



**UNCUYO**  
UNIVERSIDAD  
NACIONAL DE CUYO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

TESIS DE MAESTRÍA

RESPUESTAS FISIOLÓGICAS A ESTRÉS SALINO E HÍDRICO EN  
*VITIS VINIFERA L.* (CV. CABERNET SAUVIGNON) SOBRE DOS  
PORTAINJERTOS

MAESTRÍA EN VITICULTURA Y ENOLOGÍA

CLAUDIA CECILIA LUCERO

Director: MARINA DI FILIPPO

Codirector: HERNÁN F. VILA

Mendoza, 2017

## DEDICATORIA

Quisiera dedicar este trabajo a mi familia por todo el apoyo y afecto que me brindaron. A mi querido hijo Adrián, quien llegó con su amor y luz durante el cursado de esta Maestría, y a quien le robé horas compartidas para poder cumplir esta meta personal y profesional.

## AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a,

Al Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria EEA Mendoza (INTA), por brindarme la posibilidad de crecer y capacitarme en mi carrera académica, lo cual nunca había sido valorado en mis trabajos previos al ingreso a esta institución.

A mis queridos compañeros de trabajo del Laboratorio de Viticultura que me ayudaron en todo momento no sólo en diversas actividades durante el proceso de investigación, sino también por su sostén y contención: Hernán Vila, Rodolfo Martos, Ángel de Biazi, Marina Di Filippo, Inés Hugalde y Dante Gamboa.

A Hernán Vila por su guía y enseñanza permanente durante todos los días desde mi ingreso al INTA.

A Dante Gamboa, por su valiosa ayuda en los análisis realizados en el Laboratorio de Viticultura.

A Norma Piralisi por su colaboración permanente en la búsqueda de información.

A Flavia Filippini y Matías Venier, por su colaboración en el Laboratorio de Química Agrícola de la FCA de la UNCuyo.

A mi directora de tesis Marina Di Filippo, por su ayuda y paciencia durante este período.

## RESUMEN

En zonas áridas bajo riego, los viñedos enfrentan condiciones de déficit hídrico y salinidad. Como frecuentemente estos factores de estrés ocurren simultáneamente, es difícil evaluar la gravedad relativa de cada uno de ellos. En la viticultura mundial se encuentra difundido el uso de portainjertos debido a su tolerancia a factores bióticos y abióticos (e.g. sequía o exceso de sales). El objetivo del trabajo fue evaluar el comportamiento de plantas de *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon injertadas sobre 101-14Mgt y 1103P en situaciones de estrés salino, comparándolo con el de plantas sometidas a déficit hídrico equiparable en potencial hídrico foliar. Para ello se realizó un experimento en macetas con tres tratamientos: estrés salino (Salino, 80 mM NaCl), estrés hídrico (EH; 0,4 fracción de agua edáfica transpirable) y testigo sin estrés (T). En la etapa final, ambos tratamientos de estrés disminuyeron un 45% el potencial hídrico foliar mediodía ( $\Psi_{LMD}$ ) respecto al testigo, presentando un valor de -1,3 MPa. Luego de 54 días, Salino afectó menos la superficie foliar y la longitud de brotes que EH. Ambos tipos de estrés disminuyeron un 52% la biomasa de la planta respecto al T, aunque la partición a los distintos órganos fue distinta. Salino acumuló más biomasa en la parte aérea y EH en la raíz. Salino provocó un mayor ajuste osmótico en las hojas que EH. Sólo EH redujo la clorofila en hojas. Aunque la conductancia estomática se redujo igual en ambos tratamientos de estrés (-41% respecto del T), la fotosíntesis neta presentó una interacción entre tipo de estrés y portainjerto. El portainjerto 1103P mostró mayor poder de exclusión de  $\text{Na}^+$  que 101-14Mgt (acumuló 21% menos en planta), pero no presentó diferencias en la entrada de  $\text{Cl}^-$ . A pesar de que el comportamiento de las plantas fue similar para ambos portainjertos, la mayor exclusión de 1103P lo hace más propicio frente situaciones de salinidad.

**PALABRAS CLAVE:** salinidad, estrés abiótico, tolerancia, 1103P, 101-14Mgt

## ABSTRACT

Vineyards grown in arid regions often face water deficit and high salinity conditions. As these two stress factors frequently occur together, it becomes complex to differentiate their relative effects. In addition, rootstocks are considered valuable tools for viticulturists worldwide, conferring tolerance to biotic and abiotic factors. The objective of this research was to compare the behavior of *Vitis vinifera* cv. Cabernet sauvignon plants, grafted onto 1103 P and 101-14Mgt, when subjected to salinity and water deficit, under matched leaf water potential values. The experiment was conducted in potted plants under three treatments: salinity (Salino, 80 mM NaCl), water deficit (EH, 0.4 FTSW) and control under no stress (T). At the end of the experiment, both stress treatments reduced their  $\Psi_{LMD}$  45%, compared to T, achieving -1.3 MPa. After day 54, Salino had not affected leaf area and shoot growth as much as EH. Both stresses reduced plant biomass 52% with respect to T, but presenting a different partitioning index. Salino accumulated more canopy biomass, while EH accumulated more root biomass. Only EH reduced leaf chlorophyll, while Salino caused a higher osmotic adjustment than EH. Even though stomatal conductance was reduced in both stress treatments (-41% compared to T), net photosynthesis showed significant interaction between stress and rootstock. 1103P had higher sodium exclusion than 101-14Mgt, accumulating 21% less Na in the plant. However, they did not show differences in Cl intake. Even though the plant's behavior was similar between rootstocks, the higher exclusion of 1103P makes it more suitable for salinity stress conditions.

Keywords: salinity, water deficit, tolerance, 1103P, 101-14Mgt

## INDICE

DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
INDICE.....	VI
LISTA DE TABLAS.....	VII
LISTA DE FIGURAS.....	X
1.INTRODUCCIÓN.....	12
<b>1.1 El estrés salino e hídrico en las plantas</b> .....	15
Estrés salino.....	15
Estrés hídrico.....	21
Estrés hídrico vs salinidad.....	23
<b>1.2 Portainjertos de vid</b> .....	25
<b>1.3 Objetivos e hipótesis</b> .....	30
2 ENSAYO 1.....	32
2.1 Materiales y métodos.....	32
2.2 Resultados.....	33
3 ENSAYO 2.....	36
3.1 Materiales y métodos.....	36
3.2 Resultados.....	45
4 DISCUSIÓN.....	67
5 CONCLUSIONES.....	75
PRINCIPALES APORTES DEL TRABAJO.....	75
6	
BIBLIOGRAFÍA.....	77
7	

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Principales características de los portainjertos más usados en la viticultura moderna (May, 1994 y Pongrácz, 1983 en Keller, 2010). Escala: 1 baja, 2 pobre, 3 media, 4 alta y 5 excelente.....	29
<b>Tabla 2:</b> Análisis del sustrato utilizado en las macetas (arena).....	38
<b>Tabla 3:</b> Valores analíticos del agua utilizada para el riego del ensayo, antes de la adición de fertilizante.....	39
<b>Tabla 4:</b> Conductividades eléctricas del agua de riego en cada tratamiento (testigo,T; estrés hídrico, DH y riego salino, SAL).....	39
<b>Tabla 5:</b> Conductividades eléctricas, contenidos de $\text{Ca}^{+2}$ , $\text{Mg}^{+2}$ , $\text{Na}^{+}$ y $\text{Cl}^{-}$ , RAS y pH de pastas saturadas de muestras compuestas en suelos de plantas en macetas de Cabernet Sauvignon sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T), luego de 54 días de ensayo.....	46
<b>Tabla 6:</b> Longitud de brotes (LB), superficie foliar total (SFT), peso fresco de la planta, del tallo, hojas y raíz, en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt), luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....	47
<b>Tabla 7:</b> Biomasa de los distintos órganos de la planta ( $C_{\text{tallo}}$ , $C_{\text{hojas}}$ y $C_{\text{raíz}}$ ), parte aérea ( $C_{\text{aéreo}}$ ), $C_{\text{planta}}$ , relación $C_{\text{raíz}}/C_{\text{aéreo}}$ y profundidad máxima de raíz; en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....	49
<b>Tabla 8:</b> Contenido de agua por materia seca en hojas (Agua hoja) y planta (Agua planta), densidad foliar, succulencia de las hojas, materia seca por superficie foliar (MA); en Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....	50
<b>Tabla 9:</b> Área de células epidérmicas de la hoja en cara adaxial (Área Ad) y abaxial (Área Ab), total de células epidérmicas por planta (M), densidad estomática foliar (DE) e índice estomático (IE); en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos 8.....	51
<b>Tabla 10:</b> Fotosíntesis neta (A), conductancia estomática ( $g_s$ ), transpiración (E), fotosíntesis de la planta ( $A_{\text{planta}}$ ) y la eficiencia en el uso de agua fotosintética ( $\text{EUA}_{\text{fot}}$ ) medidas el 2/01/13, y la eficiencia de uso del agua para producir biomasa (C/E); en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....	54
<b>Tabla 11:</b> Potencial hídrico foliar mediodía ( $\Psi_{\text{LMD}}$ ) una vez que la solución de riego alcanzó los 80 mM NaCl (21/12/12) y al final del ensayo (16/01/13) y potencial osmótico de hojas ( $\Psi_{\text{TH}}$ ); en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos	

(1103P y 101-14Mgt) sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....55

**Tabla 12:** Contenido de clorofila A y B por materia seca en muestras de tejido foliar en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....56

**Tabla 13:** Concentraciones de Na<sup>+</sup> (% materia seca), en distintos órganos (limbos, pecíolos, tallos y raíces), en plantas de plantas Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....57

**Tabla 14:** Contenido de Na<sup>+</sup> en planta entera y distintos órganos (hojas, tallo y raíz) en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores entre paréntesis indican el porcentaje de este ión en cada órgano. Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....58

**Tabla 15:** Concentraciones de Cl<sup>-</sup> (% materia seca), en distintos órganos (limbos, pecíolos, tallos y raíces) en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....59

**Tabla 16:** Contenido de Cl<sup>-</sup> en planta entera y distintos órganos (hoja, raíz y tallo) en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores entre paréntesis indican el porcentaje de este ión en cada órgano. Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....60

**Tabla 17:** Concentración de Cl<sup>-</sup> en agua del tejido foliar de plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....60

**Tabla 18:** Concentraciones de K<sup>+</sup> (% materia seca), en distintos órganos (pecíolo, tallos, limbo y raíces); relación K/Na en plantas y limbo de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....62

**Tabla 19:** Concentraciones de Ca<sup>+2</sup> (% materia seca), en limbos, pecíolos, tallos y raíces de plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....63

**Tabla 20:** Concentraciones de Mg<sup>+2</sup> (% materia seca), en limbos, raíces, pecíolo y tallos, y contenido total en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.....64

**Tabla 21:** Afectación de variables vegetativas, fisiológicas y contenidos iónicos en plantas sometidas a salinidad y déficit hídrico, respecto al T sin estrés. ↓Detrimiento, ↑Aumento, – Sin afectación. Dos flechas más afectada, una flecha menos afectada. \*I, indica que hubo interacción entre portainjertos y tipo de estrés.....65

**Tabla 22:** Principales diferencias entre los portainjertos 1103P y 101-14Mgt. Símbolos: + más, - menos.....66

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1:** Fases de afectación de la expansión foliar por salinidad (S, M, T son tres genotipos con distinta tolerancia a iones tóxicos, sensible, medio y tolerante; Munns, 1993).....17
- Figura 2:** Esquema de progenitores de portainjertos usados en la viticultura moderna (modificado de Keller, 2010).....25
- Figura 3:** Evolución del potencial hídrico de xilema ( $\Psi_{xi}$ ) y la concentración de NaCl en la solución edáfica, correspondientes a plantas sometidas a riego con soluciones de concentraciones crecientes de NaCl (las plantas se mantenían en capacidad de campo,  $\theta=31\%$  en vol). Valores promedios  $\pm$  error estándar,  $n=3$ .....34
- Figura 4:** Evolución de humedad de suelo ( $\theta$ ) y potencial xilema ( $\Psi_{xi}$ ) en plantas sometidas a DH desde día el día 1 hasta el día 22. Valores promedios  $\pm$  error estándar,  $n=3$ .....35
- Figura 5:** Sistema de riego y drenaje continuo utilizado para los tratamientos de riego salino y testigo en vides cv. Cabernet Sauvignon sobre portainjertos 1103P y 101-14 Mgt.....37
- Figura 6:** Marcha de humedad de suelo ( $\theta$ ) a intervalos de una hora en suelos de plantas en macetas de Cabernet Sauvignon sometidas a déficit hídrico (DH), y sin estrés (T).....45
- Figura 7:** Plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos luego de 54 días sin tratamientos de estrés, la escala representa 20 cm de longitud; (a) 1103P y (b) 101-14Mgt.....47
- Figura 8:** Plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos, luego de 54 días con riego salino (80 mM de NaCl), la escala representa 20 cm de longitud; (a) 1103P y (b) 101-14Mgt.....48
- Figura 9:** Plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos, luego de 54 días con déficit hídrico (0,4 FAET), la escala representa 20 cm de longitud; (a) 1103P y (b) 101-14Mgt.....48
- Figura 10:** Área promedio de células epidérmicas de cara adaxial y abaxial de la hoja, en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (SAL), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios  $\pm$  error estándar,  $n=4$ .....51
- Figura 11:** Índice estomático promedio ( $N^{\circ}$  estomas/ $N^{\circ}$  células totales) y densidad estomática ( $N^{\circ}$  estomas por  $mm^2$ ) en hojas de plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (SAL), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios  $\pm$  error estándar,  $n=4$ .....52
- Figura 12:** Microfotografías de improntas de epidermis abaxial de hojas de vid cv. Cabernet Sauvignon sobre 1103P, creciendo sin condiciones de estrés (a), con DH (b) y riego de 80 mM de NaCl (c).....52

**Figura 13:** Fotosíntesis neta (A), eficiencia en el uso de agua fotosintética ( $EUA_{\text{fot}}$ ) en hojas de plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios  $\pm$  error estándar, n=4.....54

**Figura 14:** Relaciones entre fotosíntesis neta (A) y concentración en limbos de  $Cl^-$  y  $Na^+$ , en hojas de plantas Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) sometidas a salinidad (SAL ■), déficit hídrico (DH ▲) y sin estrés (T ♦).....61

**Figura 15:** Concentración de  $Mg^{+2}$  en limbo y raíz (% materia seca), en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Las barras indican los errores estándares, n=4.....64

## 1.INTRODUCCIÓN

Las plantas pueden soportar en forma temporal o permanente condiciones ambientales que limitan su potencial de crecimiento, causando lo que se conoce como estrés (Reigosa *et al.* 2004). El estrés puede reducir la tasa de alguno o varios procesos fisiológicos (e.g. absorción de agua y nutrientes, fotosíntesis, crecimiento) por debajo de la tasa máxima que la planta tendría en condiciones adecuadas. Existen numerosos factores que limitan el crecimiento y desarrollo de las plantas. Cuando el estrés es causado por factores ambientales y no por organismos, se denomina abiótico. Dentro de los factores abióticos de estrés se encuentran aquellos producidos por temperaturas desfavorables, déficit o exceso de agua, factores químicos (iones tóxicos, salinidad o deficiencias de nutrientes), exceso o déficit de radiación u otras agresiones como heridas o vientos.

La salinidad es uno de los tipos de estrés que más daño causa a los cultivos. Se conoce por el término de salinidad a la concentración de sales solubles en el agua edáfica y en el suelo (Vallone & Nijensohn, 2002). Se estima que el 20% del área irrigada mundial sufre este problema (FAO, 2008) y en algunos países como Argentina, los cultivos de zonas salinas disminuyen más del 35% su productividad (Lavado, 2008). En la región oeste de la Argentina los factores más estresantes para los cultivos son el déficit hídrico y la salinidad. Esto se debe a que dicha región presenta un clima continental semiárido y árido (con una relación entre precipitación media anual y evapotranspiración potencial inferior a 0,65). En esta zona, los suelos están en riesgo de salinizarse ya que la evapotranspiración supera al volumen de agua incorporada al suelo, provocando la concentración de las sales disueltas en la solución edáfica. La provincia de Mendoza, ubicada en esta región, presenta la mayor superficie regada del país (Ortiz-Maldonado *et al.*, 2005). En ella, la agricultura es la mayor demandante del recurso hídrico, compitiendo con el consumo humano, el industrial y el energético (Morábito *et al.* 2005). Estos autores, también observaron que la superficie afectada por salinidad se incrementó un 59% desde el año 1973 al 2002, en suelos mendocinos del oasis norte (irrigados por el río Mendoza). Además, se cree que las condiciones de salinidad en áreas bajo riego se incrementarán aún más como consecuencia del cambio climático (IPCC, 2007). También se estima que la oferta de agua de riego seguirá disminuyendo debido a la creciente demanda para uso humano, agravando aún más esta situación (Morábito *et al.*, 2005). Además de la cantidad de agua también es importante su calidad, la cual se mide en función de su nivel salino (conductividad

eléctrica, CE) y el contenido de iones tóxicos como  $\text{Cl}^-$  o  $\text{Na}^+$ . El uso de agua de mala calidad para el riego de los cultivos y situaciones de mal drenaje son las principales causas de salinidad en suelos agrícolas mendocinos (Vallone & Nijensohn, 2002).

El estrés salino y el hídrico provocan inicialmente respuestas semejantes, ya que ambos reducen la incorporación de agua a la planta; con la consiguiente disminución de su potencial hídrico, crecimiento, conductancia estomática y fotosíntesis (Tattersall *et al.*, 2007; Meggio *et al.*, 2014). No obstante la salinidad, a diferencia del estrés hídrico, expone a las raíces a altas concentraciones de sal, lo cual puede producir toxicidad iónica (Munns & Tester, 2008). Existen trabajos en vid que muestran que el estrés hídrico afecta más el crecimiento que el salino, aunque ambos presentan semejanzas en la expresión génica y síntesis de metabolitos (Cramer *et al.*, 2007; Vincent *et al.*, 2007). Sin embargo, estos autores no estudiaron otras respuestas fisiológicas (e.g. fotosíntesis, transpiración, reparto de biomasa) a niveles equiparables de potencial agua. Estas respuestas podrían dilucidar semejanzas y diferencias importantes entre estos factores de estrés. Por otro lado, en estos trabajos tampoco evaluaron distintos portainjertos.

En la viticultura mundial, el uso de portainjertos surgió ante la necesidad de contrarrestar situaciones de estrés bióticos como la filoxera. Luego, se observó que algunos de estos portainjertos también presentaban tolerancia a otros patógenos (e.g. nemátodes) y a condiciones de salinidad y déficit hídrico (Hardie, 2000). Si bien en Argentina la implantación de viñedos injertados es reducida (90% se cultiva a pie franco; INV, 2009), se considera que el uso de portainjertos es una de las herramientas más importantes para paliar las condiciones estresantes y permitir la sustentabilidad de la vitivinicultura a través de los años.

A nivel local, existen pocos trabajos publicados que hayan evaluado el comportamiento de dos portainjertos de vid frente a salinidad y déficit hídrico. Además, nunca se han comparado niveles semejantes de estos dos tipos de estrés. Sumado a esto, aunque la bibliografía mundial identifica a algunos portainjertos como más tolerantes a sales o déficit hídrico, es importante evaluar localmente combinaciones injerto-portainjerto de interés para nuestra región. La variabilidad de los resultados en estudios previos y la escasa información local producen en los viticultores un gran desconocimiento e incertidumbre sobre el tema. Esto conlleva a errores en la elección adecuada de portainjertos para la implantación de un viñedo.

Por esta razón, se propuso estudiar las respuestas fisiológicas de dos portainjertos (1103P y 101-14 Mgt) injertados con cv. Cabernet Sauvignon frente a condiciones de salinidad, y comparar estas respuestas con plantas sometidas a un déficit hídrico equivalente. Se eligió utilizar esta variedad, ya que es la tercera tinta de vinificar más cultivada en Mendoza, con el 11% de la superficie provincial (INV, 2009). La elección de estos portainjertos se debe a que son los más vendidos en viveros de nuestra zona (comunicación personal de Viveros).

La tesis está organizada en 6 capítulos. En el primero, se presenta el marco teórico con dos temas: el estrés salino e hídrico en plantas con especial énfasis en vid y portainjertos en la vid. Este capítulo termina exhibiendo los objetivos e hipótesis. En el segundo capítulo se presenta el Ensayo 1, con metodología y resultados. En el tercer capítulo se presenta el Ensayo 2, con metodología y resultados. En el cuarto capítulo se muestra la discusión. El quinto y sexto capítulo exhiben las conclusiones y bibliografía, respectivamente.

## 1.1.El estrés salino e hídrico en las plantas

### Estrés salino

Todos los suelos y aguas de riego contienen sales solubles; si éstas superan determinadas concentraciones causan daños a las plantas, englobándose este fenómeno en lo que se conoce como salinidad. La salinidad es frecuente en muchos suelos de Mendoza como en los de otras zonas áridas. En esta región del oeste de Argentina, la mayoría de los suelos derivan de la deposición de materiales de las rocas cordilleranas luego de ser transportados por agentes como el agua, el viento, la gravedad, los glaciares y lagunas antiguas. En general estos suelos no presentan diferenciación genésica del perfil, debido a que la escasa precipitación inhibe los procesos edáficos de maduración. En zonas de poco drenaje o cuencas sin salida, se han desarrollado suelos de tipo salino-alcálico, los cuales presentan problemas para su uso agrícola. En los suelos mendocinos, en general, predomina la presencia de calcáreo y yeso (sales cálcicas), excepto en algunas áreas donde son mayores las sales sódicas dando lugar a lo que se conoce como “salitre negro”. Los suelos salinos de esta zona contienen principalmente sales como sulfatos y cloruros de calcio, magnesio y sodio. Debido a que generalmente dominan los sulfatos de calcio, los suelos que no presentan problemas de drenaje pueden recuperarse para la agricultura mediante lavados. Se trata de suelos salinos sódicos potencialmente no sódicos por la presencia de alto contenido de  $\text{Ca}^{+2}$  intercambiable (Vallone & Nijensohn, 2002).

La salinidad produce daño en las plantas en función del genotipo, del tiempo de exposición a la condición salina y del tipo de iones (Munns, 2002). La salinidad produce una disminución del potencial agua del suelo ( $\Psi_{\text{suelo}}$ ) debido a la disminución del potencial osmótico ( $\Psi_{\pi}$ ), lo cual reduce el movimiento del agua a la planta. Esta reducción del  $\Psi_{\pi}$  está expresada en la ecuación de Van't Hoff (ecuación 1).

$$\Psi_{\pi} = c \times R \times T \quad (1)$$

donde,

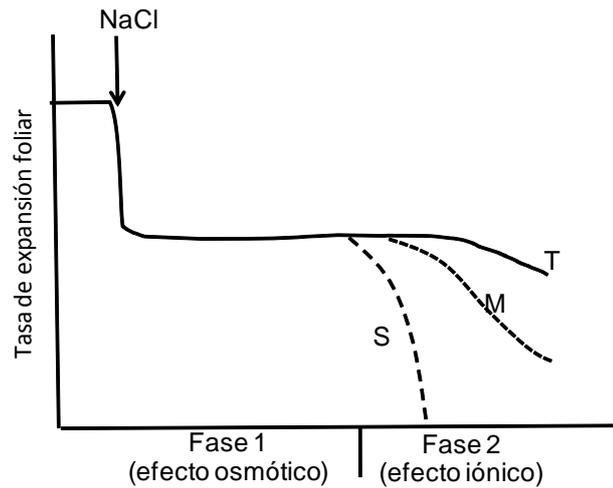
$\Psi_{\pi}$ : potencial osmótico (MPa)

c: concentración de la solución (moles de soluto por kg de  $\text{H}_2\text{O}$ )

RxT: constante  $2,48 \text{ MPa mol}^{-1}$  (a  $25^\circ \text{ C}$ )

Para medir la salinidad en la solución del suelo o en el agua de riego, se utiliza el contenido total de sales solubles (en ppm) o más correctamente su conductividad eléctrica (CE,  $\text{dS m}^{-1}$  a  $25^\circ \text{ C}$ ). Un suelo es considerado salino cuando el extracto de saturación tiene una CE superior a  $4 \text{ dS m}^{-1}$  con un porcentaje de sodio intercambiable menor de 15 (Richards, 1974). A partir de la CE puede estimarse la presión osmótica de la solución del suelo salino mediante la relación  $0,36 \times \text{CE}$  ( $\text{dS m}^{-1}$ ); es decir un suelo salino tendrá presiones osmóticas iguales o menores a  $1,44$  atmósferas. Para lograr CE de aproximadamente  $4 \text{ dS m}^{-1}$  en una solución de sal de NaCl, se necesitan 40 milimoles de NaCl por litro.

La duración del estrés salino es importante ya que existen dos fases de respuesta en la planta (Munns, 1993; Munns, 2002; **Figura 1**). Inicialmente se reduce el crecimiento de la planta debido a la menor absorción de agua que provocan las sales en el suelo. La menor absorción de agua reduce el contenido hídrico en las células, provocando una disminución del volumen y la tasa de elongación de las mismas. Este efecto de la salinidad es conocido como efecto osmótico y esta fase varía poco entre los distintos genotipos (**Figura 1**). Por este efecto se desencadenan cambios hormonales como la síntesis de ácido abscísico (ABA) en raíces. Esta hormona al ser transportada al follaje contribuye con la aclimatación a condiciones de estrés (Upreti & Murti, 2010). Luego de un tiempo variable, en función del genotipo (sensible o tolerante), se presenta una nueva fase de reducción del crecimiento. Esta última fase, llamada efecto tóxico o iónico, se debe a la excesiva acumulación de sales en el citoplasma lo que interfiere con las funciones celulares. El efecto tóxico o iónico está asociado con síntomas como necrosis en hojas maduras, en la senescencia prematura; como también alteraciones en la síntesis de proteínas y en la actividad enzimática (Munns, 2002). En especies tolerantes el efecto iónico interfiere en el crecimiento luego del efecto osmótico y con menor intensidad que en especies sensibles (Munns & Tester, 2008).



