



Guía sobre las
**enfermedades
fúngicas**
de la madera de la vid

**Grupo de Trabajo de Experimentación
en Viticultura y Enología**

Madrid, 2020



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE AGRICULTURA, PESCA
Y ALIMENTACIÓN

Guía sobre las
**enfermedades
fúngicas**
de la madera de la vid

Grupo de Trabajo de Experimentación
en Viticultura y Enología

Madrid, 2020

Autores:**DAVID GRAMAJE PÉREZ**

Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV),
Consejo Superior de Investigaciones Científicas
Universidad de La Rioja – Gobierno de La Rioja.
Ctra. LO-20, salida 13. Finca La Grajera.
26007 Logroño (La Rioja).
Tfno.: 941894989. E-mail: david.gramaje@icvv.es

JOSEP ARMENGOL FORTÍ

Instituto Agroforestal Mediterráneo,
Universitat Politècnica de València,
Camino de Vera s/n, 46022 Valencia.
Tfno.: 963879254. E-mail: jarmengo@eaf.upv.es

ENRIQUE BARAJAS TOLA

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL),
Ctra. Burgos km 119, Finca Zamadueñas,
47071 Valladolid.
Tfno.: 983317457. E-mail: BarTolEn@itacyl.es

MÓNICA BERBEGAL MARTÍNEZ

Instituto Agroforestal Mediterráneo,
Universitat Politècnica de València,
Camino de Vera s/n, 46022 Valencia.
Tfno.: 963879254. E-mail: mobermar@etsia.upv.es

JUAN LUIS CHACÓN VOZMEDIANO

Instituto de la Vid y el Vino
de Castilla-La Mancha (IVICAM),
Ctra. Toledo-Albacete s/n, 13700 Tomelloso.
Tfno.: 926277675. E-mail: jlchacon@jccm.es

JOSE FÉLIX CIBRIAIN SABALZA

Estación de Viticultura y Enología de Navarra
(EVENA), Sección de Viticultura y Enología
del Gobierno de Navarra, 31390 Olite.
Tfno.: 948747107. E-mail: jf.cibriain.sabalza@navarra.es

EMILIA DÍAZ LOSADA

Estación de Viticultura y Enología de Galicia
(AGACAL-EVEGA),
Ponte San Clodio s/n, 32428 Leiro (Ourense).
Tfno.: 988788086. E-mail: emilia.diaz.losada@xunta.gal

BEATRIZ LÓPEZ MANZANARES

Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV),
Consejo Superior de Investigaciones Científicas
– Universidad de La Rioja – Gobierno de La Rioja.
Ctra. LO-20, salida 13. Finca La Grajera.
26007 Logroño (La Rioja).
Tfno.: 941894989. e-mail: beatriz.lopez@icvv.es

RAMONA MARÍA MUÑOZ GÓMEZ

Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria
(SEDAF), Instituto Técnico Agronómico Provincial
de Albacete (ITAP), Parque Empresarial Campollano, 2.
Avenida, 61, 02007 Albacete.
Tfno.: 967190090. E-mail: rmg.itap@dipualba.es

MARÍA DEL PILAR MARTÍNEZ DIZ

Estación de Viticultura y Enología de Galicia
(AGACAL-EVEGA),
Ponte San Clodio s/n, 32428 Leiro (Ourense).
Tfno.: 988788086. E-mail: pilar.martinez.diz@xunta.gal

JOSÉ ANTONIO RUBIO CANO

Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL),
Ctra. Burgos km 119, Finca Zamadueñas, 47071 Valladolid.
Tfno.: 983317452. E-mail: rubcanjo@itacyl.es

ANA SAGÜÉS SARASA

Estación de Viticultura y Enología de Navarra (EVENA),
Sección de Viticultura y Enología del Gobierno
de Navarra, 31390 Olite.
Tfno.: 9487471707. E-mail: ana.sagues.sarasa@navarra.es

Reunión Grupo de Trabajo de experimentación en viticultura y enología.

34ª Reunión: Centro de Transferencia Agroalimentaria: Gobierno de Aragón:
Zaragoza: 10 y 11 de abril de 2019. ANEXO

Edita:

Ministerio de Agricultura, Pesca
y Alimentación

Distribución y venta:

Pº de la Infanta Isabel, 1
28014 Madrid

Diseño y Maquetación:

Cristina Rico

Teléfono: 91 347 55 41

Fax: 91 347 57 22

Fotografía:

Pexels: Moritz Knöringer

Impresión y Encuadernación:

e-mail: centropublicaciones@mapama.es
Tienda virtual: <https://servicio.mapama.gob.es/tienda/>

NIPO: 003200229 (papel)

NIPO: 003200230 (en línea)

Depósito Legal: M-5822-2020

Catálogo general de publicaciones oficiales:

<https://cpage.mpr.gob.es>

ÍNDICE

Consideraciones generales

1. Introducción	5
2. Enfermedades y agentes implicados	7
1.1. Pie negro	7
1.2. Enfermedad de Petri	8
1.3. Decaimiento por Botyrosphaeria	8
1.4. Yesca	8
1.5. Eutipiosis	10
1.6. Excoriosis / decaimiento por Diaporthe	10
3. Situación en España	11
4. Biología de los agentes causales y epidemiología de las enfermedades	14
5. Control	17
Bibliografía	20

Experiencias en distintas regiones vitivinícolas

1. Castilla-La Mancha	27
2. Castilla y León	45
3. Comunidad Valenciana	52
4. Galicia	56
5. Navarra	72
6. La Rioja	78

CONSIDERACIONES GENERALES

1. Introducción

Las enfermedades fúngicas de la madera de la vid (EMV) son uno de los retos más importantes que actualmente debe afrontar la viticultura en todo el mundo para su sostenibilidad. Estas enfermedades causan daños severos en el viñedo todos los años y su incidencia está creciendo rápidamente en todos los países productores (De la Fuente *et al.*, 2016).

Las EMV están causadas por varios hongos patógenos que viven y colonizan la madera de los órganos perennes, causando necrosis y decoloración de la madera, infecciones vasculares, y descomposición esponjosa seca. Las viñas afectadas muestran, externamente, un decaimiento general y progresivo (retraso de la brotación, yemas muertas, decaimiento de la planta, parada del desarrollo, clorosis, apoplejía, etc.), generalmente asociado a unos síntomas foliares acordes a las diferentes enfermedades, que inicialmente pueden causar pérdida de productividad y eventualmente la muerte de las plantas (Gramaje *et al.*, 2018).

En España se estima una media del 3% de plantas afectadas por EMV, aunque existen plantaciones recién establecidas en las que su incidencia podría superar el 20%, generando pérdidas económicas anuales muy elevadas (De la Fuente *et al.*, 2016). Según estimaciones recientes, el coste anual de replantar el 1% de vid del cultivar Tempranillo en La Rioja debido a las EMV asciende a 7,16 millones de euros anuales (Martínez-Diz *et al.*, 2019). En Francia, se estima que aproximadamente un 12% de los viñedos son improductivos debido a las EMV, causando unas pérdidas anuales de 1 billón de euros (Lorch, 2014).

Podemos agrupar las EMV en enfermedades que afectan a las plantas jóvenes pocos años después de la plantación (enfermedad de Petri y pie negro) y enfermedades de plantas adultas, que suelen aparecer más tarde en el viñedo ya establecido (yesca, eutipiosis y los decaimientos por *Botryosphaeria* y *Diaporthe*) (Figura 1). Estas enfermedades causan pérdidas importantes de producción y suponen

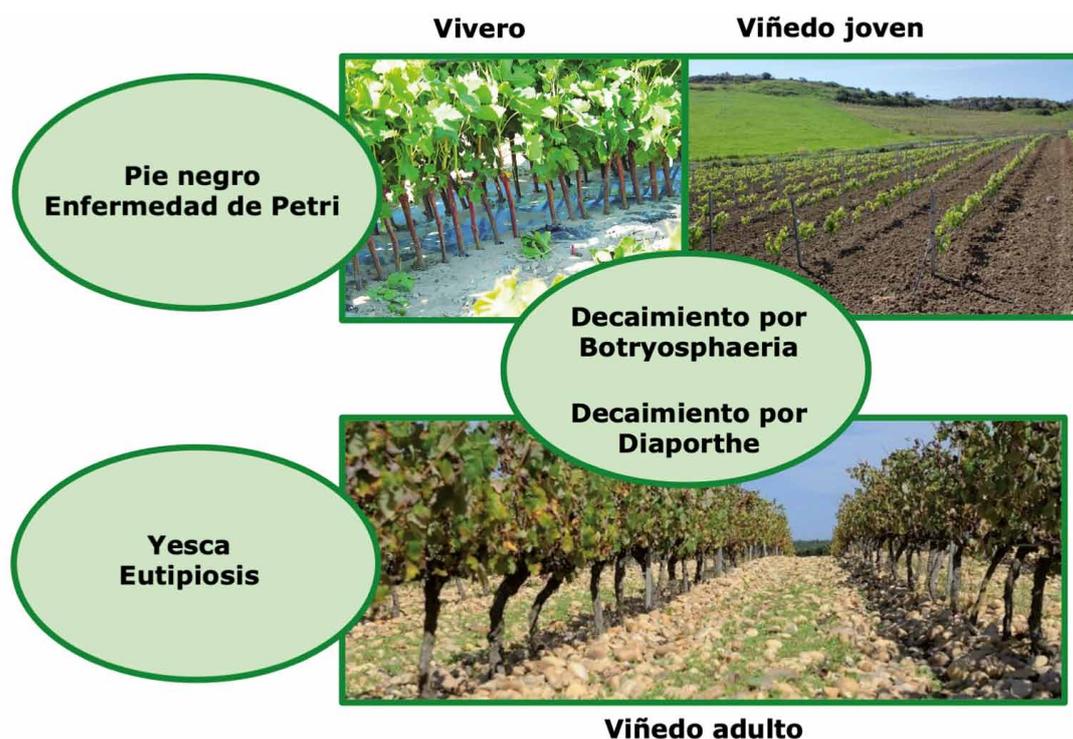


Figura 1. Enfermedades fúngicas de la madera de la vid.

elevados costes económicos adicionales, debido a la necesidad de replantación de las plantas muy afectadas o muertas (Armengol, 2017). El incremento global en incidencia de las EMV, junto con la dificultad de desarrollar estrategias de manejo efectivo, han situado a las EMV como una de las principales prioridades de investigación para las industrias vitivinícola y de uva de mesa en todo el mundo. Aunque la reducción en la disponibilidad de materias químicas efectivas para el control de las EMV ha jugado un papel importante en el impacto que estas enfermedades han tenido en la sanidad vegetal de las viñas, éste es también consecuencia de los cambios experimentados en la viticultura durante los pasados 30 años. Entre otros se pueden señalar: el incremento en la densidad de plantas en los viñedos; el aumento en el uso del doble cordón; la realización de podas más cortas; y la mecanización de prácticas del viñedo, en especial la poda, que han favorecido el incremento de las infecciones causadas por hongos asociados a las EMV en viñas. Además, el aumento de los costes de producción, en particular de la mano de obra, reduce la capacidad de los agricultores para incrementar los insumos, como la protección de heridas de poda (Gramaje *et al.*, 2018).

2. Enfermedades y agentes implicados

A continuación, se describen estas enfermedades, destacando su sintomatología característica y sus agentes causales:

Pie negro

Esta enfermedad afecta principalmente al material de plantación en viveros de vid y a plantas jóvenes. Durante la primavera, las plantas de vid afectadas por el pie negro presentan un retraso en su desarrollo, con una vegetación débil, hojas cloróticas y achaparradas por la falta de agua y entrenudos más cortos (Agustí-Brisach y Armengol, 2013). En ocasiones, algunas yemas o la planta entera no llegan ni a brotar. Estos síntomas de la parte aérea son consecuencia de los daños sufridos en las raíces y cuello de la planta, que es dónde ocurre la infección. Asimismo, estos síntomas son muy generales y pueden fácilmente confundirse con los producidos por la enfermedad de Petri (Figura 2a).

Las raíces de las plantas afectadas presentan lesiones oscuras, necróticas y deprimidas, con la consiguiente reducción de la barbada. En ocasiones, para compensar esta pérdida de masa radicular, algunas plantas desarrollan una nueva emisión de raíces, normalmente por encima de la zona afectada, quedando más cercana a la superficie del suelo. En la madera del portainjerto se observan coloraciones oscuras y necrosis que se inician desde su base y se extienden hacia arriba. En cortes transversales, estas lesiones necróticas pueden ir desde la corteza hasta la médula (Figura 2b y 2d). En ocasiones, los daños del pie negro se corresponden con una deformación de la raíz causada en el momento de la plantación (Figura 2c).

Estos síntomas pueden, finalmente, conducir a la muerte de la planta en la misma campaña o en las campañas siguientes, ocurriendo más rápidamente cuanto más joven es la planta afectada (Grasso, 1984; Maluta y Larignon, 1991; Rego *et al.*, 2000; Halleen *et al.*, 2004, 2006). Las coloraciones oscuras y las necrosis, principalmente en la base del portainjerto, son las que han dado a la enfermedad el nombre de pie negro (Maluta y Larignon, 1991).

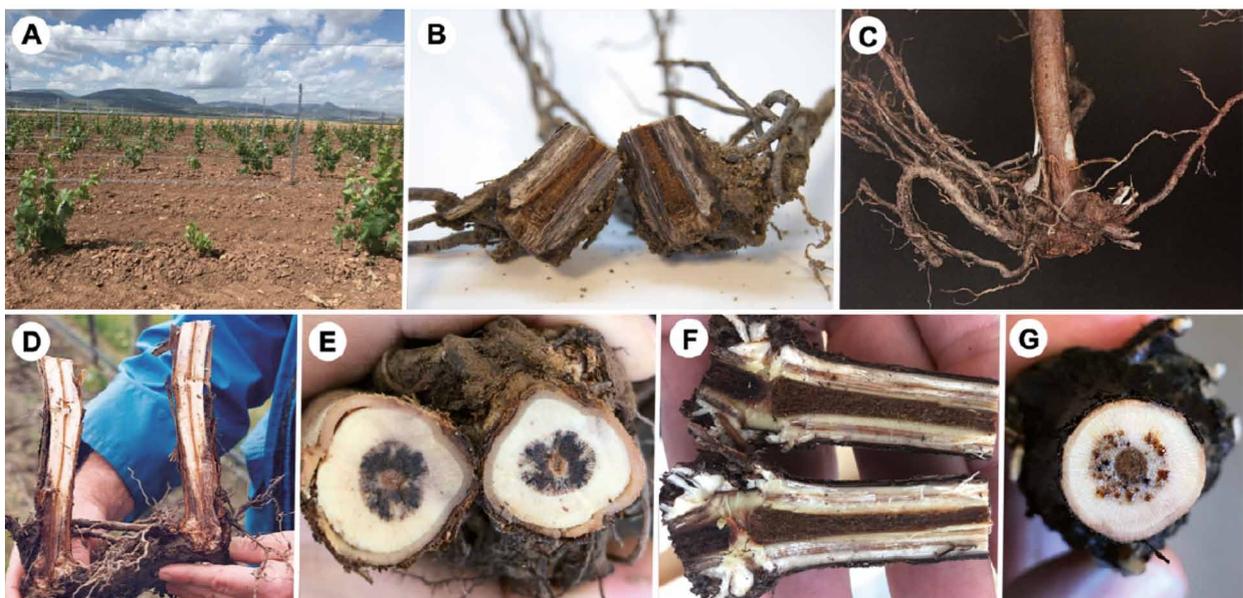


Figura 2. (a). Plantas con menor crecimiento debido a la enfermedad de Petri y el pie negro. (b) y (d). Síntomas internos de pie negro en la base del portainjerto. (c) Deformación de la raíz causada en el momento de la plantación. (e-f) Enfermedad de Petri: necrosis de los haces xilemáticos en la base del portainjerto. (g) Exudación gomosa de color negro asociada a la enfermedad de Petri.

Varias especies de hongos pertenecientes a los géneros *Campylocarpon*, *Cylindrocladiella*, *Dactylonectria*, *Ilyonectria*, *Neonectria*, *Pleiocarpon* y *Thelonectria* han sido asociadas a la enfermedad del pie negro (Gramaje *et al.*, 2018; Aigoun-Mouhous *et al.* 2019; Lawrence *et al.*, 2019; Berlanas *et al.*, 2020), siendo *Dactylonectria torresensis* la especie más frecuente aislada de vides con síntomas de la enfermedad en España (Berlanas *et al.*, 2017).

Enfermedad de Petri

La enfermedad de Petri también es frecuente en el material de propagación en vivero y en plantas jóvenes, apareciendo sus síntomas pocos años tras la plantación (Gramaje y Armengol, 2011). Los síntomas asociados con esta enfermedad incluyen retraso en el desarrollo y escasa vitalidad de las plantas (Figura 2a), brotes con entrenudos cortos, hojas de menor tamaño y cloróticas y, finalmente, la muerte de las plantas. En estas plantas es habitual encontrar un sistema radical pobremente desarrollado y, al cortar por la zona basal del portainjerto, se observa un oscurecimiento de los haces xilemáticos, generalmente en forma de anillo (Figura 2e y 2f), que con el tiempo suele emitir una exudación gomosa de color negro (Figura 2g). Esta afección recibe el nombre de «Enfermedad de Petri» en reconocimiento al investigador italiano Lionello Petri que ya describió esta necrosis xilemáticas en plantas de vid en 1912.

Los agentes causales son *Phaeomoniella chlamydospora*, 29 especies pertenecientes al género *Phaeoacremonium*, *Pleurostoma richardsiae* y seis especies del género *Cadophora* (Gramaje *et al.*, 2018).

Decaimiento por *Botryosphaeria*

Antiguamente denominada como «Brazo negro muerto», esta enfermedad puede afectar al material de propagación en vivero, a plantas jóvenes y también a vides adultas. Internamente, los síntomas son similares a los causados por *Eutypa lata* y otros hongos pertenecientes a la familia Diatrypaceae (que se abordarán más adelante al comentar la eutipiosis), observándose necrosis sectoriales de la madera, de color marrón oscuro y consistencia dura (Figura 3b). Externamente, en los brazos afectados las hojas se desecan completamente, se arrugan y caen, no quedando más que algunas en la parte terminal (Figura 3a). Muy avanzada la enfermedad, se pueden ver afectadas las inflorescencias e incluso el fruto puede desecarse por completo (Úrbez-Torres *et al.*, 2013). El decaimiento por *Botryosphaeria* está causado por 26 especies de la familia Botryosphaeriaceae, siendo las más frecuentes en España *Diplodia seriata* y *Neofusicoccum parvum*.

Yesca

Esta enfermedad se desarrolla principalmente en plantas adultas. Externamente se puede presentar bajo dos formas según su evolución: lenta y rápida o apopléjica. En la primera, las hojas muestran coloraciones en las zonas internerviales, que son amarillentas en los cultivares de uva blanca y rojizas en los de uva tinta, y que posteriormente evolucionan a necrosis (Figura 3c). La producción se reduce y los racimos pueden llegar a pasificarse prematuramente. Estos síntomas pueden manifestarse de forma crónica en algunas plantas y de forma totalmente errática en otras, de manera que pueden desarrollarse en un año concreto, pero no el siguiente. En la forma apopléjica se produce la muerte repentina de la planta, generalmente en los meses de verano y, a veces, sin que las plantas hayan manifestado previamente ningún tipo de síntoma (Figura 3d). Las secciones transversales y longitudinales de los troncos afectados muestran una diversidad de síntomas internos de la madera, como estrías y punteaduras necróticas en el xilema, a veces rodeadas por una decoloración de la madera de color rosa a marrón (Figura 3e). En estados avanzados de la enfermedad, suele observarse una podredumbre seca y esponjosa de la madera en las zonas centrales del tronco y/o brazos (Figura 3f).

La yesca está causada por los hongos Basidiomicetos *Fomitiporia mediterranea* y, con menor frecuencia, *Stereum hirsutum*. De los puntos y estrías necróticas se aíslan mayoritariamente los hongos Ascomicetos *P. chlamydospora* y *Phaeoacremonium* spp. Actualmente, se considera que la enfermedad de Petri y la yesca están estrechamente relacionadas entre sí, habiéndose postulado una secuencia en el ataque de los hongos que las causan: *P. chlamydospora* y *Phaeoacremonium* spp. actuarían como pioneros en la degradación de la madera favoreciendo la colonización posterior de ésta por los hongos Basidiomicetos (Mugnai *et al.*, 1999).

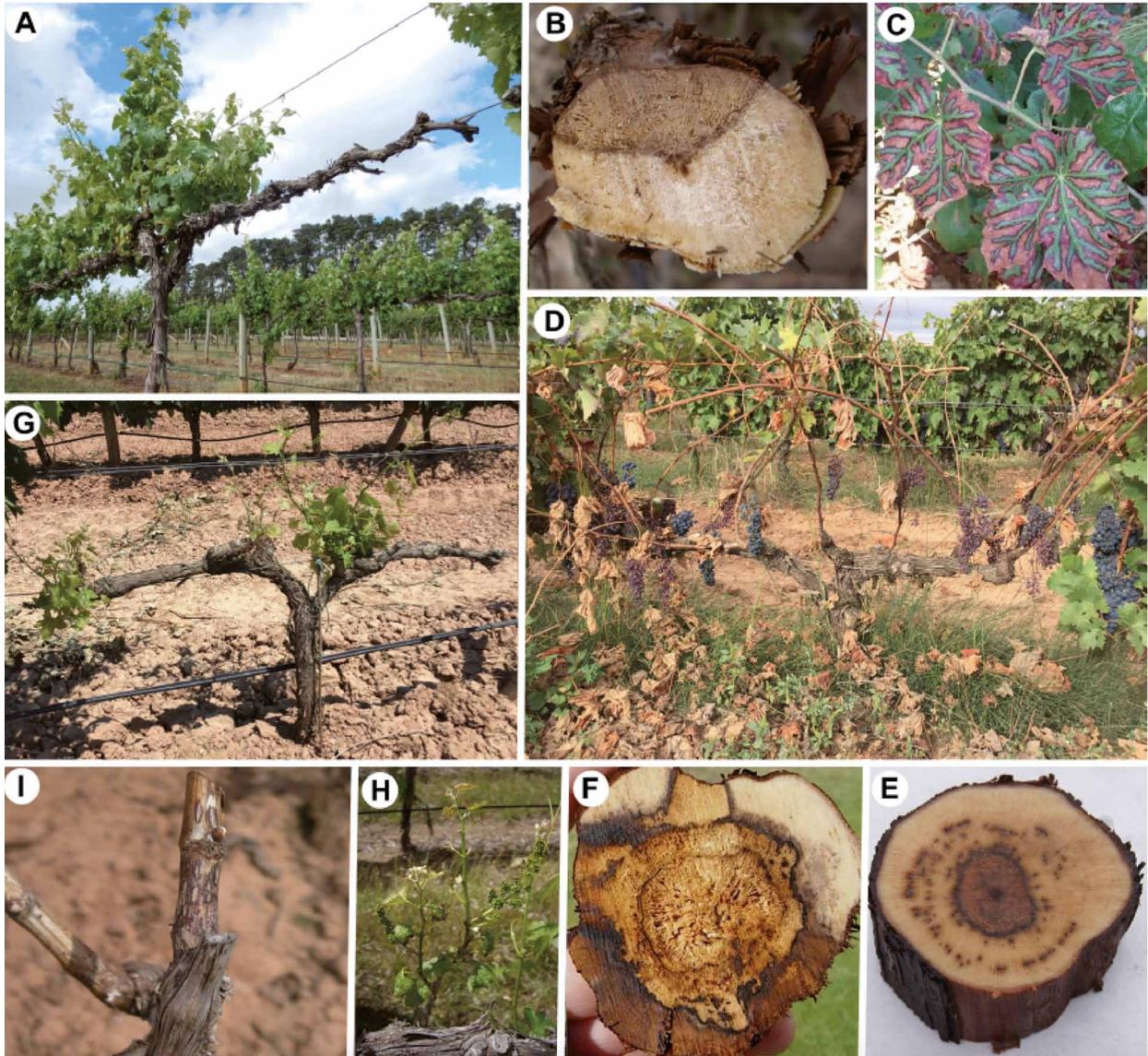


Figura 3. (a) Síntoma en viñedo del decaimiento por *Botryosphaeria*: desecación de sarmientos y muerte del brazo (foto: J.R. Úrbez-Torres). (b) Necrosis sectoriales en la madera que toman color marrón oscuro y consistencia dura asociadas a eutipiosis, decaimiento por *Botryosphaeria* y *Diaporthe*. (c) Síntomas externos de yesca asociados a la forma lenta o crónica: coloraciones internerviales en hojas que toman progresivamente una coloración rojiza en las de uva tinta. (d) Síntomas externos de yesca asociados a la forma rápida o apopléjica: muerte repentina de la planta; síntomas de yesca en madera de vid: punteaduras necróticas en el xilema (e) y podredumbre esponjosa de color blanco-amarillento (f). (g-h) Síntomas externos de eutipiosis: brotes débiles, con entrenudos cortos, hojas más pequeñas y algo deformadas, cloróticas y con necrosis, generalmente marginales. (i) Necrosis oscuras y grietas superficiales en la corteza asociadas a excoriosis (foto: J.L. Ramos Sáez de Ojer).

Eutipiosis

Esta enfermedad se desarrolla principalmente en plantas adultas. Los síntomas en los brotes, que se manifiestan durante la primavera, corresponden a sarmientos débiles, con entrenudos cortos, hojas pequeñas, cloróticas y con necrosis marginales, y racimos abortados (Figura 3g y 3h). Algunos de estos síntomas externos se cree que están causados por diferentes compuestos tóxicos producidos por los hongos asociados a la enfermedad (Mahoney *et al.*, 2005). En cortes transversales de los troncos o brazos afectados aparecen unas necrosis sectoriales en forma de V, muy típicas de la enfermedad, que recorren el xilema desde la parte más externa hasta la médula (Figura 3b) (Péros y Berger, 1994). Esta enfermedad está causada por la especie *Eutypa lata*, que ha sido señalada como el único agente causal asociado a los síntomas foliares de eutipiosis (Trouillas y Gubler, 2010). Sin embargo, otras muchas especies de la familia Diatrypaceae se han aislado también de plantas con síntomas internos de la enfermedad (Luque *et al.*, 2012; Trouillas *et al.*, 2010).

