



La discriminación por isótopos de carbono (o $\delta^{13}\text{C}$) medidos en el mosto es una herramienta accesible para monitorear estado hídrico de la vid en condiciones de producción

Cornelis van Leeuwen¹, Benjamin Bois², Luca Brillante³, Agnès Destrac-Irvine¹, Mark Gowdy¹, Damian Martin⁴, Marc Plantevin^{1,5}, Laure de Rességuier¹, Luis G. Santesteban⁶, Vivian Zufferey⁷

¹ EGFV, Univ. Bordeaux, Bordeaux Sciences Agro, INRAE, ISW, Villenave d'Ornon, France

² Biogéosciences UMR 6282 CNRS uB, Univ. Bourgogne, 6 Boulevard Gabriel, Dijon, France

³ Department of viticulture and Enology, California State University Fresno, 2360 E Barstow Ave, Fresno, CA, 93740, USA

⁴ The New Zealand Institute for Plant and Food Research Limited, Blenheim 7021, New Zealand

⁵ Château La Tour Carnet, 33112 Saint-Laurent-Médoc, France

⁶ Department of Agronomy, Biotechnology and Food Science, Public University of Navarra (UPNA), Campus Arrosadia, Pamplona, Spain

⁷ Agroscope, Centre de recherches de Pully, CH-1009, Suisse

La evaluación del estado hídrico de la vid es necesaria para entender el efecto de los factores medioambientales y de las prácticas de manejo en los viñedos de secano e irrigados. Entre los indicadores basados en la planta, la discriminación por isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) es de fácil acceso, confiable y económica. Al proveer una evaluación *post-hoc* del estado hídrico de la vid durante el periodo de maduración de las bayas, esta puede ser útil para evaluar los resultados de las prácticas de manejo del viñedo durante la temporada, y para mapear el estado hídrico en el viñedo con el fin de ayudar a un futuro manejo de precisión. En este artículo se discuten posibles aplicaciones y limitaciones de esta técnica en el manejo práctico del viñedo.

Evaluación del estado hídrico

El estado hídrico de la vid es un parámetro clave para el crecimiento de la uva, y que afecta tanto al rendimiento como a la composición de la baya. A su vez, el estado hídrico de la vid está determinado por la disponibilidad de agua del suelo (dependiendo de la capacidad de retención de agua de este), los parámetros climáticos (precipitaciones y evapotranspiración), el sistema de conducción (área foliar por hectárea), el genotipo (portainjerto y cultivar) y las prácticas de manejo (gestión del suelo del viñedo y riego).

Se han desarrollado numerosos métodos para evaluar el estado hídrico de la vid, que pueden ser agrupados en: (1) mediciones basadas en el suelo, (2) modelado del balance hídrico, y (3) mediciones basadas en la planta. La precisión de los enfoques basados en el suelo y en el modelado se ve limitada por los supuestos con respecto a la capacidad de retención de agua del suelo (CRAS) de la zona radicular de la vid, que depende fuertemente de la profundidad del enraizado y del funcionamiento radicular, un parámetro imposible de evaluar con precisión en condiciones de campo. No obstante, los indicadores basados en la planta integran naturalmente la CRAS de la zona radicular de la vid, otorgando así resultados más confiables. Entre las mediciones basadas en la planta, el potencial hídrico por cámara de presión es ampliamente utilizado. La discriminación por isótopos de carbono ($\delta^{13}\text{C}$) medidos en el mosto es otro indicador basado en la planta para el déficit hídrico de la vid, con un enorme potencial de aplicación en el manejo del viñedo. Aunque los primeros artículos sobre esta técnica fueron publicados hace más de 20 años¹, esta aún no ha sido ampliamente adoptada por los responsables de los viñedos.

El principio de discriminación por isótopos de carbono

Los isótopos de un elemento tienen el mismo número de protones y electrones, pero difieren en el número de neutrones, y por ende en su masa atómica. Existen tres isótopos de carbono, pero solo el ^{12}C y el ^{13}C son estables en condiciones naturales, lo que los vuelve útiles para el estudio de los llamados *procesos discriminantes de isótopos* en la naturaleza. El ^{12}C es de lejos el isótopo de carbono más abundante en la naturaleza, con una proporción de aproximadamente 99:1 con respecto al ^{13}C .

Durante la fotosíntesis, ocurre una discriminación en favor de las moléculas de CO_2 que contienen isótopos de ^{12}C , debido a su mayor reactividad con las enzimas en la reacción fotosintética y su mejor difusión a través de los estomas y el mesófilo. Por ende, las relaciones $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ en los azúcares producidos por las plantas son menores que aquellos comparados con el CO_2 atmosférico.

