



UNCUYO
UNIVERSIDAD
NACIONAL DE CUYO

 **FCEN**
FACULTAD DE CIENCIAS
EXACTAS Y NATURALES

I B A M

CONICET
U N C U

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN CIENCIAS BÁSICAS ORIENTACIÓN BIOLOGÍA

Efecto de la calidad de la luz percibida por fitocromos sobre la morfología y la fisiología de plantas de vid

Autora: María Florencia Jofré

Directora: Dra. Carina Verónica González

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales – UNCuyo
Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM) – CCT
CONICET Mendoza

Codirectora: Dra. Carla Giordano

Instituto Argentino de Investigaciones de Zonas Áridas (IADIZA)
– CCT CONICET Mendoza

Agradecimientos

Agradezco en primer lugar a Dios que con su Espíritu Santo, mi fiel amigo, me acompañó en cada paso que fui dando a largo de los años en mi amada carrera. Gracias por la fortaleza, la paciencia y templanza.

A mi directora, la Dra. Carina González (con cariño "Cari") por su constante disponibilidad y predisposición a enseñarme, ayudarme y guiarme a lo largo de estos años compartidos. Gracias por su confianza y hermosa calidad humana.

Gracias a mi familia: mamá, papá, abuelos Nidia (mi Ñati) y Jorge; a mis hermanos: Facu, Lu, Charli, Viqui y a los que la vida me prestó: Guillo, Meli, Exe y Cami quienes supieron soportar con amor y paciencia mis largas horas de estudio, mis ausencias, mis cansancios, alegrías y tristezas.

A Rami que con su amor, compañía, buen consejo, apoyo incondicional estuvo presente a mi lado y lo sigue haciendo en este camino recorrido.

A las amigas que la biología me regaló: a mi fiel amiga y compañera de estudio Jose Wohlfeiler por las largas jornadas y años de estudio y por haber preparado tantas materias juntas que sé que sin ella no hubiese sido lo mismo. Por los mates, los almuerzos de la Ñeca, los eternos recreos de charlas y demás. A Jose Menendez, compañera y amiga desde el comienzo, por todos los años compartidos, por hacer más ameno el estudio, por su complicidad, por contagiar su alegría. A todos los grandes amigos que fui encontrando en este tiempo que por sus charlas, apoyo y amistad hicieron disfrutar de otra forma este paso.

A mis compañeros del IBAM que siempre hicieron sentirme cómoda y también fueron de alguna manera parte de mi formación profesional.

A mi co-directora, la Dra. Carla Giordano quien aportó con su experiencia, conocimiento y su tiempo en la realización de esta tesina. En especial a Aranza, Gabi y Facu que me prestaron su ayuda y tiempo en la toma de algunas mediciones en este trabajo.

A las autoridades, docentes y personal administrativo de la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, gracias por su dedicación y colaboración durante todos estos años.

Al Instituto de Biología Agrícola de Mendoza (IBAM) y la Facultad de Ciencias Agrarias, por brindarme el espacio y lugar de trabajo, y los materiales necesarios para llevar a cabo esta tesina.

RESUMEN	4
INTRODUCCIÓN	5
LA LUZ Y SU IMPORTANCIA EN LA VIDA DE LAS PLANTAS	5
PERCEPCIÓN DEL AMBIENTE LUMÍNICO MEDIADO POR FOTORRECEPTORES	7
<i>Criptocromos y fototropinas</i>	8
<i>UVR8</i>	9
<i>Fitocromos</i>	9
RESPUESTAS DE LAS PLANTAS A LA SOMBRA	11
<i>Síndrome de escape al sombreado</i>	11
<i>Tolerancia a la sombra</i>	12
LA VID	13
<i>Clasificación botánica, origen y hábito de crecimiento</i>	13
<i>Morfología de la vid</i>	13
<i>El cultivo de la vid y su importancia</i>	15
<i>Prácticas culturales que modifican el ambiente lumínico</i>	15
<i>Respuestas de la vid a la luz</i>	16
OBJETIVOS.....	17
HIPOTESIS.....	17
PREDICCIONES.....	17
MATERIALES Y MÉTODOS	18
DISEÑO EXPERIMENTAL Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO	18
DETERMINACIONES MORFOLÓGICAS Y DE CRECIMIENTO	19
DETERMINACIONES BIOQUÍMICAS	20
DETERMINACIONES FISIOLÓGICAS	21
DETERMINACIONES ANATÓMICAS	23
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS	24
RESULTADOS	27
DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES	36
REFERENCIAS.....	41
ANEXO.....	45
FIGURAS SUPLEMENTARIAS	45
FOTOGRAFÍAS DE LOS EXPERIMENTOS	46

RESUMEN

La luz es uno de los factores ambientales que más influye sobre el crecimiento y desarrollo de las plantas. Éstas pueden detectar el ambiente lumínico a través de fotorreceptores que les permiten percibir ambientes abiertos o sombreados por un canopy vegetal y desencadenar respuestas para adaptarse a estas condiciones. Las plantas pueden evadir o tolerar la sombra a través de dos tipos de síndromes que se conocen como: el síndrome de escape al sombreado (SAS, acrónimo derivado del inglés Shade Avoidance Syndrome) y la tolerancia a la sombra. Los fitocromos son fotorreceptores que sensan la relación de luz roja:rojo lejano (R:RL) del ambiente. Una Baja R:RL, se asocia con la presencia de plantas vecinas y puede promover el SAS (elongación del tallo y pecíolos, reposicionamiento erecto de las hojas, menor ramificación, floración anticipada, etc.). Asimismo, los fitocromos ajustan la arquitectura hidráulica de las plantas en función del ambiente lumínico que detectan. Por el contrario, las plantas tolerantes a la sombra disminuyen las respuestas asociadas al SAS y presentan adaptaciones morfológicas y fisiológicas que les permiten incrementar la eficiencia de interceptación lumínica y aclimatarse a condiciones de baja intensidad lumínica. El objetivo del presente trabajo fue evaluar si la calidad de la luz percibida por fitocromos afecta el crecimiento vegetativo y las relaciones hídricas de plantas de vid. Se cultivaron plantas de dos variedades y se modificó su ambiente lumínico suplementándolas con luz rojo lejano para simular la presencia de plantas vecinas. Las plantas sometidas a una baja R:RL lateral, a pesar de que presentaron una mayor concentración de hormonas de crecimiento (auxinas y giberelinas) en hojas, no incrementaron la longitud del tallo, ni de los pecíolos, ni el área foliar. Tampoco fueron afectados la densidad estomática, pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores, ni la partición de fotoasimilados. No se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en el estado hídrico, la conductancia estomática, la transpiración, la conductancia de la planta, la conductividad hidráulica máxima del tallo ni en la anatomía del tallo. Estos resultados junto a antecedentes previos, nos permiten sugerir que la vid se comportaría como una especie tolerante a la sombra ya que carece de las respuestas asociadas al SAS e invitan a hacer una revisión de las prácticas de manejo que actualmente se realizan en el campo.

INTRODUCCIÓN

La luz y su importancia en la vida de las plantas

La luz solar es una forma de radiación electromagnética que posee propiedades de partícula y de onda. La radiación solar abarca todo el campo de radiación conocido como espectro electromagnético, el cual se extiende desde los rayos gamma, pasando por los rayos X, luz ultravioleta, luz visible, rayos infrarrojos hasta las ondas de radio (Figura 1A). La luz visible o espectro electromagnético visible, llamada así debido a que podemos percibirla con nuestros ojos, también corresponde al rango de longitudes de onda importantes para la fotosíntesis conocida como radiación fotosintéticamente activa o PAR (acrónimo derivado del término inglés Photosynthetically Active Radiation) que comprende las longitudes de onda entre 400 y 700 nm (Figura 1B). La región del PAR corresponde a los mayores valores de irradiancia solar (W/m^2) sobre la superficie terrestre y representa alrededor del 43% de la irradiancia solar total a nivel del mar (Valladares 2003).

Para las plantas, la luz es fuente de energía para la fotosíntesis, y también de señales que les proveen información sobre el ambiente (Ballaré 2014; Casal 2013). La radiación que llega a las plantas en condiciones naturales, varía en intensidad, calidad (composición espectral), direccionalidad y distribución en el tiempo y en el espacio (Casal 2013). Estos aspectos de la luz pueden ser percibidos por fotorreceptores vegetales que median respuestas morfológicas y fisiológicas necesarias para sobrevivir y aclimatarse a diversas condiciones ambientales. Esta habilidad de las plantas de detectar y responder a las señales dadas por el ambiente lumínico ajustando su crecimiento y desarrollo, se conoce como *fotomorfogénesis* (de Wit and Pierik 2016; Kendrick and Kronenberg 2012).

Un ejemplo de cambios en el espectro lumínico asociados a la duración del estímulo lumínico, es la cantidad de horas de luz diaria o fotoperiodo. La duración del fotoperiodo varía a lo largo del año y en función de la latitud. Con excepción del ecuador, hay más horas de luz solar en verano y menos en invierno. Además, mientras más cerca se esté de los polos, mayor será la variación de horas de luz durante el día.

La dirección de la luz, varía a lo largo del día y del año ya que se encuentra asociada a la trayectoria del sol, la elevación y declinación solar y a la presencia de canopeos vegetales que dan lugar a sectores sombríos y abiertos. El ángulo solar varía con la estación del año y a lo largo del día. En el hemisferio sur los rayos solares llegan con la mayor inclinación o menor ángulo respecto al horizonte, el 21 de junio y, por el contrario, el 21 de diciembre los rayos solares llegan con menor inclinación y se registra la mayor radiación. La intensidad de luz (densidad de flujo fotónico: número de fotones por unidad de tiempo y superficie) varía durante el transcurso del día y del año. En el ecuador la luz solar llega en forma perpendicular a la Tierra siendo su intensidad mayor a la percibida en latitudes mayores. La intensidad de luz también es afectada por factores climáticos como la nubosidad, el sombreado vegetal, etc. Mientras que los cambios en la composición espectral o calidad de luz (cantidad de luz dentro de un determinado rango de longitudes de onda) varía principalmente con la presencia de otras plantas ya que las hojas absorben diferencialmente distintos rangos de longitudes de onda del espectro lumínico. Esta absorción selectiva se debe a las características epidérmicas de las hojas y a la presencia de las clorofilas contenidas en los tejidos vegetales que absorben principalmente luz roja (R, 600 – 700 nm) y azul (A, 400 – 500 nm) mientras que reflejan y transmiten luz verde (V, 500 – 560 nm) y en mayor medida rojo lejano (RL, 700 – 800 nm). Es por esto, que en un dosel vegetal o ante la presencia de plantas vecinas, el ambiente lumínico se ve modificado por la mayor absorción de luz R y A causando una disminución en la relación rojo:rojo lejano ($R:RL < 1$, $660 \pm 10 \text{ nm} : 730 \pm 10 \text{ nm}$) respecto de la radiación solar directa ($R:RL=1$) y en el azul, la cual es percibida por fotorreceptores específicos (Ballaré et al. 1987; Casal 2012). Asimismo, la epidermis celular de las plantas absorbe la radiación UV-B. Es importante destacar que la disminución de luz A y UV-B son señales que también indican sombra, aunque la disminución de la R:RL es la única señal que indica sombra provocada por la presencia de otras plantas. Otros factores que afectan en menor medida la calidad de luz son la presencia de nubosidad (luz blanquecina), el amanecer y el atardecer (luz púrpura o anaranjada).

Percepción del ambiente lumínico mediado por fotorreceptores

Las señales lumínicas son percibidas por distintos grupos de fotorreceptores que poseen diferentes espectros de absorción. La función de los fotorreceptores es conectar señales de luz específicas con una respuesta fisiológica a través de una red de transducción de señales (Casal 2013). Existen al menos cuatro grupos de fotorreceptores: los fitocromos, cuya absorción máxima es en el R (660 nm) y RL (730 nm); los criptocromos y fototropinas que absorben en el rango de radiación UV-A (320 – 400 nm) y luz A (400 – 500 nm); y UVR-8, el fotorreceptor de la radiación UV-B (280 – 315 nm) (Figura 1) (Ballaré 2014; Casal 2013). Tanto los fitocromos como los criptocromos y fototropinas están compuestos por una apoproteína unida a uno o dos cromóforos, mientras que UVR8 es una proteína que utiliza como cromóforos ciertos aminoácidos específicos que lo conforman (Casal 2013; Kong and Okajima 2016).

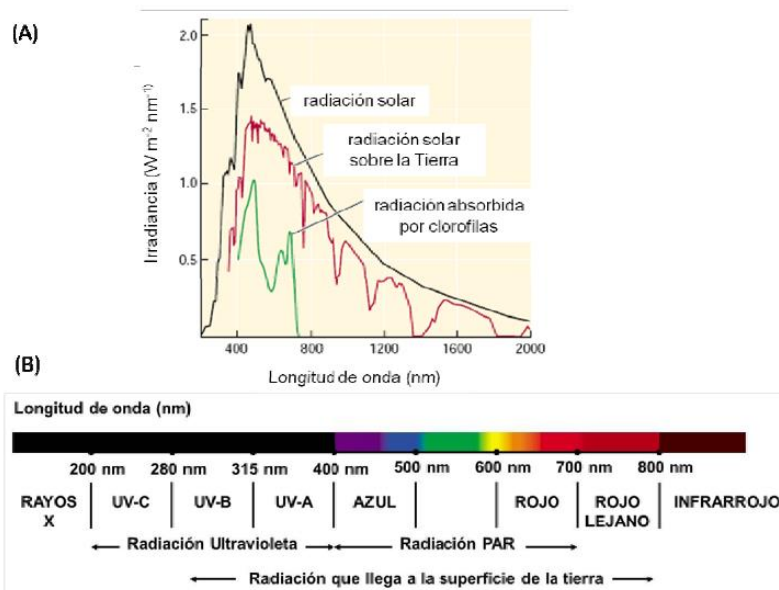


Figura 1. (A) y (B) Espectro electromagnético de la radiación solar sobre la atmósfera, de la radiación solar sobre la superficie de la Tierra y de la radiación absorbida por clorofilas, adaptado de Taiz and Zeiger (2006).