**Figura 1:** Fases de afectación de la expansión foliar por salinidad (S, M, T son tres genotipos con distinta tolerancia a iones tóxicos, sensible, medio y tolerante; Munns, 1993).

Las plantas transpiran un volumen de agua 30 a 70 veces superior al que retienen en su organismo. El agua que transpiran es pura, por esto los solutos que ingresan con el flujo transpiratorio se acumulan y concentran en las hojas. Debido a esto, la lámina de la hoja es el sitio más importante donde se produce el efecto tóxico por acumulación de iones como  $\text{Na}^+$  o  $\text{Cl}^-$ . El daño por toxicidad depende de la capacidad de la célula para transportar iones del citoplasma a la vacuola (compartimentación), también de la capacidad de limitar la entrada de iones tóxicos a la planta y del flujo transpiratorio (Salisbury & Ross, 2000).

La salinidad afecta la mayoría de los procesos fisiológicos de las plantas como el crecimiento, la fotosíntesis, y el metabolismo proteico y energético (Chartzoulakis & Klapaki, 2000; Flexas *et al.*, 2004; Parida & Das, 2005; Stepień y Klbus, 2006; Babu *et al.*, 2012; Meggio *et al.*, 2014). La fotosíntesis se ve afectada debido a la disminución de la conductancia estomática y por efectos bioquímicos que pueden restringir las reacciones fotoquímicas (Delfine *et al.*, 1999; Duarte *et al.*, 2013). También se ha verificado que muchas veces esta disminución de la fotosíntesis está asociada con un menor contenido de clorofila (Agastian *et al.*, 2000; Parida *et al.*, 2002; Parida *et al.*, 2004; Ojeda & Pire, 2011) o disminución del contenido y actividad de la Rubisco (Delfine *et al.*, 1999). La alta salinidad en los tejidos también provoca efectos como imbalance iónico, desorganización de membranas y reducción de la división y la expansión celular (Hasegawa *et al.*, 2000; Munns, 2002). La concentración de determinados iones en el suelo también interfiere el ingreso de otros iones a la raíz. Por ejemplo los iones tóxicos  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , compiten

por el ingreso de otros nutrientes como  $K^+$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Mg^{+2}$  y  $NO_3^-$  (Hu & Shmidhalter, 2005).

Al igual que lo que ocurre con el estrés hídrico, cuando las plantas son sometidas a estrés salino producen respuestas secundarias como el estrés oxidativo. Este estrés, se produce en parte por el exceso de radiación que no se utiliza en la fijación de carbono como consecuencia del cierre de estomas. La consecuencia más directa es la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que en elevadas concentraciones pueden matar a las células por oxidación de componentes celulares como las membranas lipídicas, las proteínas o el DNA (Davenport *et al.*, 2003). Las ROS pueden afectar al metabolismo celular, como también la membrana celular (Bartels & Sunkar, 2005). Esta pérdida de integridad de la membrana producida por la peroxidación de sus lípidos es usada como un indicador de este daño (Alexieva *et al.*, 2001; Berli *et al.* 2010).

Se ha observado que el estrés salino también puede afectar las características morfológicas y anatómicas de las hojas como la densidad estomática, el índice estomático y el grosor foliar (Parés *et al.*, 2008; Quintana *et al.*, 2012). También algunos autores han visto como la salinidad afecta la multiplicación celular y la forma de las células epidérmicas (Céccoli *et al.*, 2014).

El grado de tolerancia a la sal se evalúa en función de la respuesta de la planta al estrés. Maas & Hoffman (1977) definen a la tolerancia como la relación entre la variable respuesta en condiciones de salinidad versus la misma variable respuesta en plantas sin estrés (testigo o control). Esta tolerancia también se puede estimar midiendo el nivel máximo o umbral de sales que las plantas pueden soportar sin daños, y la pendiente con que pierden vigor o productividad a partir de ese umbral, a medida que la salinidad aumenta (Prior *et al.*, 1992; Zhang *et al.*, 2002; Di Filippo *et al.*, 2012). La tolerancia de las plantas a las sales depende en gran medida del genotipo. La vid, que es el cultivo frutal más importante en la región oeste de Argentina, es considerada moderadamente sensible a la salinidad (Maas & Hoffman, 1977, Walker *et al.*, 2002). Esto se debe a que comienza a disminuir su producción de frutos con conductividades eléctricas edáficas superiores a  $1,5 \text{ dS m}^{-1}$ . Sin embargo la respuesta a la salinidad también depende de otros factores como la variedad, el portainjerto, el agua disponible en el suelo y la temperatura ambiental. Existen investigaciones previas en vid que reflejan diferencias en el crecimiento de las plantas y acumulación de iones en distintas variedades. Por

ejemplo, Obbink & Alexander (1973) observaron que el grado de tolerancia era mayor en Cabernet Sauvignon y en Syrah, que en Sultanina, Riesling, Palomino y Doradillo. En otra experiencia donde se analizó el comportamiento frente a salinidad en plantas de vid in vitro, se observó que variedades criollas como Cereza, Criolla chica, Pedro Gimenez y Torrontés riojano eran más tolerantes que otras europeas como Malbec y Cabernet Sauvignon en términos de producción de biomasa (Cavagnaro *et al.*, 2006). En otro trabajo realizado en macetas con genotipos de vid sometidas a riegos con soluciones de NaCl, se observaron diferencias de tolerancia entre variedades viníferas como también vides americanas (e.g. 101-14 Mgt más tolerante que 1103P) en términos de supervivencia (Martín & Vila, 2013). También Mohammadkhani y otros (2014) observaron diferencias en la acumulación de Cl<sup>-</sup>, Na<sup>+</sup> y solutos compatibles en distintos genotipos de vid; en este caso la acumulación de iones tóxicos en el sarmiento fue mayor en Syrah.

Las plantas pueden utilizar distintos mecanismos de tolerancia a la salinidad. Un mecanismo es la capacidad de limitar la absorción de iones tóxicos desde la zona de las raíces denominado exclusión (Teakle & Tyerman, 2010). En un trabajo local se observó el efecto de exclusión de Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> por el portainjerto 1103P, injertado con Malbec (Di Filippo *et al.*, 2012); situación ya evidenciada en varios portainjertos de vid por otros autores (Walker *et al.*, 2000; Walker *et al.*, 2004; Tregeagle *et al.*, 2006; Tregeagle *et al.*, 2010; Gong *et al.*, 2011). Otro mecanismo es la compartimentación, por medio de la cual se transportan iones a la vacuola celular para evitar daños por su excesiva acumulación en el citoplasma. De esta manera, las plantas también pueden restringir el transporte de sales a las hojas, acumulando iones tóxicos en las vacuolas de las células mediante la compartimentación en órganos (Parida & Das, 2005; Sivritepe *et al.*, 2010; Upadhyay *et al.*, 2012). Se ha observado que los portainjertos de vid influyen en la capacidad para compartimentar Na<sup>+</sup> en tallos y pecíolos de hojas (Fisarakis *et al.*, 2001). Otra investigación local verificó la importancia del transporte de Na<sup>+</sup> a la vacuola en la resistencia a la salinidad (Venier, 2013). En dicho trabajo se observó que vides transgénicas de Sultanina con genes que codifican para un antiporter Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> eran más tolerantes que plantas no transformadas de Sultanina, Pedro Gimenez y Criolla chica. El crecimiento también es un mecanismo por el cual la planta puede regular la concentración de sales en el tejido, ya que al haber más células existen más vacuolas donde secuestrar iones tóxicos (Volkmar *et al.*, 1998). Esto se verificó en algunos trabajos que muestran que el mayor vigor innato del genotipo actúa como un mecanismo de tolerancia (Walker *et al.*, 2004; Vila *et al.*, 2016).

Otro mecanismo de tolerancia de las plantas es mantener el flujo de entrada de  $K^+$ . El  $K^+$  es un macronutriente esencial en la síntesis de proteínas y enzimas glucolíticas, en la fotosíntesis y en la expansión celular (Maathuis & Amtmann, 1999; Hu & Schmidhalter, 2005). Mantener niveles adecuados de  $K^+$  en la planta como también una alta relación  $K^+/Na^+$  se relaciona con una mayor tolerancia a salinidad en las plantas (Colmer *et al.*, 1995; Hester *et al.*, 2001; Parida & Das, 2005; Ashraf, 2006; Rodríguez-Navarro & Rubio, 2006; Hauser & Horie, 2010; Upadhyay *et al.*, 2012; Di Filippo *et al.*, 2012).

Un eficiente sistema antioxidante también es un mecanismo de tolerancia a varios tipos de estrés incluida la salinidad, debido a que reduce el daño oxidativo producido por las ROS. Este sistema antioxidante puede ser no enzimático (e.g. fenoles, ascórbico,  $\beta$ -carotenos) o enzimático (e.g. enzimas del ciclo agua-agua; Davenport *et al.*, 2003).

Por último, otro mecanismo de tolerancia de las plantas al estrés salino, es la disminución del potencial osmótico ( $\Psi_{\pi}$ ) celular para equilibrar la disminución del potencial suelo ( $\Psi_{\text{suelo}}$ ) causado por las sales y permitir el ingreso de agua a la planta y el mantenimiento de la turgencia celular. La disminución del  $\Psi_{\pi}$  se conoce como ajuste osmótico e involucra la acumulación de solutos osmoprotectores en el citoplasma que disminuyen el  $\Psi_{\pi}$  y un aumento del movimiento de los iones tóxicos a la vacuola (Bohnert *et al.*, 1995). Los solutos osmoprotectores son moléculas orgánicas sintetizadas que se acumulan, pero su producción tiene un costo energético para la planta (e.g. glicerol, glucosa, sacarosa, manitol, aminoácidos, prolina).

Debido a que los efectos de la salinidad dependen de las características de los suelos, para minimizar esta influencia muchas investigaciones se realizan con plantas en macetas cultivadas en sustratos homogéneos y con riegos salinos controlados. En estos casos es importante que los sustratos sean de granulometría gruesa para permitir buena oxigenación, y que las macetas sean profundas y de color exterior blanco para asegurar un buen desarrollo radical y evitar el calentamiento excesivo (Passsioura, 2006 y 2010). La condición de aireación del suelo es fundamental, ya que la falta de oxígeno de las raíces compromete el recurso energético utilizado por los transportadores iónicos, lo cual es importante en la tolerancia a la sal.

En términos agrícolas la variable que más interesa en plantas como la vid, para medir el grado de tolerancia a las sales, es el rendimiento de fruta. Esta variable es difícil de ser evaluada en plantas jóvenes en macetas, por esta razón muchas veces se utiliza el crecimiento vegetativo como variable indicadora de la tolerancia a salinidad. Estas dos variables están relacionadas, ya que ambas definen la capacidad o crecimiento total anual de la planta (Keller, 2010). Plantas grandes de mayor capacidad, pueden soportar mayor cantidad de racimos y mayor crecimiento de sarmientos.

Además de los daños que produce la alta salinidad, en la vid existe un problema adicional como es la disminución de la calidad del vino debido al aumento en el contenido de  $\text{Cl}^-$ . En Argentina el límite de  $\text{Cl}^-$  en los vinos es de  $0,6 \text{ g L}^{-1}$  (Res C.35/2000, Reglamentación vigente INV), el cual coincide con el límite de otros países como Australia. Algunos autores han evidenciado que vinos Syrah superaban estos límites en algunos sitios cuyos suelos presentaban CE de  $2,1 \text{ dS m}^{-1}$  y  $3,3 \text{ dS m}^{-1}$ , con viñedos a pie franco o con portainjertos como K51-40. Sumado a esto, también observaron que los vinos de esta variedad luego de la fermentación en tinto aumentaban los contenidos de  $\text{Cl}^-$ , presentando una relación entre el  $\text{Cl}^-$  del vino y de la uva de 1,7:1 (Walker *et al.*, 2010). En ese mismo trabajo, a diferencia de lo observado en Syrah, el Chardonnay, por vinificarse en blanco, presentó una tasa de extracción de  $\text{Cl}^-$  distinta, existiendo una relación 1:1 entre el  $\text{Cl}^-$  del vino y el de la uva. Estos autores también evidenciaron una correlación positiva entre la concentración de  $\text{Cl}^-$  en pecíolos en floración con la concentración en uvas a cosecha, no obstante la pendiente de la relación dependía del sitio analizado.

### **Estrés hídrico**

Las plantas absorben agua del suelo y la pierden hacia la atmósfera a través de las hojas, por transpiración. La transpiración es la responsable de crear un gradiente de potencial hídrico entre la hoja y el suelo. Cuando la demanda transpiratoria supera a la oferta de agua edáfica, la planta sufre estrés hídrico, el cual puede deberse a un déficit hídrico edáfico o a un elevado déficit de presión de vapor de la atmósfera (Vila, 2012).

La disminución del contenido de agua del suelo, reduce  $\Psi_{\text{suelo}}$ . Para que ocurra la absorción de agua la planta debe presentar un potencial hídrico inferior al suelo. La capacidad de la planta para disminuir su potencial hídrico es importante en su adaptación a la falta de agua. La falta de disponibilidad de agua provoca en la planta una disminución de la turgencia celular y el contenido relativo del agua (CRA), pero el efecto más notorio es la disminución del potencial hídrico de la planta (Schultz, 2003; Lovisolo *et al.*, 2010; Chaves *et al.*, 2010; Vila 2012; Meggio *et al.*, 2014). La disminución de potencial en la raíz provoca síntesis de ácido abscísico (ABA), disminuye síntesis de citocininas y aumenta el pH xilemático (Stoll *et al.*, 2000; Linchtenthaler, 2003; Soar *et al.*, 2006a). Estos eventos desencadenan otros como la disminución del crecimiento, del área foliar y de la fotosíntesis de la planta (Flexas *et al.*, 2002 y 2004). Cuando disminuye el  $\Psi_{\text{suelo}}$ , la succión o presión negativa que absorbe agua a través de los vasos del xilema de la planta causa un fenómeno denominado cavitación o formación de burbujas de aire en el xilema, el cual interrumpe el flujo de agua y provoca una disminución de la conductancia hidráulica ( $k_H$ ). La disminución del potencial hídrico foliar combinado con señales químicas (e.g. ABA) y físicas (e.g. conductividad del xilema) provocan el cierre estomático (Lovisolo *et al.*, 2002; Chaves *et al.*, 2010).

La limitación de la fotosíntesis provocada por el déficit hídrico está muy relacionada al cierre estomático cuando este déficit es moderado; mientras que cuando es severo, dominan limitaciones no estomáticas como reducción de la actividad de enzimas fotosintéticas o disminución de la capacidad de carboxilación (Lovisolo *et al.*, 2010). Cuando la planta es sometida a déficit hídrico, al igual que en otros tipos de estrés, se producen otras respuestas secundarias como es el estrés oxidativo.

La vid es una planta tolerante a la sequía y se adapta bien al clima semiárido como el de la zona Mediterránea (Chaves *et al.*, 2010), no obstante su crecimiento y producción se reduce fuertemente con estrés hídrico (Vallone, 1998; Perez Peña, 2000; Kaiser, 2003; Dayer, 2012; Serra *et al.*, 2014). En la vid existen dos mecanismos de resistencia al estrés hídrico. Por un lado, los mecanismos evitadores que mantienen la hidratación y la turgencia, y por el otro los mecanismos de tolerancia que atenúan el estrés; aunque estos no son excluyentes (Levitt, 1980). Los mecanismos evitadores intervienen en el sistema de transporte del agua, facilitando la adquisición o limitando su pérdida. Un ejemplo de esto es el cierre estomático, considerado como uno de los principales mecanismos de la vid para controlar la pérdida de agua (Lovisolo *et al.*, 2002; Schultz, 2003; Chaves *et al.*

2010). Otros mecanismos que limitan la pérdida de agua son la abscisión de las hojas, el engrosamiento de la cutícula, los cambios de orientación de la lámina, la reducción del crecimiento del tallo y las hojas, del diámetro de los vasos conductores y de la conductividad hidráulica del xilema (Chaves *et al.* 2010; Lovisoló *et al.*, 2010). Otro mecanismo evitador es un mayor crecimiento de las raíces con respecto al crecimiento de la parte aérea (Wu & Cosgrove, 2000). En vid, varios autores mostraron que el déficit hídrico aumenta la relación entre la biomasa de la raíz y la aérea (Alsina *et al.*, 2011; Vila, 2012), como también provoca profundización de las raíces (Vila, 2012). Por otro lado, los mecanismos de tolerancia son por lo general de tipo bioquímico y actúan a nivel celular; generando una acción protectora sobre membranas y proteínas, reparadora del ADN y antioxidante. En este mecanismo intervienen proteínas y solutos compatibles que protegen la fluidez citoplasmática y la integridad de membranas. La acumulación activa de solutos inorgánicos o solutos orgánicos sintetizados por la planta (ajuste osmótico) permiten mantener la absorción de agua y mantener la turgencia celular (Patakas *et al.*, 1999 y 2002). El ajuste osmótico es un mecanismo evitador y tolerante, ya que promueve el ingreso del agua y también protege a la planta de los efectos dañinos del estrés mediante la síntesis de osmolitos protectores (Mundree *et al.*, 2002; Chaves *et al.*, 2010).

### **Estrés hídrico vs salinidad**

Las respuestas de las plantas como también algunos mecanismos de tolerancia muchas veces son comunes en varios tipos de estrés (Salisbury & Ross, 2000).

Existen antecedentes que comparan el estrés salino respecto al estrés hídrico en vid. Cramer *et al.* (2007) observaron que el déficit hídrico causaba en vid una mayor inhibición del crecimiento, y provocaba mayores diferencias en transcripción génica y metabolitos en los tejidos del brote que el estrés salino, en períodos cortos (alrededor de dos semanas). En ambos tipos de estrés se expresaron genes relacionados con la transcripción, defensa celular y respuestas a condiciones estresantes. El estrés hídrico respondió más temprano con el incremento de factores de transcripción relacionados con la fotosíntesis, la glicólisis y el metabolismo osmoprotector. Además también presentó mayor concentración de algunos metabolitos (e.g. ácidos orgánicos, aminoácidos, azúcares, malato, prolina, glucosa), muchos de cuales están relacionados con el ajuste osmótico. Otros investigadores (Vincent *et al.* 2007), también estudiaron el impacto del incremento

del estrés salino e hídrico en el crecimiento y expresión proteica en variedades de vid, y observaron que Chardonnay era relativamente más resistente a ambos tipos de estrés que Cabernet Sauvignon. El crecimiento del tallo mostró diferencias entre variedades; Chardonnay disminuyó el crecimiento con estrés hídrico pero no con salinidad, mientras que en Cabernet Sauvignon el crecimiento se redujo en ambos casos.



Los portainjertos también presentan diferente grado de tolerancia a otras plagas como son los nemátodos de los géneros *Melodogyne* y *Xiphinema* (Meredith, 1982; Edwards, 1989; Coiro *et al.*, 1990; Walker, 1992; Harris, 1998; Oliver & Fuchs, 2011).

Los portainjertos de vid también son utilizados para modificar las características de las plantas como el vigor y la producción (Tandonnet *et al.*, 2005; Sampaio & Vasconcelos, 2005; Walker & Clingeleffer, 2009; Di Filippo & Vila, 2011). En la provincia de Mendoza, Di Filippo & Vila (2011) compararon el comportamiento de la variedad Malbec injertada en 6 portainjertos bajo condiciones de campo; 1103 Paulsen (1103P) presentó mayores rendimientos que otros como 140 Ruggeri, 3309C, Cereza o pie franco de *V. vinifera*.

También, se sabe que los portainjertos influyen en el comportamiento de la planta frente a condiciones de estrés abiótico. Las raíces de la vid o portainjertos influyen el crecimiento, el cierre estomático, la fotosíntesis, la entrada y transporte del agua y la acumulación de osmolitos (Padgett-Johnson *et al.*, 2000 y 2003; Meggio *et al.*, 2014; Serra *et al.*, 2014). También es sabido que los portainjertos pueden afectar la nutrición mineral de la planta (Ruhl, 1991).

Por esta razón, el comportamiento del portainjerto depende de las condiciones específicas de cada lugar, debido a las propiedades del suelo, condiciones climáticas, presencia de plagas y manejo del cultivo. Debido a esto, es importante realizar las investigaciones sobre portainjertos con los criterios de selección primordiales para la zona donde se utilizan.

Los portainjertos más vendidos actualmente en la provincia de Mendoza en variedades de vinificar son 1103P y 101-14Mgt (comunicación personal, fuente Viveros comerciales, 2014). Estos dos portainjertos presentan una elevada resistencia a filoxera. El portainjerto 1103P fue obtenido a partir de una selección realizada en Italia del cruzamiento de *V. berlandieri* Resseguier 2 x *V. rupestris* du Lot. También ha sido calificado en varios trabajos como un portainjerto que transfiere al injerto un vigor medio a alto (Hidalgo, 1993; Hardie & Cirami, 2000; Keller, 2010) y por su buena tolerancia a sequía (Keller, 2010). Por otro lado, el portainjerto 101-14Mgt, creado por Millardet y De Grasset en Francia mediante el cruzamiento de *V. riparia* Michaux y *V. rupestris* Scheele, es considerado como

inductor de un vigor moderado al injerto y baja a moderada resistencia a sequía (Keller, 2010; Alsina *et al.*, 2011; Gambetta *et al.*, 2012).

La posible disminución en la provisión de agua a los cultivos debido al cambio climático y la disminución en cantidad y calidad en algunos recursos hídricos generan la necesidad de buscar portainjertos más resistentes a sequía y salinidad. Con este objetivo, muchos investigadores han evaluado los portainjertos frente a déficit hídrico, algunas evaluaciones basadas en la respuesta del crecimiento (McCarthy *et al.*, 1997; Bauerle *et al.*, 2008; Koundouras *et al.* 2008; Williams, 2010), otras en función de variables fisiológicas como el intercambio gaseoso (Carbonneau, 1985; Iacono, 1998; Padgett-Johnson *et al.*, 2003; Soar *et al.*, 2006b), estado hídrico de la planta (Ezzahouani y Williams 1995; Iacono, 1998; Padgett-Johnson *et al.*, 2003; Deloire *et al.* 2004; Mattii *et al.*, 2005; Williams, 2010) o el contenido de clorofila (Pavlousek, 2011). El portainjerto 1103P, muy difundido en Mendoza, se ha comportado como tolerante a condiciones de déficit hídrico en varios trabajos (Carbonneau, 1985; Ezzahouani & Williams, 1995; Mattii *et al.*, 2005; Bauerle *et al.* 2008; Koundouras *et al.*, 2008), pero no en otros. McCarthy y otros (1997) compararon la producción en plantas a campo de cv. Syrah injertadas sobre varios portainjertos, con ausencia de riego y en suelo arenoso libre de filoxera y nemátodos. Se observó que el portainjerto Ramsey fue más productivo, mientras que 1103P mostró menor producción que las plantas a pie franco, siendo 110R el de menor producción. Otros investigadores evaluaron la resistencia a déficit hídrico en vides americanas progenitoras de portainjertos, crecidas en condiciones a campo con y sin irrigación, en función de su estado hídrico, conductancia estomática ( $g_s$ ), fotosíntesis (A) y peso de poda (Padgett-Johnson *et al.*, 2003). Las 6 especies americanas que se comportaron como más tolerantes a la falta de agua fueron *V. californica*, *V. champinii* (híbrido natural de *V. candicans* y *V. rupestris*), *V. doaniana* (híbrido natural de *V. candicans* y *V. longii*), *V. longii*, *V. girdiana* y *V. arizonica*. Las menos tolerantes fueron *V. berlandieri*, *V. cinerea*, *V. lincecumii*, *V. riparia* y *V. solonis*. No obstante un mismo portainjerto ha sido clasificado con diferentes grados de tolerancia, posiblemente por la ausencia de una metodología estándar que permita minimizar las diferencias producidas por características edáficas y climáticas, como también por la duración e intensidad del déficit hídrico (Serra *et al.* 2014). Sumado a esto, se sabe que es difícil separar el efecto del contenido hídrico de la planta de su vigor o expresión vegetativa, generando la duda sobre si los portainjertos enanizantes con menor desarrollo de la parte aérea son mejores o peores frente a un déficit hídrico (Jones, 2012). Sin embargo hay

evidencias en manzano y vid en donde portainjertos que producen plantas más grandes con más superficie foliar y más consumo de agua se comportan mejor en términos productivos frente a la falta de agua que las de menor vigor (Williams, 2010; Jones, 2012). También Bauerle *et al.* (2008) observó que plantas de Merlot injertadas sobre 1103P tenían más plasticidad en su crecimiento frente a diferencias de humedad en el suelo, pero su tolerancia a la falta de agua medida a través de la supervivencia de las raíces fue similar a un portainjerto de menor vigor como es el 101-14Mgt.

