

Evaluación de tolerancia al NaCl en cultivares viníferas y portainjertos híbridos del género *Vitis*

Evaluation of NaCl tolerance on grapevines cultivars and hybrids rootstocks from genus *Vitis*

Leandro Martin ^{1,2}, Hernán Vila ²

Originales: Recepción: 24/10/2012 - Aceptación: 26/07/2013

RESUMEN

El objetivo fue evaluar la supervivencia al riego con soluciones de NaCl en 28 genotipos del género *Vitis* para identificar su grado de tolerancia salina. Se estudiaron 11 híbridos de *Vitis* americanos y 17 variedades de *Vitis vinifera*. Plantas de 1 y 2 años se regaron durante 66 días con una solución 100 mM de NaCl. Para clasificar las variedades de acuerdo con su grado de tolerancia a la salinidad, se calculó el día en que el 25% de la población había muerto (1^{er} cuartil de la muestra). Se consideraron como genotipos sensibles aquellos en que al menos 25% había muerto antes del día 30 (3309 Couderc, 161-49 Couderc, Fercal, Freedom, 1103 Paulsen, 99 Richter, SO4, Torrontés Sanjuanino), como poco tolerantes cuando al menos 25% murió entre los días 30 y 60 (Cereza, Colombard, Criollas Blanca y Ballista, Palomino, 110 Richter, 140 Ruggeri, Syrah, Torrontés Riojano) y como tolerantes cuando el 75% o menos sobrevivió más de 60 días (101-14 Millardet-Grasset, 196-17 Castel, Criollas Chica y Sanjuanina, Moscatel de Alejandría, Pedro Giménez). Aun en los genotipos más tolerantes cuando las plantas crecieron bajo salinidad, la integridad de membranas celulares se redujo un 17% y el contenido de clorofila total disminuyó un 52%.

ABSTRACT

The purpose of this study was to assess the survival to NaCl in 28 genotypes of the genus *Vitis* for identifying their degree of salt tolerance. The evaluation included 11 American rootstocks and 17 varieties from *Vitis vinifera*. Young vines of each genotype were drip-irrigated with a solution of 100 mM of NaCl during 66 days. The day in which 25% of the population had died (1st sample quartile) was calculated, allowing to classify the genotypes according to their salinity tolerance. Three groups of tolerance could be established. First, a sensitive group in which 25% died before the day 30 (3309 Couderc, 161-49 Couderc, Fercal, Freedom, 1103 Paulsen, 99 Richter, SO4, Torrontés Sanjuanino). Second, a moderately tolerant group in which 25% died between the days 30 and 60 (Cereza, Colombard, Criolla Blanca, Criolla Ballista, Palomino, 110 Richter, 140 Ruggeri, Syrah, Torrontés Riojano). Finally, the tolerant group in which 75% survived more than 60 days (101-14 Millardet-Grasset, 196-17 Castel, Criolla Chica, Criolla Sanjuanina, Moscatel de Alejandría, Pedro Giménez). Even in the most tolerant genotypes when the vines grew under salinity, the membranes integrity decreased 17% and the total chlorophyll content decreased 52%.

Palabras clave

vid • salinidad • portainjertos

Keywords

grapevine • salinity • rootstocks

- 1 Instituto Nacional del Agua - Centro Regional Andino (INA-CRA). Belgrano Oeste 210. Mendoza. Argentina. M5500FIF. lmartin@mendoza.inta.gov.ar
- 2 Estación Experimental Agropecuaria Mendoza, INTA. San Martín 3853. Chacras de Coria. Mendoza. Argentina. M5507EVY.

INTRODUCCIÓN

La salinidad en los suelos y aguas de riego constituye una de las principales amenazas para la sustentabilidad de la agricultura de regadío (14). En Argentina hay 1,6 millones de hectáreas bajo riego, y un tercio de ellas tiene problemas de salinización del suelo y/o falta de drenaje (18).

En el área regadía del río Mendoza en la zona de Cuyo, la salinidad se ha incrementado un 59% en los suelos cultivados en 2002 respecto de 1973 (19). A su vez, en el norte y oeste de dicha región, existen problemas de drenaje sub-superficiales vinculados con incrementos de la salinidad en las aguas freáticas (24). En los suelos y las aguas salinas generalmente predominan cationes Na^+ , K^+ , Ca^{+2} , Mg^{+2} y aniones Cl^- , SO_4^{-2} , CO_3H^{-1} (27) asociados entre sí formando sales de diferente solubilidad. El NaCl es la sal más común en suelos y constituye una de las sales más perjudiciales para las plantas, debido a su alta solubilidad en el agua y elevada toxicidad (22). El estrés salino provoca en las plantas efectos de tipo osmótico y tóxico. El primer tipo ocurre cuando las sales disueltas en la solución edáfica disminuyen el potencial hídrico del suelo y las raíces pueden absorber menos agua. La toxicidad ocurre cuando ciertos iones (como el Na^+ y el Cl^-) son absorbidos por las raíces y se acumulan causando daños en las estructuras celulares (21).

En la vid, que es el principal cultivo de Cuyo con 200.000 ha (15), la salinidad representa un serio problema que afecta la superficie foliar del cultivo, el crecimiento de los brotes y el número de hojas (12, 26). A nivel celular se producen daños como la degradación de la clorofila (31), la pérdida de integridad de las membranas celulares (7) y la muerte de las células por deshidratación o acumulación de iones tóxicos en el citoplasma (21).

Las plantas han logrado desarrollar diferentes mecanismos de tolerancia para poder sobrevivir en ambientes salinos. Entre tales mecanismos se cuentan los siguientes: la disminución de la entrada de iones a la planta (exclusión) debida a una menor permeabilidad de las membranas celulares, la acumulación de iones tóxicos en las vacuolas (compartimentación) que permite disminuir su concentración en el citoplasma celular, y el ajuste osmótico que mantiene la turgencia por medio de la acumulación y/o síntesis de solutos orgánicos e inorgánicos (22). En las plantas perennes, la supervivencia dependerá de cuán eficientemente pueden mantenerse estos mecanismos a lo largo del tiempo. Por ejemplo, las hojas más viejas tienden a acumular iones tóxicos que terminan muriendo, y una estrategia de tolerancia puede estar basada en una alta tasa de renovación de hojas (21).

Las plantas glicófitas como la vid no pueden crecer con altas concentraciones salinas edáficas (e. g., diferentes híbridos americanos regados con concentraciones de 50 a 120 mM de NaCl murieron luego de 15 días de riego salino (33)); a diferencia de las halófitas, alguna de las cuales pueden crecer bajo concentraciones salinas tan altas como la del agua marina (500 mM NaCl (5)).