TABLA 1. Valores de $\delta^{13}\text{C}$ y potenciales hídricos con respecto a los umbrales de déficits hídricos de la vid. Los umbrales de los potenciales hídricos corresponden a los valores más bajos registrados durante el periodo de maduración de las uvas.

	$\delta^{13}\text{C}$ en el mosto (‰)	$\delta^{13}\text{C}$ en vinos o licores (‰)	Potencial Hídrico del Tallo a Mediodía (MPa)	Potencial Hídrico Foliar Pre-Alba (MPa)
Sin déficit hídrico	< -26	< -27,7	> -0,6	> -0,2
Déficit hídrico bajo	-25 a -26	-26,7 a -27,7	-0,6 a -0,9	-0,2 a -0,3
Déficit hídrico moderado	-24 a -25	-25,7 a -26,7	-0,9 a -1,1	-0,3 a -0,5
Déficit hídrico moderado a severo	-23 a -24	-24,7 a -25,7	-1,1 a -1,4	-0,5 a -0,8
Déficit hídrico severo	> -23	> -24,7	< -1,4	< -0,8

Cuando las plantas experimentan déficit hídrico, estas relaciones isotópicas $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ se ven aún más modificadas ya que los estomas se cierran y bloquean la difusión del CO_2 hacia los espacios intercelulares de las hojas. Esto provoca un aumento en la concentración relativa del $^{13}\text{CO}_2$ con respecto al $^{12}\text{CO}_2$ en el espacio intercelular, y por ende en los azúcares producidos. Durante la madurez, estos azúcares se acumulan en el mosto, y la medición de la relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ provee un indicador sobre el eventual déficit hídrico sufrido por la vid y su severidad². Esta relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ puede ser medida con gran precisión por espectrometría de masas de relaciones isotópicas. Se obtiene entonces el $\delta^{13}\text{C}$ comparando los resultados contra un estándar con una relación $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$ conocida.

Clasificación de los niveles de estrés por déficit hídrico

El $\delta^{13}\text{C}$ medido en los azúcares del mosto va en un rango entre -28 ‰ en las vides que no experimentan déficit hídrico, hasta -20 ‰ en las vides que sufren de un severo estrés por déficit hídrico. La clasificación de la intensidad del déficit hídrico en estos rangos difiere ligeramente entre diferentes publicaciones. Las diferencias en los umbrales de respuesta pueden resultar, en parte, del hecho de que los valores de $\delta^{13}\text{C}$ se ven también influenciados por la variedad de uva³, y que la variación diurna del potencial hídrico de la planta a mediodía puede ser significativamente diferente según las condiciones de crecimiento. Los umbrales en la Tabla 1 fueron calculados según van Leeuwen *et al.*, 2009² y Santesteban *et al.*, 2015⁴ y aplican para regiones con condiciones climáticas templadas. Pueden calcularse localmente valores umbrales más precisos para cada sitio y variedad combinando mediciones de $\delta^{13}\text{C}$ y de potencial hídrico. De manera alternativa, también puede obtenerse una comparación relativa: una variación de 1 ‰ en $\delta^{13}\text{C}$ corresponde a una diferencia de ~0,2 MPa en el potencial hídrico del tallo a mediodía durante el periodo de maduración de la uva⁵.



Implementación práctica de la evaluación del estado hídrico de la vid por $\delta^{13}\text{C}$

La medición de $\delta^{13}\text{C}$ es efectuada en muestras de mosto recolectadas entre las tres semanas que siguen al medio enero y la vendimia. Las muestras son enviadas a un laboratorio equipado con un espectrómetro de masas de relaciones isotópicas. Algunos laboratorios estiman el $\delta^{13}\text{C}$ usando la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIRS), aunque este método no es recomendable debido a su imprecisión. Una limitación actual para la implementación de mediciones de $\delta^{13}\text{C}$ es el pequeño, aunque firmemente creciente número de laboratorios que proponen dicho análisis. Se necesita tan solo una pequeña cantidad (+/- 5 μl) de mosto para el análisis, y este puede ser obtenido de muestras tomadas para los controles regulares de madurez al final de la temporada. No obstante, estas muestras necesitan ser representativas de las vides o parcelas bajo investigación.