Excoriosis / decaimiento por *Diaporthe*

La excoriosis puede afectar al material de propagación en vivero, plantas jóvenes y adultas, observándose sus síntomas en todos los órganos verdes de la vid. En hojas, los síntomas se manifiestan por la presencia de manchas oscuras, localizadas preferentemente en el peciolo y nervios principales. En brotes jóvenes y sarmientos, se observan necrosis oscuras, ocasionando grietas superficiales en la corteza y se localizan preferentemente en los tres o cuatro primeros entrenudos del sarmiento (Figura 3i). En racimos, los síntomas se localizan en el pedúnculo y en el raquis, y su manifestación es muy parecida a la descrita en las hojas. Varias especies del género *Diaporthe* han sido asociadas a la enfermedad, siendo *Diaporthe ampelina* (= *Phomopsis viticola*) la especie más virulenta. En EE. UU., esta enfermedad se conoce como «Phomopsis cane and leaf spot» (Heawitt and Pearson, 1988).

Investigaciones recientes llevadas a cabo en varias regiones vitivinícolas de EE. UU. indican que *Diaporthe* spp. pueden estar asociadas también a necrosis sectoriales de la madera de color marrón oscuro y consistencia dura similares a lo descrito anteriormente en el decaimiento por *Botryosphaeria* y en la eutipiosis (Úrbez-Torres *et al.*, 2006; Baumgartner *et al.*, 2013). Este hecho permitió la reevaluación del papel de *Diaporthe* spp. como agentes causales de síntomas internos en la madera de la vid, y a la introducción de la enfermedad denominada decaimiento por *Diaporthe* («Phomopsis dieback») (Úrbez-Torres *et al.*, 2013). Hasta la fecha, la observación de estos síntomas internos de la madera asociados a *Diaporthe* spp. en España no ha sido frecuente.

Aunque cada una de estas seis enfermedades se ha descrito independientemente, la realidad es que los síntomas que afectan a la madera de vid suelen desarrollarse superpuestos, de forma que se encuentran en numerosas ocasiones necrosis sectoriales junto con punteaduras y/o podredumbres esponjosas secas. En general, se puede afirmar que no hay una correspondencia unívoca entre la sintomatología externa observada en la planta y los síntomas internos de la madera. La situación tampoco es tan simple en lo que se refiere a las patologías descritas: normalmente se asocia a cada una de éstas el patógeno que se aísla más frecuentemente, pero esto no implica que sea el único presente ni el principal agente causal. Por ello, el conjunto de afecciones debe ser considerado como representativo de un complejo de enfermedades, algunas de las cuales pueden ser a su vez también de etiología compleja.

3. Situación en España

De igual forma que en el resto de los países en los que se cultiva vid en el mundo, en España también se ha incrementado el impacto de las EMV en los últimos años. A pesar de que en nuestro país todavía faltan importantes zonas vitícolas por prospectar, los muestreos existentes confirman la presencia de todas las EMV comentadas anteriormente. En la Tabla 1 se indican las especies de hongos de la madera de la vid detectados hasta la fecha en España.

Enfermedad	Agente causal	Referencia
Yesca/ Enfermedad de Petri	<i>Cadophora luteo-olivacea</i>	Gramaje <i>et al.</i> 2011b
	<i>Cadophora viticola</i>	Gramaje <i>et al.</i> 2011b
	<i>Fomitiporia mediterranea</i>	Armengol <i>et al.</i> 2001
	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i>	Armengol <i>et al.</i> 2001
	<i>Phaeoacremonium cinereum</i>	Gramaje <i>et al.</i> 2009b
	<i>Phaeoacremonium fraxinopennsylvanicum</i>	Gramaje <i>et al.</i> 2007
	<i>Phaeoacremonium hispanicum</i>	Gramaje <i>et al.</i> 2009b
	<i>Phaeoacremonium inflatipes</i>	Gramaje <i>et al.</i> 2009a
	<i>Phaeoacremonium iranianum</i>	Gramaje <i>et al.</i> 2009a
	<i>Phaeoacremonium krajdennii</i>	Gramaje <i>et al.</i> 2011a
	<i>Phaeoacremonium minimum</i>	Armengol <i>et al.</i> 2001
	<i>Phaeoacremonium parasiticum</i>	Aroca <i>et al.</i> 2006
	<i>Phaeoacremonium scolyti</i>	Gramaje <i>et al.</i> 2008
	<i>Phaeoacremonium sicilianum</i>	Gramaje <i>et al.</i> 2009a
	<i>Phaeoacremonium viticola</i>	Aroca <i>et al.</i> 2008a
<i>Pleurostoma richardsiae</i>	Pintos <i>et al.</i> 2016	
<i>Stereum hirsutum</i>	Armengol <i>et al.</i> 2001	
Eutipiosis	<i>Anthostoma decipiens</i>	Luque <i>et al.</i> 2012
	<i>Crytovalsa ampelina</i>	Luque <i>et al.</i> 2006
	<i>Eutypa lata</i>	Martínez-Olarte <i>et al.</i> 1998
	<i>Eutypa leptoplaca</i>	Luque <i>et al.</i> 2009
	<i>Eutypella citricola</i>	Luque <i>et al.</i> 2012
	<i>Eutypella microtheca</i>	Luque <i>et al.</i> 2012
	<i>Eutypella vitis</i>	Luque <i>et al.</i> 2009
<i>Fomitiporia punctata</i>	Armengol <i>et al.</i> 2001	

Tabla 1. Especies de hongos de la madera de la vid detectados en España.

Enfermedad	Agente causal	Referencia
Decaimiento por Botryosphaeria	<i>Botryosphaeria dothidea</i>	Armengol <i>et al.</i> 2001
	<i>Diplodia corticola</i>	Pintos <i>et al.</i> 2011
	<i>Diplodia mutila</i>	Martin y Cobos 2007
	<i>Diplodia seriata</i>	Armengol <i>et al.</i> 2001
	<i>Dothiorella iberica</i>	Martin y Cobos 2007
	<i>Dothiorella sarmentorum</i>	Martin y Cobos 2007
	<i>Lasidiplodia theobromae</i>	Aroca <i>et al.</i> 2008b
	<i>Neofusicoccum australe</i>	Aroca <i>et al.</i> 2010
	<i>Neofusicoccum luteum</i>	Martos y Luque 2004
	<i>Neofusicoccum mediterraneum</i>	Aroca <i>et al.</i> 2010
	<i>Neofusicoccum parvum</i>	Martos y Luque 2004
	<i>Neofusicoccum vitifusiforme</i>	Aroca <i>et al.</i> 2010
	<i>Spencermartinsia viticola</i>	Luque <i>et al.</i> 2005
Decaimiento por Diaporthe	<i>Diaporthe ambigua</i>	Guarnaccia <i>et al.</i> 2018
	<i>Diaporthe ampelina</i>	Martin y Cobos 2007
	<i>Diaporthe baccae</i>	Guarnaccia <i>et al.</i> 2018
	<i>Diaporthe eres</i>	Guarnaccia <i>et al.</i> 2018
	<i>Diaporthe hispaniae</i>	Guarnaccia <i>et al.</i> 2018
	<i>Diaporthe hungariae</i>	Guarnaccia <i>et al.</i> 2018
	<i>Diaporthe novem</i>	Pintos <i>et al.</i> 2018
	<i>Diaporthe phaseolorum</i>	Pintos <i>et al.</i> 2018
	<i>Diaporthe rudis</i>	Guarnaccia <i>et al.</i> 2018
Pie negro	<i>Campylocarpon fasciculare</i>	Alaniz <i>et al.</i> 2011
	<i>Cylindrocladiella parva</i>	Agustí-Brisach <i>et al.</i> 2012
	<i>Cylindrocladiella peruviana</i>	Agustí-Brisach <i>et al.</i> 2012
	<i>Dactylonectria alcacerensis</i>	Agustí-Brisach <i>et al.</i> 2013a
	<i>Dactylonectria hordeicola</i>	Pintos <i>et al.</i> 2018
	<i>Dactylonectria macrodidyma</i>	Alaniz <i>et al.</i> 2007
	<i>Dactylonectria novozelandica</i>	Agustí-Brisach <i>et al.</i> 2013a

Tabla 1 (continuación). Especies de hongos de la madera de la vid detectados en España.

Enfermedad	Agente causal	Referencia
Pie negro	<i>Dactylonectria pauciseptata</i>	de Francisco <i>et al.</i> 2009
	<i>Dactylonectria riojana</i>	Berlanas <i>et al.</i> , 2020
	<i>Dactylonectria torresensis</i>	Agustí-Brisach <i>et al.</i> 2013a
	<i>Ilyonectria liriodendri</i>	Alaniz <i>et al.</i> 2007
	<i>Ilyonectria pseudodestructans</i>	Berlanas <i>et al.</i> , 2020
	<i>Ilyonectria robusta</i>	Martínez-Diz <i>et al.</i> 2018
	<i>Ilyonectria vivaria</i>	Berlanas <i>et al.</i> , 2020
	<i>Neonectria quercicola</i>	Berlanas <i>et al.</i> , 2020
	<i>Neonectria sp. 1.</i>	Berlanas <i>et al.</i> , 2020
	<i>Thelonectria olida</i>	de Francisco <i>et al.</i> 2009

Tabla 1 (continuación). Especies de hongos de la madera de la vid detectados en España.

4. Biología de los agentes causales y epidemiología de las enfermedades

Las esporas de los hongos asociados con la eutiposis, los decaimientos por *Botryosphaeria* y *Diaporthe*, y la yesca, son dispersadas principalmente por el aire durante el periodo vegetativo de la vid. Además, los hongos asociados al pie negro, enfermedad de Petri y yesca, y a los decaimientos por *Botryosphaeria* y *Diaporthe* pueden dispersarse también a través del material de propagación infectado. Dependiendo de las especies fúngicas, se producen estructuras especializadas de reproducción, peritecios, basidiocarpos o picnidios incrustados en la corteza y/o en la superficie de madera muerta, que descargan ascosporas, basidiosporas o conidios (Eskalen y Gubler, 2001) (Figuras 4, 5 y 6). Las esporas germinan y el hongo penetraría pudiendo infectar así la planta a través de las heridas de poda.

Se ha descrito la dinámica temporal del inóculo aéreo de algunos de los patógenos asociados a las EMV (Eskalen and Gubler 2001; Quaglia *et al.* 2009; Úrbez-Torres *et al.* 2010; Billones-Baaijens *et al.*, 2017). Sin embargo, para muchos de ellos no se dispone de suficiente información sobre el efecto de las condiciones ambientales sobre la dinámica de dispersión del inóculo. En general, se considera que las esporas comienzan a ser descargadas de los cuerpos fructíferos bajo condiciones ambientales favorables, principalmente asociadas con lluvias y/o humedad relativa elevada junto con temperaturas por encima del punto de congelación, lo cual favorece su germinación (van Niekerk *et al.*, 2010). Un estudio reciente realizado en la Comunidad Valenciana y La Rioja demuestra que la dispersión estacional del inóculo aéreo de *P. chlamydozpora* depende del efecto combinado de la temperatura y la lluvia (González-Domínguez *et al.*, 2020).



Figura 4. Ciclo de la enfermedad decaimiento por *Botryosphaeria*.

En cuanto a la dinámica espacial del inóculo, la dispersión de las esporas puede ocurrir mediante salpicaduras de agua, artrópodos y, a más larga distancia, mediante el viento (Mostert *et al.*, 2006; Moyo *et al.*, 2014). El potencial de las tijeras de poda para diseminar los hongos de la madera se ha demostrado en condiciones controladas en invernadero (Agustí-Brisach *et al.*, 2015). Además, muchos de estos hongos no son patógenos específicos de la vid, habiéndose descrito en otras especies de plantas leñosas que podrían ser una potencial fuente de inóculo (Cloete *et al.*, 2011; Gramaje *et al.*, 2016).

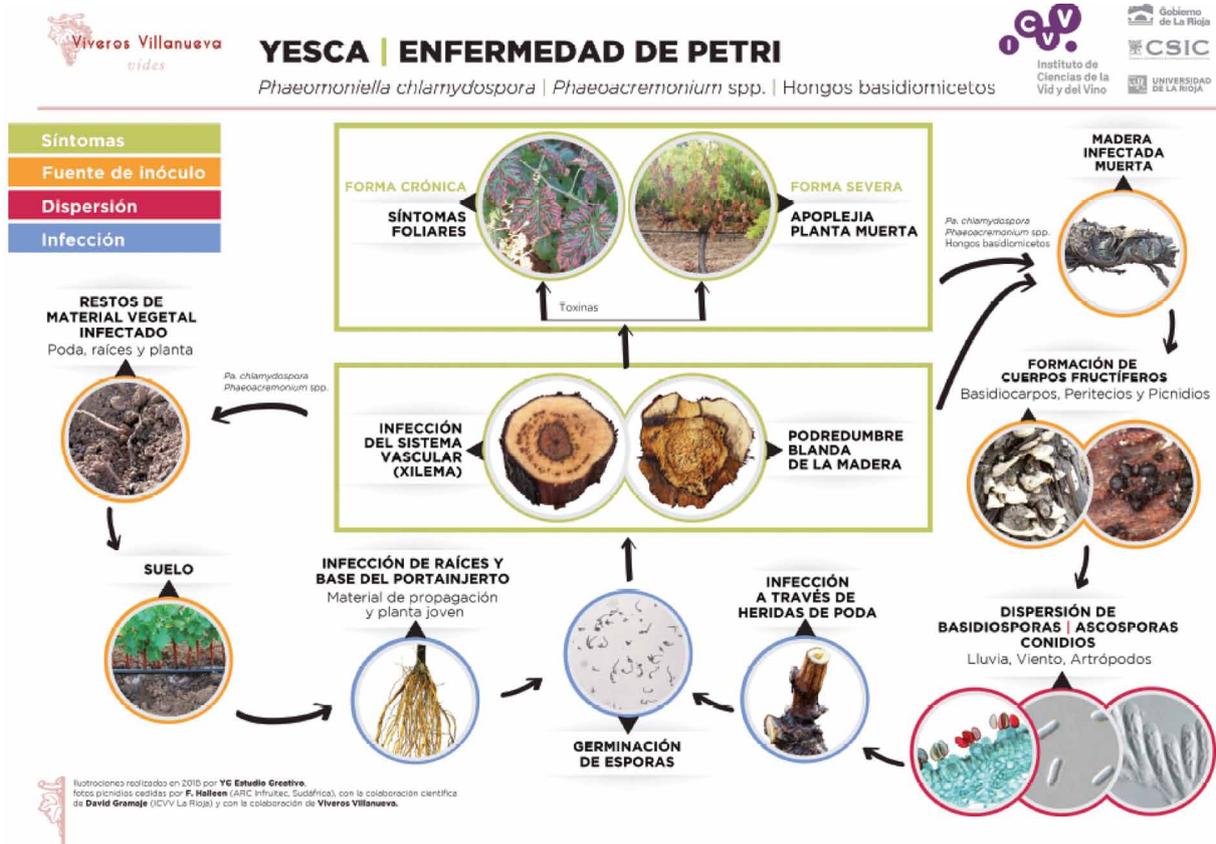


Figura 5. Ciclo de las enfermedades yesca y enfermedad de Petri.

La dispersión de esporas y, por tanto, el riesgo de infección, puede variar durante el periodo vegetativo de la vid dependiendo del patógeno y de las condiciones ambientales. Sin embargo, este periodo normalmente coincide con los periodos de poda invernal. La susceptibilidad de las heridas de poda a los hongos de la madera depende principalmente del mes en el que se realiza la poda, y del tiempo transcurrido entre la poda y los posibles eventos de infección. Estudios realizados mediante inoculación artificial de esporas de hongos de la madera indican que la susceptibilidad de las heridas de poda es alta cuando las infecciones se producen en el momento de la poda y disminuyen a medida que la herida envejece (Chapuis *et al.*, 1998; Serra *et al.*, 2008; Úrbez-Torres y Gubler, 2011; van Niekerk *et al.*, 2011; Elena y Luque, 2016). Sin embargo, otros estudios concluyen que las heridas de poda pueden permanecer susceptibles hasta 4 meses después de la poda (Eskalen *et al.*, 2007).

Los hongos asociados al pie negro son patógenos residentes en el suelo cuyo ciclo vital en la vid todavía es desconocido. Por analogía a lo que ocurre en otras plantas huésped, se supone que sobreviven en el suelo, probablemente mediante estructuras especializadas denominadas clamidosporas (Halleen *et al.*, 2006) y atacan a plantas debilitadas, penetrando por las raíces y la base del

portainjerto. Los hongos asociados a la enfermedad de Petri (*P. chlamydospora* y *Phaeoacremonium* spp.) también se han detectado en suelo, colonizando las plantas generalmente a través de heridas en la base del portainjerto. Además, diversos estudios han demostrado que los hongos asociados al pie negro y la enfermedad de Petri, así como las especies de la familia Botryosphaeriaceae, pueden colonizar la planta de forma endófito sin causar necrosis en el tejido vascular (González y Tello, 2011; Hofstetter *et al.*, 2012; Berlanas *et al.*, 2020). Diversas hipótesis sugieren que estos hongos pueden llegar a ser patógenos en vid bajo condiciones de estrés biótico y/o abiótico (Ferreira *et al.*, 1999).

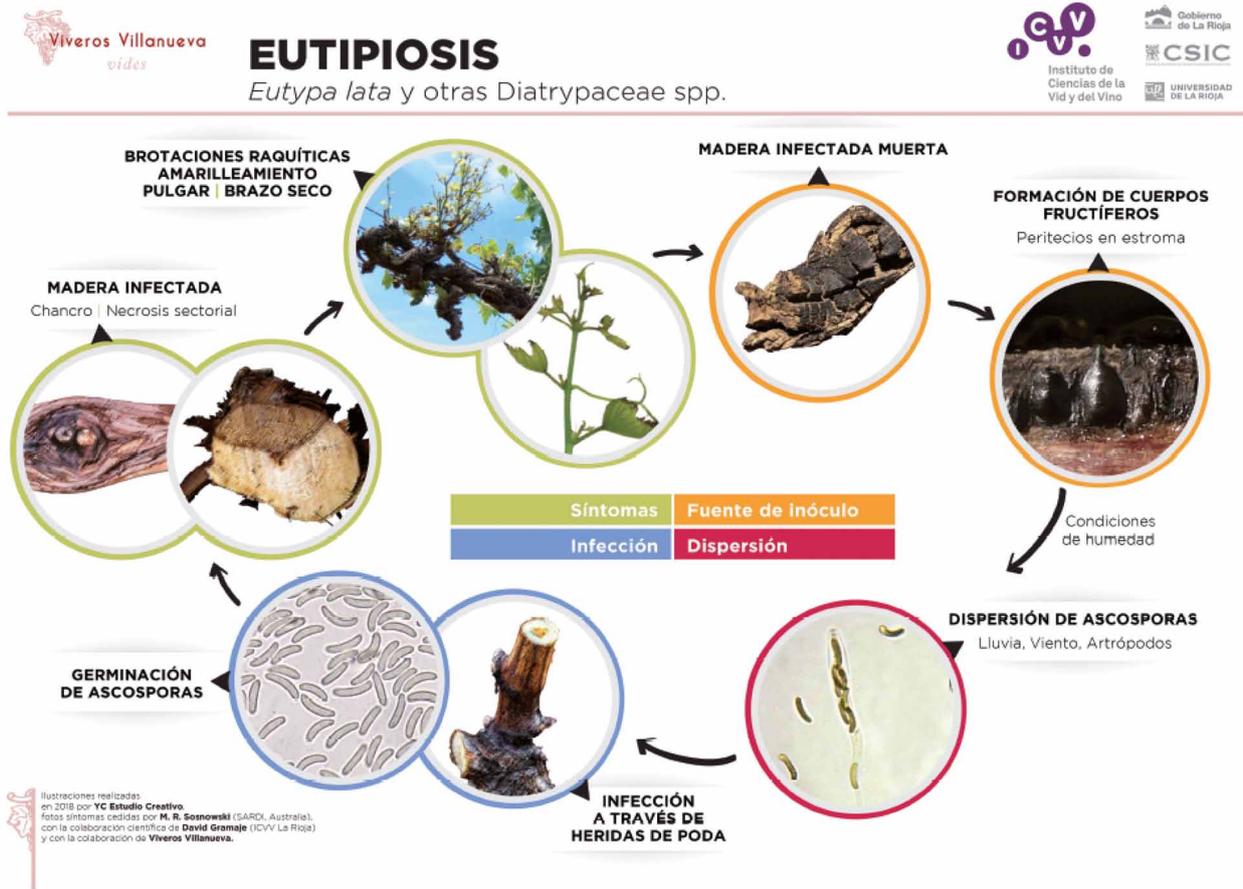


Figura 6. Ciclo de la enfermedad eutipiosis.

5. Control

Ya se ha indicado que uno de los principales medios de dispersión de la mayoría de los hongos causantes de las EMV es a través del material de propagación. No existen medidas de control curativas, por lo que es de suma importancia la utilización de planta con la mayor calidad fitosanitaria posible. De hecho, estudios realizados en España han demostrado la infección de plantas madre de vid con diversos hongos de la madera y su presencia en distintas fases del proceso de producción de planta injertada en vivero (Aroca *et al.*, 2010; Gramaje *et al.*, 2011b; Agustí-Brisach *et al.*, 2013b).

La prohibición, a principios de la última década, de productos químicos como los bencimidazoles carbendazima y benomilo, altamente eficaces para el control de las EMV en viveros (Gramaje *et al.*, 2009c; Halleen and Fourie 2016), junto con las altas restricciones a las que se enfrentan actualmente los fungicidas químicos en la mayoría de los países del mundo, por sus efectos nocivos para la salud humana y el medio ambiente, hacen muy complejo el manejo de estas enfermedades. Los tratamientos de termoterapia con agua caliente (TAC) de hasta 53°C durante 30 minutos reducen significativamente la presencia de los agentes patógenos causantes de EMV sin que se vea afectada la viabilidad de la planta (Gramaje *et al.*, 2008, 2014), aunque su efectividad no es total (Eichmeier *et al.*, 2018). La TAC no está implantada en la producción de planta por los viveros para el control de las EMV, pero sí está siendo utilizada para eliminar otros agentes fitopatógenos, como el fitoplasma causante de la flavescencia dorada o la bacteria *Allorhizobium vitis* (Gramaje, 2016). Además, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) recomienda el tratamiento por TAC de 50°C durante 45 minutos para eliminar la bacteria *Xylella fastidiosa*, agente causal de la enfermedad de Pierce, y sus subespecies, del material de propagación en viveros de vid (EFSA PLH Panel, 2015).

En los últimos años se ha puesto de manifiesto el potencial de diferentes microorganismos, sobre todo hongos del género *Trichoderma*, para combatir los patógenos de la madera en viveros de vid. Cabe destacar la eficacia del producto Vintec® (*Trichoderma atroviride* SC1), comercializado por Belchim Crop Protection, el cual es el único producto registrado en España para uso en vivero contra hongos de la madera de la vid. En estudios recientes se ha demostrado que la aplicación de Vintec® en viveros y viñedos jóvenes reduce significativamente la incidencia de los hongos de la madera (Pertot *et al.*, 2016; Berbegal *et al.*, 2020). La inoculación de planta injerto en pre-plantación con actinobacterias (*Streptomyces* spp.) redujo significativamente la infección por hongos asociados a la enfermedad de Petri y el pie negro en campos de vivero (Álvarez-Pérez *et al.*, 2017).

Otro punto importante para el control de las EMV es el suelo de los campos de propagación de los viveros, en el que residen importantes fuentes de inóculo de estas enfermedades. La rotación de cultivos, que de forma estándar se realiza en viveros consistente en la sustitución del cultivo cada 2 a 4 años por un cultivo de cobertura, no es efectiva frente a los hongos causantes de EMV (Berlanas *et al.*, 2017), por lo que se han planteado nuevas estrategias para su control. La biofumigación con mostaza blanca reduce el inóculo de *D. torresensis* en suelo, así como la incidencia y severidad de Pie negro, por lo que se debe considerar como una herramienta más para el manejo integrado de la enfermedad (Berlanas *et al.*, 2018).

Los plantones deben tener un grosor adecuado, con un callo bien cicatrizado en su base y en el cual de distribuyan uniformemente las raíces (Figura 7a). La plantación debe realizarse correctamente, procurando que las raíces queden hacia abajo, no dobladas hacia arriba (Figura 2c). La aparición de síntomas en el terreno definitivo se ha relacionado con el estrés a que se somete la planta para su entrada en producción, por lo que con frecuencia se recomienda evitar el cultivo intensivo en los primeros años tras la plantación.

En plantaciones adultas se suelen recomendar medidas de lucha de carácter general, como retirar y quemar los restos de poda (Elena y Luque, 2016) (Figura 7b), y proteger las heridas de poda con productos autorizados. En este sentido, existen cuatro productos autorizados para proteger las heridas de poda en el registro de productos fitosanitarios del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA, 2020), tres basados en agentes de control biológico (ACB) y uno basado en materias activas fungicidas: Esquive® (*Trichoderma atroviride* cepa I-1237), Vintec® (*T. atroviride* cepa SC1), Blindar® (*T. asperellum* cepa ICC012 y *T. gamsii* cepa ICC080) y Tessior® (polímero líquido, piraclostrobin 0,5% y boscalida 1%). Aunque se han obtenido resultados prometedores con el uso de ACB, éstos no han sido consistentes, observándose diferencias en la eficacia dependiendo, entre otros factores, del ACB y su cepa específica, el patógeno objetivo, el método de aplicación, el tiempo de exposición al ACB e incluso los cultivares de vid y portainjertos sujetos a estudio. Por otra parte, la mayoría de los estudios realizados hasta el momento se han llevado a cabo en condiciones controladas, por lo que se hace necesaria la realización de más ensayos en campo para conocer la efectividad real de estos productos. En este sentido, algunos grupos de investigación en España están evaluando la eficacia de varios productos para proteger las heridas de poda en viñedo.

