y del lado oeste ($p < 0.01$) en ambas variedades (Figura 4.4). Una vez que la canopia alcanzó su máximo crecimiento, las diferencias entre las hojas del lado este y oeste se hicieron evidentes. En las hojas del este, la temperatura aumentó desde las 09:00 y se mantuvo hasta las 17:00 h (Figura 4.3). En las hojas del oeste, la temperatura aumentó escalonadamente desde las 09:00 hasta cerca de las 18:00 y luego disminuyó. Este patrón se manifestó en las plantas calentadas y control, con mayores T_{hoja} para las calentadas.

Para comparar la temperatura del aire y de la hoja, se calculó la diferencia $T_{hoja}-T_{aire}$ como una medida del enfriamiento de la hoja. Se evaluó el efecto del tratamiento de temperatura y del lado de la canopia para cada variedad por separado. En ambas variedades se encontró un efecto del lado de la canopia ($p < 0.01$ para ambas variedades) pero no se encontró efecto del tratamiento de temperatura ($p = 0.14$ para Grenache, $p = 0.21$ para Syrah). Esto indicó que si bien las hojas del tratamiento calentado tenían mayor temperatura, la diferencia con respecto a la temperatura del aire que las rodeaba (“enfriamiento”) fue similar a las hojas del control. Las hojas control y calentadas del lado este en Grenache estuvieron 0.5 °C más frías que el aire a su alrededor mientras que las del lado oeste estuvieron 1 °C por encima del aire (Figura 4.4). Las hojas control del lado este de Syrah siguieron la T_{aire} y las calentadas estuvieron en promedio 0.4 °C por encima de T_{aire} . Por otro lado, las hojas oeste de Syrah, tanto calentadas como control, estuvieron 1.3 °C por encima de T_{aire} . Por último, las plantas calentadas se expusieron a un DPV_{aire} que, en promedio, fue 0.2 kPa más alto que las plantas de control ($p = 0.02$). Esa diferencia se redujo a 0.15 kPa en promedio cuando se calculó el $DPV_{hoja-aire}$ (Figura 4.5). Para Grenache, el DPV fue diferente entre los lados de la canopia ($p < 0.01$) pero no para el tratamiento térmico ($p = 0.19$); en tanto que para Syrah se confirmaron un efecto del lado ($p < 0.0163$) y del tratamiento térmico (valor de $p < 0.01$).

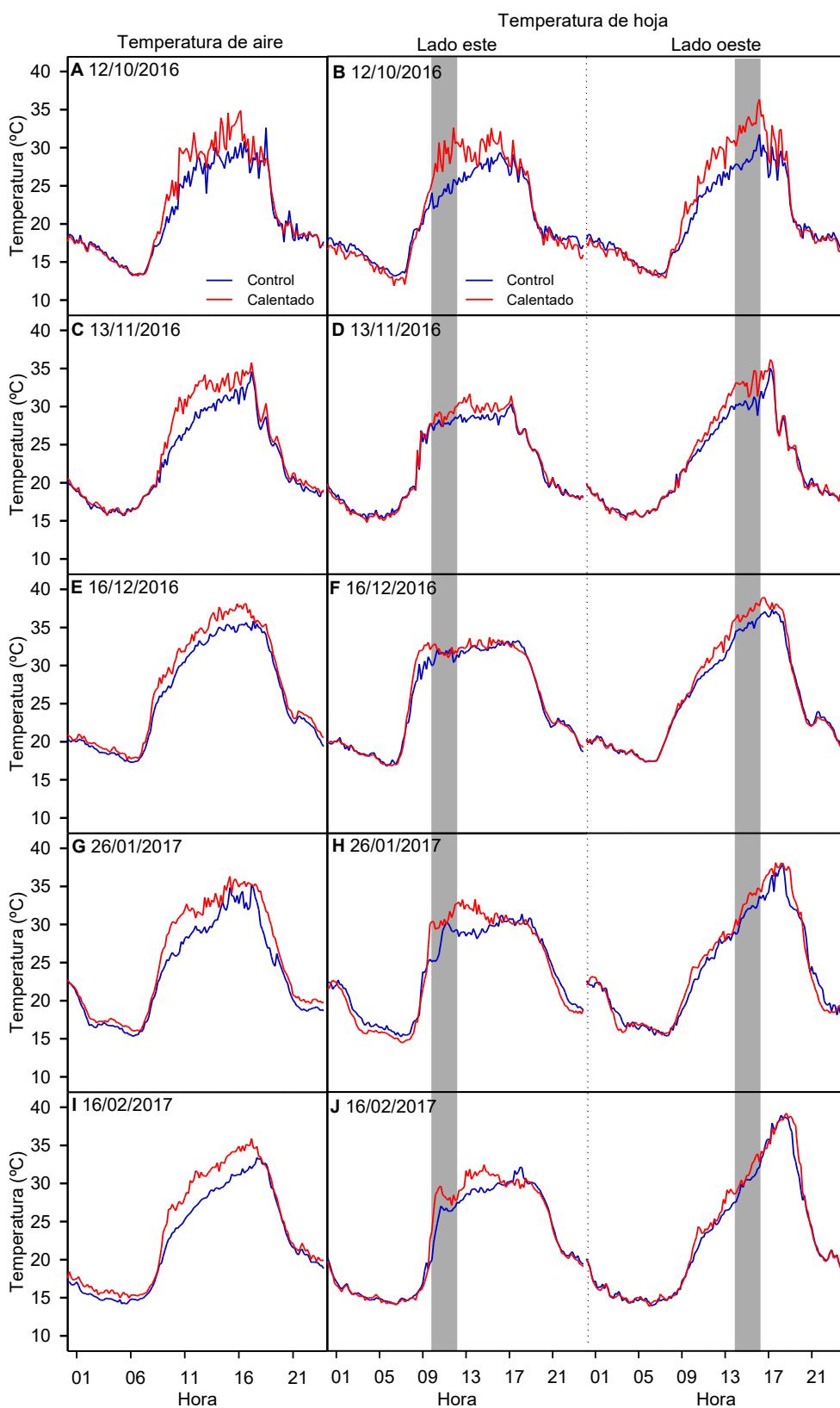


Figura 4.3: Temperatura diaria del aire (A, C, E, G, I) y de la hoja (B, D, F, H, J) medidas en plantas calentadas (rojo) y control (azul). Un día al mes es presentado para ilustrar el patrón diario de temperatura. Los valores presentados son la media de 4 termocuplas para aire y hoja. El área sombreada gris coincide con el horario al cual se condujeron las mediciones de intercambio gaseoso.

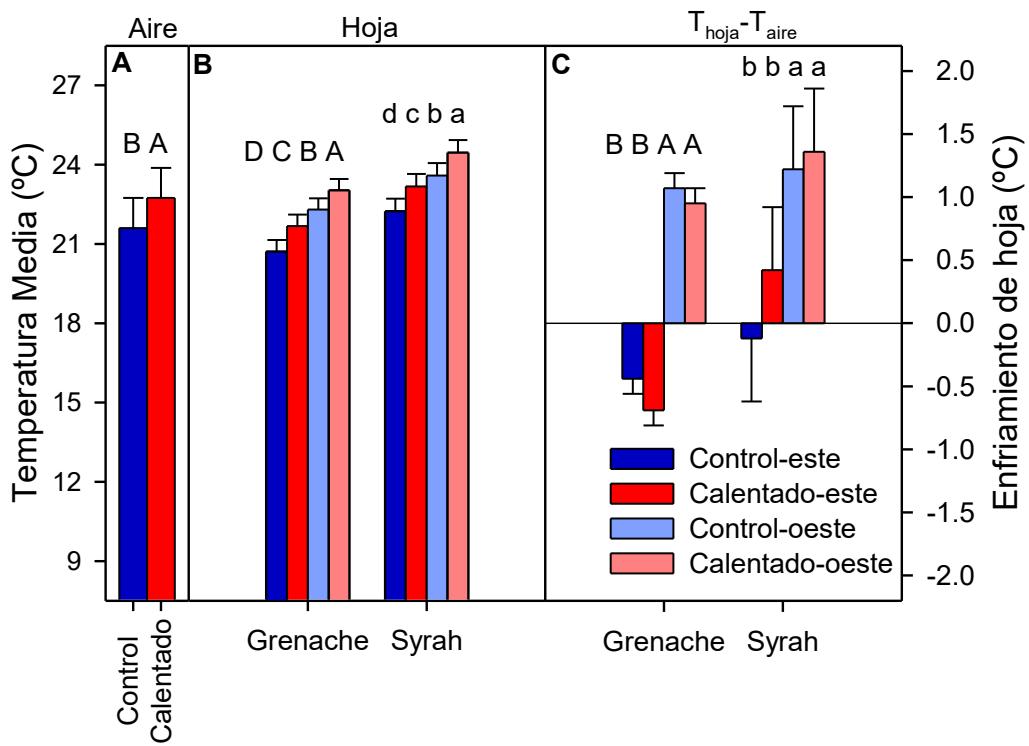


Figura 4.4: Temperatura Media diaria del aire (A) y de la hoja (B) y enfriamiento de la hoja (C, temperatura hoja – temperatura aire) para plantas de Grenache y Syrah calentadas (rojo, rosado) y control (azul, celeste). La barra representa la media para todo el periodo de ensayo (octubre-febrero) para n=2 en cada condición (variedad, temperatura y lado), la barra de error representa el error estándar. Las letras en la figura indican una diferencia significativa para un test LSD ($\alpha=0.05$), comparando el régimen de temperatura y el lado de la canopia, para cada variedad por separado (mayúsculas para Grenache, minúsculas para Syrah).

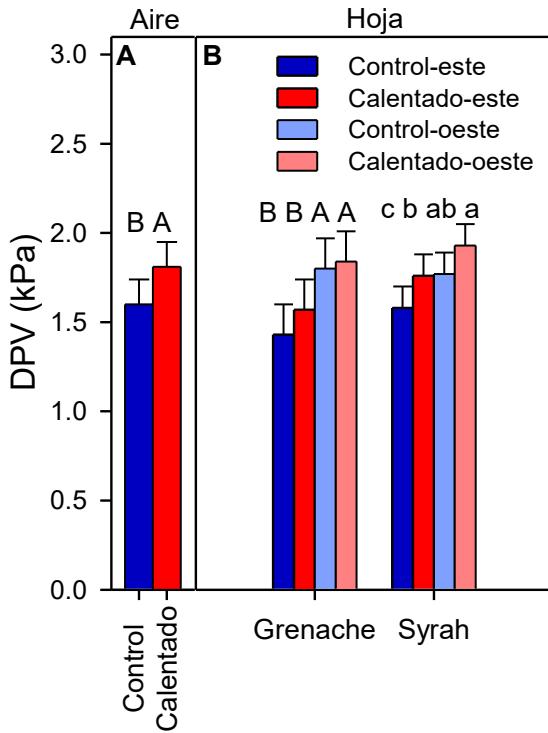


Figura 4.5: Déficit de presión de vapor medio del aire (A) y de hoja-aire (B) para plantas de Grenache y Syrah calentadas (rojo, rosado) y control (azul, celeste). La barra representa la media para todo el periodo de ensayo (octubre-febrero) para $n=2$ en cada condición (variedad, temperatura y lado), la barra de error representa el error estándar. Las letras en la figura indican una diferencia significativa para un test LSD ($\alpha=0.05$), comparando el régimen de temperatura y el lado de la canopia, para cada variedad por separado (mayúsculas para Grenache, minúsculas para Syrah).

5.3. Efectos del régimen de temperatura en el tamaño de los estomas

En Grenache, las hojas del lado este y oeste de las plantas control mostraron mayor frecuencia relativa en uno de los intervalos de menor rango de longitud de estomas (intervalo 17-24 μm , Figura 4.6). Por el contrario, las hojas de ambos lados de la canopia de las plantas calentadas mostraron mayor frecuencia relativa en los rangos de mayor longitud de estomas (intervalos 24-31 hojas este, 31-38 y 38-45 μm ambos lados). Respecto a Syrah, las hojas del lado este de las plantas control evidenciaron mayor frecuencia en el rango de 17-24 μm ; mientras que las hojas de las plantas calentadas en el intervalo de 31-38 μm . No obstante, no se observaron diferencias entre las hojas del lado oeste de las plantas calentadas o control de Syrah. La densidad estomática no fue afectada por el régimen de temperatura ($p = 0.20$) o por el lado de la canopia ($p = 0.18$) en ninguna variedad, pero fue diferente entre las variedades ($p < 0.01$). Grenache presentó 168 ± 4.8 y Syrah 132 ± 4.5 estomas mm^{-2} .

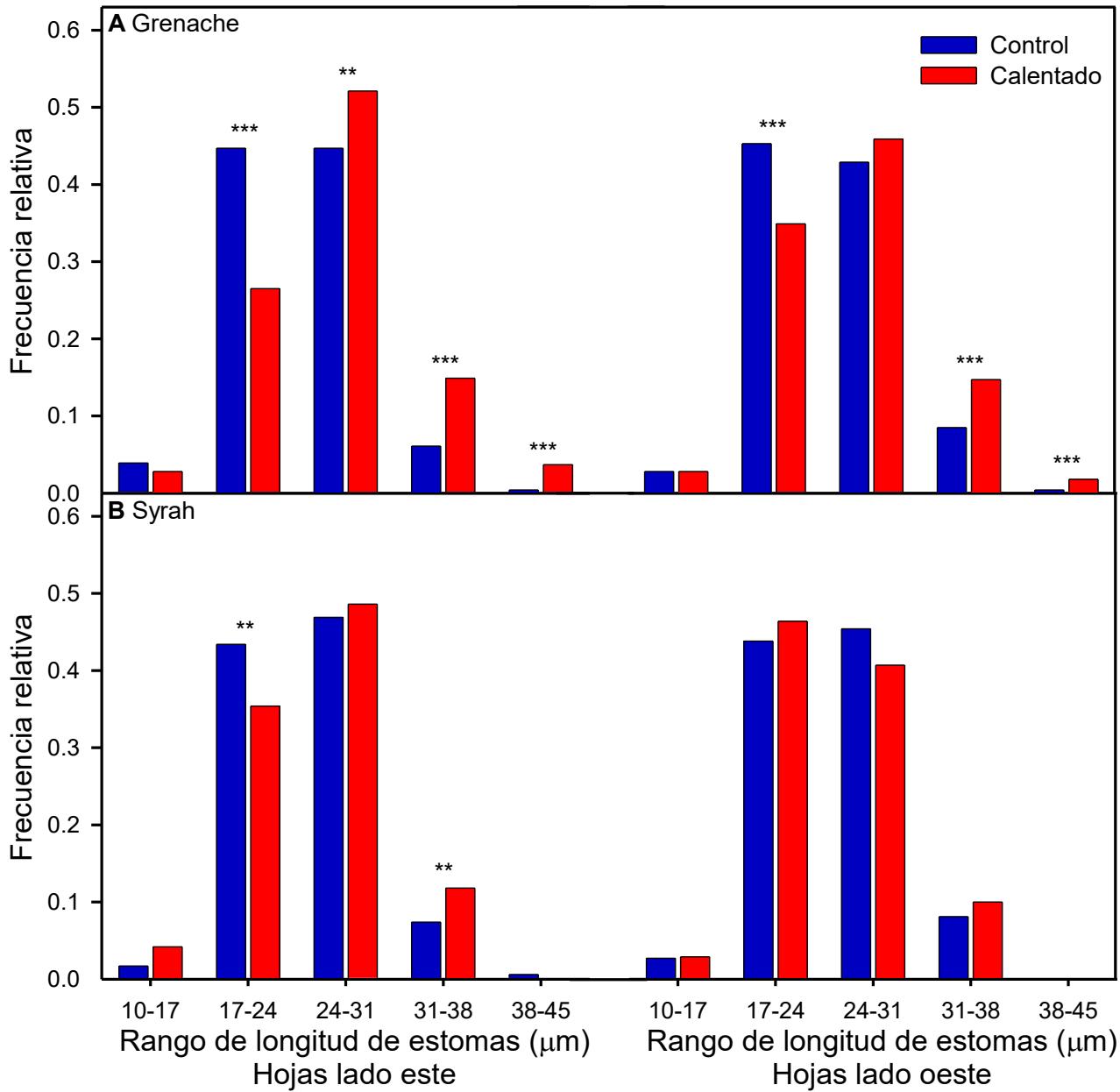


Figura 4.6: Distribución de frecuencia relativa de la longitud de estomas para hojas del lado este y oeste de plantas de Grenache (A) y Syrah (B) calentadas (rojo) y control (azul). La significancia entre frecuencias relativas a cada intervalo está indicado con ** (p valor<0.05) y *** (p valor<0.01).

5.4. Efectos del régimen de temperatura y la variedad en el intercambio de gases

La asimilación neta (A_n), la conductancia estomática (g_s) y la eficiencia en el uso del agua intrínseca (EUA_{int}) fueron afectadas por la interacción entre el tratamiento de temperatura y la variedad. Estos efectos se evidenciaron en ambos lados de la canopia. Adicionalmente, la transpiración foliar (E)

de las hojas del lado oeste dependió de la interacción entre la variedad y el tratamiento de temperatura, pero solo el efecto de la variedad se confirmó en las hojas del lado este (Tabla 4.1).

Tabla 4.1: Asimilación neta (A_n), conductancia estomática (g_s), eficiencia en el uso del agua intrínseca (EUA_{int}) y transpiración (E) en hojas del lado este y oeste de plantas de Grenache y Syrah, bajo condiciones calentadas y control.

	Hojas lado este (mediciones 10 – 12 h)						Efecto		
	Grenache		Syrah						
	Control	Calentado	Control	Calentado			V	T	VxT
A_n ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	12.5 ± 0.4 B	14.3 ± 0.4 A	14.7 ± 0.4 A	13.8 ± 0.4 A	*	ns	**		
g_s ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	310.1 ± 21 C	360.0 ± 21 BC	431.8 ± 21 A	396.7 ± 21 A	**	ns	*		
EUA _{int} ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$)	51.5 ± 1.6 A	44.5 ± 1.6 B	37.4 ± 1.6 C	38.4 ± 1.6 C	***	ns	**		
E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	6.5 ± 0.2 B	7.0 ± 0.2 B	7.6 ± 0.2 A	7.5 ± 0.2 A	**	ns	ns		

	Hojas lado oeste (mediciones 14 – 16 h)						Efecto		
	Grenache		Syrah						
	Control	Calentado	Control	Calentado			V	T	VxT
A_n ($\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	9.6 ± 0.6 B	12.8 ± 0.6 A	12.3 ± 0.6 A	11.9 ± 0.6 A	ns	ns	**		
g_s ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	237.4 ± 36 B	351.5 ± 35 A	435.7 ± 35 A	414.8 ± 36 A	**	ns	*		
EUA _{int} ($\mu\text{mol CO}_2/\text{mol H}_2\text{O}$)	47.5 ± 2.3 A	38.5 ± 2.3 B	30.2 ± 2.3 BC	31.4 ± 2.3 C	***	*	**		
E ($\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2} \text{ s}^{-1}$)	7.1 ± 0.4 B	8.7 ± 0.4 A	9.7 ± 0.4 A	9.5 ± 0.4 A	**	ns	*		

Los valores representan la media ± error estándar, promediados durante todo el periodo de mediciones de intercambio gaseoso (noviembre-febrero para hojas lado este, diciembre-febrero para lado oeste). La significancia de los efectos de variedad (V), régimen de temperatura (T) y la interacción (VxT) se indica como ns ($p > 0.1$), * ($p < 0.1$), ** ($p < 0.05$) y *** ($p < 0.01$), para cada lado de la canopia por separado. Las letras indican diferencias para un test LSD ($\alpha=0.05$) para la interacción de variedad y régimen de temperatura.

Para Grenache, las plantas calentadas evidenciaron en ambos lados de la canopia una mayor A_n que las plantas control (Figura 4.7), con diferencias más evidentes desde fines de diciembre hasta el final del ensayo. En esta variedad, A_n aumentó 14% en las hojas del lado este y 33% en las hojas del lado oeste de las plantas calentadas, con respecto al control. Con respecto a Syrah, no se observó un efecto del régimen de temperatura en A_n . La A_n promedió 14 y 12 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ para las hojas este y oeste, respectivamente.

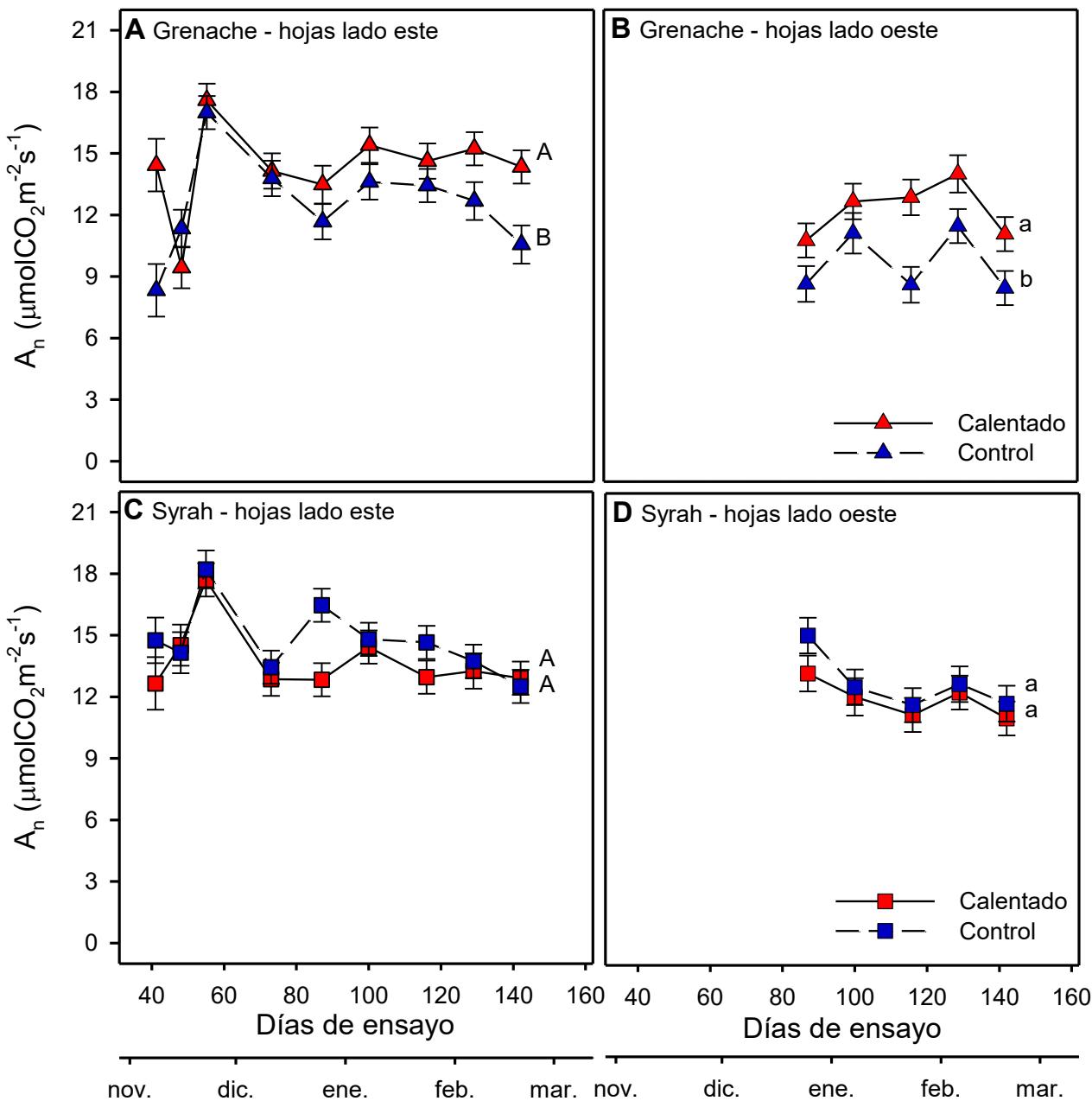


Figura 4.7: Evolución estacional de la asimilación neta (A_n) medida cada 15 días, desde 11/11/2016 (A-C, hojas lado este) o 26/12/2016 (B-D, hojas lado oeste) al 20/02/2017 en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D), bajo dos regímenes térmicos, calentadas (rojo) y control (azul). Los símbolos representan la media \pm error estándar para $n=8$ plantas por tratamiento. Las letras indican un test LSD para $\alpha=0.05$ para la interacción de variedad y régimen térmico, comparando toda la curva y separadamente hojas del lado este (mayúsculas) y oeste (minúsculas).

De manera similar a lo observado en A_n , la respuesta de g_s al tratamiento de temperatura fue dependiente de la variedad. En Grenache calentado, g_s incrementó 16% y 48% en las hojas del lado este y oeste, respectivamente, en comparación con las plantas control. Por otro lado, en Syrah, g_s no

fue afectada por el régimen de temperatura en las hojas del este ni del oeste. Comparando variedades, se observó una mayor g_s en Syrah que en Grenache (Figura 4.8).

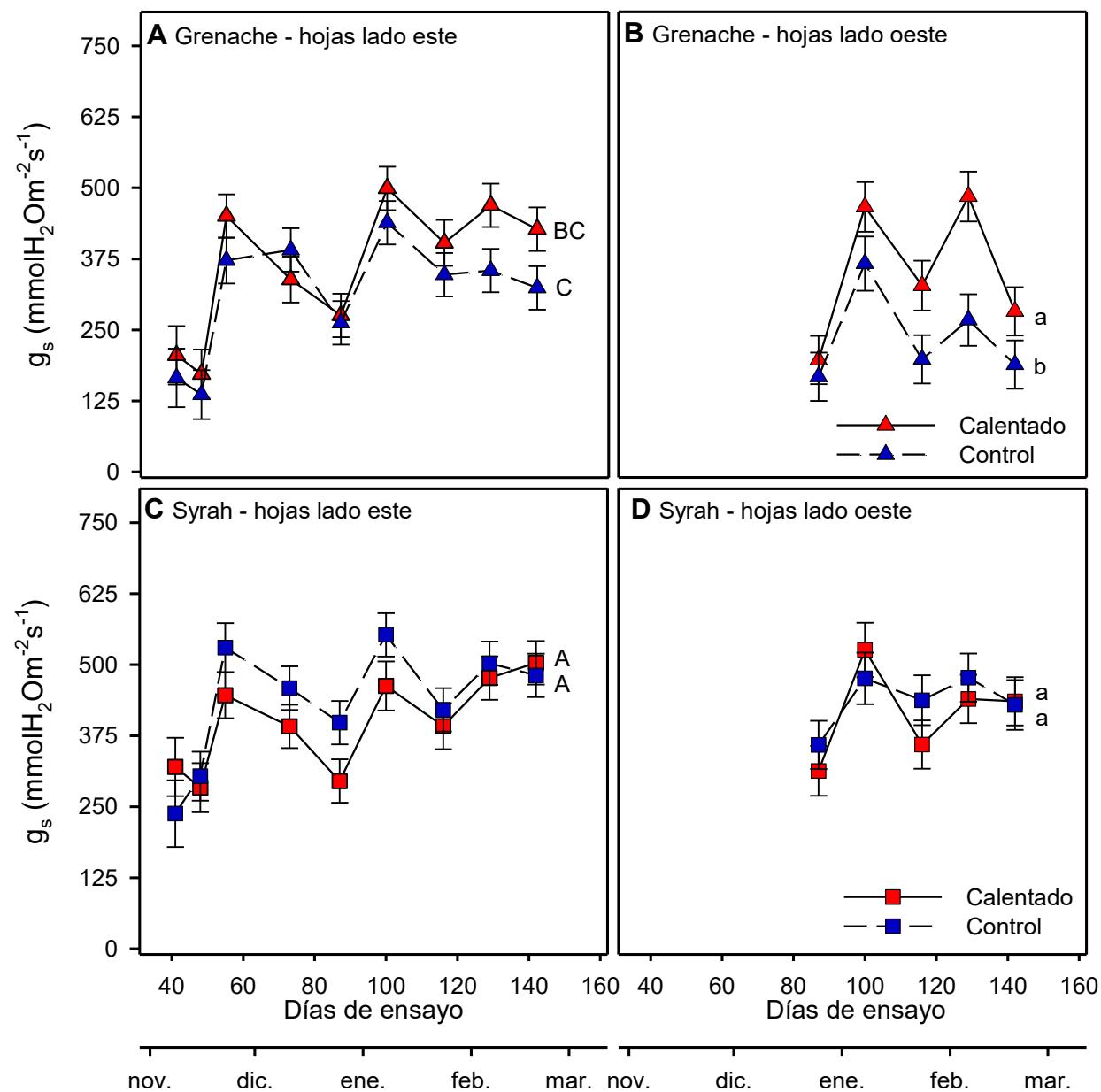


Figura 4.8: Evolución estacional de la conductancia estomática (g_s) medida cada 15 días, desde 11/11/2016 (A-C, hojas lado este) o 26/12/2016 (B-D, hojas lado oeste) al 20/02/2017 en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D), bajo dos regímenes térmicos, calentadas (rojo) y control (azul). Los símbolos representan la media \pm error estándar para $n=8$ plantas por tratamiento. Las letras indican un test LSD para $\alpha=0.05$ para la interacción de variedad y régimen térmico, comparando toda la curva y separadamente hojas del lado este (mayúsculas) y oeste (minúsculas).

Un patrón similar al observado en g_s se encontró para E, con mayores tasas en Syrah que en Grenache para ambos lados de la canopia (Tabla 4.1, Figura 4.9). Adicionalmente, Grenache presentó

mayor E en las plantas calentadas que en las plantas control, pero este efecto solo se evidenció en las hojas del lado oeste.