Criptocromos y fototropinas

Los criptocromos poseen una estructura del tipo fotoliasa o PHR (acrónimo derivado del término Photolyase Homology Region) en la región amino terminal unida no covalentemente a un cromóforo primario catalítico FAD (Flavin-Adenin-Dinucleótido) que funciona como el principal captor de luz, y a un segundo cromóforo derivado de pterina llamado 5,10 meteniltetrahidrofolato (MTHF) que colecta y transfiere energía de la luz cercana a la región UV (370 - 390 nm) al cromóforo FAD. En oscuridad el cromóforo flavina se encuentra en su estado oxidado FAD, la forma inactiva, mientras que al absorber luz azul (470 nm) es fotorreducido a FADH, la forma activa. En ausencia de luz FADH es inestable y revierte rápidamente a la forma FAD, lo mismo sucede al absorber luz verde (560 nm). Los criptocromos están estructuralmente relacionados con las DNA fotoliasas pero no poseen actividad DNA fotoliasa (Christie et al. 2014; Wang et al. 2014). *Arabidopsis thaliana* posee dos criptocromos (cry1 y cry2) que se encuentran localizados en el núcleo y en el citoplasma y un tercero que se ubica en las mitocondrias y cloroplastos y cuya función biológica no ha sido completamente dilucidada (cry3). Cry2 a diferencia de cry1 experimenta ubiquitinación dependiente de luz azul y degradación en el núcleo, por lo que cry2 funciona preferencialmente bajo condiciones de poca luz. Por el contrario, los niveles celulares de cry1 no son significativamente afectados por luz. Las respuestas más conocidas mediadas por criptocromos son: des-etiolación (inhibición en la elongación del hipocotilo), control fotoperiódico de la floración, ajuste del reloj circadiano y el Síndrome de Escape al Sombreado (SAS, acrónimo derivado del inglés Shade Avoidance Syndrome)(Wang et al. 2014).

Las fototropinas son kinasas serina-treonina que contienen dos dominios unidos a un cromóforo (flavina). Estos fotorreceptores se ubican predominantemente en la membrana plasmática pero al absorber luz azul, se autofosforilan y migran al citosol o al aparato de Golgi. *Arabidopsis* posee dos fototropinas (phot1 y phot2) que juegan un rol importante en la percepción de los gradientes de luz (Casal 2013). Phot1 percibe bajos niveles de luz azul mientras que phot2 es más importante en respuestas a altas intensidades de luz. Estos fotorreceptores intervienen en respuestas que

ayudan a optimizar la eficiencia fotosintética, tales como el fototropismo, la apertura estomática, y el movimiento de los cloroplastos en respuesta a cambios en la intensidad de luz (Christie 2007; Christie et al. 2014).

UVR8

Recientemente fue descubierto UVR8, el fotorreceptor de la radiación UV-B (Rizzini et al. 2011). A diferencia de los otros fotorreceptores, UVR8 posee dos residuos de triptófano que funcionan como un cromóforo absorbiendo la luz. En condiciones de luz donde los niveles de UV-B son muy bajos o inexistentes, UVR8 existe como homodímero y sufre una monomerización instantánea tras la exposición a UV-B. En ausencia de radiación UV-B, UVR8 se localiza principalmente en el citosol y solo una pequeña parte queda en el núcleo. Las respuestas fisiológicas a UV-B mediadas por UVR8 más ampliamente estudiadas son la inhibición del crecimiento del hipocótilo y la acumulación de compuestos fotoprotectores (ej: flavonoides) (Kliebenstein et al. 2002). Además, UVR8 controla la morfogénesis foliar, así como la diferenciación estomática (Wargent et al. 2009), y promueve la eficiencia fotosintética en niveles elevados de radiación UV-B (Davey et al. 2012). Además se ha observado la activación de genes relacionados con la producción de antioxidantes (aumento de ácido ascórbico) y con la reparación del ADN (Ballaré 2014; Tilbrook et al. 2013).

Fitocromos

Los fitocromos son dímeros solubles compuestos por subunidades de aproximadamente 125 kDa. Consisten en una apoproteína unida covalentemente a un cromóforo tetrapirrol de cadena lineal llamado fitocromobilina. Se conocen dos formas interconvertibles, la forma inactiva, Pr, que absorbe luz roja (660 nm) y la forma activa, Pfr, que absorbe luz rojo lejano (730 nm) (Casal et al. 2003; Franklin and Quail 2010). Se establecen diferentes proporciones de Pr y Pfr en función de la R:RL generando un fotoequilibrio que se define como la relación entre la cantidad de moléculas de la forma activa y la cantidad total de moléculas de fitocromos ($Pfr/Pfr+Pr$). Al absorber luz R, la forma Pr que se encuentra en el citoplasma, se convierte a Pfr y migra hacia el

núcleo, mientras que en ausencia de luz o al absorber luz RL, la forma Pfr se revierte a la forma Pr (Figura 2). La forma Pfr, una vez localizada en el núcleo interactúa con COP 1 (acrónimo derivado de Constitutive Photomorphogenesis 1) que es una E3 ligasa y también con distintos factores de transcripción. Una subfamilia de factores de transcripción del tipo bHLH (del inglés, basic helix-loop-helix), los PIFs (acrónimo derivado de Phytochrome Interacting Factors), son muy importantes en el control de las respuestas asociadas al SAS. Algunos PIF promueven y otros inhiben el crecimiento (Ballaré 2014).

Las plantas poseen una familia de fitocromos, en *Arabidopsis thaliana* (phyA–E), tomate (phyA, phyB1, phyB2, phyE, phyF) y maíz (phyA1, phyA2, phyB1, phyB2, phyC1, phyC2) existen cinco tipos de fitocromos; mientras que en arroz (phyA-C) y *Ginkgo biloba* (phyP, phyN y phyO) existen tres y en el género *Pinus* existen cuatro (phyP1, phyP2, phyN y phyO). PhyB es el principal sensor de la relación R:RL en plantas desetiadas (Casal 2012). El fitocromo B junto con otros fotorreceptores, intervienen en diversas repuestas a lo largo del ciclo de vida de las plantas, tales como el SAS, germinación de las semillas fotoblásticas, desetiación de las plántulas, respuesta gravitrópica de la raíz, crecimiento de pelos radicales, diferenciación estomática, entrenamiento del reloj circadiano y floración (Casal et al. 2003; Franklin and Quail 2010).

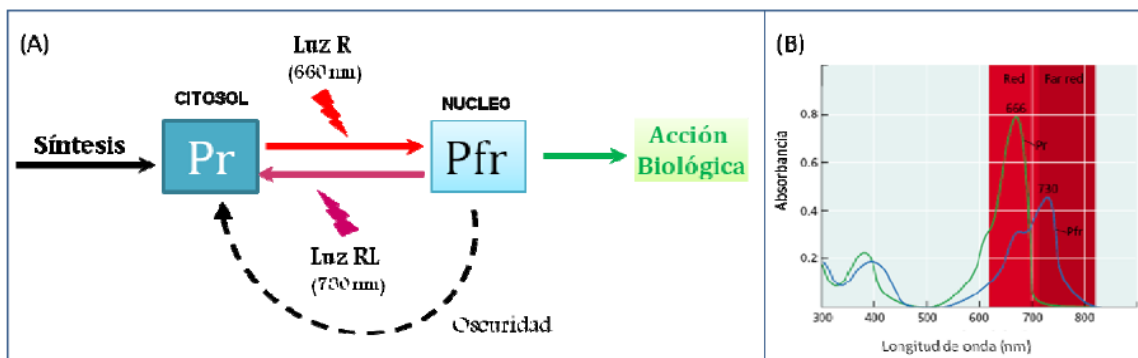


Figura 2. (A) Diagrama de las formas interconvertibles de los fitocromos. (B) Espectro absorción de las formas Pr (verde) y Pfr (azul) de los fitocromos, adaptado de Taiz and Zeiger (2006)

Respuestas de las plantas a la sombra

Como ya fue mencionado, la presencia de otras plantas por ejemplo un dosel vegetal, ocasiona alteraciones en el ambiente lumínico tanto en la cantidad como en la calidad de la luz. Es por esto que las plantas al percibir estos cambios llevan a cabo una serie de respuestas que tienden a reducir el grado de sombra o a tolerar nuevas condiciones de luz. Las respuestas de las plantas a la sombra, podrían agruparse en dos síndromes: el Síndrome de Escape al Sombreado y la tolerancia a la sombra.

Síndrome de escape al sombreado

El SAS es un conjunto de respuestas morfológicas y fisiológicas que se producen en respuesta a la sombra o la proximidad de plantas vecinas. Las señales que inducen el SAS son bajas R:RL lateral o vertical percibidas principalmente por phyB y disminuciones en el nivel de luz azul y UV-A percibidas por cry1 (Ballaré 2014; Casal 2012). Este síndrome involucra la interacción de numerosos componentes de la vía de señalización de estos fotorreceptores y varias hormonas vegetales (auxinas, giberelinas, brassinosteroides y etileno) (Casal 2013; Pierik and de Wit 2013). Las respuestas morfológicas características son: la elongación del tallo, elongación de pecíolos, reposicionamiento erecto de las hojas, menor ramificación, floración temprana, etc. Este conjunto de respuestas favorecería las chances de interceptar luz en plantas intolerantes a la sombra y anticiparse a la futura competencia por luz. Las plantas pueden desencadenar este síndrome antes de haber sido sombreadas efectivamente a través de la percepción de la calidad de la luz reflejada por una planta vecina (Ballaré et al. 1987).

Asimismo, las plantas intolerantes a la sombra manifiestan ciertas respuestas fisiológicas asociadas al SAS que afectan su economía de agua y carbono. Una R:RL ambiental o la ausencia de plantas vecinas ocasiona aumentos en el transporte de agua, transpiración y fotosíntesis; mientras que una baja R:RL lateral o la presencia de una planta vecina ocasiona la disminución en estos procesos fisiológicos. Esto sugiere

que al percibir bajas R:RL laterales las plantas llevarían a cabo una serie de respuestas fisiológicas que les permitirían anticiparse a la futura competencia por agua. En plantas herbáceas como *Arabidopsis thaliana*, papa (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*) y pepino (*Cucumis sativus*), las respuestas del SAS están asociadas a disminuciones en la transpiración, fotosíntesis, densidad estomática, conductividad hidráulica del tallo y exploración del suelo por raíces. Estas características les permitirían tolerar y/o evadir la escasez hídrica, exceptuando al mutante de phyB en *A. thaliana* ya que disminuye su tolerancia a la sequía al ser menos sensible al ABA (Demotes-Mainard et al. 2016; González et al. 2012). PhyB, por lo tanto, interviene en la regulación de la arquitectura hidráulica de las plantas intolerantes a la sombra ajustando el transporte de agua y la asimilación de carbono de acuerdo al ambiente lumínico, para así anticiparse a la competencia por luz y agua (Boccalandro et al. 2003; Boccalandro et al. 2009; Casal et al. 1994; De Simone et al. 2000; González et al. 2012; Liu et al. 2012).

Tolerancia a la sombra

Por otro lado, las plantas tolerantes a la sombra poseen la capacidad de incrementar su eficiencia de interceptación lumínica y de tolerar bajos niveles de luz. Las respuestas típicas del SAS están ausentes o disminuidas y destinan los recursos hacia respuestas fisiológicas que tienden a optimizar la fotosíntesis (Gommers et al. 2013; Valladares and Niinemets 2008). Las plantas tolerantes a la sombra generalmente, en situaciones de sombra, no incrementan la longitud del tallo pero muestran una disminución de la tasa de respiración en oscuridad y el punto de compensación lumínica e incremento del área foliar (AF) en relación a la biomasa total de la planta, disminución del peso foliar específico (PFE), del rendimiento cuántico y de la concentración de pigmentos fotosintéticos (Valladares and Niinemets 2008).

LA VID

Clasificación botánica, origen y hábito de crecimiento

La vid pertenece a la familia de las Vitáceas la cual contiene aproximadamente 1000 especies dentro de 17 géneros y son en general arbustos o lianas leñosas. Las lianas poseen un tallo cuyo crecimiento vegetativo vertical predomina sobre el radial. Esta forma de vida se caracteriza por la presencia de órganos de sostén como los zarcillos que le permiten trepar utilizando otras plantas como soporte. El género *Vitis* es originario de zonas de climas templados y subtropicales del Hemisferio Norte (Keller 2010). En estado salvaje vive en bosques, donde al principio se desarrolla en el sotobosque y luego de algunos años alcanza la copa de los árboles, donde queda expuesta a mayores irradiancias solares que en el sotobosque (Martínez de Toda 1991). La especie que se utiliza comercialmente es *Vitis vinifera*. Su forma silvestre (*Vitis vinifera* L. ssp *silvestris*) pertenece al grupo de vides europeas cuyo origen se encuentra desde el oeste de Asia hasta la región del Mediterráneo (Terral et al. 2010).