También existen antecedentes donde se presenta a los portainjertos con distintos grados de tolerancia a la sal. Se sabe que los mecanismos relacionados en forma directa con el funcionamiento de la raíz como la capacidad de exclusión o el vigor conferido al crecimiento aéreo, tienen un rol clave en su comportamiento (Walker *et al.*, 2004). Además se ha observado que los portainjertos de vid también influyen en la capacidad para compartimentar Na<sup>+</sup> en tallos y pecíolos de hojas (Fisarakis *et al.*, 2001). Algunos estudios han evaluado el comportamiento de varios portainjertos enraizados o combinaciones injerto-portainjerto frente a condiciones salinas; en plantas de cultivos in vitro, macetas o en condiciones de campo. Dentro de las investigaciones a campo Downton (1977) evaluó la capacidad de excluir sales de algunas especies de *Vitis* progenitoras de portainjertos en función de la cantidad de cloruro acumulada en sus pecíolos, siendo los portainjertos comerciales Rupestris du Lot, Schwarzmann y 99R los que más excluyeron. La clasificación de las especies progenitoras, ordenadas por su poder de exclusión (de mayor a menor) fue: *V. rupestris* > *V. berlandieri* y *V. riparia* > *V. candicans*, *V. champini* y *V. longii* > *V. cinerea* y *V. cordifolia* > *V. vinífera*.

Por otro lado, hay evidencias que muestran que algunos portainjertos tienen la habilidad de restringir la entrada de Cl<sup>-</sup> y el consecuente transporte a los sarmientos por el xilema (Bernstein *et al.* 1969; Downton, 1977; Walker *et al.*, 1997, Fisarakis *et al.*, 2001; Walker *et al.*, 2002; Walker *et al.*, 2004, Hepaksoy *et al.*, 2006; Tregagle *et al.*, 2010; Walker *et al.*, 2010; Gong *et al.*, 2011; Meggio *et al.*, 2014; Vila *et al.* 2014). Vila *et al.* (2014) observaron que vides de cv. Malbec a pie franco e injertadas sobre 1103P presentaron mayor tolerancia a sales que las injertadas sobre cv. Cereza y 101-14Mgt, analizando variables como poder de exclusión, superficie foliar y biomasa. Este mejor comportamiento de plantas injertadas sobre 1103P con respecto a 101-14Mgt coincide con lo expuesto por Keller (2010), el cual

identifica a 1103P dentro del grupo de alta tolerancia a sales y a 101-14Mgt como de tolerancia media (**Tabla 1**, extraído de Keller, 2010).

**Tabla 1:** Principales características de los portainjertos más usados en la viticultura moderna (May, 1994 y Pongrácz, 1983 en Keller, 2010). Escala: 1 baja, 2 pobre, 3 media, 4 alta y 5 excelente.

Portainjerto	Tolerancia sequía	Tolerancia salinidad	Resistencia filoxera	Resistencia nemátodes	Vigor injerto
Riparia Gloire	2	1	5	2	1
Rupestris St. George	2	1	4	2	4
Rupestris du Lot	3	1		3	4
420 A Mgt	2		4	2	2
5BB Kober	1	2	4	2	2
SO4	1	1	4	2	3
5 C Teleki	1	2	4	4	4
161-49 Couderc	1	1	5	2	3
99 Richter	3	1	4	2	4
110 Richter	4	2	4	2	3
<b>1103 Paulsen</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
140 Ruggeri	4	4	4	1	4
3309 Couderc	2	1	4	1	2
<b>101-14 Mgt</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>3</b>
Schwarzmann	2	3	4	3	3
Gravesac	3		4	1	2
1616 Couderc	3	3	3	1	2
Salt Creek o Ramsey	2	4	2	4	4
Dogridge	2	4	2	4	4
Harmony	2	4	2	4	2
Freedom	2	4	2	4	2

### **1.3. Objetivos e hipótesis**

Bajo el marco teórico descrito precedentemente se plantean los objetivos e hipótesis de esta tesis.

#### ***Objetivos generales***

- Evaluar el comportamiento de plantas de *Vitis vinifera* cv. Cabernet Sauvignon injertadas sobre 101-14Mgt y 1103P en situaciones de estrés salino, comparándolo con el de plantas sometidas a déficit hídrico equiparable en potencial hídrico foliar.

#### ***Objetivos específicos***

- Evaluar el grado de afectación de las variables vegetativas y fisiológicas del déficit hídrico y salino con respecto al testigo.
- Evaluar y comparar respuestas que implican daños fisiológicos de estrés salino e hídrico en ambos portainjertos estudiados; relacionándolos con los contenidos de iones tóxicos y con el nivel de restricción hídrica.
- Examinar y comparar crecimiento, vigor y contenido iónico en los distintos órganos en plantas injertadas sobre 1103P vs 101-14Mgt, sometidas a ambos tipos de estrés

#### ***Hipótesis***

H1: En plantas de vid injertadas de Cabernet Sauvignon, el estrés salino produce daños fisiológicos distintos que el hídrico, considerando niveles de estrés similares. En la salinidad predominan el daño de membranas y la pérdida de clorofila asociados a necrosis marginal en las hojas, mientras que en el déficit hídrico prevalece la disminución del crecimiento vegetativo.

H2: En plantas de vid injertadas de Cabernet Sauvignon, el estrés salino provoca un mayor ajuste osmótico que el estrés hídrico, considerando niveles de estrés similares.

H3: Los portainjertos 1103P y 101-14Mgt presentan distintos mecanismos de tolerancia a déficit hídrico y salinidad. El portainjerto 1103P confiere mayor tolerancia a salinidad y déficit hídrico que el 101-14 Mgt, debido a su mayor poder de exclusión y vigor conferido.

## 2. ENSAYO 1

### 2.1. Materiales y métodos

El objetivo del ensayo fue fijar un valor de humedad de suelo que equipare el nivel de potencial agua en plantas bajo déficit hídrico con las tratadas con sal. Para esto, en plantas Malbec cultivadas en macetas se aplicaron dos tratamientos, uno de déficit hídrico (DH) y otro de salinidad (Salino), con tres repeticiones cada uno. Las macetas utilizadas fueron de 20 cm de diámetro por 60 cm de alto (con 12 L de capacidad) y el sustrato fue arena fina. Las plantas se encontraban en su segundo año de vegetación después de su enraizamiento a partir de estacas leñosas, y contaban con un brote único de entre 60 y 70 cm (aproximadamente 10 hojas desarrolladas).

Al iniciar el ensayo todas las plantas estaban con el suelo a capacidad de campo, definida como la humedad del sustrato luego del drenaje del agua en saturación en las macetas. Al tratamiento de DH se le suspendió el riego y se dejó que las plantas desecaran el suelo durante 22 días. En el tratamiento salino, las plantas se mantuvieron a capacidad de campo y se regaron con soluciones de salinidad creciente, partiendo del agua del río Mendoza (2 mM NaCl) y llegando hasta los 100 mM de NaCl (i.e., diluyendo NaCl en la misma agua del río). Esta transición duró 15 días (cada dos o tres días se aumentó 10 mM el NaCl) y luego se mantuvieron las plantas a 100 mM NaCl durante cinco días más.

Una vez iniciado el experimento, se realizaron medidas de potencial tallo ( $\Psi_{p_{xi}}$ ) y de potencial osmótico del xilema ( $\Psi_{\pi_{xi}}$ ), cada dos o tres días. A partir de estas medidas se calculó el potencial hídrico del xilema ( $\Psi_{xi}$ ), considerando que se componía de la suma de los  $\Psi_p$  y  $\Psi_{\pi}$ . Se tuvo esta precaución ya que se pensaba que el tratamiento salino podía afectar la concentración de la savia xilemática, produciendo una disminución del  $\Psi_{\pi}$ . En plantas con DH también se registró la humedad del suelo ( $\theta$ ) utilizando sensores de capacitancia (ECH2O EC-5, Decagon Devices, USA). Con los valores de humedad de suelo que igualó el potencial hídrico de plantas sometidas al tratamiento salino de interés, se calculó la fracción de agua edáfica transpirable (FAET, ecuación 2).

$$FAET = \frac{(\theta_x - \theta_{min})}{(\theta_{cc} - \theta_{min})} \quad (2)$$

donde,

$\theta_x$ : es la humedad del suelo en la cual se igualó el potencial con el tratamiento salino (17,8% en vol).

$\theta_{\min}$ : es la humedad mínima del suelo cuando la planta no puede extraer más agua (7,5% en vol).

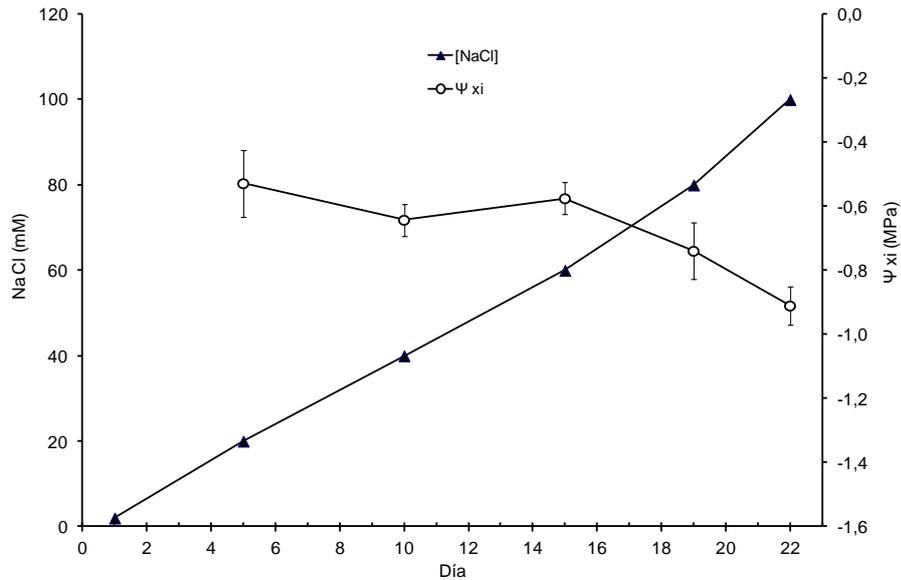
$\theta_{cc}$ : es la humedad a capacidad de campo definida luego del drenaje del agua en saturación en las macetas al inicio del ensayo (31% en vol).

Para medir el  $\Psi_{p \ x_i}$  se seleccionó una hoja completamente desarrollada del tercio superior del brote, la cual se embolsó y envolvió con papel aluminio, dos horas antes del mediodía. Cumplido este lapso se cortó el pecíolo y se midió rápidamente el  $\Psi_{p \ x_i}$  utilizando una cámara de presión (4P, Biocontrol, Buenos Aires, Argentina).

Para medir el  $\Psi_{\pi \ x_i}$  luego de hacer la medición de  $\Psi_{p \ x_i}$  con la cámara de presión, se recolectó el líquido que salía a través del corte transversal del pecíolo de la hoja, utilizando un capilar de vidrio. El  $\Psi_{\pi}$  de esta savia fue medido luego con un osmómetro (Vapro, Wescor, USA).

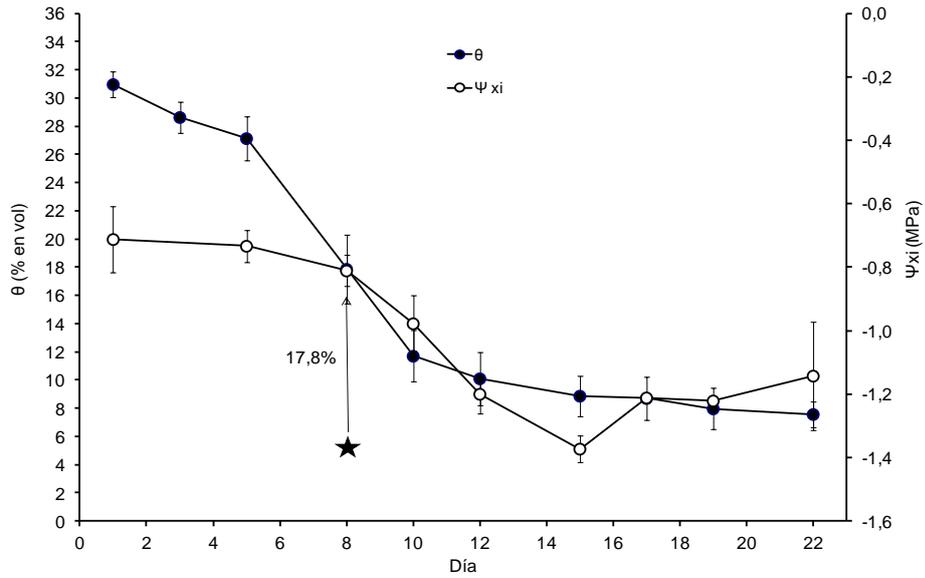
## 2.2 Resultados

Se observó que en el tratamiento salino el  $\Psi_{\pi \ x_i}$  solo participaba en un 1,5% del  $\Psi_{x_i}$ . Esto indica que en este ensayo aunque regamos con una solución salina de 100 mM NaCl, el  $\Psi_{\pi \ x_i}$  no presentó valores de magnitud elevada como para realizar su medición junto con la medición del  $\Psi_{x_i}$ . Por otro lado, se observó que hasta que la concentración de NaCl en la solución edáfica no superó los 60 mM (en el día 15) el  $\Psi_{x_i}$  no se vio afectado manteniéndose alrededor de -0,6 MPa (**Figura 3**). Luego el  $\Psi_{x_i}$  disminuyó, alcanzando los -0,75 MPa a 80 mM NaCl y los -0,97 MPa a 100 mM NaCl.



**Figura 3:** Evolución del potencial hídrico de xilema ( $\Psi_{xi}$ ) y la concentración de NaCl del agua, correspondientes a plantas sometidas a riego con soluciones de concentraciones crecientes de NaCl (las plantas se mantenían en capacidad de campo). Valores promedios  $\pm$  error estándar,  $n=3$ .

En el tratamiento de DH se observó que tanto  $\theta$  como  $\Psi_{xi}$  disminuyeron durante el secado del suelo (**Figura 4**). La  $\theta$  disminuyó lentamente en los primeros 5 días (pasando de 31% a 27% en vol). Luego bajó de manera abrupta hasta el día 10 (llegando al 12%). Al final se mantuvo más o menos constante, alcanzando un valor de 7,5% el día 22. El  $\Psi_{xi}$  también presentó una caída inicial suave hasta el día 8 (llegando a -0,8 MPa), luego descendió fuertemente hasta el día 15 alcanzando valores de -1,4 MPa y a partir de ahí presentó valores entre -1,2 y -1,37 MPa.



**Figura 4:** Evolución de humedad de suelo ( $\theta$ ) y potencial xilema ( $\Psi_{xi}$ ) en plantas sometidas a DH desde día el día 1 hasta el día 22. Valores promedios  $\pm$  error estándar,  $n=3$ .

Con esta curva de desecamiento y las mediciones de  $\Psi_{xi}$  de estas plantas pudo determinarse el valor de  $\theta$  mínima a partir del cual la planta no podía extraer más agua (7,5%). También se pudo determinar que el valor de  $\theta$  para generar un  $\Psi_{xi}$  semejante al tratamiento salino de 80 mM NaCl (i.e., -0,75 MPa) era de 17,8%, el cual se correspondió a una . Este valor de  $\theta$  se correspondió a una fracción de agua edáfica transpirable de 0,4 (FAET, ecuación 2).

## 3. ENSAYO 2

### 3.1. Materiales y métodos

En el ensayo 2 se compararon vides de la variedad Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos sometidas a estrés hídrico y salino, junto con un testigo sin estrés. Durante la temporada 2012-2013 se realizó un experimento factorial con plantas en macetas de 20 cm de diámetro por 60 cm de alto (con 12 L de capacidad) de dos años de cv. Cabernet Sauvignon (clon 338). El primer factor fue el portainjerto, se estudiaron dos pies: 1103P (*V. berlandieri* Resseguier 2 x *V. rupestris du Lot*) y 101-14Mgt (*V. riparia Michaux* y *V. rupestris Scheele*); mientras que el segundo factor fue el tipo de estrés, para el cual se evaluaron tres tratamientos:

- Riego salino (Salino): las plantas se regaron con una solución de 80 mM NaCl y se mantuvieron a capacidad de campo (*i.e.*, FAET=1).
- Déficit hídrico (DH): las plantas se mantuvieron a una FAET de 0,4, regándolas con agua sin agregado de NaCl.
- Testigo (T): sin agregado de NaCl y FAET=1.

Al inicio del ensayo (3/12/12) todas las plantas se regaron a saturación y se dejaron drenar hasta alcanzar la capacidad de campo. Luego de dos días se inició el tratamiento salino. Las plantas testigos y las sometidas a salinidad se regaron automáticamente (14 L por día por planta, distribuidos en 8 riegos) con un sistema de riego que recirculaba el agua de drenaje de las macetas en un circuito cerrado (**Figura 5**). El objetivo fue mantener a las mismas siempre a capacidad de campo (Cc) evitando cualquier nivel de estrés hídrico. De esta manera también se evitó la acumulación de sales en la zona de las raíces (verificado por los valores de CE del agua de drenaje de las macetas). Se instalaron sensores de humedad de suelo ECH2O EC-5 para verificar que el sustrato se mantuviese en la FAET necesaria. Los sensores se instalaron solamente en las macetas de los tratamientos testigo y estrés hídrico, ya que la sal alteraba el funcionamiento de los sensores.



**Figura 5:** Sistema de riego y drenaje continuo utilizado para los tratamientos de riego salino y testigo en vides cv. Cabernet Sauvignon sobre portainjertos 1103P y 101-14 Mgt.

Para aclimatar las plantas al tratamiento salino, se realizó una salinización gradual del agua de riego, aumentando cada semana 25 mM NaCl. Luego de dos semanas de aclimatación se llegó a una concentración de 80 mM NaCl, manteniéndose en esta condición durante 40 días.

En 4 días se logró la desecación del suelo de FAET 1 a 0,4 en el tratamiento DH y se mantuvo en esas condiciones durante 50 días.

En el tratamiento de DH, el monitoreo de la humedad del sustrato se realizó día por medio con sensores colocados en cada maceta, y el agua perdida se repuso con la misma frecuencia. Luego de unos días, la frecuencia de riego pasó a ser diaria para evitar grandes variaciones con respecto al umbral. Para reponer la cantidad de agua en cada maceta y mantener la humedad del suelo en el umbral definido (FAET= 0,4), primero se calculó la  $\theta_{0,4}$  (ecuación 3), obtenida al despejar este valor de la ecuación 2.

$$\theta_{0,4} = \left[ \theta_{\text{mín}} + (0,4 \times (\theta_{\text{cc}} - \theta_{\text{mín}})) \right] \quad (3)$$

donde,

$\theta_{0,4}$ : humedad necesaria para mantener la FAET en 0,4.

$\theta_{\text{mín}}$ : humedad mínima de suelo, cuando la planta no puede extraer más agua, definida en ensayo 1 (7,5% en vol).

$\theta_{cc}$ : humedad de suelo a capacidad de campo, luego del drenaje del agua de saturación (31% en vol).

Teniendo en cuenta que los valores de humedad registrados por el sensor en  $m^3$  de agua por  $m^3$  de suelo, son equivalentes al mismo valor en  $g\ cm^{-3}$ , se calculó la humedad del suelo (g agua en 1 g de suelo) al dividir la lectura del sensor por la densidad aparente del suelo (DAP) de cada maceta ( $g\ cm^{-3}$ ). La cantidad de agua por gramo de suelo necesaria a reponer en cada maceta se obtuvo por la diferencia entre el valor calculado de  $\theta_{0,4}$  menos la humedad de la maceta en cada medición. Por último al multiplicar esta diferencia por el peso total de suelo seco en cada maceta se obtuvieron los gramos de agua diarios necesarios a reponer cada día. Este ensayo se realizó con plantas que se habían obtenido por injerto omega en taller un año antes. Al inicio del ensayo las vides se plantaron en macetas cilíndricas de 20 cm de diámetro por 60 cm de alto, con arena fina como sustrato. La arena utilizada en el relleno de las macetas tenía una conductividad eléctrica (CE) y un contenido iónico bajo (CE= 0,9  $dS\ m^{-1}$ , **Tabla 2**). Las plantas fueron desbrotadas al inicio del crecimiento vegetativo de ese año para que presentaran un brote único, el cual tenía una longitud aproximada de 100 cm al inicio del experimento.

**Tabla 2:** Análisis del sustrato utilizado en las macetas (arena)

Conductividad eléctrica (CE, $dS\ m^{-1}$ )	$Ca^{+2}$ $Mg^{+2}$ ( $me\ L^{-1}$ )	$Na^+$ ( $me\ L^{-1}$ )	$Cl^-$ ( $me\ L^{-1}$ )	RAS	pH pasta saturada
0,9	15	1,4	5	0,51	7,35

La solución de riego fue renovada semanalmente. El agua utilizada presentaba una CE de 1,01  $dS\ m^{-1}$ , y una predominancia de  $Ca^{+2}$  y  $SO_4^{-2}$  en su composición iónica (**Tabla 3**). Todos los tratamientos fueron regados con una solución nutritiva preparada con el fertilizante para riego por goteo KSCII (86,25 N; 7,5 P; 15 K; 45 S; 0,38 Fe; 0,37 Zn y 0,19 Mn; en  $mg\ L^{-1}$ ).

**Tabla 3:** Valores analíticos del agua utilizada para el riego del ensayo, antes de la adición de fertilizante

Variable analizada	Valor
CE	1,01 dS m <sup>-1</sup>
pH	7,58
RAS	1,53
<i>Cationes</i>	
Calcio	6,10 me L <sup>-1</sup>
Magnesio	1,80 me L <sup>-1</sup>
Sodio	3,04 me L <sup>-1</sup>
Potasio	0,07 me L <sup>-1</sup>
<i>Aniones</i>	
Carbonatos	0,00 me L <sup>-1</sup>
Bicarbonatos	2,30 me L <sup>-1</sup>
Cloruros	2,50 me L <sup>-1</sup>
Sulfatos	6,19 me L <sup>-1</sup>

El agua del SAL fue de 80 mM ClNa, con una CE de 8,5 dS m<sup>-1</sup>, mientras que el T y el DH se mantuvieron en 1,5 dS m<sup>-1</sup> (por adición del fertilizante, **Tabla 4**). Estas soluciones de riego como también los drenajes fueron monitoreados cada dos o tres días para verificar que no existiera concentración o acumulación de sales en los sustratos. No obstante aunque las CE se mantuvieran, estas soluciones se renovaron todas las semanas.

Debido a que el agua de riego tenía una concentración de Ca<sup>+2</sup> relativamente alta, no fue necesario adicionar este ión en el tratamiento salino para que se mantuviera una relación adecuada entre Na<sup>+</sup> y Ca<sup>+2</sup> (Cramer, 2002).

**Tabla 4:** Conductividades eléctricas del agua de riego en cada tratamiento (testigo,T; estrés hídrico, DH y riego salino, Salino)

Tratamiento	CE del agua de riego (dS m <sup>-1</sup> )
T	1,5
DH	1,5
Salino	8,5

El ensayo se instaló en un invernáculo, ubicado en la Estación Agropecuaria del INTA Mendoza, Luján de Cuyo (33°S, 68°O; 924 msnm). Dentro del invernáculo la temperatura media diaria fue de 26,6° C, la humedad relativa media diaria se mantuvo en 40% y el flujo de fotones fotosintéticamente activos máximos (FFFA) fue de 1300 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> (40% menos que el exterior).

## VARIABLES MEDIDAS

- Para evaluar respuestas vegetativas y morfológicas

**Longitud de brotes:** Se midió la longitud del brote principal y los brotes secundarios (feminelas) previo a la aplicación de los tratamientos, a los 30 días y al finalizar el ensayo.

**Superficie foliar:** el área foliar inicial se calculó a partir de la medición del largo (L) y ancho (A) de todas las hojas de la planta (en forma no destructiva) como SF (cm<sup>2</sup>) = 0,6252\*(LxA)+0.9972 (R<sup>2</sup>: 0,99; p<0,0001]. Para esto se realizó en una etapa previa una regresión entre el LxA y la superficie foliar obtenida por un escáner óptico (Epson Stylus CX5900, Buenos Aires, Argentina) en 74 hojas correspondientes a otro lote de plantas de Cabernet Sauvignon (Sepúlveda & Kliwer, 1983). La superficie de cada hoja escaneada se estimó utilizando el software Leaf Area Measurement v 3.1(©2003 The University of Sheffield. A.P. Askew, junio 2003; <http://www.shef.ac.uk/nuocpe/>).

Durante el transcurso del ensayo se estimó el área foliar a partir de otra regresión que relacionaba esta superficie con la longitud total de los tallos (principal más feminelas, LB); SF (cm<sup>2</sup>)=23.812×LB – 350.89; R<sup>2</sup>: 0,88 y p< 0,0001. Esta relación se obtuvo previamente en brotes de la variedad analizada a través de la medición de la longitud de sus brotes y el área foliar total mediante su relación con el largo y ancho de cada hoja.

Por último, al finalizar el ensayo se estimó la superficie foliar final a través de la relación obtenida entre el peso fresco de las hojas (P; g) y el área foliar escaneada de las mismas (cm<sup>2</sup>). Para esto se tomaron 36 muestras de 5 hojas cada una, se pesaron inmediatamente después de ser separadas del brote y se escanearon para obtener su superficie. Esta regresión fue: SF (cm<sup>2</sup>)= 41,563×P + 83,212; R<sup>2</sup>:0,92; p< 0,0001.