La impronta de $\delta^{13}\text{C}$ en los azúcares de la uva es conservada en el etanol del vino, aunque la fermentación induce un desfase de -1,7‰ (Tabla 1⁶). Por lo tanto, el análisis de $\delta^{13}\text{C}$ también puede ser efectuado en el vino con el fin de investigar el estado hídrico correspondiente de las vides durante la maduración de la uva^{7, 8}.

Aplicaciones del monitoreo del estado hídrico por $\delta^{13}\text{C}$

El $\delta^{13}\text{C}$ provee pistas sobre el estado hídrico experimentado por las vides durante el periodo de maduración de las uvas, que se extiende aproximadamente desde una semana antes del medio enero hasta tres semanas después. Esto corresponde, en la mayoría de los casos, al mes de agosto en el hemisferio norte y a febrero en el hemisferio sur, un periodo clave durante el cual el estado hídrico de la vid puede afectar el rendimiento y el potencial cualitativo del vino.

El $\delta^{13}\text{C}$ puede ser una herramienta útil para evaluar las estrategias de riego al final de la estación, ya que el estado hídrico de la vid se ve afectado según cuándo y cuánta agua se aplica. Con el fin de optimizar la calidad del vino en las vinificaciones de tintos, es deseable cultivar las vides bajo un déficit hídrico moderado, con valores de $\delta^{13}\text{C}$ entre -24‰ y -25‰, que indican que las vides no fueron regadas en exceso. Esto puede otorgar una información importante cuando las uvas son compradas a productores, ya que provee una herramienta para verificar el manejo de riego *post-hoc*. El $\delta^{13}\text{C}$ también puede ser usado para evaluar fácilmente el impacto de cualquier práctica de manejo del viñedo (cubiertas vegetales, labranza, deshoje...) sobre el estado hídrico de la vid.

Ya que el $\delta^{13}\text{C}$ es un indicador altamente accesible (fácil de medir y económico), puede ser también usado para mapear el estado hídrico de la vid en una parcela o en un viñedo (Figura 1A²). El $\delta^{13}\text{C}$ puede ser una herramienta útil para estudios del terroir en viñedos de secano, donde el estado hídrico de la vid depende fuertemente de la capacidad de retención de agua del suelo (Figura 1B) y del clima, ambos parámetros importantes del terroir^{2, 9}.

Tales mapas del estado hídrico de la vid son muy útiles para ajustar finamente la elección del material vegetal y las estrategias de manejo.

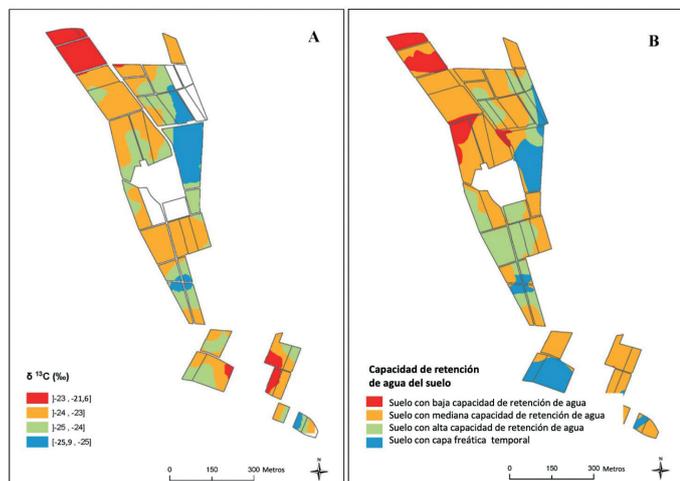


FIGURA 1. A - Estado hídrico de la vid medido en un viñedo de secano en Saint-Émilion (área de Burdeos, 2022). Se tomaron 172 muestras en las 23 hectáreas. B - Mapa de la capacidad de retención de agua del suelo dibujado a partir del mapa del suelo del viñedo.

En las áreas secas del viñedo, debiesen utilizarse portainjertos resistentes a la sequía para evitar el estrés hídrico severo. En áreas húmedas, la calidad del vino puede verse impactada por el exceso de disponibilidad de agua, lo que puede ser compensado por medio de cubiertas vegetales competitivas.

A nivel intraparcelar, el mapeo del estado hídrico de la vid por $\delta^{13}\text{C}$ es una herramienta de viticultura de precisión, por ejemplo para explicar la variabilidad espacial de los estados fenológicos de la uva⁵. Cuando se mide en el vino (ver umbrales de interpretación específicos, Tabla 1), el $\delta^{13}\text{C}$ permite trazar retroactivamente el estado hídrico de las vides que produjeron el vino. Esto puede ser usado para explicar el efecto del estado hídrico de la vid sobre los parámetros de calidad relacionados, como los aromas⁷.