Morfología de la vid

Como otras plantas, las plantas de vid están compuestas por órganos vegetativos (raíces, tallo leñoso, tallos herbáceos, hojas y zarcillos) y órganos reproductivos (flores y frutos) (Figura 3). La raíz es en cabellera cuando la planta es propagada en forma agámica; mientras que es pivotante cuando proviene de semilla. Las estructuras permanentes de la parte aérea son los brazos y tallos. Los tallos se denominan pámpanos cuando se encuentra en estado herbáceo y a partir de la lignificación del xilema, sarmientos. Las yemas, hojas y racimos están insertos en cada nudo. Las yemas están presentes en distintas posiciones de la planta: en la base se encuentra un conjunto de yemas basales o casqueras (la más destacada se denomina bourillon); en cada nudo del pámpano se hallan dos tipos de yemas, la más desarrollada es la latente, que es una yema compuesta, y la más pequeña la pronta, que da origen a los tallos secundarios llamados feminelas; y finalmente en la punta la

yema terminal o ápice vegetativo. Las yemas más fértiles son las basales disminuyendo su fertilidad hacia el ápice. Las hojas son simples, alternas, cordado-orbiculares, largamente pecioladas, lobuladas y dentadas. Presentan cinco nervaduras principales que definen cinco lóbulos separados por cuatro senos laterales, además alrededor de la inserción peciolar se ubica el seno peciolar o basal que es angosto y profundo. La forma y amplitud de cada seno y lóbulo es un carácter ampelográfico varietal. Los zarcillos son órganos importantes para el crecimiento y el soporte de la planta en el sistema de conducción. Éstos se insertan en los nudos del tallo (no en todos), presentan un raquis principal que luego de una bráctea se divide en dos ramas: la interna de mayor longitud y la externa. Las flores se agrupan en inflorescencias en racimos compuestos piramidales, se ubican en los nudos basales de los pámpanos y se encuentran preformados en las yemas latentes de los sarmientos. La mayoría de las especies en el género *Vitis* son dioicas (flores masculinas y femeninas en diferentes plantas), pero casi todas las variedades comercialmente importantes de *Vitis vinifera* son hermafroditas (Keller 2010; Martínez de Toda 1991).

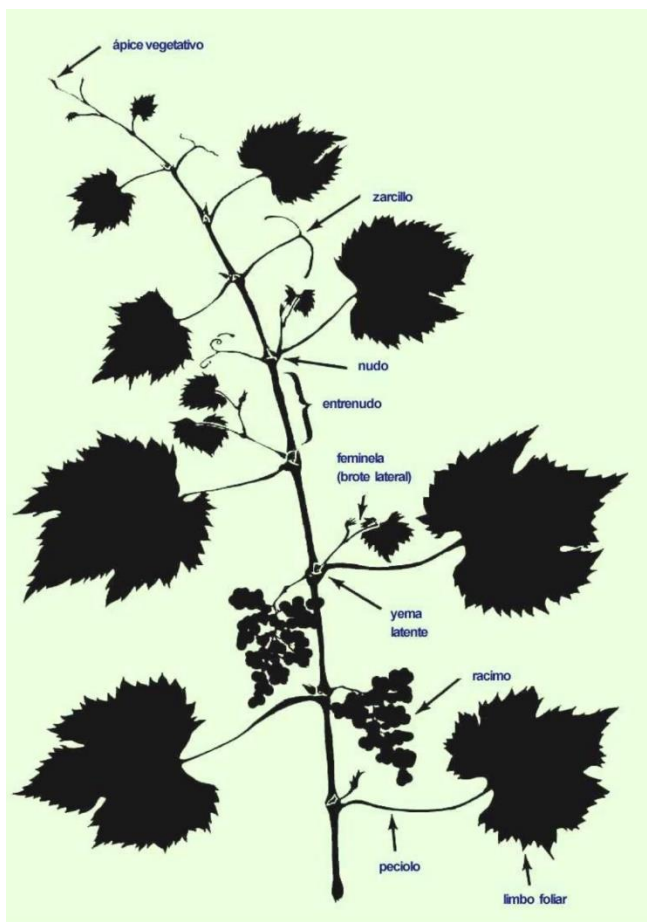


Figura 3. Morfología de la vid

El cultivo de la vid y su importancia

Actualmente, la vid es el cultivo frutícola económicamente más importante del mundo (OIV 2011) y es una de las actividades socio-económicas más importantes de la región de Cuyo. En la Argentina, las regiones vitícolas se ubican predominantemente en zonas áridas y semiáridas, por lo que el cultivo se realiza bajo condiciones de riego. En la provincia de Mendoza, la superficie cultivada es de 160.982 ha (16.812 viñedos) mientras que el total de superficie cultivada a nivel país es de 226.387 ha (25.482 viñedos); es decir que el 71% del cultivo de vid se desarrolla en la provincia de Mendoza (INV 2014).

El cultivo de vid posee distintos destinos. Los tres principales son vinificación, uva de mesa y pasas de uva. El más importante a nivel nacional e internacional es la vinificación. En nuestro país 208.707 ha cultivadas son destinadas para vinificación, mientras que para uva de mesa y elaboración de pasas existen 12.877 ha y 4.305 ha cultivadas, respectivamente (INV, 2014).

Prácticas culturales que modifican el ambiente lumínico

Previo a la implantación de un viñedo y durante el ciclo de cultivo se toman diferentes decisiones de cultivo (orientación de hileras, sistema de conducción, colocación de la malla antigranizo, densidad de plantación, etc.) y se realizan distintas prácticas culturales (poda invernal, desbrote, raleo de brotes, despunte, deshoje, reposicionamiento de los brotes, etc.) que afectan la intercepción de luz del cultivo y también la cantidad y calidad de la luz que llega y penetra en el canopeo del cultivo (Dokoozlian and Kliewer 1995a; b; Downey et al. 2006; Gladstone and Dokoozlian 2015). Ejemplos de prácticas culturales son, la poda invernal que afecta la futura ubicación y densidad de los brotes; el desbrote que también afecta la densidad de los brotes; el deshoje el cual se hace generalmente alrededor de la zona de los racimos (para aumentar la exposición al sol por parte de éstos).

Respuestas de la vid a la luz

Las respuestas de la vid a la cantidad de PAR han sido ampliamente estudiadas tanto a nivel vegetativo como reproductivo. También se han estudiado las respuestas de *Vitis vinifera* a la radiación UV-B. Un alto nivel de radiación de UV-B incrementa las concentraciones de compuestos fenólicos y compuestos orgánicos volátiles en bayas pero reduce su tamaño y rendimiento (Alonso et al. 2016; Berli et al. 2011). A su vez reduce la fotosíntesis, la conductancia estomática, el área foliar, la fijación neta de carbono y el crecimiento de la planta (Berli et al. 2013). Sin embargo, las respuestas de la vid a otras porciones del espectro de radiación, dentro del rango de la luz visible y el rojo lejano son menos conocidas. A nivel reproductivo, existe un único estudio referido a cómo la percepción de distintas longitudes de onda (dentro del espectro visible y RL), percibidas por fotorreceptores localizados en las bayas afecta la calidad enológica de las mismas (González et al. 2015), pero se desconocen las respuestas fisiológicas de esta especie a nivel de planta entera.

Bajo condiciones de baja intensidad de PAR, a nivel vegetativo las plantas de vid no presentan cambios significativos en la longitud de tallos, entrenudos y número de nudos; además incrementan su rendimiento cuántico, disminuyen su tasa de respiración en oscuridad y el punto de compensación lumínica (Buttrose 1968; Cartechini and Palliotti 1995; Palliotti et al. 2000; Smart et al. 1988). Schultz y Matthews (1993) estudiaron las relaciones hídricas de plantas de vid crecidas a bajas intensidades de PAR y observaron que la capacidad de transporte de agua se desacoplaba del AF a suplir ya que presentaban menor conductividad hidráulica de tallos, pecíolos y láminas. Sin embargo, no se conoce qué porción del espectro lumínico desencadena su capacidad de adaptarse a la sombra y de remodelar su arquitectura hidráulica en estas condiciones. Dado que la vid responde tanto a la intensidad como a las variaciones en la composición espectral de la luz, y que varias decisiones de cultivo y prácticas culturales modifican el ambiente lumínico de las plantas, es importante estudiar las respuestas morfológicas, bioquímicas y fisiológicas provocadas por variaciones en la calidad de la luz.

OBJETIVOS

El objetivo del presente trabajo es estudiar el efecto de la calidad de la luz percibida por fitocromos sobre el crecimiento vegetativo y sobre la economía de agua de plantas de vid.

HIPOTESIS

En función de los antecedentes, se proponen las siguientes hipótesis:

H1: Bajas R:RL laterales inducen de manera leve o nula los marcadores morfológicos del SAS.

H2: Bajas R:RL laterales provocan modificaciones anatómicas y bioquímicas en hojas tendientes a maximizar la fotosíntesis.

H3: Bajas R:RL laterales modifican la arquitectura hidráulica de las plantas disminuyendo el transporte y la pérdida de agua.

PREDICCIONES

La longitud del tallo, de los pecíolos, de entrenudos, como así también el ángulo de inserción foliar, el área foliar y la partición de fotoasimilados, entre otros marcadores morfológicos del SAS y las hormonas de crecimiento asociadas (GA_1 , GA_3 , IAA y ABA) no serán afectados por los tratamientos lumínicos. Bajas R:RL laterales provocarán una disminución del peso foliar específico (PFE) y de la concentración de pigmentos fotoprotectores mientras que aumentarán la concentración de pigmentos fotosintéticos. Bajas R:RL laterales disminuirán la conductancia estomática y transpiración de la planta (menor densidad e índice estomáticos) y la conductividad hidráulica (k_s) del tallo (menor número y el diámetro de vasos xilemáticos) que resultarán en la disminución de la conductancia hidráulica de la planta (K).

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental y condiciones de crecimiento

Los experimentos se llevaron a cabo en un invernáculo ubicado en el predio del Instituto de Biología Agrícola de Mendoza en Luján de Cuyo, Mendoza, Argentina (33°0'S, 68°52'O). Se utilizaron plantas enraizadas sobre pie franco de dos variedades de *Vitis vinifera* L. Syrah y Torrontés Riojano, las cuales fueron adquiridas en un vivero comercial. Las mismas fueron cultivadas en macetas blancas (para evitar el calentamiento de las mismas) de 8 L utilizando arena como sustrato. Las macetas fueron regadas con un sistema de riego por goteo y se mantuvieron a capacidad de campo durante el transcurso de los experimentos. Las plantas se fertilizaron semanalmente con 0.4 g L⁻¹ de 18-18-18 NPK (9,9% NO³⁻ y 8,1% NH₄⁺, 18% P₂O₅ y K₂O) y micronutrientes (Hakaphos Rojo; Compo, España). Las plantas se desbrotaron, permitiendo el crecimiento de un solo brote por planta.

El diseño experimental utilizado fue un sistema de bloques completos al azar con nueve repeticiones, con dos factores y dos niveles cada uno, llamados variedad (V; Syrah vs. Torrontés Riojano) y tratamiento lumínico (T; baja vs. R:RL lateral ambiente). Los bloques fueron definidos según un gradiente de PAR dentro del invernáculo en sentido norte-sur provocado por un acondicionador de aire ubicado en el lado norte del mismo. La unidad experimental fue la planta. Los tratamientos consistieron en modificar el ambiente lumínico de las plantas sometiéndolas a una baja R:RL lateral y a una R:RL lateral ambiente. Para disminuir la relación R:RL lateral, se colocaron verticalmente módulos de leds (Green Power LED far red module, Phillips, Amsterdam, Netherlands), cuyo pico máximo de emisión es de 740 nm, en el lado sur de las plantas a una distancia de 7 cm de las mismas (Figura 4A). Las plantas fueron irradiadas durante el fotoperiodo natural más 1 h al final del fotoperiodo con 70 μmol m⁻² s⁻¹. La R:RL lateral resultante del lado sur de las plantas al medio día solar, fue 0.07±0.003, mientras que la R:RL lateral ambiental fue 0.76±0.030. La duración de los tratamientos lumínicos fue controlada diariamente con un temporizador digital programable, el cual fue programado semanalmente de acuerdo a la variación estacional del fotoperiodo.

En el tratamiento R:RL lateral ambiental, se colocaron listones de cartón negro que simulaban la presencia de los módulos de leds.

Se llevaron a cabo dos experimentos consecutivos en diferentes períodos utilizando plantas distintas: i) del 27 de septiembre al 3 de diciembre de 2013 (plantas de dos meses de edad); ii) del 4 de diciembre de 2013 al 4 de abril de 2014 (plantas de cuatro meses de edad).

Se caracterizó el ambiente lumínico de las plantas sometidas a los distintos tratamientos cuantificando el PAR y la R:RL. Para ello se utilizaron sensores Skye SKR110/116 acoplados a SpectroSense2+ (Skye Instruments Ltd, Powys, UK). Los sensores se colocaron apuntando al cenit (perpendiculares al suelo) y apuntando en la dirección de los cuatro puntos cardinales (paralelos al suelo) (Figura 4B y Figura S1). Durante el período experimental el PAR y la radiación UV-B dentro del invernáculo al mediodía solar fue $\sim 700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ y $0.43 \mu\text{W cm}^{-2}$, respectivamente. La radiación UV-B (280 – 315 nm) fue cuantificada con un detector de UV-B PMA 2102 acoplado a un radiómetro PMA 2200 (Solar Light Company Inc., Glenside, PA, USA). La temperatura y la humedad relativa promedio dentro del invernáculo fue $23 \pm 5^\circ\text{C}$ y $37 \pm 20\%$ respectivamente. Éstas fueron medidas cada 30 min con sensores continuos de aire (HOBO, Pro Series data loggers, Onset Computer Corporation, Bourne, MA, USA).