**Peso fresco y peso seco o biomasa de hojas, tallo y raíz:** una vez terminado el ensayo, se separaron los tallos, las hojas (jóvenes y adultas) y las raíces. Las raíces fueron sacadas de las macetas, separadas del sustrato y lavadas rápidamente con agua. Se determinó el peso fresco y seco a estufa (con aire forzado a 65° C hasta peso constante) de cada una de las partes. A partir de estos

pesos, se calculó el contenido de agua por unidad de materia seca por hoja y por planta, la succulencia de la hoja (contenido de agua por  $m^2$ ) y los gramos de materia seca por unidad de superficie foliar variable también denominada masa por área de la hoja.

**Profundidad máxima de raíces:** una vez terminado el ensayo, se separaron las raíces del sustrato y se midió la longitud máxima de ellas con cinta métrica.

**Recuento de células epidérmicas y estomas:** al final del ensayo se realizaron imprimaciones de la epidermis adaxial y abaxial de hojas crecidas en condiciones de estrés, utilizando un esmalte de acetato de celulosa. Estas imprimaciones fueron fotografiadas con un microscopio óptico Olympus CX21FS1 (Tokyo, Japón). Por último, para contar células epidérmicas y estomas, se analizaron las microfotografías con un programa de análisis de imágenes ImageJ versión 1.48v (Wayne Rasband, National Institutes of Health USA, <http://rsbweb.nih.gov/ij/download.html>). Se analizaron tres campos del microscopio con un área conocida en las dos caras de la hoja. Mediante estos datos se calculó el área media de las células epidérmicas en ambas caras. Además con los recuentos en la cara abaxial se calculó la densidad de células epidérmicas ( $N^{\circ}cel/mm^2$ ), la densidad de estomas ( $N^{\circ}estomas/mm^2$ ) y el índice estomático ( $N^{\circ}estomas/N^{\circ}células\ epidérmicas\ totales$ ).

A partir del tamaño de las células de la cara adaxial y la superficie foliar de cada planta, se calculó el número teórico de células epidérmicas totales como un indicador de la multiplicación celular de la planta.

- Para evaluar intercambio gaseoso, relaciones hídricas, clorofila y partición de iones

**Intercambio gaseoso en hojas (fotosíntesis, conductancia estomática y transpiración):** el intercambio neto de  $CO_2$  y  $H_2O$  se midió en una hoja desarrollada y expuesta a la luz, ubicada en la parte media del brote, en dos momentos durante el ensayo. Se evaluó fotosíntesis neta (A), transpiración (E) y conductancia estomática ( $g_s$ ), mediante un analizador de gases por infra-rojo de circuito abierto (CIRAS-2, PP Systems, Hertfordshire, R.U.), con una cubeta universal de hoja, con un área de  $2,5\ cm^2$  [PLC6 (U), CRS121, PPSsystems, Hertfordshire, R.U.]. Las mediciones se realizaron durante días soleados desde las

10.00 a 11.00 h. Luego con los datos de área foliar se calculó el valor de fotosíntesis de la planta entera.

**Potencial hídrico foliar:** para evaluar el estado hídrico se realizaron mediciones semanales del potencial hídrico foliar a mediodía ( $\Psi_{LMD}$ ) utilizando una cámara de presión (4P, Biocontrol, Buenos Aires, Argentina). Estas mediciones se realizaron entre las 12.00 y 12.40 h en plantas destinadas para su monitoreo (12 plantas adicionales), siguiendo el mismo protocolo descrito con anterioridad. Para esto se seleccionó una hoja desarrollada, la cual se colocó dentro de una bolsa de polietileno para evitar la transpiración, luego se cortó el pecíolo y se midió rápidamente.

**Potencial osmótico en hoja:** al final del ensayo se sacó de cada unidad experimental una hoja seleccionada entre las desarrolladas luego de la aplicación de los tratamientos. Las hojas se congelaron con nitrógeno líquido para destruir las células y poder extraer un extracto de los tejidos al presionarlos dentro de una jeringa. La osmolalidad se midió con un osmómetro Vapro (Wescor, USA) y se calculó el potencial osmótico de la hoja ( $\Psi_{\pi L}$ ) utilizando la fórmula  $\Psi_{\pi L}$  (MPa) = - concentración de solutos (mosmol kg<sup>-1</sup>) x 2,58 x 10<sup>-3</sup>, de acuerdo a la ecuación de Van't Hoff (Silveira *et al.* 2009).

**Integridad de membranas:** al finalizar el ensayo, se determinó el índice de integridad de membranas (IM) en muestras de hojas basales, tallos y raíces de la planta. Para esto, se colocaron muestras de tejido con agua destilada en tubos tipo Falcon cerrados herméticamente, en un agitador orbital durante 24 h. Posteriormente, se midió la conductividad eléctrica de este líquido ( $CE_i$ ) con un conductímetro (HI 9033 Multi Range Conductivity Meter; Hanna instruments, USA). Luego se llevó a autoclave a 120° C por 20 minutos y posteriormente se llevó a agitador durante 2 h antes de la última lectura de conductividad eléctrica ( $CE_f$ ) (Barranco *et al.*, 2005). La IM se calculó según la ecuación 4 (Vásquez-Tello *et al.*, 1990)

$$IM = [1 - (CE_i/CE_f)] \times 100 \quad (4)$$

**Contenido de clorofila:** al final del ensayo en una muestra de hojas desarrolladas durante la investigación, se estimó el contenido de clorofila mediante espectrofotometría VIS sobre un extracto de metanol del tejido foliar (Poorter & Van

Berkel, 2012). Este extracto se generó al moler los discos de hojas de superficie conocida con arena fina, carbonato de calcio y metanol en un mortero. Esta suspensión fue trasvasada cuantitativamente a un matraz de 10 mL y enrasada con metanol. Luego fue centrifugada antes de la lectura de tres valores de absorbancia (652, 665 y 750 nm) en un espectrofotómetro (Varian, Cary 50, Australia) empleando cubetas de vidrio de 10 cm de paso óptico. Para calcular la concentración de clorofila A y B de los extractos en  $\text{mg L}^{-1}$  se utilizaron las ecuaciones 5 y 6 y luego se expresaron en mg por gramo de materia seca, a partir de la relación entre el peso fresco y seco de los discos de hojas utilizados.

$$\text{Clorofila A (mg L}^{-1}\text{)} = 16,29 \times (\text{Abs}_{665} - \text{Abs}_{750}) - 8,54 \times (\text{Abs}_{652} - \text{Abs}_{750}) \quad (5)$$

$$\text{Clorofila B (mg L}^{-1}\text{)} = 30,66 \times (\text{Abs}_{652} - \text{Abs}_{750}) - 13,58 \times (\text{Abs}_{665} - \text{Abs}_{750}) \quad (6)$$

**Concentración y contenidos iónicos en los diferentes órganos:** las concentraciones de los iones  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$  se midieron al final del ensayo en extractos de tejidos (raíz, tallo, limbos y pecíolos de hojas jóvenes y adultas) deshidratados en estufa. Para determinar los cationes se realizaron extractos clorhídricos con una relación de extracción de 1:50. El  $\text{Na}^+$  y  $\text{K}^+$  se midieron por fotometría de llama (A.O.A.C., 1990; Filippini *et al.*, 1997; Sadzawka *et al.*, 2004). El  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$  se determinaron con un espectrofotómetro de absorción atómica (PERKIN-ELMER model 2380, Atomic Absorption Spectrometer) sobre las muestras previamente sometidas a digestión ácida. Los contenidos de  $\text{Cl}^-$  se evaluaron por volumetría en un extracto acuoso (1:100), según el método de Mohr (A.O.A.C., 1990; Filippini *et al.*, 1997; Sadzawka *et al.*, 2004) utilizando una solución de nitrato de plata de concentración conocida y cromato de potasio como indicador. A partir de los contenidos de  $\text{Cl}^-$  en el limbo foliar y la cantidad de agua presente, también se calculó la concentración de  $\text{Cl}^-$  en milimoles por litro de agua del tejido foliar ( $\text{Cl}^- \text{ mM L}^{-1}$ ).

Todas estas concentraciones se expresaron en g por 100 g de peso seco de tejido vegetal. Para obtener los contenidos de iones absorbidos en los diferentes órganos (uptake) se multiplicó este valor por el peso seco del tejido.

- Otras variables medidas

**Humedad de suelo ( $\theta$ ):** durante el ensayo en todas las macetas de los tratamientos de déficit hídrico y testigo se midió la  $\theta$  utilizando sensores ECH2O EC-5 (Decagon

Devices, USA). En una primera etapa se midió día por medio y luego se hizo diariamente para evitar variaciones pronunciadas en el umbral de riego definido en DH. En 10 macetas se registraron las marchas de  $\theta$  a intervalos de una hora en las macetas de los tratamientos de DH y T.

**Densidad aparente del suelo (DAP):** este valor se calculó al inicio del ensayo a través de la relación entre el peso seco total de la tierra agregada en cada maceta y el volumen que ocupaba la misma en la maceta luego del primer riego. El peso seco total fue la sumatoria del peso inicial de llenado de las macetas y un segundo agregado de tierra realizado luego del primer riego). El volumen de las macetas se estimó a partir de la fórmula de un cilindro utilizando el radio y profundidad de sustrato en cada maceta.

**Salinidad en suelo, soluciones de riego y drenaje:** al comienzo y final del ensayo se midió la salinidad del sustrato (arena) por medio de la conductividad eléctrica (CE) de la solución extraída a partir de la pasta saturada utilizando un conductímetro (HI 9033 Multi Range conductivity Meter; Hanna instruments, USA). También se midió pH en pasta y concentraciones de  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Na}^{+}$  (por fotometría de llama) y  $\text{Cl}^{-}$  (por el método de Mohr) en  $\text{me L}^{-1}$ . En las soluciones de riego y drenaje se monitoreó la CE cada dos o tres días utilizando el mismo conductímetro.

#### Diseño experimental y análisis de los datos:

El diseño del experimento fue factorial completamente al azar donde se evaluaron dos tratamientos para el factor portainjerto, y tres para los tipos de estrés, con cuatro repeticiones, dando un total de 24 plantas. Las plantas se asignaron a cada tratamiento por sorteo y cada una de las 24 plantas fue la unidad experimental y la de medición. Además, con el fin de poder medir el  $\Psi_{\text{LMD}}$  durante todo el ensayo sin desfoliar las plantas de medición, se agregaron 12 plantas más (2 repeticiones de cada combinación) con el fin de realizar esta medición destructiva en las mismas.

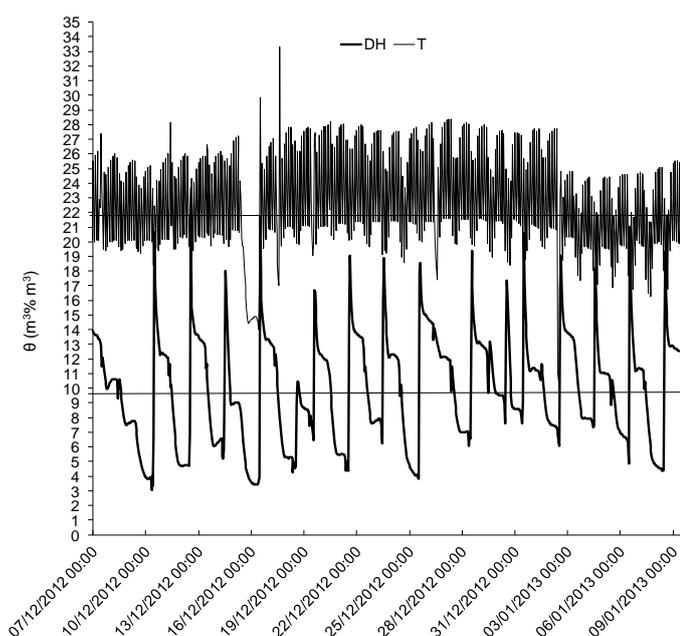
Se analizó la interacción entre los portainjertos y los tratamientos de déficit hídrico y salinidad para las distintas variables medidas mediante el análisis de la varianza (ANOVA), previa verificación de los supuestos (normalidad y homocedasticidad). En los casos que no hubo interacción, se compararon los tratamientos con la prueba de Tukey, con una confianza del 95%. En los casos en que no se cumplieron los supuestos del ANOVA, homocedasticidad (por Prueba de Levene) y normalidad (por Shapiro-Wilks), se transformaron los datos con logaritmo natural, raíz cuadrada o Box Cox. Si aún así no se cumplieron los supuestos se realizó la prueba no

paramétrica de Kruskal Wallis. También se realizaron análisis de regresión entre variables. Los análisis se realizaron con el programa InfoStat versión 2012 (FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina) y Statgraphics Plus for Windows versión 4.0 (Statistical Graphics Corp.).

### 3.2. Resultados

- Caracterización ambiental y edáfica

La  $\theta$  media diaria en el DH fue de 10%, mientras que en T fue de 22% (**Figura 6**). La  $\theta$  máxima y mínima diaria promedio en DH fueron de 15 y 6%, mientras que en T fueron de 27 y 18% respectivamente.



**Figura 6:** Marcha de humedad de suelo ( $\theta$ ) a intervalos de una hora en suelos de plantas en macetas de Cabernet Sauvignon sometidas a déficit hídrico (DH), y sin estrés (T).

La CE del suelo al final del ensayo del T fue de  $0,9 \text{ dS m}^{-1}$  semejante al sustrato inicial ( $0,9 \text{ dS m}^{-1}$ ), mientras que el DH aumentó tres décimas ( $1,2 \text{ dS m}^{-1}$ ) y el salino presentó valores semejantes al agua de riego ( $8,5 \text{ dS m}^{-1}$ ) (**Tabla 5**).

**Tabla 5:** Conductividades eléctricas, contenidos de  $\text{Ca}^{+2}$ ,  $\text{Mg}^{+2}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , RAS y pH de pastas saturadas de muestras compuestas en suelos de plantas en macetas de Cabernet Sauvignon sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T), luego de 54 días de ensayo.

Tratamiento	CE ( $\text{dS m}^{-1}$ )	$\text{Ca}^{+2}$ $\text{Mg}^{+2}$ ( $\text{me L}^{-1}$ )	$\text{Na}^+$ ( $\text{me L}^{-1}$ )	$\text{Cl}^-$ ( $\text{me L}^{-1}$ )	RAS	pH pasta saturada
T	0,9	7,4	1,7	3,5	0,88	7,67
DH	1,2	10,8	1,7	9,5	0,73	7,61
Salino	8,5	66,2	38,8	87,0	6,74	6,93

El tratamiento Salino provocó aumentos en las concentraciones edáficas de  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  y en la relación de absorción de sodio (RAS; **Tabla 5**). En DH también aumentó la concentración de  $\text{Cl}^-$  un 171%. Ambos tratamientos también provocaron diferencias en la concentración de  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$  edáficos. El  $\text{Ca}^{+2}$  y  $\text{Mg}^{+2}$  fueron un 795% más alto en Salino y un 46% más alto en DH, con respecto al T.

- Respuestas vegetativas y morfológicas

Las variables longitud de brotes, superficie foliar total, peso fresco y seco de tallo, hojas y raíz, presentaron diferencias entre los tratamientos de estrés pero no entre portainjertos. La longitud de brotes y la superficie foliar total al inicio del ensayo no presentaban diferencias entre tratamientos ni portainjertos (datos no presentados), sin embargo a los 30 días de su inicio se diferenciaron. Al final del ensayo las plantas de Salino y DH presentaron una longitud de brote y superficie foliar total inferior al T. A su vez, el tratamiento Salino afectó menos estas variables en relación con el DH. La longitud de brotes disminuyó un 68% en Salino y un 83% en DH, mientras que la superficie foliar total disminuyó un 53% en Salino y un 78% en DH, con respecto al T. El peso fresco de las plantas con Salino fue un 48% menor al de las T, mientras que en DH fue un 63% inferior al de T. De la misma manera se vieron afectados los pesos frescos de tallo y hojas. El DH redujo estas variables un 85 y 78% respectivamente mientras que el Salino disminuyó un 69 y 53% respecto al T. Por otro lado, el peso fresco de la raíz no presentó diferencias entre los tratamientos de estrés, fue 24% menor que T (**Tabla 6; Figuras 7, 8 y 9**).

**Tabla 6:** Longitud de brotes (LB), superficie foliar total (SFT), peso fresco de la planta, del tallo, hojas y raíz, en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt), luego 54 días sometidas a estrés salino (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	LB * (m)	SFT (m <sup>2</sup> )	Peso fresco planta (g)	Peso fresco tallo (g)	Peso fresco hojas (g)	Peso fresco raíz (g)*
<b>Portainjerto</b>						
1103P	6,22	0,90	888	268	215	357
101-14Mgt	6,41	0,91	888	278	216	375
<b>Valor p</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>Tratamiento</b>						
DH	2,17 a	0,36 a	524 a	86 a	84 a	341 a
Salino	4,02 b	0,76 b	736 b	174 b	181 b	323 a
T	12,75 c	1,60 c	1404 c	559 c	382 c	434 b
<b>Valor p</b>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0327
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tuckey para  $p < 0,05$

\*Se utilizó análisis no paramétrico de Kruskal Wallis



**Figura 7:** Plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos luego de 54 días sin tratamientos de estrés, la escala representa 20 cm de longitud; (a) 1103P y (b) 101-14Mgt.



**Figura 8:** Plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos, luego de 54 días con riego salino (80 mM de NaCl), la escala representa 20 cm de longitud; (a) 1103P y (b) 101-14Mgt.



**Figura 9:** Plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos, luego de 54 días con déficit hídrico (0,4 FAET), la escala representa 20 cm de longitud; (a) 1103P y (b) 101-14Mgt.

La biomasa total producida ( $C_{\text{planta}}$ ) presentó diferencias entre los tratamientos de estrés pero no entre portainjertos (**Tabla 7**). Los tratamientos Salino y DH se diferenciaron del T pero no entre ellos, disminuyendo su biomasa un 52% en promedio respecto al T; sin embargo su reparto fue diferente. El DH afectó más la

biomasa de la parte aérea, en cambio la salinidad disminuyó más la biomasa de raíz. La biomasa de la raíz de las plantas sometidas a DH, no se diferenció de las T. Por lo indicado, la relación  $C_{raíz}/C_{aéreo}$  fue mayor en el tratamiento de DH un 213%, con respecto al promedio de los otros dos. La biomasa de los tallos ( $C_{tallos}$ ), hojas ( $C_{hojas}$ ) y la suma de toda la parte aérea ( $C_{aéreo}$ , sumatoria de las dos variables anteriores más el peso seco del brote del portainjerto por debajo del injerto) sólo se diferenciaron entre los tratamientos de estrés. Las plantas se vieron siempre más afectadas con DH que con Salino en estas variables, y además ambos tratamientos de estrés se diferenciaron del T. El DH disminuyó el  $C_{aéreo}$  un 73% respecto al T, mientras que la salinidad lo hizo un 54%. La profundidad máxima de las raíces presentó diferencias entre portainjertos y entre tratamientos de estrés. El portainjerto 1103P profundizó sus raíces un 14% más que 101-14Mgt. También el DH provocó una profundización de las raíces un 25% mayor que el Salino, mientras que el T se comportó de manera intermedia.

**Tabla 7:** Biomasa de los distintos órganos de la planta ( $C_{tallos}$ ,  $C_{hojas}$  y  $C_{raíz}$ ), parte aérea ( $C_{aéreo}$ ),  $C_{planta}$ , relación  $C_{raíz}/C_{aéreo}$  y profundidad máxima de raíz; en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	$C_{tallos}$	$C_{hojas}$	$C_{aéreo}$	$C_{raíz}$	$C_{planta}$	$C_{raíz}/C_{aéreo}$	Profundidad raíz (cm)
	(g)						
<b>Portainjerto</b>							
1103P	74	56	138	90	229	0,88	68 b
101-14Mgt	76	57	140	85	225	0,76	59 a
ns ns <b>Valor p</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,0392
<b>Tratamiento</b>							
DH	34 a	26 a	65 a	96 b	161 a	1,50 b	69 b
Salino	55 b	51 b	112 b	58 a	170 a	0,51 a	56 a
T	136 c	92 c	241 c	109 b	349 b	0,45 a	66 ab
<b>Valor p</b>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0006	0,0000	0,0000	0,0192
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para  $p < 0,05$

El contenido de agua por unidad de materia seca de la hoja y por planta, la succulencia de la hoja (contenido de agua por  $m^2$  hoja), la densidad de la hoja (peso seco/peso fresco) y los gramos de materia seca por unidad de superficie foliar (MA), mostraron diferencias entre tratamientos, pero no entre portainjertos (**Tabla 8**). Las hojas de plantas sometidas a salinidad y DH tuvieron un menor contenido de agua respecto a las testigos, aunque con intensidades diferentes. El DH redujo este contenido un 30%, mientras que el Salino lo redujo solo un 19%. A nivel de toda la

planta, el contenido de agua fue menor en DH, pero no hubo diferencias entre Salino y T. Por otro lado, la densidad de las hojas (peso seco/peso fresco) en los tratamientos de estrés fue superior al T, siendo superior en DH que en Salino. Además el DH también presentó una menor succulencia de las hojas que el T, mientras que el salino se comportó de forma intermedia. Por último, la relación materia seca por superficie foliar (MA) aumentó en los dos tratamientos de estrés, aunque en forma diferente, el DH aumentó un 26% y el salino un 16% respecto al T.

**Tabla 8:** Contenido de agua por materia seca en hojas (Agua hoja) y planta (Agua planta), densidad foliar, succulencia de las hojas, materia seca por superficie foliar (MA); en Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego de 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	Agua hoja (g H <sub>2</sub> O g <sup>-1</sup> ms)	Agua planta (g H <sub>2</sub> O g <sup>-1</sup> ms)	Densidad (mg g <sup>-1</sup> )	Succulencia* (g H <sub>2</sub> O m <sup>-2</sup> )	MA (g m <sup>-2</sup> )
<b>Portainjerto</b>					
1103P	2,68	2,70	280	150	65
101-14Mgt	2,64	2,91	280	151	66
<b>Valor p</b>	ns	ns	ns	ns	ns
<b>Tratamiento</b>					
DH	2,23 a	2,26 a	310 c	146 a	73 c
Salino	2,58 b	3,12 b	280 b	151 ab	67 b
T	3,17 c	3,04 b	240 a	155 b	58 a
<b>Valor p</b>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,0019	<0,0001
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns	ns	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para p<0,05

\*Se utilizó análisis no paramétrico de Kruskal Wallis

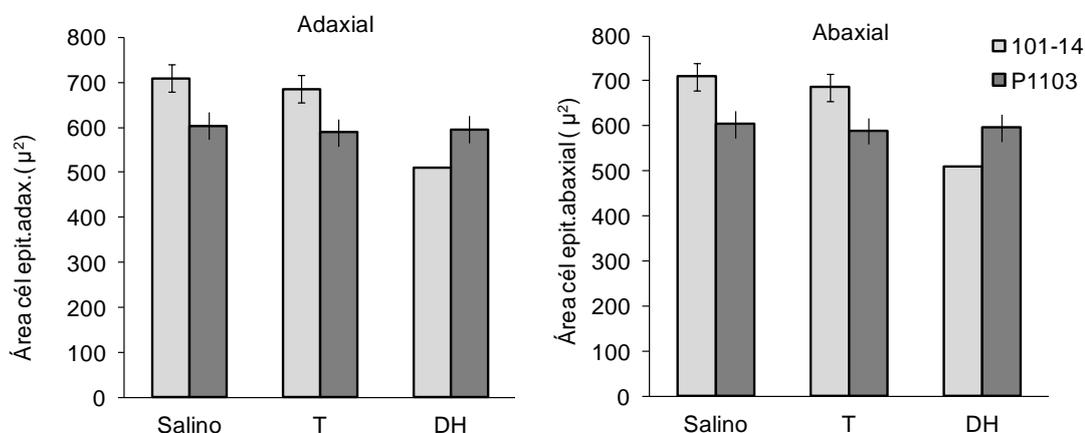
Analizando la morfología de las células epidérmicas foliares, se pudo observar que la salinidad no afectó a la expansión celular, pero el DH redujo esta expansión en 101-14Mgt en un 17% (considerando tanto la cara adaxial como la abaxial; **Tabla 9** y **Figura 10**). Por otro lado, tanto el DH como la salinidad afectaron la multiplicación celular. El DH fue el tratamiento de estrés que más disminuyó la multiplicación celular, reduciendo un 54% el número de células epidérmicas con respecto al T mientras que el tratamiento salino solo lo disminuyó un 32%. No se encontraron diferencias entre portainjertos para el total de células epidérmicas por planta (M).