Vitis vinifera, comparada con otras glicófitas, es considerada una especie moderadamente sensible a las sales (17). Sin embargo existe un grupo de variedades denominadas "criollas" (e. g., Cereza, Criolla Chica, Pedro Giménez y Torrontés Riojano), derivadas de las "europeas" (e. g., Moscatel de Alejandría), las cuales demostraron ser más tolerantes a la salinidad cuando crecían en cultivo *in vitro* (4). También existen diferencias por la capacidad de exclusión de iones Cl⁻ entre las especies americanas del género *Vitis* (2, 29), siendo mayor la acumulación de Cl⁻ en *V. vinifera* (europea), seguida de *V. champini*, *V. riparia*, *V. berlandieri* y *V. rupestris* (americanas (9)). De acuerdo con el origen genético (*i. e.*, qué especies de *Vitis* actuaron como padres), los híbridos americanos habrían alcanzado diferentes grados de tolerancia a las sales, ya sea por su mayor capacidad para excluir iones tóxicos (32) o por su mayor vigor (37).

Una alternativa para mejorar el comportamiento de la especie *Vitis vinifera* bajo condiciones salinas, sería usar como portainjertos algunos de estos híbridos americanos que resultaran más tolerantes, lo que requiere una evaluación previa. Además es importante estudiar comparativamente los genotipos criollos para ubicarlos en una escala de tolerancia a sales, con vistas a usarlos también como portainjertos.

Objetivo

- Evaluar la supervivencia al riego con soluciones salinas de NaCl en 28 genotipos del género *Vitis*, e identificar y clasificarlos por su grado de tolerancia a la salinidad. Además se planteó comparar las características fisiológicas de los genotipos que podrían sobrevivir hasta el final del ensayo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un ensayo en el cual se evaluó la capacidad para sobrevivir al riego con agua salina en 28 genotipos del género *Vitis* (17 variedades de *Vitis vinifera*, de los cuales 10 eran de origen criollo y 7 europeos, y 11 portainjertos híbridos americanos provenientes de cruzamientos entre *Vitis berlandieri*, *Vitis champini*, *Vitis labrusca*, *Vitis riparia*, *Vitis rupestris* y *Vitis solonis*) (tabla 1, pág. 168).

Se trabajó con plantas de un año de edad creciendo en macetas de 4 L con un sustrato de perlita y arena (2:1) a las que se regó durante 66 días con una solución de NaCl 100 mM con un sistema de hidroponía. En algunos genotipos se dispuso de plantas de 2 años (Cereza, Chardonnay, Grenache, Malbec y Syrah). La unidad experimental se estableció como una maceta con una planta y se mantuvieron 4 repeticiones por cada genotipo. El ensayo se instaló en un invernáculo de la EEA Mendoza INTA en Luján de Cuyo, Mendoza, con una temperatura media de 24°C y una densidad de flujo de fotones fotosintéticos de 880 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las estacas fueron extraídas de la colección ampelográfica del INTA Mendoza.

Tabla 1. Genotipos de *Vitis* evaluados en el ensayo.**Table 1.** Genotypes of genus *Vitis* evaluated in the assay.

Genotipos evaluados	Progenitores
Híbridos americanos	
1103 Paulsen, 140 Ruggeri, 110 Richter y 99 Richter	<i>Vitis berlandieri</i> x <i>Vitis rupestris</i>
101-14 Millardet-Grasset y 3309 Couderc	<i>Vitis riparia</i> x <i>Vitis rupestris</i>
161-49 Couderc y SO4	<i>Vitis riparia</i> x <i>Vitis berlandieri</i>
Fercal	<i>Vitis vinifera</i> x <i>Vitis berlandieri</i>
196-17 Castel	(<i>V. vinifera</i> x <i>V. rupestris</i>) x <i>V. riparia</i>
Freedom	1613 Couderc [<i>V. solonis</i> x (<i>V. vinifera</i> x <i>V. labrusca</i> x <i>V. riparia</i>)] x <i>Vitis champini</i>
Variedades criollas	
Cereza, Pedro Giménez, Torrontés Riojano, Torrontés Sanjuanino, Criolla Grande, Criolla Chica, Criolla Centenario Perú, Criolla Ballista, Criolla Blanca y Criolla Sanjuanina	<i>Vitis vinifera</i>
Variedades europeas	
Malbec, Syrah, Grenache, Chardonnay, Moscatel de Alejandría, Palomino y Colombard	<i>Vitis vinifera</i>

En el sistema de hidroponía, cada planta recibió 576 mL/día distribuidos en 12 riegos de 4 minutos cada uno. El drenaje de cada maceta se recolectó en un recipiente y se volvió a utilizar en los próximos riegos. La solución salina se preparó con agua proveniente del río Mendoza, con una conductividad eléctrica (CE) de 0,8 dS m⁻¹, más una solución nutritiva de 0,75 g/L de fertilizante (23% de Nitrógeno (N) total; 5% de Pentóxido de fósforo (P₂O₅); 5% de Óxido de Potasio (K₂O); 29% de Trióxido de azufre (SO₃); 0,1% de Hierro (Fe); 0,05% de Manganeso (Mn) y 0,1% de Zinc (Zn)) que se renovó una vez por semana. Una vez preparada, la solución 100 mM de NaCl alcanzó una CE de 12,12 dS/m a 25°C. Para evitar el shock salino, las plantas se regaron durante un mes solo con la solución nutritiva, y luego la concentración de NaCl se incrementó en 25 mM cada semana hasta alcanzar 100 mM. A partir del día en que se inició el riego con 100 mM de NaCl, y durante el lapso que duró el ensayo, se registró el día en el que murió cada planta de cada genotipo.

Los genotipos en los que todas las repeticiones sobrevivieron al finalizar el ensayo se compararon con plantas testigos. Para esto se dejó crecer un lote de plantas de todos los genotipos (también con 4 repeticiones), que se regó sólo con la solución nutritiva durante los 66 días. Se midió en ambos lotes (testigo y salino) el contenido de clorofila a y total, y la integridad de las membranas celulares en las hojas. Además, en los genotipos que sobrevivieron al riego con NaCl se midió al final del ensayo la superficie foliar, el número de hojas y la longitud del brote, y se comparó con las mismas variables medidas antes de iniciar el riego con NaCl (*i. e.*, previo incremento salino).

Medidas de crecimiento vegetativo

La superficie foliar (SF) se calculó a partir de la medición del largo y ancho de todas las hojas y feminas de cada planta. Se usó un modelo de regresión generado para cada genotipo en un lote de plantas diferentes. Los modelos de regresión tuvieron un $r^2 > 0,9$ y fueron muy similares para los distintos genotipos. Por ejemplo $SF \text{ (mm}^2\text{)} = 64,208 [\text{largo (cm)} \times \text{ancho (cm)}] - 1,3841$, $r^2 0,98$, para Criolla Centenario Perú. La longitud del brote principal se midió desde la base hasta el ápice con una cinta métrica en todas las plantas.