Determinaciones morfológicas y de crecimiento

Tanto en el primer como en el segundo experimento se cuantificó semanalmente la longitud de los brotes, el número de nudos y el número de feminelas. Al final de los experimentos se midió la longitud de los pecíolos y el ángulo de inserción de la tercera, cuarta y quinta hoja (hojas completamente expandidas), la longitud de entrenudos y el diámetro basal del tallo con un calibre. La longitud de los pecíolos, ángulo de las hojas y longitud de entrenudos son reportados como un promedio de tres mediciones por planta. Se llevaron a cabo nueve réplicas para cada medición (n=9).

El área foliar se determinó al final de los experimentos utilizando un medidor de área foliar (LI-3100C Area Meter; LI-COR Biosciences, Lincoln, Nebraska, USA). La biomasa aérea de las plantas se determinó pesando los distintos órganos aéreos, luego de

haber sido secados en estufa a 65°C por 48 h. El peso foliar específico (PFE, mg cm⁻²) se calculó a través del peso seco de 10 discos de hojas de 1 cm² por hoja. Se utilizaron hojas del tercer o cuarto nudo (aquellas enfrentadas a los módulos de LED) y se reporta como el promedio del PFE de tres hojas por planta. Se llevaron a cabo nueve réplicas para cada medición (n=9).

Determinaciones bioquímicas

Hormonas vegetales: al finalizar el primer experimento se colectaron tres hojas por planta (ubicadas frente a los módulos LED) en nitrógeno líquido, se liofilizaron y molieron con mortero. Las determinaciones de GA₁, GA₃, IAA y ABA fueron realizadas en el Laboratorio de Fisiología Vegetal de la Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina, según Masciarelli et al. (2014). Se llevaron a cabo cinco réplicas para cada medición (n=5).

Pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores: al final de ambos experimentos se muestrearon 10 discos de hoja de 1 cm² por planta de hojas ubicadas frente a los módulos de LED y se determinó la concentración de clorofila (a y b) y carotenoides. Para esto se colocó 10 discos de hoja en 5 mL de Dimetilsulfóxido (DMSO) a 70° C en oscuridad durante 45 minutos. Posteriormente, se midió la absorbancia a 665 nm, 649 nm y 480 nm (UV-vis spectrophotometer SP-2000; Shangai, China), según lo descrito por Chappelle et al. (1992). Para el cálculo de la concentración de los distintos pigmentos, se utilizaron las siguientes fórmulas descriptas por Wellburn (1994):

$$\text{Chl a} = 12,19 \text{ OD}_{665} - 3,45 \text{ OD}_{649};$$

$$\text{Chl b} = 21,99 \text{ OD}_{649} - 5,32 \text{ OD}_{665};$$

$$\text{Carotenoides} = (1000 \text{ OD}_{480} - 2,14 \text{ Chl a} - 70,16 \text{ Chl b}) / 220 ;$$

$$\text{Total Chl} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

Para la determinación del contenido de antocianinas y compuestos fenólicos no antociánicos, al final de los experimentos, se muestrearon 5 discos de hoja de 1 cm² por planta (de hojas ubicadas frente a los módulos de LED) y se colocaron en 10 mL de

una solución metanol: HCl 1% (w/v) durante 48 h a -18°C. Luego, se cuantificó la absorbancia a 305 nm y 546 nm (UV-vis spectrophotometer SP-2000; Shanghai, China) según Berli et al. (2010). En ambos casos, los discos se colocaron en estufa a 60°C por 48 h para la determinación del peso seco. Se llevaron a cabo nueve réplicas para cada medición (n=9).

Determinaciones fisiológicas

Tasa de transpiración por unidad de área foliar (E): fue determinada en forma gravimétrica pesando las macetas cuya superficie fue cubierta con nylon (para evitar la evaporación del suelo) media hora antes y media hora después del medio día solar (intervalo de una hora) y fue expresada como $\text{Kg H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Estas mediciones fueron realizadas al final del primer experimento cuando las plantas alcanzaron dos meses de edad. Se llevaron a cabo nueve réplicas para cada medición (n=9).

Conductancia estomática (g_s): se midió en la cara abaxial de la tercer o cuarta hoja completamente expandida y expuesta al sol de cada planta (ubicadas frente a los módulos de LED) a intervalos de dos horas utilizando un porómetro (SC-1, Decagon Devices; Pullman, WA, USA). Esta medición se realizó cuando las plantas alcanzaron 1 ½ meses de edad en ambos experimentos y se expresó como $\text{mmol de H}_2\text{O m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Se llevaron a cabo nueve réplicas para cada medición (n=9).

Conductancia de la planta (K_{planta}): se define como: $K = \frac{E}{\Delta\Psi_{AF}}$ [$\text{kg s}^{-1} \text{MPa m}^{-2}$], donde E es la tasa de transpiración, $\Delta\Psi$ es la diferencia de potencial entre los extremos suelo-hojas y el AF total de la planta. Para realizar el cálculo de K, se tomaron mediciones del potencial hídrico pre-alba (Ψ_{PD}) y al medio día (Ψ_{MD}) con una cámara de presión (Modelo 4 MPa, Bio-control, Buenos Aires, Argentina) según Scholander et al. (1965) utilizando hojas ubicadas frente a los módulos de LED. Las mediciones de Ψ_{PD} y Ψ_{MD} fueron realizadas a las 3:00 a.m. y al medio día solar, respectivamente al final del primer experimento cuando las plantas alcanzaron dos meses de edad. Ψ_{PD} se usó para estimar el potencial agua del suelo. Se llevaron a cabo nueve réplicas para cada medición (n=9).

Conductividad hidráulica máxima del tallo (k): se define como: $k = \frac{Ql}{A_s \Delta \Psi}$ [$\text{kg s}^{-1} \text{m}^{-1} \text{MPa}^{-1}$], donde Q es el flujo de agua (Kg s^{-1}) por unidad de tiempo; l es la longitud del segmento (m); A_s es el área transversal del xilema activo (m^2) y $\Delta \Psi$ es la diferencia de potencial entre los extremos del segmento (MPa). La determinación de k se realizó según el protocolo descrito por Fernández and Gyenge (2010). Previo a realizar las determinaciones, se retiraron todas las hojas y feminelas de la planta y se sellaron los cortes con la gotita (LA GOTITA ®; ALKAPOL SA, Buenos Aires, Argentina). Luego, se cortó el tallo de la planta e inmediatamente se sumergió en agua para evitar embolismos. El tallo se conectó bajo el agua a un conductímetro que constaba de un depósito de agua presurizado, un barómetro y un sistema de mangueras transparentes. Previo a registrar la cantidad de agua (por pesada) que pasaba durante 1 min a una presión conocida, se hizo pasar agua durante 5 min a 1.7 bar para barrer posibles embolismos. Se calculó el promedio del diámetro de ambos extremos del tallo para calcular el área transversal del xilema activo. El diámetro del xilema se midió con un calibre. Estas mediciones se llevaron a cabo al finalizar ambos experimentos. Se realizaron nueve réplicas para cada medición (n=9).

Osmorregulación y respuesta elástica foliar: se construyeron curvas de presión-volumen (P-V) utilizando hojas completamente expandidas (enfrentadas a los módulos de LED). El día previo a realizar las determinaciones, se cortaron las hojas y se mantuvieron en oscuridad durante 12 h con sus peciolos sumergidos con agua destilada para que alcanzaran máxima turgencia. Se utilizó el método de transpiración libre y se registraron mediciones pareadas de Ψ y peso fresco de las hojas. Al finalizar las mediciones, las hojas se secaron en una estufa a 65°C durante 48 h para el cálculo del contenido relativo de agua (CRA) a diferentes valores de potencial agua según Tyree and Richter (1982). Para realizar el cálculo de CRA se utilizó la siguiente ecuación:

$$\text{CRA}_i = \frac{P_i - P_{\text{seco}}}{P_{\text{sat}} - P_{\text{seco}}}$$

donde CRA_i , es el contenido relativo de agua para un momento i en el que el peso de la muestra es P_i ; P_{sat} es el peso de la misma muestra en hidratación máxima y P_{seco} es

el peso de la misma muestra luego de haber sido secada en estufa a 65°C hasta peso constante.

Las curvas de Ψ vs. CRA fueron analizadas con el Programa de Análisis de Presión-Volumen desarrollado por Schulte and Hinckley (1985), el cual permite calcular el potencial osmótico a máxima turgencia (Ψ_s), potencial osmótico a pérdida de turgencia (Ψ_{stip}), contenido relativo de agua en el punto de pérdida de turgencia (CRA_{tip}), volumen de agua simplástica (V_s) y el módulo de elasticidad (E_{max}) a través del método de cuadrados mínimos no lineales. Las curvas de P-V se construyeron al final del primer experimento utilizando hojas de plantas de dos meses de edad. Se llevaron a cabo cinco réplicas para cada medición (n=5).

Determinaciones anatómicas

Densidad e índice estomáticos: se realizaron dos improntas epidérmicas de la cara abaxial de la tercera o cuarta hoja completamente expandida (ubicadas frente a los módulos de LED) con esmalte de uñas transparente, una a cada lado de la nervadura principal (derecha e izquierda). Los preparados fueron observados bajo microscopio (ECLIPSE 2000 Nikon, Tokyo, Japón) con una magnificación de 400X, se tomaron cinco fotos por impronta con una cámara digital (Micrometrics C318C, Beijing, China) acoplada al mismo. Para realizar el recuento de estomas y células epidérmicas se utilizó el software ImageJ (ImageJ, National Institutes of Health, USA). La densidad estomática se calculó como el cociente entre el número de estomas y el área del campo ($n^\circ \text{ mm}^{-2}$) y el índice estomático como el cociente entre el número de estomas y el número total de células epidérmicas. Estas determinaciones fueron realizadas al finalizar el primer experimento. Se llevaron a cabo nueve réplicas para cada medición (n=9).

Anatomía del tallo: al finalizar el segundo experimento, se guardaron porciones de tallos lignificados (entre el cuarto y el quinto nudo) de 3 cm de longitud en FAA (etanol 96% v/v: agua destilada: formaldehído: ácido acético, 50:35:10:5). Se realizaron cortes transversales del tallo de 16 a 18 μm de espesor con un micrótomó de deslizamiento

(Euromex Microscopen B.V., As Arnhem, Holland). Los cortes fueron teñidos con safranina (1 % w/v) y astra blue (0.5 % w/v), enjuagados con agua destilada y deshidratados con soluciones crecientes de etanol (50, 75 y 100 % v/v) y finalmente con xileno. Luego, fueron fijados en forma permanente sobre los portaobjetos con bálsamo de Canadá y secados en estufa a 65°C durante 24 h. Los cortes fueron observados con un microscopio óptico (DM2000, Leica Microsystems, Heerbrugg, Switzerland) con una magnificación de 25X. Se tomaron fotos con una cámara digital (DFC 320, Leica Microsystems) y se utilizó el software WinCELL Pro V 2004a (Regent Instruments Inc., Canada) para determinar el área transversal del xilema (AX), número (NV) y densidad (DV) de vasos, área total del lumen de los vasos (ATLV), promedio del área del lumen de los vasos (PALV) y diámetro radial y longitudinal del lumen de los vasos (PDLV: promedio del diámetro mayor del lumen de los vasos y PdLV: promedio de diámetro menor del lumen de los vasos). Se llevaron a cabo seis réplicas para cada medición de la variedad Syrah (n=6) y tres para la variedad Torrontés Riojano (n=3).

Análisis Estadísticos

Todos los análisis estadísticos fueron realizados con el programa Infostat 2011 (Di Rienzo et al. 2011). Los datos fueron analizados usando modelos lineales mixtos, considerando variedad (V), tratamiento (T) y su interacción (VxT) como factores fijos y los bloques (B) como factor aleatorio con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$. En los modelos seleccionados, se analizó la homocedasticidad y normalidad de los residuos en forma gráfica. La estructura de la varianza utilizada en los modelos fue determinada por comparación de los Criterios de Información Akaike y Bayesiano. Los modelos para el peso seco de la hoja, peso seco del tallo, biomasa total del tallo y concentraciones de hormonas (AG_3 , AG_1 y auxinas) fueron ajustados utilizando la función estructura de la varianza varIdent en la parte aleatoria del modelo. Se realizaron análisis de medidas repetidas en el tiempo de la longitud del tallo y el número de nudos considerando los días (D) y sus interacciones (TxD, DxV y VxTxD) como factores fijos adicionales. Las

funciones varIdent y corSymm fueron usadas para especificar una matriz de la covarianza sin estructura en las dos variables consideradas.

Se realizó un análisis de la potencia para determinar con qué N mínimo debíamos trabajar. Los cálculos de análisis de la potencia se realizaron con el programa GPower 3.1 (Faul et al. 2007). Para la estimación del tamaño de la muestra, se llevó a cabo un análisis estadístico de la potencia basado en datos de un estudio preliminar realizado con tomate (*Solanum lycopersicum* cv. Money Maker) que es una especie intolerante a la sombra que presenta SAS en respuesta a bajas R:RL. Se midió la longitud del tallo de plantas de un mes de edad (con ocho hojas completamente expandidas) creciendo bajo condiciones similares a las descritas en este estudio (N=28). Se compararon los tratamientos R:RL lateral ambiente (media = 26.79 y SD = 2.59) y baja R:RL lateral (media = 59 y SD = 1.49). El tamaño del efecto (ES) en este estudio (F-test, post-hoc, ANOVA de una vía con efectos fijos) fue $f = 7.63$, considerado extremadamente alto según el criterio de Cohen (1988). Considerando un $ES = 7.63$, con $\alpha = 0.05$, potencia = 0.80 y cuatro grupos; el tamaño de la muestra total proyectada que necesitábamos para nuestro diseño experimental fue $N = 5$ (F-test, a priori, ANOVA de efectos fijos con interacciones).