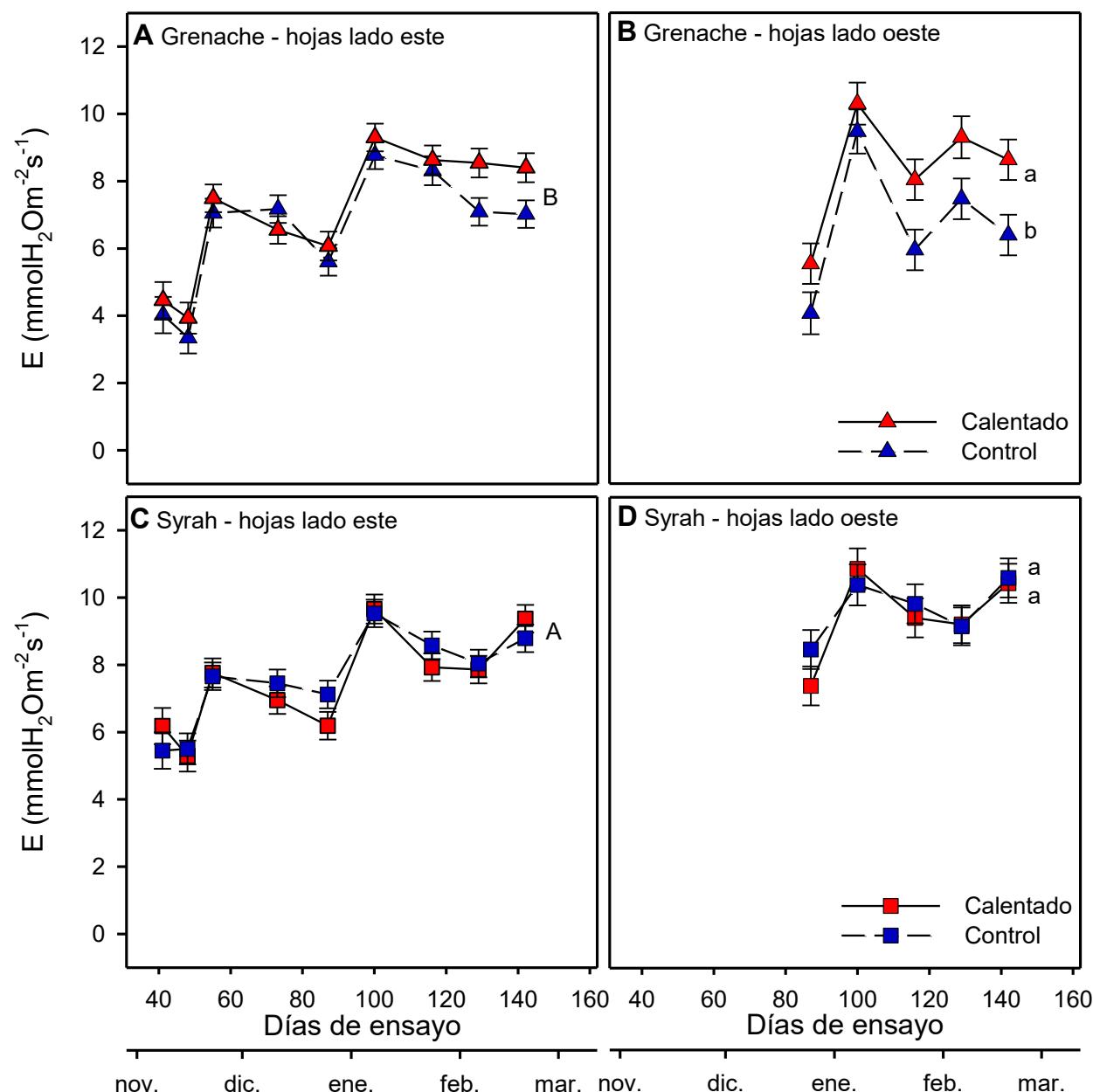


Figura 4.9: Evolución estacional de la transpiración foliar (E) medida cada 15 días, desde 11/11/2016 (A-C, hojas lado este) o 26/12/2016 (B-D, hojas lado oeste) al 20/02/2017 en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D), bajo dos regímenes térmicos, calentadas (rojo) y control (azul). Los símbolos representan la media \pm error estándar para n=8 plantas por tratamiento. Las letras indican un test LSD para $\alpha=0.05$ para la interacción de variedad y régimen térmico para hojas del lado oeste (minúsculas) y sólo para variedad en hojas del lado este (mayúsculas), comparando toda la curva.

El tratamiento de temperatura afectó la EUA_{int} en una manera dependiente de la variedad, y como se observó para A_n y g_s, los efectos se evidenciaron en las hojas de ambos lados de la canopia (Figura

4.10). Syrah bajo ambos regímenes térmicos presentó la menor EUA_{int}. Por otro lado, las plantas control de Grenache tuvieron la mayor EUA_{int} mientras que las calentadas disminuyeron un 14% y un 19% en las hojas del lado este y oeste, respectivamente.

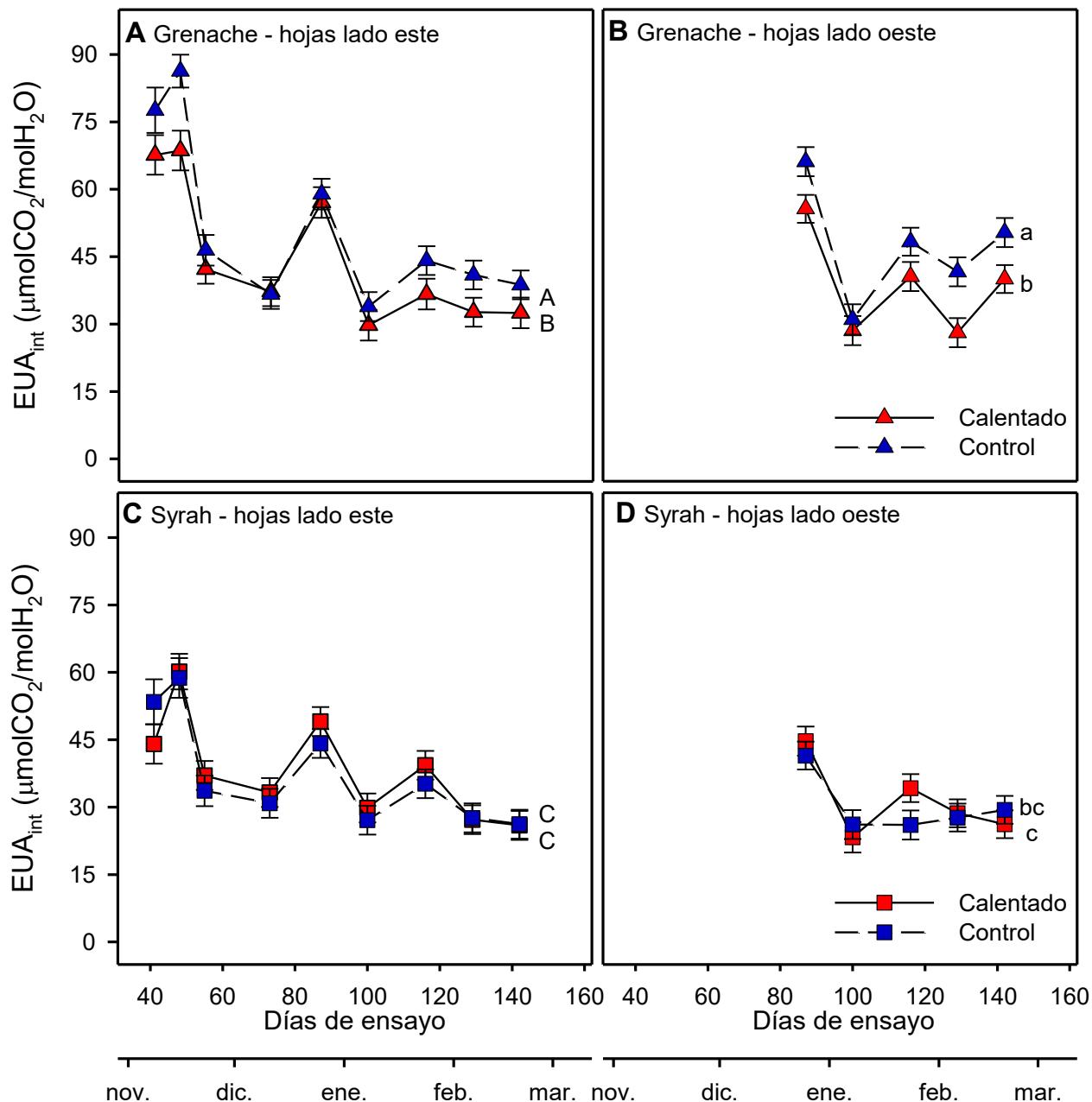


Figura 4.10: Evolución estacional de la eficiencia en el uso del agua intrínseca (EUA_{int}, A_n/g_s) medida cada 15 días, desde 11/11/2016 (A-C, hojas lado este) o 26/12/2016 (B-D, hojas lado oeste) al 20/02/2017 en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D), bajo dos regímenes térmicos, calentadas (rojo) y control (azul). Los símbolos representan la media ± error estándar para n=8 plantas por tratamiento. Las letras indican un test LSD para $\alpha=0.05$ para la interacción de variedad y régimen térmico, comparando toda la curva y separadamente hojas del lado este (mayúsculas) y oeste (minúsculas).

En conjunto, estos resultados indican que las variedades respondieron de manera diferente al régimen de temperatura en A_n , g_s , E y EUA_{int}. Los efectos en las hojas del lado oeste fueron más marcados que en las hojas del lado este, por estar las primeras expuestas a condiciones ambientales de mayor demanda (durante la tarde, Figuras 4.3, 4.4 y 4.5). Las plantas calentadas de Grenache incrementaron tanto A_n como g_s , pero dado que el aumento de g_s fue mayor, la EUA_{int} disminuyó en las plantas calentadas con respecto al control. Por otro lado, las diferencias varietales se evidenciaron en el comportamiento estomático, con mayores valores de g_s y de E y menor EUA_{int} para Syrah que para Grenache.

5.5. Efectos del régimen de temperatura en la eficiencia en el uso del agua del rendimiento

La eficiencia del uso del agua del rendimiento (EUA_{rendimiento}) disminuyó en las plantas calentadas de ambas variedades en comparación con el control, durante dos de las tres temporadas analizadas (Tabla 4.2). En Grenache, estas diferencias se explicaron por un menor rendimiento en las plantas calentadas, debido a un menor número de racimos por planta y un menor peso medio del racimo (Resultados en Capítulo 5, Tabla 5.5). Syrah calentado, por otro lado, presentó menor EUA_{rendimiento} y rendimiento debido principalmente a un menor peso de racimo. La menor EUA_{rendimiento} en las plantas calentadas se observó en la temporada 2017/18, que fue la de mayor diferencia térmica entre tratamientos de temperatura. Comparando las variedades, la EUA_{rendimiento} fue similar en dos (2016/17 y 2017/18) de las tres temporadas evaluadas.

Tabla 4.2. Eficiencia en el uso del agua del rendimiento (kg m^{-3}) en plantas de Grenache y Syrah, control y calentadas, cultivadas en campo durante las cosechas 2017, 2018 y 2019.

Año	Grenache		Syrah		Efecto						
	Control	Calentado	Control	Calentado	V p	Gr -	Sy -	T p	Co A	Ca B	VxT p
2017	3.59 ± 0.27	2.58 ± 0.27	3.26 ± 0.30	2.86 ± 0.25	ns	-	-	***	A	B	ns
2018	3.29 ± 0.22	2.71 ± 0.22	3.23 ± 0.22	2.80 ± 0.22	ns	-	-	**	A	B	ns
2019	3.16 ± 0.24	3.04 ± 0.24	3.77 ± 0.24	3.41 ± 0.24	*	B	A	ns	-	-	ns

Los valores representan la media ± error estándar para 20 plantas por tratamiento. La significancia de los efectos de la variedad (V), el régimen de temperatura (T) y la interacción (VxT) se indica como ns ($p > 0.1$), * ($p < 0.1$), ** ($p < 0.05$) y *** ($p < 0.01$).

6. Discusión

Este estudio reveló que los efectos del régimen de temperatura en la asimilación neta (A_n), la conductancia estomática (g_s), la transpiración (E) y la eficiencia en el uso del agua intrínseca (EUA_{int}) dependieron de la variedad; es decir, hubo interacción entre el tratamiento de temperatura y la variedad.

Grenache respondió al calentamiento, aumentando A_n , g_s , E y la longitud de los estomas, a expensas de disminuir EUA_{int}. El buen estado hídrico de las plantas llevó a incrementar E y mantener la temperatura de la hoja (T_{hoja}), permitiendo que las plantas calentadas de Grenache hagan frente al calentamiento. Por otro lado, A_n , g_s , E, EUA_{int} y la longitud de los estomas fueron similares en las plantas calentadas y control de Syrah, indicando que esta variedad es capaz de tolerar mayores temperaturas del aire y de las hojas sin modificar el funcionamiento de la hoja. En coincidencia con trabajos previos, Syrah presentó mayor E, g_s y por lo tanto menor EUA_{int}, comparado con Grenache. Los resultados observados para enfrentar el calentamiento (aumento de E, g_s y A_n y disminución de EUA_{int}) sugieren que Grenache es más sensible a factores ambientales debido a que su funcionamiento foliar se modificó; mientras que Syrah podría considerarse tolerante debido a que mantuvo un funcionamiento foliar similar en ambos regímenes térmicos. Aunque sólo se reportaron resultados para una temporada, estas estrategias también han sido observadas en algunas plantas de desierto (Aparecido et al., 2020) y en árboles forestales (Drake et al., 2018; Urban et al., 2017a) y tropicales (Slot y Winter, 2017), entre otras especies (Sadok et al., 2021). A su vez, se han establecido estas estrategias para enfrentar otros factores ambientales, como el déficit hídrico (Leakey et al., 2019). Por otro lado, ambas variedades disminuyeron la eficiencia en el uso del agua del rendimiento en respuesta al aumento de temperatura. Esta disminución se relacionó con un menor rendimiento, lo que podría perjudicar la sostenibilidad del viñedo en el largo plazo (Flexas et al., 2010; Medrano et al., 2014; Salazar-Parra et al., 2012).

El calentamiento pasivo aplicado en este ensayo incrementó la temperatura media del aire entre 1.1 °C (2016/17), 2.7 °C (2017/18) y 1.5 °C (2018/19), respecto a las plantas crecidas a temperatura ambiente. Considerando que las predicciones climáticas para Mendoza en un futuro cercano (2015-2039) estiman un aumento de temperatura de entre 1 y 2 °C (Cabré y Nuñez, 2020), este abordaje experimental parece apropiado para simular los futuros escenarios más cálidos. Además, el sistema de calentamiento pasivo (SCP) fue efectivo para aumentar la temperatura foliar en ambas variedades. A pesar del efecto del SCP sobre la temperatura de la hoja, el enfriamiento de la hoja ($T_{hoja}-T_{aire}$) fue similar en los tratamientos calentados y control, indicando que ambas variedades fueron capaces de controlar la temperatura foliar en rangos adecuados para un funcionamiento óptimo. Esta respuesta también se ha reportado en otras especies, en ambientes con temperaturas más extremas (Urban et al., 2017a). De hecho, en suelos húmedos las hojas que transpiran pueden estar 9 °C más frías que las que no transpiran, lo que permite que la fotosíntesis continúe en ambientes cálidos (Urban et al., 2017b).

En las condiciones de este ensayo las plantas estuvieron bien regadas durante la mayor parte de la temporada, como indican los valores de g_s en las plantas control (Flexas et al., 2010; Medrano et al., 2002) y también los valores de $T_{hoja}-T_{aire}$. Las plantas de Grenache control pudieron haber experimentado un déficit hídrico moderado al inicio de la temporada, ya que se registraron valores de

g_s cercanos a 150 mmol m⁻² s⁻¹ en hojas tanto del este como del oeste. El resto de la temporada y de los tratamientos, g_s fue mayor al umbral de déficit moderado (150 mmol m⁻² s⁻¹), indicando un buen estado hídrico en las plantas (Cifre et al., 2005; Romero et al., 2010). Bajo estas condiciones, se observó una mayor g_s en Syrah que en Grenache que es consistente con otros trabajos anteriores en estas variedades (Prieto et al., 2010; Rogiers et al., 2009; Schultz, 2003a). Además, las plantas calentadas de Grenache incrementaron E y g_s con respecto al control, con un efecto más marcado en las hojas del lado oeste. Aunque no se evaluaron en este trabajo, el incremento de E en las plantas calentadas de Grenache podría estar relacionado a procesos fisiológicos o biofísicos. Entre los primeros, se han reportado mayor expresión de acuaporinas en el mesófilo y mayor activación de canales de K⁺ relacionados con la apertura estomática (Sadok et al., 2021). Otros procesos que podrían explicar estas respuestas incluyen cambios en la fluidez de las membranas, en la composición de las ceras y de la cutícula foliares o una disminución en la viscosidad del agua (Sadok et al., 2021). Por otro lado, una mayor g_s en vid ha sido relacionada con un aumento en la conductividad hidráulica de las hojas y del pecíolo que llevan a una mayor capacidad de transporte de agua en el continuo suelo-planta-atmósfera (Hochberg et al., 2015b; Schultz, 2003a; Zufferey et al., 2011). Además, la longitud de los estomas de Grenache se incrementó en las plantas calentadas. Esto mismo fue previamente reportado en Syrah bajo un tratamiento similar y en Malbec bajo una ola de calor de corta duración (Galat Giorgi et al., 2019; Sadras et al., 2012). En ambos antecedentes y en este estudio, estomas más largos se relacionaron con mayores g_s . Como la densidad y el tamaño estomáticos se fijan una vez que la hoja alcanza la máxima expansión (Keller, 2015a; Sadras et al., 2012), los cambios deben ocurrir en estadios tempranos del crecimiento de la hoja. Durante este periodo (octubre 2016), las hojas de las plantas calentadas estuvieron expuestas a un aumento de 1.4 °C en la temperatura media del aire con respecto al control. Otro efecto posible de una mayor temperatura en estadios tempranos, es un aumento en el diámetro de vasos xilemáticos, que puede llevar a un incremento en la capacidad de transporte de agua y por ende en g_s , durante el resto de la temporada (Galat Giorgi et al., 2020). Las condiciones ambientales durante el periodo brotación-floración, son cruciales para determinar aspectos anatómicos de las hojas y los brotes, que pueden impactar en el comportamiento de la planta durante el resto del ciclo (Keller y Tarara, 2010). En coincidencia con los resultados del presente trabajo, otros estudios reportaron que la densidad estomática fue dependiente de la variedad y que no varió frente a cambios en factores ambientales como el déficit hídrico o la temperatura (Montoro et al., 2016; Sadras et al., 2012). Además, la densidad estomática y la g_s no se relacionaron al comparar variedades, ya que Syrah presentó menor densidad pero mayor g_s con respecto a Grenache. Esta controversia también se ha reportado en un trabajo previo, donde se evaluaron 10 variedades diferentes (Rogiers et al., 2009). No se encontraron en este trabajo diferencias en la densidad estomática entre tratamientos térmicos para ninguna de las dos variedades. En contraposición, se ha reportado un incremento de la

densidad estomática asociada a un menor tamaño de hoja debido a un tratamiento de déficit hídrico y temperatura (Galat Giorgi et al., 2019). Por otro lado en Syrah, g_s , la densidad y la longitud de los estomas fueron similares entre las plantas calentadas y control. Un trabajo de Sadras y colaboradores (2012) encontró un aumento en la longitud y el ancho de los estomas de plantas de Syrah, expuestas a un calentamiento de entre 1 y 1.5 °C, en combinación con tratamientos de raleo de racimos y de restricción hídrica. Aunque ellos no reportaron efecto de interacción entre los tratamientos (temperatura y raleo o riego) es posible que los resultados opuestos encontrados en el trabajo de Sadras y colaboradores y en este, sean debido a la combinación de factores. Además, la falta de respuesta de g_s al tratamiento térmico en Syrah puede deberse al buen estado hídrico de las plantas, debido a que las respuestas estomáticas al ambiente son más evidentes en restricción que en buena disponibilidad hídrica (Edwards et al., 2011). El calentamiento desde los estadios tempranos, llevó a cambios anatómicos y a las consecuentes respuestas fisiológicas en las plantas de Grenache calentado pero no en Syrah. Esto confirma resultados previos, donde plantas de Grenache resultaron más sensibles a cambios en las condiciones ambientales (por ejemplo, estrés hídrico) que plantas de Syrah, mediante el rápido ajuste de la conductancia estomática (Soar et al., 2006). Considerando las respuestas de Grenache a diferentes factores ambientales, podría considerarse a esta variedad como más sensible a factores ambientales mientras que Syrah podría considerarse tolerante al estrés. Para Grenache, esta estrategia puede conducir a respuestas estomáticas opuestas. En situaciones de déficit hídrico, g_s disminuye para mantener el potencial hídrico de las hojas, a expensas disminuye también la transpiración y en consecuencia aumenta la temperatura foliar. Este comportamiento podría ser riesgoso en ambientes con alta demanda evaporativa, como los que se pronostican en el futuro. Mientras tanto, a altas temperaturas y condiciones de agua no limitantes, g_s aumenta para permitir el enfriamiento de las hojas y proteger el aparato fotosintético de daños. Un comportamiento similar (enfriamiento de la hoja a través de elevada transpiración) fue observado en plantas de Touriga Nacional expuestas a estrés térmico y alta radiación; aunque bajo estrés hídrico la fotosíntesis fue severamente disminuida debido a un cierre estomático (Carvalho et al., 2016)

Syrah es una variedad que está ampliamente distribuida y se la considera bien adaptada a ambientes contrastantes (Sadras y Soar, 2009; Soar et al., 2009). De acuerdo a estos resultados, en el capítulo anterior se demostró que para esta variedad, la asimilación neta (A_n), y otros procesos bioquímicos (carboxilación de la Rubisco y tasa de transporte de electrones) mantienen cerca del 80% de su tasa óptima en un amplio rango de temperaturas (Gallo et al., 2020). La A_n de Syrah en este ensayo fue alrededor de 13 $\mu\text{mol CO}_2 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$, similar a los valores encontrados como óptimos en el capítulo precedente. Es probable que el incremento de temperatura alcanzado (1.1 °C) esté dentro del rango que Syrah es capaz de tolerar sin modificar su comportamiento, en particular cuando las tasas de A_n están cerca del óptimo. En otras especies, se han reportado resultados similares, con tasas

óptimas de A_n que no se modificaron en ambientes más cálidos (Slot y Winter, 2017) o en ambientes con ciclos de alternancias de temperatura (Cerasoli et al., 2014). La elevada adaptabilidad de Syrah para continuar funcionando con temperaturas foliares más elevadas podría relacionarse con la capacidad de mantener el sistema hidráulico funcional que permita continuar transpirando y enfriando la hoja o con un sistema de raíces capaz de aprovisionar de agua a la planta adecuadamente (Drake et al., 2018). También puede explicarse por una mayor tolerancia térmica de las hojas, relacionada a la síntesis de proteínas de choque térmico (*heat shock proteins*), que contribuyen a estabilizar y reparar el aparato fotosintético en elevada temperatura (Carvalho et al., 2015; Drake et al., 2018). Por otro lado, en especies leñosas se ha reportado un incremento en el umbral de tolerancia térmica de la hoja (T_{50} : medido como la temperatura de la hoja a la que la eficiencia fotoquímica máxima o Fv/Fm del PSII desciende al 50%), a medida que se incrementó la temperatura de crecimiento (Drake et al., 2018) pero este parámetro no fue evaluado en este ensayo. No obstante, los resultados obtenidos en el capítulo 3 mostraron que la respuesta a la temperatura de J_{max} (relacionada a la fotoquímica de la cadena transportadora de electrones) fue similar en hojas de Syrah calentadas y control, evidenciando la tolerancia de esta variedad.

La vid se caracteriza por presentar una gran variabilidad intra-específica en la eficiencia en el uso del agua (EUA). Como este trabajo se realizó en el campo, reportar la EUA intrínseca (A_n/g_s) resulta más apropiado que EUA instantánea (A_n/E) debido a que cambios en el DPV y por lo tanto en E son esperables (Salazar-Parra et al., 2012). Además, la relativización a g_s permite la comparación de EUA independientemente del DPV al que estuvieron expuestas las plantas (Leakey et al., 2019). En este trabajo, Grenache control presentó la EUA_{int} más elevada, mientras que Syrah en ambos tratamientos térmicos la menor. En comparación con Syrah, la menor g_s en Grenache contribuyó más que A_n a que EUA_{int} fuese mayor, ya que las diferencias entre las variedades en la condición control fueron mayores en g_s (30%) que en A_n (22%). Esto confirmó las diferencias en comportamiento estomático previamente reportadas para estas dos variedades (Rogiers et al., 2009; Schultz, 2003a). No obstante, la dicotomía entre variedades iso/anisohídricas ha sido recientemente cuestionada por varios autores; debido a que las mismas variedades pueden comportarse de manera diferente dependiendo de la intensidad y el momento del estrés hídrico aplicado y por lo tanto arrojar resultados variables (Charrier et al., 2018; Levin et al., 2019; Lovisolo et al., 2010; Martinez-Vilalta y García-Forner 2017; Villalobos et al., 2019). En lugar de proponer dos comportamientos extremos e idealizados, debería considerarse un grado de iso-hidrismo continuo, considerando la variabilidad temporal y la intensidad del estrés aplicado (Charrier et al., 2018; Martinez-Vilalta y García-Forner 2017; Levin et al., 2019). El grado de iso-hidrismo ha sido recientemente definido considerando tres aspectos: (i) el mínimo potencial hídrico de la hoja al mediodía (Ψ_m) alcanzado estacionalmente; (ii) la variabilidad estacional de Ψ_m (menos variable, más isohídrico) y (iii) la relación entre Ψ_m y potencial hídrico de la hoja al pre amanecer (Ψ_p ; Martínez-Vilalta

y García-Fournier 2017). Considerando estas definiciones y cuestionamientos, con los resultados de este trabajo no fue posible evaluar el grado de iso-hidrismo.

El aumento de temperatura llevó a una disminución de EUA_{int} en Grenache, aunque se mantuvo más elevada que en Syrah. Esta disminución de EUA_{int} relacionada a un genotipo puede ser importante en regiones cálidas y áridas. Una limitación de este trabajo es que las mediciones de intercambio gaseoso se determinaron en una sola temporada. Sin embargo, los resultados de eficiencia en el uso del agua del rendimiento (EUA_{rendimiento}) se repitieron durante 2 de las 3 temporadas de estudio. Las plantas calentadas de ambas variedades disminuyeron EUA_{rendimiento} con respecto al control (en 2016/17 y 2017/18), lo que llevaría a pérdidas de 1 a 2 toneladas por hectárea para la misma cantidad de agua aplicada. La medición de EUA_{rendimiento} permite estimar otros procesos que no son considerados cuando se mide EUA a nivel de la hoja. Las pérdidas de agua a través de la cutícula, la transpiración nocturna, la respiración de órganos como raíces, tronco, brotes o frutos que no son medidos a través del intercambio de gases pueden llevar a diferencias entre la EUA_{hoja} y la EUA a nivel planta entera (Tomas et al., 2014). En consecuencia, incluso si las hojas son capaces de hacer frente al aumento de temperatura a través de la aclimatación de la fotosíntesis y del enfriamiento de la hoja, se observa una disminución en la EUA de la producción (EUA_{rendimiento}). En coincidencia, se observó una menor EUA_{rendimiento} en las plantas calentadas de Syrah con respecto al control, pero la EUA_{int} fue similar. La disminución en EUA_{int} y EUA_{rendimiento} para un determinado genotipo puede ser importante en regiones áridas. Es notorio que este ensayo se realizó bajo condiciones bien regadas, lo que permitió el incremento de g_s y de E para mantener la temperatura foliar. El aumento de g_s es una ventaja en ambientes cálidos con disponibilidad hídrica, permitiendo un enfriamiento de la hoja y una menor limitación estomática a la fotosíntesis (Urban et al., 2017b). En contraposición, bajo restricción hídrica, la necesidad de conservación de agua puede ocasionar cierre estomático y en consecuencia una menor transpiración y un mayor calentamiento de la hoja y de esta manera pérdida de la capacidad fotosintética (Aparecido et al., 2020; Edwards et al., 2011; Sadok et al., 2021). En regiones cálidas y áridas como Mendoza, las plantas en los viñedos están frecuentemente expuestas a estreses múltiples, como alta demanda evapotranspiratoria, alta radiación y temperatura, baja disponibilidad hídrica (Carvalho et al., 2016; Palliotti et al., 2009). En esas condiciones, otros mecanismos además del enfriamiento de la hoja son necesarios para mantener el funcionamiento foliar. Entre ellos, se ha reportado en otras variedades un incremento de la actividad del ciclo de las xantofilas para la disipación térmica o un incremento de los metabolitos antioxidantes en las hojas (Carvalho et al., 2016; Palliotti et al., 2009). Las xantofilas son carotenoides que aceptan electrones de las clorofillas y se oxidan, disipando la energía excedente del transporte de electrones (Sage y Kubien, 2007). Los resultados de este estudio corresponden a condiciones bien regadas; situación no muy frecuente en los viñedos locales. Teniendo en cuenta que se pronostica menor disponibilidad hídrica (Cabré y Nuñez 2020;

Santillán et al., 2019), la falta de agua en el futuro podría impedir el enfriamiento de la hoja, incrementándose la temperatura foliar, el consumo de agua y afectando la fotosíntesis y la EUA tanto a nivel hoja como planta. Son necesarios más estudios que combinen diferentes niveles de déficit hídrico con aumento de temperatura en el campo, para poder diseñar prácticas de riego y manejo que lleven a mejorar la eficiencia en el uso del agua y de esta manera garantizar la sostenibilidad del viñedo.

En resumen, en este capítulo se demostró que un aumento en la temperatura del aire durante la temporada de crecimiento, en el mismo grado que el proyectado por los modelos de cambio climático, podría conducir a una disminución en la EUA a nivel de hoja en variedades como el Grenache. De manera similar a lo que se observa en situaciones de déficit hídrico o DPV alto, esta variedad ajusta su funcionamiento para hacer frente a temperaturas más cálidas. Por otro lado, el funcionamiento foliar de Syrah resultó más tolerante al calentamiento. Sin embargo, se observó una disminución en la EUA del rendimiento en ambas variedades; lo que podría indicar que las pérdidas de agua a través de los frutos y otros órganos de la planta aumentaron en respuesta al calentamiento.

CAPÍTULO 5: PLASTICIDAD VARIETAL EN LA COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LA BAYA

1. Introducción

La composición de la uva está determinada por factores genéticos, de manejo y climáticos que afectan el metabolismo de la planta. El vino como producto final, depende fuertemente de las características de la uva así como también de las prácticas enológicas. Un aspecto importante de la producción de uva y elaboración del vino, es mantener año a año un producto estable en ambientes cambiantes (Keller, 2010). Frente a las variaciones ambientales interanuales, las diferentes variedades de vid pueden modificar en mayor o menor grado su comportamiento en respuesta a estas variaciones ambientales, lo cual impactará en la composición de la uva y por lo tanto del vino (Sadras et al., 2013). La plasticidad fenotípica permite caracterizar cuánto se modifica la expresión de una característica individual de un genotipo en función de diferentes ambientes (Sadras et al., 2009a). Considerando que debido al cambio climático, la variabilidad interanual en las condiciones ambientales aumentará, es importante comprender los procesos que determinan la composición de la uva para vinificar en diferentes variedades en ambientes contrastantes (Rienth et al., 2021).