Respecto a la época de poda, investigaciones recientes llevadas a cabo en Cataluña (Luque *et al.*, 2014) y en La Rioja (Andrés-Sodupe, 2019) sugieren que la poda debe adelantarse lo antes posible en el tiempo ya que de esta forma se consigue minimizar el riesgo de infecciones naturales. Sin embargo, la dinámica de dispersión del inóculo aéreo de los patógenos asociados a las EMV y, por tanto, el riesgo de infección puede variar mucho entre años y localizaciones en función de las variables ambientales. Recientemente se ha desarrollado un modelo epidemiológico capaz de predecir la dispersión de *P. chlamydospora* en función de las condiciones ambientales que, actualmente, se encuentra en fase de validación (González-Domínguez *et al.*, 2020). Los modelos predictivos aplicados sobre los diferentes patógenos asociados a las EMV resultarán muy útiles para identificar los periodos de riesgo de infección. Durante los periodos de riesgo se podría, por ejemplo, evitar la poda o proporcionar una adecuada protección a las heridas. Estos modelos debidamente validados podrán incorporarse a los sistemas de apoyo a la toma de decisiones relacionadas con una gestión eficiente de las EMV (Rossi *et al.*, 2010).

Otro aspecto importante relacionado con la poda es que nunca debe realizarse después de una lluvia, medida de gran importancia cuando exista riesgo de infección por *E. lata* y por hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae. Cuando durante la poda se detecte algún tipo de necrosis o podredumbre se debe ir cortando hasta encontrar tejido sano. En algunos casos, especialmente en plantas afectadas por eutipiosis o decaimiento por Botryosphaeria, se puede rejuvenecer una cepa a partir de un brote basal (Figura 7c).

La sostenibilidad ambiental de la producción vitícola es una exigencia del consumidor y la legislación cada vez restringe más el uso de fungicidas que se han utilizado tradicionalmente, lo que está aumentando el interés por el uso de variedades, clones y portainjertos más resistentes a las enfermedades. La utilización de cultivares y portainjertos resistentes es un elemento clave para la gestión integrada de las EMV, a las cuales son muy susceptibles los cultivares y portainjertos de mejor adaptación pedoclimática e interés comercial (ej. cultivar «Tempranillo» y portainjertos 110 Richter, 140 Ruggeri, 41 Berlandieri, 1103 Paulsen) (Alaniz *et al.*, 2010; Gramaje *et al.*, 2010; Aranda *et al.*, 2019). Los estudios realizados por Gramaje *et al.* (2010) mostraron que el portainjerto 161-49 Couderc era el menos susceptible entre cinco portainjertos de vid previamente inoculados con patógenos causantes de la enfermedad de Petri. Lamentablemente, este portainjerto ha sido recientemente retirado del mercado en Francia debido a los problemas observados de producción de tilosas en el sistema vascular, y otros síntomas como pérdida de vigor al cabo de 3-4 años tras la plantación, variación

en el diámetro del tronco y disfunciones en la anatomía del sistema vascular (Spilmont *et al.*, 2014). Actualmente, existen investigaciones en curso financiadas con proyectos nacionales en las que se pretende identificar material vegetal tolerante a las EMV mediante bioensayos con condiciones que aseguran el desarrollo óptimo de la enfermedad. En concreto, se está investigando en bancos de germoplasma de variedades comerciales y minoritarias, clones de «Tempranillo», y portainjertos.

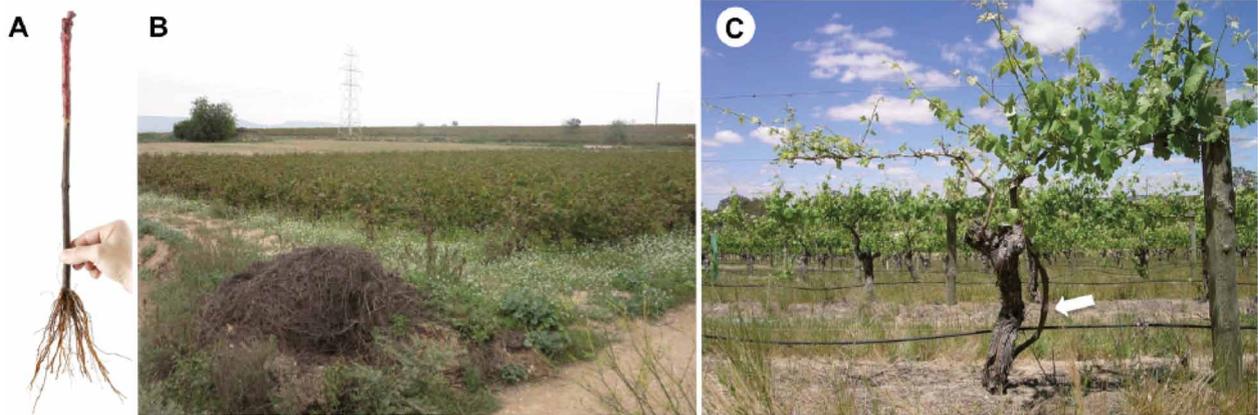


Figura 7. (a) Planta injerto con una distribución regular de las raíces (foto: R. García). (b) La eliminación de restos de poda es clave para reducir el inóculo de hongos de la madera. (c) Rejuvenecimiento de una cepa afectada por eutipiosis o decaimiento por *Botryosphaeria* a partir de un brote basal (derecha, indicado con una flecha. Foto: M.R. Sosnowski).

Bibliografía

- AGUSTÍ-BRISACH C., ARMENGOL J. (2012): Effects of temperature, pH and water potential on mycelial growth, sporulation and chlamydospore production in culture of *Cylindrocarpon* spp. associated with black foot of grapevines. *Phytopathol. Mediterr.* 51:37-50.
- AGUSTÍ-BRISACH C., ARMENGOL J. (2013): Black-foot disease of grapevine: An update on taxonomy, epidemiology and management strategies. *Phytopathol. Mediterr.* 52:245-261.
- AGUSTÍ-BRISACH C., GRAMAJE D., GARCÍA-JIMÉNEZ J., ARMENGOL J. (2013A): Detection of black-foot and petri disease pathogens in soils of grapevine nurseries and vineyards using bait plants. *Plant Soil* 364:5-13.
- AGUSTÍ-BRISACH C., GRAMAJE D., GARCÍA-JIMÉNEZ J., ARMENGOL J. (2013B): Detection of black-foot disease pathogens in the grapevine nursery propagation process in Spain. *Eur. J. Plant Pathol.* 137:103-112.
- AGUSTÍ-BRISACH C., LEÓN M., GARCÍA-JIMÉNEZ J., ARMENGOL J. (2015): Detection of Grapevine Fungal Trunk Pathogens on Pruning Shears and Evaluation of Their Potential for Spread of Infection. *Plant Dis.* 99:976-981.
- AIGOUN-MOUHOUS W., ELENA G., CABRAL A., LEÓN M., SABAOU N., ARMENGOL J. (2019): Characterization and pathogenicity of *Cylindrocarpon*-like asexual morphs associated with black foot disease in Algerian grapevine nurseries, with the description of *Pleiocarpon algeriense* sp. nov. *Eur. J. Plant Pathol.* 154:887-901.
- ALANIZ S., AGUSTÍ-BRISACH C., GRAMAJE D., AGUILAR M.I., PÉREZ-SIERRA A., ARMENGOL J. (2011): First Report of *Campylocarpon fasciculare* Causing Black Foot Disease of Grapevine in Spain. *Plant Dis.* 95:1028-1028.
- ALANIZ S., GARCÍA-JIMÉNEZ J., ABAD-CAMPOS P., ARMENGOL J.: (2010): Susceptibility of grapevine rootstocks to *Cylindrocarpon liriodendri* and *C. macrodidymum*. *Sci. Hortic.* 125:305-308.
- ALANIZ S., LEÓN M., VICENT A., GARCÍA-JIMÉNEZ J., ABAD-CAMPOS P., ARMENGOL J. (2007): Characterization of *Cylindrocarpon* Species Associated with Black Foot Disease of Grapevine in Spain. *Plant Dis.* 91:1187-1193.
- ÁLVAREZ-PÉREZ J.M., GONZALEZ-GARCÍA S., COBOS R., OLEGO M.Á., IBAÑEZ A., DÍEZ-GALÁN A., GARZÓN-JIMENO E., COQUE J.J.R. (2017): Use of endophytic and rhizosphere actinobacteria from grapevine plants to reduce nursery fungal graft infections that lead to young grapevine decline. *Applied and Environmental Microbiology* 83(24):e01564-17.
- ANDRÉS-SODUPE M. (2019): Colonización de las heridas de poda de la vid por hongos patógenos causantes de enfermedades de la madera. Trabajo Fin de Máster. Universidad de La Rioja.
- ARMENGOL J. (2017): Enfermedades fúngicas de madera de la vid. Una visión general del problema. *Enoviticultura* 46:6-15.
- ARMENGOL J., VICENT A., TORNÉ L., GARCÍA-FIGUERES F., GARCÍA-JIMÉNEZ J. (2001): Fungi associated with esca and grapevine declines in Spain: a three-year survey. *Phytopathol. Mediterr.* 40:S325-329.
- AROCA A., GARCÍA-FIGUERES F., BRACAMONTE L., LUQUE J., RAPOSO R. (2006): A Survey of Trunk Disease Pathogens within Rootstocks of Grapevines in Spain. *Eur. J. Plant Pathol.* 115:195-202.
- AROCA A., GRAMAJE D., ARMENGOL J., GARCÍA-JIMÉNEZ J., RAPOSO R. (2010): Evaluation of the grapevine nursery propagation process as a source of *Phaeoacremonium* spp. and *Phaeoconiella chlamydospora* and occurrence of trunk disease pathogens in rootstock mother vines in Spain. *Eur. J. Plant Pathol.* 126:165-174.
- AROCA A., LUQUE J., RAPOSO R. (2008A): First report of *Phaeoacremonium viticola* affecting grapevine in Spain. *Plant Pathol.* 57:386.

- AROCA A., RAPOSO R., GRAMAJE D., ARMENGOL J., MARTOS S., LUQUE J. (2008B): First Report of *Lasiodiplodia theobromae* Associated with Decline of Grapevine Rootstock Mother Plants in Spain. *Plant Dis.* 92:832-832.
- BAUMGARTNER K., FUJIYOSHI P.T., TRAVADON R., CASTLEBURY L.A., WILCOX W.F., ROLSHAUSEN P.E. (2013): Characterization of Species of *Diaporthe* from Wood Cankers of Grape in Eastern North American Vineyards. *Plant Dis.* 97:912-920.
- BERBEGAL M., RAMÓN-ALBALAT A., LEÓN M., ARMENGOL J. (2020): Evaluation of long-term protection from nursery to vineyard provided by *Trichoderma atroviride* SC1 against fungal grapevine trunk pathogens. *Pest Manag. Sci.* 76:967-977.
- BERLANAS C., ANDRÉS-SODUPE M., LÓPEZ-MANZANARES B., MALDONADO-GONZÁLEZ M.M., GRAMAJE D. (2018): Effect of white mustard cover crop residue, soil chemical fumigation and *Trichoderma* spp. root treatment on black-foot disease control in grapevine. *Pest Manag. Sci.* 74:2864-2873.
- BERLANAS C., LÓPEZ-MANZANARES B., GRAMAJE D. (2017): Estimation of viable propagules of black-foot disease pathogens in grapevine cultivated soils and their relation to production systems and soil properties. *Plant Soil* 417:467-479.
- BERLANAS C., OJEDA S, LÓPEZ-MANZANARES B, ANDRÉS-SODUPE M, BUJANDA R, DEL PILAR MARTÍNEZ-DIZ M, DÍAZ-LOSADA E, GRAMAJE D. (2020): Occurrence and diversity of black-foot disease fungi in symptomless grapevine nursery stock in Spain. *Plant Dis.* 104:94-104.
- BILLONES-BAAIJENS R., AYRES M., SAVOCCHIA S., SOSNOWSKI M. (2017): Monitoring inoculum dispersal by grapevine trunk disease pathogens using Burkard spore traps. *Wine Vitic. J.* 32:46-50.
- CHAPUIS L., RICHARD L., DUBOS B. (1998): Variation in susceptibility of grapevine pruning wound to infection by *Eutypa lata* in south-western France. *Plant Pathol.* 47:463-472.
- CLOETE M., FOURIE P.H., DAMM U., CROUS P.W., MOSTERT L. (2011): Fungi associated with die-back symptoms of apple and pear trees, a possible inoculum source of grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathol. Mediterr.* 50:S176-S190.
- DE FRANCISCO M.T., MARTIN L., COBOS R., GARCÍA-BENAVIDES P., MARTIN M.T. (2009): Identification of *Cylindrocarpum* species associated with grapevine decline in Castilla y León (Spain). *Phytopathol. Mediterr.* 48:167.
- DE LA FUENTE M., FONTAINE F., GRAMAJE D., ARMENGOL J., SMART R., NAGY ZA, BORGIO M., REGO C., CORIO-COSTET M.F. (2016): Grapevine trunk diseases. A Review. OIV publications. 25 pp.
- EFSA PLH PANEL (EFSA PANEL ON PLANT HEALTH): (2015): Scientific opinion on hot water treatment of *Vitis* sp. for *Xylella fastidiosa*. *EFSA Journal* 2015;13(9):4225, 10 pp.
- EICHMEIER A., PEČENKA J., PEŇÁZOVÁ E., BARÁNEK M., CATALÀ-GARCÍA S., LEÓN M., ARMENGOL J., GRAMAJE D. (2018): High-throughput amplicon sequencing-based analysis of active fungal communities inhabiting grapevine after hot-water treatments reveals unexpectedly high fungal diversity. *Fungal Ecol.* 36:26-38.
- ELENA G., LUQUE J. (2016): Seasonal susceptibility of grapevine pruning wounds and cane colonization in Catalonia, Spain following artificial infection with *Diplodia seriata* and *Phaeoconiella chlamydospora*. *Plant Dis.* 100:1651-1659.
- ESKALEN A., FELICIANO J., GUBLER W.D. (2007): Susceptibility of grapevine pruning wounds and symptom development in response to infection by *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeoconiella chlamydospora*. *Plant Dis.* 91:1100-1104.
- ESKALEN A., GUBLER W.D. (2001): Association of spores of *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium inflatipes*, and *Pm. aleophilum* with grapevine cordons in California. *Phytopathol. Mediterr.* 40S:429-432.

- FERREIRA J.H.S., VAN WYK P.S., CALITZ F.J. (1999): Slow dieback of grapevine in South Africa: Stress-related predisposition of young vines for infection by *Phaeoacremonium chlamydosporum*. South Afr. J. Enol. Vitic. 20:43-46.
- FONTAINE F., ARMENGOL J. (2014): Sustainable control of grapevine trunk diseases. Phytopatol. Mediterr. 53:584-585.
- GONZÁLEZ V, TELLO M (2011): The endopytic mycota associated with *Vitis vinifera* in central Spain. Fungal Div. 47:29-42.
- GONZÁLEZ-DOMÍNGUEZ E., BERLANAS C., GRAMAJE D., ARMENGOL J., ROSSI V., BERBEGAL M. (2020): Temporal dispersal patterns of *Phaeomoniella chlamydospora*, causal agent of Petri disease and esca, in vineyards. Phytopathology <https://doi.org/10.1094/PHYTO-10-19-0400-R>.
- GRAMAJE D. (2016): Uso de la termoterapia con agua caliente para el control de las enfermedades fúngicas de la madera de la vid. Vida Rural 3:48-57.
- GRAMAJE D., AGUILAR M.I., ARMENGOL J. (2011A): First Report of *Phaeoacremonium krajenii* Causing Petri Disease of Grapevine in Spain. Plant Dis 95:615-615.
- GRAMAJE D., BAUMGARTNER K., HALLEEN F., MOSTERT L., SOSNOWSKI M.R., ÚRBEZ-TORRES J.R., ARMENGOL J. (2016): Fungal trunk diseases: a problem beyond grapevines? Plant Pathol. 65:355-356.
- GRAMAJE D., ALANIZ S., ABAD-CAMPOS P., GARCÍA-JIMÉNEZ J., ARMENGOL J. (2010): Effect of hot-water treatments in vitro on conidial germination and mycelial growth of grapevine trunk pathogens. Ann. Appl. Biol. 156:231-241.
- GRAMAJE D., ALANIZ S., PÉREZ-SIERRA A., ABAD-CAMPOS P., GARCÍA-JIMÉNEZ J., ARMENGOL J. (2007): First Report of *Phaeoacremonium mortoniae* Causing Petri Disease of Grapevine in Spain. Plant Dis. 91:1206-1206.
- GRAMAJE D., ALANIZ S., PÉREZ-SIERRA A., ABAD-CAMPOS P., GARCÍA-JIMÉNEZ J., ARMENGOL J. (2008): First Report of *Phaeoacremonium scolyti* Causing Petri Disease of Grapevine in Spain. Plant Dis. 92:836.
- GRAMAJE D., ARMENGOL J. (2011): Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification, and management strategies. Plant Dis. 95:1040-1055.
- GRAMAJE D., ARMENGOL J., COLINO M.I., SANTIAGO R., MORALEJO E., OLMO D., LUQUE J., MOSTERT L. (2009A): First Report of *Phaeoacremonium inflatipes*, *P. iranianum*, and *P. sicilianum* Causing Petri Disease of Grapevine in Spain. Plant Dis. 93:964-964.
- GRAMAJE D., ARMENGOL J., MOHAMMADI H., BANIHASHEMI Z., MOSTERT L. (2009B): Novel *Phaeoacremonium* species associated with Petri disease and esca of grapevine in Iran and Spain. Mycologia 101:920-929.
- GRAMAJE D., AROCA Á., RAPOSO R., GARCÍA-JIMÉNEZ J., ARMENGOL J. (2009C): Evaluation of fungicides to control Petri disease pathogens in the grapevine propagation process. Crop Prot. 28:1091-1097.
- GRAMAJE D., AROCA MAÑANAS F., LERMA M.L., MUÑOS R.M., GARCÍA-JIMÉNEZ J., ARMENGOL J. (2014): Effect of hot-water treatment on grapevine viability, yield components and composition of must. Aust. J. Grape Wine Res. 20:144-148.
- GRAMAJE D., MOSTERT L., ARMENGOL J. (2011B): Characterization of *Cadophora luteo-olivacea* and *C. melinii* isolates obtained from grapevines and environmental samples from grapevine nurseries in Spain. Phytopathol. Mediterr. 50:S112-S126.
- GRAMAJE D., ÚRBEZ-TORRES J.R., SOSNOWSKI M.R. (2018): Managing grapevine trunk diseases with respect to etiology and epidemiology: Current strategies and future prospects. Plant Dis. 102:12-39.
- GRASSO S. (1984): Infezioni di *Fusarium oxysporum* e di *Cylindrocarpon destructans* associate a una moria di giovani piante di vite in Sicilia. Inf. Fitopatol. 34:59-63.

- GUARNACCIA V., GROENEWALD J.Z., WOODHALL J., ARMENGOL J., CINELLI T., EICHMEIER A., EZRA D., FONTAINE F., GRAMAJE D., GUTIÉRREZ-AGUIRREGABIRIA A., KALITERNA J., KISS L., LARIGNON P., LUQUE J., MUGNAI L., NAOR V., RAPOSO R., SÁNDOR E., VÁCZY K.Z., CROUS P.W. (2018): *Diaporthe* diversity and pathogenicity revealed from a broad survey of grapevine diseases in Europe. *Persoonia – Mol. Phylogeny Evol. Fungi* 40:135-153.
- HALLEEN F., FOURIE P.H. (2016): An integrated strategy for the proactive management of grapevine trunk disease pathogen infections in grapevine nurseries. *South African J. Enol. Vitic.* 37:104-114.
- HALLEEN F., FOURIE P.H., CROUS P.W. (2006): A review of black foot disease of grapevine. *Phytopathol. Mediterr.* 45S:55-67.
- HALLEEN F., SCHROERS H.J., GROENEWALD J.Z., CROUS P.W. (2004): Novel species of *Cylindrocarpon* (*Neonectria*): and *Campylocarpon* gen. nov. associated with black foot disease of grapevines (*Vitis* spp.):. *Stud Mycol.* 50:431-455.
- HEWITT W.B., PEARSON R.C. (1988): Phomopsis cane and leaf spot. Pages 17-18 in: *Compendium of Grape Diseases*. American Phytopathological Society, St. Paul. MN.
- HOFSTETTER V., BUYCK B., CROLL D., VIRET O., COULOUX A., GINDRO K. (2012): What if esca disease grapevine were not a fungal disease? *Fungal Div.* 54:51-67.
- LAWRENCE D.P., NOURI M.T., TROUILLAS F.P. (2019): Taxonomy and multi-locus phylogeny of *Cylindrocarpon*-like species associated with diseased roots of grapevine and other fruit and nut crops in California. *Fungal Syst. Evol.* 4:59-75.
- LORCH W. (2014): Fatal wood disease affects 12 percent of French vineyards. Recuperado el 4 de febrero de 2020 de <https://www.wine-searcher.com/m/2014/10/fatal-wood-diseases-affect-12-percent-of-french-vineyards>.
- LUQUE J., ELENA G., GARCIA-FIGUERES F., REYES J., BARRIOS G., LEGORBURU F.J. (2014): Natural infections of pruning wounds by fungal trunk pathogens in mature grapevines in catalonia (northeast Spain):. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 20:134-143.
- LUQUE J., GARCIA-FIGUERES F., LEGORBURU F.J., MURUAMENDIARAZ A., ARMENGOL J., TROUILLAS F.P. (2012): Species of *Diatrypaceae* associated with grapevine trunk diseases in Eastern Spain. *Phytopathol. Mediterr.* 51:528-540.
- LUQUE J., MARTOS S., AROCA A., RAPOSO R., GARCIA-FIGUERES F. (2009): Symptoms and fungi associated with declining mature grapevine plants in northeast Spain. *J. Plant Pathol.* 91:381-390.
- LUQUE J., MARTOS S., PHILLIPS A.J.L. (2005): *Botryosphaeria viticola* sp. nov. on grapevine: a new species with a *Dhotiorella* anamorph. *Mycologia* 97:1111-1121.
- LUQUE J., SIERRA D., TORRES E., GARCÍA F. (2006): *Cryptovalsa ampelina* on Grapevines in N.E. Spain: Identification and Pathogenicity. *Phytopathol. Mediterr.* 45:101-109.
- MAHONEY N., MOLYNEUX R.J., SMITH L.R., SCHOCH T.K., ROLSHAUSEN P.E. GUBLER W.D. (2005): Dying-arm disease in grapevines: Diagnosis of infection with *Eutypa lata* by metabolite analysis. *J. Agric. Food Chem.* 53:8148-8155.
- MALUTA D.R., LARIGNON P. (1991): Pied-noir: Mieux vaut prévenir. *Viticulture* 11:71-72.
- MAPA (2020): Registro de productos fitosanitarios. <https://www.mapa.gob.es/es/agricultura/temas/sanidad-vegetal/productos-fitosanitarios/registro/menu.asp> [7 de febrero de 2020]
- MARTIN M.T., COBOS R. (2007): Identification of Fungi Associated with Grapevine Decline in Castilla y León (Spain):. *Phytopathol. Mediterr.* 46:18-25.
- MARTÍNEZ-DIZ MP, DÍAZ-LOSADA E., ARMENGOL J., LEÓN M., BERLANAS C., ANDRÉS-SODUPE M., GRAMAJE D. (2018): First report of *Ilyonectria robusta* causing black foot disease of grapevine in Spain. *Plant Dis.* 102:2381.

- MARTÍNEZ-DIZ M.P., DÍAZ-LOSADA E., BARAJAS E., RUANO-ROSA D., ANDRÉS-SODUPE M., GRAMAJE D. (2019): Screening of Spanish *Vitis vinifera* germplasm for resistance to *Phaeoconiella chlamydospora*. *Sci Hortic.* 246:104-109.
- MARTÍNEZ-OLARTE J.L., PÉREZ-MORENO I., MARTÍNEZ DE TODA F. (1998): Niveles de ataque de Eutipia (*Eutypa lata* Tul. y C. Tul): en viñedos de Rioja Alta. *Phytoma* 95:18-22.
- MARTOS S., LUQUE J. (2004): Identificación y caracterización de aislados del género *Botryosphaeria* en *Vitis*. In: Abstracts of the XII Congress of the Spanish Plant Pathology Society. Lloret de Mar, Spain.
- MOSTERT L., GROENEWALD J.Z., SUMMERBELL R.C., GAMS W., CROUS P.W. (2006): Taxonomy and pathology of *Togninia* (Diaporthales): and its *Phaeoacremonium* anamorphs. *Stud. Mycol.* 54:1-113.
- MOYO P., ALLSOPP E., ROETS F., MOSTERT L., HALLEEN F. (2014): Arthropods vector grapevine trunk disease pathogens. *Phytopathology* 104:1063-1069.
- MUGNAI L., GRANITI A., SURICO G. (1999): Esca (black measles): and brown wood-streaking: two old and elusive diseases of grapevines. *Plant Dis.* 83:404-418.
- PÉROS J., BERGER G. (1994): A rapid method to assess the aggressiveness of eutypa lata isolates and the susceptibility of grapevine cultivars to eutypa dieback. *Agronomie* 14:515-523.
- PERTOT I., PRODORUTTI D., COLOMBINI A., PASINI L. (2016): *Trichoderma atroviride* SC1 prevents *Phaeoconiella chlamydospora* and *Phaeoacremonium aleophilum* infection of grapevine plants during the grafting process in nurseries. *BioControl* 61:257-267.
- PHILLIPS A.J.L. (2000): Excoriose, Cane Blight and Related Diseases of Grapevines: A Taxonomic Review of the Pathogens. *Phytopathol. Mediterr.* 39:341-356.
- PINTOS C., REDONDO V., AGUÍN O., FERREIROA V., MANSILLA J.P. (2016): First Report of *Pleurostoma richardsiae* Causing Grapevine Trunk Disease in Spain. *Plant Dis.* 100:2168.
- PINTOS C., REDONDO V., AGUÍN O., MANSILLA J.P. (2011): First Report of Cankers and Dieback Caused by *Neofusicoccum mediterraneum* and *Diplodia corticola* on Grapevine in Spain. *Plant Dis.* 95:1315.
- PINTOS C., REDONDO V., COSTAS D., AGUÍN O., MANSILLA J.P. (2018): Fungi associated with grapevine trunk diseases in nursery-produced *Vitis vinifera* plants. *Phytopathol. Mediterr.* 57:407-424.
- SERRA S., MANNONI A.M., LIGIOS V. (2008): Studies on the susceptibility of pruning wounds to infection by fungi involved in grapevine wood diseases in Italy. *Phytopathol. Mediterr.* 47:234-246.
- QUAGLIA M., COVARELLI L., ZAZZERINI A. (2009): Epidemiological survey on esca disease in Umbria, central Italy. *Phytopathol. Mediterr.* 48:94-91.
- REGO C., OLIVEIRA H., CARVALHO A., PHILLIPS A. (2000): Involvement of *Phaeoacremonium* spp. and *Cylindrocarpon destructans* with grapevine decline in Portugal. *Phytopathol. Mediter.* 39:76-79.
- ROSSI V., GIOSUÈ S., CAFFI T. (2010): Modelling plant diseases for decision making in crop protection. Pages 241-258 in : Precision Crop Protection – the Challenge and Use of Heterogeneity. E-C. Oerke, R. Gerhads, G. Menz, and R. A. Sikora, eds. Springer Netherlands, Dordrecht, The Netherlands.
- SPILMONT A.S., SERENO C., EL KHOTI N., TORREGROSA L. (2014): The decline of the young vines grafted onto 161-49C. *Acta Hortic* 1136:35.
- TROUILLAS F.P., GUBLER W.D. (2010): Pathogenicity of diatrypaceae species in grapevines in California. *Plant Dis.* 94:867-872.
- TROUILLAS F.P., ÚRBEZ-TORRES J.R., GUBLER W.D. (2010): Diversity of diatrypaceous fungi associated with grapevine canker diseases in California. *Mycologia* 102:319-336.
- ÚRBEZ-TORRES J.R., BATTANY M., BETTIGA L.J., GISPERT C., MCGOURTY G., RONCORONI J., SMITH R.J., VERDEGAAL P., GUBLER W.D. (2010): Botryosphaeriaceae species spore-trapping studies in California Vineyards. *Plant Dis.* 94:717-724.