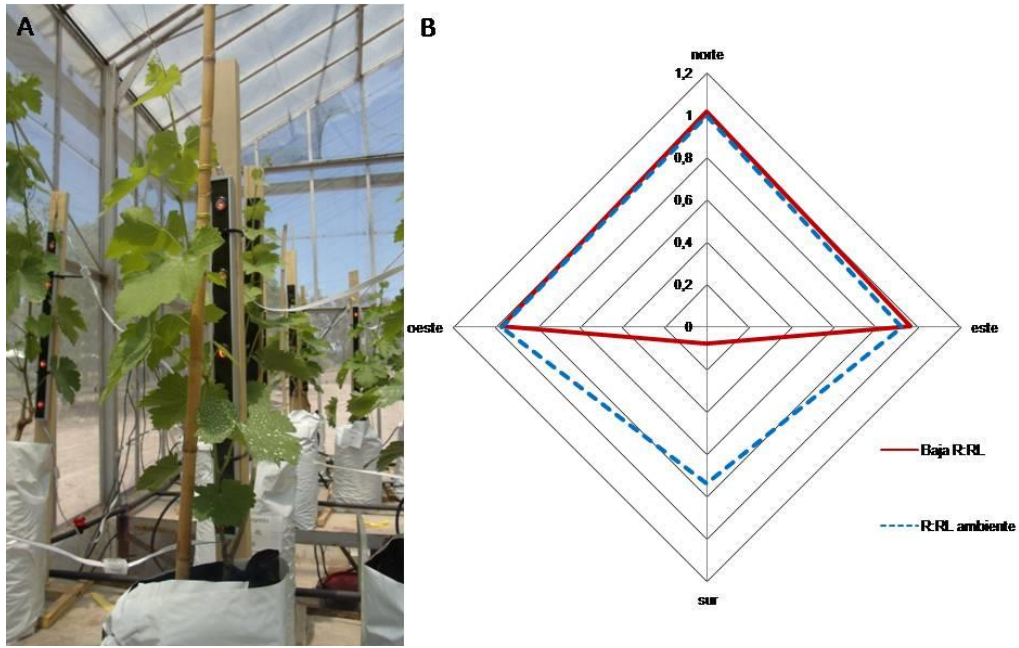


Figura 4. (A) Planta de vid con módulo de led que simula la presencia de plantas vecinas (baja R:RL lateral). B) Relación R:RL recibida por plantas en cada punto cardinal en ambos tratamientos lumínicos: baja R:RL lateral y R:RL lateral ambiental.

RESULTADOS

A partir de las determinaciones de la longitud del tallo podemos observar que las plantas de la variedad Syrah crecieron más que las plantas de la variedad Torrontés Riojano. Sin embargo, la longitud del tallo principal ni el número de nudos fueron afectados por los tratamientos (Fig. 5). El diámetro basal del tallo, la longitud de entrenudos y el número de feminelas tampoco fueron afectados por los tratamientos lumínicos. Asimismo, observamos que la variedad Torrontés presentó entrenudos más largos y menos número de feminelas que la variedad Syrah (Fig. 5, Tabla 1; los datos presentados corresponden al primer experimento). Las hojas mantuvieron una longitud de pecíolos y ángulos de inserción foliar similares. Asimismo, el AF total por planta, AF de cada hoja o AF individual, AF de feminelas y PFE en ambos tratamientos fue similar (Tabla 1). Para el caso del AF individual, se observaron valores mayores en la variedad Torrontés. La partición de fotoasimilados tampoco se vio afectada por los tratamientos ya que la biomasa total, la biomasa de hojas, del tallo principal y de feminelas no fueron afectadas por el tratamiento que simulaba la presencia de plantas vecinas (Tabla 1). Sin embargo, se observó diferencias significativas entre las variedades en el peso seco del tallo, siendo mayor en la variedad Syrah, al igual que la biomasa total del tallo en el tratamiento R:RL ambiente. En el segundo experimento que, fue de mayor duración, tampoco se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (datos no mostrados). A partir de estos resultados, es importante destacar que las plantas de vid de las variedades Syrah y Torrontés Riojano no presentaron ninguno de los marcadores morfológicos del SAS en respuesta a una baja R:RL lateral.

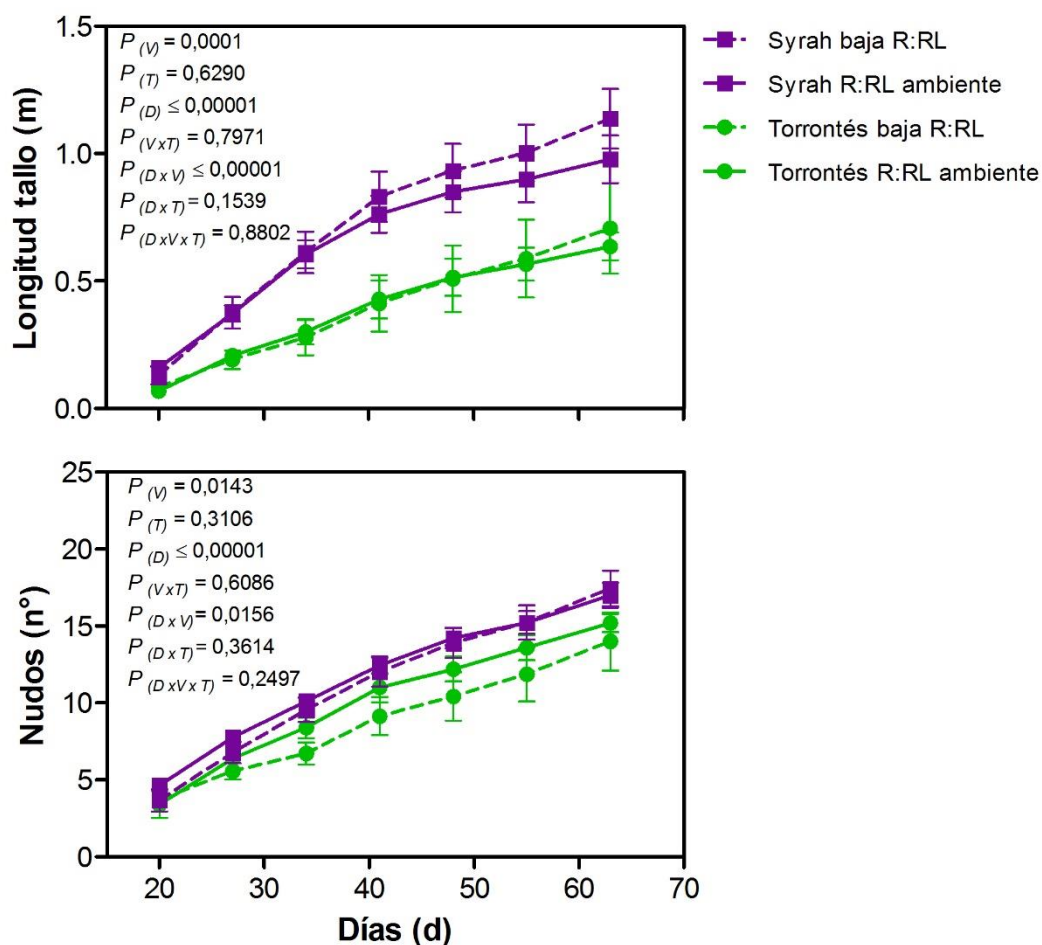


Figura 5. Crecimiento del tallo de plantas de vid sometidas a distintos tratamientos de R:RL lateral. (A) Longitud del tallo (m) y (B) número de nudos por tallo (n°) en el tiempo. Los valores representan la media \pm EE, n=9. P-valores: variedad ($P_{(V)}$), tratamiento ($P_{(T)}$), días de crecimiento ($P_{(D)}$), interacción variedad x tratamiento ($P_{(V \times T)}$), interacción días de crecimiento x variedad ($P_{(D \times V)}$), interacción días de crecimiento x tratamiento ($P_{(D \times T)}$), interacción días de crecimiento x variedad x tratamiento ($P_{(D \times V \times T)}$)

A pesar de que el tratamientos de bajas R:RL no indujo el crecimiento del tallo y tampoco de los peciolo, se observó un incremento en la concentración de hormonas de crecimiento que participan en la división y elongación celular. La variedad Torrontés Riojano presentó una mayor concentración de Ácido Giberélico 1 (GA_1), que la variedad Syrah. El tratamiento bajas R:RL incrementó la concentración de Ácido Giberélico 3 (GA_3) y GA_1 en Syrah y de Ácido Indol Acético (IAA) en Torrontés Riojano (Fig. 6, los datos presentados corresponden al primer experimento). Por otro lado, la concentración de Ácido Abscísico (ABA) fue similar en ambos tratamientos lumínicos (Fig. 6).

No se observaron variaciones en el contenido total de clorofilas, clorofilas a y b, carotenoides, relación clorofilas:carotenoides, y tampoco en la concentración de pigmentos fotoprotectores como antocianinas y compuestos fenólicos no antociánicos expresados por unidad de AF y por peso seco de hoja (Tabla 2; los datos mostrados corresponden al primer experimento). En el segundo experimento, que fue de mayor duración, tampoco se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (datos no mostrados). En función de estos resultados podemos decir que bajas R:RL no afectan la biosíntesis ni acumulación de pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores en las hojas de plantas de vid.

Tabla 1. Variables asociadas al crecimiento vegetativo de plantas de vid de dos meses de edad sometidas a diferentes R:RL lateral. Los valores presentados corresponden a la media \pm EE, n=9. *P*-valores: variedad ($P_{(V)}$), tratamiento ($P_{(T)}$), interacción variedad x tratamiento ($P_{(V \times T)}$). PFE, peso foliar específico.

Variables	Torrontés R:RL Ambiente	Torrontés Baja R:RL	Syrah R:RL Ambiente	Syrah Baja R:RL	$P_{(V)}$	$P_{(T)}$	$P_{(V \times T)}$
Longitud brote (cm)	63,60 \pm 5,47	70,71 \pm 17,73	97,78 \pm 9,30	113,67 \pm 11,70	0,0073	0,3787	0,7346
Número de nudos	15,20 \pm 0,58	14,00 \pm 1,88	17,00 \pm 0,80	17,44 \pm 1,14	0,0043	0,8719	0,5243
Longitud entrenudos (mm)	57,77 \pm 5,00	68,10 \pm 8,20	42,4 \pm 5,30	43,1 \pm 0,91	0,0176	0,4004	0,5275
Diámetro basal del tallo (mm)	3,93 \pm 0,23	4,43 \pm 0,30	4,26 \pm 0,32	4,60 \pm 0,32	0,5078	0,2363	0,8182
Feminelas por planta	4,40 \pm 0,98	4,29 \pm 1,23	7,56 \pm 0,63	7,44 \pm 0,69	0,0048	0,9090	0,9987
Longitud peciolo (mm)	7,05 \pm 0,38	7,43 \pm 0,55	6,83 \pm 0,26	7,32 \pm 0,26	0,6564	0,2589	0,8770
Ángulo de la hoja (grados)	55,53 \pm 4,86	56,86 \pm 2,43	58,71 \pm 2,34	57,15 \pm 2,02	0,4599	0,8969	0,6267
PFE (mg DW cm⁻²)	4,23 \pm 0,07	4,45 \pm 0,22	4,55 \pm 0,55	4,49 \pm 0,81	0,4846	0,8170	0,5604
Área foliar por planta (m²)	0,26 \pm 0,01	0,28 \pm 0,03	0,30 \pm 0,01	0,28 \pm 0,01	0,2945	0,6328	0,2878
Área foliar individual (cm²)	163,3 \pm 6,33	163,4 \pm 4,28	119,7 \pm 7,86	110,3 \pm 6,83	0,0001	0,4452	0,5462
Área foliar feminelas (cm²)	430,01 \pm 70	548,70 \pm 169	680,37 \pm 93	640,51 \pm 81	0,0931	0,8490	0,3987
Peso seco del tallo (g)	8,05 \pm 0,81	10,96 \pm 2,96	16,27 \pm 0,99	14,07 \pm 0,97	0,0004	0,4492	0,0837
Peso seco hojas (g)	13,44 \pm 0,76	16,96 \pm 4,32	15,72 \pm 0,90	13,81 \pm 0,76	0,9666	0,2532	0,1411
Peso seco feminelas (g)	2,67 \pm 0,56	3,62 \pm 0,61	4,09 \pm 0,53	3,75 \pm 0,46	0,1476	0,8216	0,2676
Biomasa total tallo (g)	24,16 \pm 1,99	32,20 \pm 6,67	36,08 \pm 1,88	31,62 \pm 1,92	0,0454	0,4070	0,0594