1.1. Crecimiento y desarrollo de la baya

La baya crece siguiendo una curva doble sigmoidal en la que pueden distinguirse 3 fases (Figura 5.1). Cada una de ellas está caracterizada por determinados procesos. La síntesis, concentración y composición de los compuestos químicos de la baya cambian con el desarrollo de la misma y son afectados por diversos factores, tanto internos como externos. Entre los internos se encuentra el número de semillas por baya, la relación fuente/destino, el estado sanitario de las plantas, el equilibrio hormonal y los componentes del rendimiento (Dai et al., 2010; Keller, 2015b). Los externos incluyen factores ambientales y prácticas culturales. La interacción de estos factores sobre el crecimiento y desarrollo de la baya impactará en la composición química de la uva. Esta última incluye azúcares, ácidos orgánicos, compuestos fenólicos y otros compuestos aromáticos (Rienth et al., 2021).

Primera fase: Formación de la baya

Se caracteriza por una intensa división celular (Dai et al., 2010). Hay un rápido aumento del tamaño de las semillas y del pericarpio (Keller, 2015b). La división celular está relacionada con el número de semillas, posiblemente por la síntesis de hormonas en las mismas. Auxinas, citocininas y giberelinas son producidas por el embrión y liberadas en el pericarpo (Keller, 2015b). También hay síntesis y acumulación de ácidos orgánicos, principalmente tartárico y málico (Coombe y McCarthy, 2000; Keller, 2015b; Kliewer, 1965; Ollat et al., 2002). Los ácidos son el principal componente osmótico

de la baya en esta etapa (Ollat et al., 2002). El transporte de agua y solutos a la baya se realiza vía xilema y floema, principalmente xilema (Coombe y McCarthy, 2000). La primera fase de crecimiento tiene una duración de entre 6 a 9 semanas. Cuando cesa la división celular, se define el número de células y con esto el tamaño potencial de la baya que al finalizar esta etapa es aproximadamente la mitad de su tamaño y peso finales (Dai et al., 2010; Keller, 2015b). Este período es muy sensible a factores internos y externos, como la temperatura, el estado hídrico o el suministro de fotoasimilados, y pueden ocurrir alteraciones irreversibles (Dai et al., 2010; Ollat et al., 2002).

Segunda fase: Fase lag

Se caracteriza por una disminución en la tasa de crecimiento y en consecuencia poco cambio en el tamaño de la baya (Dai et al., 2010; Ollat et al., 2002). Se produce la maduración de la semilla y del embrión. Esta etapa finaliza con el envero, que marca el inicio de la acumulación rápida de azúcar y de potasio y el inicio de la síntesis de compuestos de color en variedades tintas (Dai et al., 2010). Entre 10 a 15 días previos al envero las semillas alcanzan su tamaño final, máximo peso y máximo contenido de taninos. El embrión madura gracias a un pico de auxinas que a su vez, evita que la baya madure antes de que la semilla complete su desarrollo, debido al efecto inhibitorio de esta hormona (Keller, 2015b). Además hay un impedimento del flujo xilemático; es decir, el agua y los azúcares que ingresan a la baya durante esta etapa provienen en su mayoría del floema (Coombe y McCarthy, 2000). La duración de esta fase varía entre 1 a 6 semanas, es dependiente de la variedad y determina en gran parte la fecha de cosecha (Keller, 2015b).

Fin de la segunda fase: envero

El envero se caracteriza por un ablandamiento de la baya (Dai et al., 2010). Hormonas como ABA, brasinosteroides y etileno inducen los cambios en la composición química de las paredes celulares que hacen que la baya se ablande (Keller, 2015b; Ollat et al., 2002). En el envero a su vez, hay un cambio de metabolismo de parcialmente fotosintético a completamente heterotrófico debido a que la clorofila se degrada (Keller, 2015b). Al final del envero, también puede apreciarse un cambio de color en la piel de la baya, de verde a rojo, violeta o azul en variedades tintas o a tonalidades más o menos amarillas en variedades blancas. La coloración en variedades tintas es debida a la acumulación de antocianos en vacuolas de las células del exocarpo (de Rosas et al., 2017; Keller, 2015b).

Tercera fase: Madurez de la baya

Al inicio de esta fase, la tasa de crecimiento de la baya es máxima (Ollat et al., 2002). Se produce una expansión celular que duplica el tamaño de la baya debido a la acumulación activa de hexosas (glucosa y fructosa) y agua (Dai et al., 2010; Ollat et al., 2002). Las hexosas son el principal compuesto

osmóticamente activo en esta etapa (Ollat et al., 2002). El ingreso de agua y solutos a la baya es principalmente floemático (Coombe y McCarthy, 2000). En esta etapa el xilema funciona para reciclar el exceso de agua del floema, de regreso al brote (Keller, 2006). El incremento de volumen es inicialmente muy rápido pero se ralentiza a medida que avanza la madurez. La baya alcanza una meseta o incluso puede disminuir su peso debido a la pérdida de agua por evaporación en los estadios tardíos de madurez (Dai et al., 2010; Keller, 2015b). También hay una disminución de la acidez, por un lado debida a un efecto de dilución del ácido tartárico debido al crecimiento de la baya (Ollat et al., 2002). Por otro lado, hay una degradación de ácido málico (Keller, 2015b; Kliewer, 1965). Los cambios que ocurren en la semilla también implican un cambio de color, de verde a amarillo o marrón por la oxidación de los taninos del tegumento. En esta etapa hay una acumulación de proteínas, lípidos, almidón y minerales en el endosperma (Keller, 2015b). La fase de madurez de la baya tiene una duración de entre 5 a 10 semanas.

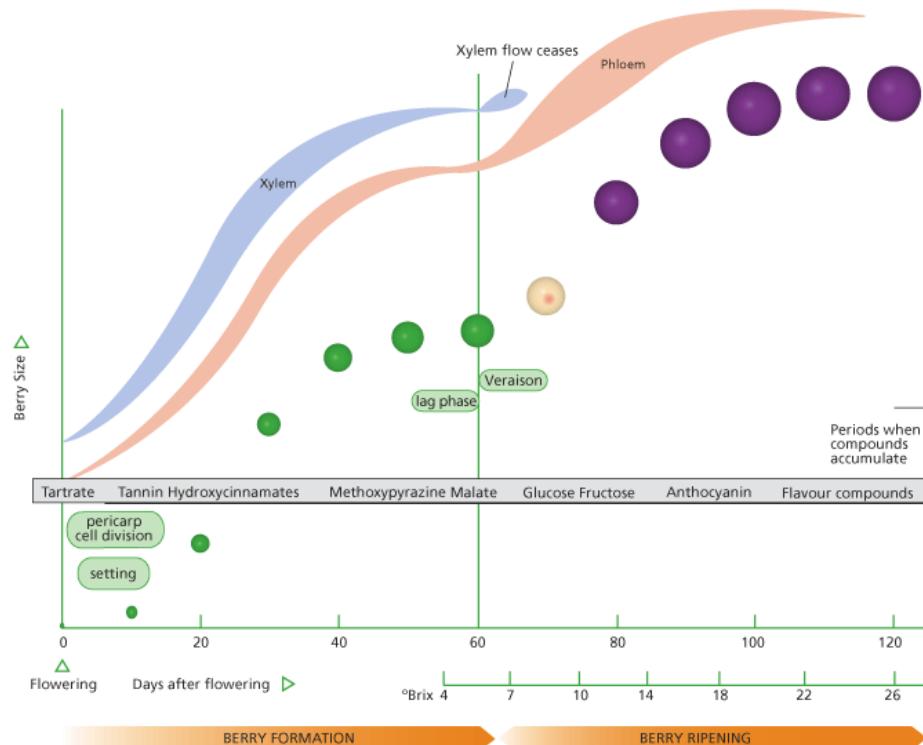
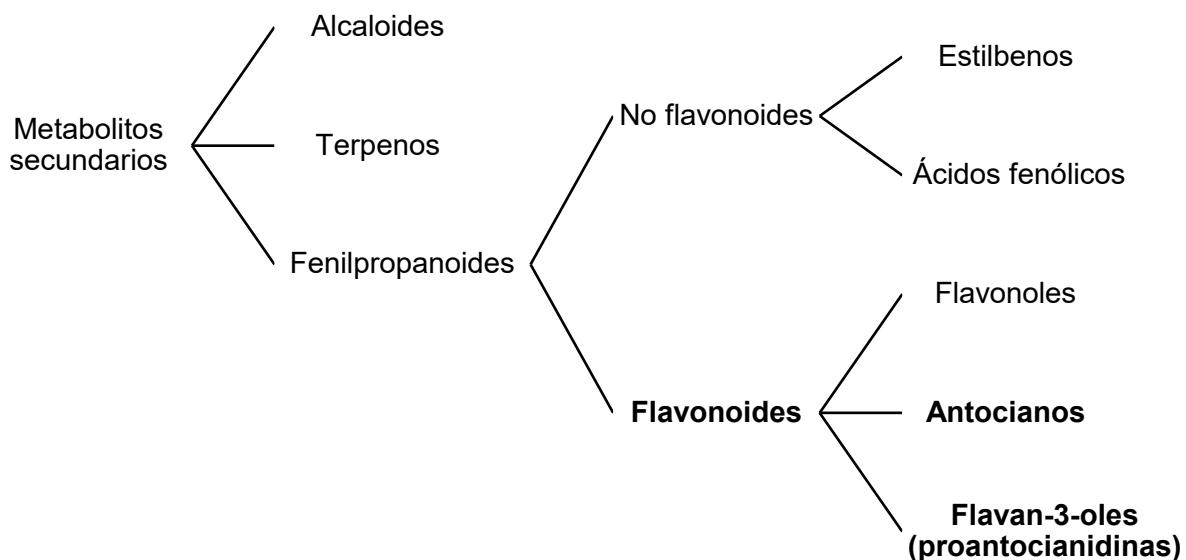


Figura 5.1: Desarrollo y crecimiento de la baya. Se indican la primera fase de formación (cuaje y división celular), la segunda fase (lag), el envero y la tercera fase (madurez). Se indica en cada una la duración estimada en días después de floración (eje X), los principales eventos (recuadros verdes), los compuestos que se sintetizan y acumulan (rectángulo gris) y las vías de transporte a la baya (celeste xilema y rosado floema). Figura tomada de Keller, 2015b, adaptada de Coombe y McCarthy, 2000.

1.2. Familias de compuestos polifenólicos

Los compuestos fenólicos se encuentran entre los constituyentes principales de las uvas tintas. Determinan importantes características organolépticas de los vinos, relacionadas con el color, sabor, textura y astringencia (Rienth et al., 2021). Son sintetizados en el citoplasma y almacenados en vacuolas. Todos los compuestos fenólicos derivan de los mismos precursores y comparten genes que regulan sus rutas metabólicas. En condiciones de crecimiento normales y sin estrés, se estima que un 20% del total del C fijado por fotosíntesis es derivado a la vía del ácido shikímico, responsable de la síntesis de fenoles (Gouot et al., 2019).

Los compuestos fenólicos de la uva están formados por un anillo benceno aromático unido a un radical hidroxilo (Rienth et al., 2021). Estas moléculas poseen grupos hidroxilo y uniones dobles insaturadas, que les confieren susceptibilidad a oxidarse y por lo tanto elevada capacidad antioxidante (Keller, 2010). Los compuestos fenólicos se clasifican dentro de los metabolitos secundarios:



Se resumen a continuación las principales características de los mismos (extraído de Gouot et al., 2019):

Flavonoles

- Sin color en la uva.
- Mayoritariamente se acumulan en la piel.
- Los monómeros se diferencian por el número de sustituyentes en el núcleo lateral.
- Pueden ser mono- (kaempferol), di- (queracetina) o tri-hidroxilados (miricetina).
- Se acumulan bajo forma glicosilada y contribuyen a la estabilidad del color durante la crianza del vino.

Antocianos

- Se acumulan en la piel en variedades tintas y son las responsables del color.
- Resultan de la condensación de una antocianidina con un azúcar en el C3.
- Las antocianidinas individuales mayoritarias en la uva son: delfinidina, cianidina, peonidina, petunidina, malvidina (la más abundante) y pelargonidina (la menos abundante).
- La diferencia entre los antocianos individuales radica en los dos sustituyentes del anillo lateral. Estos pueden ser en la posición 1 un H (pelargonidina), un grupo hidroxi (OH, cianidina) o metoxi (OCH₃, peonidina, delfinidina, petunidina, malvidina). En la posición 2 pueden ser H (pelargonidina, cianidina, peonidina), OH (delfinidina, petunidina) o OCH₃ (malvidina).
- El azúcar puede ser acilada con ácidos no-flavonoides, como acético dando lugar a antocianos acetiladas o cumárico o cafeico, dando lugar a antocianos cinamiladas.
- Las formas monoglicosiladas representan el 60-70% y las aciladas el 30-40%.
- La estabilidad de los antocianos aumenta con el grado de metilación de la antocianidina y con la acilación del azúcar.

Flavan-3-oles y proantocianidinas

- Son sintetizados en la piel, pulpa y semillas.
- Los monómeros (flavan-3-oles) son catequina, galocatequina, epicatequina y epigalocatequina.
- Los diferentes monómeros se originan por sustituciones con H o grupo hidroxi (OH), una en el anillo lateral o dos en el carbono 3 del anillo central.
- Pueden acilarse, uniéndose a ácido gálico o di-hidroxilarse (2 OH⁻), dando origen a las proantocianidinas o también llamados, taninos condensados.
- Difieren en su grado de polimerización, lo que da origen a diferentes composiciones y longitudes.

1.3. Efectos de la temperatura en la composición de la baya

La temperatura influye en las reacciones metabólicas responsables del crecimiento y madurez de la baya, lo cual tiene consecuencias importantes en los aspectos relacionados a la producción de uva (Keller, 2010; Ollat et al., 2002). Por ejemplo, en varias regiones vitícolas se ha observado un adelanto en la fecha de cosecha en los últimos 10 a 30 años que ha sido relacionado con diferentes grados de aumentos en la temperatura durante la estación de crecimiento de la vid (Mira de Orduña, 2010). Otro efecto observado es que la madurez de la uva ocurre durante los meses más cálidos del verano y esto podría afectar su composición (Mira de Orduña, 2010; Rienth et al., 2021; Van Leeuwen y Destrac-Irvine, 2017). Sin embargo, el momento de cosecha puede basarse en criterios subjetivos que han ido cambiando con el tiempo, junto con prácticas en el viñedo y tendencias de mercado (Mira de Orduña, 2010; Rienth et al., 2021). Algunos de estos criterios subjetivos han contribuido a un atraso en la fecha de cosecha por ejemplo para generar una mayor concentración de compuestos fenólicos.

El aumento de temperatura ha sido principalmente relacionado con una mayor concentración de azúcar y una menor acidez al momento de cosecha (Petrie y Sadras, 2008; Sadras et al., 2013). La consecuencia son vinos de elevado grado alcohólico y desequilibrados en sus componentes. Sin embargo, algunos trabajos donde se aumentó la temperatura no evidenciaron cambios en los sólidos solubles en la uva en algunas variedades (de Rosas et al., 2017; Sadras et al., 2013). Por otro lado, la disminución en la acidez de la uva es frecuentemente relacionada a situaciones (regiones o

temporadas) más cálidas (Sadras et al., 2013). El ácido tartárico, mayoritario en la baya, se ha considerado relativamente estable a temperaturas elevadas. La disminución del mismo durante el crecimiento de la baya es probablemente debida a un efecto de dilución (Rienth et al., 2021). No obstante, el ácido málico (de menor proporción en la uva) disminuye con altas temperaturas diurnas o con grandes amplitudes térmicas post-envero. Esta disminución se relacionó con una menor actividad de la enzima responsable de la síntesis de ácido málico (PEP carboxilasa) y una mayor actividad de la enzima responsable de la conversión del ácido málico a piruvato (NAD-ME) en la uva (Kizildeniz et al., 2015; Sweetman et al., 2014). Estos cambios pueden aumentar el pH de la uva y comprometer la estabilidad microbiológica del mosto, el potencial de guarda y el balance del vino (Dai et al., 2010). Sin embargo, en algunos trabajos donde se compararon plantas control y calentadas de manera directa no se encontraron efectos de la temperatura sobre la acidez ni el pH de la uva y estas respuestas fueron dependientes de la variedad (de Rosas et al., 2017; Sadras et al., 2013). Por ejemplo, la acidez disminuyó y el pH aumentó en Cabernet Franc y Chardonnay; mientras que Semillón aumentó únicamente el pH y Malbec, Bonarda y Syrah no presentaron cambios (de Rosas et al., 2017; Sadras et al., 2013).

Respecto a los polifenoles, los antecedentes están principalmente focalizados en los antocianos. Por ejemplo, se ha observado en distintas situaciones que un aumento de la temperatura puede generar un desacople entre la acumulación de azúcares y de antocianos (Sadras y Moran, 2012). Esta situación, bastante común en regiones cálidas, genera que la uva alcance concentraciones elevadas de azúcar mucho antes que los antocianos, dando lugar a tiempos de espera prolongados para esperar la cosecha hasta alcanzar la “madurez fenólica”. Sadras y Moran (2012) realizaron un ensayo a campo en el que compararon la relación entre antocianos y sólidos solubles (SS), en plantas de dos variedades expuestas a calentamiento, déficit hídrico y carga de fruta, en comparación con un control. En este estudio, demostraron que el calentamiento retrasó en el inicio de la síntesis de antocianos respecto al inicio de la acumulación rápida de azúcar. Este resultado estuvo relacionado a una mayor duración de la fase lag de la relación entre antocianos y SS debido al calentamiento. Adicionalmente, se ha reportado una disminución en el contenido total de antocianos debido a una menor expresión de enzimas y factores de transcripción responsables de la síntesis (de Rosas et al., 2017) o también a una mayor degradación por peroxidases (Mori et al., 2007b). La temperatura también puede modificar la composición individual de los antocianos. Por ejemplo, Fernandes de Oliveira y colaboradores (2015) reportaron en una temporada más cálida, una mayor proporción de los derivados acilados (antocianos acetiladas y cumariladas), con respecto las formas no aciladas, para bayas de Carignan. Un trabajo local en las variedades Bonarda y Malbec demostró que a mayor temperatura aumentó la proporción de antocianos acilados (más estables) con respecto a los no acilados (de Rosas et al., 2017). No obstante, la mayor proporción de antocianos más estables no compensó la disminución en el contenido

total de antocianos. Por lo tanto, el aumento de temperatura puede perjudicar la calidad de uvas y vinos tintos, principalmente en regiones cálidas. Los efectos de la temperatura sobre otros compuestos de interés, como los flavonoles, las proantocianidinas o los aromas han presentado resultados variables (Gouot et al., 2019). En la figura 5.2 (extraída de Gouot et al., 2019) se resumen los efectos del aumento de temperatura sobre los principales compuestos fenólicos de la uva, mostrando a su vez las diferentes escalas de estudio.

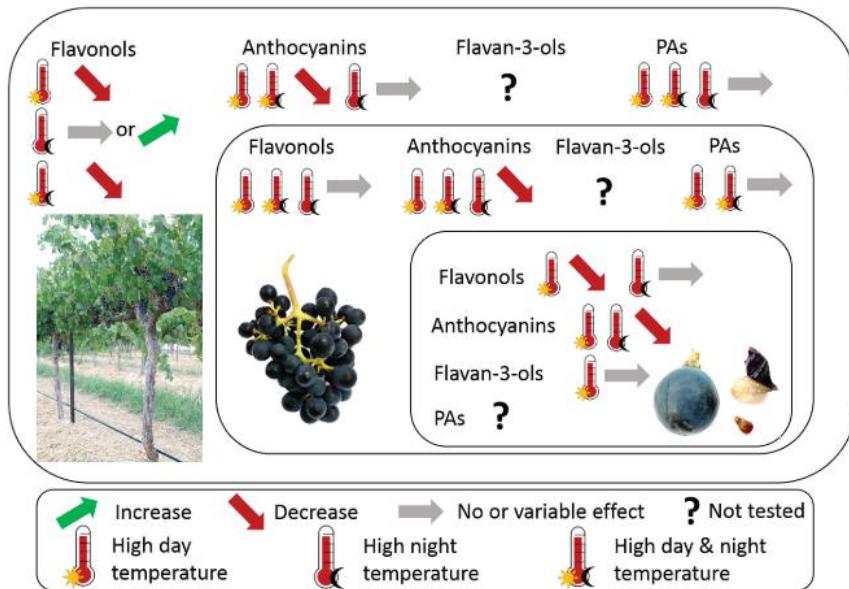


Figura 5.2: Resumen de los efectos de las temperaturas diurnas y/o nocturnas elevadas en los flavonoides de uvas. Se indican diferentes escalas de aplicación de los tratamientos de temperatura, planta entera, racimo y baya. PAs corresponde a proantocianidinas. Extraído de Gouot et al., 2019.

1.4. Plasticidad fenotípica

El cambio climático ha incrementado el interés científico por comprender la aclimatación de las plantas a diversos factores del ambiente. La capacidad de aclimatación cumple un rol fundamental en la tolerancia al estrés y puede ser manifestada en cambios morfológicos o fisiológicos que aseguren la supervivencia y la reproducción (Dayer, 2017; Taiz y Zeiger, 2015c). La magnitud de los cambios puede medirse a través de la plasticidad fenotípica, la cual refiere a cuánto se modifica la expresión de una característica individual de un genotipo en función de diferentes ambientes (Sadras et al., 2009a). Una plasticidad elevada se relaciona con la capacidad de un genotipo de cambiar el fenotipo, a medida que el ambiente en el que se encuentra favorece la expresión de dicho fenotipo (Trentacoste et al., 2011). La producción vitícola está condicionada por factores ambientales que varían espacial y temporalmente, y pueden reflejar la plasticidad fenotípica en las características de la uva y en consecuencia del vino (Sadras et al., 2013). Los diferentes genotipos (variedades) pueden tener mayor o menor plasticidad frente a la variación de los factores ambientales y por lo tanto producir diversos

fenotipos. Por ejemplo, Cabernet Franc y Chardonnay presentaron elevada plasticidad para pH y acidez en la uva, en respuesta a diferentes tratamientos de temperatura. Esto es, incrementaron el pH (o disminuyeron la acidez) a medida que en el ambiente más cálido se favorecieron mayores valores de pH (o menores valores de acidez; Sadras et al., 2013). Es importante destacar que, dependiendo de la característica fenotípica en evaluación, del factor ambiental y del destino de la producción, sería deseable una mayor o menor plasticidad. Una forma de medir la plasticidad fenotípica es comparando pendientes de regresiones lineales en normas de reacción (Sadras et al., 2012). La construcción de las normas de reacción se explica con mayor detalle en materiales y métodos.

2. Hipótesis específica

El aumento de temperatura de crecimiento modifica la composición química de la uva, aumenta la concentración de sólidos solubles y el pH y disminuye el peso de baya, la acidez y los compuestos polifenólicos (antocianos y taninos). Las variedades Syrah y Grenache presentan diferente plasticidad de los compuestos polifenólicos en respuesta al calentamiento.

3. Objetivo específico

Determinar el efecto de un aumento de 1.5 °C en temperatura de crecimiento sobre la composición química de la uva para vinificar, en parámetros relacionados al crecimiento (peso de baya), la madurez (sólidos solubles, pH) y a la composición química de la uva (antocianos, taninos) y la plasticidad varietal de los compuestos polifenólicos frente al calentamiento, en uvas de plantas de las variedades Syrah y Grenache.

4. Materiales y métodos

4.1. Sitio, material vegetal, diseño experimental y caracterización del tratamiento

El ensayo fue conducido en un viñedo de la EEA Mendoza, con las variedades Syrah y Grenache, durante las temporadas 2016/17, 2017/18 y 2018/19. Se compararon plantas expuestas a temperatura ambiente con plantas calentadas mediante un sistema de calentamiento pasivo (SCP, Figura 2.2). Las plantas fueron conducidas en cordón bilateral con 24 a 26 yemas planta⁻¹. No se aplicó desbrote (únicamente se eliminaron los chupones) o raleo de racimos. Mayores detalles de la descripción del material vegetal, sitio y SCP pueden encontrarse en el Capítulo 2 (Materiales y métodos generales).

Para caracterizar el tratamiento de temperatura, se tuvo en cuenta la temperatura del aire registrada a nivel de la canopia (Capítulo 2, Materiales y métodos generales). Con estos registros, se

calculó la diferencia de temperatura media diaria entre plantas calentadas y control durante toda la temporada de crecimiento. Se contaron los días con temperaturas máximas mayores a 35 °C y se calcularon dos índices bioclimáticos de caracterización vitícola:

- Índice de Winkler (Winkler et al., 1974):

$$IW = \sum_{01 Oct}^{30 Abr} (T_{mensual} - 10) * nd$$

- Índice heliotérmico (Tonietto y Carbonneau, 2004):

$$IH = \sum_{01 Oct}^{30 Abr} \frac{(T_{med} - 10) + (T_{max} - 10)}{2} * ld$$

donde, $T_{mensual}$ es la temperatura media del mes, nd el número de días del mes, T_{med} es la temperatura media diaria, T_{max} la temperatura máxima diaria y ld un coeficiente de longitud de día que para Mendoza equivale a 1.

4.2. Seguimiento de madurez y componentes del rendimiento

Durante 2017 y 2018, el peso fresco de baya, la concentración de sólidos solubles (SS) y el pH de la baya fueron determinados desde enero hasta cosecha, en intervalos de 10 días; mientras que en 2018/19 las determinaciones comenzaron a mediados de febrero. En cada ocasión, se recolectaron muestras compuestas de 30 bayas por unidad experimental (subparcela que incluye las 5 plantas del claro), tomando 6 bayas por planta de diferentes racimos y posiciones dentro del racimo (superior, media, inferior, interna, externa). Se tomaron muestras de 5 repeticiones por tratamiento (combinación variedad-temperatura). Se excluyeron del muestreo de uva los racimos de los brazos externos de las plantas calentadas en contacto con la bordura del SCP. Luego, se pesaron con balanza de precisión. Se molieron manualmente y sobre el jugo extraído se determinó el pH y contenido de sólidos solubles con refractómetro digital (PAL-1, Atago, Tokio, Japón). En 2017/18 adicionalmente se determinó la acidez, titulando el jugo extraído con NaOH 0.1 N.

Una vez alcanzado un promedio de 24 °Bx entre las 5 repeticiones del mismo tratamiento (combinación variedad-temperatura), se cosechó la uva. En simultáneo se determinaron los kg pl⁻¹, racimos pl⁻¹ y el peso medio del racimo. Además del contenido de sólidos solubles, la cosecha de las uvas se realizó teniendo en cuenta la disponibilidad operativa para la vinificación en la bodega de la EEA. Esto llevó a que la cosecha fuese realizada como se detalla en la siguiente tabla:

Tabla 5.1: Fechas de cosecha y contenido de sólidos solubles (^oBx) promedio para cada tratamiento (combinación variedad y régimen térmico) y año de cosecha.

	Grenache Control	Grenache Calentado	Syrah Control	Syrah Calentado
2017				
Fecha de cosecha	15/03	15/03	15/03	15/03
SS	23.2	23.4	24.1	25.5
2018				
Fecha de cosecha	13/03	13/03	15/03	15/03
SS	22.7	23.8	23.9	24.5
2019				
Fecha de cosecha	21/03	11/03	21/03	11/03
SS	24.1	23.8	22.5	23.8

4.3. Determinaciones de antocianos y taninos totales

Las muestras para la determinación de los compuestos fenólicos totales fueron tomadas en enero, media madurez y cosecha en 2017 y 2018, y únicamente cosecha en 2019. Con el mismo criterio que para los parámetros de madurez, se recolectó una muestra compuesta de 20 bayas por repetición (unidad experimental de 5 plantas, excluyendo brazos de la bordura). Las muestras se almacenaron a -20 °C para posteriormente separar manualmente hollejo de pulpa, y reservar los hollejos.

Las determinaciones de compuestos fenólicos totales se realizaron mediante el método de Harbertson (Harbertson et al., 2003, Anexo S5), que comprendió 3 etapas: extracción, evaporación y determinación.

Extracción: La extracción se realizó sobre los hollejos. En cada muestra, se colocaron 40 mL de acetona al 70% (30% agua ultrapura) y se dejó en agitador orbital a 105 rpm, durante 17-18 h y a temperatura constante de 15 °C. Luego, se colocó el extracto en un tubo tipo Falcon de 50 mL y se centrifugó 7 minutos a 2500 rpm (Centrífuga Eppendorf 5810 R, Rotor F-34-6-38, San Luis, Misuri, Estados Unidos).

Concentración: el extracto se colocó en un matraz corazón y se conectó a rotavapor (BÜCHI R-100, Flawil, Suiza). En el mismo, se evaporó el solvente a 37 °C y a presión reducida (270 mbar) hasta reducir el volumen de 40 mL a 12 mL. Sobre el extracto concentrado, el volumen se completó a 20 mL con agua ultrapura (miliQ). El extracto acuoso se conservó a -20 °C para posterior análisis.

Determinación: el extracto acuoso fue centrifugado a 14000 rpm durante 5 minutos (Centrífuga Biofuge pico, Heraeus, Rotor F 164630 Heraeus 3325, Hanau, Alemania). Sobre este extracto se realizaron reacciones sucesivas con soluciones auxiliares (Tabla 5.2).

Tabla 5.2: Soluciones auxiliares empleadas para la determinación de antocianos totales y taninos totales en extracto acuoso de uvas de Syrah y Greanche.