**Tabla 9:** Área de células epidérmicas de la hoja en cara adaxial (Área Ad) y abaxial (Área Ab), total de células epidérmicas por planta (M), densidad estomática foliar (DE) e índice estomático (IE); en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego de 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	Área Ad ( $\mu^2$ )	Área Ab ( $\mu^2$ )	M (Nº cél $\times 10^6$ / planta)*	DE (Nº estomas/ $\text{mm}^2$ )	IE (Nº estomas/cél totales)
<b>Portainjerto</b>					
1103P	596	408	1518	245	0,09
101-14Mgt	635	412	1381	229	0,09
<b>Valor p</b>	ns				
<b>Tratamiento</b>					
DH	553	390	646 a	248	0,09
Salino	657	407	1180 b	220	0,08
T	637	432	2522 c	244	0,09
<b>Valor p</b>	0,0001				
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	0,0017	0,0342	ns	0,0001	0,0007

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para  $p < 0,05$

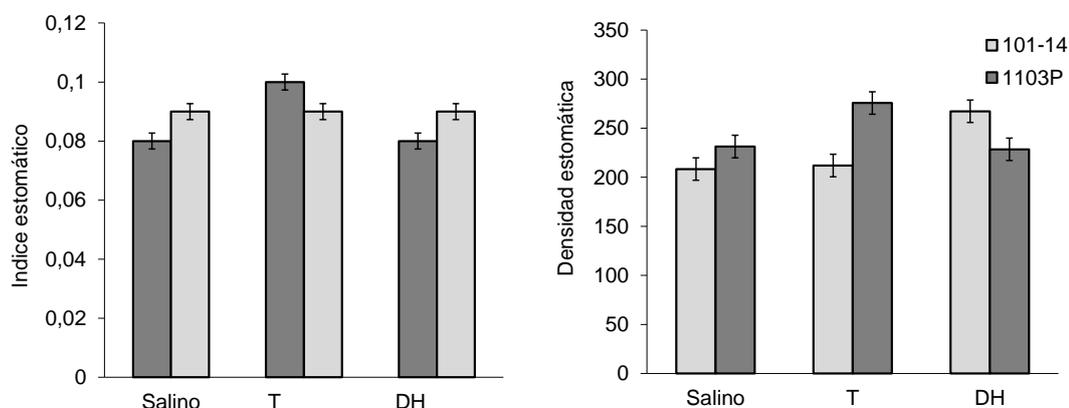
\*Se utilizó análisis no paramétrico de Kruskal Wallis



**Figura 10:** Área promedio de células epidérmicas de cara adaxial y abaxial de la hoja, en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (SAL), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios  $\pm$  error estándar, n=4.

Tomando al índice estomático como un indicador del desarrollo celular (ya que mide cuántas células se diferenciaron como estomas respecto del total de células epidérmicas), pudo observarse que tanto el DH como la salinidad afectaron este desarrollo en 1103P, pero no en 101-14Mgt. Tanto el DH como la salinidad provocaron una disminución del índice estomático del 20% en 1103P, es decir que

la cantidad de células diferenciadas en estomas se redujo un 20% con respecto al T (**Figura 11**).



**Figura 11:** Índice estomático promedio (N° estomas/N° células totales) y densidad estomática (N° estomas por mm<sup>2</sup>) en hojas de plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (SAL), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios ± error estándar, n=4.

Los cambios en crecimiento y desarrollo celular observados impactaron en la densidad estomática (*i.e.* número de estomas por unidad de superficie foliar) en forma distinta en los dos portainjertos (**Tabla 9**). Tanto la salinidad como el DH disminuyeron un 18% la densidad estomática de 1103P respecto de la del testigo. En cambio en 101-14Mgt sólo el DH afectó a su densidad estomática (26% mayor que T). En la **Figura 12** se muestran microfotografías de la epidermis abaxial de vides injertadas en 1103P en donde se aprecia una mayor densidad estomática en plantas sin condiciones de estrés.



**Figura 12:** Microfotografías de improntas de epidermis abaxial de hojas de vid cv. Cabernet Sauvignon sobre 1103P, creciendo sin condiciones de estrés (a), con DH (b) y riego de 80 mM de NaCl (c).

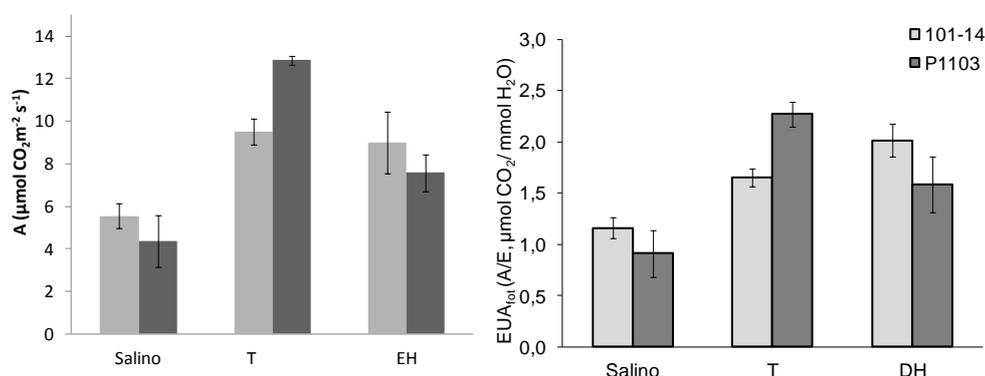
- Respuestas en variables de intercambio gaseoso, relaciones hídricas, clorofila y partición de iones

Al medir el intercambio gaseoso al inicio del ensayo (5/12/12) no se encontraron diferencias entre las plantas en la fotosíntesis neta ( $A$ ), ni en conductancia estomática ( $g_s$ ), ni en la tasa transpiratoria ( $E$ ) (datos no presentados). Pero una vez aplicados los tratamientos salino e hídrico (2/01/13) se provocaron diferencias entre éstos y el testigo (**Tabla 10**). La  $g_s$  se redujo de manera similar en ambos tratamientos de estrés (41% respecto del testigo) sin depender del portainjerto; para la  $A$  se encontró una interacción entre los tipos de estrés y el portainjerto (**Figura 13**). Frente a situaciones de estrés (DH y SAL), la  $A$  de 1103P se vio más afectada que la de 101-14Mgt (41% y 61% respecto a su testigo). El DH no afectó la  $A$  de 101-14Mgt, pero la salinidad sí (42% respecto de su testigo sin estrés). Finalmente la  $A$  en salinidad y DH no se diferenció entre ambos portainjertos. Comparando los tipos de estrés, la salinidad afectó más la  $A$  de las plantas que el DH. La fotosíntesis de la planta entera ( $A_{\text{planta}}$ ) no presentó diferencias entre portainjertos, y los dos tratamientos de estrés se comportaron semejantes, reduciéndose en promedio un 79% con respecto a las plantas testigos. La transpiración ( $E$ ) no presentó diferencias entre portainjertos ni tratamientos de estrés. Por último, la eficiencia en el uso de agua fotosintética ( $EUA_{\text{fot}}$ ), cociente entre  $A/E$ , fue afectada por la interacción entre el tratamiento de estrés y el portainjerto (**Figura 13**). La salinidad afectó la  $EUA_{\text{fot}}$  de ambos portainjertos, pero el DH solo afectó a 1103P. En cambio, analizando la eficiencia de uso del agua para producir biomasa ( $C_{\text{planta}}/E_{\text{planta}}$ ), esta variable aumentó sólo en el tratamiento de DH.

**Tabla 10:** Fotosíntesis neta (A), conductancia estomática ( $g_s$ ), fotosíntesis de la planta ( $A_{\text{planta}}$ ), transpiración (E), y la eficiencia en el uso de agua fotosintética ( $EUA_{\text{fot}}$ ) y la eficiencia de uso del agua para producir biomasa (C/E); medidas el 2/01/13 en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos  $n=12$  y Tratamientos  $n=8$ .

	<b>A</b> ( $\mu\text{mol CO}_2$ $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	<b><math>g_s</math></b> ( $\text{mmol H}_2\text{O}$ $\text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$ )	<b><math>A_{\text{planta}}</math></b> ( $\mu\text{mol CO}_2 \text{s}^{-1}$ planta $^{-1}$ )	<b>E</b> ( $\text{mmol H}_2\text{O m}^{-2}$ $\text{s}^{-1}$ )	<b><math>EUA_{\text{fot}}</math></b> ( $\mu\text{mol CO}_2/\text{mmol H}_2\text{O}$ )	<b>C/E</b> planta
<b>Portainjerto</b>						
1103P	8,27	339	9,28	5,78	1,59	58,72
101-14Mgt	8,03	292	7,44	5,00	1,61	59,77
<b>Valor p</b>		ns	ns	ns		ns
<b>Tratamiento</b>						
DH	8,29	227 a	3,77 a	4,69	1,79	100,61 b
Salino	4,96	285 a	3,70 a	5,74	1,04	38,92 a
T	11,20	434 b	17,61 b	5,74	1,96	38,20 a
<b>Valor p</b>		0,0032	<0,0001	ns		<0,0001
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	0,0246	ns	ns	ns	0,0161	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para  $p < 0,05$



**Figura 13:** Fotosíntesis neta (A), eficiencia en el uso de agua fotosintética ( $EUA_{\text{fot}}$ ) en hojas de plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios  $\pm$  error estándar,  $n=4$ .

El potencial hídrico foliar de mediodía ( $\Psi_{\text{LMD}}$ ) al inicio del ensayo fue de  $-0,8$  MPa y no presentó diferencias entre las plantas (datos no presentados), pero una vez que la solución de riego alcanzó los 80 mM de NaCl (21/12/12) se diferenciaron los tratamientos de DH y Salino del T (**Tabla 11**). En esa fecha el  $\Psi_{\text{LMD}}$  en los dos tratamientos de estrés presentó un valor promedio de  $-1,1$  MPa; mientras que el T fue de  $-0,7$  MPa. En la etapa final (16/01/13), los tratamientos de estrés disminuyeron un 45% respecto al T, presentando un valor promedio de  $-1,3$  MPa. El

potencial osmótico de las hojas ( $\Psi_{\pi H}$ ) no presentó diferencias entre portainjertos pero sí entre tratamientos. El tratamiento Salino disminuyó el  $\Psi_{\pi H}$  un 27% con respecto a las plantas sin estrés, mientras que el DH se comportó de manera intermedia. Analizando los valores de  $\Psi_{\pi H}$  de plantas sometidas a salinidad y las concentraciones de  $\text{Na}^+$  de limbos de hojas maduras, se observó que estas dos variables tenían una correlación significativa de  $r = -0,76$  ( $p=0,0303$ ). Además, se verificó que estas dos variables tenían una relación lineal con un grado de explicación  $R^2$  del 57% ( $p=0,0303$ ). Sin embargo, en las plantas T y DH no existía esta correlación entre las concentraciones de  $\text{Na}^+$  de limbos viejos y el  $\Psi_{\pi H}$ . También se observó que los valores de  $\Psi_{\pi H}$  no presentaron correlación con las concentraciones de  $\text{Cl}^-$  en limbos viejos en ninguno de los tratamientos.

La integridad de las membranas (IM) en hojas y tallos no se diferenciaron entre los tipos de estrés y portainjertos, presentando un valor promedio del 84% y 67% respectivamente (datos no presentados). Los tratamientos Salino y DH tampoco afectaron la integridad de membrana de las raíces. Sin embargo, los portainjertos presentaron diferencias en los valores de IM de las raíces con un valor promedio del 28% para 1103P y 48% para 101-14Mgt ( $p=0,0084$ ).

**Tabla 11:** Potencial hídrico foliar mediodía ( $\Psi_{\text{LMD}}$ ) una vez que la solución de riego alcanzó los 80 mM NaCl (21/12/12) y al final del ensayo (16/01/13) y potencial osmótico de hojas ( $\Psi_{\pi H}$ ); en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos  $n=12$  y Tratamientos  $n=8$ .

	$\Psi_{\text{LMD}}$ (21/12/12) (MPa)	$\Psi_{\text{LMD}}$ (16/01/13) (MPa)	$\Psi_{\pi H}$ (Mpa)
<b>Portainjerto</b>			
1103P	-1,0	-1,1	-2,1
101-14Mgt	-1,0	-1,2	-2,1
<b>Valor p</b>	ns	ns	ns
<b>Tratamiento</b>			
DH	-1,0 a	-1,3 a	-2,1 ab
Salino	-1,1 a	-1,3 a	-2,3 a
T	-0,7 b	-0,9 b	-1,8 b
<b>Valor p</b>	0,0003	0,0001	0,036
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para  $p < 0,05$

La salinidad no disminuyó los contenidos de clorofila A y B por materia seca (**Tabla 12**). En cambio, el DH disminuyó un 37% la clorofila A y un 41% la clorofila B, respecto al T. No se observaron diferencias entre portainjertos en esta variable.

**Tabla 12:** Contenido de clorofila A y B por materia seca en muestras de tejido foliar en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	Clorofila A (mg g <sup>-1</sup> )	Clorofila B (mg g <sup>-1</sup> )
<b>Portainjerto</b>		
1103P	8,29	1,76
101-14Mgt	8,11	1,85
<b>Valor p</b>	ns	ns
<b>Tratamiento</b>		
DH	6,20 a	1,28 a
Salino	8,52 b	1,97 b
T	9,87 b	2,16 b
<b>Valor p</b>	0,0004	0,0013
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para p<0,05

### Concentraciones y absorciones de iones de posible efecto tóxico en la planta

Al analizar la concentración de iones en los tejidos se encontró un aumento de Na<sup>+</sup> en el tratamiento salino (**Tabla 13**). Las concentraciones de Na<sup>+</sup> en todos los órganos aéreos presentaron diferencias significativas entre tratamientos pero no entre los portainjertos. En tallos, limbos y pecíolos de las plantas con tratamiento Salino las concentraciones medias aumentaron 1100, 500 y 2175% respectivamente, con respecto al T. El DH presentó valores de concentración intermedios en los órganos aéreos. Las concentraciones de Na<sup>+</sup> en limbos y pecíolos presentadas anteriormente, son los promedios de las concentraciones en tejidos jóvenes y maduros ponderados por el peso seco de cada tipo de tejido. En el caso de los limbos del tratamiento Salino, la concentración en limbos maduros fue un 75% mayor al promedio ponderado (alcanzando un valor de 0,42% Na<sup>+</sup>); mientras que en limbos jóvenes presentó un 21% menos (0,19% Na<sup>+</sup>). Analizando las concentraciones de los pecíolos, se observó que en los maduros fue un 14% superior (2,08% Na<sup>+</sup>) al promedio ponderado de ese órgano, mientras que los jóvenes mostraron un 41% menos (1,07% Na<sup>+</sup>). En raíces, la concentración de Na<sup>+</sup> presentó diferencias entre tratamientos y entre portainjertos. Las raíces de las plantas sometidas a Salino concentraron un 225% de Na<sup>+</sup> más que el valor promedio de los tratamientos T y DH. Por otro lado, las raíces de 1103P acumularon un 23% menos de Na<sup>+</sup> que las de 101-14Mgt. En todos los tratamientos el Na<sup>+</sup> presentó concentraciones superiores en los pecíolos y raíces, que en los tallos y limbos foliares.

**Tabla 13:** Concentraciones de Na<sup>+</sup> (% materia seca), en distintos órganos (limbos, pecíolos, tallos y raíces), en plantas de plantas Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego de 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	% Na <sup>+</sup>						Tallos	Raíces
	Limbo joven	Limbo adulto	Limbo promedio	Pecíolo joven	Pecíolo adulto	Pecíolo promedio		
<b>Portainjerto</b>								
1103P	0,09	0,160	0,11	0,600	1,010	0,76	0,16	0,51a
101-14Mgt	0,11	0,230	0,14	0,830	1,040	0,93	0,18	0,66 b
<b>Valor p</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	0,0252
<b>Tratamiento</b>								
DH	0,07b	0,11b	0,09 b	0,37b	0,87b	0,63 b	0,12 b	0,29 a
Salino	0,19c	0,42c	0,24 c	1,07c	2,08c	1,82 c	0,36 c	1,09 b
T	0,04a	0,06a	0,04 a	0,08a	0,14a	0,08 a	0,03 a	0,38 a
<b>Valor p</b>	0,0000	0,0000	<0,0001	<0,0001	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para p<0,05

Los contenidos totales de Na<sup>+</sup> ingresados a la planta también presentaron diferencias entre tratamientos y portainjertos (**Tabla 14**). Las plantas injertadas sobre 1103P acumularon un 21% menos de Na<sup>+</sup> que las injertadas sobre 101-14Mgt. Por otro lado, el tratamiento Salino aumentó el contenido de Na<sup>+</sup> en la planta un 137% con respecto al valor promedio de los tratamientos T y DH. Se observó también que la salinidad produjo un aumento del contenido de Na<sup>+</sup> de 351% en hojas y de 382% en tallos con respecto al valor promedio del DH y T, mientras que en raíz el aumento sólo fue de 68%. Además, se observó que el tratamiento de estrés salino cambió la distribución del Na<sup>+</sup> en los distintos órganos de la planta con respecto al tratamiento T, acumulándose mayor porcentaje de Na<sup>+</sup> en las hojas y tallo (Salino: 38%; T:17%) y disminuyendo en raíz (Salino:61% y T:83%).

**Tabla 14:** Absorción o contenido de Na<sup>+</sup> en planta entera y distintos órganos (hojas, tallo y raíz) en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego de 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores entre paréntesis indican el porcentaje de este ión en cada órgano. Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	Na <sup>+</sup> planta (mg)	Na <sup>+</sup> hojas (mg)	Na <sup>+</sup> tallo (mg)	Na <sup>+</sup> raíz (mg)
<b>Portainjerto</b>				
1103P	536,96 a	69,29 a	78,68 a	350,11a
101-14Mgt	675,67 b	94,50 b	99,82 b	481,35 b
<b>Valor p</b>	0,0273	0,0276	0,0280	0,0031
<b>Tratamiento</b>				
DH	358,09 a	34,06 a (10%)	41,40 a (12%)	282,62 a (78%)
Salino	986,92 b	170,18 b (17%)	189,37 b (21%)	569,05 b (61%)
T	473,93 a	41,43 a (9%)	36,98 a (8%)	395,52 a (83%)
<b>Valor p</b>	<0,0001	<0,0001	0,0000	0,0001
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para p<0,05

Para analizar la capacidad de exclusión de los dos portainjertos se contrastaron en el tratamiento Salino los contenidos promedios de Na<sup>+</sup> ingresados. En las plantas injertadas con 1103P ingresaron 800 mg Na<sup>+</sup>, mientras que en las injertadas con 101-14Mgt, ingresaron 1151 mg. Es decir que 1103P excluyó un 25% más la entrada del ión Na<sup>+</sup> que 101-14Mgt. En el tratamiento Salino, los contenidos de Na<sup>+</sup> en cada uno de los órganos (hojas, tallos y raíz) de las plantas injertadas sobre 1103P fueron menores que en los de 101-14Mgt. En hojas y tallos la diferencia promedio entre los dos portainjertos fue sólo de 50 mg, mientras que en raíz fue de 362 mg.

El tratamiento salino también aumentó la concentración de Cl<sup>-</sup> en todos los órganos de la planta, sin embargo no hubo diferencias en la acumulación de este anión entre portainjertos (**Tabla 15**). El DH también provocó un aumento en la concentración de Cl<sup>-</sup> en los limbos y pecíolos de las hojas, pero en menor medida que la salinidad. Con salinidad, las concentraciones en limbos y pecíolos aumentaron un 800 y 669% respectivamente comparadas con el T; mientras que con DH, solo 173 y 189% respectivamente. A diferencia de lo observado en el Na<sup>+</sup>, las concentraciones de Cl<sup>-</sup> en tejidos jóvenes y maduros fueron similares. En tallos y raíces de plantas sometidas a salinidad, la concentración de este ión sufrió un incremento del 190 y 228% con respecto al promedio de los tratamientos de DH y T (sin diferencias). La concentración de Cl<sup>-</sup> en todos los órganos analizados fue

siempre superior a la del Na<sup>+</sup> (e.g. limbos del tratamiento SAL presentaron 0,24% Na<sup>+</sup> y 0,99% Cl<sup>-</sup>).

**Tabla 15:** Concentraciones de Cl<sup>-</sup> (% materia seca), en distintos órganos (limbos, pecíolos, tallos y raíces) en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego de 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	% Cl <sup>-</sup>							
	Limbo joven	Limbo adulto	Limbo promedio	Pecíolo joven	Pecíolo adulto	Pecíolo promedio	Tallos	Raíces
<b>Portainjerto</b>								
1103P	0,53	0,500	0,53	1,370	1,330	1,39	0,26	0,92
101-14Mgt	0,39	0,450	0,41	1,360	1,510	1,39	0,25	0,94
<b>Valor p</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns
<b>Tratamiento</b>								
DH	0,26 b	0,34 b	0,30 b	0,91 b	1,17 b	1,04 b	0,18 a	0,58 a
Salino	1,00 c	0,94 c	0,99 c	2,86 c	2,47 c	2,77 c	0,45 b	1,74 b
T	0,11 a	0,14 a	0,11 a	0,33 a	0,62 a	0,36 a	0,13 a	0,48 a
<b>Valor p</b>	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000	0,0000
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos para un mismo tejido vegetal, en el test de Tukey para p<0,05

A diferencia de lo observado con el Na<sup>+</sup>, ninguno de los portainjertos evaluados, mostró un poder de exclusión mayor que el otro. Los contenidos totales de Cl<sup>-</sup> en plantas sometidas a salinidad aumentaron con el tratamiento salino pero sin diferencias entre los portainjertos (**Tabla 16**). Las plantas con salinidad acumularon más Cl<sup>-</sup> que las T, y el DH no se diferenció de T (Salino acumuló un 135% más Cl<sup>-</sup> que el promedio de T y DH). Los contenidos en hoja y raíz aumentaron un 417% y 88%, con respecto al promedio de DH y T. En tallos, el contenido de Cl<sup>-</sup> en el tratamiento salino aumentó un 40% respecto al T, mientras que en el DH su contenido fue 63% menor que el presentado en plantas T.

**Tabla 16:** Contenido de Cl<sup>-</sup> en planta entera y distintos órganos (hoja, raíz y tallo) en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego de 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores entre paréntesis indican el porcentaje de este ión en cada órgano. Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	Cl <sup>-</sup> planta (mg)	Cl <sup>-</sup> hoja* (mg)	Cl <sup>-</sup> tallo (mg)	Cl <sup>-</sup> raíz (mg)
<b>Portainjerto</b>				
1103P	1132,10	282,14	158,74	673,20
101-14Mgt	1098,09	233,52	155,14	696,90
<b>Valor p</b>	ns	ns	ns	ns
<b>Tratamiento</b>				
DH	718,63 a	93,41 a (13%)	62,86 a (9%)	553,59 a (78%)
Salino	1808,46 b	557,84 b (31%)	237,62 c (13%)	995,97 b (56%)
T	818,21 a	122,24 a (15%)	170,33 b (21%)	505,60 a (63%)
<b>Valor p</b>	0,0000	0,0002	0,000	0,000
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para p<0,05

\*Se utilizó análisis no paramétrico de Kruskal Wallis

La concentración de Cl<sup>-</sup> en milimoles por litro de agua del tejido foliar a partir de los contenidos de Cl<sup>-</sup> y agua (Cl<sup>-</sup> mM L<sup>-1</sup>) presentó diferencias significativas en todos los tratamientos de estrés (**Tabla 17**). En DH la concentración de Cl<sup>-</sup> mM L<sup>-1</sup> aumentó un 266% con respecto al T, mientras que en el salino aumentó un 882%.

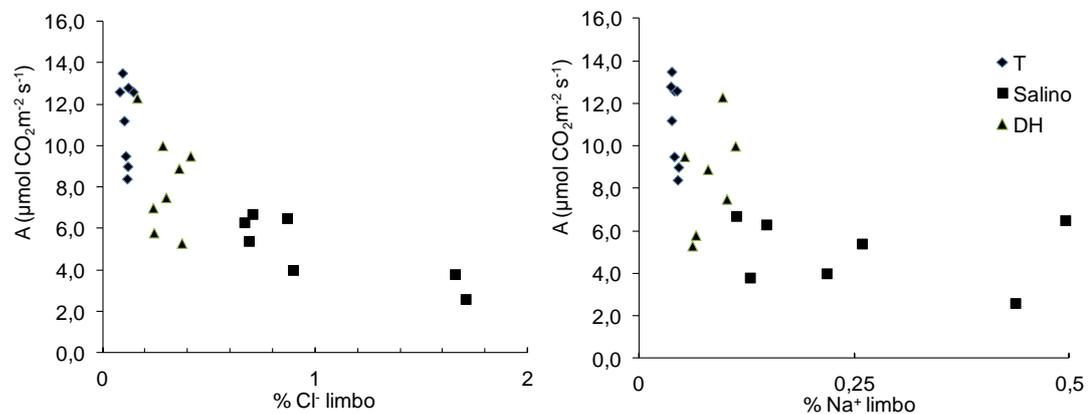
**Tabla 17:** Concentración de Cl<sup>-</sup> en agua del tejido foliar de plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	Cl <sup>-</sup> mM L <sup>-1</sup>
<b>Portainjerto</b>	
1103P	73,84
101-14Mgt	63,10
<b>Valor p</b>	ns
<b>Tratamiento</b>	
DH	51,92 b
Salino	139,29 c
T	14,19 a
<b>Valor p</b>	<0,0001
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para p<0,05

Al analizar las relaciones entre estos iones tóxicos con la A y la g<sub>s</sub> en todos los tratamientos se observó que la concentración de Cl<sup>-</sup> en limbos afectó la A (y=1 / [0,0796144+0,142398\*%Cl<sup>-</sup>Limbo], R<sup>2</sup>=80%, p=0,000, **Figura 14**) pero no influyó en la g<sub>s</sub> (datos no presentados). También afectó la A la concentración de Na<sup>+</sup> de limbos pero con un menor grado de explicación que el Cl<sup>-</sup>

( $y=3,9265+0,304087/\%Na^+Limbo$ ,  $R^2=56\%$ ,  $p= 0,000$ , **Figura 14**). Por último  $g_s$  sólo presentó correlación significativa con la concentración de  $Na^+$  ( $r=-0,5$ ,  $p= 0,0133$ ), siguiendo el modelo  $y= 116^* \%Na^+Limbo p^{-0,372933}$  ( $R^2=37\%$ ).



**Figura 14:** Relaciones entre fotosíntesis neta (A) y concentración en limbos de  $Cl^-$  y  $Na^+$ , en hojas de plantas Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) sometidas a salinidad (Salino ■), déficit hídrico (DH ▲) y sin estrés (T ◆).