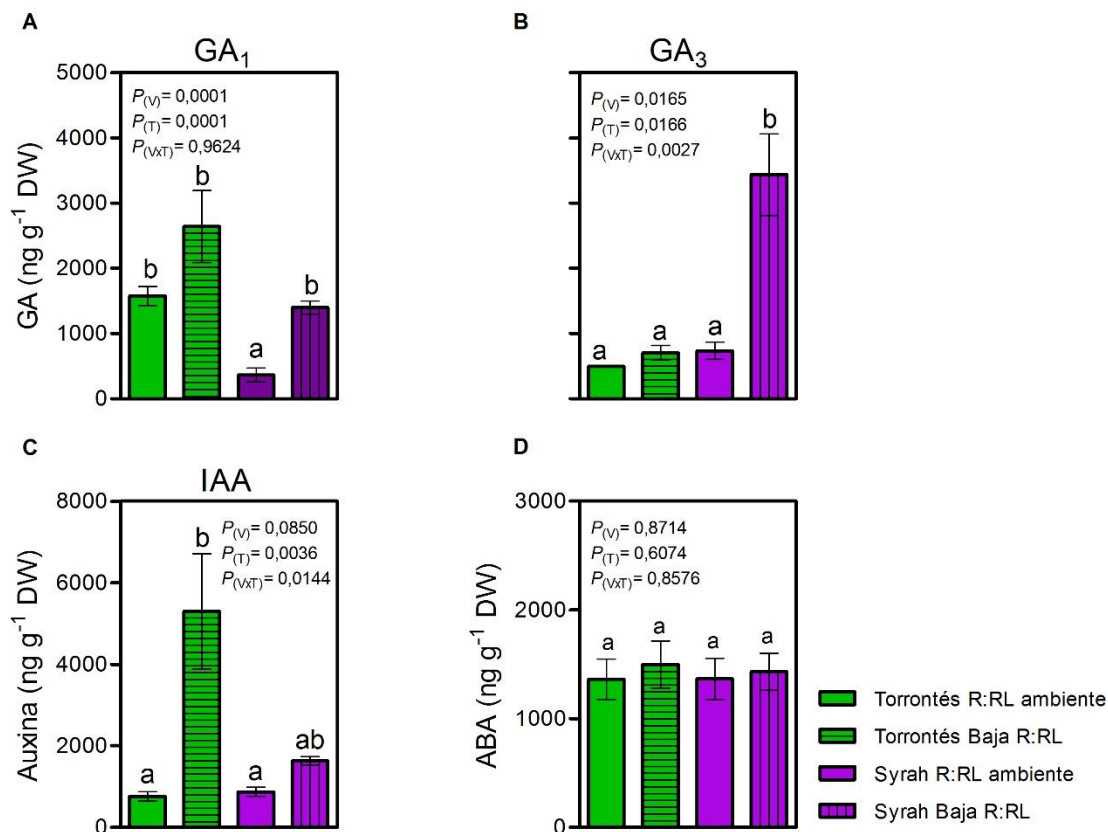


Figura 6. Concentración de hormonas del crecimiento en hojas de plantas de vid de dos meses de edad sometidas a diferentes R:RL lateral. (A) Ácido Giberélico 1, (B) Ácido Giberélico 3, (C) Ácido Indol Acético y (D) Ácido Abscísico. Los valores presentados corresponden a la media \pm EE, n=5.

Tabla 2. Pigmentos fotosintéticos y fotoprotectores y variables morfológicas asociados al proceso fotosintético de plantas de vid sometidas a distintos tratamientos lumínicos. Chl a: clorofila a; Chl b: clorofila b; TChl: total de clorofilas; Car: carotenoides; UVAC: compuestos que absorben UV ($OD_{305\text{ nm}}$); antocianas ($OD_{546\text{ nm}}$); DE: densidad estomática. Los valores representan la media \pm EE, N=9. *P*-valores: variedad ($P_{(V)}$), tratamiento ($P_{(T)}$), interacción variedad x tratamiento ($P_{(V \times T)}$).

Variables	Torrentés R:RL Ambiente	Torrentés Baja R:RL	Syrah R:RL Ambiente	Syrah Baja R:RL	$P_{(V)}$	$P_{(T)}$	$P_{(V \times T)}$
Chl a ($\mu\text{g mg}^{-1}$)	1,24 \pm 0,13	1,25 \pm 0,07	1,09 \pm 0,06	1,26 \pm 0,15	0,5049	0,3594	0,4947
Chl b ($\mu\text{g mg}^{-1}$)	0,48 \pm 0,05	0,50 \pm 0,03	0,42 \pm 0,03	0,48 \pm 0,06	0,3860	0,2900	0,5853
Total Chl ($\mu\text{g mg}^{-1}$)	1,72 \pm 0,18	1,75 \pm 0,10	1,50 \pm 0,09	1,74 \pm 0,21	0,4690	0,3382	0,5186
Car ($\mu\text{g mg}^{-1}$)	0,25 \pm 0,02	0,25 \pm 0,01	0,23 \pm 0,01	0,25 \pm 0,02	0,5016	0,5056	0,6938
Chl a (ng mm^{-2})	49,35 \pm 5,26	50,18 \pm 2,09	45,78 \pm 1,64	52,64 \pm 3,71	0,8458	0,1720	0,3632
Chl b (ng mm^{-2})	19,03 \pm 2,10	19,97 \pm 0,87	17,54 \pm 0,72	20,33 \pm 1,48	0,6260	0,1234	0,4887
Total Chl (ng mm^{-2})	68,38 \pm 7,35	70,16 \pm 2,93	63,32 \pm 2,35	72,97 \pm 5,17	0,7794	0,1553	0,3955
Car (ng mm^{-2})	9,90 \pm 0,85	10,14 \pm 0,26	9,70 \pm 0,31	10,47 \pm 0,49	0,9186	0,2396	0,5842
TChl : Car	6,86 \pm 0,19	6,91 \pm 0,18	6,53 \pm 0,15	6,91 \pm 0,20	0,3711	0,1902	0,3989
UVAC ($OD_{305\text{ nm}} \text{ mg}^{-1}$)	0,33 \pm 0,03	0,28 \pm 0,05	0,29 \pm 0,03	0,35 \pm 0,03	0,4364	0,5229	0,0873
UVAC ($OD_{305\text{ nm}} \text{ cm}^{-2}$)	1,11 \pm 0,10	0,94 \pm 0,11	1,02 \pm 0,08	1,20 \pm 0,11	0,5337	0,5163	0,2688
Antocianas ($OD_{546\text{ nm}} \text{ mg}^{-1}$)	0,02 \pm 2 E-3	0,02 \pm 3 E-3	0,02 \pm 2 E-3	0,02 \pm 2 E-3	0,2133	0,5719	0,0556
Antocianas ($OD_{546\text{ nm}} \text{ cm}^{-2}$)	0,07 \pm 4 E-3	0,07 \pm 0,01	0,07 \pm 4 E-3	0,08 \pm 0,01	0,2318	0,5113	0,1873
DE (estomas mm^{-2})	228,5 \pm 12	193,1 \pm 12	152,6 \pm 8	156,0 \pm 10	0,0001	0,2720	0,0862
IE (índice estomático)	0,09 \pm 0,01	0,08 \pm 2 E-3	0,06 \pm 3E-3	0,06 \pm 2E-3	0,0001	0,9669	0,3561

Podemos observar que las determinaciones fisiológicas tampoco fueron afectadas por bajas R:RL. Tanto la transpiración, la conductividad hidráulica del tallo y la capacidad de transporte de agua de la planta entera (K_{planta}) no presentaron diferencias entre los tratamientos (Tabla 3; los datos mostrados corresponden al primer experimento). Tampoco se vio afectada por los tratamientos lumínicos la marcha diaria de conductancia estomática (aunque en la Tabla 3 sólo se muestran los datos correspondientes al medio día solar) ni la densidad (DE) e índice estomáticos (IE) (Tabla 2). La variedad Torrontés Riojano presentó mayor DE e IE que Syrah (aunque esto no se observó entre los tratamientos). En el segundo experimento tampoco se observaron diferencias significativas entre los tratamientos (datos no mostrados). En cuanto a la anatomía del xilema, el área transversal (AX) del mismo, el número de vasos total (NV), el número de conductos por área del xilema (NCAX) y el promedio del radio menor del lumen de los vasos (PdLV) fueron similares en ambos tratamientos. En el caso del NV, la variedad Torrontés presentó mayor número que Syrah. El promedio del diámetro mayor del lumen de los vasos (PDLV) fue mayor en el tratamiento R:RL ambiente que en baja R:RL, en ambas variedades (la diferencia fue de 3 y 5 μm respectivamente; $P_{(T)} = 0.0394$). Sin embargo, este cambio en dimensión no afectó el promedio del área del lumen de los vasos (PALV) (Tabla 4; los datos mostrados corresponden al segundo experimento). Asimismo, la conductividad hidráulica máxima del tallo no resultó ser significativamente diferente en respuesta a los tratamientos aplicados. Esto significa que el uso de agua, transporte y arquitectura hidráulica de ambas variedades no fueron alteradas por bajas R:RL laterales. Además, ninguno de los parámetros de las curvas de P-V (Ψ_s , Ψ_{stlp} , RWC_{tlp} , V_s and E_{max}) fueron afectados por la simulación de plantas vecinas (Tabla 5; datos correspondientes al primer experimento), indicando que los tratamientos lumínicos no modificaron la osmorregulación ni la elasticidad de la pared celular de las hojas de las plantas.

Tabla 3. Parámetros fisiológicos de plantas de vid de dos meses de edad creciendo bajo diferentes R:RL lateral. Ψ_{PD} : potencial agua-pre amanecer, Ψ_{MD} : potencial agua-medio día, E: tasa de transpiración, K_{planta} : conductancia de la planta, g_s : conductancia estomática y $k_{s\ max}$: conductividad hidráulica máxima. Media \pm EE, n=9. P-valores: variedad ($P_{(V)}$), tratamiento ($P_{(T)}$), bloque ($P_{(B)}$), interacción variedad x tratamiento ($P_{(V \times T)}$).

Variables	Torrontés R:RL Ambiente	Torrontés Baja R:RL	Syrah R:RL Ambiente	Syrah Baja R:RL	$P_{(V)}$	$P_{(T)}$	$P_{(V \times T)}$
Ψ_{PD} (MPa)	-0,43 \pm 0,02	-0,43 \pm 0,02	-0,37 \pm 0,03	-0,34 \pm 0,04	0,0540	0,5172	0,6014
Ψ_{MD} (MPa)	-0,82 \pm 0,03	-0,80 \pm 0,02	-0,80 \pm 0,02	-0,77 \pm 0,03	0,3918	0,2635	0,9203
E (kg H₂O m⁻² s⁻¹)	2,8E-5 \pm 4E-6	3,3E-5 \pm 2E-6	3,5E-5 \pm 6E-6	1,8E-5 \pm 5E-6	0,7083	0,5837	0,3452
K_{planta} (kg s⁻¹ MPa⁻¹ m⁻²)	7,3E-5 \pm 1E-5	1E-4 \pm 1E-5	7,6E-5 \pm 1E-5	3,9E-5 \pm 9E-6	0,2309	0,9510	0,0605
g_s (mmol m⁻² s⁻¹)	481,7 \pm 33	448,1 \pm 49	430,6 \pm 47	431,0 \pm 37	0,4063	0,7872	0,7137
$k_{s\ max}$ (kg s⁻¹ m⁻¹ MPa⁻¹)	5,97 \pm 0,50	7,11 \pm 0,48	9,63 \pm 0,67	8,72 \pm 0,76	0,0035	0,8551	0,1502

Tabla 4. Anatomía del tallo de plantas de vid de cuatro meses de edad sometidas a diferentes R:RL lateral. AX: área transversal del xilema, NV: número total de vasos, DV: densidad de vasos, ATLV: área total del lumen de los vasos, PALV: promedio del área del lumen de los vasos, PDLV: promedio del diámetro mayor del lumen de los vasos, PdLV: promedio del diámetro menor del lumen de los vasos. Los valores presentados indican la media \pm EE, Syrah: n=6 y Torrontés: n=3. *P*-valores: variedad ($P_{(V)}$), tratamiento ($P_{(T)}$), interacción variedad x tratamiento ($P_{(V \times T)}$).

Variables	Torrontés R:RL Ambiente	Torrontés Baja R:RL	Syrah R:RL Ambiente	Syrah Baja R:RL	$P_{(V)}$	$P_{(T)}$	$P_{(V \times T)}$
AX (mm²)	32,28 \pm 1,19	30,35 \pm 1,84	28,96 \pm 2,61	29,55 \pm 1,81	0,3990	0,8950	0,5962
NV	1379 \pm 27	1489 \pm 69	1253 \pm 78	1296 \pm 58	0,0238	0,2538	0,3697
DV (vasos mm⁻²)	89,06 \pm 6,31	87,05 \pm 6,10	75,22 \pm 1,29	85,84 \pm 5,40	0,2135	0,2540	0,2605
ATLV (mm²)	15,42 \pm 1,2	13,10 \pm 1,2	29,50 \pm 16,7	14,42 \pm 0,9	0,5261	0,3282	0,5633
PALV (μm²)	2172 \pm 222	1966 \pm 216	2601 \pm 49	2220 \pm 128	0,0613	0,0563	0,5768
PDLV (μm)	42,62 \pm 1,8	39,67 \pm 2	46,18 \pm 0,6	41,88 \pm 1,5	0,1094	0,0297	0,6568
PdLV (μm)	40,65 \pm 2,3	39,25 \pm 2,6	46,64 \pm 0,6	41,43 \pm 1,7	0,0652	0,0557	0,3221

Tabla 5. Parámetros de las curvas de presión-volumen en hojas de vid de dos meses de edad creciendo bajo diferentes R:RL lateral. Ψ_s , potencial osmótico a máxima turgencia; $\Psi_{s_{tip}}$, potencial osmótico a pérdida de turgencia; (CRA_{tip}), contenido relativo de agua en el punto de pérdida de turgencia; (V_s), volumen de agua simplástica; (E_{max}), módulo de elasticidad. Los valores son la media \pm EE, n=5. *P*-valores: variedad ($P_{(V)}$), tratamiento ($P_{(T)}$), interacción variedad x tratamiento ($P_{(V \times T)}$).