Nombre	Descripción	Uso
Buffer A – sol. de lavado	200 mM ácido acético glacial 170 mM NaCl pH 4.9 (NaOH)	Pigmentos poliméricos y taninos
Buffer B – sol. simil vino	5 g/L bitartrato de K 12% etanol pH 3.3 (HCl)	Antocianos totales, pigmentos poliméricos y taninos
Buffer C – sol. de resuspensión	5% dietanolamina (v/v) 5% SDS ¹ (v/v) pH 9.4 (HCl)	Pigmentos poliméricos y taninos, calibración del espectrofotómetro
Buffer D – sol. para antocianos	200 mM ácido maleico 170 mM NaCl pH 1.8 (NaOH)	Antocianos totales
Reactivos de cloruro férrico	10 mM FeCl ₃ 0.01 N HCl	Pigmentos poliméricos y taninos, calibración del espectrofotómetro
Reactivos de decoloración	0.36 M metabisulfito de K	Pigmentos poliméricos y taninos
Solución proteica	1 mg/mL BSA ² en Buffer A	
Solución madre de catequina	1 mg/mL catequina en 10% etanol	Calibración del espectrofotómetro

¹SDS dodecil sulfato sódico, ²BSA sero albúmina bovina.

El proceso se basó en la distinción de dos clases de pigmentos poliméricos en uvas: pequeños y grandes. Los pequeños no precipitan en reacción con proteína y se blanquean a pH ácido en reacción con bisulfito mientras que los grandes reaccionan de manera opuesta (precipitan y no se blanquean). Basándose en estas propiedades diferenciales, se realizaron las reacciones sucesivas de separación de compuestos y la lectura por espectrofotometría (T60U PG Instruments Limited UV-visible, Lutterworth, Reino Unido), a diferentes longitudes de onda (510 y 520 nm). Las muestras y las soluciones auxiliares se colocaron en cubetas plásticas de 1 cm de espesor y 0.5 cm de paso óptico. A cada lectura, se utilizó de blanco de reactivo una cubeta con las soluciones auxiliares correspondientes pero sin muestra. De esta manera, se determinó el contenido total de antocianos, fenoles y taninos. Debido a las características de la técnica, los fenoles totales representan en su mayoría taninos y por lo tanto no fueron tenidos en cuenta.

4.4. Plasticidad fenotípica: Normas de reacción

Para evaluar las diferencias varietales en la plasticidad fenotípica de los compuestos polifenólicos frente a diferentes regímenes de temperatura se construyeron normas de reacción, que son funciones que relacionan el fenotipo y el ambiente (Sadras et al., 2012). Las normas de reacción permiten medir la plasticidad de un genotipo a través de la pendiente (*a*) de una recta de regresión. La regresión se construye colocando en el eje X la media ambiental (correspondiente a la media calculada considerando todos los tratamientos) para la característica fenotípica en evaluación y en el eje Y los

valores de cada tratamiento individual. La pendiente se calcula mediante un Modelo de regresión II, que tiene en cuenta los errores en ambos ejes. Las normas de reacción se construyeron con los valores de taninos y antocianos totales, considerando la media del tratamiento de temperatura el eje X y a cada variedad en el eje Y. Esto permite comparar las respuestas varietales en diferentes ambientes de temperatura. Luego, la pendiente a se comparó a 1 para su interpretación (Sadras et al., 2012; Trentacoste et al., 2011):

- $a=1$ indica una plasticidad promedio: el tratamiento de temperatura no tuvo impacto significativo en la plasticidad fenotípica de los antocianos/taninos totales en cada variedad;
- $a>1$ indica una plasticidad superior a la media: el tratamiento de temperatura incrementó la plasticidad la plasticidad fenotípica de los antocianos/taninos totales en cada variedad;
- $a<1$ indica una plasticidad por debajo del promedio: el tratamiento de temperatura disminuyó la plasticidad la plasticidad fenotípica de los antocianos/taninos totales en cada variedad.

4.5. Análisis estadístico

Los parámetros de madurez (SS y pH para las tres temporadas y peso de baya para 2019) fueron analizados como medidas repetidas en el tiempo, mediante modelos lineales mixtos (MLM) considerando la Variedad (V), el tratamiento de temperatura (T) y los días de medición (D) como factores fijos. El peso de baya en 2017 y 2018 se analizó como ANCOVA, utilizando los grados días como covariante, una pendiente lineal para cada tratamiento (VxT) y un componente cuadrático común a todos los tratamientos (el peso de baya 2019 no se analizó de esta manera debido a que el muestreo comenzó a mediados de febrero y no se contó con datos suficientes para representar el crecimiento de la baya como una función cuadrática). La parcela principal y la subparcela se consideraron como factores aleatorios anidados para correlacionar las mediciones provenientes de la misma unidad experimental. Los componentes del rendimiento se analizaron con ANOVA bifactorial. Para comparaciones post-hoc, se utilizó la prueba LSD (*least square difference*). Estos análisis se realizaron el software Infostat (Di Rienzo et al., 2018). La regresión entre sólidos solubles y antocianos totales así como la regresión de las normas de reacción se realizaron con el software R (R Core Team, 2020) y la librería smatr (Warton et al., 2018). Se utilizó la función “ma” (major axis), que considera para el cálculo de la pendiente, errores en ambos ejes.

5. Resultados

5.1. Efecto del calentamiento pasivo

La temperatura media diaria del aire medida a nivel de canopia durante los meses del ensayo (de octubre a principios de marzo) en las plantas control fue de 21.6, 21.6 y 22.9 °C en las temporadas 2016/17, 2017/18 y 2018/19 respectivamente. En las plantas calentadas durante el mismo periodo, la temperatura media del aire fue de 22.7, 24.3 y 24.4 °C. Esta diferencia llevó a un incremento medio de temperatura de 1.1, 2.7 y 1.5 °C para las 3 temporadas de estudio (Figura 5.3).

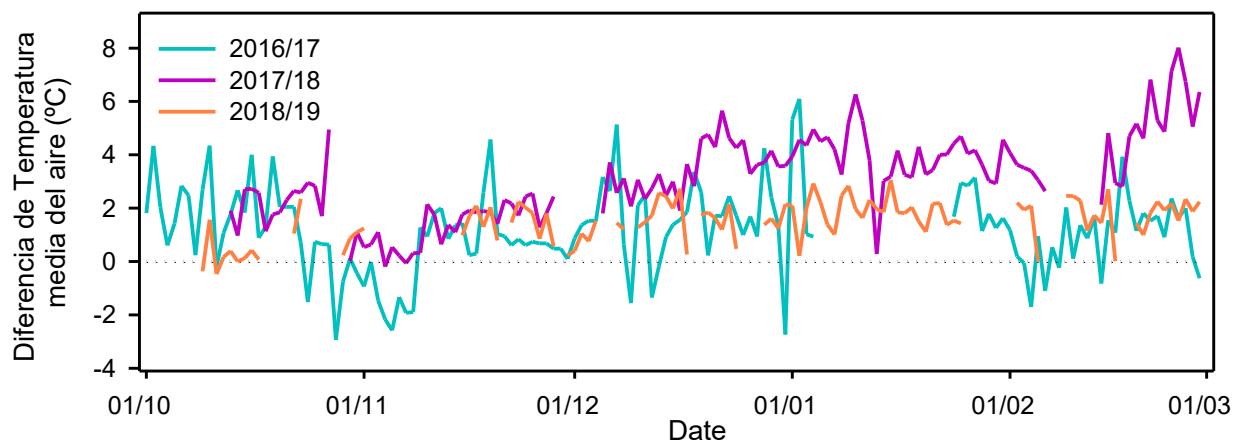


Figura 5.3: Diferencia en la temperatura del aire media diaria entre plantas calentadas y control durante los meses de octubre a principios de marzo para las temporadas 2016/17 (turquesa), 2017/18 (violeta) y 2018/19 (naranja).

En las plantas a temperatura ambiente, los días con temperaturas máximas mayores a 35 °C fueron el 21, 13 y 25% de los días registrados de octubre a principios de marzo en cada una de las 3 temporadas. Debido al tratamiento de temperatura, estos porcentajes incrementaron al 32, 61 y 48% en las plantas calentadas, en el mismo periodo. La acumulación grados días fue superior en las plantas calentadas con incrementos de 182, 327 y 159 GD con respecto a las plantas control, en las 3 temporadas de estudio (Tabla 5.3). De la misma manera, en la temporada 2017/18 el tratamiento de calentamiento se clasificó en categorías superiores tanto para IW como para IH. En 2016/17, sólo cambió el IW. Por el contrario, en 2018/19, la clasificación de los tratamientos térmicos según los índices bioclimáticos no arrojó diferencias en las categorías de clasificación, ya sea para el índice de Winkler (IW) o el índice heliotérmico (IH; Tabla 5.3).

Tabla 5.3: Índices bioclimáticos de caracterización vitícola (grados días acumulados, Winkler y Heliotérmico) durante los meses octubre-marzo de las temporadas 2016/17, 2017/18 y 2018/19 en plantas de Syrah y Grenache calentadas y control.

Temporada - tratamiento	Grados días	Índice de Winkler	Índice Heliotérmico
2016/17	Control	2988	2063 (IV)
	Calentado	3170	2244 (V) 2708 (warm)
2017/18	Control	2933	2080 (IV) 2416 (warm)
	Calentado	3260	2416 (V) 3179 (very warm)
2018/19	Control	2837	2002 (IV) 2510 (warm)
	Calentado	2998	2164 (IV) 2746 (warm)

5.2. Parámetros de madurez y componentes del rendimiento

El peso fresco de baya aumentó desde enero hasta media madurez y luego disminuyó levemente al aproximarse la cosecha en ambas variedades y tratamientos de temperatura (Figura 5.4). En consecuencia, el patrón de crecimiento se ajustó a una curva con un componente cuadrático que explicó la disminución de peso cercano a la cosecha. Esta respuesta se observó en las temporadas 2017 y 2018. En la primera temporada, adicionalmente se observó un menor peso en las bayas de Grenache calentado (Tabla 5.4) y al comparar las variedades en la condición control, se encontró mayor peso en las bayas de Grenache para 2019. El peso de baya presentó gran variabilidad entre temporadas.

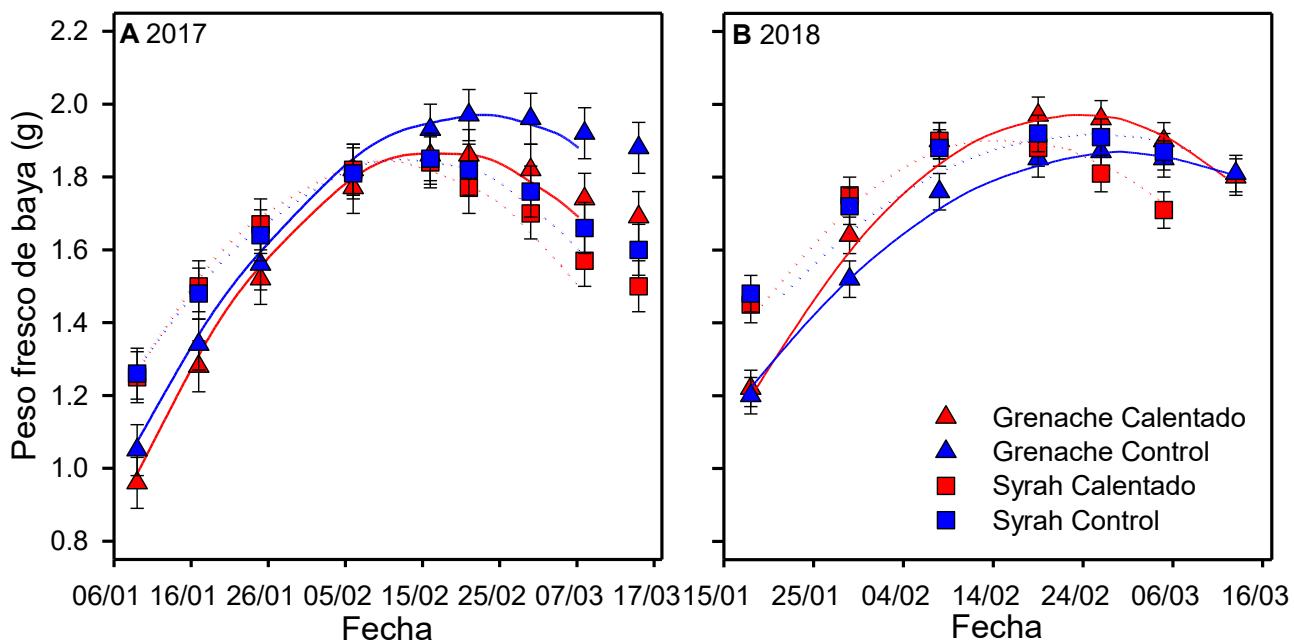


Figura 5.4: Evolución estacional del peso fresco de baya (g) medido cada 10 días, desde enero a cosecha en uvas de plantas de Grenache (\blacktriangle , línea continua) y Syrah (\blacksquare , línea punteada) bajo condiciones control (azul) y calentadas (rojo); durante las temporadas 2017 (A) y 2018 (B). Los símbolos representan la media \pm error estándar para 5 repeticiones por tratamiento. Las líneas representan una ecuación cuadrática ajustada para cada tratamiento.

Tabla 5.4: Parámetros medios de madurez (peso de baya, sólidos solubles, pH y acidez) en uvas de Grenache y de Syrah expuestas a dos regímenes de temperatura (control y calentadas) durante las temporadas 2017, 2018 y 2019.

	Grenache		Syrah		Efecto					
	Control	Calentado	Control	Calentado	V p	Gr	T p	Co	Ca	VxT p
2017										
Peso de baya (g)	1.73 \pm 0.08 A	1.54 \pm 0.07 B	1.63 \pm 0.07 AB	1.58 \pm 0.07 AB	ns	-	-	***	A	B
Sólidos solubles ($^{\circ}$ Bx)	18.30 \pm 0.43	18.94 \pm 0.43	19.53 \pm 0.43	20.61 \pm 0.43	**	A	A	***	B	A
pH	3.16 \pm 0.02	3.24 \pm 0.02	3.32 \pm 0.02	3.44 \pm 0.02	***	B	A	***	B	A
Acidez* (mg L $^{-1}$)	5.80 \pm 0.80	4.40 \pm 0.20	5.50 \pm 0.10	5.30 \pm 0.10	ns	-	-	ns	-	-
2018										
Peso de baya (g)	1.65 \pm 0.05 A	1.57 \pm 0.05 A	1.67 \pm 0.06 A	1.62 \pm 0.05 A	ns	-	-	ns	-	-
Sólidos solubles ($^{\circ}$ Bx)	16.60 \pm 0.40	17.50 \pm 0.40	18.10 \pm 0.40	19.00 \pm 0.40	**	B	A	***	B	A
pH	3.16 \pm 0.01	3.21 \pm 0.01	3.24 \pm 0.01	3.30 \pm 0.01	***	B	A	***	B	A
Acidez (mg L $^{-1}$)	8.82 \pm 0.18 C	8.41 \pm 0.19 C	11.08 \pm 0.18 A	9.47 \pm 0.18 B	***	B	A	***	A	B
2019										
Peso de baya (g)	1.90 \pm 0.06	1.87 \pm 0.06	1.74 \pm 0.05	1.75 \pm 0.05	**	A	B	ns	-	-
Sólidos solubles ($^{\circ}$ Bx)	20.50 \pm 0.44	21.40 \pm 0.43	18.5 \pm 0.43	21.20 \pm 0.43	**	A	B	***	B	A
pH	3.12 \pm 0.02	3.18 \pm 0.02	3.25 \pm 0.02	3.34 \pm 0.02	***	B	A	**	B	A

Los valores representan la media \pm error estándar para todo el periodo de madurez de la baya (excepto acidez 2017, que corresponde a cosecha) para 5 repeticiones por tratamiento. Los efectos de la variedad (V), el tratamiento de temperatura (T) y la interacción (VxT) se analizaron con Modelos Lineales Mixtos, a excepción del peso de baya 2017 y 2018 que se analizaron con ANCOVA (utilizando los grados días como covariante). La significancia de los efectos de variedad (V), régimen de temperatura (T) y la interacción (VxT) se indica como ns ($p > 0.1$), * ($p < 0.1$), ** ($p < 0.05$) y *** ($p < 0.01$). Las letras indican diferencias para un test LSD ($\alpha=0.05$) para los efectos fijos que fueron significantes.

En 2017 para Grenache, el contenido de sólidos solubles al momento de envero, fue 0.5 °Bx mayor para las uvas de plantas calentadas con respecto a las uvas control. Esta diferencia aumentó hasta alcanzar 1.9 °Bx previo a la cosecha (Figura 5.5). Para Syrah, el incremento de sólidos solubles en las uvas calentadas al inicio de muestreo fue de 0.65 °Bx, alcanzó un máximo de 2.4 °Bx a media madurez y luego se redujo hacia la cosecha. En promedio, las uvas de plantas calentadas tuvieron 0.8 °Bx más que las plantas control (Tabla 5.4, $p < 0.01$). Al comparar variedades, Syrah presentó 1.4 °Bx más que Grenache ($p = 0.03$). Durante 2018 el patrón de diferencias observadas en la primera temporada se repitió. Las uvas de Grenache calentado tuvieron 0.6 °Bx más que las control en envero y 1.1 °Bx en cosecha. Por otro lado, las uvas de Syrah calentado alcanzaron una diferencia máxima de 1.4 °Bx post envero y previo a la cosecha mantuvieron 0.8 °Bx más que las uvas de las plantas control. A cosecha, el incremento fue de 0.9 °Bx para las uvas de plantas calentadas con respecto a las control ($p < 0.01$), y de 1.5 °Bx para Syrah, con respecto a Grenache ($p = 0.02$). En 2019, las uvas de plantas calentadas tuvieron en promedio 1.8 °Bx más que las control ($p < 0.01$) y en la condición control, Grenache tuvo mayor contenido de SS que Syrah.

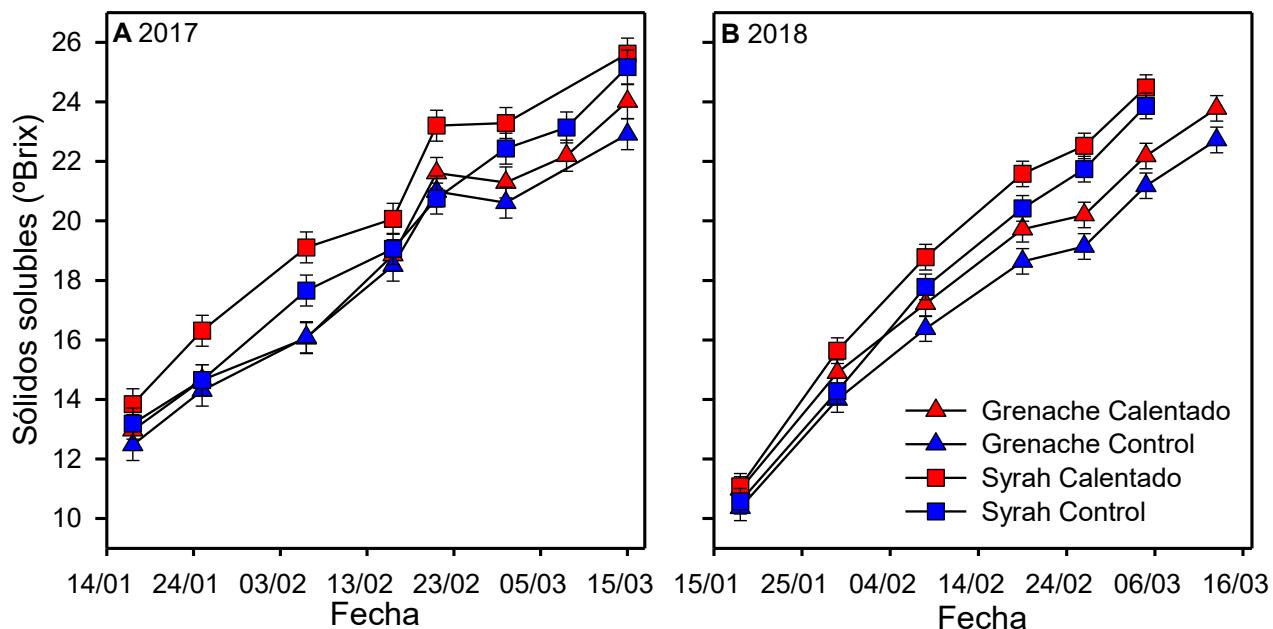


Figura 5.5: Evolución estacional del contenido de sólidos solubles (°Bx) medido cada 10 días, desde envero a cosecha en uvas de plantas de Grenache (▲) y Syrah (■) bajo condiciones control (azul) y calentadas (rojo); durante las temporadas 2017 (A) y 2018 (B). Los símbolos representan la media ± error estándar para 5 repeticiones por tratamiento. Las líneas unen las diferentes fechas de muestreo.

En la primera temporada el pH en enero fue similar entre uvas calentadas y control (Figura 5.6). A medida que avanzó la madurez, la diferencia de pH entre las uvas de Grenache calentado y control fue de 0.12 unidades y se mantuvo hasta la cosecha. En Syrah, la mayor diferencia entre las uvas calentadas y las de control fue de 0.15 y se observó en media madurez. En promedio, el pH de las uvas calentadas fue mayor que en las uvas control lo que implicó una pérdida de acidez (medida como $[H^+]$) del 25% (Tabla 5.4, $p < 0.01$); así como en Syrah con respecto a Grenache ($p < 0.01$). Durante 2018, las diferencias entre uvas calentadas y control para ambas variedades fueron de menor magnitud que en la temporada anterior. No obstante, en promedio las bayas calentadas tuvieron mayor pH que las control ($p < 0.01$) y la disminución de acidez ($[H^+]$) fue del 12%. Comparando variedades y en coincidencia con 2017, las bayas de Syrah presentaron pH más elevado que Grenache ($p < 0.01$). Al igual que en las temporadas anteriores, en 2019 el pH fue mayor en las uvas de plantas calentadas con respecto al control ($p = 0.02$) y en Syrah con respecto a Grenache ($p < 0.04$). Por otro lado, las variedades se diferenciaron en el efecto del tratamiento de temperatura sobre la acidez titulable (Tabla 5.4). En 2018, en Syrah calentado la acidez titulable disminuyó con respecto al control, mientras que en Grenache no hubo diferencias entre uvas calentadas o control.

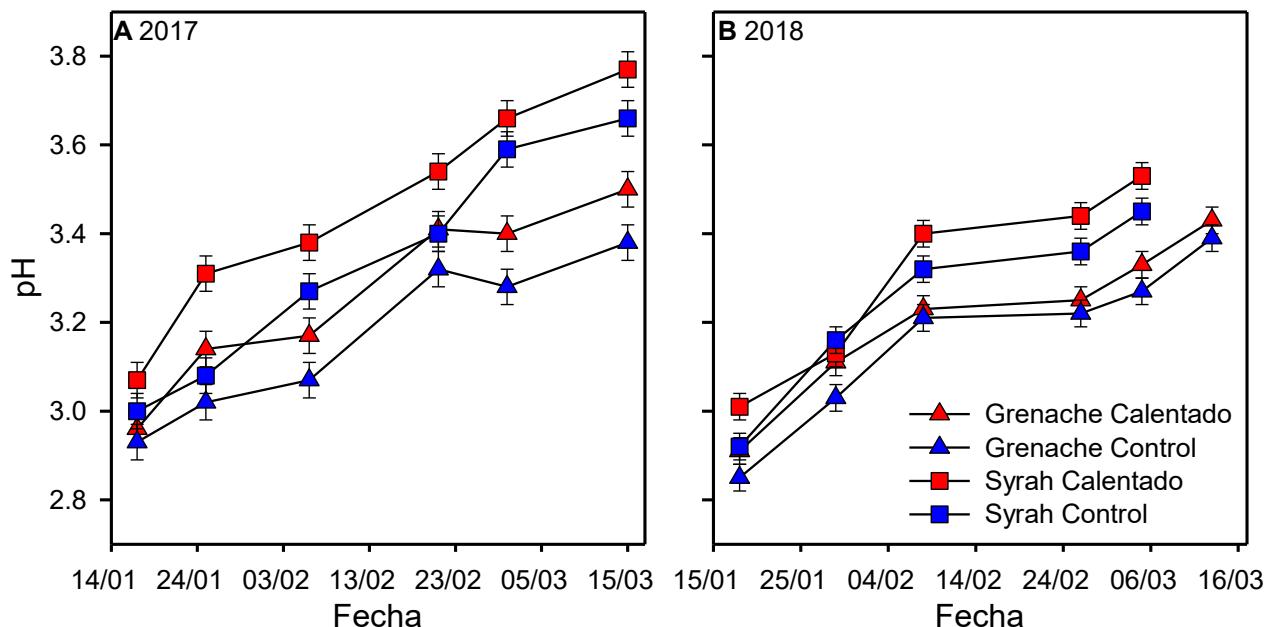


Figura 5.6: Evolución estacional del pH medido cada 10 días, desde enero a cosecha en uvas de plantas de Grenache (\blacktriangle) y Syrah (\blacksquare) bajo condiciones control (azul) y calentadas (rojo); durante las temporadas 2017 (A) y 2018 (B). Los símbolos representan la media \pm error estándar para 5 repeticiones por tratamiento. Las líneas unen las diferentes fechas de muestreo.

El rendimiento y sus componentes fueron variables entre temporadas en cada variedad y tratamiento de temperatura (Tabla 5.5). En las plantas control, el rendimiento fue mayor que en las plantas calentadas en las dos primeras temporadas. Adicionalmente, las plantas control tuvieron mayor número de racimos en 2018 y mayor peso de racimo en 2017 y 2019. Al comparar las variedades, Syrah presentó mayor número de racimos en las tres temporadas evaluadas y Grenache mayor peso del racimo en 2019.

Tabla 5.5: Componentes del rendimiento (kg pl⁻¹, racimos pl⁻¹ y peso del racimo) en plantas de Grenache y de Syrah expuestas a dos regímenes de temperatura (control y calentadas) en las cosechas 2017, 2018 y 2019.

	Grenache		Syrah		Efecto						
	Control	Calentado	Control	Calentado	V p	Gr	Sy	T p	C Co	VxT Ca	VxT p
2017											
Rendimiento (kg planta ⁻¹)	10.5 ± 0.9	7.8 ± 0.9	9.3 ± 1.0	8.9 ± 0.8	ns	-	-	**	A	B	*
Racimos planta ⁻¹	47.7 ± 1.8	37.0 ± 4.3	53.2 ± 3.4	51.3 ± 3.5	**	B	A	ns	-	-	ns
Peso del racimo (g)	277 ± 37 A	149 ± 33 B	181 ± 35 B	175 ± 33 B	ns	-	-	**	A	B	**
2018											
Rendimiento (kg planta ⁻¹)	9.7 ± 0.7	8.3 ± 0.7	9.5 ± 0.7	8.2 ± 0.7	ns	-	-	*	A	B	ns
Racimos planta ⁻¹	32.2 ± 1.8	28.2 ± 1.9	36.4 ± 1.8	33.6 ± 1.9	**	B	A	*	A	B	ns
Peso del racimo (g)	300 ± 19	292 ± 19	264 ± 19	249 ± 19	ns	-	-	ns	-	-	ns
2019											
Rendimiento (kg planta ⁻¹)	9.3 ± 0.7	8.9 ± 0.7	11.1 ± 0.7	10.0 ± 0.7	*	B	A	ns	-	-	ns
Racimos planta ⁻¹	34.6 ± 2.3	35.9 ± 2.2	49.9 ± 2.2	54.4 ± 2.2	***	B	A	ns	-	-	ns
Peso del racimo (g)	276 ± 17	251 ± 17	225 ± 17	189 ± 17	**	A	B	*	A	B	ns

Los valores representan la media ± error estándar para 5 repeticiones por tratamiento. La significancia de los efectos de la variedad (V), el tratamiento de temperatura (T) y la interacción (VxT) se indica como ns (p > 0.1), * (p < 0.1), ** (p < 0.05) y *** (p < 0.01). Las letras indican diferencias para un test LSD ($\alpha=0.05$) para los efectos fijos que fueron significantes.

En síntesis, el tratamiento de temperatura modificó los parámetros de madurez. Los efectos generales incluyeron mayor contenido de sólidos solubles y pH en uvas de plantas calentadas. Las variedades también se diferenciaron, con mayor peso de baya para Grenache y mayor contenido de sólidos solubles y pH en Syrah. Estos resultados fueron consistentes durante las tres temporadas evaluadas. Por otro lado, las plantas calentadas presentaron menor rendimiento que las control pero con variabilidad en los componentes del rendimiento que explicaron las diferencias entre temporadas (2017 peso de baya, 2018 racimos por planta y 2019 peso del racimo).

5.3. Composición polifenólica: respuestas fenotípicas varietales

Los taninos totales y los antocianos totales fueron analizados mediante ANOVA y MLM, considerando los tres momentos de medición o cada momento por separado para comparar variedades y tratamientos de temperatura. Este análisis demostró que no hubo efecto del régimen de temperatura

en los compuestos polifenólicos de la uva, expresados como mg baya⁻¹ (Tabla 5.6), mg g de baya⁻¹ y mg g de hollejo⁻¹ (resultados no mostrados). No obstante, se encontró un efecto de la variedad. Por este motivo, para comparar la plasticidad de Syrah y Grenache se construyeron normas de reacción considerando los valores de taninos y antocianos totales de 2017 y 2018 en conjunto.

Tabla 5.6: Compuestos polifenólicos totales determinados en envero, media madurez y cosecha, en plantas de Grenache y Syrah expuestas a temperatura ambiente y a calentamiento pasivo, durante las temporadas 2017, 2018 y 2019.

Compuesto (mg baya ⁻¹)	Momento de muestreo	Grenache		Syrah		Efecto		
		Control	Calentado	Control	Calentado	V	T	VxT
2017								
Taninos totales	Envero	0.40 ± 0.15	0.53 ± 0.50	0.38 ± 0.10	0.33 ± 0.12	ns	ns	ns
	Cosecha	0.78 ± 0.09	0.70 ± 0.13	0.42 ± 0.15	0.48 ± 0.19	***	ns	ns
Antocianos totales	Envero	0.07 ± 0.03	0.07 ± 0.04	0.27 ± 0.08	0.24 ± 0.05			
	Media madurez	0.27 ± 0.12	0.28 ± 0.13	0.42 ± 0.09	0.56 ± 0.12	***	ns	ns
	Cosecha	0.30 ± 0.08	0.25 ± 0.02	0.52 ± 0.09	0.56 ± 0.17			
2018								
Taninos totales	Envero	1.06 ± 0.13	1.26 ± 0.08	0.85 ± 0.12	0.76 ± 0.25			
	Media madurez	1.08 ± 0.12	1.10 ± 0.05	1.05 ± 0.03	0.86 ± 0.06	***	ns	ns
	Cosecha	1.19 ± 0.14	1.32 ± 0.26	0.90 ± 0.05	0.82 ± 0.12			
Antocianos totales	Envero	0.05 ± 0.02	0.05 ± 0.03	0.29 ± 0.10	0.23 ± 0.05			
	Media madurez	0.25 ± 0.11	0.18 ± 0.04	0.89 ± 0.13	0.57 ± 0.01	***	ns	ns
	Cosecha	0.58 ± 0.16	0.53 ± 0.08	0.87 ± 0.10	0.75 ± 0.09			
2019								
Taninos	Cosecha	0.79 ± 0.08	1.14 ± 0.09	0.68 ± 0.08	0.83 ± 0.09	**	**	ns
Antocianos	Cosecha	0.39 ± 0.09	0.46 ± 0.09	0.79 ± 0.09	0.74 ± 0.10	***	ns	ns

Los valores presentados son la media ± error estándar para 5 repeticiones por tratamiento. La significancia de los efectos de la variedad (V), el régimen de temperatura (T) y la interacción (VxT) se indica como ns ($p < 0.1$), * ($p < 0.1$), ** ($p < 0.05$) y *** ($p < 0.01$).