Integridad de las membranas celulares

Se usó la técnica de Barranco & Ruiz (3), se extrajeron 8 discos de 1,5 cm de diámetro de las hojas basales de cada genotipo. Se colocaron las muestras en tubos de 50 mL y se agregaron 25 mL de agua destilada. Los tubos se agitaron por 24 h a 120 rpm. Luego, se midió en cada uno de ellos la conductividad eléctrica inicial a 25°C (CE_i), con un conductímetro (Hanna HI 9033, USA). Posteriormente los tubos se llevaron a autoclave durante 1 h a 120°C, con el fin de destruir completamente los tejidos. Después se agitaron por 2 h a 120 rpm y se midió nuevamente la conductividad eléctrica final a 25°C (CE_f). La integridad de membranas (IM) fue calculada de acuerdo con Vásquez-Tello *et al.* (34) como: Integridad de Membrana (IM) = $(1 - (CE_f/CE_i))$.

Contenido de clorofila

Se usó la técnica de Poorter & Van Berkel (25), se extrajeron 3 discos de 1,5 cm de diámetro hojas con un sacabocado y se conservaron en tubos eppendorf a -80°C hasta su medición. Posteriormente las muestras fueron molidas en mortero, con el agregado de 1 mL de metanol y ½ cucharadita de arena fina. Una vez obtenida la suspensión homogénea, las muestras fueron colocadas en tubos de centrifuga de 15 mL con el agregado de 8 ml de metanol y se centrifugaron durante 5 m a 3000 rpm. Luego se pasó el sobrenadante a un matraz de 10 mL y se enrazó con metanol. Se midió la absorbancia a 652, 665 y 750 nm con un espectrofotómetro (Varian, Cary 50, Australia) empleando cubetas de vidrio de 10 cm de paso óptico. La concentración de los extractos se calculó como: Clorofila a (mg/L) = $16,29 * (A_{665} - A_{750}) - 8,54 * (A_{652} - A_{750})$; Clorofila total (mg/L) = $22,12 * (A_{652} - A_{750}) + 2,71 * (A_{665} - A_{750})$. Teniendo en cuenta la superficie de los discos de hojas, se calculó el contenido de clorofila en mg/m² SF.

Análisis de los datos

El diseño estadístico fue de parcelas al azar con 4 repeticiones. Con los datos de tiempos de supervivencia, en cada genotipo se calculó el cuartil 1 (Q1) como una estimación del día en el que murió el 25 % de la población. Se calcularon las funciones de supervivencia acumulada de los distintos tipos genotipos y se realizó la prueba de log rank de Mantel-Cox, mediante el programa SPSS 15.0 (IBM, USA). Las demás variables se analizaron por ANOVA y para la separación de medias se empleó el test de Tukey, previa verificación de los supuestos. Cuando no se verificó alguno de los supuestos del ANOVA, se usó la prueba de Kruskal-Wallis. Para estos análisis se usó el programa Statgraphics Plus 4.0. (Statistical Graphics Corp., USA).

RESULTADOS

Análisis de supervivencia

De acuerdo con el tiempo que tardó en morirse el 25% del lote de plantas (estimado por el primer cuartil de la muestra; Q1) de cada genotipo, estos pudieron clasificarse por su tolerancia a la salinidad. Se establecieron tres clases: sensibles, poco tolerantes y tolerantes (figura 1).

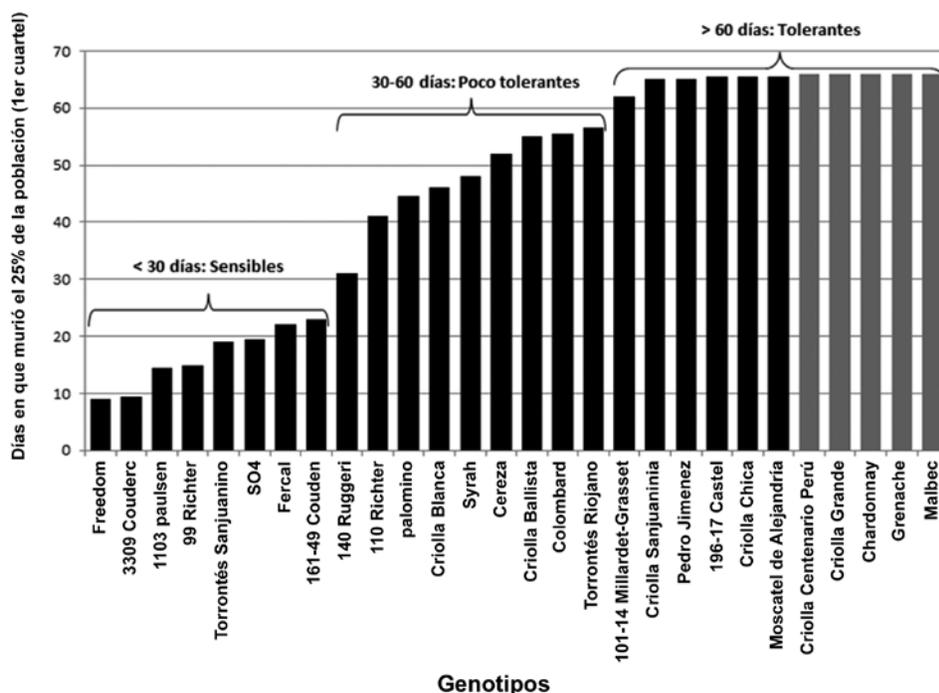


Figura 1. Clasificación de 28 genotipos (portainjertos y variedades) del género *Vitis* clasificados según su tolerancia a la salinidad, representada por el tiempo que tarda en morirse el 25% de un set de plantas (cuartil 1) cuando se riega con una solución 100 mM de NaCl. Las barras grises indican las variedades en las que no murió ningún individuo durante los 66 días.

Figure 1. Classification of 28 genotypes of the genus *Vitis* (rootstocks and varieties) according to their tolerance to salinity, represented by the day when at least 25% of vines died (1st quartile) after irrigation with 100 mM of NaCl. Gray bars represent varieties for which no plants died during the 66 days of irrigation with saline water.

Los genotipos sensibles fueron aquellos en que al menos el 25% de la población murió dentro de los primeros 30 días (*i. e.*, Freedom, 3309 Couderc, 1103 Paulsen, 99 Richter, SO4, Fercal, 161-49 Couderc y Torrontés Sanjuanino) (figura 1). Los genotipos poco tolerantes fueron aquellos en que al menos el 25% de la población

murió entre los días 30 y 60 (*i. e.*, 140 Ruggeri, 110 Richter, Palomino, Colombard, Cereza, Syrah, Criolla Blanca, Criolla Ballista y Torrontés Riojano) (figura 1, pág. 170). Los genotipos tolerantes fueron aquellos en los que al menos el 75% de la población sobrevivió más de 60 días (*i. e.*, 101-14 Millardet-Grasset, 196-17 Castel, Moscatel de Alejandría, Criolla Sanjuanina, Criolla Chica y Pedro Giménez) (figura 1, pág. 170). Dentro de este último grupo se observó un subgrupo de genotipos que se denominó muy tolerantes, en los que todas sus repeticiones sobrevivieron al finalizar el ensayo (*i. e.*, Criolla Grande, Criolla Centenario Perú, Malbec, Grenache y Chardonnay).