Variables	Torrontés R:RL Ambiente	Torrontés Baja R:RL	Syrah R:RL Ambiente	Syrah Baja R:RL	$P_{(V)}$	$P_{(T)}$	$P_{(V \times T)}$
Ψ_s (MPa)	-1,38 \pm 0,09	-1,35 \pm 0,07	-1,42 \pm 0,04	-1,38 \pm 0,12	0,6802	0,6861	0,4512
$\Psi_{s_{tip}}$ (MPa)	-1,76 \pm 0,06	-1,73 \pm 0,10	-1,81 \pm 0,06	-1,97 \pm 0,13	0,6351	0,2209	0,9875
CRA_{tip} (%)	0,87 \pm 0,01	0,88 \pm 0,01	0,83 \pm 0,02	0,87 \pm 0,01	0,0751	0,0547	0,3248
V_s	0,63 \pm 0,07	0,58 \pm 0,05	0,67 \pm 0,07	0,69 \pm 0,12	0,8696	0,2760	0,4515
E_{max}	-16,88 \pm 1,78	-14,83 \pm 0,72	-17,10 \pm 2,88	-13,72 \pm 1,33	0,8329	0,1398	0,7801

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El presente trabajo demuestra que las variedades Syrah y Torrontés Riojano de *Vitis vinifera* son insensibles a variaciones en la R:RL. Las plantas de vid sometidas a distintos tratamientos lumínicos (baja R:RL lateral y R:RL ambiente), que indican la presencia y ausencia de plantas vecinas respectivamente, no presentaron cambios morfológicos ni fisiológicos en respuesta al ambiente lumínico. En relación a su morfología, dado que la longitud del tallo, entrenudos y pecíolos, al igual que el número de nudos y feminelas, el área foliar y biomasa no se vieron afectados por los tratamientos, se acepta la hipótesis 1 que enuncia que bajas R:RL inducen de manera leve o nula los marcadores morfológicos del SAS. A nivel morfológico, existen algunas diferencias significativas entre las variedades (pero no entre los tratamientos), dadas posiblemente por poseer tasas de crecimiento intrínsecas diferentes o diferencias en la arquitectura de la planta, como es el caso de la longitud del tallo, número de nudos, longitud de entrenudos, feminelas por planta, AF individual, peso seco del tallo, biomasa total del tallo, DE e IE. Basándonos en estos resultados y antecedentes previos en la especie que indican que *Vitis vinifera* posee una elevada plasticidad de aclimatación a la intensidad de luz y que en condiciones de bajos niveles de PAR, no modifica la longitud del tallo, el número de feminelas, entrenudos, hojas y nudos; además de que bajos niveles de intensidad lumínica incrementan su rendimiento cuántico (ϕ) y disminuye su punto de compensación lumínico (PCL) y su tasa de respiración en oscuridad (R_d) (Buttrose 1968; 1969; Cartechini and Palliotti 1995; Palliotti et al. 2000; Smart et al. 1988); podríamos sugerir que la vid se comportaría como una especie tolerante al sombreado pero que presenta a su vez una alta plasticidad fenotípica a la intensidad de luz. La tolerancia a la sombra está generalmente asociada al ambiente natural en que las especies vegetales completan su ciclo de vida, aquellas que se desarrollan en ambientes sombreados por estratos más altos de vegetación presentan mecanismos que les permiten adaptarse a estas condiciones; mientras que especies de ambientes abiertos son generalmente intolerantes a la sombra y responden a bajas relaciones R:RL desencadenando las

respuestas del SAS (Gilbert et al. 2001; Morgan and Smith 1979). La vid crece naturalmente en bosques caducifolios y semicaducifolios del Mediterráneo, emerge en el sotobosque hasta que luego de unos años, alcanza la copa de los árboles (Keller 2010). Esta capacidad de la vid de desarrollarse en ambientes de luz contrastantes podría explicar su alta plasticidad de aclimatación a la intensidad de luz.

A pesar de que se cuantificó un incremento en hojas en la concentración de hormonas involucradas en procesos de división y elongación celular (auxinas y giberelinas) en respuesta al tratamiento de baja R:RL lateral, las plantas de vid no presentaron cambios morfológicos asociados a este incremento hormonal (no aumentaron el crecimiento del tallo y/o pecíolos, es decir, no presentaron rasgos morfológicos característicos del SAS) (Casal 2013; Pierik and de Wit 2013). Este desacople entre la biosíntesis y acumulación de hormonas del crecimiento y las respuestas morfológicas que éstas generan, nos hace suponer que existe una interrupción en la vía de señalización. Es decir, que la cadena de transducción de señales que va desde la biosíntesis de hormonas y las distintas señales que se llevan a cabo hasta llegar a la respuesta morfológica o fisiológica efectiva podría estar interrumpida en algún punto, ya sea porque alguno de los elementos de esta cadena no se encuentra presente o porque posee alguna mutación que no permite su reconocimiento. Resultados similares se observaron en ecotipos sensibles (ecotipos de pradera) y no sensibles (ecotipos alpinos) de *Stellaria longipes* (planta herbácea, perenne, rizomatosa de América del norte) a variaciones de la R:RL, cuando fueron sometidos a una baja R:RL. En estas condiciones de luz, los niveles de GA₁ aumentaron en ambos ecotipos pero mostraron diferentes niveles de GA₈, el producto inactivo de la β-hidroxilación de GA₁. En los ecotipos alpinos además de los elevados niveles de GA₁ se encontraron niveles altos de GA₈, lo que podría explicar la falta de elongación de los tallos en respuesta a la baja R:RL (Kurepin and Pharis 2014).

En estudios previos, en los que se hicieron crecer plantas de vid de distintas variedades bajo distintos niveles de PAR, se observó que a menores niveles de PAR la concentración de clorofilas y carotenos aumentaba mientras que las antocianinas y los compuestos fenólicos no antociánicos disminuían (Cartechini and Palliotti 1995; Smart et

al. 1988). En nuestras condiciones experimentales, no observamos variaciones en la concentración de clorofilas ni de pigmentos fotoprotectores. Esto nos permite concluir que bajas R:RL no afectan la concentración de compuestos asociados a la fotosíntesis y la fotoprotección de los tejidos. En función de esto, nos encontramos en condiciones de rechazar la hipótesis 2. Teniendo en cuenta nuestros resultados en los que las plantas de vid no modificaron las concentraciones de los pigmentos fotosintéticos ni fotoprotectores al ser sometidas a bajas R:RL pero sí lo hicieron con bajos niveles de PAR, sugerimos que señal que desencadena esta respuesta podrían ser bajos niveles de luz azul percibidas por criptocromos y/o fototropinas.

En plantas de vid crecidas con bajos niveles de PAR, Cartechini and Palliotti (1995) como también Schultz and Matthews (1993), hallaron alteraciones en algunos parámetros hídricos relacionados a la tolerancia a la sequía: menor tasa de transpiración, gran reducción en la conductividad hidráulica de tallos, pecíolos y láminas, menor área foliar, menor conductancia estomática, entre otros. En contraste, en nuestros experimentos las relaciones hídricas de las plantas de vid no se vieron afectadas por la simulación de plantas vecinas. Bajas R:RL laterales no produjeron alteraciones en transpiración, conductividad hidráulica del tallo, capacidad de transporte de la planta entera, conductancia estomática, ni en la densidad e índice estomático. Asimismo, la anatomía del tallo no presentó alteraciones significativas (área transversal del xilema, número de vasos, etc) como tampoco la osmorregulación de la hoja ni sus propiedades elásticas. Estos resultados, nos permiten rechazar la hipótesis 3 ya que bajas R:RL laterales no modifican la arquitectura hidráulica de las plantas.

Todos estos resultados en conjunto nos permiten concluir que a pesar de que las variedades de *Vitis vinifera* L. Syrah y Torrontés riojano presentaron incrementos en las concentraciones de hormonas de crecimiento al ser sometidas a distintos tratamientos lumínicos (baja R:RL lateral y R:RL ambiente), no se observaron otros cambios morfológicos, bioquímicos ni fisiológicos en respuesta al ambiente lumínico. Debido a esto podemos decir que estas variedades de vid no son sensibles a la radiación RL o a la presencia de plantas vecinas. Sin embargo, no se conoce qué porción del espectro

lumínico desencadena su capacidad de adaptarse a la sombra y de remodelar su arquitectura hidráulica en estas condiciones (Schultz and Matthews 1993). En condiciones de sombra, la luz que atraviesa el dosel vegetal está compuesta mayormente por luz roja y azul, por lo cual no solo disminuye la relación R:RL sino que también se reduce la radiación UV-B y así como los niveles de luz azul. Es por esto que ante los antecedentes presentados y los resultados obtenidos en nuestro trabajo, hipotetizamos que las respuestas de la vid a la sombra serían desencadenadas por disminuciones de los niveles de luz azul y por lo tanto serían más sensibles a variaciones en este rango del espectro que en el rojo lejano. La disminución en los niveles de luz azul sería potencialmente percibida mediante criptocromos y/o fototropinas. De acuerdo con esto, Boccalandro et al. (2012) encontraron que plantas mutantes de fototropinas y de criptocromos presentan menor conductancia estomática y transpiración respecto del wild type bajo radiación solar plena. Asimismo, González et al. (2015) encontraron aumentos en los niveles de compuestos fenólicos de las bayas al suplementarlas con luz azul. Estos resultados demuestran que *Vitis vinifera* es sensible a variaciones en esta porción del espectro.

El ambiente lumínico simulado en este experimento, es decir, un alto nivel de PAR por encima del canopeo ($700 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$) y una baja R:RL lateral (0.07 ± 0.003), podría ser similar al ambiente lumínico que percibirían tallos creciendo en un sistema de conducción VSP (acrónimo derivado del inglés Vertical Shoot Positioning). Dado que el ambiente lumínico es afectado tanto por decisiones de cultivo que van desde el sistema de conducción elegido, la orientación de hileras y densidad de plantación hasta las distintas prácticas culturales (poda invernal, desbrote, raleo de brotes, despunte, deshoje, reposicionamiento de los brotes, etc.) que modifican la cantidad y la calidad de luz dentro del canopeo y en el interfilar, sería preciso revisar las densidades de plantación que actualmente se utilizan y prácticas culturales con el fin de aumentar los rendimientos de uva por superficie cultivada. En relación a esto, creemos que el hecho de que la vid no presente SAS es de gran interés debido a que, si se aumentara la densidad de plantación, las plantas de vid no desencadenarían las respuestas típicas del SAS a las señales de luz asociadas (bajas R:RL laterales) y por lo tanto no destinarían los recursos hacia la

elongación de la planta en busca de una mayor interceptación lumínica, con lo cual éstos estarían disponibles para otros destinos como por ejemplo los frutos. De hecho, en la revolución verde (década del '90) se utilizaron variedades de maíz que tuvieran aplacado el SAS y eran, por consiguiente, variedades enanas más productivas. Dado que las plantas de vid no presentan respuestas morfológicas frente a variaciones en la R:RL lateral pero sabemos que sí presentan la capacidad de aclimatarse a bajos niveles de PAR (Cartechini and Palliotti 1995), es necesario analizar las decisiones de manejo de cultivo que modifican el crecimiento vegetativo con el fin de mantener una elevada calidad del fruto, dada entre otros factores por la adecuada exposición de estos al sol (Kliewer and Dokoozlian 2005).

Los resultados obtenidos en esta tesina amplían el conocimiento de las respuestas de la vid a la calidad de la luz ya que no se conocían los efectos de la radiación RL en esta especie a nivel de planta entera. Asimismo, motivan a continuar con los estudios en relación a la elevada aclimatación a la sombra de *Vitis vinifera* y su posible capacidad de tolerar la sombra en vez de evadirla para dilucidar qué porción del espectro de radiación desencadena esta aclimatación.

REFERENCIAS

- Alonso R, Berli FJ, Piccoli P, Bottini R (2016) Ultraviolet-B radiation, water deficit and abscisic acid: a review of independent and interactive effects on grapevines. *Theoretical and Experimental Plant Physiology*: 1-12
- Ballaré C, Sanchez R, Scopel AL, Casal J, Ghersa C (1987) Early detection of neighbour plants by phytochrome perception of spectral changes in reflected sunlight. *Plant, Cell & Environment* 10: 551-557
- Ballaré CL (2014) Light regulation of plant defense. *Annual review of plant biology* 65: 335-363
- Berli FJ, Alonso R, Bressan-Smith R, Bottini R (2013) UV-B impairs growth and gas exchange in grapevines grown in high altitude. *Physiologia plantarum* 149: 127-140
- Berli FJ, Fanzone M, Piccoli P, Bottini R (2011) Solar UV-B and ABA are involved in phenol metabolism of *Vitis vinifera* L. increasing biosynthesis of berry skin polyphenols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59: 4874-4884
- Berli FJ, Moreno D, Piccoli P, HESPANHOL-VIANA L, Silva MF, BRESSAN-SMITH R, Cavagnaro JB, 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: 1-10
- Boccalandro HE, Giordano CV, Ploschuk EL, Piccoli PN, Bottini R, Casal JJ (2012) Phototropins but not cryptochromes mediate the blue light-specific promotion of stomatal conductance, while both enhance photosynthesis and transpiration under full sunlight. *Plant physiology* 158: 1475-1484
- Boccalandro HE, Ploschuk EL, Yanovsky MJ, Sánchez RA, Gatz C, Casal JJ (2003) Increased phytochrome B alleviates density effects on tuber yield of field potato crops. *Plant physiology* 133: 1539-1546
- Boccalandro HE, Rugnone ML, Moreno JE, Ploschuk EL, Serna L, Yanovsky MJ, Casal JJ (2009) Phytochrome B enhances photosynthesis at the expense of water-use efficiency in *Arabidopsis*. *Plant physiology* 150: 1083-1092
- Buttrose M (1968) Some effects of light intensity and temperature on dry weight and shoot growth of grape-vine. *Annals of botany* 32: 753-765
- Buttrose M (1969) under controlled temperature and light intensity. *Vitis* 8: 280-285
- Cartechini A, Palliotti A (1995) Effect of shading on vine morphology and productivity and leaf gas exchange characteristics in grapevines in the field. *American Journal of Enology and Viticulture* 46: 227-234
- Casal J, Ballaré C, Tourn M, Sánchez R (1994) Anatomy, growth and survival of a long-hypocotyl mutant of *Cucumis sativus* deficient in phytochrome B. *Annals of botany* 73: 569-575
- Casal JJ (2012) Shade avoidance. *The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists* 10