Las normas de reacción de los taninos totales fueron paralelas entre las variedades y mostraron un aumento de taninos a medida que la media ambiental del tratamiento de temperatura aumentaba (Figura 5.7). Las pendientes no fueron distintas de 1 para Syrah ($p = 0.65$) ni para Grenache ($p = 0.12$), y a su vez fueron similares entre sí ($p = 0.59$). Los interceptos no fueron diferentes de 0 (Syrah $p = 0.08$, Grenache $p = 0.66$). Esto indicó una plasticidad promedio para ambas variedades en los taninos totales o bien que el tratamiento de temperatura no tuvo efecto en la plasticidad fenotípica de los taninos totales.

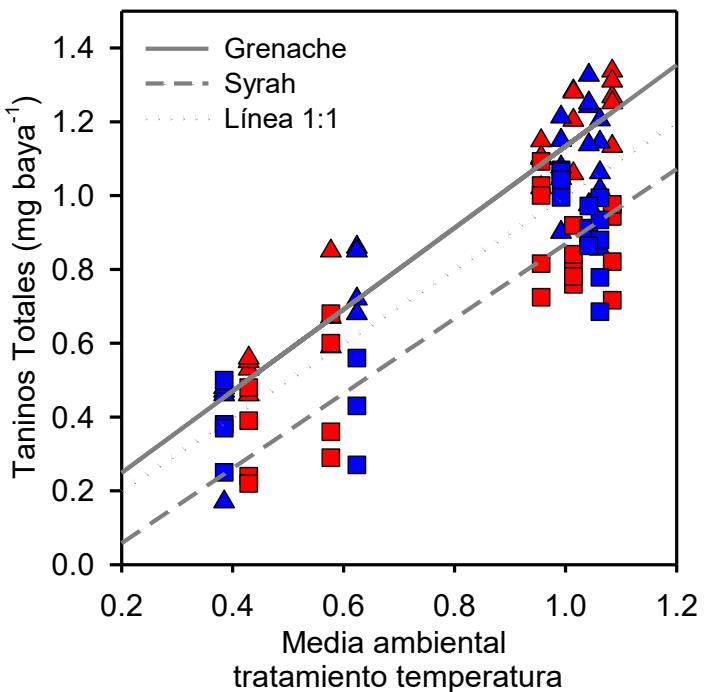


Figura 5.7: Norma de reacción de taninos totales (mg bayas^{-1}) para Grenache (\blacktriangle , línea continua) y Syrah (\blacksquare , línea punteada) en respuesta a la media ambiental según el tratamiento de temperatura (calentado, rojo; control, azul). Los puntos representan los valores de taninos totales de las temporadas 2017 y 2018, de muestras tomadas en envero, media madurez y cosecha.

Por otro lado, las normas de reacción de los antocianos totales fueron divergentes debido a que las pendientes entre las variedades se diferenciaron entre sí ($p < 0.01$). De manera general se observó que el ambiente más cálido condujo a un menor contenido de antocianos (Figura 5.8). Para Grenache, la pendiente fue similar a 1 ($p = 0.16$) y el intercepto fue diferente de 0 ($p < 0.01$), lo que representó una plasticidad promedio. En Syrah, la pendiente fue mayor que 1 ($p < 0.01$) indicando para esta variedad una mayor plasticidad. Esto significa que el tratamiento de temperatura modificó la plasticidad de los antocianos totales en esta variedad (Figura 5.8).

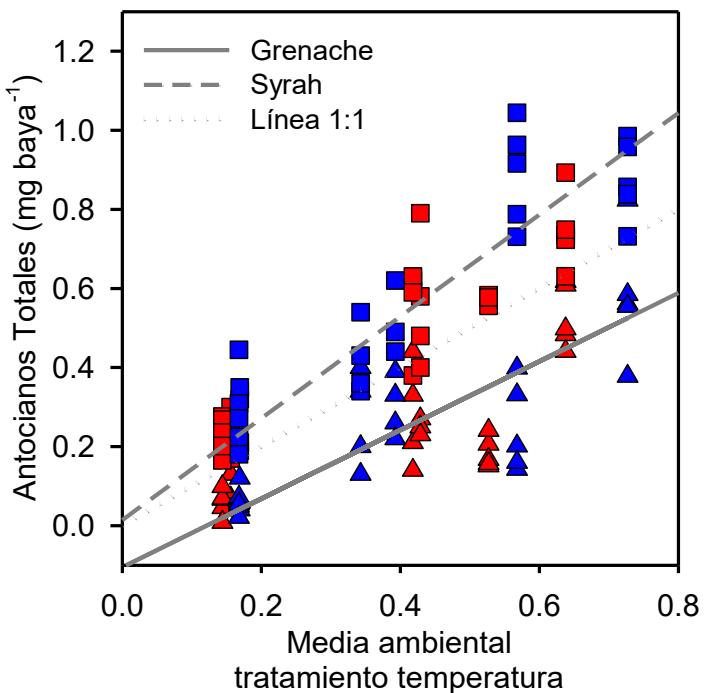


Figura 5.8: Norma de reacción de antocianos totales (mg bayas^{-1}) para Grenache (\blacktriangle , línea continua) y Syrah (\blacksquare , línea punteada) en respuesta a la media ambiental según el tratamiento de temperatura (calentado, rojo; control, azul). Los puntos representan los valores de antocianos totales de las temporadas 2017 y 2018, de muestras tomadas en invierno, media madurez y cosecha.

5.4. Relación sólidos solubles – antocianos

La regresión entre sólidos solubles y antocianos totales se construyó de manera conjunta para las temporadas 2017 y 2018 y se compararon las pendientes y ordenadas al origen entre tratamientos. Las pendientes de esta regresión fueron paralelas entre los tratamientos (pendiente = 0.043, $p = 0.52$; Figura 5.9), lo que indica la misma tasa de aumento de los antocianos a medida que avanza la madurez (medida como incremento de sólidos solubles) entre tratamientos de temperatura y variedades. No obstante, se observaron diferencias en las ordenadas al origen ($p < 0.01$) que representan el contenido de antocianos a un determinado contenido de sólidos solubles. Estos valores fueron mayores en los tratamientos control para ambas variedades, lo que indica que a la misma concentración de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$), las plantas calentadas presentaron una menor acumulación de antocianos. Por ejemplo, a $24\ ^{\circ}\text{Bx}$, el contenido de antocianos totales en uvas control es 0.492 y $0.752\ \text{mg bayas}^{-1}$ para Grenache y Syrah respectivamente; mientras que en uvas calentadas es 0.422 y $0.622\ \text{mg bayas}^{-1}$.

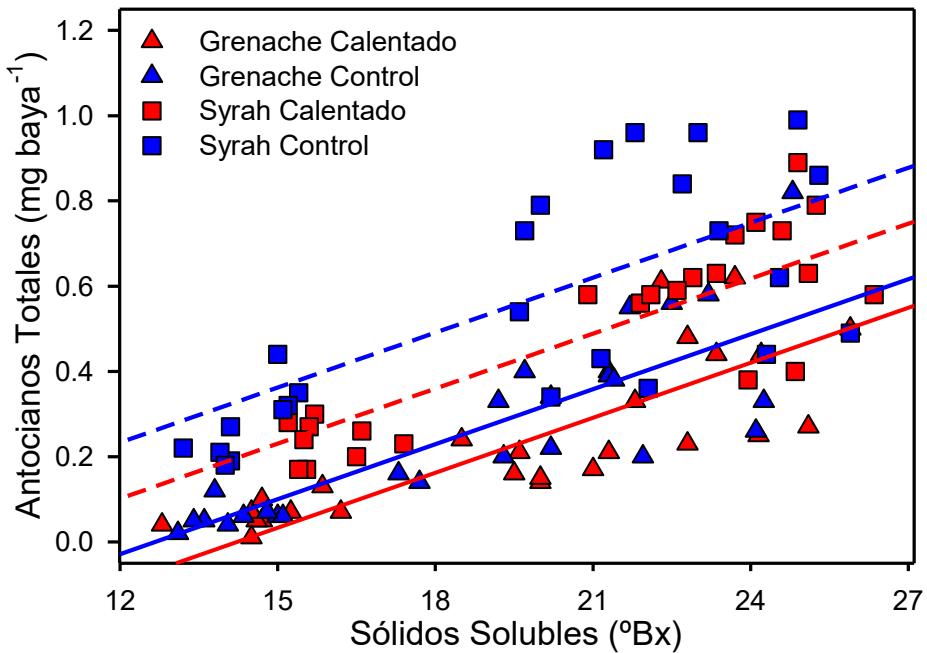


Figura 5.9: Relación entre sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) y antocianos totales (mg baya^{-1}) para plantas de Grenache (\blacktriangle , línea continua) y Syrah (\blacksquare , línea punteada) calentadas (rojo) y control (azul). Las líneas representan una regresión lineal, ajustada considerando en conjunto las determinaciones en 2017 y 2018.

6. Discusión

El aumento de temperatura aplicado en este ensayo modificó los parámetros de madurez de la baya y los componentes del rendimiento durante las 3 temporadas evaluadas. Los efectos principales fueron un aumento en los sólidos solubles y en el pH en la uva y una disminución del rendimiento en plantas calentadas. Por otro lado, los antocianos totales también fueron afectados por el tratamiento de temperatura, al comparar a una misma concentración de sólidos solubles. En cuanto a la plasticidad de las variedades, se observó que el tratamiento de temperatura incrementó en Syrah la plasticidad de los antocianos totales, en tanto que en los taninos ambos genotipos respondieron de manera similar a la variabilidad ambiental. Las variedades también se diferenciaron en la evolución del peso de baya, los sólidos solubles y el pH.

Algunas proyecciones para fines del siglo XXI, estipulan para Mendoza un cambio en la clasificación de las regiones vitícolas hacia categorías más cálidas, considerando diversos índices bioclimáticos (Cabré y Nuñez, 2020; Cabré et al., 2016). Implementando el sistema de calentamiento pasivo se logró aumentar la temperatura y por lo tanto, cambiar algunos de los índices bioclimáticos más utilizados en viticultura. Por ejemplo, el índice de Winkler cambió la clasificación de la zona de estudio a una región más cálida en dos de las tres temporadas estudiadas y el índice heliotérmico varió únicamente en 2017/18. Además, los grados días acumulados fueron mayores en las plantas calentadas que en las control (entre 180 y 320 GD dependiendo la temporada). Esto demuestra que un

leve aumento de la temperatura media a lo largo de la temporada (entre 1.1 y 2.7 °C) puede generar cambios en los índices bioclimáticos poniendo en riesgo la sostenibilidad de los viñedos ubicados en zonas que ya son consideradas cálidas (zonas IV y V del IW). En consecuencia, podría verse afectada la adaptabilidad actual de ciertas regiones para producir uvas y vinos de determinada calidad (Santillán et al., 2019; Tonietto y Carbonneau, 2004). Además, en las 3 temporadas se observó un incremento en el número de días con temperaturas máximas mayores a 35 °C, las cuales afectan la síntesis y favorecen la degradación de compuestos polifenólicos relacionados con la calidad de vinos tintos (de Rosas et al., 2017; Mori et al., 2007a, 2007b; Rienth et al., 2021; Sadras y Moran, 2012).

El rendimiento en las plantas calentadas de ambas variedades fue menor que en los respectivos controles. Los componentes del rendimiento que explicaron esta disminución fueron variables entre temporadas. En Syrah se observó principalmente un menor peso de racimo, y en Grenache esta diferencia estuvo explicada por un menor número y peso de racimos. El número de racimos por planta es el componente del rendimiento más variable (hasta un 60%) y puede disminuir en plantas muy vigorosas, en bajas radiaciones o frente a elevadas concentraciones internas de giberelinas después de floración (Carmo Vasconcelos et al., 2009). En las plantas calentadas de Grenache también podría haber acontecido una desdiferenciación de racimos a zarcillos y por esto explicarse el menor número de racimos por planta. Este último proceso se relaciona con carencia de fósforo o exceso de giberelinas, pero estos aspectos no fueron evaluados en este estudio (Carmo Vasconcelos et al., 2009).

En el presente trabajo, las bayas de plantas calentadas tuvieron menor peso (en la primera temporada) y mayor concentración de sólidos solubles (en las tres temporadas evaluadas) que las bayas de plantas control. En coincidencia con estos resultados, un estudio en Syrah reportó una disminución en el peso de baya y un aumento en el contenido de azúcar, cuando plantas en maceta se expusieron a 11 días de calentamiento sostenido aplicado en pre-envero y envero (Sweetman et al., 2014). Sin embargo, en otro trabajo con la misma variedad se observó que un aumento de la temperatura máxima en diferentes momentos fenológicos no afectó la acumulación de azúcar en la baya ni el rendimiento (Sadras y Soar, 2009). En el estudio de Sweetman y colaboradores, el aumento de temperatura fue durante toda la temporada, mientras que Sadras y Soar (2009) aplicaron un calentamiento en determinados estadios fenológicos (brotación, floración, grano arveja, envero y pre-cosecha), lo cual podría explicar las diferencias. De hecho, otros estudios locales en Malbec también evidenciaron disminución en el peso de baya y en el peso medio del racimo, en uvas de plantas expuestas a un calentamiento sostenido (Malovini, 2016). Un aumento en la temperatura media durante largo plazo puede acelerar el desarrollo fenológico y alterar la composición de la baya (Mira de Orduña, 2010; Sadras y Soar, 2009). La diferencia de sólidos solubles observada entre las uvas calentadas y las control al momento del envero soporta esta evidencia, sugiriendo un adelanto en el inicio de la acumulación de azúcares en las plantas calentadas (Sadras y Moran, 2012). Además, esa diferencia

se mantuvo hasta la cosecha y se repitió durante todas las temporadas evaluadas. Por otro lado, el aumento en los sólidos solubles a cosecha podría explicarse por un efecto de concentración, debido a que bayas expuestas a alta temperatura son más propensas a deshidratarse (Keller, 2015b; Mira de Orduña, 2010). En este estudio, las uvas de las plantas tanto calentadas como control presentaron una marcada disminución del peso desde alrededor de 20 días antes de cosecha, lo cual estaría relacionado con un fenómeno de deshidratación y concentración de sólidos solubles.

Tanto el aumento de sólidos solubles como el de pH han sido previamente asociados a temporadas o regiones más cálidas (Mira de Orduña, 2010). No obstante, estos antecedentes se basaron en comparaciones indirectas. En otros trabajos que compararon de manera directa uvas de plantas calentadas con condiciones control, las respuestas fueron variables (de Rosas et al., 2017; Sadras et al., 2013). El pH de la baya depende principalmente de la relación de concentración entre los ácidos orgánicos y el potasio (Ollat et al., 2002). En este trabajo se encontró mayor pH en uvas de plantas calentadas, y para la temporada 2018 menor acidez en Syrah. Se ha observado que en situaciones de elevada temperatura hay mayor ingreso de potasio a la baya, lo que podría explicar el aumento de pH tanto en Syrah como en Grenache (Mira de Orduña, 2010). En esta última variedad, no hubo diferencias en la acidez entre plantas calentadas y control, por lo que las diferencias de pH observadas posiblemente estén asociadas a variaciones en el potasio. Se cree que en la baya, el ingreso de K^+ a la célula es acompañado por la salida de H^+ mediante una proteína transportadora de membrana, provocando el consecuente aumento de pH (Mira de Orduña, 2010). Por otro lado, en este trabajo sólo se modificó la temperatura diurna mientras que la temperatura nocturna no presentó diferencias. Esta limitación es importante de resaltar debido a que tanto la temperatura nocturna como la amplitud térmica pueden tener un rol importante en la acidez de la baya a cosecha (Sweetman et al., 2014).

Pese a que el mayor contenido de taninos de la baya se encuentra en la semilla, en este trabajo se evaluaron en el extracto de hollejo. Los taninos de la piel podrían ser más afectados por los factores externos que los de la semilla, debido a que la piel es la primera capa de la baya expuesta directamente a los factores abióticos (Gouot et al., 2019). Las diferencias varietales en los taninos, incluyeron mayor contenido total en Grenache con respecto a Syrah, al momento de cosecha. Considerando que proantocianidinas (taninos) y antocianos comparten la vía de síntesis (fenilpropanoide), podría haber una partición mayoritaria hacia las primeras en Grenache y hacia las segundas en Syrah (Gouot et al., 2019). Otros estudios reportaron cambios en el contenido de monómeros en pre-envero (Rienth et al., 2021), pero esto no fueron evaluados en el presente trabajo. El efecto de la temperatura sobre los taninos ha sido menos evaluado que sobre otros polifenoles (por ej. antocianos) y los resultados son contradictorios debido a que algunos trabajos demuestran un aumento y otros observaron una

disminución (Gouot et al., 2019). En este trabajo, los taninos no fueron afectados por el calentamiento y en ambas variedades se reportó una plasticidad promedio en los diferentes ambientes térmicos.

Por otro lado, se ha demostrado que los antocianos disminuyen directa y significativamente por alta temperatura diurna, aunque estas respuestas varían fuertemente con el genotipo (Rienth et al., 2021). Las causas posibles son degradación, inhibición de enzimas y/o desregulación de genes de la vía fenilpropanoide, responsable de su síntesis (Gouot et al., 2019). En este estudio, no se encontraron cambios en la pendiente de contenido de antocianos con respecto a acumulación de sólidos solubles entre tratamientos. No obstante, es importante resaltar que las uvas de plantas calentadas presentaron menor contenido de antocianos totales, para un mismo grado de madurez (diferentes interceptos; Figura 5.10), similar a lo observado en otros estudios (Sadras y Morán, 2012). El adelanto en el inicio de acumulación azúcares en el envero respecto al inicio de acumulación de antocianos genera al momento de cosecha un desacople entre ambos constituyentes de la uva. Esta situación suele ser uno de los desafíos en la vitivinicultura de zonas cálidas, donde la acumulación de azúcares ocurre muy rápidamente mientras que los antocianos se acumulan más lentamente. Por otro lado y además del desacople, también se observó un efecto negativo de la temperatura sobre los antocianos en Syrah a través de las normas de reacción, indicando que hay una mayor plasticidad en respuesta a la variabilidad ambiental (Figura 5.8, Trentacoste et al., 2011). El Grenache presentó un contenido de antocianos totales muy bajo (0.42 ± 0.13 mg baya $^{-1}$ promedio en cosecha) con respecto a los valores normales esperados en una variedad tinta (1.5 mg baya $^{-1}$). Sin embargo, esta característica parecería ser común en Grenache (Fernandes de Oliveira et al., 2015). Esta variedad presentó una pendiente de la norma de reacción igual a 1, indicando que su plasticidad fue similar a la media. Otros trabajos realizados en Mendoza determinaron menores concentraciones de antocianos en respuesta a mayores temperaturas de crecimiento, debido principalmente a una menor expresión de enzimas y factores de transcripción involucrados en la ruta metabólica de síntesis (de Rosas et al., 2017).

En conjunto, en este estudio se logró a través de un calentamiento pasivo, una mayor acumulación de grados días y un cambio en la clasificación de la zona para las temporadas de estudio, a través de algunos índices bioclimáticos (IW, IH). Este cambio de zona en la clasificación de IW, tal como es pronosticado por distintos modelos climáticos (Cabré et al., 2016), tuvo un impacto negativo en la composición química de la uva (con destino a vinificación) de ambas variedades. Los resultados del presente trabajo se refieren a plantas con buen estado hídrico. Sin embargo, dada la emergencia hídrica en la que se encuentra la provincia desde hace más de 10 años (Departamento General de Irrigación, 2018) y los pronósticos de menor disponibilidad hídrica (Boninsegna, 2014; Cabré et al., 2016), un estrés hídrico severo o una falta de agua en un estadio fenológico sensible podrían exacerbar los efectos negativos observados (Greer y Weston, 2010; Malovini, 2016; Van Leeuwen et al., 2019). Algunos estudios han demostrado que la mayor concentración de polifenoles que se induce en la

composición de la baya por aplicar un estrés hídrico moderado, podría verse revertida en combinación con un aumento de temperatura (Poni et al., 2018).

En resumen, los cambios reportados en este trabajo en las uvas de plantas calentadas (mayor sólidos solubles, menor rendimiento, pH y acidez, alteraciones en los compuestos polifenólicos) pueden afectar la calidad del vino y conducir en consecuencia a una pérdida de tipicidad y expresión del terroño (Rienth et al., 2021). La magnitud de este impacto dependerá de la capacidad del sector para adaptar nuevas prácticas de cultivo y diseñar estrategias de mitigación (Santillán et al., 2019; Van Leeuwen et al., 2019).

CAPÍTULO 6: DISCUSIÓN DE HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

Hipótesis específica 1 - Capítulo 3

La aclimatación de la fotosíntesis a un aumento en la temperatura de crecimiento (T_c) está relacionada a un cambio en la respuesta a la temperatura de las variables bioquímicas velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y tasa de transporte de electrones (J_{max}). Estos cambios implican un desplazamiento del óptimo de V_{cmax} y J_{max} hacia mayores temperaturas o un incremento en la tasa de estos procesos. Estos cambios contribuyen a aclimatar la asimilación neta (A_n) a la nueva temperatura de crecimiento. Los mecanismos subyacentes en la respuesta a la temperatura de V_{cmax} y J_{max} así como la aclimatación de A_n al aumento en la temperatura de crecimiento son dependientes de la variedad.

La hipótesis específica del capítulo 3 puede aceptarse parcialmente. Por un lado, se verificó que la fotosíntesis se aclimató al calentamiento en ambas variedades (considerando las definiciones de aclimatación dadas por Yamori et al., 2014 y Way y Yamori, 2014), a través de un aumento en la temperatura óptima (T_{opt}) de la tasa de asimilación. El incremento en T_{opt} (de plantas calentadas con respecto al control) fue menor durante la segunda temporada en ambas variedades, cuando el calentamiento alcanzado fue mayor, en comparación con la primera temporada. Cuando las temperaturas foliares son muy elevadas, como las registradas durante 2017/18, la aclimatación de la fotosíntesis puede estar más limitada que cuando las temperaturas iniciales de la hoja son más bajas (Vico et al., 2019). Estas respuestas son comunes cuando el incremento en la temperatura de crecimiento excede la T_{opt} (Slot y Winter, 2017; Vico et al., 2019). Por otro lado, los mecanismos subyacentes a la aclimatación fueron dependientes de la variedad, lo que implica la verificación de la hipótesis propuesta en cuanto a las respuestas varietales. La aceptación parcial de la hipótesis se debe a que para Syrah, la aclimatación de la fotosíntesis no estuvo explicada por cambios en las variables bioquímicas (V_{cmax} y J_{max}), ya que esta variedad presentó una respuesta homeostática. Esto es, un aumento de la temperatura óptima de la tasa de fotosíntesis neta en las plantas calentadas, sin cambios en la asimilación de C (Yamori et al., 2014). En Grenache se observaron cambios en la respuesta a la temperatura de V_{cmax} y J_{max} (variables bioquímicas), que implicaron una disminución menos marcada de estas tasas a temperaturas foliares por encima de 35 °C, en las plantas calentadas con respecto a las plantas control.

Hipótesis específica 2 - Capítulo 4

Frente a un aumento en la temperatura de crecimiento, las plantas incrementan la transpiración foliar (E) a través de una mayor conductancia estomática (g_s) para mantener la temperatura de las hojas cercana a la temperatura del aire. El aumento en E y g_s produce una disminución de la eficiencia en el uso del agua (EUA). El incremento de g_s y del tamaño de estomas es mayor en las plantas calentadas de la variedad Syrah que en Grenache.

La hipótesis específica 2 se formuló postulando que Syrah, en base a lo reportado en la literatura, podría incrementar la conductancia estomática (g_s) y el tamaño de los estomas en las plantas calentadas en mayor grado que Grenache. Sin embargo, los resultados evidenciaron la respuesta contraria. Las hojas de plantas calentadas de Grenache incrementaron g_s , la transpiración (E) y la longitud de los estomas; mientras que en Syrah se mantuvieron similares al control. En consecuencia, pese al incremento en la tasa de asimilación para Grenache, se reportó una disminución en la eficiencia en el uso del agua debido a que el aumento de g_s fue mayor. Estos resultados indican que Grenache es más sensible a los cambios ambientales y Syrah es más tolerante. Por un lado, para Grenache la estrategia de evitar los factores ambientales de estrés podría llevar a comportamientos estomáticos contrastantes. En situaciones de déficit hídrico, g_s disminuye para mantener el potencial hídrico de las hojas. Por otro lado, a altas temperaturas y en condiciones de agua no limitantes, g_s aumenta para permitir una mayor transpiración y el enfriamiento de las hojas para proteger el aparato fotosintético de daños (Sadok et al., 2021). Para Syrah, el incremento de temperatura alcanzado en este estudio no representó un factor de estrés, ya que las plantas calentadas presentaron tasas de g_s , E y tamaño de estomas similares a las plantas control. Ambas variedades estuvieron bajo buenas condiciones hídricas, lo que les permitió mantener la temperatura foliar cercana al aire que las rodeaba (ya sea en plantas calentadas o control; Urban et al., 2017b). Sin embargo, se observó una disminución en la eficiencia en el uso del agua del rendimiento (kg de uva por planta / lámina de riego) en ambas variedades, lo que podría indicar un aumento en la tasa respiratoria de brotes, frutas y raíces (Escalona et al., 2012) y una mayor pérdida de agua a través de los frutos y otros órganos de la planta en respuesta al calentamiento.

Hipótesis específica 3 - Capítulo 5

El aumento de temperatura de crecimiento modifica la composición química de la uva, aumenta la concentración de sólidos solubles y el pH y disminuye el peso de baya, la acidez y los compuestos polifenólicos (antocianos y taninos). Las variedades Syrah y Grenache presentan diferente plasticidad de los compuestos polifenólicos en respuesta al calentamiento.

La hipótesis específica 3 es aceptada. En base a los resultados encontrados y que concuerdan con otros antecedentes, se confirmó el efecto de un aumento de temperatura en los parámetros de madurez de la baya (Malovini, 2016; Mira de Orduña, 2010; Sweetman et al., 2014). En ambas variedades, las uvas de plantas calentadas tuvieron mayor concentración de sólidos solubles y pH. A su vez, se observó menor rendimiento en las plantas calentadas. Por otro lado, los compuestos polifenólicos presentaron respuestas diferenciales. Los antocianos disminuyeron en ambas variedades en uvas expuestas al aumento de temperatura al compararse a una misma concentración de sólidos solubles. Las diferencias entre variedades se observaron en una mayor plasticidad de antocianos totales para Syrah que para Grenache. Con respecto a los taninos, ambas variedades presentaron una plasticidad media frente a los tratamientos de temperatura, sin un efecto directo del calentamiento en los mismos.

CAPÍTULO 7: CONCLUSIONES GENERALES

El objetivo general de esta tesis fue estudiar en Mendoza, oasis norte, los posibles impactos del calentamiento asociado al cambio climático en la producción vitícola. El ensayo se realizó en un viñedo experimental, comparando de manera directa plantas sin déficit hídrico de las variedades Syrah y Grenache, expuestas a condiciones control con plantas calentadas. Los rangos de calentamiento alcanzados se encuentran dentro de lo pronosticado para fines de este siglo por algunos modelos de cambio climático.

Con respecto a las respuestas de la fotosíntesis al aumento de temperatura, se encontraron diferentes mecanismos en la aclimatación fotosintética en las plantas de Grenache y Syrah. En condiciones más cálidas, la capacidad fotosintética incrementó (es decir, la velocidad de carboxilación de la Rubisco o V_{cmax} y la tasa de transporte de electrones o J_{max}) en Grenache. Esto llevó a un aumento de la temperatura óptima y de la tasa de asimilación neta (A_n) en la nueva temperatura de crecimiento. Por otro lado, Syrah mantuvo la capacidad fotosintética, sin cambios en V_{cmax} ni en J_{max} , dando lugar a una respuesta homeostática. Este tipo de respuesta implica un ajuste de la fotosíntesis neta a la nueva temperatura de crecimiento, sin ganancia de asimilación de C. Esta parte del trabajo demostró que un aumento entre 1.5 y 3.6 °C, no afectaría directamente la asimilación de C en estas variedades en condiciones de buen aprovisionamiento de agua. A su vez, se demostró en ambas variedades que cuando la temperatura de crecimiento excede la temperatura óptima de la fotosíntesis, hay una limitación a la aclimatación.

Por otro lado, se evaluaron las respuestas estomáticas al aumento de temperatura y su relación con la eficiencia en el uso del agua (EUA). Se demostró que pese al aumento en asimilación neta mencionado, las plantas calentadas de Grenache disminuyeron la EUA intrínseca con respecto a las plantas control. Por otro lado, Syrah no manifestó cambios en la conductancia estomática, la asimilación neta o la EUA intrínseca. Sin embargo, se observó una disminución en la EUA del rendimiento en ambas variedades; lo que podría indicar que las pérdidas de agua a través de los frutos y otros órganos de la planta aumentaron en respuesta al calentamiento.

Finalmente, en ambas variedades, el aumento de temperatura afectó negativamente los parámetros de madurez al incrementar los sólidos solubles y el pH. La disminución del rendimiento en las plantas calentadas podría amenazar la sostenibilidad de los viñedos en el largo plazo. Además, los antocianos disminuyeron en las uvas calentadas de ambas variedades, pero en mayor grado en Syrah. Por otro lado, los taninos del hollejo no fueron afectados por el tratamiento de temperatura.