El 64% de los híbridos americanos estudiados estaban dentro del grupo de los genotipos sensibles, y solo el 18% eran tolerantes. Los híbridos Freedom y 3309 Couderc fueron los genotipos más sensibles a la salinidad de todos los estudiados, ya que registraron los valores más bajos del Q1 (9 y 9,5 días respectivamente). Los híbridos americanos que integraron la clase poco tolerante tuvieron los valores de Q1 más bajos dentro del grupo (31 días para 140 Ruggeri y 41 días para 110 Richter). Por último, los únicos portainjertos americanos que se comportaron como tolerantes fueron 101-14 Millardet-Grasset y 196-17 Castel (Q1 de 62 y 65,5 días respectivamente).

En relación con el comportamiento general de las variedades europeas, estas fueron clasificadas como poco tolerantes y tolerantes (43% y 57% respectivamente), sin que se observara ninguna de ellas como sensible a la salinidad. Dentro de las poco tolerantes, la variedad Palomino fue la que tuvo el valor más bajo de Q1 (44,5 días). Las variedades criollas estudiadas tuvieron un comportamiento similar a las europeas, ya que el 90% de las mismas estuvieron dentro de los grupos de genotipos poco tolerantes y tolerantes. El Torrontés Sanjuanino fue la única variedad criolla sensible a la salinidad (Q1 de 19 días). En el grupo de los poco tolerantes hubo cuatro genotipos criollos (Criolla Blanca, Cereza, Criolla Ballista y Torrontés Riojano). Dentro de los genotipos tolerantes Criolla Sanjuanina, Pedro Giménez y Criolla Chica tuvieron valores similares de Q1 (65, 65 y 65,5 días respectivamente). El subgrupo de muy tolerantes estuvo integrado tanto por variedades europeas (*i. e.*, Chardonnay, Grenache y Malbec) como criollas (*i. e.*, Criolla Grande y Criolla Centenario Perú).

La clasificación que se propuso en la figura 1 (pág. 170) no representó el comportamiento de todos los individuos de cada genotipo, sino solo el de los más vulnerables (*i. e.*, los primeros que se murieron). Para ver si la clasificación propuesta era consistente con el comportamiento de todos los individuos de cada genotipo, se realizó un análisis de las funciones de supervivencia de cada grupo (figura 2, pág. 172). Este análisis confirmó que existían diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$) entre los grupos (sensibles, poco tolerantes y tolerantes). Al finalizar el ensayo (día 66), los genotipos tolerantes tuvieron el mayor valor de supervivencia acumulada (0,91), seguido por los poco tolerantes (0,41) y los sensibles (0,17).

Para determinar la supervivencia de los genotipos de acuerdo con su origen genético se los agrupó en híbridos americanos, variedades criollas y variedades europeas (figura 3, pág. 172).

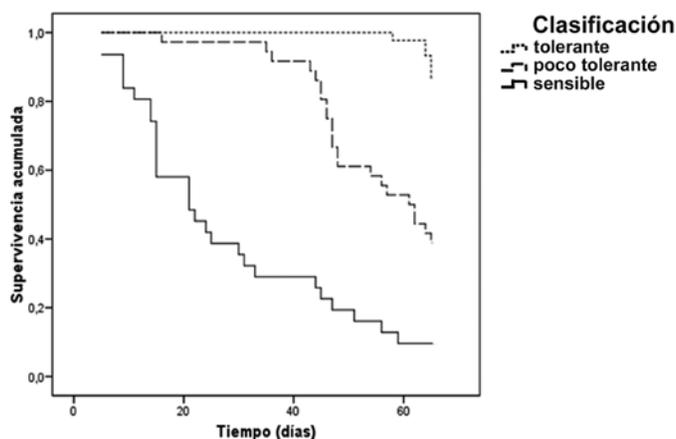


Figura 2. Curvas de supervivencia acumulada de los grupos de genotipos (portainjertos y variedades) de *Vitis* clasificados como tolerantes, poco tolerantes y sensibles a la salinidad (las plantas de cada grupo fueron regadas con una solución 100 mM de NaCl durante 66 días).

Figure 2. Curves of accumulated survival of three groups of *Vitis* (rootstocks and varieties), classified as tolerant, moderately tolerant and sensitive to salinity (the plants of each group were irrigated with 100 mM of NaCl during 66 days).

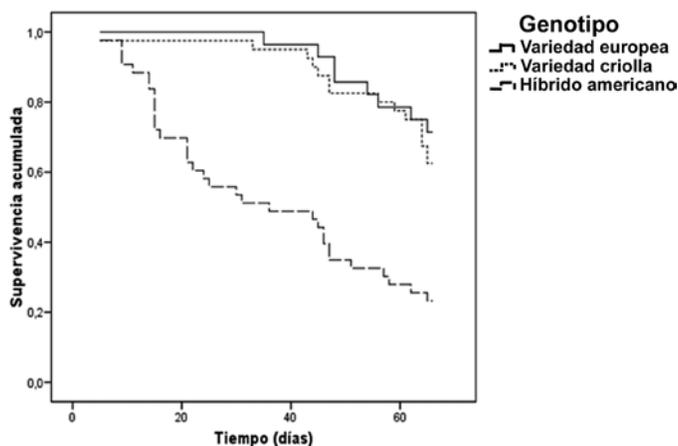


Figura 3. Curvas de supervivencia acumulada de los grupos de genotipos (portainjertos y variedades) de *Vitis* agrupados de acuerdo con su origen genético (híbridos americanos de *Vitis*, variedades europeas de *Vitis vinifera* y variedades criollas de *Vitis vinifera*; las plantas de cada grupo fueron regadas con una solución 100 mM de NaCl durante 66 días).

Figure 3. Curves of accumulated survival of *Vitis* genotypes (American grape rootstocks, European and South American criollas varieties) grouped by their genetic origin (the plants of each group were irrigated with 100 mM of NaCl during 66 days).

En base al análisis estadístico de las funciones de supervivencia acumulada de cada uno de ellos, por lo menos un grupo fue diferente a los demás ($p < 0,0001$). Los híbridos americanos fueron mucho más afectados por la salinidad, registrando el menor valor de supervivencia acumulada (0,23), mientras que los patrones de supervivencia de *Vitis vinifera* europeos y criollos fueron muy similares (0,71 y 0,63 respectivamente).

Como en algunos de los genotipos de *Vitis vinifera* se habían usado plantas de 2 años y en otros de 1 año, se compararon ambos grupos para verificar si la edad de la planta antes del tratamiento salino influenciaba en su capacidad de supervivencia. Se observó que no hubo diferencias entre las curvas de supervivencia de ambos grupos con un $p < 0,05$.