Casal JJ (2013) Photoreceptor signaling networks in plant responses to shade. Annual review of plant biology 64: 403-427

Casal JJ, Luccioni LG, Oliverio KA, Boccalandro HE (2003) Light, phytochrome signalling and photomorphogenesis in Arabidopsis. Photochemical & Photobiological Sciences 2: 625-636

Chappelle EW, Kim MS, McMurtrey JE (1992) Ratio analysis of reflectance spectra (RARS): an algorithm for the remote estimation of the concentrations of chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids in soybean leaves. Remote Sensing of Environment 39: 239-247

Christie JM (2007) Phototropin blue-light receptors. Annu. Rev. Plant Biol. 58: 21-45

Christie JM, Blackwood L, Petersen J, Sullivan S (2014) Plant flavoprotein photoreceptors. Plant and Cell Physiology: pcu196

Cohen J (1988) Statistical Power for the Behavioural Sciences. 465 p. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum Associates, Publishers

Davey MP, Susanti NI, Wargent JJ, Findlay JE, Quick WP, Paul ND, Jenkins GI (2012) The UV-B photoreceptor UVR8 promotes photosynthetic efficiency in Arabidopsis thaliana exposed to elevated levels of UV-B. Photosynthesis research 114: 121-131

De Simone S, Oka Y, Inoue Y (2000) Effect of light on root hair formation in *Arabidopsis thaliana* phytochrome-deficient mutants. Journal of Plant Research 113: 63-69

de Wit M, Pierik R (2016) Photomorphogenesis and photoreceptors. Canopy Photosynthesis: From Basics to Applications. Springer, pp 171-186

Demotes-Mainard S, Péron T, Corot A, Bertheloot J, Le Gourrierec J, Pelleschi-Travier S, Crespel L, Morel P, Huché-Thélier L, Boumaza R, Vian A, Guérin V, Leduc N, Sakr S (2016) Plant responses to red and far-red lights, applications in horticulture. Environmental and Experimental Botany 121: 4-21

Di Rienzo J, Casanoves F, Balzarini M, Gonzalez L, Tablada M, Robledo yC (2011) InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Dokoozlian N, Kliewer W (1995a) The light environment within grapevine canopies. I. Description and seasonal changes during fruit development. American Journal of Enology and Viticulture 46: 209-218

Dokoozlian N, Kliewer W (1995b) The light environment within grapevine canopies. II. Influence of leaf area density on fruit zone light environment and some canopy assessment parameters. American Journal of Enology and Viticulture 46: 219-226

Downey MO, Dokoozlian NK, Krstic MP (2006) Cultural practice and environmental impacts on the flavonoid composition of grapes and wine: a review of recent research. American Journal of Enology and Viticulture 57: 257-268

Faul F, Erdfelder E, Lang A-G, Buchner A (2007) G* Power 3: A flexible statistical power analysis program for the social, behavioral, and biomedical sciences. Behavior research methods 39: 175-191

Fernández ME, Gyenge JE (2010) Técnicas en medición en ecofisiología vegetal: conceptos y procedimientos. INTA

Franklin KA, Quail PH (2010) Phytochrome functions in Arabidopsis development. Journal of experimental botany 61: 11-24

Gilbert IR, Jarvis PG, Smith H (2001) Proximity signal and shade avoidance differences between early and late successional trees. *Nature* 411: 792-795

Gladstone E, Dokoozlian NK (2015) Influence of leaf area density and trellis/training system on the light microclimate within grapevine canopies. *VITIS-Journal of Grapevine Research* 42: 123

Gommers CM, Visser EJ, St Onge KR, Voeselek LA, Pierik R (2013) Shade tolerance: when growing tall is not an option. *Trends in plant science* 18: 65-71

González CV, Fanzone ML, Cortés LE, Bottini R, Lijavetzky DC, Ballaré CL, Boccalandro HE (2015) Fruit-localized photoreceptors increase phenolic compounds in berry skins of field-grown *Vitis vinifera* L. cv. Malbec. *Phytochemistry* 110: 46-57

González CV, Ibarra SE, Piccoli PN, Botto JF, Boccalandro HE (2012) Phytochrome B increases drought tolerance by enhancing ABA sensitivity in *Arabidopsis thaliana*. *Plant, Cell & Environment* 35: 1958-1968

INV (2014) Estadísticas. www.inv.gov.ar

Keller M (2010) The science of grapevines. Agronomy and physiology. Academic Press: San Diego

Kendrick RE, Kronenberg GH (2012) Photomorphogenesis in plants. Springer Science & Business Media

Kliebenstein DJ, Lim JE, Landry LG, Last RL (2002) *Arabidopsis* UVR8 regulates ultraviolet-B signal transduction and tolerance and contains sequence similarity to human regulator of chromatin condensation 1. *Plant physiology* 130: 234-243

Kliewer WM, Dokoozlian NK (2005) Leaf area/crop weight ratios of grapevines: influence on fruit composition and wine quality. *American Journal of Enology and Viticulture* 56: 170-181

Kong S-G, Okajima K (2016) Diverse photoreceptors and light responses in plants. *Journal of Plant Research* 129: 111-114

Kurepin LV, Pharis RP (2014) Light signaling and the phytohormonal regulation of shoot growth. *Plant Science* 229: 280-289

Liu J, Zhang F, Zhou J, Chen F, Wang B, Xie X (2012) Phytochrome B control of total leaf area and stomatal density affects drought tolerance in rice. *Plant Molecular Biology* 78: 289-300

Martínez de Toda F (1991) *Biología de la vid. Fundamentos biológicos de la viticultura*. Mundi-Prensa, Madrid

Masciarelli O, Llanes A, Luna V (2014) A new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. *Microbiological Research* 169: 609-615

Morgan DC, Smith H (1979) A systematic relationship between phytochrome-controlled development and species habitat, for plant grown in simulated natural radiation. *Planta* 145: 253-258

OIV (2011) *Vine and Wine Outlook* www.oiv.int

Pallioti A, Cartechini A, Ferranti F (2000) Morpho-anatomical and physiological characteristics of primary and lateral shoot leaves of Cabernet Franc and Trebbiano Toscano grapevines under two irradiance regimes. *American Journal of Enology and Viticulture* 51: 122-130

Pierik R, de Wit M (2013) Shade avoidance: phytochrome signalling and other aboveground neighbour detection cues. *Journal of experimental botany*: ert389

Rizzini L, Favory J-J, Cloix C, Faggionato D, O'Hara A, Kaiserli E, Baumeister R, Schäfer E, Nagy F, Jenkins GI, Ulm R (2011) Perception of UV-B by the Arabidopsis UVR8 protein. *Science* 332: 103-106

Scholander PF, Bradstreet ED, Hemmingsen E, Hammel H (1965) Sap pressure in vascular plants negative hydrostatic pressure can be measured in plants. *Science* 148: 339-346

Schulte P, Hinckley T (1985) A comparison of pressure-volume curve data analysis techniques. *Journal of experimental botany* 36: 1590-1602

Schultz HR, Matthews MA (1993) Xylem development and hydraulic conductance in sun and shade shoots of grapevine (*Vitis vinifera* L.): evidence that low light uncouples water transport capacity from leaf area. *Planta* 190: 393-406

Smart RE, Smith SM, Winchester RV (1988) Light quality and quantity effects on fruit ripening for Cabernet Sauvignon. *American Journal of Enology and Viticulture* 39: 250-258

Taiz L, Zeiger E (2006) *Fisiologia vegetal*. Universitat Jaume I

Terral J-F, Tabard E, Bouby L, Ivorra S, Pastor T, Figueiral I, Picq S, Chevance J-B, Jung C, Fabre L, Tardy C, Compan M, Bacilieri R, Lacombe T, This P (2010) Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. *Annals of Botany* 105: 443-455

Tilbrook K, Arongaus AB, Binkert M, Heijde M, Yin R, Ulm R (2013) The UVR8 UV-B photoreceptor: perception, signaling and response. *The Arabidopsis book/American Society of Plant Biologists* 11

Tyree MT, Richter H (1982) Alternate methods of analysing water potential isotherms: some cautions and clarifications. II. Curvilinearity in water potential isotherms. *Canadian Journal of Botany* 60: 911-916

Valladares F (2003) Light Heterogeneity and Plants: from Ecophysiology to Species Coexistence and Biodiversity. In: Esser K, Lüttge U, Beyschlag W, Hellwig F (eds) *Progress in Botany*. Springer Berlin Heidelberg, pp 439-471

Valladares F, Niinemets Ü (2008) Shade tolerance, a key plant feature of complex nature and consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*: 237-257

Wang X, Wang Q, Nguyen P, Lin C (2014) Cryptochrome-mediated light responses in plants. *Enzymes* 35: 167-189

Wargent JJ, Gegas VC, Jenkins GI, Doonan JH, Paul ND (2009) UVR8 in Arabidopsis thaliana regulates multiple aspects of cellular differentiation during leaf development in response to ultraviolet B radiation. *New Phytologist* 183: 315-326

Wellburn AR (1994) The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total Carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology* 144: 307-313

ANEXO

Figuras suplementarias

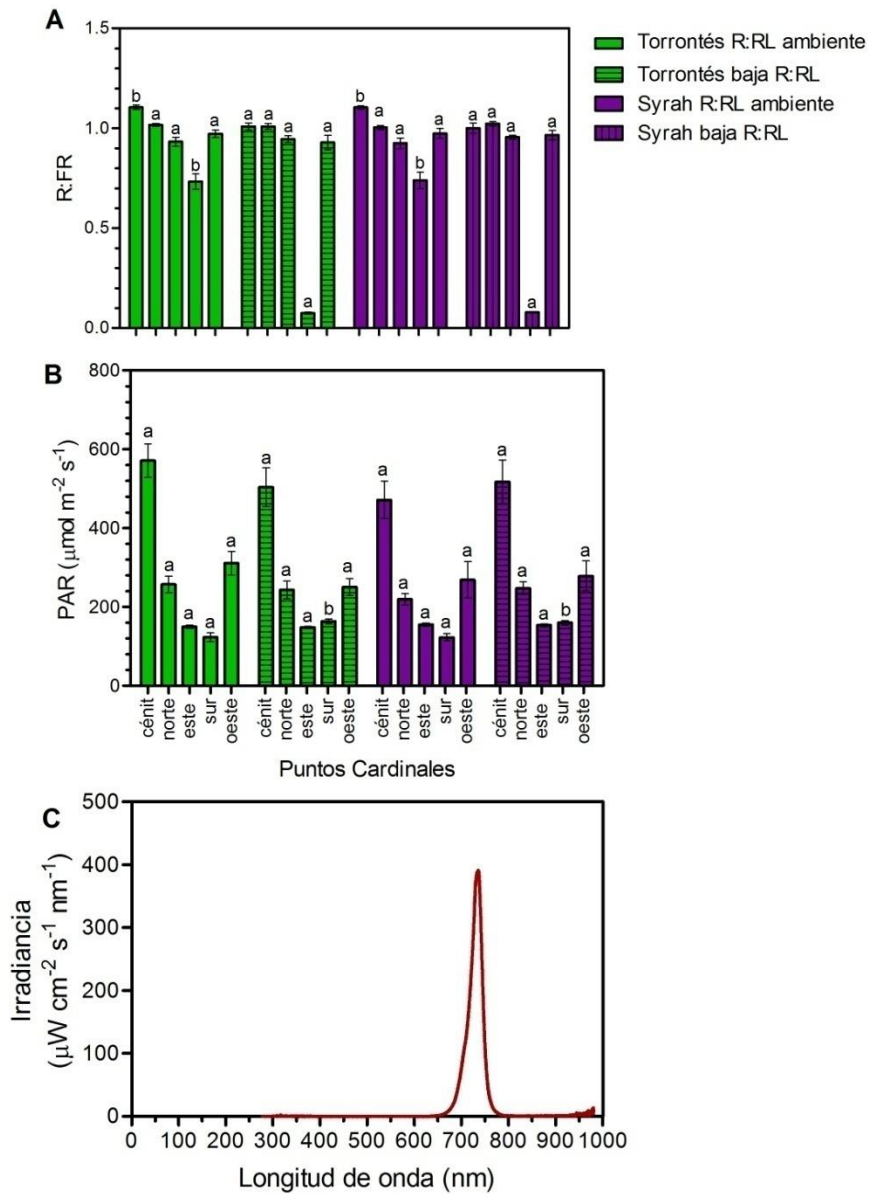


Figura S1. Ambiente lumínico de plantas de vid creciendo en un invernáculo y sometidas a diferentes R:RL lateral. (A) R:RL y (B) PAR fueron medidos con un sensor ubicado paralelo al suelo y apuntando en dirección de los puntos cardinales (cénit, norte, este, sur y oeste) simulando las señales lumínicas percibidas por las plantas en cada dirección. Todas las mediciones se realizaron al medio día solar y con cielo despejado. (C) Espectro lumínico de los módulos de RL. Se utilizó un espectroradiómetro (USB4000) con cable óptico y corrector de coseno CC-3-UV (Ocean Optics Inc., Dunedin, FL, USA).

Fotografías de los experimentos



Figura S2. Fotografías de los experimentos