- ÚRBEZ-TORRES J.R., GUBLER W.D. (2011): Susceptibility of grapevine pruning wounds to infection by *Lasiodiplodia theobromae* and *Neofusicoccum parvum*. *Plant Pathol.* 60:261-270.
- ÚRBEZ-TORRES J.R., LEAVITT G.M., VOEGEL T., GUBLER W.D. (2006): Identification and distribution of *Botryosphaeria* species associated with grapevine cankers in California. *Plant Dis.* 90:1490-1503.
- ÚRBEZ-TORRES J.R., PEDUTO F., SMITH R.J., GUBLER W.D. (2013): Phomopsis dieback: A grapevine trunk disease caused by *Phomopsis viticola* in California. *Plant Dis.* 97:1571-1579.
- VAN NIEKERK J.M., CALITZ F.J., HALLEEN F., FOURIE P.H. (2010): Temporal spore dispersal patterns of grapevine trunk pathogens in South Africa. *Eur. J. Plant Pathol.* 127:375-390.
- VAN NIEKERK J.M., CALITZ F.J., HALLEEN F., FOURIE P.H. (2011): Temporal susceptibility of grapevine pruning wounds to trunk pathogen infection in South African grapevines. *Phytopathol. Mediterr.* 50:139-150.

EXPERIENCIAS EN DISTINTAS REGIONES VITIVINÍCOLAS

1. Castilla-La Mancha

IVICAM (Instituto de la Vid y el Vino de Castilla-La Mancha)

JUAN LUIS CHACÓN VOZMEDIANO

1. Marco de Actuación y Proyectos

Financiación Regional:

- «Detección, identificación y tratamientos de los hongos responsables de las enfermedades de la madera de vid». Financiado por el Instituto de la Vid y el Vino de Castilla-La Mancha. Junta de Comunidades de Castilla-La Mancha. Duración: 2007 a 2009.

Financiación Nacional:

- Proyecto: Desarrollo de nuevas estrategias de manejo integrado de las enfermedades fúngicas de la madera de la vid (RTA2015-00015-C02-01), concedido por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Periodo de actuación: 2007- 2019.

2. Participantes

Juan Luis Chacón Vozmediano, Pedro Miguel Izquierdo Cañas, Raquel Torres Chica, Mónica Fernández González y Jesús Martínez Gascueña.

3. Objetivos

Se pretende conocer los efectos que producen algunos fungicidas comerciales sobre el control de la yesca, así como la identificación de genotipos que muestren capacidad de resistencia a los hongos implicados en las enfermedades de madera de vid. Este objetivo general se puede desglosar en otros más específicos, que serían los siguientes:

- Comparar la eficacia de fungicidas alternativos al arsenito sódico, para el control de la enfermedad de la yesca.
- Conocer los efectos que causan estos fungicidas sobre la calidad de la producción.
- Evaluar la susceptibilidad de diferentes variedades de vid, incluidas en la colección de variedades del Centro de Investigación de la Vid y el Vino de Castilla-La Mancha (IVICAM), frente a patógenos implicados en las enfermedades fúngicas de la madera de vid.

4. Ensayos Experimentales

ENSAYO 1: Fungicidas alternativos al arsenito sódico

Material y métodos

Características del viñedo

- Localización: Tomelloso (Ciudad Real).
- Variedad: Airén.
- Portainjerto: 110-R.

- Año de plantación: 1987.
- Pendiente: nula.
- Sistema de conducción: vaso.
- Marco de plantación: 2,5 x 2,5 (1600 cepas/ha).
- Duración: 2007 – 2009.

Tratamientos experimentales

- Tratamiento 1: Sulfato de hidroquinoleína (15 mL/L).
- Tratamiento 2: Sulfato de hidroquinoleína (25 mL/L).
- Tratamiento 3: Fungicida órgano-cúprico de amplio espectro.
- Tratamiento 4: Testigo.



Figura 8. Cepa con síntomas de yesca.

ENSAYO 2: Susceptibilidad de cultivares de vid frente a *Neofusicoccum parvum*

Material y métodos

Características del viñedo

- Localización: Parcelas IVICAM. Tomelloso (Ciudad Real).
- Variedades: Macabeo, Moscatel Serrano, Albillo Real, Malvar, Blanca del Tollo, Airén, Azargón, Bobal, Monastrell, Moravia Dulce, Moribel, Garnacha Tinta y Moravia Agria.
- Portainjerto: pie franco.
- Año de plantación: 2017 y 2018.
- Pendiente: nula.
- Sistema de conducción: vaso.
- Marco de plantación: 2 x 0,5 (10.000 cepas/ha).
- Duración: 2017 – 2019.

Tratamientos experimentales

- Tratamiento 1: Inoculación con *Neofusicoccum parvum*.
- Tratamiento 2: Testigo.

5. Resultados

Ensayo 1: Efectividad de los fungicidas

El fungicida órgano-cúprico se mostró como el más eficaz para el control de la yesca, aunque no hubo apenas diferencias con respecto al resto de tratamientos.

Tratamiento	Bloque				Media
	A	B	C	D	
T1	24,32	22,67	23,29	28,89	24,79
T2	30,67	25,68	19,18	11,11	21,66
T3	23,88	20,75	25,35	11,62	20,40
T4	17,19	32,43	19,18	18,91	21,93
Media	24,02	25,38	21,75	17,63	22,19

Tabla 2. Porcentaje de cepas afectadas de yesca.

Ensayo 2: Efectos sobre la calidad de la producción

En lo que respecta a parámetros físicos, en todos los tratamientos, el peso de las bayas procedentes de cepas que mostraban síntomas de yesca fue significativamente menor que en las asintomáticas. El tamaño de la baya y el número de semillas se vieron afectados por los fungicidas; en los tratamientos donde se aplicaron estos productos, ambos parámetros disminuyeron, independientemente de que las plantas se mostraran sintomáticas o asintomáticas.

En cuanto a parámetros químicos, las uvas del tratamiento testigo tuvieron un grado Baumè y un pH más elevado que las del resto de tratamientos. En las uvas procedentes de cepas que mostraron síntomas de yesca, este último parámetro fue mayor que en las asintomáticas. Las uvas del tratamiento 2 destacaron por sus elevados valores de ácido málico y acidez total, que son cualidades deseables, particularmente en variedades blancas. También hubo diferencias significativas en el nitrógeno asimilable, siendo las uvas de las cepas asintomáticas las de mayor contenido. Respecto a los compuestos fenólicos, los flavan-3-oles, tanto los procedentes de hollejos como de semillas, se hallaron en mayor concentración en las uvas de las cepas sintomáticas. Idéntico comportamiento tuvieron los polifenoles totales. Estos compuestos resultan determinantes para la estructura y características del vino.

Ensayo 3: Susceptibilidad frente a *Neofusicoccum parvum*

La susceptibilidad frente al patógeno se evaluó mediante la longitud de las lesiones en el tronco de las estaquillas. En las estaquillas infectadas, el hongo causó necrosis de madera hacia arriba y hacia abajo desde el punto de inoculación. Las longitudes medias de la extensión de la decoloración vascular causada por *N. parvum*, en variedades blancas y tintas, ocho meses después de la inoculación y cultivadas en condiciones de campo se muestran en las Figuras 9 y 10, respectivamente. En las variedades blancas, la longitud media de la lesión causada por el hongo varió desde 8,5 mm (Macabeo) hasta 33,5 mm (Azargón), mientras que en las variedades tintas este parámetro

varió desde 9,9 mm (Bobal) hasta 33,7 mm (Moravia Agria). Los resultados obtenidos sugieren que las variedades podrían tener diferente nivel de susceptibilidad a la infección producida por *N. parvum*. Algunas de ellas como Macabeo y Moscatel Serrano, en blancas y Bobal y Monastrell, en tintas, destacaron por su baja susceptibilidad a este hongo.

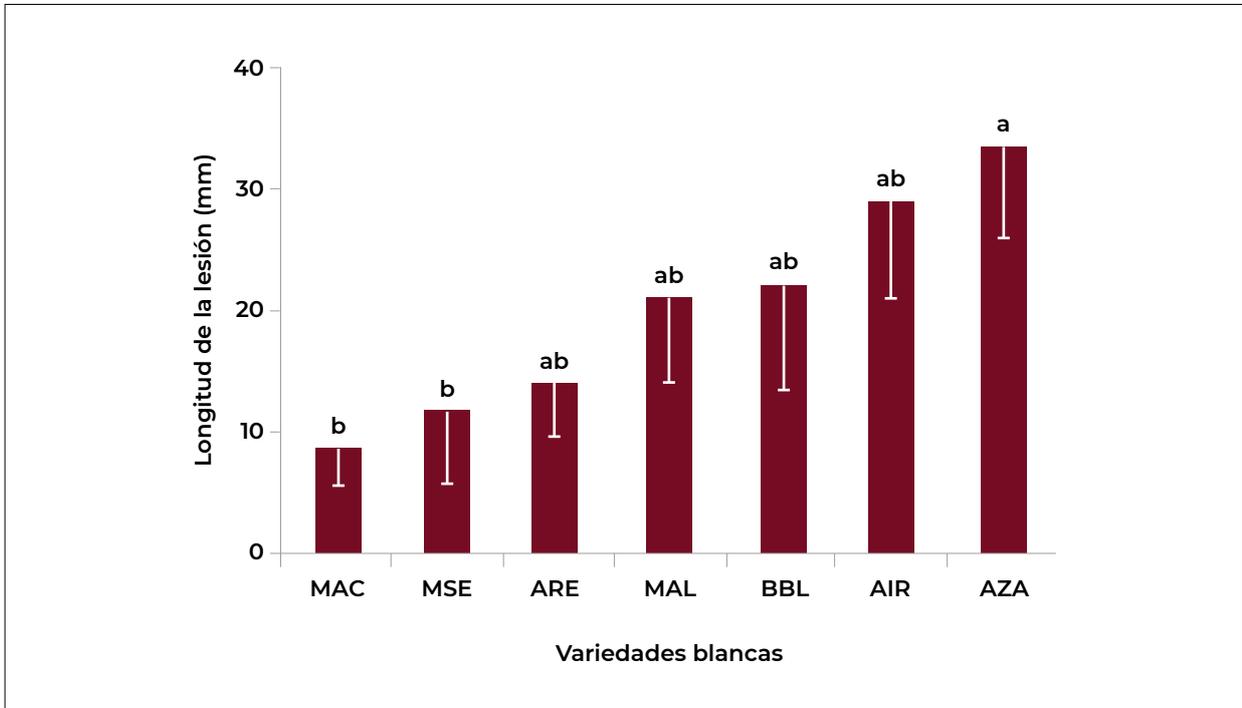


Figura 9. Longitud media de la decoloración vascular. **MAC:** Macabeo; **MSE:** Moscatel Serrano; **ARE:** Albillo Real; **MAL:** Malvar; **BBL:** Blanca del Tollo; **AIR:** Airén; **AZA:** Azargón.

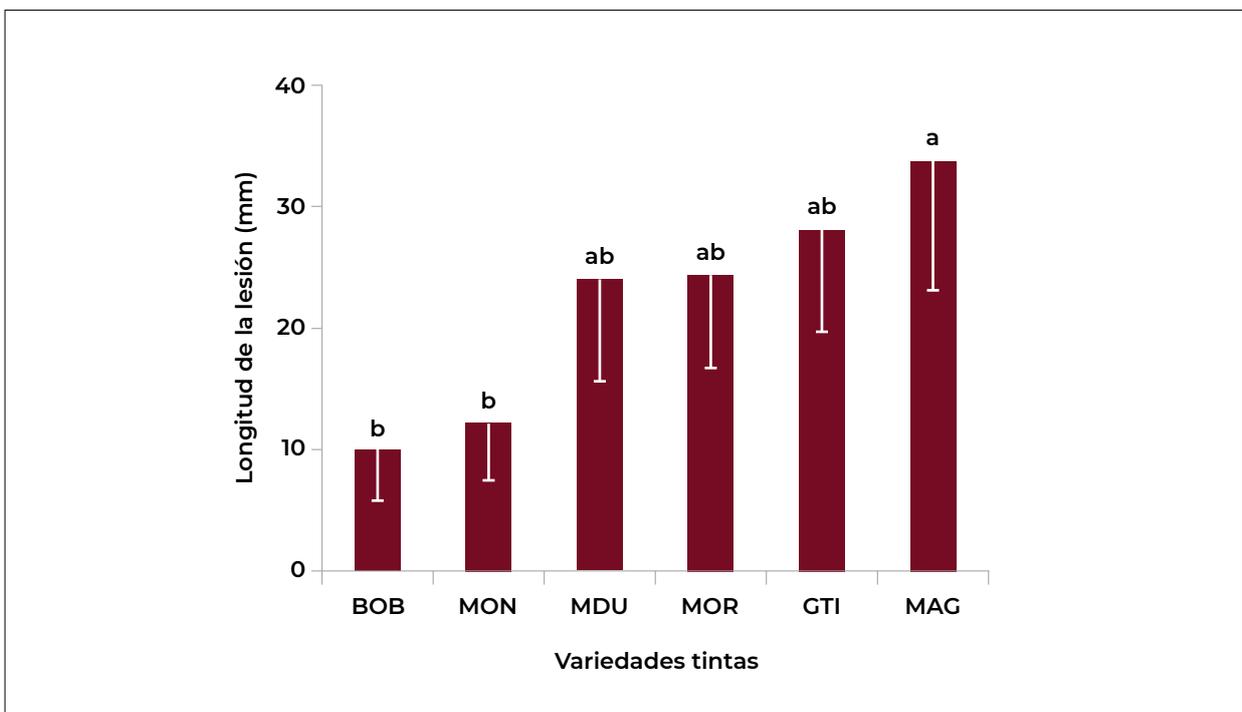


Figura 10. Longitud media de la decoloración vascular. **BOB:** Bobal; **MON:** Monastrell; **MDU:** Moravia Dulce; **MOR:** Moribel; **GTI:** Garnacha Tinta; **MAG:** Moravia Agria.



Figura 11. Ensayo de susceptibilidad frente a *Neofusicoccum parvum*, en la parcela del Centro de Investigación de la Vid y el Vino de Castilla-La Mancha (IVICAM).

6. Publicaciones más destacadas

CHACÓN-VOZMEDIANO J.L., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ M., IZQUIERDO-CAÑAS P.M., TORRES-CHICA R., GARCÍA-ROMERO E. (2008): Control de hongos patógenos en la enfermedad de la yesca. Efecto sobre la calidad de las uvas, en la variedad Airén. Poster presentado en el XXXI Congreso Mundial de la Viña y el Vino, Verona (Italia):.

TORRES-CHICA R., FERNÁNDEZ-GONZÁLEZ M., CHACÓN-VOZMEDIANO J.L., IZQUIERDO-CAÑAS P.M. (2009): Hongos asociados a las enfermedades de madera de vid en la variedad Syrah en Castilla-La Mancha. *Boletín Sanidad Vegetal*, 35: 585-593.

IZQUIERDO P.M., CHACÓN J.L. (2016): Situación actual de las enfermedades de madera de vid en plantas jóvenes. *Enoviticultura*, 38: 26-31.

MARTÍNEZ M.P., DÍAZ E., MARTÍNEZ J., CHACÓN J.L., IZQUIERDO P.M., BARAJAS E., RUBIO J.A., BERLANAS C., GRAMAJE D. (2017): Searching for resistance to grapevine trunk disease pathogens among Spanish germplasm collections. *Phytopathologia Mediterranea*, 56:552.

ITAP (*Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete, Diputación Provincial*)

RAMONA MARÍA MUÑOZ GOMEZ

1. Marco de Actuación y Proyectos (I)

Financiación Regional:

- Los estudios se plantean dentro de los objetivos y líneas de trabajo del Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF) del Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP), de la Diputación Provincial.

Financiación Nacional:

- Proyecto: Desarrollo de nuevas estrategias de manejo integrado de las enfermedades fúngicas de la madera de la vid (RTA2015-00015-C02-01), concedido por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Periodo de actuación: 2003 – 2020.

2. Participantes

A. Campos, P. Castillo, M.L. Lerma M.L., F. Mañas, R.M. Muñoz, V. Tolosa.

3. Objetivos

- Estudio de hongos detectados en el Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF) del ITAP. Este servicio está a disposición del sector agrario desde 1999, habiéndose recibido más de 1300 muestras donde se ha llevado a cabo diagnóstico de hongos de madera en el cultivo de la vid.
- Seguimiento plurianual de síntomas asociados a enfermedades de madera de la vid.

4. Ensayos Experimentales

ENSAYO 1: Estudio de la presencia de hongos patógenos de la madera de la vid y de raíces en plantaciones jóvenes con decaimiento de Castilla La Mancha desde el año 2009 al 2016

Material y métodos

- Total de muestras analizadas: 250.

Desde el año 2009, además del diagnóstico de hongos de madera, se lleva a cabo diagnóstico de hongos en raíces.

Los resultados de la identificación morfológica fueron confirmados por técnicas moleculares. Asimismo, estas técnicas se utilizaron para identificar aislados del pie negro (géneros *Dactylonectria* e *Ilyonectria*), así como de la familia Botryosphaeriaceae que no habían mostrado esporulación.

ENSAYO 2: Estudio de síntomas en una parcela de la Denominación de Origen Manchuela desde el año 2003 al año 2018.

Material y métodos

Características del viñedo:

- Variedad: principalmente Bobal, aunque dos líneas son de la variedad Monastrell (6,67%).
- Año de plantación: 1986.
- Localización: Casas Ibáñez (Albacete).
- Marco de plantación: 2,7 x 2,7 m.
- Forma de conducción: en vaso hasta 2009, a partir de entonces en espaldera de cordón doble Royat.
- Número de plantas seguidas: 960 plantas.

Seguimiento:

- Anual, en la época de máxima expresión de síntomas (agosto).

ENSAYO 3: Estudio de síntomas en la colección de variedades del ITAP.

Material y métodos

Características del viñedo:

- Variedades: tres blancas (Airén, Chardonnay y Macabeo) y siete tintas (Cabernet sauvignon, Garnacha tintorera, Mazuelo, Merlot, Monastrell, Syrah y Tempranillo).
- Patrón: 110R.
- Año de plantación: 1999.
- Localización: Finca Experimental Las Tiesas, Albacete.
- Marco de plantación: 3 x 1,5 m.
- Forma de conducción: espaldera de cordón doble Royat.
- Número de plantas seguidas: 675 plantas (de cada variedad, entre 47 y 94 plantas (dos o tres líneas)).

Seguimiento:

- 2016: cada dos semanas, 3/06 - 20/09 (8 valoraciones).
- 2017: mensual, 26/05 - 28/09 (5 valoraciones).
- 2018: mensual, 23/05 - 13/09 (4 valoraciones).
- 2019: mensual, 22/05 - 5/09 (4 valoraciones).

5. Resultados

Ensayo 1: Estudio de la presencia de hongos patógenos de la madera de la vid y de raíces en plantaciones jóvenes con decaimiento de Castilla La Mancha desde el año 2009 al 2016

A partir del año 2009, cuando se incluyó el diagnóstico de hongos a partir de raíces, el número de muestras donde se ha detectado algún hongo patógeno se ha incrementado considerablemente; asimismo, los hongos asociados al pie negro (formas asexuales del tipo «*Cylindrocarpon*») han sido los más frecuentemente detectados, presentes en el 86,8% de las muestras. *Phaeoconiella chlamydospora*, *Phaeoacremonium minimum* y *Phaeoacremonium iranimum*, hongos asociados con la enfermedad de Petri, fueron aislados en el 39,6% de los viñedos. Asimismo, se detectaron cinco especies de la familia Botryosphaeriaceae, detectadas en el 28,4% de las muestras, siendo *Diplodia seriata* la especie más frecuentemente detectada (21.2%). Hongos asociados al pie negro, enfermedad de Petri y decaimiento por Botryosphaeriaceae fueron aislados simultáneamente en algunas muestras. En la Tabla nº 1 se presenta, para cada hongo patógeno detectado, el número de aislados y la tasa de aislamiento en función de la zona de detección.

Hongo	Vinífera (n=695)		Nudo injert (n=1095)		Parte alta portainjerto (n=1090)		Parte media portainjerto (n=1155)		Parte baja portainjerto (n=1200)		Raíces (n=2225)		Total (n=7460)	
	Nº ¹	Tasa ²	Nº ¹	Tasa ²	Nº ¹	Tasa ²	Nº ¹	Tasa ²	Nº ¹	Tasa ²	Nº ¹	Tasa ²	Nº ¹	Tasa ²
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	0	0,0	3	0,3	0	0,0	1	0,1	0	0,0	0	0,0	4	0,1
Formas asexuales « <i>Cylindrocarpon</i> »	0	0,0	6	0,5	15	1,4	32	2,8	189	15,8	954	42,9	1196	16,0
<i>Diplodia seriata</i>	11	1,6	50	4,6	25	2,3	16	1,4	4	0,3	2	0,1	108	1,4
<i>Fomitiporia mediterranea</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	4	0,3	0	0,0	0	0,0	4	0,1
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	0	0,0	3	0,3	1	0,1	1	0,1	0	0,0	1	0,0	6	0,1
<i>Neofusicoccum luteum</i>	0	0,0	3	0,3	3	0,3	1	0,1	1	0,1	0	0,0	8	0,1
<i>Neofusicoccum parvum</i>	0	0,0	5	0,5	0	0,0	3	0,3	0	0,0	0	0,0	8	0,1
<i>Phaeoacremonium iranimum</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	0	0,0	1	0,1	5	0,2	6	0,1
<i>Phaeoacremonium minimum</i>	11	1,6	16	1,5	26	2,4	14	1,2	37	3,1	4	0,2	108	1,4
<i>Phaeoconiella chlamydospora</i>	35	5,0	18	1,6	18	1,7	26	2,3	38	3,2	5	0,2	140	1,9
Total	57	8,2	104	9,50	88	8,07	98	8,48	270	22,50	971	43,64	1588	21,29

Tabla 3. Número de aislados y tasa de aislamiento de los hongos patógenos de la madera detectados en función de la zona de aislamiento. (¹ Número de aislados, ² Tasa de aislamiento).

La identificación molecular de 32 aislados de formas asexuales del tipo «*Cylindrocarpon*» permitió determinar su especie, siendo *Dactylonectria torresensis* la especie más frecuente (40,6%), seguido de *Ilyonectria liriodendri* con el 28,1% de los aislados. *Dactylonectria novozelandica*, *D. alcacerensis* y *D. macrodidyma* presentaron una frecuencia de 15,6, 9,4 y 6,3%, respectivamente.

Ensayo 2: Estudio de síntomas en una parcela de la Denominación de Origen Manchuela desde el año 2003 al 2018

Los síntomas observados han sido apoplejía, decoloraciones internerviales en hojas (típicos de la enfermedad denominada «yesca») y brazos secos (Figura 12).

En el estudio efectuado durante los años de la plantación en vaso, 2003 a 2009, se observó una relación entre los síntomas brazos secos y foliares: un 34% de plantas que presentaron síntomas de yesca mostraron posteriormente brazos secos, y un 43% de estas no mostraron síntomas foliares después.



Figura 12. Síntomas observados en la parcela D.O. Manchuela.

La mortalidad anual varió entre 0 (2004) y 0,73 (2010) y la mortalidad acumulada en 2018 alcanzó 5,13%. La variedad Monastrell, aunque menos presente en la parcela, mostró una tasa de mortalidad acumulada en 2018 de aproximadamente el doble que la variedad Bobal (Figura 13).