Al analizar los progenitores de los 28 genotipos evaluados (calculando el Q1 promedio de los genotipos que tenían por lo menos un mismo progenitor), se observó que *Vitis vinifera* confería a su progenie una mayor aptitud para sobrevivir al riego con agua salina ($> 53,2$ días) (tabla 2). Los descendientes de *Vitis rupestris* y *Vitis riparia* (tabla 1, pág. 168) fueron los que se comportaron mejor después de los de *Vitis vinifera* (34,1 y 31,4 días respectivamente). La capacidad de supervivencia de la progenie de *Vitis berlandieri* fue menor a la de *Vitis rupestris* y *Vitis riparia*, y un 45 % menor que la de *Vitis vinifera*. *Vitis champini*, *Vitis labrusca* y *Vitis solonis* como progenitores tuvieron el peor comportamiento (9 días), pero este dato debe relativizarse debido a que solo se estudió un genotipo con estos padres (Freedom).

Tabla 2. Tiempos promedios en que muere el 25% de plantas en genotipos de vid (portainjertos híbridos americanos, y variedades criollas y europeas de *Vitis vinifera*), de acuerdo con sus progenitores (surgen de evaluar 28 genotipos durante 66 días de riego con una solución 100 mM de NaCl).

Table 2. Average times that 25% of vines died (American grape rootstocks, South American criollas cultivars and Europeans ones), according to their parents (28 genotypes were irrigated with a solution of 100 mM of NaCl during 66 days).

Progenitor	Tiempo en el que muere el 25% de plantas (días)
<i>Vitis vinifera</i>	> 53,2
<i>Vitis rupestris</i>	34,1
<i>Vitis riparia</i>	31,4
<i>Vitis berladieri</i>	23,7
<i>Vitis solonis</i>	9
<i>Vitis labrusca</i>	9
<i>Vitis champini</i>	9

Comparación entre los genotipos muy tolerantes

Los contenidos de clorofila a y total, y la integridad de las membranas celulares en las hojas de las variedades muy tolerantes (Criolla Grande, Criolla Centenario Perú, Chardonnay, Grenache y Malbec) no fueron diferentes estadísticamente entre sí cuando se regaron con solución 100 mM de NaCl (tabla 3, pág. 174).

Tabla 3. Contenidos de clorofila a y total, e integridad de membranas en hojas de variedades de *Vitis vinifera* muy tolerantes a sales, luego de 66 días de riego con 100 mM de NaCl*.

Table 3. Chlorophyll content (a and total), and membranes integrity in leaves of very tolerant to salinity grapevine varieties, after 66 days of irrigation with 100 mM of NaCl*.

Variedad	Clorofila total (mg/m ² SF)*	Clorofila a (mg/m ² SF)*	Integridad de membranas
Criolla Grande	215 a	173 a	0,69 a
Criolla Centenario Perú	186 a	147 a	(sin datos)
Chardonnay	174 a	147 a	(sin datos)
Grenache	191 a	139 a	0,66 a
Malbec	222 a	153 a	(sin datos)
Valor p	ns	179 a	0,72 a
		ns	ns

Letras distintas indican diferencias para una $p < 0,05$ en las pruebas de Tukey o de Kruskal-Wallis (*).

Different letters indicate differences at $p < 0.05$ for the Tukey and Kruskal-Wallis tests (*).

En este grupo de muy tolerantes, el riego con agua salina produjo la detención del crecimiento del brote principal, sin diferencias entre los genotipos ($p > 0,05$) (tabla 4).

Tabla 4. Longitud del brote principal, superficie foliar y cantidad de hojas en plantas de *Vitis vinifera* muy tolerantes a la salinidad, medido antes del incremento salino (0 mM NaCl) y después de haber sido sometidas a 66 días de riego salino (100 mM de NaCl)*.

Table 4. Main shoot length, leaf area and number of leaves in five very tolerant to salinity grapevine varieties, measured before saline increase (0 mM NaCl) and after 66 days of irrigation with 100 mM of NaCl*.

Variedad	Longitud del brote principal (cm)	Superficie foliar (cm ² /planta)	Número de hojas/planta
Criolla Grande	42 b	1038 a	29 a
Criolla Centenario Perú	14 c	365 b	12 b
Chardonnay	60 a	829 a	30 a
Grenache	65 a	719 a	31 a
Malbec	51 ab	1008 a	32 a
Valor p (variedad)	0,0000	0,0000	0,0000
Momento			
Inicio del riego salino	43 a	898 a	30 a
Fin del riego salino	50 a	686 b	23 b
Valor p (momento)	ns	0,0058	0,0007
Valor p (variedad x momento)	ns	ns	ns

Letras distintas indican diferencias para una $p < 0,05$ en la prueba de Tukey (*).

Different letters indicate differences at $p < 0.05$ for the Tukey test (*).

A su vez, cuando finalizó el ensayo, la cantidad de hojas se había reducido significativamente (23%) para todas las variedades por igual con respecto a la situación antes del riego salino. Esto afectó el área foliar en una medida similar (24% de reducción), también para todos los genotipos por igual. No hubo interacción entre la variedad y el momento de riego ($p > 0,05$).

Debido a la falta de interacción entre riego salino y variedad, los genotipos vigorosos con brotes más largos, mayor superficie foliar y mayor cantidad de hojas (*i. e.*, Criolla Grande, Chardonnay, Grenache y Malbec) mantuvieron esa tendencia a diferencia de los genotipos menos vigorosos (*i. e.*, Criolla Centenario Perú) al ser regados con 100 mM de NaCl.

Las variedades Chardonnay, Grenache, Malbec y Criolla Grande tuvieron una mayor superficie foliar y cantidad de hojas que Criolla Centenario Perú.

Comparación entre genotipos muy tolerantes (testigos y regados con 100 mM de NaCl)

El riego con 100 mM de NaCl redujo el contenido de clorofila a, en un 54%, y el de clorofila total en un 52% en todos los genotipos muy tolerantes (tabla 5).

Tabla 5. Contenidos de clorofila a y total, e integridad de membranas en genotipos muy tolerantes a la salinidad, en plantas testigos y tratadas con 100 mM de NaCl*.

Table 5. Chlorophyll contents (a and total) and membrane integrity in very tolerant to salinity genotypes, in control plants and irrigated with 100 mM of NaCl*.