Los resultados aquí presentados permiten afirmar que frente a un aumento de temperatura y sin restricción hídrica, la fotosíntesis se aclimatará, pero al mismo tiempo habrá una disminución de la EUA y del rendimiento y la calidad de la uva se verá afectada negativamente.

ANEXOS

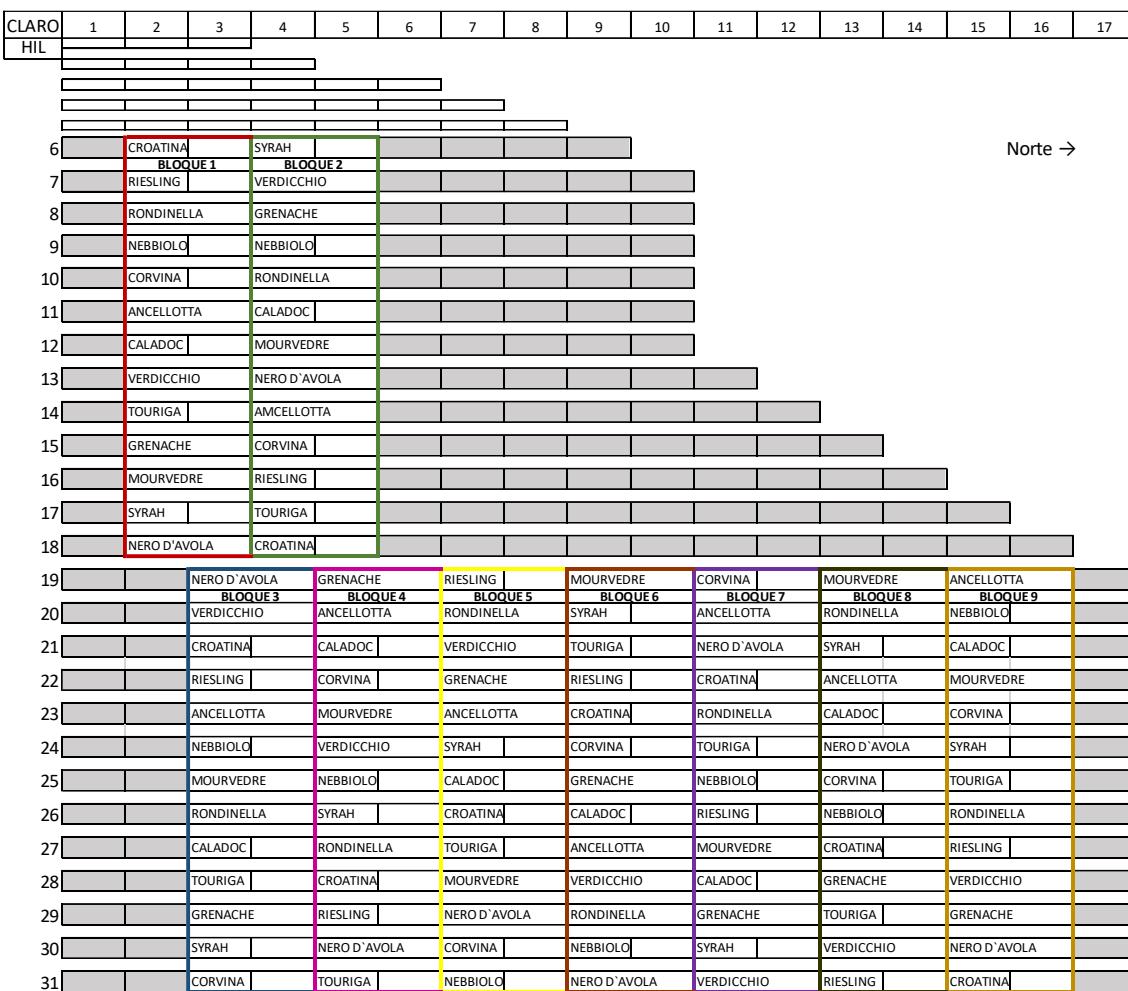


Figura S2.1: Plano de viñedo experimental donde se realizó el ensayo. El viñedo cuenta con 13 variedades de vid, hileras plantadas norte-sur y formando 9 bloques en sentido este-oeste. La unidad de cada bloque está formada por dos claros consecutivos, con 5 plantas cada uno. Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, INTA.

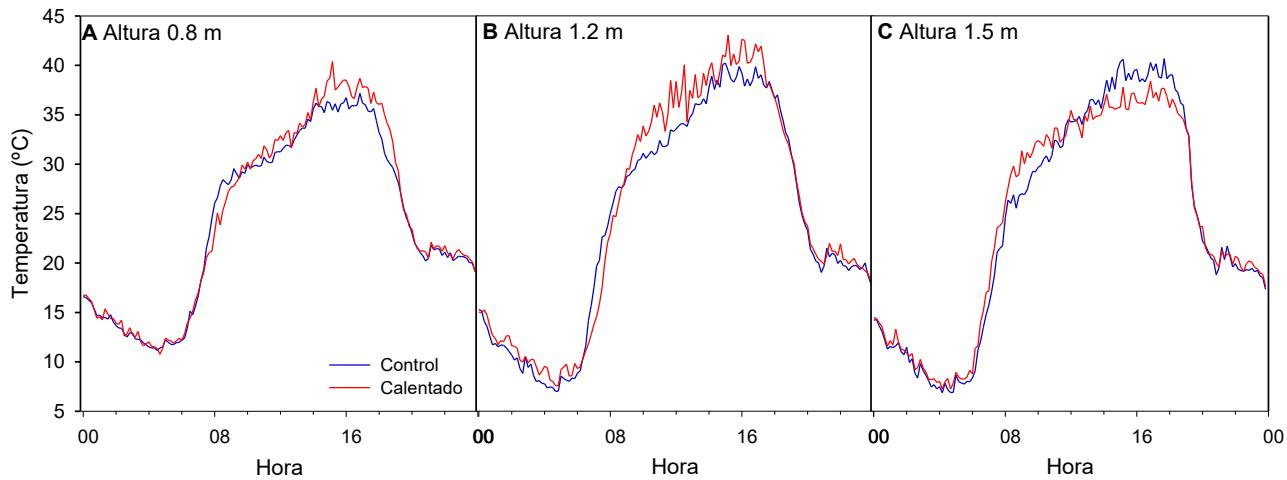


Figura S2.2: Temperatura de aire para un día representativo (28/12/2016) medida a tres alturas del espaldero (A 0.8, B 1.2 y C 1.5 m) en plantas calentadas mediante el Sistema de Calentamiento Pasivo (rojo) y control (azul). Se observa mayor temperatura en las plantas calentadas para las alturas 0.8 y 1.2 m, a partir de 1.5 m no hay diferencias. Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, INTA.

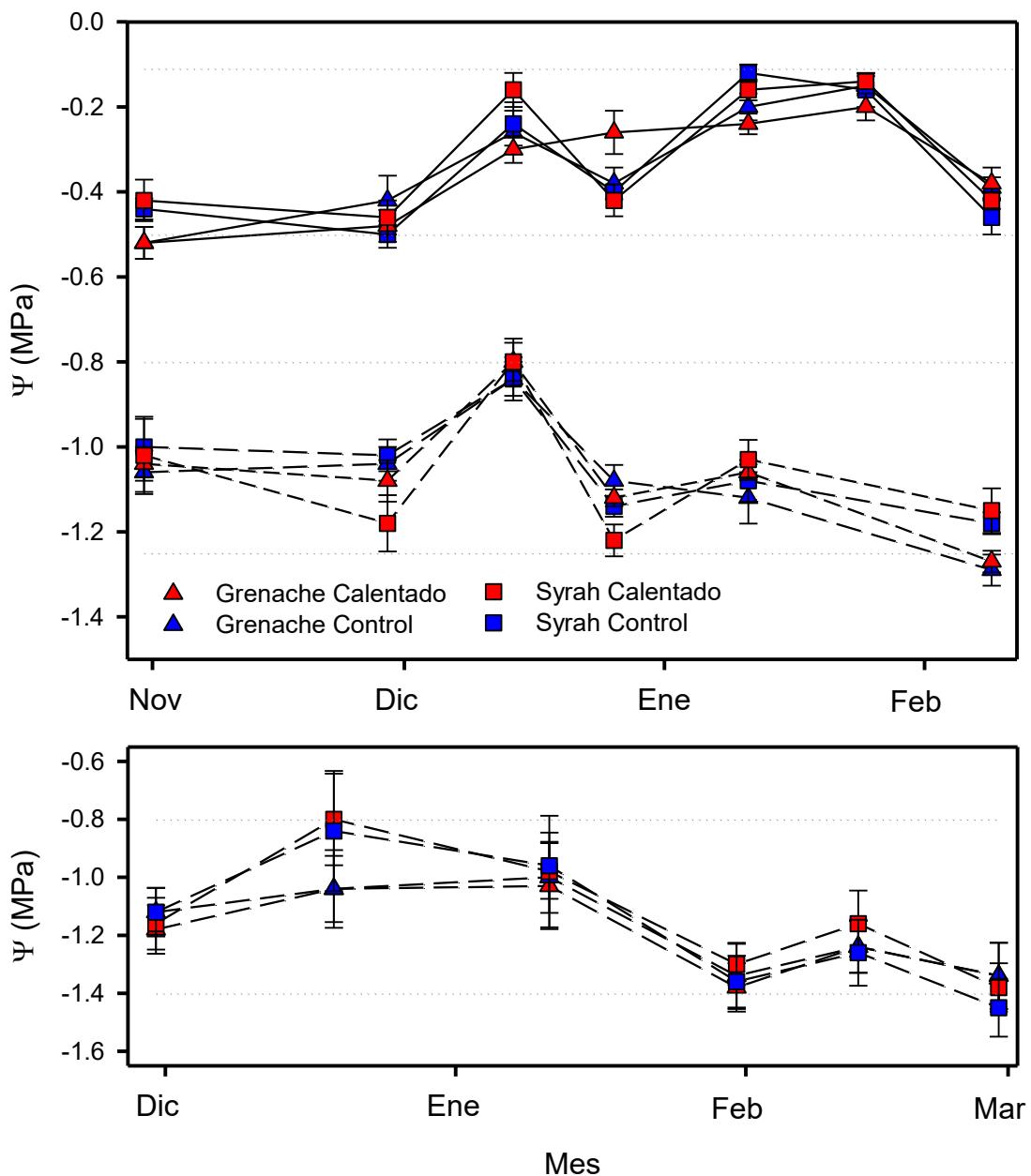


Figura S2.3: Potencial hoja (Ψ , MPa) medio día (A, B, línea en guiones) y pre amanecer (A, línea continua) medido cada 15 días en plantas de Grenache (\blacktriangle) y Syrah (\blacksquare) expuestas a condiciones control (azul) y calentadas (rojo) durante las temporadas 2017/18 (A) y 2018/19 (B). Los valores representan la media \pm error estándar de 5 plantas por tratamiento (combinación variedad-temperatura).

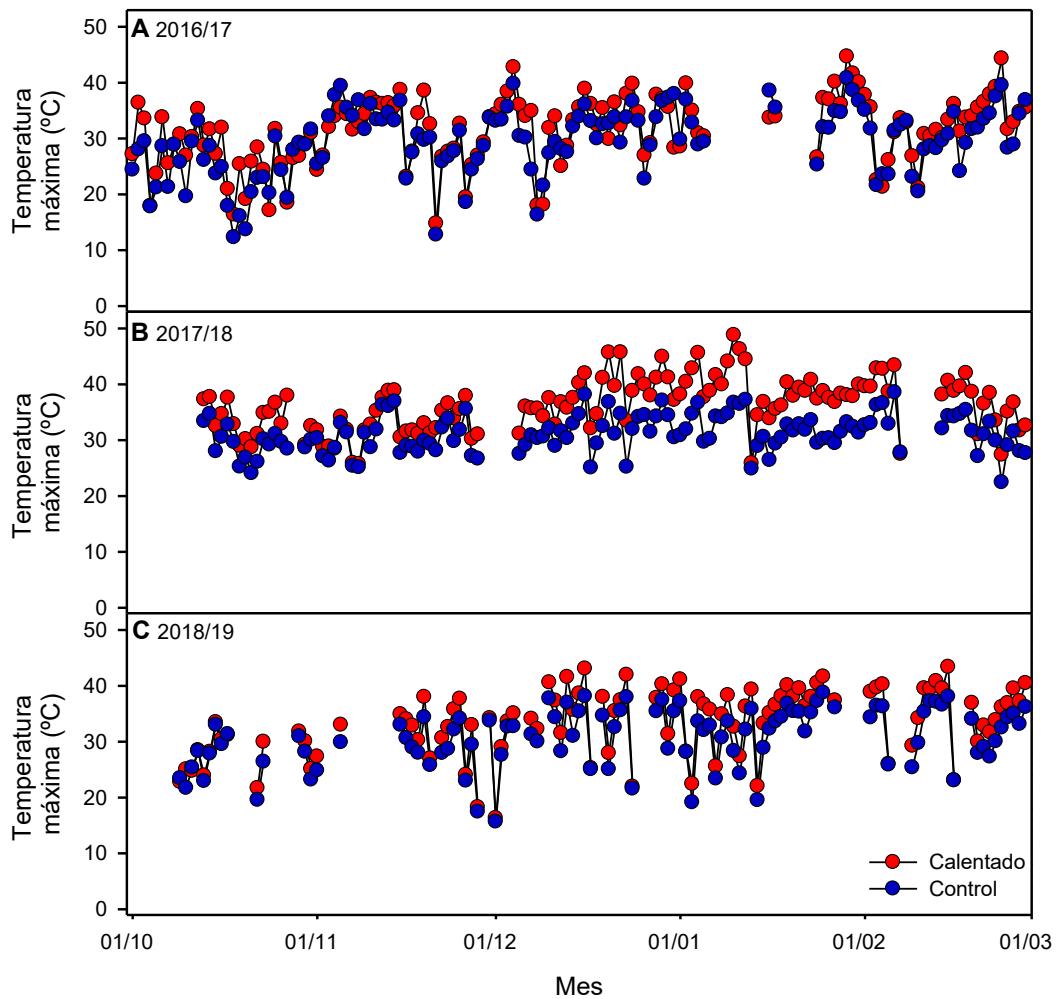


Figura S3.1: Evolución estacional de la temperatura máxima diaria para los tratamientos control (azul) y calentado (rojo) durante las temporadas 2016/17, 2017/18 (B) y 2018/19 (C). Los valores representan la media de 4 réplicas, dos en Syrah y dos en Grenache. La temperatura fue medida con termocuplas en la zona de racimos y registrada cada 20 minutos.

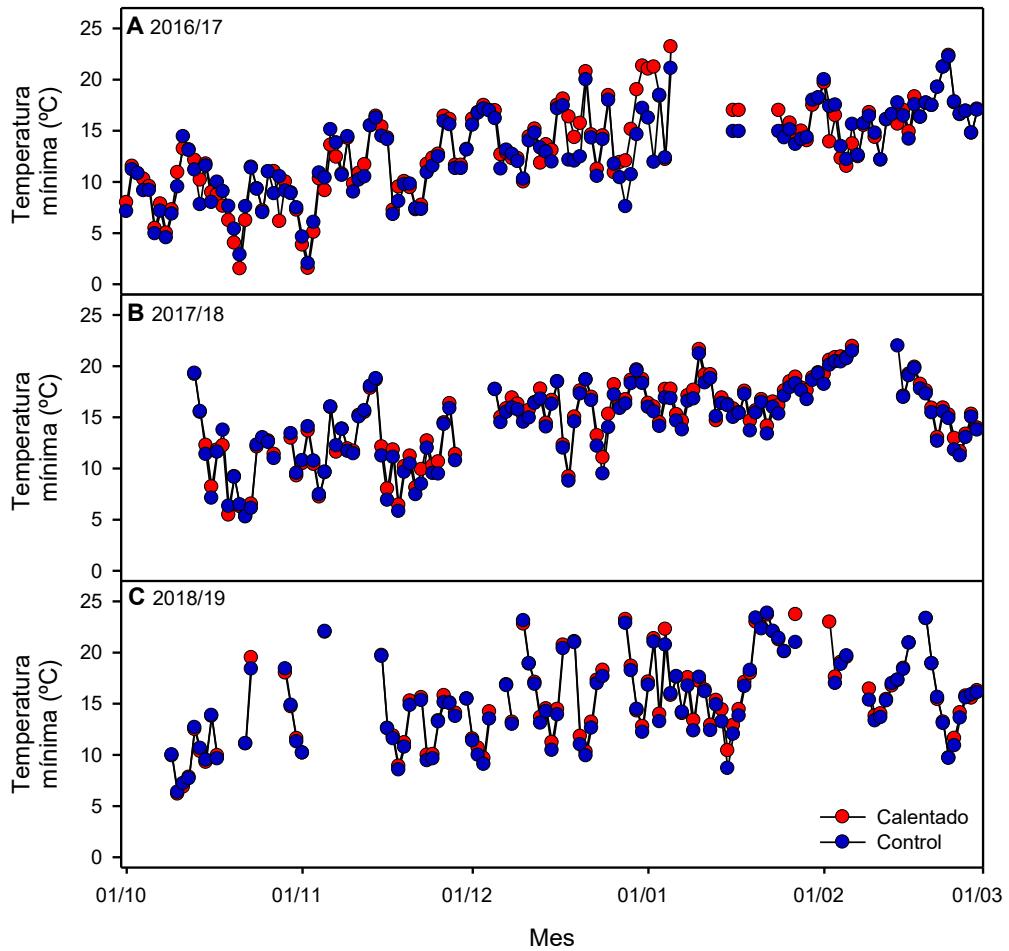


Figura S3.2: Evolución estacional de la temperatura mínima diaria para los tratamientos control (azul) y calentado (rojo) durante las temporadas 2016/17, 2017/18 (B) y 2018/19 (C). Los valores representan la media de 4 réplicas, dos en Syrah y dos en Grenache. La temperatura fue medida con termocuplas en la zona de racimos y registrada cada 20 minutos.

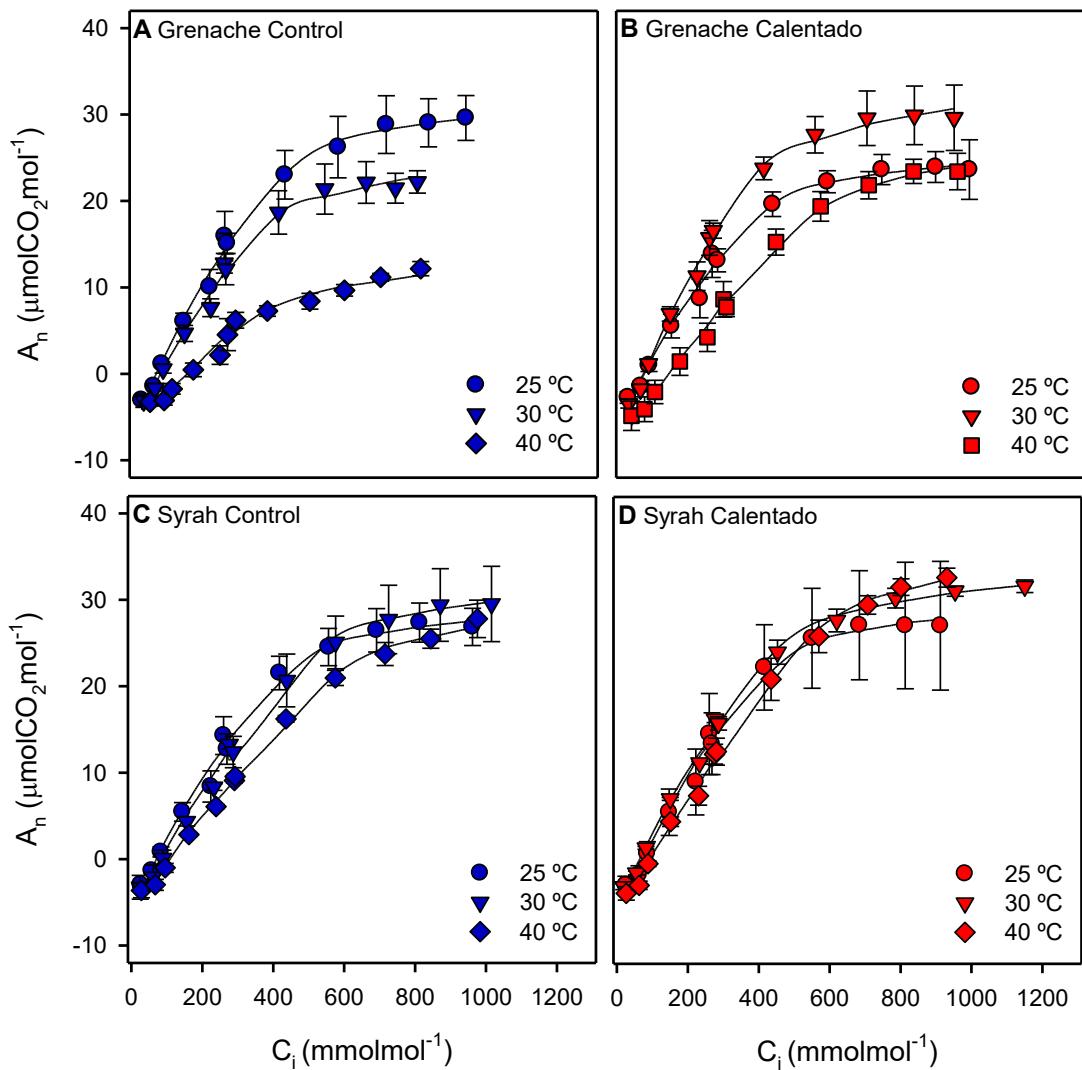


Figura S3.3: Curvas A_n/C_i a 25, 30 y 40 °C en plantas de Grenache control (A), Grenache calentado (B), Syrah control (C) y Syrah calentado (D) durante 2016/17. Las curvas a 20 y 35 °C no se presentan para mejor claridad en la figura. Los valores representan la media \pm desvío estándar para 3 o 4 réplicas por tratamiento.

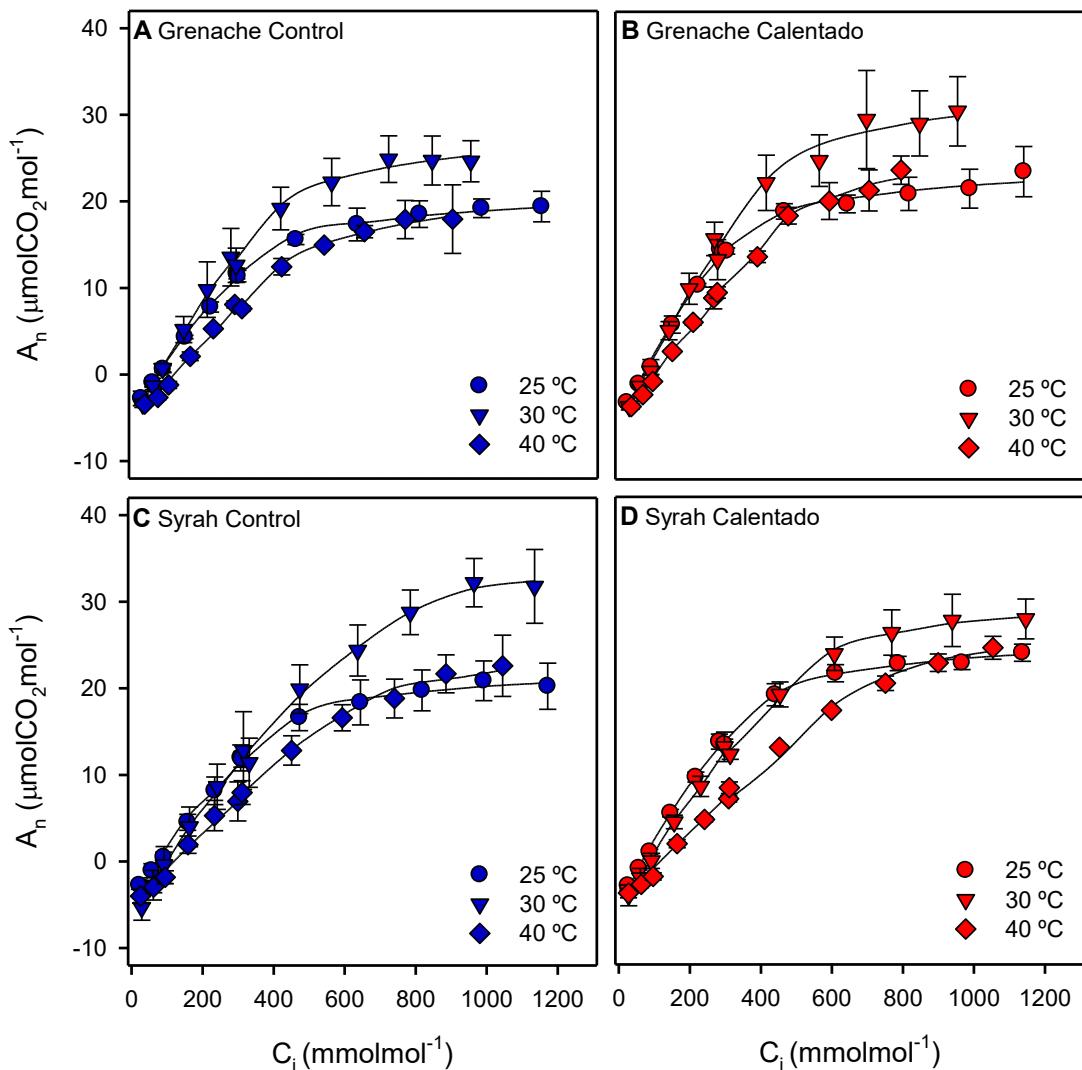


Figura S3.4 Curvas A_n/C_i a 25, 30 y 40 °C en plantas de Grenache control (A), Grenache calentado (B), Syrah control (C) y Syrah calentado (D) durante 2017/18. Las curvas a 20 y 35 °C no se presentan para mejor claridad en la figura. Los valores representan la media ± desvío estándar para 3 o 4 réplicas por tratamiento.

Tabla S3.1: Velocidad de carboxilación de la Rubisco (V_{cmax}) y tasa de transporte de electrones (J_{max}) en hojas de Syrah y Grenache calentadas y control, a temperaturas controladas de 20 a 40 °C. Los valores fueron determinados a través de las curvas A_n/C_i a temperaturas controladas de 20 a 40 °C (en intervalos de 5 °C) distintas temperaturas, durante dos temporadas de ensayos (2016/17 y 2017/18).

Grenache										
T_h^1 (°C)	2016/17				2017/18					
	V_{cmax} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		J_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		V_{cmax} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		J_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)			
	Control	Calentado	Control	Calentado	Control	Calentado	Control	Calentado		
20	---	---	---	---	44.3 \pm 5.2	51.2 \pm 6.1	100.1 \pm 9.4	116.1 \pm 10.5		
25	76.6 \pm 5.5	69.5 \pm 4.3	135.7 \pm 5.2	115.4 \pm 1.4	52.8 \pm 1.8	56.8 \pm 5.3	106.6 \pm 4.0	119.2 \pm 7.4		
30	89.5 \pm 7.8	99.9 \pm 13.5	136.1 \pm 10.2	134.2 \pm 10.8	88.1 \pm 7.5	90.8 \pm 10.1	147.5 \pm 9.1	155.5 \pm 30.4		
35	138.8 \pm 8.2	144.8 \pm 10.9	153.4 \pm 4.3	150.8 \pm 0.6	134.9 \pm 2.6	133.7 \pm 12.2	203.3 \pm 9.3	204.1 \pm 14.1		
40	90.7 \pm 13.3	148 \pm 3.1	86.5 \pm 0.7	152.1 \pm 2.5	114.8 \pm 3.3	140.0 \pm 10.4	100.1 \pm	160.3 \pm 10.7		
Syrah										
T_h^1 (°C)	2016/17				2017/18					
	V_{cmax} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		J_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		V_{cmax} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)		J_{max} ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)			
	Control	Calentado	Control	Calentado	Control	Calentado	Control	Calentado		
20	50.9 \pm 7.3	55.6 \pm 5.2	111.2 \pm 18.2	130.4 \pm 10.5	44.8 \pm 1.1	46.6 \pm 2.5	113.1 \pm 4.2	106.1 \pm 8.8		
25	70.6 \pm 4.3	80.2 \pm 5.3	136.9 \pm 5.1	143.5 \pm 14.5	51.9 \pm 3.2	64.6 \pm 0.1	134.6 \pm	139.9 \pm 0.2		
30	90.3 \pm 6.7	97.5 \pm 2.6	167.8 \pm 15.9	165.3 \pm 2.8	82.9 \pm 3.4	81.3 \pm 2.4	226.8 \pm 3.8	197.9 \pm 2.2		
35	128.3 \pm 10.8	144.7 \pm 11.7	203.5 \pm 9.3	198.3 \pm 29.1	116 \pm 4.3	111.9 \pm 3.6	181.2 \pm 0.1	181.2 \pm 7.7		
40	147.7 \pm 9.7	162.1 \pm 11.9	163.9 \pm 12.3	198.9 \pm 9.5	107.6 \pm 7.8	116.7 \pm 6.2	152.9 \pm 8.4	169.9 \pm 10.9		

Los valores representan la media \pm desvío estándar de 3 o 4 repeticiones por condición

¹ T_h temperatura foliar controlada por el IRGA.