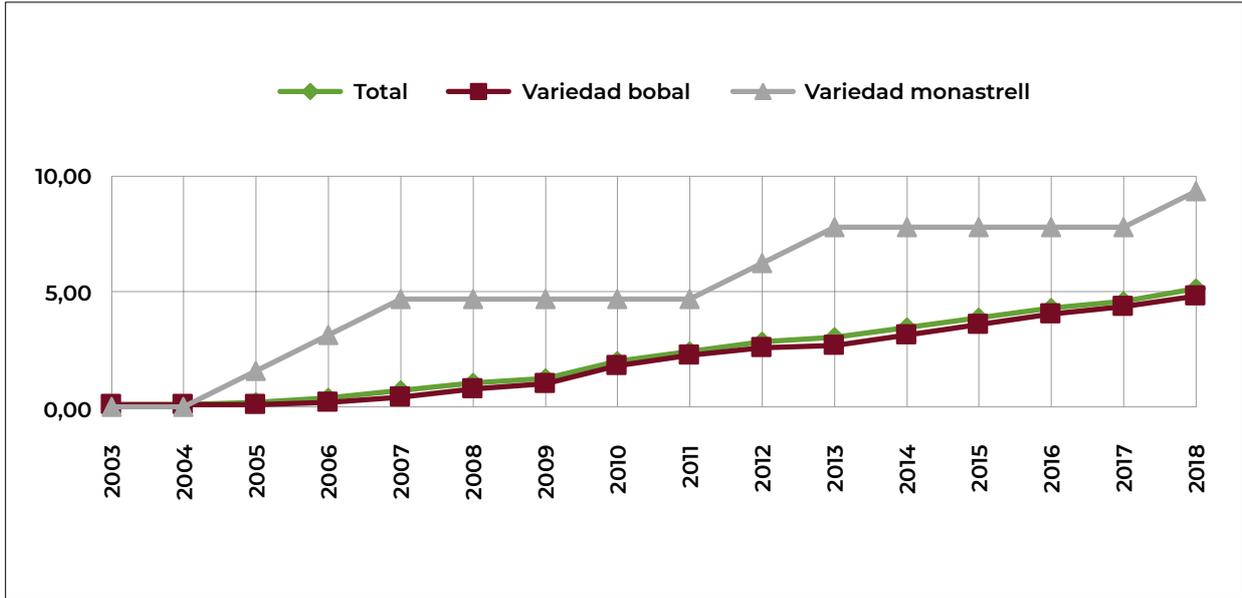


Figura 13. Porcentaje anual acumulado de plantas muertas en el periodo 2003 a 2018.

La variedad Bobal incrementó sensiblemente el número de plantas muertas en 2010, tras la transformación en espaldera que tuvo lugar a finales de 2009- principios de 2010 (Figura 14).



Figura 14. Porcentaje anual de plantas muertas de la variedad Bobal en el periodo 2003 a 2018.

Ensayo 3: Estudio de síntomas en la colección de variedades del ITAP

Los síntomas observados han sido muy variados: plantas muertas, que apenas han movido, que presentan un brazo o parte del brazo seco, más amarillas durante varios años (no en rodales), más pequeñas durante varios años, con vinífera muerta y con brotación del portainjerto americano, con síntomas de yesca, secándose (sin síntomas de yesca) y con apoplejía (Figura 15).

En la Figura 16 se presenta el porcentaje de plantas de cada variedad que no han mostrado síntomas, que han muerto (tanto vinífera como americana, como sólo vinífera), y que han mostrado algún síntoma en alguno de los seguimientos efectuados.



Figura 15. Síntomas observados en la colección de variedades del ITAP.

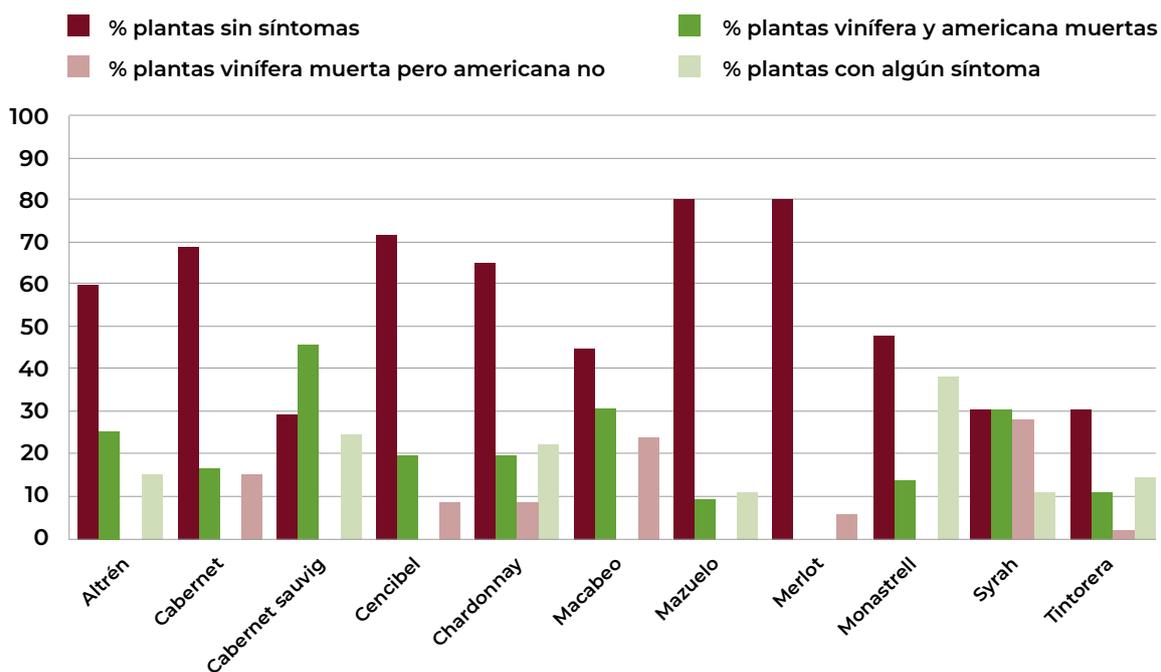


Figura 16. Porcentaje de plantas de cada variedad que no han mostrado síntomas, que han mostrado algún síntoma, que presentan tanto vinífera como americana muertas o que presentan sólo vinífera muerta pero americana no, en los seguimientos de 2016 a 2019.

6. Publicaciones más destacadas

MUÑOZ R.M., CAMPOS A., LERMA M.L., CASTILLO P., MONREAL J.A., GRAMAJE D. (2019): Economic impact of grapevine trunk diseases in a mature vineyard of the Protected Designation of Origin «Manchuela», Spain. *Phytopathologia Mediterranea*, 58, 434.

MUÑOZ R.M., LERMA M.L., CASTILLO P. (2012): Monitoring symptoms of fungal trunk diseases in a vineyard of Manchuela Denomination of Origin (Spain): a six year study. *Phytopathologia Mediterranea*, 51, 435.

TOLOSA V.M., LERMA M.L., CASTILLO P., SALINAS M.R., ARMENGOL ., MUÑOZ R.M. (2019): Characterization of the Fungi Involved with Grapevine Trunk Diseases in Castilla La Mancha Region, Spain. *Journal of Agricultural Science and Technology A* 9, 9 (6):, 329-337.

7. Marco de Actuación y Proyectos (II)

Financiación Nacional:

- «Intervención ecológica para mejorar el estado sanitario de las viñas y su efecto en la calidad de las uvas y sus vinos» (INNTER ECOSANVID 2015) (FEDER CDTI, EXP-00082208/ITC-20151026)

Periodo de actuación: 2015 – 2018.

8. Participantes

G.L. Alonso¹, A. Campayo², P. Castillo³, M. García-Martínez¹, M.L. Lerma³, R.M. Muñoz³, M.R. Salinas¹, J.F. Sánchez-Martínez¹, K. Serrano de la Hoz², V. Tolosa³, empresas D COOP, Finca Antigua, Nutricontrol y VIALCON.

¹Dpto. Ciencia y Tecnología Agroforestal y Genética. E.T.S.I.A.M. de Albacete, UCLM.

²BetterRID (Better Research, Innovation and Development, S.L.), spin-off, UCLM

³Servicio de Diagnóstico y Asistencia Fitosanitaria (SEDAF). Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP).

9. Objetivos

Impulsar una nueva estrategia ecológica que mejore el estado sanitario de las viñas, basada en la construcción de diferentes prototipos de aplicación de una novedosa materia activa evaluando su repercusión en la calidad de la uva y de sus vinos.

Mediante esta actuación se pretende mejorar el estado sanitario general de las plantas, haciendo especial énfasis en la problemática que sufren los viñedos de la región de Castilla-La Mancha como consecuencia de las enfermedades de la madera, que produce anualmente elevadas pérdidas productivas en el sector.

Para lograr este objetivo común, las empresas participantes, a través del Consorcio INNTER ECOSANVID 2015, apuestan por la investigación y la innovación en viticultura, para lo cual se ha llevado a cabo una novedosa estrategia de aplicación en campo, incidiendo sobre todas las partes de las plantas: de forma aérea, tanto a nivel foliar como sobre la madera; a través del riego, actuando sobre la zona radicular y del suelo, y mediante la inyección directa en la planta, sistema totalmente innovador en este tipo de cultivo.

Junto a la mencionada estrategia de aplicación, se ha estudiado el efecto de los tratamientos mediante una disolución de agua ozonizada, biocida de amplio espectro, que previsiblemente permitirá mejorar sustancialmente la sanidad general de las plantas, y particularmente las enfermedades fúngicas.

Objetivos Específicos

- Diseñar, desarrollar y fabricar un prototipo de tratamiento aéreo.
- Diseñar, desarrollar y fabricar un prototipo de tratamiento a través del sistema de riego.
- Diseñar, desarrollar y fabricar un prototipo de aplicación mediante endoterapia.
- Diseñar un prototipo combinado que pudiese integrar algunas o todas las intervenciones anteriores.
- Evaluar el estado sanitario de plantas con distintos niveles de infestación (inicial, medio y avanzado) antes y después de ser tratadas empleando los tres sistemas de aplicación, utilizados de forma individual y/o combinada.
- Evaluar el efecto acumulativo de intervenciones llevadas a cabo en la misma parcela durante distintas campañas.
- Evaluar la eficacia de los tratamientos aéreos ensayando con distintas concentraciones, en diferentes momentos fenológicos y con mayor número de aplicaciones durante un año.
- Determinar la aptitud enológica de las uvas procedentes de plantas sanas sobre las que se han realizado los tratamientos, tanto individuales como combinados.
- Determinar la calidad de los vinos elaborados con uvas procedentes de plantas sanas sobre las que se han realizado los distintos tratamientos y estudiar la influencia durante la fermentación alcohólica y maloláctica.

10. Ensayos Experimentales

ENSAYO 1: Estudio de la intervención aérea sobre el estado sanitario de las plantas y la calidad de las uvas y sus vinos

Material y métodos

Parcelas:

- Alhambra (Ciudad Real): variedad Tempranillo.
- Campo de Criptana (Ciudad Real): variedad Airén.
- Castillejo de Iniesta (Cuenca): variedad Bobal.
- Los Hinojosos (Cuenca): variedad Cabernet Sauvignon.
- Los Hinojosos (Cuenca): variedad Macabeo.

Tratamientos:

- En cada parcela, tres tratamientos con el prototipo aéreo, entre agosto de 2015 y junio de 2016.

ENSAYO 2: Estudio de la intervención mediante riego y una intervención combinada riego + aérea sobre el estado sanitario de las plantas y la calidad de las uvas y sus vinos.

Material y métodos

Parcelas

- Alhambra (Ciudad Real): variedad Tempranillo
- Casas de Haro (Cuenca): variedad Bobal

- Los Hinojosos (Cuenca): variedad Cabernet Sauvignon
- Los Hinojosos (Cuenca): variedad Macabeo
- Puebla de Almoradiel (Ciudad Real): variedad Airén

Tratamientos:

- Tres aplicaciones aéreas (antes de floración en 2016 y, posteriormente, antes de la vendimia y después de la poda), y tres riegos (desde julio a septiembre de 2016). En una parcela de secano, cuatro tratamientos aéreos (desde antes de floración en 2016 hasta después de la poda).

ENSAYO 3: Estudio de la intervención por endoterapia sobre el estado sanitario de las plantas y la calidad de las uvas y sus vinos.

Material y métodos

Parcelas:

- Alcázar de San Juan (Ciudad Real): variedad Airén.
- Alameda de Cervera (Ciudad Real): variedad Tempranillo.
- Casas de Haro (Cuenca): variedad Bobal.
- Los Hinojosos (Cuenca): variedad Cabernet Sauvignon.
- Los Hinojosos (Cuenca): variedad Macabeo.

Tratamientos:

- En cada parcela, cuatro o cinco tratamientos con el prototipo de endoterapia, entre mayo y agosto de 2017.

ENSAYO 4: Estudio de una intervención combinada con endoterapia (aérea, mediante riego o ambas) sobre el estado sanitario de las plantas y la calidad de las uvas y sus vinos.

Material y métodos

Parcelas:

- Alcázar de San Juan (Ciudad Real): variedad Airén
- Alameda de Cervera (Ciudad Real): variedad Tempranillo
- Casas de Haro (Cuenca): variedad Bobal
- Los Hinojosos (Cuenca): variedad Cabernet Sauvignon
- Los Hinojosos (Cuenca): variedad Macabeo

Tratamientos:

- En cuatro parcelas, cinco o seis tratamientos de riego + endoterapia o tratamiento aéreo + endoterapia, entre junio y agosto de 2017. En una parcela, once tratamientos aéreos + endoterapia desde mayo hasta agosto de 2017.

11. Resultados más relevantes

El análisis del conjunto de todos los datos recopilados en las distintas valoraciones visuales muestra que hay diferencias significativas entre plantas tratadas y plantas control ($\alpha=0,1$) (Tabla 4). Se ha detectado un 5% más de plantas que mejoran cuando han sido tratadas en relación con el control. Las plantas tratadas respecto a las no tratadas mejoran un 4 % de media. En la Figura 17 se presentan los valores medios de variación de síntomas (diferencia entre la valoración después y antes del tratamiento) para las plantas con síntomas iniciales, medios y avanzados de yesca; los valores negativos indican mejoría; un valor más negativo indica una mayor mejoría.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	0,317	1	0,317	3,276	0,071
Dentro de grupos	82,265	849	0,097		
Total	82,583	850			

Tabla 4. Análisis de varianza de la variable variación de síntomas (diferencia entre la valoración después y antes del tratamiento) en relación al tratamiento de ozono.

A nivel de parcela se han obtenido resultados significativos estadísticamente ($\alpha = 0,05$) en dos parcelas: una de la variedad Tempranillo tratada con tratamiento aéreo y de riego y otra de la variedad Airén tratada con endoterapia y riego. En las Figuras 18 y 19 se presentan los valores medios de la variación de síntomas para las plantas tratadas y control con síntomas iniciales, medios y avanzados de yesca.

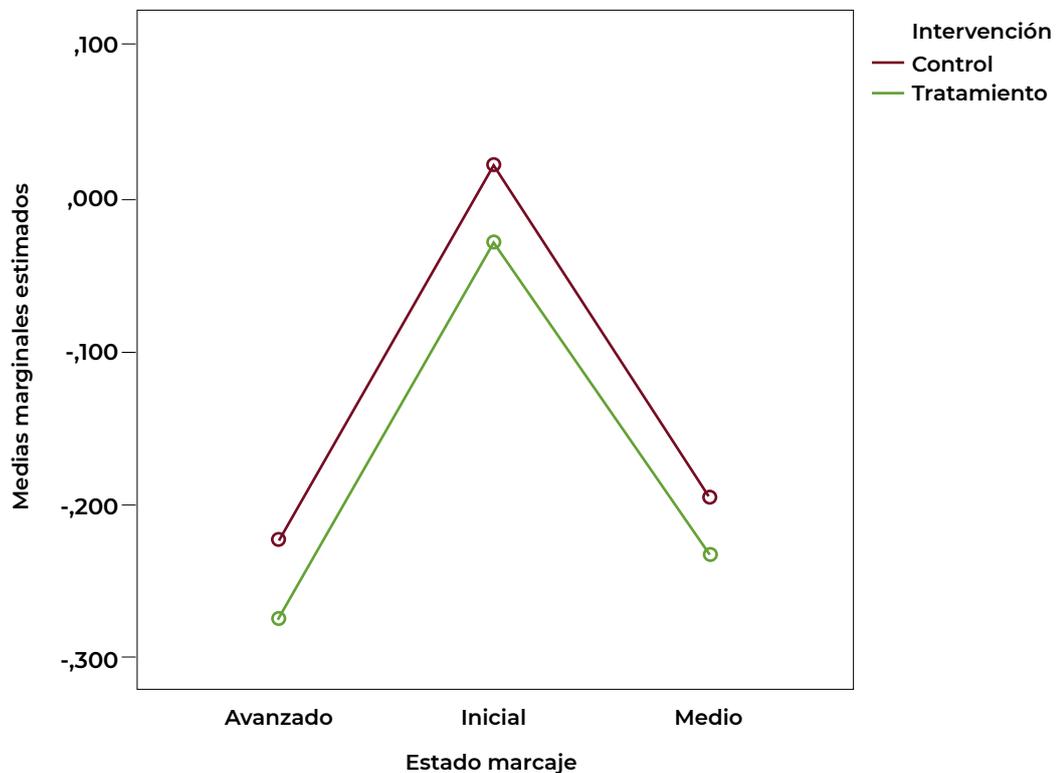


Figura 17. Valores medios de la variación de síntomas (diferencia entre la valoración después y antes del tratamiento) para las plantas tratadas con ozono y control con síntomas iniciales, medios y avanzados de yesca.

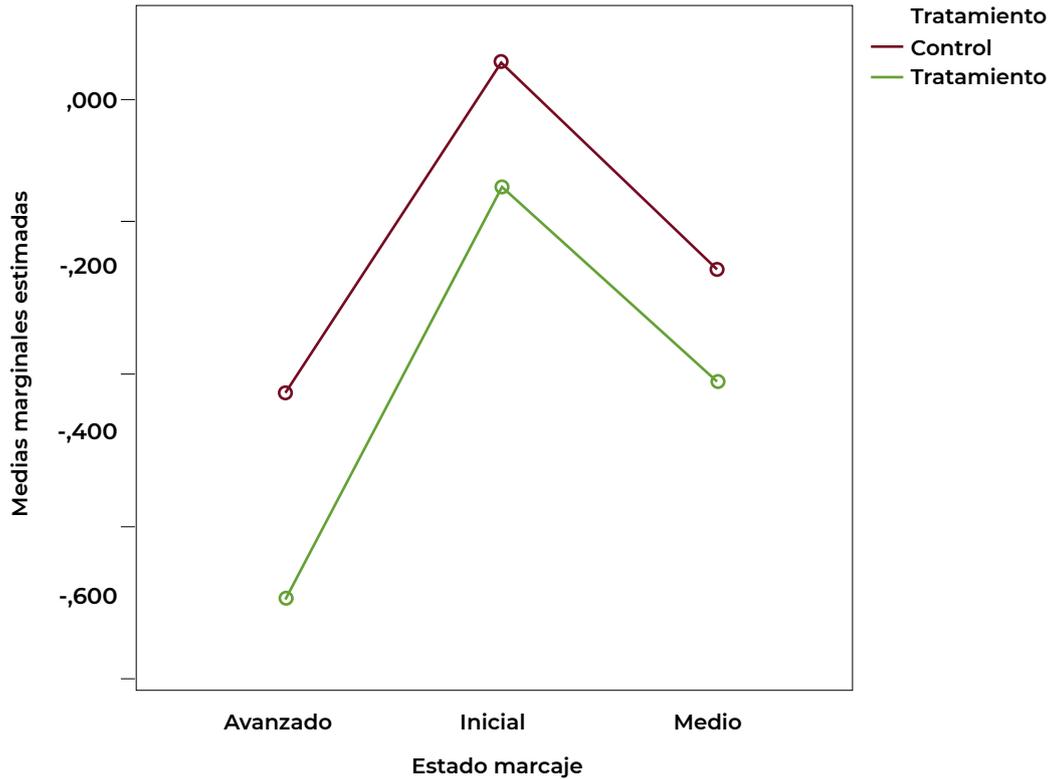


Figura 18. Valores medios de la variación de síntomas (diferencia entre la valoración después y antes del tratamiento) para las plantas tratadas y control con síntomas iniciales, medios y avanzados de yesca en la parcela de la variedad Tempranillo, tratada con tratamiento aéreo y de riego de ozono.

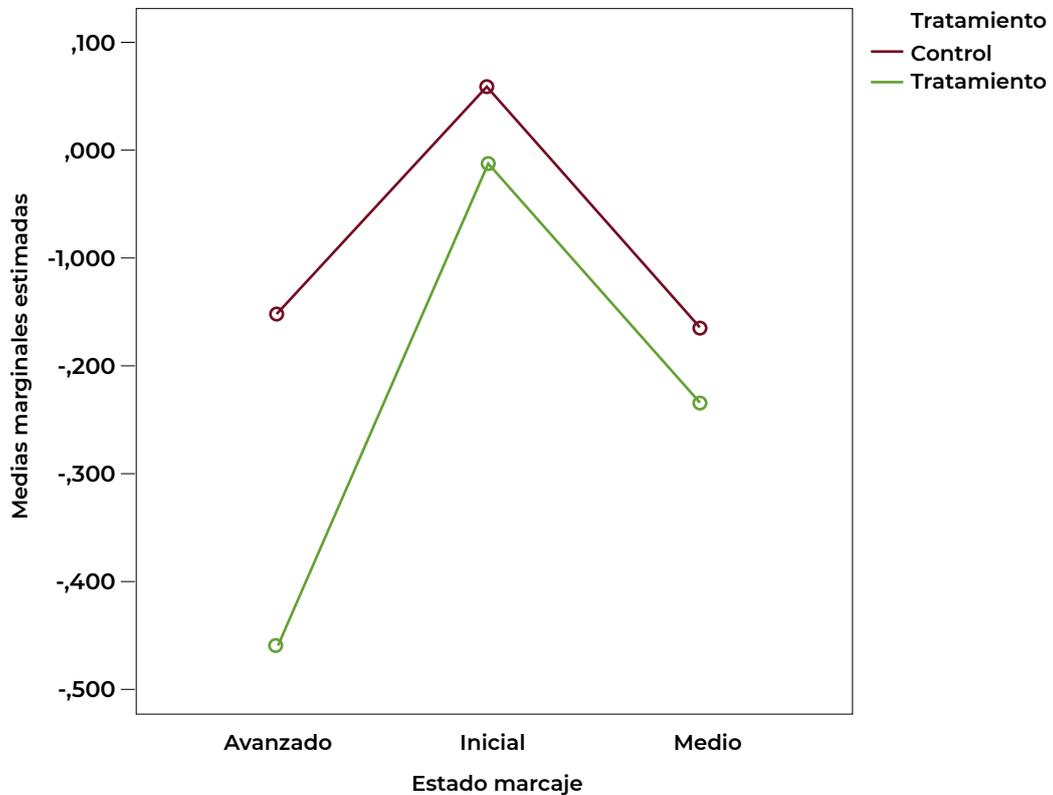


Figura 19. Valores medios de la variación de síntomas (diferencia entre la valoración después y antes del tratamiento) para las plantas tratadas y control con síntomas iniciales, medios y avanzados de yesca en la parcela de la variedad Airén, tratada con endoterapia y con riego de ozono.

En el resto de parcelas no se han detectado diferencias significativas ($\alpha = 0,05$). Sin embargo, se aprecia un menor avance en la expresión de síntomas en plantas tratadas en relación con plantas control.

Durante las evaluaciones visuales realizadas en las parcelas del proyecto se ha constatado la gran variación de expresión de síntomas que se produce de forma natural de un año a otro.

En los aislamientos fúngicos realizados, tanto de plantas con síntomas y sin síntomas, tratadas y no tratadas, se han detectado hongos patógenos asociados a enfermedades de madera. En este sentido las especies del género «*Cylindrocarpon*» han sido las que se han detectado con mayor frecuencia y en un mayor número de muestras. Tras estas especies la siguiente en abundancia es *Phaeoacremonium* *chlamydospora*, hongo primario de la enfermedad de la yesca. También se han detectado otros hongos asociados a yesca (especies del género *Phaeoacremonium*, principalmente la especie *Pm. minimum*) y de la familia Botryosphaeriaceae.

El análisis de las poblaciones de especies patógenas, en plantas tratadas y control, muestra que en ambos grupos los patógenos se encuentran en proporciones similares. Por ello, en principio no se aprecia un efecto de los tratamientos sobre estas especies (Figura 20).

De forma general, se ha observado que no existe una correlación entre los síntomas externos y los internos. Se han encontrado plantas sin síntomas externos con importantes daños internos.

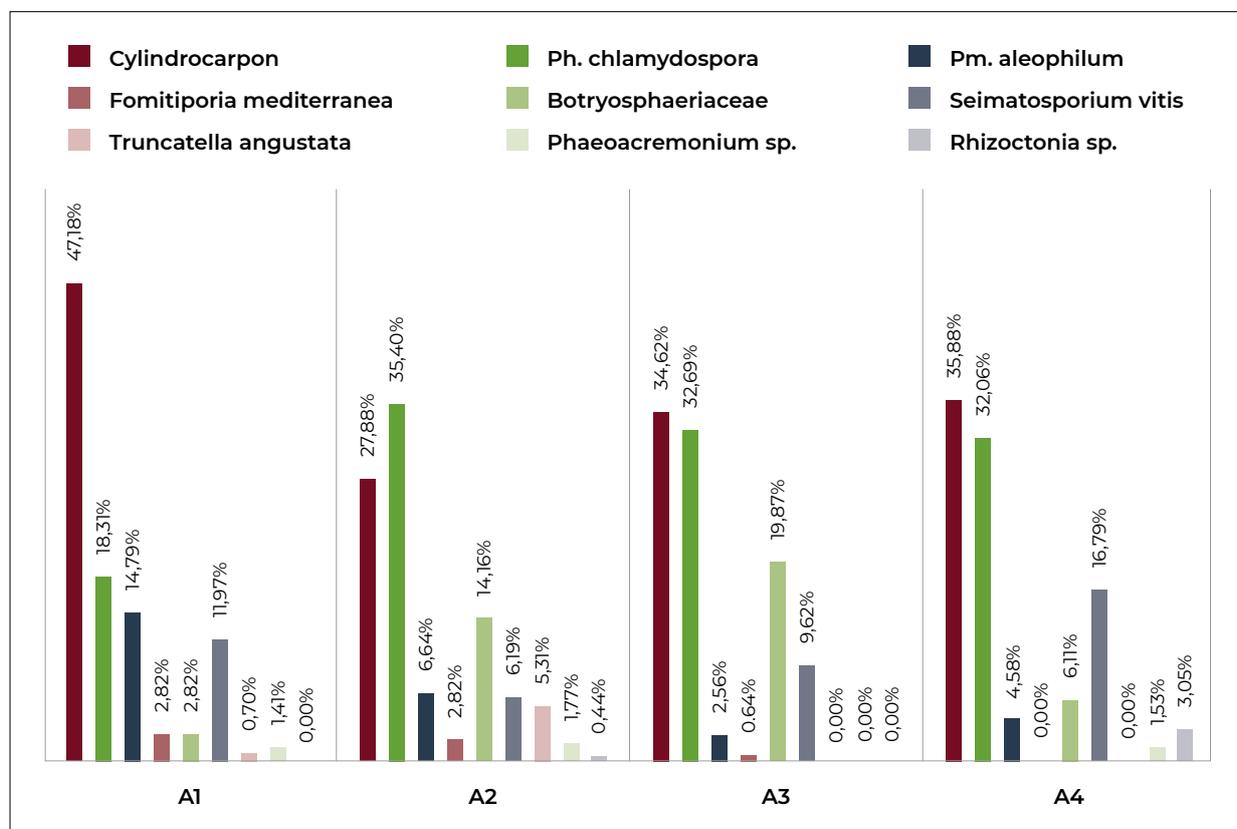


Figura 20. Hongos detectados en los cuatro estudios efectuados (A1: tratamiento aéreo; A2: tratamiento mediante riego y combinado de riego más aéreo; A3: tratamiento por endoterapia; A4: tratamiento combinado de endoterapia con aéreo, riego o ambos) de plantas tratadas (A) y control (B).