#### Concentraciones y contenidos de nutrientes $K^+$ , $Ca^{+2}$ y $Mg^{+2}$ en la planta

Tanto la salinidad como el DH afectaron la absorción de  $K^+$ . Esto se vio reflejado en las concentraciones de  $K^+$  en todos los órganos de la planta que presentaron diferencias entre tratamientos pero no entre portainjertos. La concentración de  $K^+$  en pecíolos y tallos de plantas con SAL y DH se diferenciaron del T pero no entre ellos (**Tabla 18**). En los dos tratamientos de estrés la concentración media de  $K^+$  en los pecíolos fue 41% menor que en T, mientras que en tallos fue un 25% inferior al T. La concentración de  $K^+$  en limbos de plantas sometidas a DH fue un 24% inferior al promedio de las T y SAL (sin diferencias). En raíces, la concentración de  $K^+$  en plantas con DH también fue inferior a las de SAL (-20%), pero en este caso el T se comportó de manera intermedia. La relación  $K^+/Na^+$  calculada a partir de los contenidos totales de las plantas presentó diferencias entre los tratamientos de estrés, siendo el tratamiento salino el que más la disminuyó. La salinidad redujo la relación  $K^+/Na^+$  un 78% respecto al T, mientras que el DH la redujo un 52%. Por último, al analizar esta misma relación  $K^+/Na^+$  pero a nivel de limbo, se observó que mantuvo el mismo comportamiento, presentando valores superiores al de la planta.

**Tabla 18:** Concentraciones de K<sup>+</sup> (% materia seca), en distintos órganos (pecíolo, tallos, limbo y raíces); relación K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> en plantas y limbo de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego de 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	% K <sup>+</sup>				K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup> planta	K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup> limbo
	Limbo	Pecíolo	Tallos	Raíces		
<b>Portainjerto</b>						
1103P	1,02	1,65	0,82	0,73	4,06	15,05
101-14Mgt	1,07	1,61	0,81	0,82	3,90	14,52
<b>Valor p</b>	ns	ns	ns	ns	ns	Ns
<b>Tratamiento</b>						
DH	0,94 a	1,24 a	0,69 a	0,70 a	3,36 b	11,86 b
Salino	1,13 b	1,41 a	0,78 a	0,87 b	1,55 a	6,25 a
T	1,07 b	2,24 b	0,98 b	0,74 ab	7,03 c	26,24 c
<b>Valor p</b>	0,0053	0,0001	0,0000	0,0224	0,0000	0,0000
<b>Valor p PortainjxTrat</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para p<0,05

A diferencia de lo observado con el K<sup>+</sup>, las concentraciones de Ca<sup>+2</sup> en limbos y pecíolos de plantas con DH y Sal aumentaron respecto de las T un 31% y 35% respectivamente (**Tabla 19**). En limbos también hubo diferencias significativas entre portainjertos; las plantas injertadas sobre 1103P presentaron una concentración 9% superior a las injertadas sobre 101-14Mgt. En tallos, la concentración de Ca<sup>+2</sup> en plantas sometidas a DH fue un 16% superior a las T, mientras que Salino se comportó de manera intermedia. En raíces, la concentración de Ca<sup>+2</sup> presentó diferencias entre tratamientos y portainjertos. En el tratamiento Salino fue un 17% inferior al promedio de los tratamientos de DH y T. En las raíces de 1103P la concentración promedio de este catión fue un 8% inferior a las de 101-14Mgt. Por último, al analizar las relaciones entre Ca<sup>+2</sup>/Na<sup>+</sup> y K<sup>+</sup>/Ca<sup>+2</sup> a nivel de hoja, también se observaron diferencias entre tratamientos y portainjertos. Las plantas injertadas sobre 1103P presentaban una relación Ca<sup>+2</sup>/Na<sup>+</sup> de 23, es decir que por cada parte de Na<sup>+</sup> habían 23 partes de Ca<sup>+2</sup>, siendo esta relación un 24% superior a la presentada en limbos de plantas injertadas sobre 101-14Mgt. Por otro lado, el tratamiento Salino redujo esta relación en limbo un 71% respecto al T, mientras que el DH sólo lo disminuyó un 35% respecto al T.

**Tabla 19:** Concentraciones de  $\text{Ca}^{+2}$  (% materia seca), en limbos, pecíolos, tallos y raíces; relación  $\text{Ca}^{+2}/\text{Na}^{+}$  en limbo y  $\text{K}^{+}/\text{Ca}^{+2}$  en pecíolo de plantas Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego de 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	% $\text{Ca}^{+2}$				$\text{Ca}^{+2}/\text{Na}^{+}$ limbo	$\text{K}^{+}/\text{Ca}^{+2}$ peciolo
	Limbo	Pecíolo	Tallos	Raíces		
<b>Portainjerto</b>						
1103P	1,66 b	1,300	0,600	0,97a	23,28 b	1,43 b
101-14Mgt	1,52 a	1,420	0,620	1,06 b	18,83 a	1,22 a
<b>Valor p</b>	0,0231	ns	ns	0,0184	0,0253	0,0339
<b>Tratamiento</b>						
DH	1,69 b	1,53 b	0,64 b	1,06 b	21,13 b	0,8 a
Salino	1,76 b	1,46 b	0,63 ab	0,89 a	9,53 a	0,99 a
T	1,32 a	1,10 a	0,55 a	1,09 b	32,50 c	2,19 b
<b>Valor p</b>	0,0000	0,0038	0,0142	0,0003	0,0000	0,0000
<b>Valor p Interacción</b>	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para  $p < 0,05$

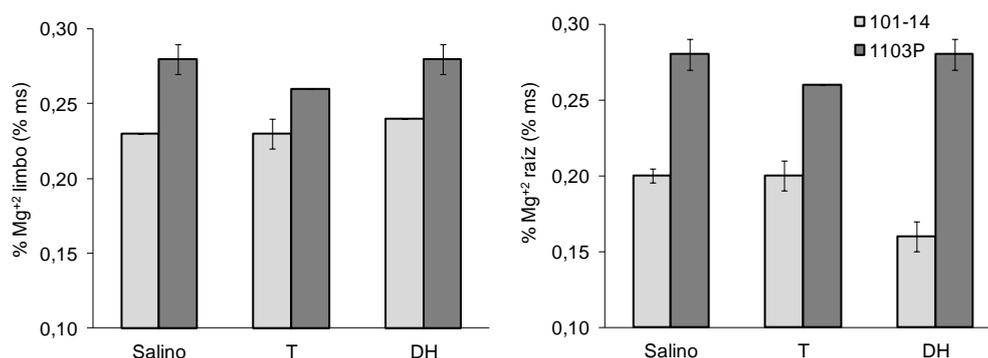
Las concentraciones de  $\text{Mg}^{+2}$  en limbo y raíces presentaron una interacción entre los tratamientos de estrés y el portainjerto (**Tabla 20, Figura 15**). Las concentraciones de  $\text{Mg}^{+2}$  en limbos y raíces de plantas injertadas sobre 1103P siempre presentaron valores superiores a las de 101-14Mgt. En 101-14, la concentración de este catión en limbo se mantuvo constante en los tres tratamientos de estrés, mientras que en raíz su concentración sólo fue inferior en plantas sometidas a DH. La concentración de  $\text{Mg}^{+2}$  en pecíolos de plantas del tratamiento Salino fue un 25% menor a la presentada en plantas T, mientras que el DH se comportó de manera intermedia. En el tallo, la concentración de  $\text{Mg}^{+2}$  fue menor en DH, pero no hubo diferencias entre Salino y T. Al analizar el contenido de este catión en la planta se observó que los tratamientos Salino y DH se diferenciaron del T pero no entre ellos, disminuyendo su contenido un 54% en promedio respecto al T. Por último, al analizar las relaciones entre  $\text{K}^{+}/\text{Mg}^{+2}$  en la planta se observó diferencias entre tratamientos y portainjertos

**Tabla 20:** Concentraciones de  $Mg^{+2}$  (% materia seca), en limbo, pecíolo, raíces y tallos, contenido total y relaciones  $K^+/Mg^{+2}$  en planta y pecíolo de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego de 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Valores promedios, Portainjertos n=12 y Tratamientos n=8.

	% $Mg^{+2}$				Contenido $Mg^{+2}$ planta	$K^+/Mg^{+2}$ planta entera*	$K^+/Mg^{+2}$ pecíolo
	Pecíolo	Tallos	Limbo	Raíces			
<b>Portainjerto</b>							
1103P	0,69 b	0,12 b	0,28	0,19	444,22	4.32 a	2,38
101-14Mgt	0,57a	0,10 a	0,23	0,18	392,29	5.13 b	2,71
<b>Valor p</b>	0,0277	0,0008			ns	0,0003	ns
<b>Tratamiento</b>							
DH	0,64 ab	0,10 a	0,26	0,17	275,29 a	4,26 a	1,96
Salino	0,54 a	0,13 b	0,26	0,19	325,76 a	4,73 b	2,64
T	0,72 b	0,11 b	0,25	0,20	653,72 b	5,18 b	3,03
<b>Valor p</b>	0,0232	0,0004			0,0000	0,0023	ns
<b>Valor p Interacción</b>	ns	ns	0,0380	0,0118	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias significativas en el test de Tukey para  $p < 0,05$

\*Se utilizó un modelo mixto considerando la heterocedasticidad



**Figura 15:** Concentración de  $Mg^{+2}$  en limbo y raíz (% materia seca), en plantas de Cabernet Sauvignon sobre dos portainjertos (1103P y 101-14Mgt) luego de 54 días sometidas a salinidad (Salino), déficit hídrico (DH) y sin estrés (T). Las barras indican los errores estándares, n=4.

Para finalizar, en la **Tabla 21** se resumen las principales diferencias en la afectación de variables vegetativas, fisiológicas y contenidos iónicos entre el estrés Salino y el DH. También en **Tabla 22** se detallan las discrepancias observadas entre los portainjertos 1103P y 101-14Mgt.

**Tabla 21:** Afectación de variables vegetativas, fisiológicas y contenidos iónicos en plantas sometidas a salinidad y déficit hídrico, respecto al T sin estrés.

↓ Detrimiento, ↑ Aumento, – Sin afectación. Dos flechas más afectada, una flecha menos afectada. \*I, indica que hubo interacción entre portainjertos y tipo de estrés.

Variable	Salinidad	Déficit hídrico
• Crecimiento vegetativo (referido a LB, SFT, peso fresco plantas, peso fresco hojas, peso fresco tallo)	↓	↓↓
• Biomasa aérea (C aéreo)	↓	↓↓
• Biomasa total (C planta)	↓	↓
• Biomasa raíz (C raíz)	↓	–
• Relación C raíz/C aéreo	–	↑
• Contenido de agua planta	–	↓
• Materia seca por superficie foliar	↑	↑↑
• Multiplicación celular	↓	↓↓
• Fotosíntesis neta (A)	↓ ó ↓↓ (*I) (101-14 1103P)	↓ ó – (*I) (1103P 101-14)
• Fotosíntesis a nivel de planta	↓	↓
• conductancia estomática (g <sub>s</sub> )	↓	↓
• Transpiración (E)	–	–
• Eficiencia de uso agua para producir biomasa (C/E)	–	↑
• Contenido de clorofila total	–	↓
• Contenidos de iones tóxicos Na <sup>+</sup> y Cl <sup>-</sup> en planta	↑	–
• Relación K <sup>+</sup> /Na <sup>+</sup> en limbo y planta	↓↓	↓
• % Ca <sup>+2</sup> en raíces	↓	–
• % Ca <sup>+2</sup> en limbo	↑	↑
• Relación Ca <sup>+2</sup> /Na <sup>+</sup> en limbo,	↓↓	↓

**Tabla 22:** Principales diferencias entre los portainjertos 1103P y 101-14Mgt. Símbolos: + más, - menos.

Variable	1103P	101-14Mgt
• Profundidad de raíz	+	-
• Área de células epidérmicas	constante	Disminuye en DH
• Densidad estomática	Disminuye con DH y salinidad	Aumenta con DH
• Índice estomático	Disminuye con DH y salinidad	constante
• Concentración de Na <sup>+</sup> en raíces	-	+
• Contenido de Na <sup>+</sup> en hojas, tallos, raíz y planta entera	-	+
• Concentración de Ca <sup>+2</sup> en limbo	+	-
• Relación Ca <sup>+2</sup> /Na <sup>+</sup> en limbo	+	-
• Concentración de Mg <sup>+2</sup> en limbo, pecíolos y tallos	+	-

#### 4.DISCUSIÓN

La reducción del  $\Psi_{LMD}$ , la biomasa, la longitud de los brotes y la superficie foliar en tratamientos de estrés salino y DH también ha sido observada en numerosos trabajos por otros autores, tanto en estrés hídrico (Naor *et al.*, 1993; Poni *et al.*, 1993; Vallone, 1998; Hardie y Martin, 2000; Perez Peña, 2000; Kaiser, 2003; Schultz, 2003; Pellegrino *et al.* 2005; Lovisolo *et al.*, 2010; Chaves *et al.*, 2010; Dayer, 2012; Vila, 2012; Meggio *et al.*, 2014) como en estrés salino (Prior *et al.*, 1992; Fisarakis *et al.*, 2001; Walker *et al.*, 2002; Meggio *et al.*, 2014; Serra *et al.*, 2014).

Sin considerar los tratamientos de estrés, los portainjertos no presentaron diferencias en la expresión vegetativa de la parte aérea de la planta (**Tabla 6**). Esto no concuerda con lo observado por otros autores (Walker *et al.*, 2004; Vila *et al.*, 2016) donde el portainjerto 1103P presentaba mayor expresión vegetativa y vigor que 101-14Mgt, en otras variedades de vid. Esto podría deberse a una posible interacción entre el portainjerto y la parte aérea (Tandonnet *et al.*, 2010). Esto también podría estar relacionado al alto vigor característico del cv. Cabernet Sauvignon (Alcalde, 1998) que no permitió expresar diferencias en el vigor de las plantas, como también que se trata de un ensayo realizado en macetas.

La mayor afectación del crecimiento vegetativo en DH comparado con el estrés salino también fue observada por otros autores (Cramer *et al.*, 2007 y Vincent *et al.*, 2007). Esto confirmaría la primera hipótesis, que afirmaba que en el estrés hídrico prevalece la disminución del crecimiento vegetativo. No obstante, en este estudio la reducción de biomasa total de la planta fue equivalente en ambos tipos de estrés (-52%). Esto indicaría que en estas condiciones del ensayo cada tipo de estrés afecta en forma distinta la partición de biomasa. El DH afecta más el crecimiento de brotes y hojas y el estrés salino el crecimiento de la raíz (**Tabla 7**).

La tendencia del DH a modificar el reparto de biomasa con una mayor relación  $C_{raíz}/C_{aéreo}$ , coincide con lo observado por otros autores (Kaiser, 2003; Alsina *et al.* 2011; Vila, 2012). El mayor crecimiento relativo de las raíces provocado por el DH, ha sido atribuido al incremento de la concentración de ABA (Sharp y LeNoble, 2002). La mayor profundidad de raíces en DH también fue previamente observada (Vila, 2012), lo cual podría tener relación con cambios del balance hormonal en la planta. En este trabajo, la falta de diferencia en el reparto de biomasa entre Salino y

T no coincidió con otros autores (Fisarakis *et al.* 2001; Upreti y Murti, 2010; Di Filippo *et al.*, 2012); quienes observaron un aumento en la relación  $C_{raíz}/C_{aéreo}$  bajo condiciones de salinidad en otras variedades de vid injertadas (Sultanina y Malbec) y portainjertos analizados. Esto podría atribuirse a las diferencias en la variedad injertada.

Sin considerar los tipos de estrés, el portainjerto 1103P profundizó más sus raíces que 101-14Mgt. Aunque existen antecedentes de diferencias en la profundidad radical en algunos portainjertos (Pongrácz, 1983 en Serra *et al.*, 2014); trabajos más actuales evidencian sobre todo diferencias en sus densidades radicales (Southey, 1992; Morano & Kliewer, 1994; Smart *et al.*, 2006; Di Filippo, 2008).

En este trabajo, al final del ensayo el valor promedio del  $\Psi_{LMD}$  alcanzado en ambos tratamientos de estrés fue de -1,3 MPa; este valor es considerado por algunos investigadores como un estrés de intensidad moderada a fuerte cuando se refiere a estrés hídrico (Ojeda, 2007). Se puede suponer que durante el tiempo que se aplicó el tratamiento Salino ocurrió sobre todo un efecto osmótico, sin llegar a un efecto tóxico (Munns & Tester, 2008). Esto puede reafirmarse debido a que en el momento de finalización de este estudio, las hojas de las plantas sometidas a salinidad no presentaron síntomas visuales de toxicidad, como tampoco se evidenciaron daños en la integridad de las membranas celulares (datos no presentados).

Con respecto a las características de las hojas, ambos tratamientos de estrés aumentaron la densidad de la hoja (peso seco/peso fresco) y la relación entre masa por unidad de superficie foliar (M/A) con respecto al T, siendo a su vez superior en estrés hídrico que en Salino. Esto coincide con lo observado por Xu *et al.*(2009) en Quercus bajo déficit hídrico, y por Lycoskoufis *et al.*(2005) en pimiento bajo estrés salino. La mayor relación M/A del DH podría deberse a la disminución del tamaño de las células, esto se hizo evidente en el caso de las plantas injertadas sobre 1103P.

Por otro lado, el mayor contenido de agua por materia seca en hojas del tratamiento salino con respecto al DH, pudo deberse al menor potencial osmótico de sus hojas. Al igual que lo evidenciado en este trabajo, otros autores observaron que tanto el estrés hídrico como el salino inducían ajuste osmótico en una misma variedad de vid (Meggio *et al.*, 2014). La disminución del potencial osmótico fue observado en vid en varios ensayos de estrés hídrico (During, 1984; Patakas y Noitsakis, 1999;

Patakas *et al.*, 2002). Lo mismo ha sido observado con salinidad en varias especies incluida la vid (Martinez-Ballesta, 2004; Massai *et al.*, 2004). El mayor ajuste osmótico observado en Salino (**Tabla 11**) confirma la segunda hipótesis que afirmaba que a un mismo nivel de estrés, el tratamiento salino provoca mayor ajuste osmótico que el estrés hídrico en plantas de vid. Este mayor ajuste podría deberse a una mayor acumulación de iones tóxicos en las vacuolas de las células. Esto quedó evidenciado por la alta correlación observada entre el potencial osmótico foliar y la concentración de los iones Na<sup>+</sup> en el limbo. La contribución de los iones al ajuste osmótico fue observado por otros autores en plantas halófitas (Silva *et al.*, 2009; Silveira *et al.*, 2009).

En las hojas, la cantidad de células epidérmicas diferenciadas en estomas (índice estomático) y la densidad estomática por superficie foliar, presentó interacción entre el tipo de estrés y genotipo. El portainjerto 1103P disminuyó estas dos variables ante situaciones de estrés salino e hídrico. No obstante, no sucedió lo mismo con el portainjerto 101-14Mgt (**Figura 11**). Esto podría sugerir que el portainjerto 1103P es más plástico ante situaciones de estrés, modificando las características de la hoja del Cabernet Sauvignon, minimizando la pérdida de agua. En cambio, la mayor densidad estomática de 101-14Mgt en el tratamiento de DH, podría ser consecuencia de la disminución del área de las células epidérmicas en ese tratamiento. Esto también fue observado por otros autores (Bosabalidis y Kofidis, 2002; Arzani *et al.*, 2013) en plantas de olivo y pistacho sometidas a estrés hídrico. Estos resultados reflejan que las características morfológicas de la hoja no sólo dependen de la variedad injertada sino de las condiciones salinas e hídricas, y que también son influenciadas por la raíz o portainjerto.

En este trabajo no se observaron diferencias en el ajuste estomático entre el estrés salino e hídrico. La disminución de la conductancia estomática ( $g_s$ ) observada bajo déficit hídrico (-40% respecto a T, **Tabla 10**) se asemeja a la observada en vid por otros autores a niveles semejantes de estrés hídrico (Hugalde y Vila, 2014). También la reducción de  $g_s$  con el tratamiento salino, fue similar a la observada en vid por otros autores (Di Filippo, *et al.*, 2012). Existen trabajos en vid que han comparado el ajuste estomático entre estos dos tipos de estrés. Meggio *et al.* (2014), encontró un mayor ajuste estomático en estrés hídrico que en salino, pero en su ensayo utilizó un nivel de estrés hídrico del 30% de la capacidad de campo y un tratamiento salino con una adición diaria de 5 mM de NaCl por 21 días.

La falta de diferencia en la disminución de la  $g_s$  entre portainjertos, también ha sido observada por otros autores en déficit hídrico (Koundouras *et al.*, 2008). Esto no concuerda con otros trabajos de vides sometidas a estrés hídrico o salino que muestran una relación entre la disminución de la  $g_s$  y el genotipo (Southey *et al.*, 1992b; Iacono *et al.*, 1998; Fisarakis *et al.*, 2001). Esto podría deberse a las condiciones de este ensayo, y a diferencias entre los mismos portainjertos. Muchos de estos portainjertos fueron creados y seleccionados frente a la resistencia a filoxera, en donde se seleccionó un grupo de individuos obtenidos del cruzamiento pero estos individuos constituyen una variedad población (Vega & Mavrich, 1953).

Al igual que lo observado en este trabajo, muchos autores advirtieron que el estrés salino disminuye la fotosíntesis (Delfine *et al.*, 1999; Fisarakis *et al.*, 2001; Flexas *et al.*, 2004; Parida & Das, 2005; Babu *et al.*, 2012; Duarte *et al.*, 2013; Meggio *et al.*, 2014). También otros autores observaron que la fotosíntesis se ve afectada por el estrés hídrico (Flexas *et al.*, 2002; Flexas *et al.*, 2004; Lovisolo *et al.*, 2010; Vila, 2012; Meggio *et al.*, 2014), lo cual fue confirmado en este trabajo sólo con el portainjerto 1103P (**Tabla 10 y Figura 13**). La salinidad también afectó la fotosíntesis (A) de plantas injertadas con 1103P. La dependencia en la afectación de la fotosíntesis por el genotipo tanto en estrés hídrico como en salino fue observada por otros autores (Meggio *et al.*, 2014). Es importante destacar que si bien la fotosíntesis en plantas injertadas sobre 1103P se vio afectada por el estrés hídrico y salino, logró valores similares a 101-14Mgt. En Salino, los valores de fotosíntesis fueron similares para ambos portainjertos pero la afectación fue mayor en 1103P (con respecto a su T). La mayor disminución de la A en Salino versus el DH observada en este trabajo, podría deberse a que la sal produjo un daño en el aparato fotosintético ya que las  $g_s$  eran iguales en ambos tratamientos de estrés. Sin embargo, la mayor reducción de A en el tratamiento Salino tampoco se asoció a una disminución de la clorofila. Algunos autores han observado que la salinidad disminuye la A por una afectación del sistema bioquímico (Duarte *et al.*, 2012). Esto reforzaría la idea que en este caso, la salinidad dañó específicamente el sistema bioquímico. Otros autores sí observaron una disminución de la clorofila bajo salinidad (Agastian *et al.*, 2000; Parida *et al.*, 2002; Parida *et al.*, 2004; Ojeda y Pire, 2011; Di Filippo *et al.*, 2012; Fozouni *et al.*, 2012). Ojeda y Pire (2011) demostraron que la disminución de clorofila bajo salinidad dependía de los tiempos de exposición al tratamiento salino, de la intensidad del mismo como también del genotipo; indicando otra posible causa de las diferencias entre los trabajos. Di Filippo y otros (2012) observaron que la disminución de la clorofila sólo se daba en los

tratamientos con altas concentraciones de sal (100 mM). La reducción de clorofila por el estrés hídrico, como la observada en este trabajo, ha sido medida en varios cultivos (Nyachiro *et al.* 2001; Bertamini *et al.*, 2006; Abdala y Khoshiban, 2007). La estrecha relación entre la afectación de la fotosíntesis y la concentración de Cl<sup>-</sup> en limbo, observada en este trabajo, coincide con otros trabajos en vid y otros cultivos (Bethke y Drew, 1992; Prior *et al.*, 1992). Las concentraciones de Cl<sup>-</sup> en el agua del tejido foliar encontradas en este trabajo (139 mM Cl<sup>-</sup> L<sup>-1</sup>), fueron similares al umbral de daño de A por Cl<sup>-</sup> encontrado por otros autores (Walker *et al.*, 1981, Walker *et al.*, 1997, Walker *et al.*, 2000).

El aumento de las concentraciones de iones tóxicos en limbos y pecíolos en este trabajo (*i.e.*, Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> en % materia seca) se produjo en ambos tratamientos de estrés, aunque con mayor intensidad en el tratamiento salino respecto al estrés hídrico (**Tabla 13 y Tabla 15**). En un trabajo en vides injertadas (Paranychianakis y Angelakis, 2008) el estrés hídrico no variaba o aumentaba ligeramente la concentración de Cl<sup>-</sup> en la hoja, en función del portainjerto. Otros investigadores (Aragüés *et al.*, 2014), a diferencia de lo obtenido en este trabajo, no han observado diferencias significativas en las concentraciones de iones tóxicos en hojas de vid sometidas a déficit hídrico. El pequeño aumento de concentración de iones tóxicos en estrés hídrico, podría deberse a que el agua de riego tenía una pequeña cantidad de estos iones o a la disminución del contenido de agua de las plantas (efecto de concentración).