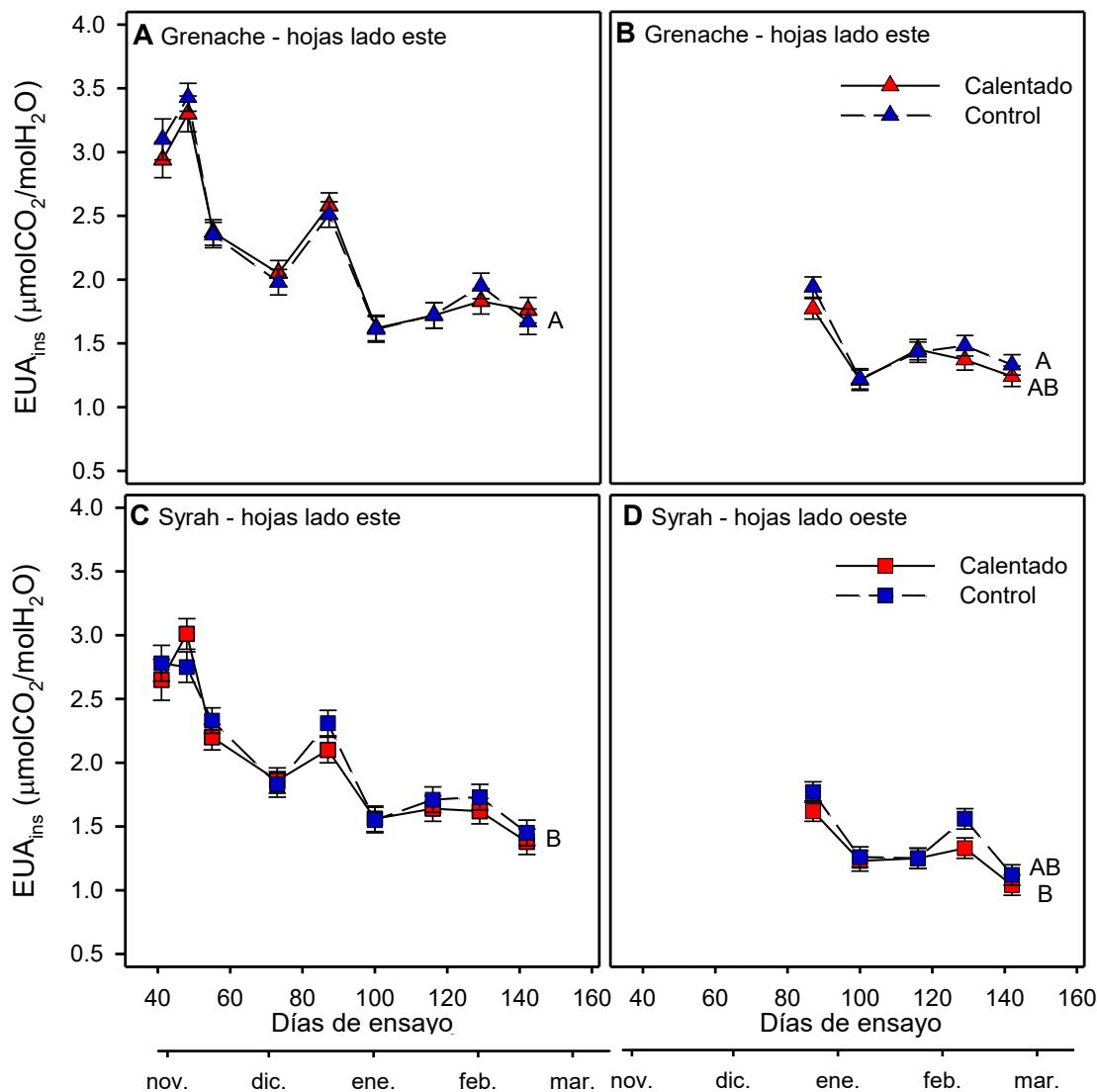


Figura S4.1: Evolución estacional de la eficiencia en el uso del agua instantánea (EUA_{ins}) medida cada 15 días, desde 11/11/2016 (A-C, hojas lado este) o 26/12/2016 (B-D, hojas lado oeste) al 20/02/2017 en plantas de Grenache (A-B) y Syrah (C-D), bajo dos regímenes térmicos, calentadas (rojo) y control (azul). Los símbolos representan la media \pm error estándar para n=8 plantas por tratamiento. Se realizó un MLM para medidas repetidas en el tiempo (factores fijos variedad, temperatura y día de medición; factores aleatorios parcela principal, subparcela y planta). Las letras indican un test LSD para $\alpha=0.05$ para la interacción de variedad y régimen térmico, comparando toda la curva y separadamente hojas del lado este (mayúsculas) y oeste (minúsculas).

Anexo S5. Protocolo para extracción de fenoles a partir de hollejos de bayas y para determinación de proantocianidinas y pigmentos poliméricos mediante el empleo de seroalbumina bovina.

5.1. Extracción de fenoles a partir de hollejos de bayas

5.1.1. Reactivos

Disolvente de extracción: Acetona al 70% en agua destilada (v/v)

5.2.2. Procedimiento

Preparación de muestra:

1. Tomar 20 bayas (anotar el número exacto) con pedúnculo y pesar. Congelar a -80°C.
2. Separar cuidadosamente los hollejos y las semillas, **pesar ambas porciones separadamente y conservar a -80°C**. Eliminar toda la pulpa (mesocarpo) de los hollejos con ayuda de una espátula metálica. En el caso de las semillas eliminar la pulpa mediante lavado con agua destilada.

Extracción de compuestos fenólicos a partir de hollejos o semillas:

1. Colocar la muestra de hollejos o semillas en un frasco de 100 mL color caramelo con tapa a rosca, y adicionar 40 mL del disolvente de extracción. Cerrar el frasco herméticamente.
2. Realizar la extracción mediante incubación durante una noche (17-18 hs) en agitador orbital a 100-150 rpm y 15-20°C.
3. Trasvasar el líquido a un tubo falcon de 50 mL con tapa a rosca y centrifugar 5 min a 2500 rpm.
4. Tomar el líquido sobrenadante y colocar en un balón de destilación. Eliminar el contenido de acetona en rotavapor a 35-40°C y a presión reducida. El volumen final a considerar en el balón para la evaporación completa de la acetona es de aproximadamente 12 mL. Por lo tanto, realizar una marca en el balón (con marcador indeleble) correspondiente a ese volumen y realizar la evaporación de la muestra hasta alcanzar dicha marca.
5. Posteriormente al secado, tomar el extracto acuoso remanente y trasvasarlo a una probeta de 50 mL. Enjuagar el balón 2-3 veces con agua destilada y trasvasar a la probeta. Ajustar el volumen final de la probeta a 20 mL con agua destilada.
6. Conservar los extractos acuosos a -20°C, en frascos color caramelo con tapa rosca, hasta el momento de análisis.

5.2 Determinación de proantocianidinas y pigmentos poliméricos mediante el empleo de seroalbúmina

5.2.1. Reactivos

Ácido acético glacial p.a.

NaCl p.a.

NaOH p.a.

Bitartrato de potasio p.a.

Etanol p.a.

HCl concentrado (12 N).

Metabisulfito de potasio p.a.

Dodecil sulfato de sodio (SDS).

Trietanolamina (TEA).

Proteína (sero albúmina bovina, BSA).

Cloruro férrico hexahidratado.

(+)-catequina.

Aqua milliQ.

5.2.2. Materiales

Cubetas plásticas de 1,5 mL de 1 cm de paso óptico.
Micropipetas de 1-5000 ul.
Vasos de precipitado.
Erlenmeyers.
Matraces aforados.
Tubos eppendorf fondo-cónicos de plástico de 1,5 mL.
Vórtex.
Agitador magnético.
Centrífuga (14000 rpm).
Espectrofotómetro UV

5.2.3 Preparación de soluciones auxiliares

Buffer A (solución de lavado): para 500 mL de buffer, agregar 200 mL de agua milliQ en un matraz y adicionar 6 mL de ácido acético glacial. Pesar 4.93 g de NaCl, disolver en un vaso con agua y trasvasar cuantitativamente al matraz enjuagando el vaso con agua. Luego pesar 2.95 g de perlas de NaOH (ajuste de pH a 4.9), disolver en un vaso con agua y trasvasar cuantitativamente al matraz enjuagando el vaso con agua. Enrasar a 500 mL con agua. Medir el pH colocando la solución en un erlenmeyer de 500 mL y si fuese necesario ajustar a 4,9 con NaOH 5 N. Guardar en botella de vidrio color caramelo a 4°C.

Buffer B (solución símil-vino): para 500 mL de buffer, agregar 200 mL de agua milliQ en un matraz y adicionar 60 mL de etanol p.a. Pesar 2.5 g de bitartrato de potasio, disolver en un vaso con agua agitando 5 min. con buzo magnético (no preocuparse si no se disuelve completamente) y trasvasar cuantitativamente al matraz enjuagando el vaso con agua. Enrasar a 500 mL con agua. Colocar el contenido del matraz en un erlenmeyer de 500 mL y ajustar el pH a 3.3 con HCl 12 N. Filtrar con papel y guardar en botella de vidrio color caramelo a temperatura ambiente.

Buffer C (solución de resuspensión): para 500 mL de buffer, pesar 25 g de SDS, colocar en un erlenmeyer de 500 mL, agregar 300 mL de agua y disolver agitando con buzo magnético. Adicionar 25 mL de TEA y 50 mL de agua. Medir el pH durante la agitación, una vez estabilizado el pH, ajustar a 9.4 con HCl 12 N (2.5 mL). Trasvasar cuantitativamente al matraz enjuagando con agua. Enrasar a 500 mL con agua y guardar en botella de vidrio color caramelo a temperatura ambiente.

Buffer D (solución para antocianinas): para 500 mL de buffer, pesar 4.93 g de NaCl y 11.6 g de ácido maleico, colocar en un erlenmeyer de 500 mL, agregar 300 mL de agua y disolver agitando con buzo magnético. Adicionar 1,9 g de perlas de NaOH (ajuste de pH a 1.8), disolver con agitación y trasvasar cuantitativamente al matraz enjuagando con agua. Enrasar a 500 mL con agua. Colocar el contenido del matraz en un erlenmeyer de 500 mL, controlar el pH y si fuese necesario ajustar a 1.8 con NaOH 5 N. Guardar en botella de vidrio color caramelo a 4°C.

Reactivos de cloruro férrico: para 250 mL de solución, pesar 0.676 g de cloruro férrico hexahidratado, colocar en un erlenmeyer de 300 mL, agregar 100 mL de agua y disolver agitando con buzo magnético. Trasvasar cuantitativamente al matraz enjuagando con agua. Adicionar 200 uL de HCl 12 N y enrasar a 250 mL con agua. Guardar en botella de vidrio color caramelo a 4°C.

Solución proteica:

Solución madre (20 mg/mL): pesar 1 g de BSA, colocar en un vaso de 50 mL, adicionar 25 mL de Buffer A y agitar con buzo magnético hasta su completa disolución. Trasvasar al matraz de 50 mL y enrasar a volumen con Buffer A. Dividir la solución en tubos eppendorf de 1.5 mL y guardar a -80°C.

Solución de trabajo (1 mg/mL): descongelar un tubo eppendorf, tomar 1 ml de la solución madre, colocar en matraz de 25 mL, adicionar 19 mL de Buffer A y homogeneizar. De esta forma tendremos una solución con una concentración de 1 mg/ml, para analizar 19 muestras. Preparar la cantidad necesaria según el número de muestras a analizar en un día de trabajo.

Reactivos de decoloración: para 100 mL de solución, pesar 7.9 g de metabisulfito de potasio, colocar en un erlenmeyer, agregar 50 mL de agua y disolver. Trasvasar cuantitativamente al matraz y enrasar a 100 mL con agua. Utilizar en el día de trabajo.

Solución madre de catequina: (ver apartado curva de calibración).

5.2.4 Procedimiento

Diluir la muestra (extracto) 1:3 con agua milliQ y ajustar el pH a 3.6.

Preparación de la muestra

1. Para cada muestra problema, se utilizarán 1 tubo eppendorf para centrífuga de 1,5 mL.
2. Centrifugar la muestra (vino, extracto de hollejo o semilla) a 3500 rpm durante 10 min.
3. Realizar una dilución 1:5 de la muestra (vino, extracto de hollejo o semilla) empleando el Buffer B, por ejemplo: tomar 500 µL de muestra y agregar 2000 µL de buffer en un tubo plástico de 5 mL con tapa a presión y homogeneizar con vórtex. Evaluar según la muestra la dilución adecuada.

Medición antocianinas totales

1. Tomar 500 µl de muestra diluida, colocar en cubeta de 1.5 mL (1 cm paso óptico), agregar 1 mL de Buffer D y homogeneizar. Mantener en reposo en la oscuridad durante 5 min.
2. Leer la A a 520 nm (**Medición D**), empleando como blanco (llevar a cero) 500 µl de Buffer B + 1000 µl de Buffer D.

Medición de pigmentos poliméricos y taninos

1. Tomar 500 µl de muestra diluida, colocar en cubeta plástica de 1.5 mL (1 cm de paso óptico), agregar 1 mL de Buffer A y homogeneizar. Mantener en reposo en la oscuridad durante 10 min.
2. Leer la A a 520 nm (**Medición A**), empleando como blanco (llevar a cero) 1.5 mL de Buffer A.
3. Agregar 80 µl del reactivo de decoloración, homogeneizar por inversión, mantener en reposo 10 min. y leer la A a 520 nm (**Medición B**), empleando como blanco (llevar a cero) 1.5 mL de Buffer A + 80 µl de reactivo de decoloración.

Tubo eppendorf Nº1

1. Tomar 500 µl de muestra diluida, colocar en el tubo, agregar 1 mL de solución proteica y homogeneizar. Mantener el tubo en reposo en la oscuridad durante 15 min.
2. Centrifugar a 14000 rpm durante 5 min.
3. Tomar 1 mL de sobrenadante sin mover el pellet, colocar en una cubeta y adicionar 80 µl de reactivo de decoloración, homogeneizar por inversión, mantener en reposo 10 min y leer la A a 520 nm (**Medición C**), empleando como blanco (llevar a cero) 1 mL de Buffer A + 80 ul de reactivo de decoloración.
4. Eliminar el sobrenadante remanente del tubo 2, agregar por las paredes del tubo 250 ul de Buffer A para lavar el pellet, centrifugar (14000 rpm, 1 min.), eliminar el sobrenadante cuidando de no remover el pellet. Repetir este lavado 2 veces.
5. Agregar sobre el pellet 875 µl de Buffer C y mantener el tubo en reposo en la oscuridad durante 10 min.
6. Disolver completamente el pellet empleando el vórtex, colocar en cubeta, mantener en reposo 10 min. y leer la A a 510 nm (**A510 background tanino**), empleando como blanco (llevar a cero) 875 µl de Buffer C.
7. Agregar 125 µl de reactivo de cloruro férrico a la muestra y al blanco, homogeneizar por inversión, mantener en reposo 10 min. y leer la A a 510 nm (**A510 final tanino**), empleando como blanco (llevar a cero) 875 µl de Buffer C + 125 µl de cloruro férrico.

5.2.5. Curva de calibración

Solución madre de catequina: pesar 10 mg de catequina, colocar en matraz aforado de 10 mL y adicionar 1 mL de etanol p.a., disolver y enrasar a volumen con agua destilada.

Preparación de soluciones de trabajo:

1. En cubetas plásticas de 1.5 ml de 1 cm de paso óptico

Concentración (mg/L)	Volumen solución madre (μ l)	Volumen Buffer C (μ l)	Volumen reactivo de cloruro férrico (μ l)
blanco	0	1000	0
0	0	875	125
50	50	825	125
100	100	775	125
150	150	725	125
200	200	675	125
250	250	625	125
300	300	575	125

2. Homogeneizar por inversión, mantener las cubetas en reposo durante 10 min y leer la A a 510 nm.

3. Repetir cada punto de calibración por triplicado.

5.2.6. Cálculos y expresión de resultados

Antocianinas totales

$$\begin{aligned} \text{AT (mg/L, Mv-3-gl eq.)} &= (D - A) / 0,0102 \\ &[(\text{Factor dilución} \times D) - (\text{Factor de dilución} \times A)] / 0,0102 \end{aligned}$$

Taninos totales: se calcula a partir de la curva de calibración utilizando los valores de A510 background tanino y A510 final tanino.

$$\text{A510 final tanino} - (\text{A510 background tanino} \times 0.875)$$

A partir de la absorbancia obtenida con los datos de la curva se cuantifican:

$$2 \times (\text{A-intercepto/pendiente}) \times \text{factor de dilución}$$

BIBLIOGRAFÍA

- Aparecido, L.M.T., Woo, S., Suazo, C., Hultine, K.R., Blonder, B., 2020. High water use in desert plants exposed to extreme heat. *Ecology Letters* 23, 1189–1200. <https://doi.org/10.1111/ele.13516>
- Bacon, M., 2009. Water Use Efficiency in Plant Biology. En *Water Use Efficiency in Plant Biology* (ed Bacon, M.) Wiley-Blackwell, Reino Unido.
- Bauerle, W.L., Bowden, J.D., Wang, G.G., 2007. The influence of temperature on within-canopy acclimation and variation in leaf photosynthesis: Spatial acclimation to microclimate gradients among climatically divergent *Acer rubrum* L. genotypes. *Journal of Experimental Botany* 58, 3285–3298. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm177>
- Bernacchi, C.J., Rosenthal, D.M., Pimentel, C., Long, S.P., Farquhar, G.D., 2009. Modeling the Temperature Dependence of C3 Photosynthesis. En *Photosynthesis in Silico: Understanding Complexity from Molecules to Ecosystems* (eds. Laisk, A., Nedbal, L., Govindjee). Springer, Países Bajos, 231–246. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-9237-4_10
- Bernacchi, C.J., Portis, A.R., Nakano, H., von Caemmerer, S., Long, S.P., 2002. Temperature Response of Mesophyll Conductance. Implications for the Determination of Rubisco Enzyme Kinetics and for Limitations to Photosynthesis in Vivo. *Plant Physiology* 130, 1992–1998. <https://doi.org/10.1104/pp.008250>
- Bernacchi, C.J., Singsaas, E.L., Pimentel, C., Portis, a. R.J., Long, S.P., 2001. Improved temperature response functions for models of Rubisco-limited photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 24, 253–260. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2001.00668.x>
- Berry, J., Bjorkman, O., 1980. Photosynthetic Response and Adaptation to Temperature in Higher Plants. *Annual Review of Plant Physiology* 31, 491–543. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.31.060180.002423>
- Bigard, A., Berhe, D.T., Maoddi, E., Sire, Y., Boursiquot, J.M., Ojeda, H., Péros, J.P., Doligez, A., Romieu, C., Torregrosa, L., 2018. *Vitis vinifera* L. fruit diversity to breed varieties anticipating climate changes. *Frontiers in Plant Science* 9, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00455>
- Boninsegna, J.A., 2014. Impacto del Cambio Climático en los oasis del oeste argentino. *Ciencia e Investigación* 64 (1), 45–58.
- 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. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.07.016>
- Bota, J., Flexas, J., Medrano, H., 2001. Genetic variability of photosynthesis and water use in Balearic grapevine cultivars. *Annals of Applied Biology* 138, 353–361. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2001.tb00120.x>
- Brooks, A., Farquhar, G.D., 1985. Effect of temperature on the CO₂/O₂ specificity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase and the rate of respiration in the light - Estimates from gas-exchange measurements on spinach. *Planta* 165, 397–406. <https://doi.org/10.1007/BF00392238>
- Bunce, J.A., 2019. Variation in Responses of Photosynthesis and Apparent Rubisco Kinetics to Temperature in Three Soybean Cultivars. *Plants* 8, 443. <https://doi.org/10.20944/preprints201909.0285.v1>
- Bunce, J.A., 2018. Thermal acclimation of the temperature dependence of the V_{cmax} of Rubisco in quinoa. *Photosynthetica* 56, 1171–1176. <https://doi.org/10.1007/s11099-018-0799-3>
- Bunce, J.A., 2000. Acclimation of photosynthesis to temperature in eight cool and warm climate herbaceous C3 species: Temperature dependence of parameters of a biochemical photosynthesis model. *Photosynthesis Research* 63, 59–67. <https://doi.org/10.1023/A:1006325724086>
- Cabré, F., Nuñez, M., 2020. Impacts of climate change on viticulture in Argentina. *Regional Environmental Change* 20, 1-12. <https://doi.org/10.1007/s10113-020-01607-8>
- Cabré, M.F., Quénol, H., Nuñez, M., 2016. Regional climate change scenarios applied to viticultural zoning in Mendoza, Argentina. *International Journal of Biometeorology* 60, 1325–1340. <https://doi.org/10.1007/s00484-015-1126-3>

- Carmo Vasconcelos, M., Greven, M., Winefield, C.S., Trought, M.C.T., Raw, V., 2009. The flowering process of *Vitis vinifera*: A review. *American Journal of Enology and Viticulture* 60, 411–434.
- Carvalho, L.C., Coito, J.L., Gonçalves, E.F., Chaves, M.M., Amâncio, S., 2016. Differential physiological responses of the grapevine varieties Touriga National and Trincadeira to combined heat, drought and light stresses. *Plant Biology* 18, 101–111. <https://doi.org/10.1111/plb.12410>
- Carvalho, L.C., Coito, J.L., Colanço, S., Sangiogo, M., Amâncio, S., 2015. Heat stress in grapevine: The pros and cons of acclimation. *Plant, Cell and Environment* 38, 777–789. <https://doi.org/10.1111/pce.12445>
- Cerasoli, S., Werten, T., McGuire, M.A., Rodrigues, A., Aubrey, D.P., Pereira, J.S., Teskey, R.O., 2014. Poplar saplings exposed to recurring temperature shifts of different amplitude exhibit differences in leaf gas exchange and growth despite equal mean temperature. *AoB PLANTS* 6, plu018. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plu018>
- Charrier, G., Delzon, S., Domec, J.C., Zhang, L., Delmas, C.E.L., Merlin, I., Corso, D., King, A., Ojeda, H., Ollat, N., Prieto, J.A., Scholach, T., Skinner, P., Van Leeuwen, C., Gambetta, G.A., 2018. Drought will not leave your glass empty: Low risk of hydraulic failure revealed by long-term drought observations in world's top wine regions. *Science Advances* 4, 1–10. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aa06969>
- Chaves, M.M., Zarrouk, O., Francisco, R., Costa, J.M., Santos, T., Regalado, A.P., Rodrigues, M.L., Lopes, C.M., 2010. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany* 105, 661–676. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq030>
- Cifre, J., Bota, J., Escalona, J.M., Medrano, H., Flexas, J. (2005) Physiological tools for irrigation scheduling in grapevine (*Vitis vinifera* L.): An open gate to improve water-use efficiency? *Agriculture, Ecosystems and Environment* 106, 159–170. <https://doi.org/10.1016/J.AGEE.2004.10.005>
- CIMA, 2015. Tercer Informe de Cambio Climático en Argentina; tendencias y proyecciones. Resumen Ejecutivo. 1, 1–19. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Coombe, B.G., 1995. Growth Stages of the Grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 1, 104–110. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1995.tb00086.x>
- Coombe, B.G., McCarthy, M.G., 2000. Dynamics of grape berry growth and physiology of ripening. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 6, 131–135. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2000.tb00171.x>
- Coupel-Ledru, A., Lebon, E., Christophe, A., Doligez, A., Cabrera-Bosquet, L., Péchier, P., Hamard, P., This, P., Simonneau, T., 2014. Genetic variation in a grapevine progeny (*Vitis vinifera* L. cvs GrenachexSyrah) reveals inconsistencies between maintenance of daytime leaf water potential and response of transpiration rate under drought. *Journal of Experimental Botany* 65, 6205–6218. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru228>
- Crisp, P.A., Ganguly, D., Eichten, S.R., Borevitz, J.O., Pogson, B.J., 2016. Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. *Science Advances* 2 (2). <https://doi.org/10.1126/SCIAADV.1501340>
- Crous, K.Y., Quentin, A.G., Lin, Y.S., Medlyn, B.E., Williams, D.G., Barton, C.V.M., Ellsworth, D.S., 2013. Photosynthesis of temperate *Eucalyptus globulus* trees outside their native range has limited adjustment to elevated CO₂ and climate warming. *Global Change Biology* 19, 3790–3807. <https://doi.org/10.1111/gcb.12314>
- Dai, Z.W., Vivin, P., Barrieu, F., Ollat, N., Delrot, S., 2010. Physiological and modelling approaches to understand water and carbon fluxes during grape berry growth and quality development: A review. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16, 70–85. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2009.00071.x>
- Damour, G., Simonneau, T., Cochard, H., Urban, L., 2010. An overview of models of stomatal conductance at the leaf level. *Plant, Cell and Environment* 33 (9), 1419–1438. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2010.02181.x>
- Dayer, S., 2017. Metabolismo del carbono y funcionamiento hidráulico de hojas de vid (*Vitis vinifera* L.): efecto de distintos regímenes de exposición a la radiación y déficit hídrico. Tesis doctoral. Doctorado en Agronomía. Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias.

- Dayer, S., Scharwies, J.D., Ramesh, S.A., Sullivan, W., Doerflinger, F.C., Pagay, V., Tyerman, S.D., 2020. Comparing Hydraulics Between Two Grapevine Cultivars Reveals Differences in Stomatal Regulation Under Water Stress and Exogenous ABA Applications. *Frontiers in Plant Science* 11, 705. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00705>
- de Rosas, I., Ponce, M.T., Malovini, E., Deis, L., Cavagnaro, B., Cavagnaro, P., 2017. Loss of anthocyanins and modification of the anthocyanin profiles in grape berries of Malbec and Bonarda grown under high temperature conditions. *Plant Science* 258, 137–145. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2017.01.015>
- Deis, L., de Rosas, I., Malovini, E., Cavagnaro, M., Cavagnaro, J.B., 2015. Impacto del cambio climático en Mendoza. Variación climática en los últimos 50 años. Mirada desde la fisiología de la vid. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 47, 67–92.
- Departamento General de Irrigación, 2018. Irrigación pronosticó un año seco para todos los ríos de Mendoza. <https://www.irrigacion.gov.ar/web/2018/10/12/irrigacion-pronostico-un-ano-seco-para-todos-los-rios-de-mendoza/#> (accedido el 13/05/2021).
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W., 2018. InfoStat.
- Diaz-Espejo, A., 2013. New challenges in modelling photosynthesis: Temperature dependencies of Rubisco kinetics. *Plant, Cell and Environment* 36, 2104–2107. <https://doi.org/10.1111/pce.12192>
- Dow, G.J., Bergmann, D.C., 2014. Patterning and processes: How stomatal development defines physiological potential. *Current Opinion in Plant Biology* 21, 67–74. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2014.06.007>
- Dow, G.J., Bergmann, D.C., Berry, J.A., 2014. An integrated model of stomatal development and leaf physiology. *New Phytologist* 201, 1218–1226. <https://doi.org/10.1111/nph.12608>
- Drake, J.E., Tjoelker, M.G., Varhammar, A., Medlyn, B.E., Reich, P.B., Leigh, A., Pfautsch, S., Blackman, C.J., López, R., Aspinwall, M.J., Crous, K.Y., Duursma, R.A., Kumarathunge, D.P., De Kauwe, M.G., Jiang, M., Nicotra, A.B., Tissue, D.T., Choat, B., Atkin, O.K., Barton, C.V.M., 2018. Trees tolerate an extreme heatwave via sustained transpiration cooling and increased leaf thermal tolerance, *Global Change Biology* 24 (6), 2390–2402. <https://doi.org/10.1111/gcb.14037>
- Duursma, R.A., 2015. Plantecophys - An R package for analysing and modelling leaf gas exchange data. *PLoS ONE* 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0143346>
- Edwards, E.J., Smithson, L., Graham, D.C., Clingeffer, P.R., 2011. Grapevine canopy response to a high-temperature event during deficit irrigation. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17, 153–161. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2011.00125.x>
- 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, 308–318. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2012.00193.x>
- FAO, 2018. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://www.fao.org/faostat/en/#data> (accedido el 05/08/2021)
- Farquhar, G.D., Sharkey, T.D., 1982. Stomatal Conductance and Photosynthesis. *Annual Review of Plant Physiology* 33, 317–345. <https://doi.org/10.1146/annurev.pp.33.060182.001533>
- Farquhar, G.D., von Caemmerer, S., Berry, J.A., 1980. A biochemical model of photosynthetic CO₂ assimilation in leaves of C3 species. *Planta* 149, 78–90. <https://doi.org/10.1007/BF00386231>
- Fernandes de Oliveira, A., Mercenaro, L., Del Caro, A., Pretti, L., Nieddu, G., 2015. Distinctive Anthocyanin Accumulation Responses to Temperature and Natural UV Radiation of Two Field-Grown *Vitis vinifera* L. Cultivars. *Molecules* 20, 2061–2080. <https://doi.org/10.3390/molecules20022061>
- Ferrini, F., Mattii, G.B., Nicese, F.P., 1995. Effect of Temperature on Key Physiological Responses of Grapevine Leaf. *American Journal of Enology and Viticulture* 46, 375–379.
- Flexas, J., Galmés, J., Gallé, A., Gulías, J., Pou, A., Ribas-Carbó, M., Tomàs, M., Medrano, H., 2010. Improving water use efficiency in grapevines: Potential physiological targets for biotechnological improvement.