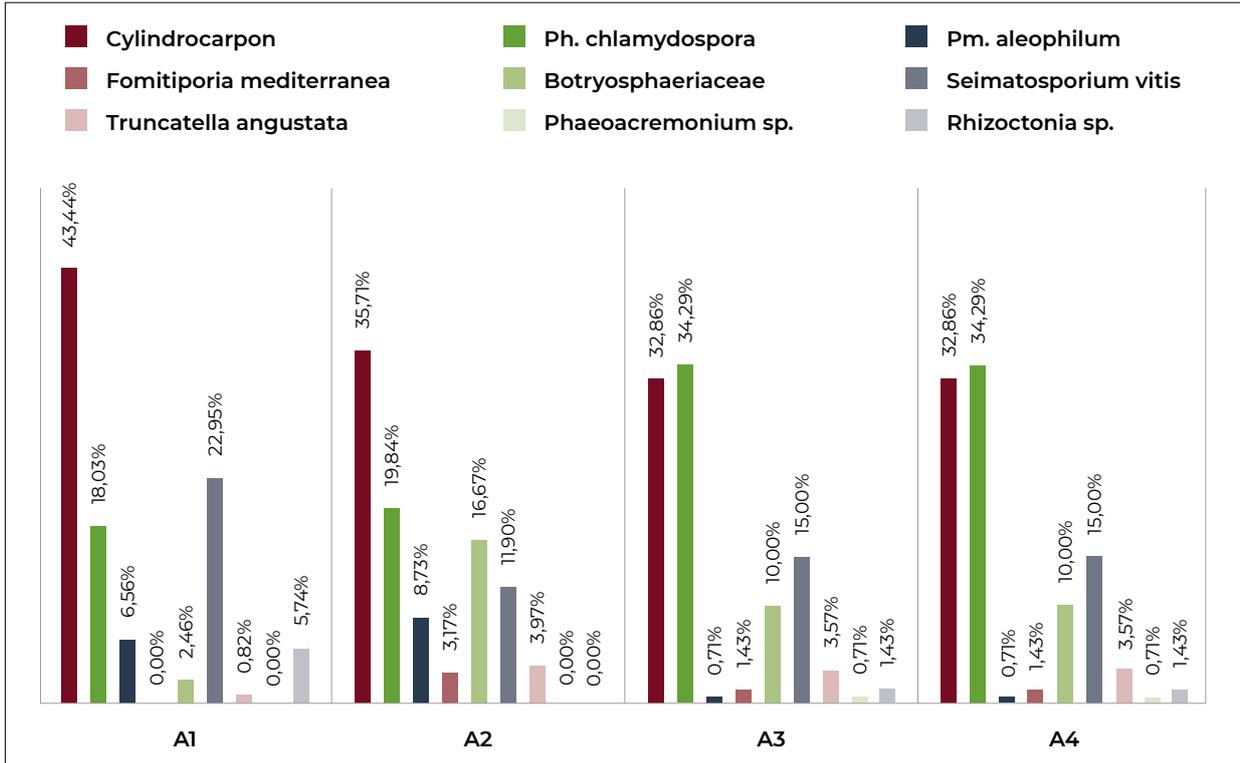


Figura 20 (continuación). Hongos detectados en los cuatro estudios efectuados (**A1**: tratamiento aéreo; **A2**: tratamiento mediante riego y combinado de riego más aéreo; **A3**: tratamiento por endoterapia; **A4**: tratamiento combinado de endoterapia con aéreo, riego o ambos) de plantas tratadas (A) y control (B).

A lo largo de las tres anualidades en las que se ha ejecutado el proyecto INNTER-ECOSANVID 2015, también se ha evaluado la influencia de los tratamientos llevados a cabo sobre la calidad de las uvas y de sus vinos. Se analizaron los parámetros enológicos clásicos, así como la composición fenólica y aromática, de uvas procedentes de cepas tratadas y se compararon con los resultados obtenidos de plantas testigo (sin tratar). Posteriormente, se elaboraron los respectivos vinos, se realizó un exhaustivo control durante la fermentación (alcohólica y, en el caso de los tintos, maloláctica) y se realizaron los análisis correspondientes. De forma general, se observó que los tratamientos no afectaron al desarrollo de la fermentación, pero influyeron en el contenido fenólico y aromático de las uvas y vinos de forma diferente, según el año de la cosecha, la estrategia de aplicación llevada a cabo y la variedad de uva.

12. Publicaciones más destacadas

- CAMPAYO A., SERRANO DE LA HOZ K., GARCÍA-MARTÍNEZ M.M., SÁNCHEZ-MARTÍNEZ J.F., SALINAS M.R., ALONSO G.L. (2019): Spraying ozonated water on Bobal grapevines: Effect on grape quality. *Food Research International* 125 (May); 108540. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108540>.
- SERRANO DE LA HOZ K., CAMPAYO A., GARCÍA-MARTÍNEZ M.M., TOLOSA V., SÁNCHEZ-MARTÍNEZ J.F., MUÑOZ R., ALONSO G.L., SALINAS M.R. (2018): Effect on grape and wine quality of the ozonated water used in vineyards to control wood diseases. *International Congress on Grapevine and Wine Sciences*, Logroño.
- TOLOSA V., GARCÍA-MARTÍNEZ M.M., SÁNCHEZ-MARTÍNEZ J.F., CAMPAYO A., SERRANO DE LA HOZ K., ALONSO G.L., SALINAS M.R., MUÑOZ R. (2018): Influence of the ozonated water used in vineyards to control grapevine trunk diseases and effect on the grape and wine quality. *41º Congreso Mundial de la viña y el vino*, Uruguay.
- TOLOSA V.M., LERMA M.L., CASTILLO P., SALINAS M.R., ARMENGOL J., MUÑOZ R.M. (2019): Characterization of the Fungi Involved with Grapevine Trunk Diseases in Castilla La Mancha Region, Spain. *Journal of Agricultural Science and Technology A* 9, 9 (6); 329-337.

2. Castilla y León

ITACyL (Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León)

ENRIQUE BARAJAS TOLA Y JOSÉ ANTONIO RUBIO CANO

1. Marco de Actuación y Proyectos

Financiación Regional:

- Programa de monitorización y vigilancia coordinado desde el Observatorio de plagas y enfermedades agrícolas de Castilla y León (ITACYL), dentro del marco establecido por el Plan Director de Lucha contra Plagas Agrícolas en Castilla y León (ACUERDO 53/2009, de 14 de mayo, de la Junta de Castilla y León).

Financiación Nacional:

- Proyecto: Desarrollo de nuevas estrategias de manejo integrado de las enfermedades fúngicas de la madera de la vid (RTA2015-00015-C02-01), concedido por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Periodo de actuación: 2014 – 2020.

2. Participantes

Enrique Barajas, José Antonio Rubio, Constantino Caminero, David Ruano.

3. Objetivos

- Desarrollo de métodos de evaluación rápidos y fiables para identificar fuentes de resistencia a hongos de madera de la vid entre una colección de variedades autóctonas.
- Evaluación de la sensibilidad varietal en plantaciones ya establecidas mediante infección natural.
- Conocer la incidencia real de las enfermedades de madera y su evolución en el viñedo de Castilla y León.
- Determinar el riesgo y los posibles niveles de alerta y priorización de esfuerzos generales o zonales.

4. Ensayos Experimentales

ENSAYO 1: Estudio de resistencia de 15 variedades autóctonas de Castilla y León a la inoculación de *Phaeomoniella chlamydospora* en condiciones controladas.

Material y métodos

Características del viñedo:

- Variedades: Tintas (Bruñal, Cenicienta, Estaladiña, Juan García, Mencía, Merenzao, Prieto Picudo, Prieto Picudo Oval, Rufete). Blancas (Albillo Mayor, Doña Blanca, Moscatel de Grano Menudo, Puesta en Cruz, Verdejo, Verdejo Serrano).
- Duración: 2016 – 2017.

Tratamientos experimentales:

- Inoculación de *Phaeoconiella chlamydospora* (BV-130) en sarmientos de 4 yemas enraizados y brotados en el año. Se inocularon 12 sarmientos por variedad estudiada y año.
- PDA como tratamiento control en sarmientos de 4 yemas enraizados y brotados en el año. Se inocularon 12 sarmientos por variedad estudiada y año.

Condiciones experimentales:

- Mantenimiento de mayo a enero en invernadero a 25 °C de temperatura y humedad relativa del 40%, en macetas de poliuretano de 2 litros de capacidad con turba esterilizada.
- Se aplicaron dos riegos por semana con el objetivo de evitar estrés hídrico en las plantas durante todo el ciclo.



Figura 21. Proceso de inoculación.

Medidas realizadas:

- En enero se midió la longitud de la decoloración vascular o lesión producida hacia arriba y hacia abajo del punto de inoculación mediante el software ImageJ. Posteriormente, se seleccionaron tres plantas inoculadas de cada variedad y cortando pequeños trozos (0,5 a 1 cm) de tejido necrótico del borde de cada lesión, se colocaron en agar con extracto de malta con 0,5 g/L de sulfato de estreptomicina, para recuperar los hongos inoculados y completar los postulados de Koch. En 2017, el aislamiento fúngico también se realizó a intervalos de 1 cm por encima del punto de inoculación. Las tasas de recuperación se calcularon como el porcentaje de plantas de las que se recuperó un patógeno del número total de plantas inoculadas.

ENSAYO 2: Estudio de la incidencia de las enfermedades de madera de la vid en Castilla y León.**Material y métodos**

- Periodo: agosto y septiembre de 2014 y 2015.
- Viñedos inspeccionados: 728 en 2014, 566 en 2015.
- Unidad muestral evaluada por viñedo: 200 posiciones de cultivo (145.594 posiciones de cultivo en 2014 y 106.860 en 2015).

Características del viñedo:

La elección de los viñedos se basó en criterios de jerarquización en los que se tuvieron en cuenta aspectos como:

- Distribución geográfica del viñedo, tanto a nivel provincial como de representatividad a nivel de municipio.
- Denominaciones de Origen Protegidas y Figuras de Calidad.
- Edad de los viñedos:
 - Plantados de 2004 a 2013: plantaciones jóvenes en las que aún se está formando la estructura y entrando en producción y estabilización.
 - Plantados de 1994 a 2003: viñedo adulto en plena producción en época de gran auge de plantaciones.
 - Plantados de 1979 a 1993: viñedo adulto en plena producción.
 - Plantados antes de 1979: plantaciones «viejas», con menor producción y rendimiento, pero interesante aporte en calidad.
- Variedades representativas.
- Densidad de plantación:
 - Baja: entre 700 y 2.000 plantas por hectárea.
 - Media: entre 2.000 y 3.300 plantas por hectárea.
 - Alta: superiores a las 3.300 plantas por hectárea (hasta las 10.000).
- Sistema de conducción, formas libres o en «vaso» o formas dirigidas o en «espaldera».

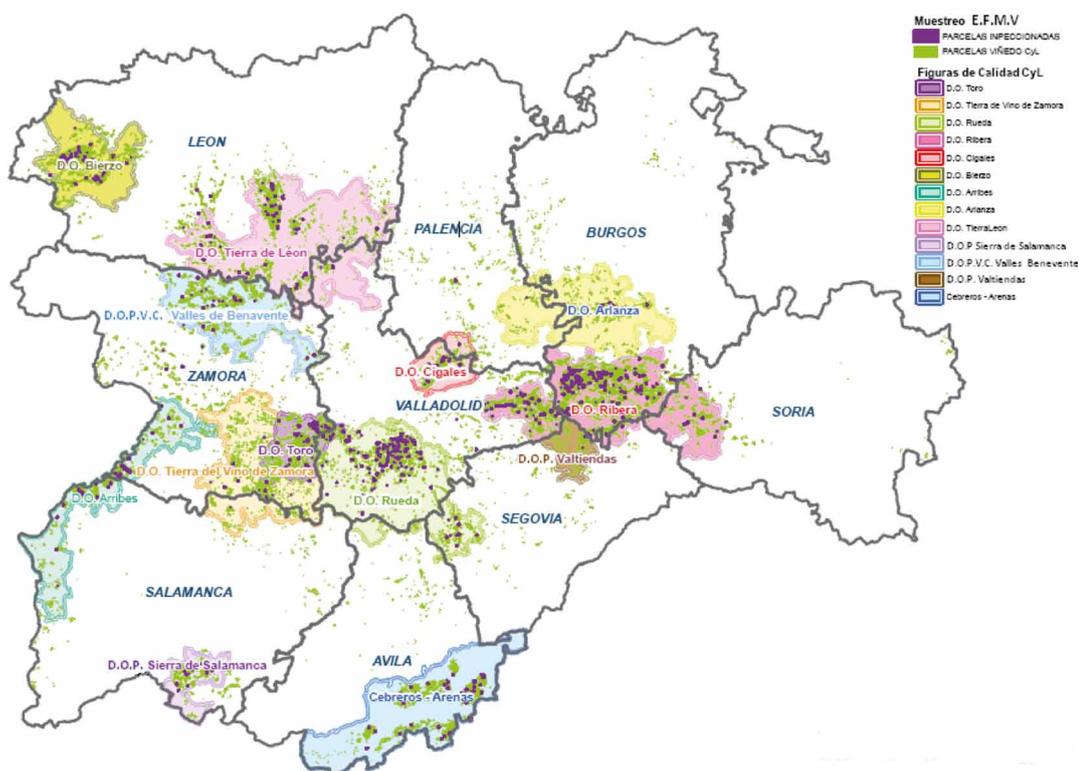


Figura 22. Distribución del viñedo en Castilla y León y puntos de muestreo de enfermedades fúngicas de la madera de la vid en función de la provincia y figura de calidad.

5. Resultados

Ensayo 1: Estudio de resistencia de 15 variedades autóctonas de Castilla y León a la inoculación de *Phaeoemoniella chlamydospora* en condiciones controladas

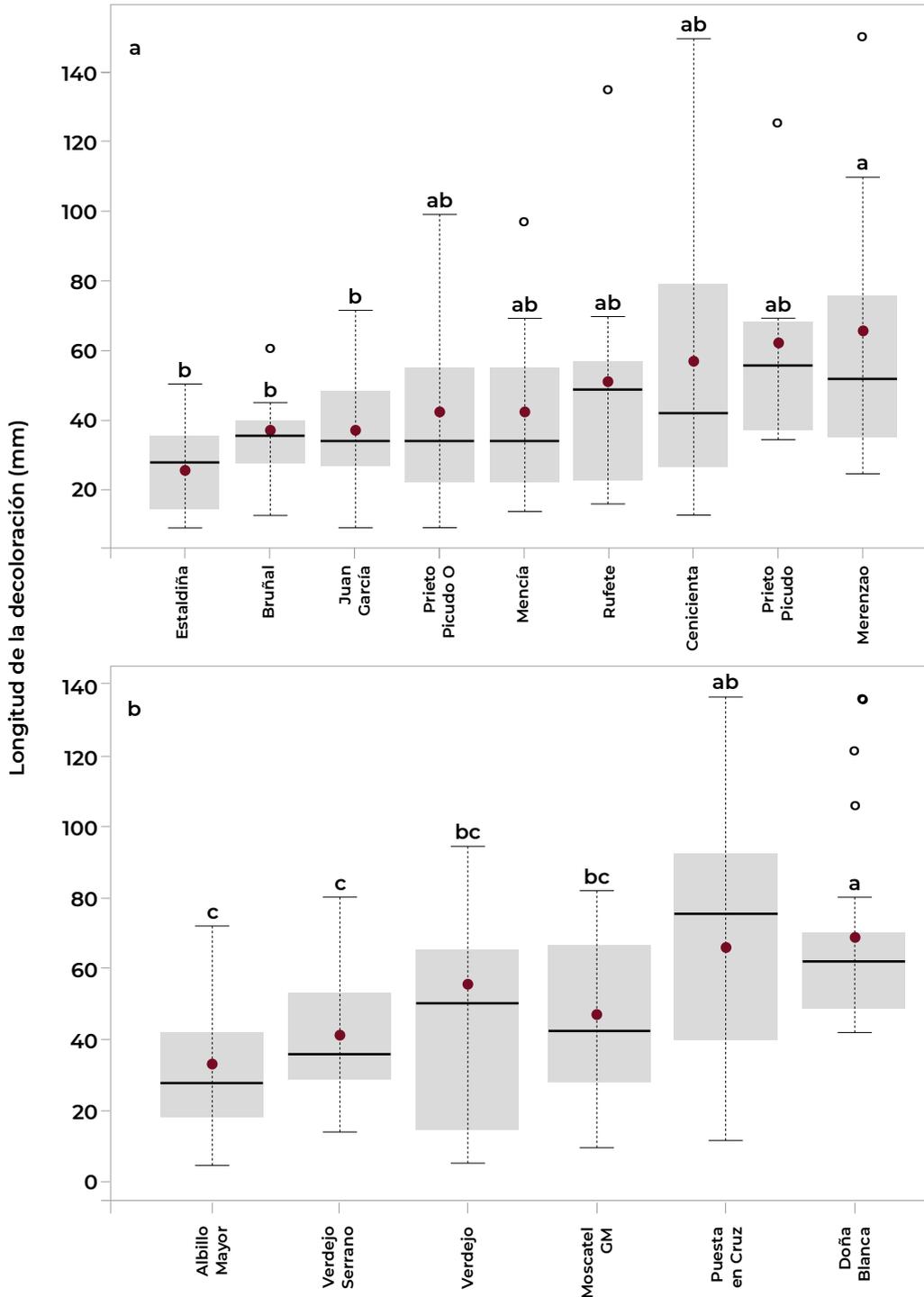


Figura 23. Susceptibilidad de la vid a la inoculación de *Phaeoemoniella chlamydospora*. Diagramas de cajas que ilustran la distribución de la longitud de la decoloración de la madera medida en 9 variedades tintas (a) y 6 blancas (b) a los 7 meses después de las inoculaciones. Las líneas continuas y los círculos rojos dentro del cuadro corresponden a la mediana y la media, respectivamente. Las líneas superior e inferior del cuadro corresponden a los percentiles 25 y 75 de los datos, respectivamente. Las barras de error representan los percentiles 10 y 90, y los círculos representan los percentiles 5 y 95. Variedades con letras diferentes representan diferencias significativas al 95% según el Test de Tukey.

Ensayo 2: Estudio de la incidencia de las enfermedades de madera de la vid en Castilla y León

ZONA O NIVEL DE ESTUDIO		Nº Parcelas 2014	% Afección 2014	Nº Parcelas 2015	% Afección 2015
Autonómico	Castilla y León	728	2,58	566	2,06
	Ávila	47	5,79	24	5,64
Provincial	Burgos	167	3,64	112	1,35
	León	115	1	86	0,61
	Palencia	3	0,37	2	0,62
	Salamanca	26	0,93	13	0,75
	Segovia	15	0,29	13	0,9
	Soria	14	2,13	14	2,23
	Valladolid	217	1,69	205	1,56
	Zamora	124	3,69	97	4,65
	Arlanza	9	1,53	7	0,32
	Arribes	33	1,05	23	1,17
Figura de calidad	Bierzo	52	1,19	37	0,85
	Cigales	26	2,08	21	2,16
	Ribera del Duero	207	3,2	153	1,52
	Rueda	136	1,52	129	1,14
	Sierra de Salamanca	11	0,68	4	0,48
	Tierra de León	57	0,95	48	0,44
	Tierra del vino de Zamora	17	2,5	10	6,88
	Toro	68	5,76	61	6,27
	Valtiendas	5	0,54	3	1,24
	Valles de Benavente	26	1,9	18	2,05
Edad del viñedo	V.T. de Castilla y León	81	3,65	52	3,16
	Anterior a 1979	340	2,55	239	1,93
	1979-1993	86	2,35	63	3,18
	1994-2003	176	3,65	155	2,87
	2004-2013	126	1,31	109	0,54

Tabla 5. Porcentaje de incidencia de enfermedades fúngicas de la madera y número de parcelas inspeccionadas en 2014 y 2015 a nivel autonómico, provincial, figura de calidad y edad del viñedo.

FACTOR DE ESTUDIO		Nº Parcelas 2014	% Afección 2014	Nº Parcelas 2015	% Afección 2015
Variedad	Tintas	548	2,95	402	2,42
	Blancas	157	1,41	146	1,05
	Albillo Real	3	1,17	3	2,75
	Cabernet Sauvignon	1	0	1	0
	Garnacha	55	3,55	31	4,3
	Garnacha Tintorera	11	9,35	6	3,51
	Godello	2	3,83	2	1,28
	Juan García	20	1,03	12	1,33
	Malvasía Riojana	6	1,29	3	0,51
	Mencia	43	1,23	28	1,3
	Merlot	1	0	1	0,51
	Palomino	15	0,33	13	0,82
	Prieto Picudo	50	0,82	43	0,52
	Rufete	9	1,56	4	1,42
	Sauvignon Blanc	4	0	4	0,26
	Tempranillo	358	3,32	276	2,67
	Verdejo	121	1,57	115	1,07
	Viura	6	1,33	6	0,97
	Mezcla	23	1,73	18	2,23
Sistema de conducción	Espaldera	222	1,9	186	1,14
	Vaso	453	2,87	332	2,73
Densidad de plantación	Alta	120	1,5	92	1,19
	Media	397	2,38	317	1,37
	Baja	211	3,55	157	3,96

Tabla 5 (continuación). Porcentaje de incidencia de enfermedades fúngicas de la madera y número de parcelas inspeccionadas en 2014 y 2015 a nivel autonómico, provincial, figura de calidad y edad del viñedo.

6. Conclusiones

Ensayo 1: Estudio de resistencia de 15 variedades autóctonas de Castilla y León a la inoculación de *Phaeomoniella chlamydospora* en condiciones controladas

Todas las variedades desarrollaron lesiones de madera después de la inoculación con el agente causal, lo que indica que no hay evidencia de resistencia cualitativa a este hongo. Sin embargo, hay variedades como Estaladiña y Albillo Mayor, que han mostrado diversos signos de resistencia parcial a *P. chlamydospora*, pudiendo ser candidatas a sustituir a otras variedades más susceptibles y

ampliamente extendidas en Castilla y León. Ensayo 2: Estudio de la incidencia de las enfermedades de madera de la vid en Castilla y León

En conjunto, el grado de afección de enfermedades de madera de la vid no ha sido muy elevado (2-3%), si bien es relativamente alarmante el hecho de que se ha detectado presencia de la enfermedad en más del 50% de las parcelas muestreadas en ambos años de estudio.

Las provincias más afectadas han sido Ávila y Zamora, observándose una ligera tendencia al aumento de la incidencia en Zamora de 2014 a 2015. Igualmente, se ha observado esta tendencia en las figuras de calidad de la DO Toro y la DO Tierra del Vino de Zamora, resultando ser las más afectadas en 2015.

El rango de edad del viñedo de menos de 10 años es el de menor incidencia promedio, menos de 1,5%, presentado el resto de intervalos de edad incidencias mayores de 1,9%.

Las variedades tintas han mostrado más afectación que las blancas. Las variedades con mayor afectación han sido Garnacha Tintorera, Garnacha y Tempranillo. El sistema de conducción en vaso, con densidades de plantación más bajas, ha presentado mayor incidencia que la espaldera, quizás debido al aumento de la sección de las heridas de poda y por tanto mayor vía de entrada de los hongos en la planta.

La incidencia de estas enfermedades aumenta a medida que disminuye la densidad de plantación. Las densidades de plantación «bajas» han mostrado porcentajes de incidencia mayores que las densidades «medias» y «altas». Estos resultados pueden ser debidos a que al aumentar la densidad de plantación se reduce la capacidad individual de las cepas, disminuyendo la sección de las heridas, y por tanto, disminuyendo la vía de entrada de los hongos en la planta.

Si bien con diferencias aparentes en cuanto a la distribución geográfica de la incidencia de las enfermedades de madera, la detección de presencia de sintomatología compatible con estas enfermedades prácticamente de forma generalizada, supone un foco de expansión en los próximos años, lo cual aconseja una profundización urgente en el incremento de conocimiento e investigación aplicada orientada a la definición de estrategias y medidas que puedan paliar sus efectos.

7. Publicaciones más destacadas

MARTÍNEZ-DIZ M.P., DÍAZ-LOSADA E., BARAJAS E., RUANO-ROSA D., ANDRÉS-SODUPE M., GRAMAJE D. (2019): Screening of Spanish *Vitis vinifera* germplasm for resistance to *Phaeomoniella chlamydospora*. *Scientia Horticulturae* 246, 104-109.