El incremento de las concentraciones de Na<sup>+</sup> de los tejidos de plantas bajo salinidad en relación a % materia seca fue diferente en los distintos órganos, siendo más elevado en pecíolos, luego en tallos, limbos y por último en las raíces (**Tabla 13**). El mayor incremento en pecíolos y menor incremento en las raíces coincide con lo observado por Di Filippo *et al.* (2012). En este trabajo el incremento de las concentraciones de Na<sup>+</sup> en los tallos fue mayor que en los limbos, sin embargo Di Filippo *et al.* (2012) habían encontrado lo contrario. Esto podría deberse a una diferencia varietal de las plantas de Cabernet Sauvignon, las cuales minimizarían la llegada de este ión tóxico al limbo foliar mediante un mayor grado de compartimentalización en órganos como el tallo. Por otro lado, estas concentraciones de Na<sup>+</sup> en limbo y pecíolo de vid no deberían ser comparadas con algunos umbrales tóxicos definidos en bibliografía (Stevens *et al.*, 2011). Esto se debe a que esos umbrales fueron definidos por muestreos de hojas de determinada edad y en un momento del ciclo vegetativo de la vid específico.

Con los resultados obtenidos en este trabajo también se pudo observar la importancia del tipo de hojas elegidas para evaluar las concentraciones del ión  $\text{Na}^+$ , ya que en limbos maduros fue un 121% mayor que limbos jóvenes (**Tabla 13**). El mayor incremento de la concentración de iones tóxicos en limbos maduros, ha sido documentado anteriormente (Munns & Tester, 2008). Sin embargo, a diferencia de lo observado en el  $\text{Na}^+$ , las concentraciones de  $\text{Cl}^-$  en limbos jóvenes y maduros fueron similares.

Las plantas injertadas sobre 1103P acumularon un 21% menos de  $\text{Na}^+$  que las injertadas sobre 101-14Mgt (Tabla 14). Esto indicaría que 1103P posee un mayor poder de exclusión de este ión, confirmando la tercer hipótesis de este trabajo. Este mayor poder de exclusión de 1103P también fue observado por otros autores (Walker *et al.* 2004; Walker *et al.* 2010; Di Filippo *et al.*, 2012) al compararlo con distintos portainjertos. El mayor poder de exclusión de 1103P podría significar una ventaja en el largo plazo frente a salinidad.

Bajo el tratamiento salino, las concentraciones de  $\text{Cl}^-$  en todos los órganos analizados siempre fueron superiores a las de  $\text{Na}^+$  (**Tabla 15 vs Tabla 14**), lo cual coincide con lo observado por otros autores (Di Filippo *et al.*, 2012; Aragües *et al.*, 2014). A diferencia de lo observado en el  $\text{Na}^+$ , las concentraciones de  $\text{Cl}^-$  en limbos jóvenes y maduros fueron similares. Considerando todos los tratamientos, la relación entre superficie foliar e iones tóxicos ( $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ ) fue similar a la observada por otros autores que también trabajaron con plantas en macetas (Di Filippo *et al.*, 2012). En ese trabajo los umbrales de daño definidos para la superficie foliar en plantas Malbec fueron de 0,1% ms para el  $\text{Na}^+$  y de 0,6% ms para el  $\text{Cl}^-$ ; a concentraciones mayores de estos iones la superficie foliar disminuía en forma lineal. Los resultados obtenidos en este trabajo mostraron que los valores promedios de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en limbo (0,24% y 0,99% ms, respectivamente) superaron esos umbrales de daño para la superficie foliar en el tratamiento salino. Di Filippo y otros (2012) también identificaron un umbral de daño para las membranas celulares (0,52% para el portainjerto 1103P). Sin embargo, en esta investigación en el tratamiento salino las vides injertadas sobre 1103P no presentaron daños en las membranas celulares, aunque superaron los valores de este umbral. Esto podría deberse a una mayor resistencia a salinidad intrínseca de la variedad Cabernet Sauvignon con respecto al Malbec. Esto concuerda con los resultados obtenidos por Cavagnaro y otros (2006); en donde las plantas de la variedad Cabernet

Sauvignon fueron más tolerantes a salinidad que las Malbec; ya que presentaban una menor reducción con respecto al control en variables como superficie foliar o biomasa. Al igual que lo que sucede con las concentraciones de  $\text{Na}^+$ , estos resultados no deberían ser comparados con trabajos a campo que relacionan concentraciones de  $\text{Cl}^-$  en muestras de algunas hojas con sintomatologías de intoxicación observadas en viñedos (Nijensohn, 1960).

Los portainjertos no presentaron diferencias en el poder de exclusión de ión  $\text{Cl}^-$  entre ellos (**Tabla 16**). Este resultado contradice lo observado en otras investigaciones que muestran un mayor poder de exclusión de  $\text{Cl}^-$  en 1103P con respecto a otros portainjertos (Walker *et al.* 2004, Walker *et al.* 2010, Di Filippo *et al.*, 2012).

El incremento de las concentraciones de  $\text{Cl}^-$  de los tejidos de plantas bajo salinidad (*i.e.*, % materia seca) fue diferente en los distintos órganos, siendo más elevado en limbos y luego en pecíolos coincidiendo con lo observado por Di Filippo *et al.* (2012). Los incrementos de las concentraciones en raíces y tallo, inferiores a las presentadas en limbos y pecíolos, también fueron observados por los mismos autores. Sin embargo, en este trabajo el incremento de las concentraciones de  $\text{Cl}^-$  en tallos fue inferior al de las raíces, a diferencia de Di Filippo *et al.* (2012).

Los tratamientos de estrés modificaron la absorción de otros iones y sus balances. Las concentraciones de  $\text{K}^+$  en limbos, pecíolos y tallos fueron inferiores en ambos tratamientos de estrés con respecto al T y sin diferencias entre portainjertos (**Tabla 18**). La relación  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  del limbo y de la planta entera siempre fue marcadamente inferior en plantas con tratamiento Salino (1,5), mientras que las de DH tenían valores intermedios (3,4) y las T presentaban los mayores valores (7). Otros autores observaron que el estrés salino afectaba la absorción de  $\text{K}^+$  en varias especies vegetales (Fozouni *et al.*, 2012; Benzarti *et al.*, 2014). Esto se debe a que en el tratamiento salino la entrada de  $\text{Na}^+$  compite con el  $\text{K}^+$  por los mismos canales de ingreso en las raíces. Al igual que en este trabajo otros investigadores han evidenciado que el estrés hídrico también disminuye la disponibilidad de  $\text{K}^+$  a la planta, debido a disminución de la movilidad del  $\text{K}^+$  (Kuchenbuch *et al.*, 1986; Zeng, 2000). El  $\text{K}^+$  es un macronutriente esencial en varios procesos fisiológicos de la planta como fotosíntesis, respiración, síntesis de proteínas y almidón (Maathuis & Amtmann, 1999). Existen antecedentes que muestran que una alta relación  $\text{K}^+/\text{Na}^+$  está relacionada con la mayor supervivencia de la planta frente a condiciones de

salinidad (Penella *et al.*, 2015; Rodríguez-Navarro & Rubio, 2006). Algunos investigadores sugieren que la relación  $K^+/Na^+$  en plantas glicófitas debe ser superior a 1 para un normal funcionamiento en los procesos que participa este ión (Maathuis & Amtmann, 1999). En este trabajo, todos los tratamientos mantuvieron una relación superior a 1.

A diferencia del  $K^+$ , los tratamientos de estrés aumentaron las concentraciones de  $Ca^{+2}$  en limbos y pecíolos de las plantas respecto de las T, sin diferencias entre tipos de estrés (**Tabla 19**). El aumento del contenido de  $Ca^{+2}$  en células bajo estrés osmótico o iónico, fue documentado anteriormente (Choi *et al.*, 2014; Bartels y Sunkar, 2005). El  $Ca^{+2}$  tiene un rol importante para preservar la integridad y funcionalidad de las membranas, estabilizar la estructura de la pared celular, regular transporte de iones, controlar el intercambio iónico, como también en la actividad de las enzimas de la pared celular (Grattan y Grieve, 1998). No obstante la relación  $Ca^{+2}/Na^+$  del limbo disminuyó en ambos tratamientos de estrés con respecto al T, siendo a su vez inferior en estrés Salino que en hídrico. Debido a que el portainjerto 1103P presentó mayor concentración de  $Ca^{+2}$  en el limbo foliar (**Tabla 19**), su relación  $Ca^{+2}/Na^+$  fue superior a las de plantas injertadas sobre 101-14Mgt (23 y 19, respectivamente); con lo cual se podría suponer que una mayor protección en membranas en situaciones de estrés prolongado.

Al analizar los niveles de concentración de  $Mg^{+2}$  en limbo, se observó una interacción entre el tipo de estrés y el genotipo. Si bien los niveles de concentración de  $Mg^{+2}$  en limbo aumentan en 1103P bajo los dos tipos de estrés, el valor fue muy pequeño y se considera que estas diferencias no serían importantes desde el punto de vista agronómico. Por otro lado, las concentraciones de  $Mg^{+2}$  en todos los órganos analizados de las plantas injertadas sobre 1103P siempre fueron superiores a las de 101-14Mgt. Esto podría ser una ventaja del portainjerto 1103P, ya que el  $Mg^{+2}$  además de ser un componente importante de la clorofila, es fundamental en el transporte de la sacarosa (Cakmak y Kirkby, 2008). Plantas sometidas a deficiencias de  $Mg^{+2}$  acumulan más carbohidratos en sus hojas, generan ROS y son más susceptibles al estrés oxidativo (Cakmak y Kirkby, 2008).

## 5.CONCLUSIONES

El estrés salino y el hídrico inducen una reducción del potencial hídrico foliar, de la superficie foliar, la longitud de los brotes y la biomasa en la vid.

Ambos tipos de estrés reducen en forma semejante la biomasa de la planta entera, aunque el reparto de la misma es diferente. El estrés hídrico afecta más la acumulación de biomasa de la parte aérea y el estrés salino el de la raíz, a un mismo nivel de potencial hídrico foliar.

El estrés hídrico disminuye más la longitud de brotes y la superficie foliar que el estrés salino a un mismo nivel de potencial hídrico foliar.

El estrés salino provoca un mayor ajuste osmótico en las hojas que el estrés hídrico a un mismo nivel de potencial hídrico foliar.

A 80 Mm de NaCl y 40 días de duración, el tratamiento salino no provoca reducción del contenido de clorofila en las hojas, en cambio sí lo hace un estrés hídrico de 0,4 FAET.

El portainjerto 1103P, a diferencia del 101-14Mgt, disminuye la cantidad de células diferenciadas en estomas y la cantidad de estomas por superficie foliar ante situaciones de estrés salino e hídrico. Las modificaciones en las hojas indican una mayor adaptación de 1103 P ante estas situaciones de estrés.

El portainjerto 1103P muestra mayor poder de exclusión de  $\text{Na}^+$  que 101-14Mgt, pero no presenta diferencias en la exclusión de  $\text{Cl}^-$ , a 80 Mm de NaCl y 40 días de duración del tratamiento salino. Esto indica una mayor tolerancia de 1103 P ante situaciones de estrés salino.

## PRINCIPALES APORTES DEL TRABAJO

Los resultados de este trabajo revelan que en vid, ante la ausencia de disponibilidad de agua para riego podrían utilizarse recursos hídricos salinizados (con contenidos de iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ ) durante un cierto período de tiempo. Esto se debe a que la producción de biomasa de la vid fue menos afectada en condiciones

de riegos frecuentes con agua salina que por ausencia de riego (a igualdad de potencial hídrico en la planta).

Este estudio aporta conocimientos locales sobre el comportamiento de dos portainjertos muy utilizados en la provincia de Mendoza (Argentina) frente a condiciones de dos tipos de estrés (hídrico y salino). A partir de esa información se podrá generar material de divulgación al productor vitivinícola que le brinde herramientas para la elección del portainjerto adecuado frente a su situación particular.

Con los resultados obtenidos en este trabajo también se pudo observar la importancia del tipo de hojas a elegir para evaluar las concentraciones del ión  $\text{Na}^+$ , ya que en limbos maduros fue un 121% mayor que en limbos jóvenes. Sin embargo no sucedió lo mismo con las concentraciones de  $\text{Cl}^-$ . Los resultados aportan información para generar metodologías apropiadas en el muestreo de hojas en viñedos establecidos, como también información para relacionar estos valores con posibles respuestas fisiológicas de las plantas.

#### Futuras líneas de investigación

Este trabajo generó la necesidad de continuar diferentes líneas de investigación que estudien:

- El comportamiento de distintas combinaciones injerto-portainjerto de vid frente a distintos niveles de estrés hídrico, salino y su interacción.
- La capacidad de recuperación de la fotosíntesis en vid luego de una situación de estrés salino; en función del tiempo de aplicación del estrés y de la calidad del agua de riego (diferentes concentraciones y tipos de sales).
- Las estrategias para aclimatar plantas regadas con agua salina, evaluación de los tiempos necesarios y del período que puede mantenerse esa aclimatación en la vid.
- Las relaciones entre los niveles de  $\text{Cl}^-$  en hojas de vid en diferentes momentos del ciclo vegetativo y los contenidos a cosecha de  $\text{Cl}^-$  en la uva madura.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

- Abdalla, M. M., & El-Khoshiban, N. H. (2007). The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. *Journal of Applied Sciences Research*, 3(12), 2062-2074.
- Agastian, P., Kingsley, S. J., & Vivekanandan, M. (2000). Effect of Salinity on Photosynthesis and Biochemical Characteristics in Mulberry Genotypes. *Photosynthetica*, 38(2), 287-290.
- Alcalde, A. J. (1989). *Cultivares vitícolas argentinas*. Asociación Cooperadora de la Estación Experimental Agropecuaria Mendoza INTA, 28-29.
- A.O.A.C. (1990). *Official Methods of Analysis*. 15 th Edition, USA.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S., & Karanov, E. (2001). The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell & Environment*, 24(12), 1337-1344.
- Alsina, M. M., Smart, D. R., Bauerle, T., De Herralde, F., Biel, C., Stockert, C., Negrón, C. & Save, R. (2011). Seasonal changes of whole root system conductance by a drought-tolerant grape root system. *Journal of Experimental Botany*, 62(1), 99-109.
- Aragüés, R., Medina, E., Clavería, I., Martínez-Cob, A., & Faci, J. (2014). Regulated deficit irrigation, soil salinization and soil sodification in a table grape vineyard drip-irrigated with moderately saline waters. *Agricultural water management*, 134, 84-93.
- Arzani, K., Ghasemi M., Yadollahi A., & Hokmabadi H. (2013). Study of foliar epidermal anatomy of four pistachio rootstocks under water stress. *IDESIA* 31(1): 101-107.
- Ashraf, M. (2006). Tolerance of some potential forage grasses from arid regions of Pakistan to salinity and drought. In *Biosaline agriculture and salinity tolerance in plants*. Edited by M. Oztürk, Y. Waisel, M.A. Khan and G. Go Verlag/Switzerland: 15-27.
- Babu, M. A., Singh, D., & Gothandam, K. (2012). The effect of salinity on growth, hormones and mineral elements in leaf and fruit of tomato cultivar PKM1. *J Anim Plant Sci*, 22(1), 159-164.
- Barranco, D., Ruiz, N., & Gómez-del Campo, M. (2005). Frost tolerance of eight olive cultivars. *HortScience*, 40(3), 558-560.
- Bartels, D., & Sunkar, R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. *Critical reviews in plant sciences*, 24(1), 23-58.
- Bauerle, T. L., Smart, D. R., Bauerle, W. L., Stockert, C., & Eissenstat, D. M. (2008). Root foraging in response to heterogeneous soil moisture in two grapevines that differ in potential growth rate. *New Phytologist*, 179(3), 857-866.

- Baver, L.D., Gardner, W.H., & Gardner, W.R. (1973). *Física de suelos*. Editorial Hispano Americana: 307-318.
- Benzarti, M., Rejeb, K. B., Messedi, D., Mna, A. B., Hessini, K., Ksontini, M., . . . Debez, A. (2014). Effect of high salinity on *Atriplex portulacoides*: Growth, leaf water relations and solute accumulation in relation with osmotic adjustment. *South African Journal of Botany*, 95, 70-77.
- Berli, F. J., Moreno, D., Piccoli, P., Hespanhol-Viana, L., Silva, M. F., Bressan-Smith, R., Cavagnaro, J.B., & Bottini, R. (2010). Abscisic acid is involved in the response of grape (*Vitis vinifera* L.) cv. Malbec leaf tissues to ultraviolet-B radiation by enhancing ultraviolet-absorbing compounds, antioxidant enzymes and membrane sterols. *Plant, Cell & Environment*, 33(1), 1-10.
- Bernstein, L., Ehlig, C.F., Clark, R.A. (1969). Effect of grape rootstocks on chloride accumulation in leaves. *J.Am.Soc.Hortic.Sci.*94: 584-590.
- Bertamini, M., Zulini, L., Muthuchelian, K., & Nedunchezian, N. (2006). Effect of water deficit on photosynthetic and other physiological responses in grapevine (*Vitis vinifera* L. cv. Riesling) plants. *Photosynthetica*, 44(1), 151-154.
- Bethke, P. C., & Drew, M. C. (1992). Stomatal and Nonstomatal Components to Inhibition of Photosynthesis in Leaves of *Capsicum annum* during Progressive Exposure to NaCl Salinity. *Plant Physiology*, 99(1), 219-226.
- Bohnert, H. J., Nelson, D. E., & Jensen, R. G. (1995). Adaptations to environmental stresses. *The plant cell*, 7(7), 1099-1111.
- Bosabalidis, A. M., & Kofidis, G. (2002). Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. *Plant Science*, 163(2), 375-379.
- Cakmak, I., & Kirkby, E. A. (2008). Role of magnesium in carbon partitioning and alleviating photooxidative damage. *Physiologia plantarum*, 133(4), 692-704.
- Carbonneau, A. (1985). The early selection of grapevine rootstocks for resistance to drought conditions. *American Journal of Enology and Viticulture*, 36(3), 195-198.
- Cavagnaro, J.B., Ponce, M.T., Guzmán, J., & Cirrincione, M.A. (2006). Argentinean cultivars of *Vitis vinifera* grow better than european ones when cultures in vitro under salinity. *Biocell*. 30 (1): 1-7.
- Céccoli, G., Bustos, D., Ortega, L.I., Senn, M.E., Vegetti, A., & Taleisnik, E. (2014). Plasticity in sunflower leaf and cell growth under high salinity. *Plant Biology* doi: 10.1111/plb.12205.
- Chartzoulakis, K., & Klapaki, G. (2000). Response of two greenhouse pepper hybrids to NaCl salinity during different growth stages. *Scientia Horticulturae*, 86(3), 247-260.
- Chaves, 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.

- Choi, W. G., Toyota, M., Kim, S. H., Hilleary, R., & Gilroy, S. (2014). Salt stress-induced Ca<sup>2+</sup> waves are associated with rapid, long-distance root-to-shoot signaling in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 111(17): 6497-6502.
- Coiro, M., Taylor, C. E., Borgo, M., & Lamberti, F. (1990). Resistance of grapevine rootstocks to *Xiphinema* index. *Nematologia Mediterranea*, 18(2), 119-121.
- Colmer, T. D., Epstein, E., & Dvorak, J. (1995). Differential solute regulation in leaf blades of various ages in salt-sensitive wheat and a salt-tolerant wheat x *Lophopyrum elongatum* (Host) A. Love amphiploid. *Plant physiology*, 108(4), 1715-1724.
- Cramer, G.R., Ergül, A., Grimplet, J., Tillett R.L., Tattersall, E.A.R., Bohlman, M.C., Vincent, D., Sonderegger, J., Evans, J., Osborne, C., Quilici, D., Schlauch K.A., Schooley, D.A., & Cushman, J.C. (2007). Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. *Functional & integrative genomics*, 7(2), 111-134.
- Davenport, S. B., Gallego, S. M., Benavides, M. P., & Tomaro, M. L. (2003). Behaviour of antioxidant defense system in the adaptive response to salt stress in *Helianthus annuus* L. cells. *Plant Growth Regulation*, 40(1), 81-88.
- Dayer, S. (2012). Evaluación de la sostenibilidad del riego deficitario controlado y manejo de la carga en vid (*Vitis vinifera* L.) cv. Malbec. Tesis de Maestría en Viticultura y Enología. FCA UNCuyo. 146 p.
- Delfine, S., Alvino, A., Villani, M. C., & Loreto, F. (1999). Restrictions to carbon dioxide conductance and photosynthesis in spinach leaves recovering from salt stress. *Plant Physiology*, 119(3), 1101-1106.
- Deloire, A., Carbonneau, A., Wang Z. & Ojeda H. (2004) Vine and water: a short review. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 38: 1-13.
- Di Filippo, M. (2008). Influencia de seis portainjertos de vid sobre el comportamiento vitícola de la cv. Malbec y estudio de las relaciones hídricas que se establecen. Tesis de la Maestría de Viticultura y Enología. FCA UNCuyo. Mendoza, Argentina. 70p.
- Di Filippo, M., & Vila, H. (2011). Influence of different rootstocks on the vegetative and reproductive performance of *Vitis vinifera* L. Malbec under irrigated conditions. *J. Int. Sci. Vigne Vin*, 45 (2): 75-84.
- Di Filippo, M., Venier, M., Filippini, M.F., & Vila, H. (2012). Tolerancia a estrés salino de algunos portainjertos de vid combinados con la cv Malbec. *Actas de las VI Jornadas de actualización en riego y fertiriego*, 7, 8 y 9 Noviembre de 2012, Mendoza, Argentina.
- Duarte, B., Santos, D., Marques, J. C., & Caçador, I. (2013). Ecophysiological adaptations of two halophytes to salt stress: Photosynthesis, PS II photochemistry and anti-oxidant feedback – Implications for resilience in climate change. *Plant Physiology and Biochemistry*, 67(0), 178-188
- During, H. (1984). Evidence for osmotic adjustment to drought in grapevines. *Vitis*, 23, 1-10.

- Downton, W.J.S. (1977). Chloride accumulation in different species of grape vine. *Scientia Horticulturae* 7: 249-253.
- Edwards, M. (1989). Resistance and tolerance of grapevine rootstocks to plant parasitic nematodes in vineyards in North-East Victoria. *Animal Production Science*, 29(1), 129-131.
- Ezzahouani, A., & Williams, L.E. (1995). The influence of rootstock on leaf water potential, yield, and berry composition of Ruby Seedless grapevines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 46(4), 559-563.
- FAO. (2008). Land and Plant Nutrition Management Service. En: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>.
- Filippini, M.F., Bermejillo, A., Marti, L., & Troilo, S. (1997). Composición Mineral de las plantas cultivadas. Guía de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Química Agrícola. Facultad de Ciencias Agrarias. 56 p.
- Fisarakis, I., Chartzoulakis, K., & Stavrakas, D. (2001). Response of Sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agricultural Water Management* 51: 13-27.
- Flexas, J., Bota, J., Escalona, J. M., Sampol, B., & Medrano, H. (2002). Effects of drought on photosynthesis in grapevines under field conditions: an evaluation of stomatal and mesophyll limitations. *Functional Plant Biology*, 29(4), 461-471.
- Flexas, J., Bota, J., Loreto, F., Cornic, G., & Sharkey, T. D. (2004). Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C3 plants. *Plant Biology*, 6(3), 269-279.
- Fozouni, M., Abbaspour, N., & Doulati Baneh, H. (2012). Short term response of grapevine grown hydroponically to salinity: Mineral composition and growth parameters. *Vitis*, 51(3), 95-101.
- Gambetta, G. A., Manuck, C. M., Drucker, S. T., Shaghasi, T., Fort, K., Matthews, M. A., Walker, M.A. & McElrone, A. J. (2012). The relationship between root hydraulics and scion vigour across *Vitis* rootstocks: what role do root aquaporins play? *Journal of Experimental Botany*, 63(18), 6445-6455.
- Gong, H., Blackmore, D., Clingeleffer, P., Sykes, S., Jha, D., Tester, M., & Walker, R. (2011). Contrast in chloride exclusion between two grapevine genotypes and its variation in their hybrid progeny. *Journal of Experimental Botany*, 62(3), 989-999.
- Grattan, S. R., & Grieve, C. M. (1998). Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 78(1), 127-157.
- Hardie, W. J., & Cirami, R. M. (2000). Grapevine rootstocks. En: Coombe, B.G.; Dry, P.R. *Viticulture*. Adelaide: Winetitles. Volumen 1: 154-176.
- Hardie, W. J., & Martin, S. R. (2000). Shoot growth on de-fruited grapevines: a physiological indicator for irrigation scheduling. *Australian journal of grape and wine research*, 6(1), 52-58.