	Clorofila total ¹ (mg/m ²)	Clorofila a ¹ (mg/m ²)	Integridad de membranas ¹
Variedad			
Criolla Grande	335 a (455;215)	282 a (391;173)	0,76 a (0,84;0,69)
Criolla Centenario Perú	333 a (481;186)	266 ab (384;147)	sin datos
Chardonnay	256 b (339;174)	211 b (284;139)	0,74 a (0,82;0,66)
Grenache	282 ab (374;191)	237 ab (320;153)	sin datos
Malbec	308 ab (394;222)	248 ab (318;179)	0,77 a (0,83;0,72)
Valor p (variedad)	0,02	0,02	ns
Riego (promedios de genotipos)			
0 mM NaCl	408 a	340 a	0,83 a
100 mM NaCl	197 b	158 b	0,69 b
Valor p (riego)	0,0000	0,0000	0,0002
Valor p (variedad x riego)	ns	ns	

Letras distintas indican diferencias para una $p < 0,05$ en las pruebas de Tukey o de Kruskal-Wallis (*).

Different letters indicate differences at $p < 0.05$ for the Tukey and Kruskal-Wallis tests. (*).

1 El primer resultado indica el promedio entre las plantas testigos e irrigadas con 100 mM de NaCl. Los resultados entre paréntesis corresponden a los tipos de riego (testigo y salino respectivamente).

1 The first value indicates the average between control plants and irrigated with 100 mM of NaCl. The values in parentheses are from the types of irrigation (control and saline respectively).

También afectó la integridad de las membranas celulares en las hojas de los 5 genotipos analizados, disminuyendo un 17%. No se registró interacción entre la variedad y el riego (0 mM y 100 mM de NaCl; $p > 0,05$). Debido a la falta de interacción entre genotipo y riego, los genotipos con mayor contenido de clorofila cuando eran regados solo con solución nutritiva (*i. e.*, testigos) mantuvieron un mayor contenido bajo riego con NaCl (*e.g.*, Criolla Grande). Al realizar la comparación de los 5 genotipos que sobrevivieron al riego con 100 mM de NaCl respecto de los testigos, la variedad Chardonnay fue la única que tuvo el menor contenido de clorofila a y total (211 mg/m² y 256 mg/m² respectivamente). El resto de los genotipos (Criolla Grande, Criolla Centenario Perú, Grenache y Malbec) tuvo el mayor contenido de clorofila a y total. La integridad de las membranas celulares de las hojas de las variedades Criolla Grande, Chardonnay y Malbec fue similar entre sí ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

La especie *Vitis vinifera* ha sido calificada como poco tolerante a la salinidad (17), habiéndose propuesto el uso de portainjertos americanos como una estrategia para mejorar su desempeño (36, 37). A la luz de los resultados de la presente investigación esta afirmación debería relativizarse. Por un lado, la especie en promedio muestra un mayor poder de supervivencia frente a sales que el conjunto de los portainjertos americanos pero, por el otro, manifiesta una gran variabilidad, existiendo algunos genotipos poco tolerantes (*e. g.*, Torrontés Sanjuanino) y otros muy tolerantes (*e. g.*, Criolla Grande). La variabilidad de comportamientos frente a sales en *Vitis vinifera* ya había sido advertida por otros investigadores en estudios *in vitro* (4, 30). En forma empírica los viticultores han considerado que las variedades criollas de *Vitis vinifera* podían ser más tolerantes a sales que las de origen europeo.

En el presente estudio, en cambio, los genotipos criollos en promedio resultaron similares a los europeos en su capacidad de supervivencia. Lo mismo ocurrió en un trabajo con plantas *in vitro* regadas con agua salina (4). Esto parecería indicar que las variedades criollas no deberían considerarse como un grupo distinto del resto de *Vitis vinifera* en cuanto a su tolerancia a sales. De hecho, entre las variedades más tolerantes (*i. e.*, las que sobrevivieron más de 66 días) se encontraban criollas y europeas sin diferencias en contenido de clorofila o integridad de membranas. No obstante, Cavagnaro *et al.* (4) observaron que las variedades criollas tuvieron mayor área foliar que las europeas cuando crecieron *in vitro* con 90 mM de NaCl. En este caso las diferencias entre criollas y europeas podrían atribuirse al agregado de CaCl₂ en el tratamiento salino, ya que este ión tiene un rol importante en la estabilización de las membranas y en la regulación del transporte iónico (16). El Ca⁺² además disminuye el efecto de la salinidad en el crecimiento de algunas especies (6).

La mayor supervivencia en los genotipos de *Vitis vinifera* respecto de los híbridos americanos que se observó en este estudio en macetas, no parece del todo consistente con lo que indica la bibliografía. Por ejemplo, en un ensayo a campo en Australia se observó que 1103 Paulsen era mejor excluidor de iones que *Vitis vinifera*

(cv Sultanina) sin injertar (37), y que esto redundaba en un mayor vigor y producción en las plantas injertadas con este portainjerto (36). El hecho de que 1103 Paulsen sea mejor excluidor no lo haría automáticamente más tolerante a sales, ya que *Vitis vinifera* podría utilizar otros mecanismos de tolerancia (e. g., el ajuste osmótico). Con respecto a esto, Fisarakis *et al.* (12) observaron que en Grecia, Sultanina a pie franco regada con agua salina tuvo mayor área foliar que injertada sobre 1103 Paulsen, 110 Richter y 140 Ruggeri. Si bien como grupo los portainjertos americanos resultaron menos tolerantes a sales que *Vitis vinifera* en cuanto a su capacidad de supervivencia, también mostraron un amplio rango de variabilidad. Esta variabilidad fue antes advertida por otros investigadores en varios trabajos que compararon grupos más restringidos de portainjertos (1, 12, 13, 33, 36, 37).

El presente estudio mostró varias coincidencias con estos trabajos, pero también algunas contradicciones. Troncoso *et al.* (33) advirtieron que 196-17 Castel tuvo una mayor supervivencia a sales que 161-49 Couderc, y este a su vez mayor que 110 Richter y 140 Ruggeri en un estudio *in vitro* y en otro en macetas. Estos resultados coinciden con el orden de tolerancia observado por nosotros. En otro estudio *in vitro*, Alizadeh *et al.* (1) observaron que SO4 era más tolerante que 3309 Couderc, lo que también coincide con nuestras observaciones. En un estudio en macetas no se encontraron diferencias en la expresión vegetativa conferida por cuatro portainjertos (110 Richter, 140 Ruggeri, 1103 Paulsen y SO4) a Sultanina (12). En cambio, en un experimento en macetas regado con agua salina a 50 mM de NaCl, 1103 Paulsen acumuló menos Cl⁻ que SO4, 140 Ruggeri y 110 Richter, y este grupo menos que 101-14 Millardet-Grasset (13), lo que resultaría algo contradictorio con los resultados obtenidos en este estudio en términos de supervivencia, teniendo en cuenta que una alta concentración de iones tóxicos está relacionada con la muerte celular y defoliación de las plantas (21). No puede descartarse que las condiciones en las que se realizan los ensayos influyan sobre las respuestas de los genotipos a la salinidad, habiéndose observado diferencias entre distintos estudios a campo y en maceta (12, 13, 36).