Australian Journal of Grape and Wine Research 16, 106–121. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2009.00057.x>

Flexas, J., Ribas-Carbó, M., Díaz-Espejo, A., Galmés, J., Medrano, H., 2008. Mesophyll conductance to CO₂: Current knowledge and future prospects. Plant, Cell and Environment 31, 602–621. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01757.x>

Florez-Sarasa, I., Clemente-Moreno, M.J., Cifre, J., Capo, M., Llompart, M.Q., Fernie, A.R., Bota, J., 2020. Differences in metabolic and physiological responses between local and widespread grapevine cultivars under water deficit stress. Agronomy 10, 1052. <https://doi.org/10.3390/AGRONOMY10071052>

Gago, P., Conejero, G., Martínez, M.C., This, P., Verdeil, J.L., 2019. Comparative anatomy and morphology of the leaves of Grenache Noir and Syrah grapevine cultivars. South African Journal of Enology and Viticulture 40, 1–9. <https://doi.org/10.21548/40-2-3031>

Galat Giorgi, E., Keller, M., Sadras, V., Roig, F.A., Perez Peña, J., 2020. High temperature during the budswell phase of grapevines increases shoot water transport capacity. Agricultural and Forest Meteorology 295, 108173. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2020.108173>

Galat Giorgi, E., Sadras, V.O., Keller, M., Perez Peña, J.E., 2019. Interactive effects of high temperature and water deficit on Malbec grapevines. Australian Journal of Grape and Wine Research 25, 345–356. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12398>

Gallo, A.E., Perez Peña, J.E., Prieto, J.A., 2020. Mechanisms underlying photosynthetic acclimation to high temperature are different between *Vitis vinifera* cv. Syrah and Grenache. Functional Plant Biology 48, 342–357. <https://doi.org/https://doi.org/10.1071/FP20212>

Galmés, J., Kapralov, M. V., Copolovici, L.O., Hermida-Carrera, C., Niinemets, 2015. Temperature responses of the Rubisco maximum carboxylase activity across domains of life: Phylogenetic signals, trade-offs, and importance for carbon gain. Photosynthesis Research 123, 183–201. <https://doi.org/10.1007/s11120-014-0067-8>

Gouot, J.C., Smith, J.P., Holzapfel, B.P., Walker, A.R., Barril, C., 2019. Grape berry flavonoids: A review of their biochemical responses to high and extreme high temperatures. Journal of Experimental Botany 70, 397–423. <https://doi.org/10.1093/jxb/ery392>

Greer, D.H., 2020. Changes in the temperature-dependency of the photosynthetic response to chloroplast CO₂ concentrations of outdoor-grown *Vitis vinifera* cv. Shiraz vines with a mid-season crop removal. Environmental and Experimental Botany 169. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2019.103914>

Greer, D.H., 2019. Modelling the seasonal changes in the gas exchange response to CO₂ in relation to short-term leaf temperature changes in *Vitis vinifera* cv. Shiraz grapevines grown in outdoor conditions. Plant Physiology and Biochemistry 142, 372–383. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2019.07.018>

Greer, D.H., 2018. The short-term temperature-dependency of CO₂ photosynthetic responses of two *Vitis vinifera* cultivars grown in a hot climate. Environmental and Experimental Botany 147, 125–137. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2017.11.012>

Greer, D.H., Weedon, M.M., 2012. Modelling photosynthetic responses to temperature of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Semillon) leaves on vines grown in a hot climate. Plant, Cell and Environment 35, 1050–1064. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2011.02471.x>

Greer, D.H., Weston, C., 2010. Heat stress affects flowering, berry growth, sugar accumulation and photosynthesis of *Vitis vinifera* cv. Semillon grapevines grown in a controlled environment. Functional Plant Biology 37, 206–214. <https://doi.org/10.1071/FP09209>

Gunderson, C.A., O'hara, K.H., Campion, C.M., Walker, A. V., Edwards, N.T., 2010. Thermal plasticity of photosynthesis: The role of acclimation in forest responses to a warming climate. Global Change Biology 16, 2272–2286. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2009.02090.x>

Gutiérrez-Gamboa, G., Zheng, W., Martínez de Toda, F., 2021. Current viticultural techniques to mitigate the effects of global warming on grape and wine quality: A comprehensive review. Food Research International 139, 109946. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109946>

- Harbertson, J.F., Picciotto, E.A., Adams, D.O., 2003. Measurement of Polymeric Pigments in Grape Berry Extracts and Wines Using a Protein Precipitation Assay Combined with Bisulfite Bleaching. *American Journal of Enology and Viticulture* 54, 301–306.
- Hatfield, J.L., Dold, C., 2019. Water-use efficiency: Advances and challenges in a changing climate. *Frontiers in Plant Science* 10, 1–14. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00103>
- Hochberg, U., Batushansky, A., Degu, A., Rachmilevitch, S., Fait, A., 2015a. Metabolic and Physiological Responses of Shiraz and Cabernet Sauvignon (*Vitis vinifera L.*) to Near Optimal Temperatures of 25 and 35 °C. *International Journal of Molecular Sciences* 16, 24276–24294. <https://doi.org/10.3390/ijms161024276>
- Hochberg, U., Degu, A., Gandler, T., Fait, A., Rachmilevitch, S., 2015b. The variability in the xylem architecture of grapevine petiole and its contribution to hydraulic differences. *Functional Plant Biology* 42, 357–365. <https://doi.org/10.1071/FP14167>
- Hulme, M., Sheard, N., 1999. Escenarios de Cambio Climático para Argentina. Unidad de Investigación Climática, Universidad de Anglia Este, Noruega.
- ImageJ. URL <https://imagej.nih.gov/ij/> (accedido el 13/05/2021).
- INV, 2019. Instituto Nacional de Vitivinicultura. Informe Anual De Superficie 2019. <https://www.argentina.gob.ar/inv/vinos/estadisticas/superficie/anuarios>. (accedido el 05/08/2021)
- IPCC, 2019a. Intergovernmental Panel on Climate Change . Summary for Policymakers. Climate Change and Land: an IPCC special report on climate change, desertification, land degradation, sustainable land management, food security, and greenhouse gas fluxes in terrestrial ecosystems.
- IPCC, 2019b. Intergovernmental Panel on Climate Change. Calentamiento Global de 1,5 °C.
- IPCC, 2014. Intergovernmental Panel on Climate Change. Cambio Climático: Impactos , Adaptación y Vulnerabilidad. Guía Resumida del Quinto Informe de Evaluación del IPCC. Grupo de Trabajo II 58.
- IPCC, 2013. Intergovernmental Panel on Climate Change. Glosario. Cambio Climático. Bases físicas.
- Jones, H., 2009. What is water use efficiency? En *Water Use Efficiency in Plant Biology* (ed Bacon, M.) Wiley-Blackwell, Reino Unido.
- Jones, G. V., White, M.A., Cooper, O.R., Storchmann, K., 2005. Climate change and global wine quality. *Climatic Change* 73, 319–343. <https://doi.org/10.1007/s10584-005-4704-2>
- Kattge, J., Knorr, W., 2007. Temperature acclimation in a biochemical model of photosynthesis: a reanalysis of data from 36 species. *Plant, Cell and Environment* 30, 1176–1190. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01690.x>
- Keller, M., 2015a. Botany and Anatomy. En *The Science of Grapevines. Anatomy and Physiology*: Second Edition (ed Keller, M.). Elsevier, Estados Unidos. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-06797-7>
- Keller, M., 2015b. Phenology and Growth Cycle. En *The Science of Grapevines. Anatomy and Physiology*: Second Edition (ed Keller, M.). Elsevier, Estados Unidos. <https://doi.org/10.1016/C2013-0-06797-7>
- Keller, M., 2010. Managing grapevines to optimise fruit development in a challenging environment: A climate change primer for viticulturists. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16, 56–69. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2009.00077.x>
- Keller, M., 2006. Ripening grape berries remain hydraulically connected to the shoot. *Journal of Experimental Botany* 57, 2577–2587. <https://doi.org/10.1093/jxb/erl020>
- Keller, M., Tarara, J.M., 2010. Warm spring temperatures induce persistent season-long changes in shoot development in grapevines. *Annals of Botany* 106, 131–141. <https://doi.org/10.1093/aob/mcq091>
- Kizildeniz, T., Mekni, I., Santesteban, H., Pascual, I., Morales, F., Irigoyen, J.J., 2015. Effects of climate change including elevated CO₂ concentration, temperature and water deficit on growth, water status, and yield quality of grapevine (*Vitis vinifera L.*) cultivars. *Agricultural Water Management* 159, 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.06.015>

- Kliewer, W.M., 1965. Changes in the Concentration of Malates, Tartrates, and total free Acids in Flowers and Berries of *Vitis Vinifera*. American Journal of Enology and Viticulture 16.
- Kriedemann, P.E., 1968. Photosynthesis in vine leaves as a function of light intensity, temperature, and leaf age. *Vitis* 7, 213-220.
- Kumarathunge DP, Medlyn BE, Drake JE, Rogers A, Tjoelker MG., 2019. No evidence for triose phosphate limitation of light saturated leaf photosynthesis under current atmospheric CO₂ concentration. *Plant, Cell and Environment* 42, 3241-3252. <https://doi.org/10.1111/pce.13639>.
- Lacombe, T., Boursiquot, J. M., Laucou, V., Di Vecchi-Staraz, M., Péros, J. P., This, P., 2013. Large-scale parentage analysis in an extended set of grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 126(2), 401-414. <https://doi.org/10.1007/s00122-012-1988-2>
- Leakey, A.D.B., Ferguson, J.N., Pignon, C.P., Wu, A., Jin, Z., Hammer, G.L., Lobell, D.B., 2019. Water Use Efficiency as a Constraint and Target for Improving the Resilience and Productivity of C 3 and C 4 Crops. *Annual Review of Plant Biology* 70, 781–808. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042817-040305>
- Lebon, E., Pellegrino, A., Louarn, G., Lecoeur, J., 2006. Branch development controls leaf area dynamics in grapevine (*Vitis vinifera*) growing in drying soil. *Annals of Botany* 98, 175–185. <https://doi.org/10.1093/aob/mcl085>
- Leuning, R., 2002. Temperature dependence of two parameters in a photosynthesis model. *Plant, Cell and Environment* 25, 1205–1210. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00898.x>
- Levin, A.D., Williams, L.E., Matthews, M.A., 2019. A continuum of stomatal responses to water deficits among 17 wine grape cultivars (*Vitis vinifera*). *Functional Plant Biology* 47, 11–25. <https://doi.org/10.1071/FP19073>
- Lin, Y.S., Medlyn, B.E., De Kauwe, M.G., Ellsworth, D.S., 2013. Biochemical photosynthetic responses to temperature: How do interspecific differences compare with seasonal shifts? *Tree Physiology* 33, 793–806. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpt047>
- Lin, Y.S., Medlyn, B.E., Ellsworth, D.S., 2012. Temperature responses of leaf net photosynthesis: The role of component processes. *Tree Physiology* 32, 219–231. <https://doi.org/10.1093/treephys/tpr141>
- Loisolo, C., Perrone, I., Carra, A., Ferrandino, A., Flexas, J., Medrano, H., Schubert, A., 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, 98–116. <https://doi.org/10.1071/FP09191>
- Malovini, E., 2016. Empleo del déficit hídrico y hormonas vegetales como alternativas para mitigar el efecto del incremento de temperatura sobre el cv . Malbec (*Vitis vinifera* L.) en Mendoza , Argentina. Tesis Doctoral. Doctorado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias y Facultad de Ciencias Médicas.
- Martínez-Vilalta, J. and Garcia-Forner, N., 2017. Water potential regulation, stomatal behaviour and hydraulic transport under drought: deconstructing the iso/anisohydric concept. *Plant Cell and Environment* 40, 962–976. <https://doi.org/10.1111/pce.12846>.
- Medlyn, B.E., Dreyer, E., Ellsworth, D., Forstreuter, M., Harley, P.C., Kirschbaum, M.U.F., Le Roux, X., Montpied, P., Strassmeyer, J., Walcroft, A., Wang, K., Loustau, D., 2002a. Temperature response of parameters of a biochemically based model of photosynthesis. II. A review of experimental data. *Plant, Cell and Environment* 25, 1167–1179. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00891.x>
- Medlyn, B.E., Loustau, D., Delzon, S., 2002b. Temperature response of parameters of a biochemically based model of photosynthesis. I. Seasonal changes in mature maritime pine (*Pinus pinaster* Ait.). *Plant, Cell and Environment* 25, 1155–1165. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2002.00890.x>
- Medrano, H., Tortosa, I., Montes, E., Pou, A., Balda, P., Bota, J., Escalona, J.M., 2018. Genetic improvement of grapevine (*Vitis vinifera* L.) water use efficiency: variability among varieties and clones. In Water Scarcity and Sustainable Agriculture in Semiarid Environment: Tools, Strategies, and Challenges for Woody Crops. First Edition (eds. Garcia Tejero, I.F., Duran Zuazo, V.H.). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813164-0.00016-8>

- Medrano, H., Tomàs, M., Martorell, S., Escalona, J.M., Pou, A., Fuentes, S., Flexas, J., Bota, J., 2014. Improving water use efficiency of vineyards in semi-arid regions. A review. *Agronomy for Sustainable Development* 35, 499–517. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0280-z>
- Medrano, H., Escalona, J.M., Bota, J., Gulías, J., Flexas, J., 2002. Regulation of photosynthesis of C3 plants in response to progressive drought: Stomatal conductance as a reference parameter. *Annals of Botany* 89, 895–905. <https://doi.org/10.1093/aob/mcf079>
- Mira de Orduña, R., 2010. Climate change associated effects on grape and wine quality and production. *Food Research International* 43, 1844–1855. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.05.001>
- Miserere, A., Searles, P.S., Manchó, G., Maseda, P.H., Rousseaux, M.C., 2019. Sap Flow Responses to Warming and Fruit Load in Young Olive Trees. *Frontiers in Plant Science* 10, 1–13. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.01199>
- Montoro, A., López-Urrea, R., Fereres, E., 2016. Role of stomata density in the water use of grapevines. *Acta Horticulturae* 1115, 41–47. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1115.7>
- Morales-Castilla, I., de Cortázar-Atauri, I.G., Cook, B.I., Lacombe, T., Parker, A., van Leeuwen, C., Nicholas, K.A., Wolkovich, E.M., 2020. Diversity buffers winegrowing regions from climate change losses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 117, 2864–2869. <https://doi.org/10.1073/pnas.1906731117>
- Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Hashizume, K., Kitayama, M., 2007a. Effect of high temperature on anthocyanin composition and transcription of flavonoid hydroxylase genes in “Pinot noir” grapes (*Vitis vinifera*). *Journal of Horticultural Science and Biotechnology* 82, 199–206. <https://doi.org/10.1080/14620316.2007.11512220>
- Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M., Hashizume, K., 2007b. Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany* 58, 1935–1945. <https://doi.org/10.1093/jxb/erm055>
- Mosedale, J.R., Abernethy, K.E., Smart, R.E., Wilson, R.J., Maclean, I.M.D., 2016. Climate change impacts and adaptive strategies: lessons from the grapevine. *Global Change Biology* 22, 3814–3828. <https://doi.org/10.1111/gcb.13406>
- OIV, 2017. Organización Internacional de la Vid y el Vino. Distribution of the world's grapevine varieties. <http://www.oiv.int/es/statistiques/?year=2017&countryCode=ARG> (accedido el 19/09/2019)
- Ollat, N., Diakou-Verdin, P., Carde, J.P., Barrieu, F., Gaudillère, J.P., Moing, A., 2002. Grape berry development: A review. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 36, 109–131. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2002.36.3.970>
- Palliotti, A., Tombesi, S., Silvestroni, O., Lanari, V., Gatti, M., Poni, S., 2014. Changes in vineyard establishment and canopy management urged by earlier climate-related grape ripening: A review. *Scientia Horticulturae* 178, 43–54. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.07.039>
- Palliotti, A., Silvestroni, O., Petoumenou, D., 2009. Photosynthetic and photoinhibition behavior of two field-grown grapevine cultivars under multiple summer stresses. *American Journal of Enology and Viticulture* 60, 189–198.
- Parker, A.K., Hofmann, R.W., van Leeuwen, C., McLachlan, A.R.G., Trought, M.C.T., 2015. Manipulating the leaf area to fruit mass ratio alters the synchrony of total soluble solids accumulation and titratable acidity of grape berries. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 21, 266–276. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12132>
- Petrie, P.R., Sadras, V.O., 2008. Advancement of grapevine maturity in Australia between 1993 and 2006: putative causes, magnitude of trends and viticultural consequences. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 14, 33–45. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2008.00005.x>
- Prieto, J.A., 2021. Vinos y Variedades Patrimoniales. Resumen de las Primeras Jornadas Latinoamericanas (ed Prieto, J.A.). INTA Ediciones, Centro Regional Mendoza San Juan, Argentina.
- Prieto, J.A., Lebon, E., Ojeda, H., 2010. Stomatal behavior of different grapevine cultivars in response to soil water status and air water vapor pressure deficit. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 44, 9–20. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2010.44.1.1459>

R Core Team, 2020. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing.

Rienth, M., Vigneron, N., Darriet, P., Sweetman, C., Burbidge, C., Bonghi, C., Walker, R.P., Famiani, F., Castellarin, S.D., 2021. Grape Berry Secondary Metabolites and Their Modulation by Abiotic Factors in a Climate Change Scenario—A Review. *Frontiers in Plant Science* 12. <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.643258>

Rogiers, S.Y., Greer, D.H., Hutton, R.J., Landsberg, J.J., 2009. Does night-time transpiration contribute to anisohydric behaviour in a *Vitis vinifera* cultivar? *Journal of Experimental Botany* 60, 3751–3763. <https://doi.org/10.1093/jxb/erp217>

Romero, P., Fernández-Fernández, J.I., Martínez-Cutillas, A., 2010. Physiological thresholds for efficient regulated deficit-irrigation management in winegrapes grown under semiarid conditions. *American Journal of Enology and Viticulture* 61, 300–312.

Sadok, W., Lopez, J.R., Smith, K.P., 2021. Transpiration increases under high-temperature stress: Potential mechanisms, trade-offs and prospects for crop resilience in a warming world. *Plant, Cell and Environment* 44, 2102-2116. <https://doi.org/10.1111/pce.13970>

Sadras, V.O., Moran, M.A., 2012. Elevated temperature decouples anthocyanins and sugars in berries of Shiraz and Cabernet Franc. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 18, 115–122. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2012.00180.x>

Sadras, V.O., Soar, C.J., 2009. Shiraz vines maintain yield in response to a 2-4 °C increase in maximum temperature using an open-top heating system at key phenostages. *European Journal of Agronomy* 31, 250–258. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2009.09.004>

Sadras, V.O., Petrie, P.R., Moran, M.A., 2013. Effects of elevated temperature in grapevine. II juice pH, titratable acidity and wine sensory attributes. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 19, 107–115. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12001>

Sadras, V.O., Montoro, A., Moran, M.A., Aphalo, P.J., 2012. Elevated temperature altered the reaction norms of stomatal conductance in field-grown grapevine. *Agricultural and Forest Meteorology* 165, 35–42. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2012.06.005>

Sadras, V.O., Reynolds, M.P., de la Vega, A.J., Petrie, P.R., Robinson, R., 2009a. Phenotypic plasticity of yield and phenology in wheat, sunflower and grapevine. *Field Crops Research* 110, 242-250. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2008.09.004>

Sadras, V.O., Soar, C.J., Hayman, P.H., McCarthy, M.G., 2009b. Managing grapevines in variable climates : The impact of temperature. Final Report to Grape and Wine Research and Development Corporation. South Australian Research and Development Institute, Australia.

Sage, R.F., Kubien, D.S., 2007. The temperature response of C3 and C4 photosynthesis. *Plant, Cell and Environment* 30, 1086–1106. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01682.x>

Salazar-Parra, C., Aranjuelo, I., Pascual, I., Erice, G., Sanz-Sáez, Á., Aguirreolea, J., Sánchez-Díaz, M., Irigoyen, J.J., Araus, J.L., Morales, F., 2015. Carbon balance, partitioning and photosynthetic acclimation in fruit-bearing grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Tempranillo) grown under simulated climate change (elevated CO₂, elevated temperature and moderate drought) scenarios in temperature gradient gre. *Journal of Plant Physiology* 174, 97–109. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2014.10.009>

Salazar-Parra, C., Aguirreolea, J., Sánchez-Díaz, M., Irigoyen, J.J., Morales, F., 2012. Photosynthetic response of Tempranillo grapevine to climate change scenarios. *Annals of Applied Biology* 161, 277–292. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2012.00572.x>

Salvucci, M.E., Crafts-Brandner, S.J., 2004. Inhibition of photosynthesis by heat stress: the activation state of Rubisco as a limiting factor in photosynthesis. *Physiologia Plantarum* 120, 179–186. <https://doi.org/10.1111/j.0031-9317.2004.0173.x>

Sanchez, E., 2020. Programa Nacional Frutales. Superficie ocupada por plantaciones frutales en el país y cambios en su estructura productiva (ed Sanchez, E.). INTA Ediciones, Estación Experimental Agropecuaria

Balcarce, Argentina.

- Santillán, D., Iglesias, A., La Jeunesse, I., Garrote, L., Sotes, V., 2019. Vineyards in transition: A global assessment of the adaptation needs of grape producing regions under climate change. *Science of the Total Environment* 657, 839–852. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.12.079>
- Schultz, H.R., 2003a. Differences in hydraulic architecture account for near- isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars. *Plant, Cell and Environment* 26, 1393–1405. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3040.2003.01064.x>
- Schultz, H.R., 2003b. Extension of a Farquhar model for limitations of leaf photosynthesis induced by light environment, phenology and leaf age in grapevine (*Vitis vinifera* L. cvv. White Riesling and Zinfandel). *Functional Plant Biology* 30, 673–687. [https://doi.org/10.1016/0005-2744\(75\)90216-8](https://doi.org/10.1016/0005-2744(75)90216-8)
- Servicio Meteorológico Nacional. <https://www.smn.gob.ar/estadisticas> (accedido el 13/05/2021).
- Sharkey, T.D., 1985. O₂-insensitive photosynthesis in C3 plants: its occurrence and a possible explanation. *Plant Physiology* 78, 71–75. <https://doi.org/10.1104/pp.78.1.71>
- Sharkey, T.D., Bernacchi, C.J., Farquhar, G.D., Singsaas, E.L., 2007. Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant, Cell and Environment* 30, 1035–1040. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3040.2007.01710.x>
- Slot, M., Winter, K., 2017. Photosynthetic acclimation to warming in tropical forest tree Seedlings. *Journal of Experimental Botany* 68, 2275–2284. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx071>
- Soar, C.J., Collins, M.J., Sadras, V.O., 2009. Irrigated Shiraz vines (*Vitis vinifera*) upregulate gas exchange and maintain berry growth in response to short spells of high maximum temperature in the field. *Functional Plant Biology* 36, 801–814. <https://doi.org/10.1071/FP09101>
- Soar, C.J., Speirs, J., Maffei, S.M., Penrose, A.B., McCarthy, M.G., Loveys, B.R., 2006. Grape vine varieties Shiraz and Grenache differ in their stomatal response to VPD: Apparent links with ABA physiology and gene expression in leaf tissue. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 12, 2–12. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2006.tb00038.x>
- Stinziano, J.R., Way, D.A., Bauerle, W.L., 2018. Improving models of photosynthetic thermal acclimation: Which parameters are most important and how many should be modified? *Global Change Biology* 24, 1580–1598. <https://doi.org/10.1111/gcb.13924>
- Sun, Y., Geng, Q., Du, Y., Yang, X., Zhai, H., 2017. Induction of cyclic electron flow around photosystem I during heat stress in grape leaves. *Plant Science* 256, 65–71. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2016.12.004>
- Sweetman, C., Sadras, V.O., Hancock, R.D., Soole, K.L., Ford, C.M., 2014. Metabolic effects of elevated temperature on organic acid degradation in ripening *Vitis vinifera* fruit. *Journal of Experimental Botany* 65, 5975–5988. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru343>
- Taiz, L., Zeiger, E., 2015a. Photosynthesis: The Carbon Reactions. En *Plant Physiology and Development*. Sixth Edition. (eds Taiz, L, Zeiger, E.). <https://doi.org/10.4324/9780429492556-8>
- Taiz, L., Zeiger, E., 2015b. Stomatal Biology. En *Plant Physiology and Development*. Sixth Edition (eds Taiz, L, Zeiger, E.). <https://doi.org/10.4324/9780429492556-8>
- Taiz, L., Zeiger, E., 2015c. Abiotic Stress. En *Plant Physiology and Development*. Sixth Edition (eds Taiz, L, Zeiger, E.). <https://doi.org/10.4324/9780429492556-8>
- Taiz, L., Zeiger, E., 2015d. Photosynthesis: Physiological and Ecological Considerations. En *Plant Physiology and Development*. Sixth Edition (eds Taiz, L, Zeiger, E.). <https://doi.org/10.4324/9780429492556-8>
- Tarara, J.M., Hoheisel, G.A., 2007. Low-cost shielding to minimize radiation errors of temperature sensors in the field. *HortScience* 42, 1372–1379. <https://doi.org/10.21273/hortsci.42.6.1372>
- Tardieu, F., Simonneau, T., 1998. Variability among species of stomatal control under fluctuating soil water status and evaporative demand: modelling isohydric and anisohydric behaviours. *Journal of Experimental Botany* 49, 419–432. https://doi.org/10.1093/jxb/49.special_issue.419

- Terashima, I., Hanba, Y.T., Tholen, D., Niinemets, Ü., 2011. Leaf functional anatomy in relation to photosynthesis. *Plant physiology* 155, 108–116. <https://doi.org/10.1104/pp.110.165472>
- Thornley, J.H.M., France, J., 2007. Role of mathematical models. En Mathematical Models in Agriculture: Quantitative Methods for the Plant, Animal and Ecological Sciences. Second edition (eds Thornley, J.H.M, France, J.). CABI, Reino Unido. <https://doi.org/10.1079/9780851990101.0000>
- Tomás, M., Medrano, H., Escalona, J.M., Martorell, S., Pou, A., Ribas-Carbó, M., Flexas, J., 2014. Variability of water use efficiency in grapevines. *Environmental and Experimental Botany* 103, 148–157. <http://dx.doi.org/10.1016/j.envexpbot.2013.09.003>
- Tonietto, J., Carbonneau, A., 2004. A multicriteria climatic classification system for grape-growing regions worldwide. *Agricultural and Forest Meteorology* 124, 81–97. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2003.06.001>
- Trentacoste, E.R., Sadras, V.O., Puertas, C.M., 2011. Effects of the source:sink ratio on the phenotypic plasticity of stem water potential in olive (*Olea europaea* L.). *Journal of Experimental Botany* 62, 3535–3543. <https://doi.org/10.1093/jxb/err044>
- Urban, J., Ingwers, M.W., McGuire, M.A., Teskey, R.O., 2017a. Increase in leaf temperature opens stomata and decouples net photosynthesis from stomatal conductance in *Pinus taeda* and *Populus deltoides* x *nigra*. *Journal of Experimental Botany* 68, 1757–1767. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx052>
- Urban, J., Ingwers, M., McGuire, M.A. and Teskey, R.O., 2017b. Stomatal conductance increases with rising temperature. *Plant Signaling and Behavior* 12. <https://doi.org/10.1080/15592324.2017.1356534>
- Vallone, R.C., 1998. Influencia del estado hídrico sobre desarrollo, rendimiento y calidad enológica en vid. Tesis de Maestría en Riego y Drenaje. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Cuyo.
- Van Leeuwen, C., Destrac-Irvine, A., 2017. Modified grape composition under climate change conditions requires adaptations in the vineyard. *OENO One* 51, 147–154. <https://doi.org/10.20870/oenone.2017.51.2.1647>
- Van Leeuwen, C., Destrac-Irvine, A., Dubernet, M., Duchêne, E., Gowdy, M., Marguerit, E., Pieri, P., Parker, A., De Rességuier, L., Ollat, N., 2019. An update on the impact of climate change in viticulture and potential adaptations. *Agronomy* 9 (9), 514. <https://doi.org/10.3390/agronomy9090514>
- Vico, G., Way, D.A., Hurry, V., Manzoni, S., 2019. Can leaf net photosynthesis acclimate to rising and more variable temperatures? *Plant Cell and Environment* 42, 1913–1928. <https://doi.org/10.1111/pce.13525>
- Vila, H.F., Paladino, S.C., Nazrala, J.J.B., Lucero, C.C., 2010. Manual de calidad uva : guía práctica para conocer y evaluar la calidad de uva para vino. INTA Ediciones, Centro Regional Mendoza San Juan, Argentina.
- Villalba, R., 2007. Cambios Climáticos Regionales en el Contexto del Calentamiento Global.
- Villalobos-González, L., Muñoz-Araya, M., Franck, N., Pastenes, C., 2019. Controversies in Midday Water Potential Regulation and Stomatal Behavior Might Result From the Environment, Genotype, and/or Rootstock: Evidence From Carménère and Syrah Grapevine Varieties. *Frontiers in Plant Science* 0, 1522. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2019.01522>
- Walcroft, A., Le Roux, X., Diaz-Espejo, A., Dones, N., Sinoquet, H., 2002. Effects of crown development on leaf irradiance, leaf morphology and photosynthetic capacity in a peach tree. *Tree Physiology* 22, 929–938. <https://doi.org/10.1093/TREEPHYS/22.13.929>
- Warton, D.I., Duursma, R.A., Falster, D.S., Taskinen, S., 2018. Package “smatr”. Standardised Major Axis Estimation and testing Routines. Repository CRAN. <https://doi.org/10.1111/j.2041-210X.2011.00153.x>
- Way, D.A., Yamori, W., 2014. Thermal acclimation of photosynthesis: On the importance of adjusting our definitions and accounting for thermal acclimation of respiration. *Photosynthesis Research* 119, 89–100. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9873-7>
- Weston, D., Bauerle, W.L., 2007. Inhibition and acclimation of C3 photosynthesis to moderate heat: perspective from thermally contrasting genotypes of *Acer rubrum* (red maple). *Tree Physiology* 27, 1083–1092. <https://doi.org/10.1093/treephys/27.8.1083>

- Winkler, A., Cook, J., Kliewer, W., Lider, L., 1974. General viticulture. University of California Press.
- Wolkovich, E.M., García De Cortázar-Atauri, I., Morales-Castilla, I., Nicholas, K.A., Lacombe, T., 2018. From Pinot to Xinomavro in the world's future wine-growing regions. *Nature Climate Change* 8 (1), 29-37. <https://doi.org/10.1038/s41558-017-0016-6>
- Wolkovich, E. M., Burge, D. O., Walker, M. A., Nicholas, K. A., 2017. Phenological diversity provides opportunities for climate change adaptation in winegrapes. *Journal of Ecology* 105 (4), 905-912. <https://doi.org/10.1111/1365-2745.12786>
- Yamori, W., Hikosaka, K., Way, D.A., 2014. Temperature response of photosynthesis in C3, C4, and CAM plants: Temperature acclimation and temperature adaptation. *Photosynthesis Research* 119, 101–117. <https://doi.org/10.1007/s11120-013-9874-6>
- Zaka, S., Frak, E., Julier, B., Gastal, F., Louarn, G., 2016. Intraspecific variation in thermal acclimation of photosynthesis across a range of temperatures in a perennial crop. *AoB PLANTS* 8, plw035. <https://doi.org/10.1093/aobpla/plw035>
- Zhou, H., Xu, M., Hou, R., Zheng, Y., Chi, Y., Ouyang, Z., 2018. Thermal acclimation of photosynthesis to experimental warming is season-dependent for winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Environmental and Experimental Botany* 150, 249–259. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2018.04.001>
- Zufferey, V., 2016. Leaf respiration in grapevine (*Vitis vinifera* 'Chasselas') in relation to environmental and plant factors. *Vitis - Journal of Grapevine Research* 55, 65–72. <https://doi.org/10.5073/vitis.2016.55.65-72>
- Zufferey, V., Murisier, F., 2002. Photosynthèse des feuilles de vigne (cv Chasselas). II, Adaptation aux conditions environnementales. *Revue Suisse de Viticulture, d'Arboriculture et d'Horticulture* 34, 197–204.
- Zufferey, V., Cochard, H., Ameglio, T., Spring, J.L., Viret, O., 2011. Diurnal cycles of embolism formation and repair in petioles of grapevine (*Vitis vinifera* cv. Chasselas). *Journal of Experimental Botany* 62, 3885–3894. <https://doi.org/10.1093/jxb/err081>