- Harris, A. R. (1988). Xiphinema index-resistant Vitis rootstocks screened for comparative field performance in a Chasselas vineyard replant. *Vitis*, 27, 243-251.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual review of plant biology*, 51(1), 463-499.
- Hauser, F., & Horie, T. (2010). A conserved primary salt tolerance mechanism mediated by HKT transporters: a mechanism for sodium exclusion and maintenance of high K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratio in leaves during salinity stress. *Plant, cell & environment*, 33(4), 552-565.
- Hepaksoy, S., Ben-Asher, J., De Malach, Y., David, I., Sagih, M., & Bravdo, B. (2006). Grapevine irrigation with saline water: Effect of rootstocks on quality and yield of cabernet sauvignon. *Journal of plant nutrition*, 29(5), 783-795.
- Hester, M. W., Mendelssohn, I. A., & McKee, K. L. (2001). Species and population variation to salinity stress in *Panicum hemitomon*, *Spartina patens*, and *Spartina alterniflora*: morphological and physiological constraints. *Environmental and Experimental Botany*, 46(3), 277-297.
- Hidalgo, L. (1993). *Tratado de viticultura general*. Madrid: Mundi-Prensa.
- Hu, Y., & Schmidhalter, U. (2005). Drought and salinity: a comparison of their effects on mineral nutrition of plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 168(4), 541-549.
- Hugalde, I. y Vila, H.F. (2014). Comportamiento isohídrico o anisohídrico en vides...¿Una controversia sin fin? *RIA*, 40 (1): 75-82.
- Iacono, F., Buccella, A., & Peterlunger, E. 1998. Water stress and rootstock influence on leaf gas exchange of grafted and ungrafted grapevines. *Scientia Horticulturae*, 75(1), 27-39.
- INV. Instituto Nacional de Viticultura. (2009). Estadísticas. [http://www.inv.gov.ar/fr\\_inv.asp?path=home.htm](http://www.inv.gov.ar/fr_inv.asp?path=home.htm) (accessed 1/2/13).
- IPCC (2007). "Climate Change 2007: Impacts, Adaptation and Vulnerability. Contribution of Working Group II to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC)". M.L. Parry, O.F. Canziani, J.P. Palutikof, P.J. van der Linden and C.E. Hanson (eds.). Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom and New York, NY, USA. En: <http://www.ipcc.ch>; accesión 29/07/2010.
- Jones, H. G. (2012). How do rootstocks control shoot water relations? *New Phytologist*, 194(2), 301-303.
- Kaiser, R. (2003). Estrés hídrico en variedades criollas y europeas de vid. Tesis de Maestría en Viticultura y Enología. UNCuyo. Mendoza, Argentina, 77 p.
- Keller, M. (2010). *The science of grapevines: Anatomy and physiology*. USA: Elsevier, Science, p. 150, p. 210-213.

- Koundouras, S., Tsialtas, I. T., Zioziou, E., & Nikolaou, N. (2008). Rootstock effects on the adaptive strategies of grapevine (< i> Vitis vinifera</i> L. cv. Cabernet–Sauvignon) under contrasting water status: Leaf physiological and structural responses. *Agriculture, ecosystems & environment*, 128(1), 86-96.
- Kuchenbuch, R., Claassen, N., & Jungk, A. (1986). Potassium availability in relation to soil moisture. *Plant and Soil*, 95(2), 233-243.
- Lavado, R. (2008). Visión sintética de la distribución y magnitud de los suelos afectados por salinidad en la Argentina. In E. Taleisnik, K. Grunberg, & G. Santa Maria (Eds), *La salinización de suelos en la Argentina: su impacto en la producción agropecuaria*. EDUCC (Editorial Universidad Católica de Córdoba), Córdoba, Argentina: 11-15
- Levitt, J. (1980). Responses of plants to environmental stresses. Volume II. *Water, radiation, salt, and other stresses*. New York: Academic Press.
- Lichtenthaler, H. K. (2003). El estrés y la medida del estrés en plantas. In *La ecofisiología vegetal: una ciencia de síntesis* (pp. 59-112). Thomson-Paraninfo, Madrid, España.
- Lycoskoufis, I. H., Savvas, D., & Mavrogianopoulos, G. (2005). Growth, gas exchange, and nutrient status in pepper (*Capsicum annuum* L.) grown in recirculating nutrient solution as affected by salinity imposed to half of the root system. *Scientia Horticulturae*, 106(2), 147-161.
- Lovisoló, C., Hartung, W., & Schubert, A. (2002). Whole-plant hydraulic conductance and root-to-shoot flow of abscisic acid are independently affected by water stress in grapevines. *Functional plant biology*, 29(11), 1349-1356.
- Lovisoló, 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(2), 98-116.
- Maas, E. V., & Hoffman, G. J. (1977). Crop Salt Tolerance\–Current Assessment. *Journal of the irrigation and drainage division*, 103(2), 115-134.
- Maathuis, F. J., & Amtmann, A. N. N. A. (1999). K<sup>+</sup> nutrition and Na<sup>+</sup> toxicity: the basis of cellular K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratios. *Annals of Botany*, 84(2), 123-133.
- Martín, L. & Vila, H. (2013). Evaluación de tolerancia al NaCl en cultivares viníferas y portainjertos híbridos del género *Vitis*. *Revista FCA UNCuyo* 45(2): 165-180.
- Martinez-Ballesta, M., Martinez, V., & Carvajal, M. (2004). Osmotic adjustment, water relations and gas exchange in pepper plants grown under NaCl or KCl. *Environmental and Experimental Botany*, 52(2), 161-174.
- Massai, R., Remorini, D., & Tattini, M. (2004). Gas exchange, water relations and osmotic adjustment in two scion/rootstock combinations of *Prunus* under various salinity concentrations. *Plant and Soil*, 259(1-2), 153-162.

- Mattii, G.B., Orlandini, S., Calabrese, C.E. (2005). Analysis of grape vegeto-productive responses to plant density and rootstock. En: International GESCO-Viticulture-Congress, 14, Geisenheim. Vol 2, 629-634.
- McCarthy, M. G., Cirami, R. M., & Furkaliev, D. G. (1997). Rootstock response of Shiraz (*Vitis vinifera*) grapevines to dry and drip- irrigated conditions. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 3(2), 95-98.
- Meggio, F., Prinsi, B., Negri, A. S., Simone Di Lorenzo, G., Lucchini, G., Pitacco, A. y Espen, L. (2014). Biochemical and physiological responses of two grapevine rootstock genotypes to drought and salt treatments. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(2), 310-323.
- Meredith, C. P., Lider, L. A., Raski, D. J., & Ferrari, N. L. (1982). Inheritance of tolerance to *Xiphinema* index in *Vitis* species. *American Journal of Enology and Viticulture*, 33(3), 154-158.
- Mohammadkhani, N., Heidari, R., Abbaspour, N., & Rahmani, F. (2014). Evaluation of Salinity Effects on Ionic Balance and Compatible Solute Contents in Nine Grape (*Vitis L.*) Genotypes. *Journal of Plant Nutrition*, 37(11), 1817-1836.
- Morábito, J., Mirábile, C., Manzanera, M., Cappé, O., Tozzi, D., & Mastrantonio, L. (2005). Evolución de la salinidad de suelos regadíos e incultos en el área del Río Mendoza. In *Actas del XX Congreso Nacional del Agua-II Simposio de Recursos Hídricos del Cono Sur, Mendoza*. CONAGUA. Departamento General de Irrigación. Mendoza (pp. 1-10).
- Mundree, S. G., Baker, B., Mowla, S., Peters, S., Marais, S., Vander Willigen, C. & Thomson, J. A. (2002). Physiological and molecular insights into drought tolerance. *African Journal of Biotechnology*, 1(2), 28-38.
- Munns, R. (1993). Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell & Environment*, 16(1), 15-24.
- Munns, R. (2002). Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, cell & environment*, 25(2), 239-250.
- Munns, R., & Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *The Annual Review of Plant Biology* 59, 651-681.
- Morano, L., & Kliewer, W. M. (1994). Root distribution of three grapevine rootstocks grafted to Cabernet Sauvignon grown on a very gravelly clay loam soil in Oakville, California. *American Journal of Enology and Viticulture*, 45(3), 345-348.
- Naor, A., Bravdo, B., & Hepner, Y. (1993). Effect of post-veraison irrigation level on Sauvignon blanc yield, juice quality and water relations. *South African Journal of Enology and Viticulture*, 14, 19-25.
- Nijensohn, L. (1960). Intoxicación de vides por cloruros. *Instituto Provincial Agropecuario*, 2.

- Nyachiro, J. M., Briggs, K. G., Hoddinott, J., & Johnson-Flanagan, A. M. (2001). Chlorophyll content, chlorophyll fluorescence and water deficit in spring wheat. *Cereal Research Communications*, 135-142.
- Obbink, J. G., & Alexander, D. M. (1973). Response of six grapevine cultivars to a range of chloride concentrations. *American Journal of Enology and Viticulture*, 24(2), 65-68.
- Ojeda, H. (2007). Irrigación cualitativa de precisión de la vid. *Le Progrès Agricole et Viticole* 124 (7): 133-141.
- Ojeda, M., & Pire, R. (2011). Efecto de la salinidad en dos portainjertos de vid cultivados a pie franco o injertados. *Rev. Ritotec. Méx.* 34(1): 43-52.
- Oliver, J. E., & Fuchs, M. (2011). Tolerance and resistance to viruses and their vectors in vitis sp.: a virologist's perspective of the literature. *American Journal of Enology and Viticulture*, ajev-2011.
- Ortiz Maldonado, G., Morábito, J., Rearte, E., & Mastrantonio, L. E. (2005). Salinidad de agua freática en el área regadía del Río Mendoza. Phreatic water salinity in the Mendoza River command area. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias.*, 37(2), 51-64.
- Padgett-Johnson, M., Williams, L. E., & Walker, M. A. (2000). The influence of Vitis riparia rootstock on water relations and gas exchange of Vitis vinifera cv. Carignane scion under non-irrigated conditions. *American journal of enology and viticulture*, 51(2), 137-143.
- Padgett-Johnson, M., Williams, L. E., & Walker, M. A. (2003). Vine water relations, gas exchange, and vegetative growth of seventeen Vitis species grown under irrigated and nonirrigated conditions in California. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 128(2), 269-276.
- Paranychianakis, N., & Angelakis, A. (2008). The effect of water stress and rootstock on the development of leaf injuries in grapevines irrigated with saline effluent. *Agricultural water management*, 95(4), 375-382.
- Parés, J., Arizaleta, M., Sanabria, M. E., & García, G. (2008). Efecto de los niveles de salinidad sobre la densidad estomática, índice estomático y el grosor foliar en plantas de Carica Papaya L. *Acta Botánica Venezuelica* 31(1): 27-34.
- Parida, A., Das, A. B., & Das, P. (2002). NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins, and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, Bruguiera parviflora, in hydroponic cultures. *Journal of Plant Biology*, 45(1), 28-36.
- Parida, A. K., Das, A., & Mitra, B. (2004). Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, Bruguiera parviflora. *Trees*, 18(2), 167-174.
- Parida, A. K., & Das, A. B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and environmental safety*, 60(3), 324-349.

- Passioura, J. B. (2006). Viewpoint: The perils of pot experiments. *Functional Plant Biology*, 33(12), 1075-1079.
- Passioura, J. B. (2010). Scaling up: the essence of effective agricultural research. *Functional Plant Biology*, 37(7), 585-591.
- Patakas, A., & Noitsakis, B. (1999). Osmotic adjustment and partitioning of turgor responses to drought in grapevines leaves. *American journal of enology and viticulture*, 50(1), 76-80.
- Patakas, A., Nikolaou, N., Zioziou, E., Radoglou, K., & Noitsakis, B. (2002). The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. *Plant Science*, 163(2), 361-367.
- Pavlousek, P. (2011). Evaluation of drought tolerance of new grapevine rootstock hybrids. *Journal of Environmental Biology* 32(5): 543-549.
- Pellegrino, A., Lebon, E., Simonneau, T., & Wery, J. (2005). Towards a simple indicator of water stress in grapevine (*Vitis vinifera* L.) based on the differential sensitivities of vegetative growth components. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 11(3), 306-315.
- Penella, C., Nebauer, S. G., Quiñones, A., San Bautista, A., López-Galarza, S., & Calatayud, A. (2015). Some rootstocks improve pepper tolerance to mild salinity through ionic regulation. *Plant Science*, 230, 12-22.
- Perez Peña J.E. (2000). Restricciones hídricas durante el desarrollo de la baya y su influencia en el crecimiento vegetativo, reproductivo, rendimiento y calidad enológica de la uva variedad Cabernet Sauvignon. Tesis de la Maestría en Riego y Drenaje. FCA UNCuyo. Mendoza, Argentina. 91p
- Poni, S., Lakso, A. N., Turner, J. R., & Melious, R. E. (1993). The effects of pre-and post-veraison water stress on growth and physiology of potted Pinot Noir grapevines at varying crop levels. *Vitis*, 32, 207-214.
- Poorter, H., & Van Berkel, J. (2012). Chlorophyll extraction and determination. En: [http://www.publish.csiro.au/prometheus/wiki/tiki-page\\_history.php?page = Chlorophyll extraction and determination&preview=11](http://www.publish.csiro.au/prometheus/wiki/tiki-page_history.php?page=Chlorophyll%20extraction%20and%20determination&preview=11); accesión 5/01/2012.
- Prior, L. D., Grieve, A. M., & Cullis, B. R. (1992). Sodium chloride and soil texture interactions in irrigated field grown sultana grapevines. II. Plant mineral content, growth and physiology. *Austr. J.Agric.Res.*, 43(5), 1067-1083.
- Quintana, C. G., Sanabria, M. E., Ojeda, M. G., & Valera, R. E. (2012). Efecto de la salinidad sobre la anatomía foliar y radical de la Piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.) 'Española Roja'. *Pittieria*, 36, 87-108.
- Reigosa, M.J., Pedrol, N., & Sánchez, A. (2004). *La ecofisiología vegetal. Una ciencia de síntesis*. Thomson Editores. España: 9-21.
- Richards, L.A. (Ed.)(1974). *Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos*. Editorial Limusa, México: 1-6.

- Rodríguez-Navarro, A., & Rubio, F. (2006). High-affinity potassium and sodium transport systems in plants. *Journal of Experimental Botany*, 57(5), 1149-1160.
- Ruhl, E. H. (1991). Effect of potassium supply on cation uptake and distribution in grafted *Vitis champinii* and *Vitis berlandieri* x *Vitis rupestris* rootstocks [grapes]. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 31. 687-691.
- Sadzawka, A., Grez, R., Carrasco, A., & Mora, M. L. (2004). Métodos de análisis de tejidos vegetales. Comisión de Normalización y Acreditación (CNA) de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo. 53 p. Chile, 35 p.
- Salisbury, F.B. & Ross, C. (2000). *Fisiología de las plantas 3: Desarrollo de las plantas y fisiología ambiental*. Madrid: Thomson learning, 923-928.
- Sampaio, T., & Vasconcelos, C. (2005). Optimizing water status, gas-exchange, fruit yield and composition using rootstocks. In XIV International GESCO Viticulture Congress, Geisenheim, Germany, 23-27 August, 2005. (pp. 115-119). Groupe d'Etude des Systemes de Conduite de la vigne (GESCO) 2, 115-118.
- Schultz, H. R. (2003). Differences in hydraulic architecture account for near isohydric and anisohydric behaviour of two field-grown *Vitis vinifera* L. cultivars during drought. *Plant, Cell & Environment*, 26(8), 1393-1405.
- Sepúlveda, G., & Kliewer, M. (1983). Estimation of leaf area of two grapevine cultivars (*Vitis vinifera* L.) Using laminae linear measurements and fresh weight. *American Journal of Enology and Viticulture* 34: 221-226.
- Serra, I., Strever, A., Myburgh, P. A., & Deloire, A. (2014). Review: the interaction between rootstocks and cultivars (*Vitis vinifera* L.) to enhance drought tolerance in grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20(1), 1-14.
- Sharp, R. E., & LeNoble, M. E. (2002). ABA, ethylene and the control of shoot and root growth under water stress. *Journal of Experimental Botany*, 53(366), 33-37.
- Silva, E. N., Silveira, J. A. G., Rodrigues, C. R. F., Lima, C. S., & Viégas, R. A. (2009). Contribution of organic and inorganic solutes to osmotic adjustment of physic nut under salinity. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 44(5), 437-445.
- Silveira, J. A. G., Araújo, S. A. M., Lima, J. P. M. S., & Viégas, R. A. (2009). Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. *Environmental and Experimental Botany*, 66(1), 1-8.
- Sivritepe, N., Sivritepe, H. O., Celik, H., & Katkat, A. V. (2010). Salinity responses of grafted grapevines: Effects of scion and rootstock genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 38(3), 193-201.
- Soar, C. J., Speirs, J., Maffei, S., Penrose, A., McCarthy, M. I. G., & Loveys, B. (2006a). 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(1), 2-12.
- Soar, C. J., Dry, P. R., & Loveys, B. R. (2006b). Scion photosynthesis and leaf gas exchange in *Vitis vinifera* L. cv. Shiraz: mediation of rootstock effects via xylem sap ABA. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 12(2), 82-96.
- Southey, J.M. (1992). Root distribution of different grapevine rootstocks on a relatively saline soil. *South African Journal of Enology and Viticulture* 13, 1–9.
- Southey, J., & Jooste, J. (1992). Physiological response of *Vitis vinifera* L.(cv. Chenin blanc) grafted onto different rootstocks on a relatively saline soil. *South African Journal Enology Viticulture*, 13, 10-22.
- Smart, D. R., Schwass, E., Lakso, A., & Morano, L. (2006). Grapevine rooting patterns: A comprehensive analysis and a review. *American Journal of Enology and Viticulture*, 57(1), 89-104.
- Stepień, P., & Kibus, G. (2006). Water relations and photosynthesis in *Cucumis sativus* L. leaves under salt stress. *Biologia Plantarum*, 50(4), 610-616.
- Stevens, R., Harvey, G., & Partington, D. L. (2011). Irrigation of grapevines with saline water at different growth stages: Effects on leaf, wood and juice composition. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 17(2), 239-248.
- Stoll, M., Loveys, B., & Dry, P. (2000). Hormonal changes induced by partial rootzone drying of irrigated grapevine. *Journal of Experimental Botany*, 51(350), 1627-1634.
- Tandonnet, J. P., Decroocq, S., Gaudillere, J. P., Fouquet, R., & Ollat, N. (2005). Conferred vigour by rootstocks in grapevine: evaluation of some hypothesis. In XIV International GESCO Viticulture Congress, 14, Geisenheim, Germany, vol 2, p. 120-126.
- Tandonnet, J. P., Cookson, S. J., Vivin, P., & Ollat, N. (2010). Scion genotype controls biomass allocation and root development in grafted grapevine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(2), 290-300.
- Tattersall, E. A. R., Grimplet, J., DeLuc, L., Wheatley, M. D., Vincent, D., Osborne, C., Ergül, A., Lomen, E., Blank, R. R., & Schlauch, K. A. (2007). Transcript abundance profiles reveal larger and more complex responses of grapevine to chilling compared to osmotic and salinity stress. *Functional & integrative genomics*, 7(4), 317-333.
- Teakle, N. L. & Tyerman, S.D. (2010). Mechanisms of Cl<sup>-</sup> transport contributing to salt tolerance. *Plant, cell & environment* 33(4), 566-589.
- Tregeagle, J. M., Tisdall, J., Blackmore, D., & Walker, R. (2006). A diminished capacity for chloride exclusion by grapevine rootstocks following long-term saline irrigation in an inland versus a coastal region of Australia. *Australian journal of grape and wine research*, 12(3), 178-191.

- Tregeagle, J. M., Tisdall, J. M., Tester, M., & Walker, R. R. (2010). Cl<sup>-</sup> uptake, transport and accumulation in grapevine rootstocks of differing capacity for Cl<sup>-</sup> exclusion. *Functional Plant Biology*, 37(7), 665-673.
- Upadhyay, A., Upadhyay, A. K., & Bhirangi, R. A. (2012). Expression of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter gene in response to water and salinity stress in grapevine rootstocks. *Biologia Plantarum*, 56(4), 762-766.
- Upreti, K. K., & Murti, G. S. R. (2010). Response of grape rootstocks to salinity: changes in root growth, polyamines and abscisic acid. *Biologia Plantarum*, 54(4), 730-734.
- Vallone, R.C. (1998). Influencia del estado hídrico sobre desarrollo, rendimiento y calidad enológica en vid. Tesis de Maestría en Riego y Drenaje. Universidad Nacional de Cuyo, Facultad de Ciencias Agrarias. Mendoza, Argentina, 130 p.
- Vallone, R., & Nijensohn, L. (2002). Guía de orientación para regantes de zonas áridas. Mendoza, Talleres Gráficos Tintar Editorial.
- Vasquez-Tello, A., Zuily-Fodil, Y., Thi, A. P., & da Silva, J. V. (1990). Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in Phaseolus and Vigna species. *Journal of Experimental Botany*, 41(7), 827-832.
- Vega, J., & Mavrich, E. (1953). Identificación de clones en cultivos del portainjerto vitícola Rip. x Rup, 101-14. IDIA, junio. Argentina.
- Venier, M. (2013). Análisis de la tolerancia a salinidad en plantas de Vitis vinífera cv. 'Sultanina' transformadas con el gen que codifica antiporter vacuolar ATNHX1. Tesis de la Maestría de Viticultura y Enología. FCA UNCuyo. Mendoza, Argentina. 97p.
- Viana, A. P., Bruckner, C. H., Martinez, H. E. P., Martinez y Huaman, C. A., & Mosquim, P. R. (2001). Teores de Na, K, Mg e Ca em porta-enxertos de videira em solução salina. *Scientia Agricola*, Piracicaba, SP, 58(1), 187-191.
- Vila, H.F. (2012). Regulación de la hidratación y la turgencia foliares por mecanismos evitadores del estrés, y resistencia a déficit hídrico en vid. "Modelos vs. Experimentos". Tesis presentada para el grado de Doctor en Biología, con mención en Fisiología vegetal. Posgrado en Biología Probiol, Universidad Nacional de Cuyo Mendoza, Argentina.
- Vila, H.F., Di Filippo, M.L., Venier, M., Filippini, M.F. 2014. How do rootstocks influence salt tolerance in grapevine? The roles of conferred vigor and ionic exclusion. 1<sup>st</sup> International Symposium on grapevine roots. Rauscedo, Italy, October 16-17, 40.
- Vila, H.F.; Di Filippo, M. L.; Venier, M.; Filippini, M. F. (2016) How rootstocks influence salt tolerance in grapevine? The role of conferred vigor and ionic exclusion". *Acta Hort.* 1136, 145-154 DOI: 10.17660/ActaHortic.2016.1136.20; <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2016.1136.20>
- Vincent, D., Ergül, A., Bohlman, M. C., Tattersall, E. A., Tillett, R. L., Wheatley, M. D., Woolsey, R., Quilici, D.R., Joets, J., Schlauch, K., Schooley, D.A.,

- Cushman, J.C. & Cramer, G. R. (2007). Proteomic analysis reveals differences between *Vitis vinifera* L. cv. Chardonnay and cv. Cabernet Sauvignon and their responses to water deficit and salinity. *Journal of experimental botany*, 58(7), 1873-1892.
- Volkmar, K., Hu, Y., & Steppuhn, H. (1998). Physiological responses of plants to salinity: a review. *Canadian Journal of Plant Science*, 78(1), 19-27.
- Walker, R. R., Torokfalvy, E., Scott, N. S., & Kriedemann, P. E. (1981). An analysis of photosynthetic response to salt treatment in *Vitis vinifera*. *Functional Plant Biology*, 8(3), 359-374.
- Walker, M. A. (1992). Future directions for rootstock breeding. In *Rootstock Seminar: a worldwide perspective: Reno, Nevada, 24 June 1992: proceedings*. American Society for Enology and Viticulture, Davis, California, 60-80.
- Walker, R. R., Blackmore, D. H., Clingeleffer, P. R., & Iacono, F. (1997). Effect of salinity and Ramsey rootstock on ion concentrations and carbon dioxide assimilation in leaves of drip- irrigated, field- grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). *Australian journal of grape and wine research*, 3(2), 66-74.
- Walker, R. R., Read, P. E., & Blackmore, D. H. (2000). Rootstock and salinity effects on rates of berry maturation, ion accumulation and colour development in Shiraz grapes. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6(3), 227-239.
- Walker, R. R., Blackmore, D. H., Clingeleffer, P. R., & Correll, R. L. (2002). Rootstock effects on salt tolerance of irrigated field- grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana): 1. Yield and vigour inter- relationships. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 8(1), 3-14.
- Walker, R.R., Blackmore, D.H., Clingeleffer, P.R., & Correll, R.L. (2004). Rootstocks effects on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). 2. Ion concentrations in leaves and juice. *Australian Journal of Grape and Wine Research*. 10(2): 90-99.
- Walker, R., & Clingeleffer, P. (2009). Rootstock attributes and selection for Australian conditions. *Australian viticulture*, 13(4), 69-76.
- Walker, R. R., Blackmore, D. H., & Clingeleffer, P. R. (2010). Impact of rootstock on yield and ion concentrations in petioles, juice and wine of Shiraz and Chardonnay in different viticultural environments with different irrigation water salinity. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16(1), 243-257.
- Williams, L.E. (2010) Interaction of rootstock and applied water amounts at various fractions of estimated evapotranspiration (ETc) on productivity of Cabernet Sauvignon. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16, 434–444.
- Wu, Y., & Cosgrove, D. J. (2000). Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall extensibility and cell wall proteins. *Journal of Experimental Botany*, 51(350), 1543-1553.

- Xu, F., Guo, W., Xu, W., Wei, Y., & Wang, R. (2009). Leaf morphology correlates with water and light availability: What consequences for simple and compound leaves?. *Progress in Natural Science*, 19(12), 1789-1798.
- Zeng, Q., & Brown, P. H. (2000). Soil potassium mobility and uptake by corn under differential soil moisture regimes. *Plant and Soil*, 221(2), 121-134.
- Zhang, X., Walker, R. R., Stevens, R. M., & Prior, L. D. (2002). Yield-salinity relationships of different grapevine (*Vitis vinifera* L.) scion-rootstock combinations. *Australian journal of grape and wine research*, 8(3), 150-156.