BARAJAS E., RUBIO J.A., ROJO F.J., GONZÁLEZ J.C., CAMINERO C. (2019): Situación de las enfermedades de madera en el viñedo de Castilla y León. *Tierras* 271, 70-76.

3. Comunidad Valenciana

Instituto Agroforestal Mediterráneo, Universitat Politècnica de València

JOSEP ARMENGOL Y MÓNICA BERBEGAL

1. Marco de Actuación y Proyectos

Financiación Nacional:

- Proyecto: Desarrollo de nuevas estrategias de manejo integrado de las enfermedades fúngicas de la madera de la vid (RTA2015-00015-CO2-01), concedido por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Financiación privada:

- Convenio de colaboración con la empresa Belchim Crop Protection.

Periodo de actuación: 2015 – 2020.

2. Participantes

J. Armengol, M. Berbegal, A. Ramón-Albalat y M. León.

3. Objetivos

- Evaluar la capacidad del agente de biocontrol *Trichoderma atroviridae* SC1 para reducir las infecciones causadas por hongos de la madera en el material de plantación de vid durante el proceso de propagación en un vivero comercial.
- Establecer dos viñedos comerciales con este material de siembra tratado con *T. atroviridae* SC1, para comprobar la protección a largo plazo proporcionada por este agente de control biológico durante dos campañas de cultivo.

4. Ensayos Experimentales

ENSAYO 1: Ensayo de vivero.

Material y métodos

Características del vivero:

- Localización: Comunidad Valenciana
- Variedad: Tintorera
- Portainjerto: 110 Richter
- Año del ensayo: 2015
- Producto *T. atroviride* SC1 a la dosis de 2 g/litro

Tratamientos experimentales:

- Inmersión del material vegetal durante 1 día en el producto antes del injerto; aplicación al sustrato del producto en la fase de estratificación; inmersión de raíces en el producto durante 1 hora antes de la plantación (Figura 24).

- Sin producto (tratamientos con agua sin *T. atroviride* SC1).
- En ambos casos se utilizaron tres repeticiones de 120 plantas por tratamiento. Al final de la campaña, se estudió la presencia de *Trichoderma* y hongos de la madera en 25 plantas por repetición.



Figura 24. Tratamiento con *Trichoderma atroviride* SC1 por inmersión de las plantas antes de la plantación en el campo de enraizamiento en vivero y aspecto del mismo campo tras la brotación.

ENSAYO 2: Ensayos en viñedo.

Material y métodos

Características del viñedo:

- Localización: Dos viñedos plantados en Campo Arcís (Campo 1) y Requena (Campo 2) (Comunidad Valenciana).
- Variedad: Tintorera.
- Portainjerto: 110 Richter.
- Año del ensayo: Campañas de cultivo 2016-17 y 2017-18.

Tratamientos experimentales:

- En cada campo se establecieron tres repeticiones de 30 plantas por tratamiento (tratadas y no tratadas).
- Tratamientos campaña 2016-17 (plantación Mayo 2016).
- Inmersión de raíces durante 1 hora en el producto antes de la plantación.
- Sin producto (tratamientos con agua sin *Trichoderma*).
- Al final de la campaña (Febrero 2017), estudio del paso seco de sarmientos de todas las plantas y de la presencia de *Trichoderma* y hongos de la madera en 10 plantas por repetición.
- Tratamientos campaña 2017-18.
- Pulverización de *T. atroviride* SC1 en las heridas de poda.
- Sin producto (tratamientos con agua sin *Trichoderma*).
- Al final de la campaña (Febrero 2018), estudio del paso seco de sarmientos de todas las plantas y de la presencia de *Trichoderma* y hongos de la madera en 10 plantas por repetición.

5. Resultados más relevantes

Ensayo 1: Ensayo de vivero

Al final del proceso de producción de planta injertada en el vivero se aislaron los siguientes hongos de la madera de la vid: *Dactylonectria torresensis*, *Diplodia seriata*, *Cadophora luteo-olivacea*, *Neofusicoccum parvum*, *Phaeoacremonium minimum* y *Phaeomoniella chlamydospora*. Su incidencia y severidad en las tres áreas de aislamiento estudiadas en las plantas injertadas (raíces, base del patrón y zona del injerto) fueron muy variables. Los datos de los diferentes patógenos se agruparon de acuerdo con las tres principales enfermedades consideradas Decaimiento por *Botryosphaeria* (BOT), enfermedad de Petri (PETRI) y Pie negro (PN). Los porcentajes de incidencia para BOT, y las enfermedades PETRI y PN en plantas no tratadas fueron 33.3, 30.2 y 1.3 %, respectivamente, mientras que en las plantas tratadas con *T. atroviride* SC1 fueron 1.3, 12.4 y 0 %, respectivamente. En cuanto a la severidad, los porcentajes obtenidos para BOT, PETRI y PN fueron 8.6, 6.3 y 1.1, respectivamente, mientras que en las plantas tratadas fueron 0.4, 2.1 y 0, respectivamente. Los análisis estadísticos revelaron reducciones significativas tanto en incidencia como en severidad para BOT y solo en severidad para PETRI las plantas tratadas con *T. atroviride* SC1. Para PN, no se apreciaron reducciones estadísticamente significativas ni en incidencia ni en severidad. En este caso, los patógenos asociados con esta enfermedad se detectaron a niveles muy bajos en plantas no tratadas y no se detectaron en plantas tratadas.

Ensayo 2: Ensayos en viñedo

Los resultados del peso seco de los sarmientos (g/planta) al final de la primera campaña de cultivo en el Campo 1 fueron 42.2 y 55.0 g/planta para plantas no tratadas y tratadas, respectivamente, y en el Campo 2 fueron 17.9 y 22.7 g/planta, respectivamente. Al final de la segunda campaña de cultivo, el peso seco de los sarmientos en el Campo 1 fueron 273.3 y 245.7 g/planta para plantas no tratadas y tratadas, respectivamente, y en el campo 2 fueron 127.2 y 125.3 g/planta, respectivamente. Se observó un aumento estadísticamente significativo en el peso seco en las plantas tratadas con *T. atroviride* SC1 en ambos campos al final de la primera campaña de cultivo, pero no al final del segundo.

En el campo 1, al final de la primera campaña de cultivo (2016–2017), los patógenos aislados fueron *D. torresensis*, *D. seriata*, *Ilyonectria liriodendri*, *N. parvum*, *Pm. minimum* y *Pa. chlamydospora*, todos con porcentajes variables de incidencia y severidad en las tres zonas de aislamiento en las plantas injertadas (raíces, base del patrón y zona del injerto). Al final de la segunda campaña de cultivo (2017–2018), los patógenos que fueron aislados fueron los mismos indicados anteriormente, pero también *Pm. iranianum* que se detectó en la zona de injerto. En el campo 2, al final de la primera campaña de cultivo (2016–2017) los patógenos que se aislaron fueron *Botryosphaeria dothidea*, *C. luteo-olivacea*, *D. torresensis*, *D. seriata*, *Eutypa lata*, *Ilyonectria alcacerensis*, *I. robusta*, *N. parvum*, *Pm. minimum* y *Pa. chlamydospora*; y al final de la segunda campaña (2017–2018) las especies encontradas fueron *D. novozelandica*, *D. torresensis*, *I. robusta*, *N. parvum*, *Pm. iranianum*, *Pm. minimum*, *Pm. parasiticum* y *Pa. chlamydospora*. En ambos campos y campañas de cultivo se observaron reducciones en los porcentajes de severidad a incidencia de BOT, PETRI y PN, No obstante, estas reducciones fueron estadísticamente significativas para incidencia y severidad sólo en algunos casos: en el Campo 1 PETRI en la primera campaña de cultivo, y BOT y PETRI en la segunda; y en el Campo 2 PETRI en la primera campaña de cultivo.

Estos resultados indican que *T. atroviride* SC1 es un tratamiento que puede ser útil para reducir las infecciones causadas por hongos de la madera de la vid en viveros, y también en el momento establecer nuevos viñedos. La búsqueda de tratamientos útiles para la gestión integrada de los hongos

de la madera de la vid es una prioridad, debido a las restricciones en el uso de productos químicos y la ausencia total de tratamientos curativos una vez que las plantas de vid ya están infectadas. Aunque no hay información disponible aún sobre los umbrales de infección por hongos de la madera, cualquier reducción en los niveles de contaminación en viveros y en las primeras etapas del desarrollo de la planta después de la plantación será beneficioso para la sostenibilidad a largo plazo de los viñedos.

6. Publicaciones más destacadas

BERBEGAL M., RAMÓN-ALBALAT A., LEÓN M. y ARMENGOL J. (2020): Evaluation of long-term protection from nursery to vineyard provided by *Trichoderma atroviride* SC1 against fungal grapevine trunk pathogens. *Pest Management Science* 76: 967-977.

4. Galicia

Estación de Viticultura e Enología de Galicia (AGACAL-EVEGA)

MARÍA DEL PILAR MARTÍNEZ DIZ Y EMILIA DÍAZ LOSADA

1. Marco de Actuación y Proyectos

Financiación Regional:

- Proyecto «VIVERVID: Proyecto piloto para la producción sostenible de plantas de vid», solicitado por la empresa Viveros José López y desarrollado por la «Estación de Viticultura e Enología de Galicia (EVEGA)» en colaboración con el Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV).

Financiación Nacional:

- Proyecto: Desarrollo de nuevas estrategias de manejo integrado de las enfermedades fúngicas de la madera de la vid (RTA2015-00015-C02-01), concedido por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Periodo de actuación: 2016 – 2020.

2. Participantes

María del Pilar Martínez-Diz^{1,2}, Emilia Díaz-Losada¹, Ángela Díaz-Fernández¹, Yolanda Bouzas-Cid¹, María Alen¹, Marcos Andrés-Sodupe³ y David Gramaje³.

¹ Estación de Viticultura y Enología de Galicia (INGACAL-EVEGA), Ponte San Clodio s/n 32428-Leiro-Ourense.

² Universidade da Coruña, Facultade de Ciencias, Zapateira, 15071 A Coruña.

³ Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV), Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Universidad de La Rioja, Gobierno de La Rioja, Ctra. LO-20 Salida 13, 26071 Logroño.

3. Objetivos

- Desarrollar métodos de evaluación rápidos y fiables para identificar fuentes de resistencia a hongos asociados con las enfermedades de la madera de la vid (EMV).
- Producción sostenible de planta-injerto de vid de variedades autóctonas gallegas, encaminada a dar mayores garantías sanitarias con respecto a las enfermedades de la madera de la vid (EMV), a través de la inclusión de estrategias de control integrado en el proceso de producción de planta de vivero mediante el uso de termoterapia con agua caliente (TAC) y la utilización de agentes de control biológico (ACB).

4. Ensayos Experimentales

ENSAYO 1: Evaluación de la tolerancia de cultivares de *Vitis vinifera* L. a *Phaeomoniella chlamydospora*.

Material y métodos

Material vegetal:

- Se utilizaron estaquillas enraizadas de un año de edad de longitud uniforme (50 cm) con 4 yemas, de 38 variedades, 20 tintas («Bruñal», «Brancellao», «Caíño Bravo», «Caíño Longo 1», «Caíño Longo 2», «Caíño Tinto», «Castañal», «Corbillón», «Espadeiro», «Ferrón»,

«Garnacha Tintorera», «Juan García», «Mandón», «Mencía», «Merenzao», «Moscatel Bago Miúdo Tinto», «Pan y Carne», «Pedral», «Tempranillo» y «Zamarrica») y 18 blancas («Agudelo», «Albarín Blanco», «Albariño», «Albilla do Avia», «Blanca de Monterrei», «Caíño Blanco», «Doña Blanca», «Garnacha Peluda», «Godello», «Jarrosuelto», «Lado», «Loureira», «Moscatel Grano Menudo», «Palomino», «Ratiño», «Silveiriña», «Treixadura» y «Verdello»), presentes en la colección de germoplasma de AGACAL-EVEGA. En el mes de febrero, durante el reposo vegetativo, se recogieron varas de las distintas variedades, que se enraizaron y se mantuvieron en condiciones controladas de invernadero.

Aislado fúngico, proceso de inoculación y diseño experimental:

- Como inóculo para el estudio, se utilizó el hongo *P. chlamydospora* cepa BV-130, la cual se obtuvo de la colección del grupo de investigación BIOVITIS, del Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino de Logroño (La Rioja). Esta cepa fue previamente seleccionada entre ocho aislados de *P. chlamydospora* en un ensayo de virulencia previo realizado en el ICVV.
- Las estaquillas se inocularon durante el mes de julio del año 2016 y 2017. Para ello, se realizó una herida entre los dos nudos superiores con un sacabocados de 6 mm de diámetro (Fig. 25a) e inmediatamente se colocó el inóculo (Fig. 25c), consistente en discos de agar y micelio del mismo diámetro (Fig. 25b), se cubrió con algodón humedecido con agua destilada (Fig. 25d), se selló con Parafilm® (Fig. 25e) y se cubrió con papel de aluminio (Fig. 25f) para evitar la desecación. Las estaquillas control se inocularon con discos de agar estéril. A continuación, se dispusieron siguiendo una distribución totalmente al azar en un invernadero a 25°C de temperatura y un 50% de humedad relativa. Se utilizaron 12 estaquillas por cultivar y tratamiento.

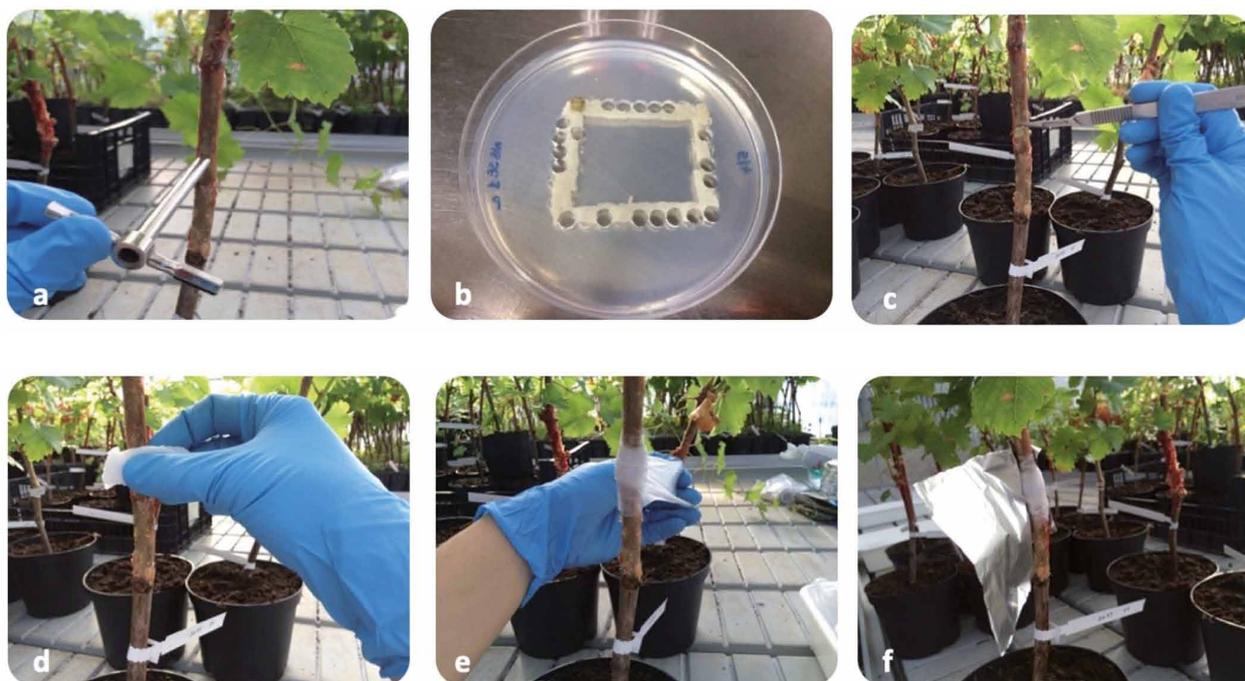


Figura 25. Proceso de inoculación de *P. chlamydospora* mediante discos de agar con micelio. **(a)** Realización de la herida con el sacabocados; **(b)** Inóculo fúngico de *P. chlamydospora*; **(c)** Inserción del disco de agar con micelio en la herida; **(d)** Colocación de algodón humedecido; **(e)** Sellado con Parafilm®; **(f)** Colocación del papel de aluminio.

Evaluación de las lesiones y reaislamientos:

Pasados 7 meses tras la inoculación, se procedió a la evaluación de las plantas midiendo el desarrollo de las lesiones vasculares o chancros internos producidos por el hongo. En primer lugar, con la ayuda de una navaja, se retiró la corteza de la zona de la inoculación para poder ver y medir la longitud de las lesiones. La extensión de la decoloración vascular se midió hacia arriba y hacia abajo desde el punto de inoculación con el software ImageJ. Se seleccionaron al azar tres plantas de cada cultivar para realizar los reaislamientos del hongo y completar los postulados de Koch. Las plantas seleccionadas se esterilizaron en superficie mediante pasos sucesivos de un minuto de duración en hipoclorito sódico al 33,3% y agua estéril. Pequeños fragmentos de madera (0,5 a 1 cm) de tejido necrótico del borde de cada lesión (frente de avance) (año 2016 y 2017) y de intervalos de 1 cm por encima del mismo hasta un máximo de 8 cm (año 2017), se sembraron en placas con extracto de malta agar (MEA) suplementado con 0,5 g/l de estreptomomicina (MEAS) (Fig. 26).

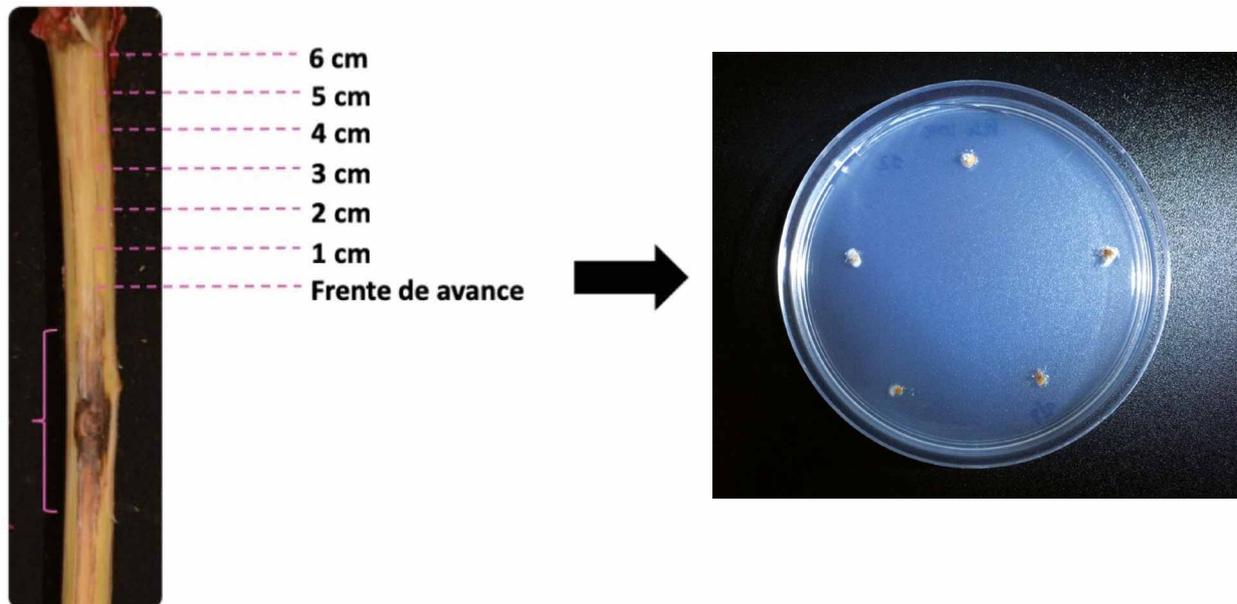


Figura 26. Proceso de reaislamiento de los hongos asociados a EMV utilizados en el estudio.

Las placas se incubaron a 25°C y en oscuridad y pasados 7-10 días, las colonias de hongos se transfirieron a placas con medio de cultivo patata dextrosa agar (PDA). Transcurridas dos semanas, los cultivos se identificaron como *P. chlamydospora* según la morfología de la colonia. El porcentaje de reaislamiento se calculó como el porcentaje de plantas del cual se recuperó el hongo patógeno inoculado con respecto al número total de plantas inoculadas.

ENSAYO 2: Evaluación de la tolerancia de cultivares de *Vitis vinifera* L. a *Neofusicoccum parvum*.

Material y métodos

Material vegetal:

El estudio se llevó a cabo con estaquillas enraizadas de un año de edad, de 21 variedades tintas («Brancellao», «Brujidera», «Caíño Bravo», «Caíño Longo 1», «Caíño Longo 2», «Caíño Tinto», «Cabernet Sauvignon», «Castañal», «Ferrón», «Juan García», «Mencía», «Merenzao», «Merlot»,

«Moscatel Bago Miúdo Tinto», «Pan y Carne», «Pedral», «Sousón», «Syrah», «Tempranillo», «Touriga Nacional» y «Zamarrica») y 18 blancas («Agudelo», «Albarín Blanco», «Albariño», «Albilla do Avia», «Caíño Blanco», «Doña Blanca», «Garnacha Peluda», «Godello», «Jarrosuelto», «Lado», «Loureira», «Moscatel Grano Menudo», «Palomino», «Silveiriña», «Thompson Seedless», «Torrónés», «Treixadura» y «Treixadura Francesa»), tomadas en la colección de germoplasma perteneciente a AGACAL-EVEGA. Las varas de las distintas variedades se recogieron durante el reposo vegetativo (mes de febrero), y posteriormente se cortaron estaquillas de longitud uniforme (50 cm) conteniendo 4 yemas, que se enraizaron y mantuvieron en condiciones controladas en el interior de un invernadero, hasta el momento de la inoculación.

Aislado fúngico, proceso de inoculación y diseño experimental:

Se utilizó el hongo *N. parvum* cepa BV-0056 como inóculo para el estudio, el cual se obtuvo de la colección del grupo de investigación BIOVITIS, del Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV). Esta cepa fue previamente seleccionada por su alta virulencia en estudios previos.

Las inoculaciones se llevaron a cabo durante el mes de julio del año 2016, 2017 y 2018. Para ello, se realizó una herida entre los dos nudos superiores con un sacabocados de 6 mm de diámetro (Fig. 27b y c) e inmediatamente se colocó el inóculo (Fig. 27e), consistente en discos de agar y micelio del mismo diámetro (Fig. 27d), se cubrió con algodón humedecido con agua destilada (Fig. 27f), se selló con Parafilm® (Fig. 27g) y se cubrió con papel de aluminio (Fig. 27h) para evitar la desecación. Las estaquillas control se inocularon con discos de agar estéril. A continuación, se dispusieron siguiendo una distribución totalmente al azar en un invernadero a 25°C de temperatura y un 50% de humedad relativa. Se utilizaron 12 estaquillas por cultivar y tratamiento (Fig. 27j).

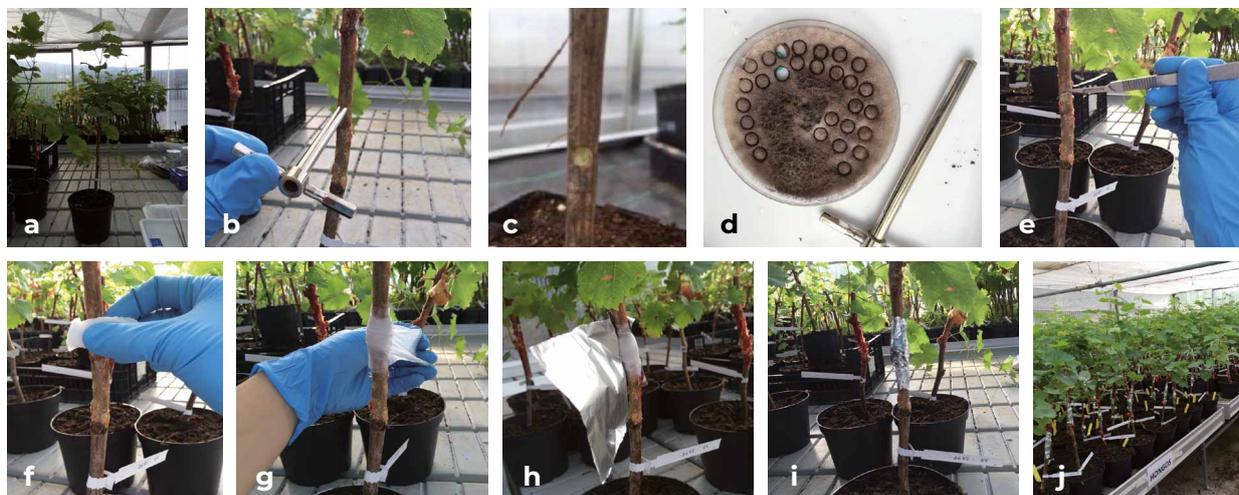


Figura 27. Proceso de inoculación de *N. parvum* mediante discos de agar con micelio utilizado en el ensayo. (a) Planta antes de la inoculación; (b) Realización de la herida con el sacabocados; (c) Herida hecha con el sacabocados; (d) Inóculo fúngico de *N. parvum*; (e) Inserción del disco de agar con micelio en la herida; (f) Colocación de algodón humedecido; (g) Sellado con Parafilm®; (h) Colocación del papel de aluminio; (i) Planta después de la inoculación; (j) Plantas inoculadas en el interior del invernadero.