Limitaciones del monitoreo del estado hídrico por $\delta^{13}\text{C}$

Debido a que el $\delta^{13}\text{C}$ se mide al final de la temporada, no es útil para el manejo operacional del riego en el día a día. Para este propósito, es preferible una cámara de presión. Otra limitante es que este representa el déficit hídrico de la vid durante el periodo de acumulación de azúcar en las bayas. Por lo tanto, no provee un registro de los déficits hídricos precoces, ni rinde cuentas sobre los déficits hídricos experimentados después de alcanzada la carga de la baya en azúcar. Existen también diferencias específicas de cada variedad de uva en cuanto a la eficiencia global en el uso del agua, que deben ser consideradas al evaluar las respuestas del $\delta^{13}\text{C}$ a los déficits hídricos para distintas variedades³. El análisis por $\delta^{13}\text{C}$ es propuesto actualmente solo por un número limitado de laboratorios comerciales, pero se volverá más accesible si la demanda aumenta.

Conclusiones

Ser capaces de caracterizar el estado hídrico de la vid es clave para entender cómo los factores medioambientales y las prácticas de manejo pueden impactar en el rendimiento y el potencial cualitativo del vino. Las mediciones de $\delta^{13}\text{C}$ en mostos o vinos son un indicador económico y fácil de obtener sobre el estado hídrico de la vid durante el periodo de maduración de la uva, y pueden ser útiles para manejar viñedos tanto de secano como irrigados. ■

1 Gaudillère, J. P., van Leeuwen, C., & Ollat, N. (2002). Carbon isotope composition of sugars in grapevine, an integrated indicator of vineyard water status. *Journal of Experimental Botany*, 53(369), 757-763. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.369.757>

2 van Leeuwen, C., Trégoat, O., Choné, X., Bois, B., Pernet, D., & Gaudillère, J. P. (2009). Vine water status is a key factor in grape ripening and vintage quality for red Bordeaux wine. How can it be assessed for vineyard management purposes?. *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin*, 43(3), 121-134. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2009.43.3.798>

3 Plantevin, M., Gowdy, M., Destrac-Irvine, A., Marguerit, E., Gambetta, G., & van Leeuwen, C. (2022). Using $\delta^{13}\text{C}$ and hydroscares for discriminating cultivar specific drought responses. *OENO One*, 56(2), 239-250. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2022.56.2.5434>

4 Santesteban, L. G., Miranda, C., Barbarin, I., & Royo, J. B. (2015). Application of the measurement of the natural abundance of stable isotopes in viticulture: a review. *Australian journal of grape and wine research*, 21(2), 157-167. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12124>

5 Brillante, L., Martínez-Lüscher, J., Yu, R., & Kurltal, S. K. (2020). Carbon isotope discrimination ($\delta^{13}\text{C}$) of grape musts is a reliable tool for zoning and the physiological ground-truthing of sensor maps in precision viticulture. *Frontiers in Environmental Science*, 8, 561477. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2020.561477>

6 Gowdy, M., Julliard, S., Frouin, M., Poitou, X., Destrac Irvine, A., & van Leeuwen, C. (2022). Carbon isotope discrimination as an indicator of vine water status is comparable in grape must, wine, and distilled wine spirits. *Frontiers in Food Science and Technology*, 10. <https://doi.org/10.3389/frfst.2022.936745>

7 Picard, M., Van Leeuwen, C., Guyon, F., Gaillard, L., De Revel, G., & Marchand, S. (2017). Vine water deficit impacts aging bouquet in fine red Bordeaux wine. *Frontiers in chemistry*, 5, 56. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00056>

8 Martin, D., Grab, F., Grose, C., Stuart, L., Scofield, C., McLachlan, A., & Rutan, T. (2020). Vintage by vine interactions most strongly influence Pinot noir grape composition in New Zealand. *OENO One*, 54(4), 881-902. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2020.54.4.4021>

9 Zufferey, V., Verdendal, T., Dienes, A., Belcher, S., Lorenzini, F., Koestel, C., Blackford, M., Bourdin, G., Gindro, K., Spangenberg, J., Rösti, J., Viret, O., Carlen, C. & Spring, J. L. (2020). The influence of vine water regime on the leaf gas exchange, berry composition and wine quality of Arvine grapes in Switzerland. *OENO One*, 54(3), 553-568. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2020.54.3.3106>