La metodología propuesta en este estudio resultó interesante para analizar la capacidad de los progenitores en conferir tolerancia a salinidad a sus hijos. Así parecería que una buena combinación de *Vitis vinifera*, *Vitis riparia* y/o *Vitis rupestris* sería la más conveniente para un portainjerto. Esta condición se dio en 196-17 Castel, que combinó *V. vinifera* con *V. rupestris* y *V. riparia*, y que mostró la mejor condición dentro de los híbridos americanos (*i. e.*, prácticamente equiparable a los cultivares de *V. vinifera* más tolerantes). Para calificar un progenitor debería analizarse un cantidad relativamente grande de descendientes, cosa que no ocurrió con *Vitis champini*. El hecho de que Freedom haya resultado tan poco tolerante a sales no descalifica a su padre *Vitis champini*, ya que solo se analizó este genotipo. De hecho, Downton (8) demostró que *Vitis champini* tuvo una menor concentración de iones Cl⁻ en peciolos respecto de *Vitis vinifera*, al ser regadas con aguas salinas. Walker *et al.* (35) analizaron el comportamiento de Sultanina sin injertar (*Vitis vinifera*) e injertada con Ramsey (*Vitis champini*) y también concluyeron que el híbrido americano tenía mayor tolerancia al riego con agua salina en condiciones de campo.

Con respecto a los genotipos más tolerantes (*i. e.*, en los que todos los individuos sobrevivieron más de 66 días), resultó importante el hecho de que no se observaran diferencias entre ellos en el contenido de clorofila a y total, o en la integridad de membranas. Siendo este un grupo formado por genotipos de *Vitis vinifera*, indicaría una escasa variabilidad intraespecífica en los tipos más tolerantes dentro de *Vitis vinifera*. En un estudio *in vitro* con cv de mesa de *Vitis vinifera* se encontró, en cambio, que los genotipos que tenían menos clorofila en el testigo sin sal fueron los más afectados por el NaCl a 100 mM (30).

En el presente ensayo se observó que una condición innata desfavorable, como era una menor superficie foliar antes del tratamiento salino, le otorgó a Criolla Centenario Perú una relativamente menor tolerancia a sales dentro del grupo de genotipos más tolerantes. Esta relación entre el vigor innato y la tolerancia a sales ya había sido advertida por Walker *et al.* (36). La menor superficie foliar observada en las plantas muy tolerantes, luego del tratamiento salino, se debió a una pérdida de hojas por intoxicación y muerte, similar a la indicada por Munns (21) y no a una menor expansión celular por déficit hídrico como fue observado por otros investigadores (20, 23). Esto pudo deberse a la alta concentración salina del ensayo si se compara con otros, sobre todo los realizados a campo (8, 12, 26, 35). Estos mismos autores observaron que la menor superficie foliar bajo salinidad estuvo en parte asociada a una menor actividad fotosintética, lo que es consistente con el menor contenido en clorofila a y total observado en este ensayo. La disminución drástica del contenido de clorofila observada en los genotipos más tolerantes pudo haber estado relacionada con diversas causas como la pérdida de turgencia celular (10), la degradación enzimática de la molécula de clorofila (28), la formación de especies reactivas del oxígeno (ROS) o la fotoinhibición (debido al cierre de estomas por el déficit hídrico, asociado al aumento de la energía no disipable en el cloroplasto).

Además, la presencia de iones tóxicos en los tejidos puede haber sido la causa de los daños en las membranas celulares por pérdida de su integridad, debido a la formación de radicales libres y la peroxidación de lípidos. Esto ha sido observado por otros investigadores en diversas especies vegetales cuando sufrían estrés salino (7, 11, 38).

La clasificación propuesta en este estudio, basada en la supervivencia de las plantas sometidas a salinidad, no explica a qué se debió la muerte de los genotipos, pero se podría hipotetizar que el daño en la estructura de la membrana plasmática y la degradación de los pigmentos fotosintéticos (clorofilas), que también debe haber ocurrido en los genotipos menos tolerantes, se cuente entre las causas de su muerte. También podría suponerse que esta ocurrió por una menor exclusión de iones en raíces y por una posterior acumulación a niveles tóxicos en el mesófilo de las hojas (13, 21, 37). En términos de su utilidad como portainjertos, la exclusión salina aparece como un factor de máxima importancia (37). Por tal motivo sería necesario en el futuro identificar cuántos iones tóxicos ingresan a la planta y si ellas mueren por efecto osmótico o tóxico.

CONCLUSIÓN

Los genotipos de *Vitis vinifera* L. (incluyendo cultivares europeos y criollos) tienen una mayor capacidad para sobrevivir al riego con agua salinizada con NaCl que los portainjertos híbridos de *Vitis* americanas. Más allá de la distinta tolerancia a la salinidad que muestran las vides viníferas y los híbridos americanos, dentro de cada grupo existe una amplia variabilidad de comportamientos. De acuerdo con nuestros resultados, los genotipos de *Vitis vinifera* son en general tolerantes y poco tolerantes, mientras que los híbridos de *Vitis* americanas son en general poco tolerantes y sensibles. Entre los genotipos de *Vitis vinifera* más tolerantes a salinidad se cuentan Criolla Centenario Perú, Criolla Grande, Chardonnay, Grenache y Malbec (todos ellos muy tolerantes), y entre los híbridos de *Vitis* americanas 196-17 Castel (tolerante). Entre los genotipos más sensibles a salinidad se cuentan los híbridos americanos Freedom y 3309 Couderc, y la cultivar de *Vitis vinifera* Torrontés Sanjuanino.

Aun en los genotipos más tolerantes a salinidad, el riego con agua salina provoca, luego de dos meses, una disminución apreciable de la superficie foliar, una disminución del contenido de clorofila y una degradación de la integridad de las membranas celulares.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alizadeh, M.; Singh, S. K.; Patel, V. B.; Bhattacharya, R. C.; Yadav, B. P. 2010. *In vitro* responses of grape rootstocks to NaCl. *Biologia Plantarum*. 54(2): 381-385.
2. Antcliff, A. J.; Newman, H. P.; Barrett, H. C. 1983. Variation in chloride accumulation in some American species of grapevine. *Vitis*. 22: 357-362.
3. Barranco, D.; Ruiz, N. 2005. Frost tolerance of eight olive cultivars. *HortScience*. 40: 558-560.
4. Cavagnaro, J. B.; Ponce, M. T.; Guzmán, J.; Cirrincione, M. A. 2006. Argentinean cultivars of *Vitis vinifera* grow better than European ones when cultured *in vitro* under salinity. *Biocell*. 30: 6-13.
5. Colmer, T. D. 1999. Halophytes and adaptation to salt. In: *Plants in Action: Adaptation in Nature, Performance in Cultivation*. Eds.: Atwell, B.; Kriedemann, P.; Turnbull, C. Macmillan Education Australia Pty Ltd. Melbourne, Australia. p. --- ---.
6. Cramer, G. R.; Läuchli, A.; Epstein, E. 1986. Effect of NaCl and CaCl₂ on ion activities in complex nutrient solutions and root growth of cotton. *Plant Physiol*. 81, 792-797.
7. Dionisio-Sese, M. L.; Tobita, S. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*. 135: 1-9.
8. Downton, W. J. S. 1977. Photosynthesis in salt-stressed grapevines. *Australian Journal of Plant Physiology* 4: 183-92.
9. Downton, W. J. S. 1977. Chloride accumulation in different species of grapevines. *Scientia Horticulturae* 7: 249-253.
10. Downton, W. J. S.; Millhouse, J. 1985. Chlorophyll fluorescence and water relations of salt stressed plants. *Plant Science Letters*. 37: 205-212.
11. Esfandiari, E.; Shekari, F.; Shekari, F.; Esfandiari, M. 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 35(1): 48-56.
12. Fisarakis, I.; Chartzoulakis, K.; Stavrakas, D. 2001. Response of Sultana vines (*V. vinifera* L.) on six rootstocks to NaCl salinity exposure and recovery. *Agricultural Water Management* 51:13-27.
13. Fort, K. P.; Lowe, K. M.; Thomas, W. A.; Walker, M. A. 2013. Cultural conditions and propagule type influence relative chloride exclusion in grapevine rootstocks. *Am. J. Enol. Vitic*. 64: 241-250.
14. Hoffman, G. J.; Shalhevet, J. 2007. Controlling salinity. In: *Design and Operation of Farm Irrigation Systems*. 2nd edition. Eds.: Hoffman, G. J.; Evans, R. G.; Jensen, M. E.; Martin, D. L.; Elliot, R. L. American Society of Agricultural and Biological Engineers. p. 150-170.

15. INV. Instituto Nacional de Vitivinicultura. 2013. Disponible en: <http://www.inv.gov.ar/principal.php?ind=1> (Consulta: junio 2013).
16. Läuchli, A.; Epstein, E. 1970. Transport of potassium and rubidium in plant roots: the significance of calcium. *Plant Physiol.* 45: 639-641.
17. Maas, E. V.; Hoffman, G. J. 1977. Crop salt-tolerance - current assessment. *Journal of the Irrigation and Drainage Division of the American Society of Civil Engineers.* 103: 115-134.
18. Morábito, J. 1997. El riego en el mundo, Argentina y Mendoza. INA - CRA, Mendoza. --- p.
19. Morábito, J.; Mirábito, C.; Manzanera, M.; Cappé, O.; Tozzi, D.; Mastrantonio, L. 2005. Evolución de la salinidad de suelos regadíos e incultos en el área del río Mendoza. *Actas del XX Congreso Nacional del Agua - II Simposio de Recursos Hídricos del Cono Sur, Mendoza. CONAGUA. Departamento General de Irrigación. Mendoza.* p. 1-10.
20. Munns, R. 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment.* 16: 15-24.
21. Munns, R. 2002. Comparative Physiology of Salt and Water Stress. *Plant, Cell and Environment* 25: 239-250.
22. Munns, R.; Tester, M. 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology.* 59: 651.
23. Neves-Piestun, B. G.; Bernstein, N. 2001. Salinity-induced inhibition of leaf elongation in maize is not mediated by changes in cell wall acidification capacity. *Plant Physiology.* 125: 1419-1428.
24. Ortíz Maldonado, G.; Morábito, J.; Rearte, E.; Mastrantonio, L. 2005. Salinidad del agua freática en el área regadía del Río Mendoza. *Rev. FCA UNCUYO.* 37(2): 51-64.
25. Poorter, H.; Van Berkel, J. 2012. Chlorophyll extraction and determination. Promethus Wiki. Disponible en: <http://promethuswiki.publish.csiro.au/tikipagehistory.php?page=Chlorophyll%20extraction%20and%20determination&preview=11> (Consulta: agosto 2012).
26. Prior, L. D.; Grieve, A. M.; Cullis, B. R. 1992. Sodium chloride and soil texture interactions in irrigated field grown sultana grapevines. II Plant mineral content, growth and physiology. *Australian Journal of Agricultural Research.* 43: 1067-1083.
27. Richards, L. A. 1954. Diagnóstico y rehabilitación de suelos salinos y sódicos. Manual de agricultura n° 60. Departamento de Agricultura de Estados Unidos. Secretaría de Agricultura y Ganadería, México. p. 1-35.
28. Santos, C. V. 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae.* 103: 93-99.
29. Sauer, M. R. 1968. Effects of vine rootstocks on chloride concentration in Sultana scions. *Vitis.* 7: 223-226.
30. Singh, S. K.; Sharma, H. C.; Goswami, A. M.; Datta, S. P.; Singh, S. P. 2000. *In vitro* growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. *Biologia plantarum.* 43(2):283-286.
31. Sivritepe, N.; Sivritepe, H. Ö.; Çelik, H.; Katkat, A. V. 2010. Salinity Responses of Grafted Grapevines: Effects of Scion and Rootstock Genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanic Cluj.* 38: 193-201.
32. Tregeagle, J. M.; Tisdall, J. M.; Tester, M.; Walker, R. R. 2010. Cl⁻ uptake, transport and accumulation in grapevine rootstocks of differing capacity for Cl⁻ exclusion. *Functional Plant Biology.* 37: 665-673.
33. Troncoso, A.; Matte, C.; Cantos, M.; Lavee, S. 1999. Evaluation of salt tolerance of *in vitro*-grown grapevine rootstock varieties. *Vitis.* 38: 55-60.
34. Vásquez-Tello, A.; Zuily-Fodil, Y.; Pham Thi, A. T.; Vieira da Silva, J. 1990. Electrolyte and Pi leakages and soluble sugar content as physiological tests for screening resistance to water stress in *Phaseolus* and *Vigna* species. *Journal of Experimental Botany.* 41: 827-832.
35. Walker, R. R.; Blackmore, D. H.; Clingeleffer, P. R.; Iacono, F. 1997. Effect of salinity and rootstock on ion concentrations and carbon dioxide assimilation in leaves of drip-irrigated field grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana). *Australian Journal of Grape and Wine Research.* 3: 66-74.
36. Walker, R. R.; Blackmore, D. H.; Clingeleffer, P. R.; Correll, R. L. 2002. Rootstock effects on salt tolerance of irrigated field - grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana): 1. Yield and vigour inter - relationships. *Australian Journal of Grape and Wine Research.* 8(1): 3-14.
37. Walker, R. R.; Blackmore, D. H.; Clingeleffer, P. R.; Correll, R. L. 2004. Rootstock effects on salt tolerance of irrigated field-grown grapevines (*Vitis vinifera* L. cv. Sultana): 2. Ion concentrations in leaves and juice. *Australian Journal of Grape and Wine Research.* 10: 90-99.
38. Yasar, F.; Ellialtioglu, S.; Yildiz, K. 2008. Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean. *Russian journal of plant physiology.* 55(6): 782-786.