Evaluación de las lesiones y reaislamientos:

Las decoloraciones o necrosis vasculares internas de las plantas producidas por el patógeno se evaluaron 5 meses después de la inoculación. En primer lugar, retiramos la corteza entre los nudos en los que habíamos realizado la inoculación del hongo con la ayuda de una navaja, para poder ver y medir

la longitud de las necrosis. La longitud de la necrosis vascular se midió desde el punto de inoculación tanto hacia arriba como hacia abajo, con la ayuda del software ImageJ. Tres plantas al azar de cada cultivar se utilizaron para hacer los reaislamientos del hongo y poder completar así los postulados de Koch. Estas plantas se esterilizaron en superficie mediante pasos sucesivos de un minuto en hipoclorito sódico al 33,3% y agua estéril. Pequeños fragmentos de madera (0,5 a 1 cm) de tejido necrótico del borde de cada lesión (frente de avance) (año 2016, 2017 y 2018) y de intervalos de 1 cm por encima del mismo hasta un máximo de 8 cm (año 2017 y 2018), se sembraron en placas con extracto de malta agar (MEA) suplementado con 0,5 g/l de estreptomina (MEAS). Las placas se incubaron a 25°C y en oscuridad y pasados 7-10 días, las colonias de hongos se transfirieron a placas con medio de cultivo patata dextrosa agar (PDA). Transcurridas dos semanas, se procedió a la identificación morfológica de *N. parvum* entre las colonias en crecimiento en PDA. El porcentaje de reaislamiento se calculó como el porcentaje de plantas del cual se recuperó el hongo patógeno inoculado con respecto al número total de plantas inoculadas.

ENSAYO 3: Efecto del tratamiento con termoterapia con agua caliente (TAC) y con *Trichoderma atroviride* SC1 sobre las infecciones por hongos asociados a enfermedades de la madera de la vid (EMV) en viveros de vid.

Material y métodos

Material vegetal:

El estudio se llevó a cabo utilizando un total de 12 variedades autóctonas gallegas, 5 tintas («Bran-cella», «Sousón», «Mencia», «Espadeiro» y «Merenzao») y 7 blancas («Godello», «Albariño», «Treixadura», «Loureira», «Doña Blanca», «Torrontés» y «Albarín Blanco»), las cuales se injertaron sobre el portainjerto 110 Richter (110 R) en un vivero localizado en O Barco de Valdeorras (Ourense-Galicia) en el año 2018.

Tratamientos:

Se evaluó la efectividad de los siguientes tratamientos: (T1) Termoterapia con agua caliente (TAC) a 53°C durante 30 min, (T2) *Trichoderma atroviride* SC1 (TCH) (Vintec®, Belchim Crop Protection; 2 x 10¹⁰ CFU g⁻¹ de producto formulado) a una dosis de 2 g l⁻¹, por inmersión en una suspensión acuosa durante 24h a temperatura ambiente (TCH) y (T3) Combinación de los tratamientos TAC y TCH, comenzando aplicación de TAC, seguida de una aclimatación de las plantas a 20°C durante 24 h, previa a la inoculación de la TCH.

Aplicación de los tratamientos y diseño experimental:

Antes de la aplicación de los tratamientos y de comenzar el proceso de propagación en el vivero, se seleccionaron al azar 25 estacas y 10 yemas de cada una de las variedades para analizar las condiciones fitosanitarias iniciales en cuanto a la presencia de patógenos fúngicos asociados con EMV.

La aplicación de los tratamientos se realizó en dos de los puntos críticos del proceso tradicional de producción de planta en vivero en los que se considera que existe un mayor riesgo de contaminación por parte de patógenos fúngicos asociados a EMV, que son (i) en la etapa de hidratación previa al injertado y (ii) tras el enraizamiento de las plantas en el campo del vivero, previa plantación en un viñedo comercial.

Ensayo producción de planta en vivero: La aplicación de los tratamientos en esta etapa se realizó durante la fase de hidratación previa al injertado en abril de 2018. En el caso del tratamiento con TAC se aplicó solamente a las estacas y el tratamiento con TCH se aplicó tanto a las estacas como a las yemas de las distintas variedades. Las plantas control siguieron el proceso de hidratación habitual con agua. A continuación, se procedió al injertado de las plantas, formación del callo y plantación de las mismas en el campo del vivero en junio de 2018, siguiendo un diseño en bloques completamente aleatorizado con 3 repeticiones de 30 plantas por tratamiento y variedad, haciendo un total de 1080 plantas por tratamiento.



Figura 28. Aplicación de los tratamientos (A) TAC y (B) TCH, durante la fase de hidratación previa al injertado y (C) plantación de las plantas injertadas en el campo del vivero, en el ensayo de producción de planta de vivero.

Ensayo viñedo comercial: En marzo de 2019 las plantas enraizadas se arrancaron del campo del vivero y se recortaron las raíces a una longitud uniforme de 10 cm. Hecho esto, se procedió a la aplicación de los tratamientos previa plantación en un viñedo comercial de la mitad de las plantas y la otra mitad se evaluaron en cuanto a la presencia de hongos asociados a EMV en laboratorio. El tratamiento TAC se aplicó por inmersión de las plantas enteras en el baño de agua caliente y el tratamiento con TCH por inmersión del sistema radicular de las mismas en la suspensión acuosa del producto. Inmediatamente después de la aplicación de los tratamientos se procedió a la plantación de las mismas en un viñedo comercial localizado en Leiro (Ourense). Se siguió un diseño en bloques al azar de 3 repeticiones de 10 plantas por tratamiento y variedad, haciendo un total de 360 plantas por tratamiento. Las plantas se plantaron dejando una separación de 50 cm entre plantas y 250 cm entre filas.



Figura 29. Aplicación de los tratamientos (A) TAC y (B) TCH tras el enraizamiento de las plantas en el campo del vivero y (C) plantación en el viñedo comercial.

Aislamiento e identificación de hongos asociados a EMV:

Las condiciones sanitarias iniciales de las plantas y efectividad de los tratamientos se evaluaron analizando la presencia de hongos asociados a Pie negro y la enfermedad de Petri. Para ello, se hicieron aislamientos de 2 zonas distintas de las plantas: zona basal del portainjerto y sistema radicular. En primer lugar, cada una de estas zonas, se lavaron con agua para eliminar restos de tierra y suciedad. A continuación, se esterilizaron en superficie mediante pasos sucesivos de un minuto de duración en hipoclorito sódico al 33,3% y agua estéril. Pequeñas porciones de raíz, así como, del interior del tejido xilemático de la base del portainjerto, fueron sembradas en placas con medio de cultivo de extracto de agar malta (MEA) suplementado con 0,5 g/L de estreptomina (MEAS). Las placas se incubaron durante 10-15 días a 25°C en oscuridad y todas las colonias fueron subcultivadas a placas con medio de cultivo patata dextrosa agar (PDA) para la correcta identificación morfológica de los hongos aislados. Se calculó la incidencia (porcentaje de plantas infectadas) y la severidad (porcentaje de puntos aislados positivos) de los hongos asociados con Pie negro y la enfermedad de Petri. El porcentaje de control de la enfermedad (Pr) de cada una de las enfermedades se calculó siguiendo la siguiente fórmula $Pr=100(Pc-Pt)/Pc$, donde Pc es la media de la incidencia o severidad de los patógenos fúngicos en el control y Pt es la media de la incidencia o severidad de cada uno de los tratamientos.

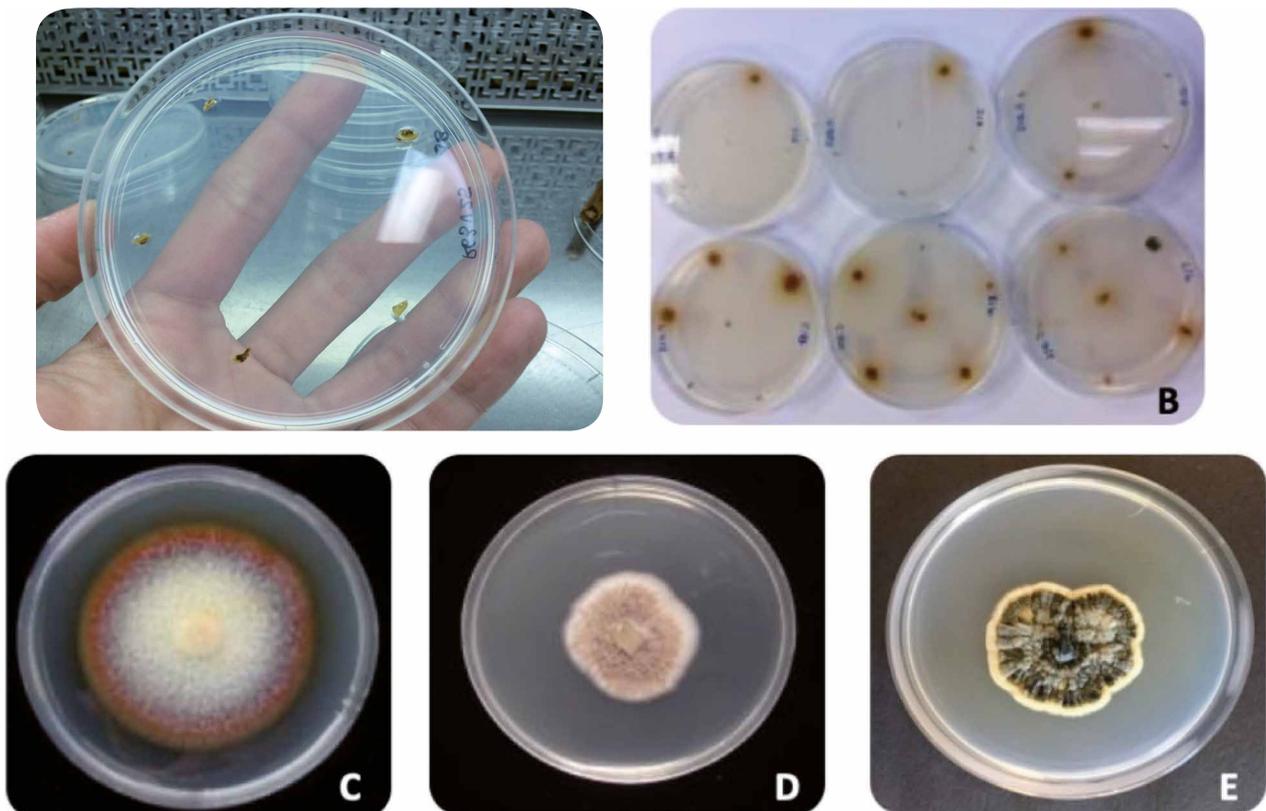


Figura 30. Proceso de aislamiento e identificación de hongos asociados con la enfermedad de Petri y del Pie Negro. **(A)** Siembra en placas con medio de cultivo MEAS, **(B)** Colonias de hongos comenzando a crecer durante el proceso de incubación, **(C)** Colonia de *Dactylonectria torresensis*, hongo asociado a Pie Negro, **(D)** Colonia de *Phaeoremonium minimum* y **(E)** Colonia de *Phaeomoniella chlamydospora*, hongos asociados a la enfermedad de Petri.

Evaluación de las variables de crecimiento vegetativo:

Dos meses después de la plantación, se calculó el porcentaje de brotación, así como la longitud de los brotes de las plantas, tanto en el caso del ensayo del proceso de producción de planta en vivero (agosto 2018), como en el del ensayo del viñedo comercial (mayo 2019).

5. Resultados

Ensayo 1: Evaluación de la tolerancia de cultivares de *Vitis vinifera* L. a *Phaeoemoniella chlamydospora*.

Los resultados mostraron que la especie fúngica *P. chlamydospora* causó decoloraciones vasculares en todas las variedades de vid evaluadas, siendo significativamente más largas que las obtenidas en plantas control (Fig. 31).

Las longitudes medias de las decoloraciones vasculares causadas por *P. chlamydospora* en madera de un año de las variedades tintas y blancas, se muestran en la Fig. 32a y b, respectivamente. En lo que respecta a las variedades tintas, la longitud media de la lesión causada por el hongo varió de 40,7 («Castañal») a 94,0 mm («Tempranillo») (Fig. 32a), mientras que este parámetro varió de 58,8 mm («Caíño Blanco») a 91,2 mm («Treixadura») en las variedades blancas (Fig. 32b).



Figura 31. Necrosis vascular observada en algunas de las variedades objeto de estudio. (1) «Godello», (2) «Albarín Blanco», (3) «Doña Blanca», (4) «Pan y Carne», (5) «Palomino», (6) «Zamarrica», (7) «Mencia» y (8) «Brancellao», 7 meses después de la inoculación con *P. chlamydospora* (1-6) y control (7-8).

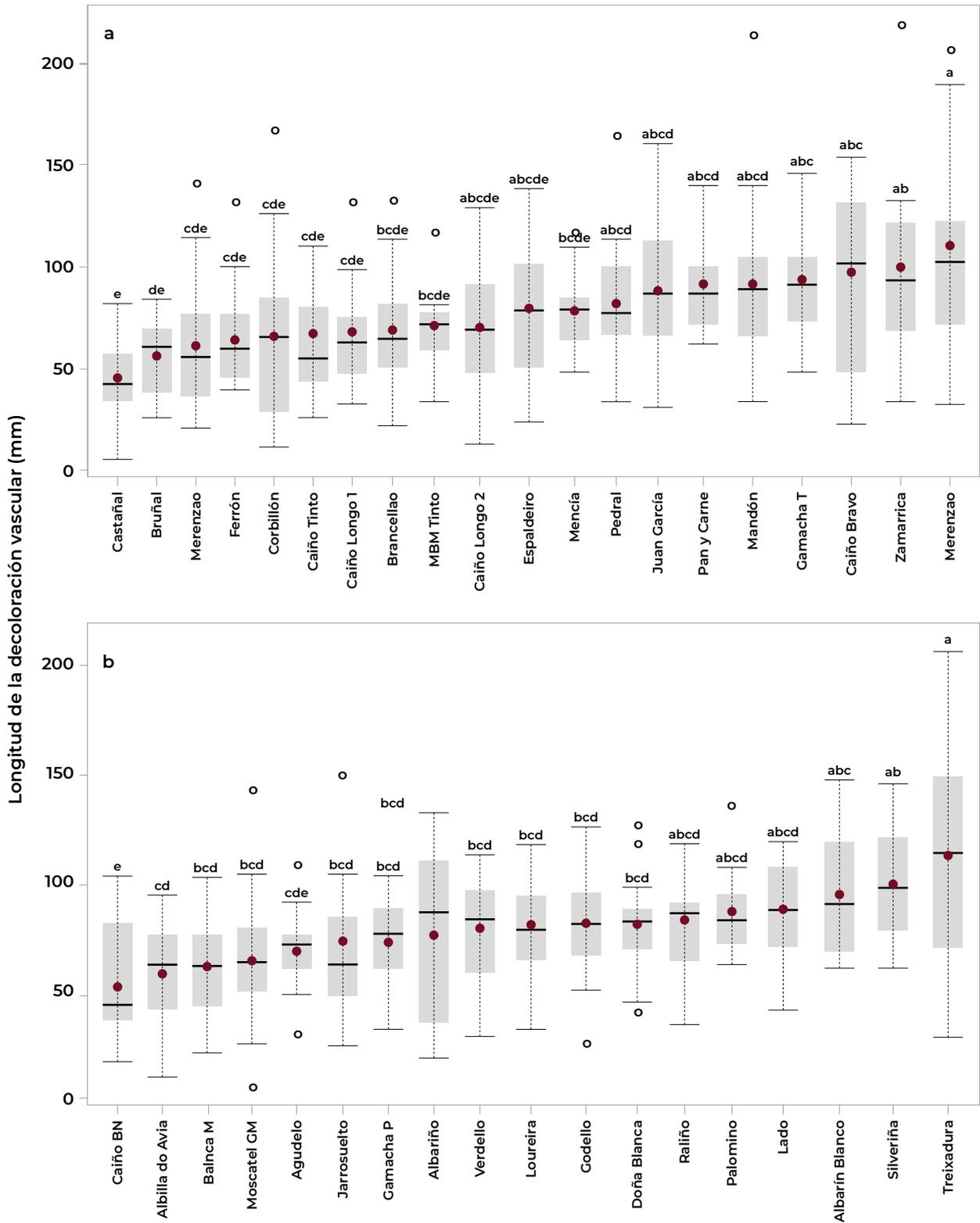


Figura 32. Susceptibilidad de las distintas variedades evaluadas a *Phaeomonilla chlamydospora*. Los diagramas de caja muestran la distribución de la longitud de decoloración vascular de la madera en las variedades tintas (a) y en las variedades blancas (b), 7 meses después de la inoculación. Los resultados están ordenados según la media. Las líneas negras y los puntos rojos dentro de las cajas se corresponden con la mediana y la media, respectivamente. Las longitudes medias de las decoloraciones vasculares seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes, según el test de Tukey ($P < 0.05$). «Garnacha T»: «Garnacha Tintorera»; «Caiño BN»: «Caiño Blanco»; «Balca M»: «Blanca de Monterrei»; «Moscatel GM»: «Moscatel Grano Menudo»; «Garnacha P»: «Garnacha Peluda»; «MBM Tinto»: «Moscatel de Bago Miúdo Tinto».

Phaeomoniella chlamydospora se reaisló del frente de avance y del tejido asintomático más allá de la lesión en el 100% y el 36,8% de las variedades, respectivamente. No se reaisló *P. chlamydospora* de las plantas control.

Ensayo 2: Evaluación de la tolerancia de cultivares de *Vitis vinifera* L. a *Neofusicoccum parvum*.

Se observaron necrosis vasculares causadas por el hongo *N. parvum* en todas las variedades de vid evaluadas, siendo estas significativamente más largas que las obtenidas en plantas control (Fig. 33).

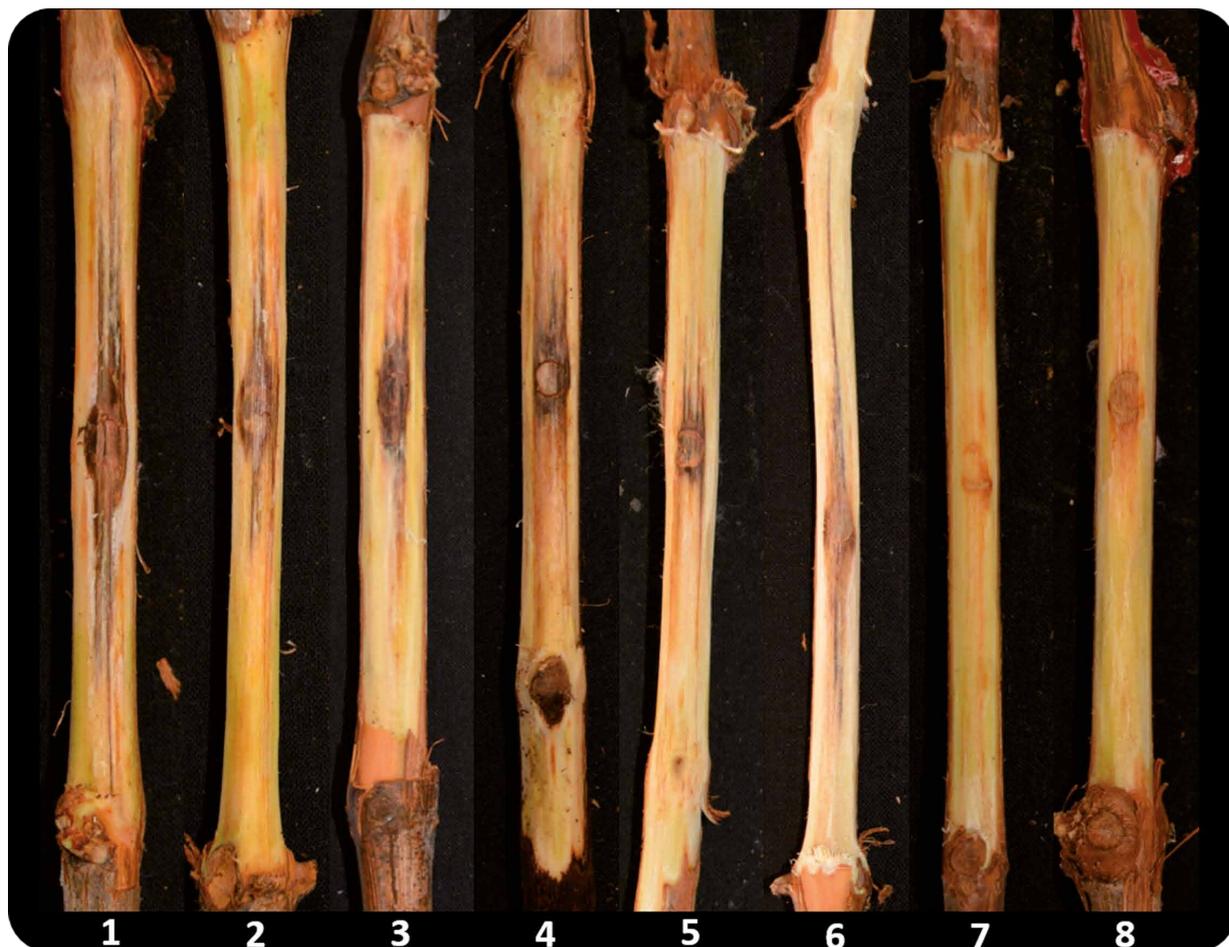


Figura 33. Necrosis vascular observada en algunas de las variedades objeto de estudio. (1) «Albarín Blanco», (2) «Jarrosuelto», (3) «Albilla», (4) «Sousón», (5) «Pan y Carne», (6) «Castañal», (7) «Caíño Tinto» y (8) «Albarín Blanco», 5 meses después de la inoculación con *N. parvum* (1-6) y control (7-8).

Las longitudes medias de las necrosis vasculares causadas por *N. parvum* en madera de un año de las variedades blancas y tintas, se muestran en la Fig. 34a y b, respectivamente. En lo que respecta a las variedades blancas, la longitud media de la lesión causada por el hongo varió de 12,6 mm («Torrentés») a 83,1 mm («Moscatel GM») (Fig. 34a), mientras que este parámetro varió de 7,71 («Caíño Longo 1») a 46,9 mm («Pan y Carne») en las variedades tintas (Fig. 34b).

Neofusicoccum parvum se reaisló del frente de avance y del tejido asintomático más allá de la lesión en el 94,7% y el 44,9% de las variedades, respectivamente. No se reaisló *N. parvum* de las plantas control.

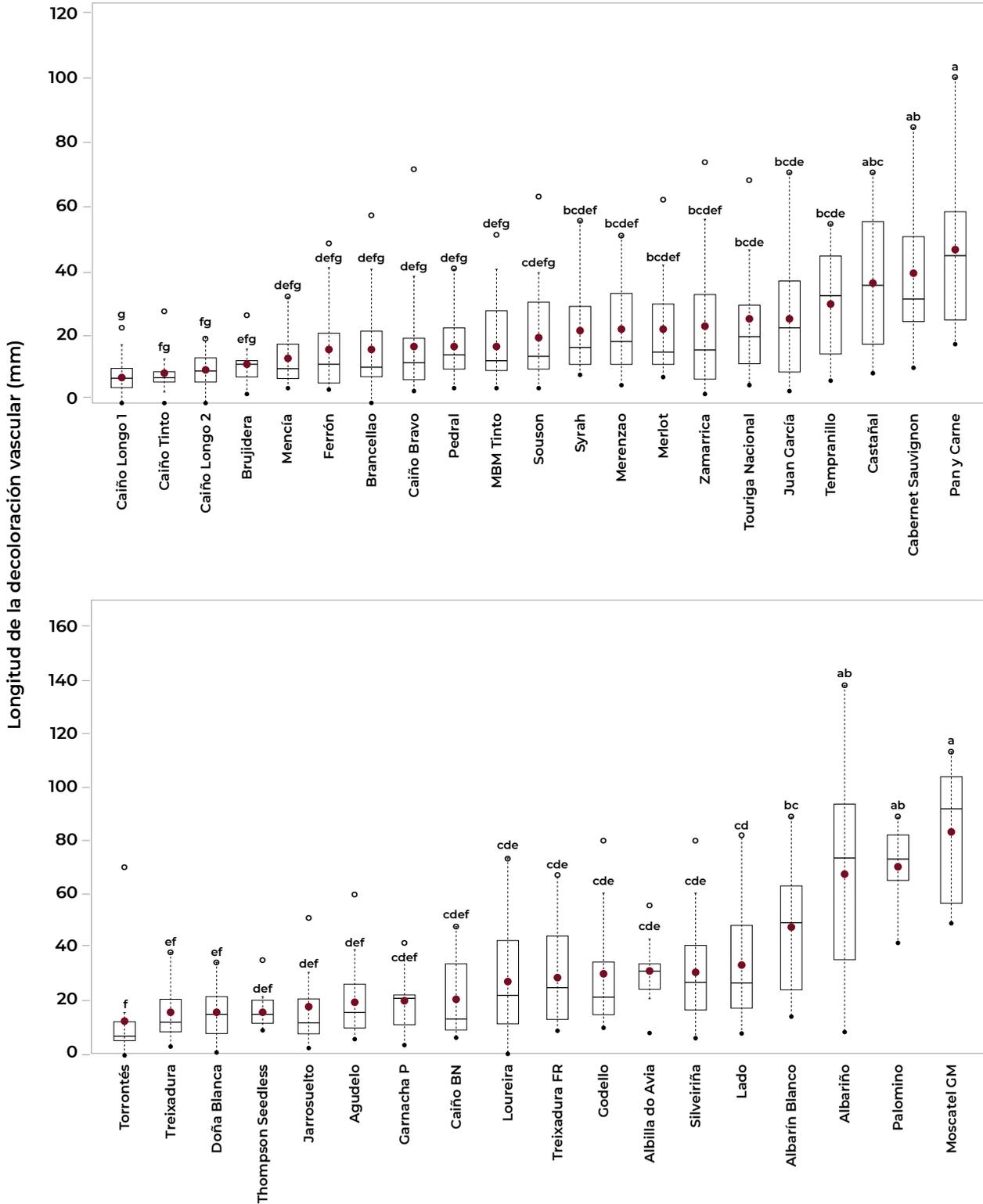


Figura 34. Susceptibilidad de las distintas variedades evaluadas a *Neofusicoccum parvum*. Los diagramas de caja muestran la distribución de la longitud de decoloración vascular de la madera en las variedades blancas (a) y en las variedades tintas (b), 5 meses tras la inoculación. Los resultados están ordenados según la media. Las líneas negras y los puntos rojos dentro de las cajas se corresponden con la mediana y la media, respectivamente. Las longitudes medias de las decoloraciones vasculares seguidas de la misma letra no son significativamente diferentes, según el test de Tukey ($P < 0.05$). «Garnacha P»: «Garnacha Peluda»; «Caiño BN»: «Caiño Blanco»; «Treixadura FR»: «Treixadura Francesa»; «Moscatel GM»: «Moscatel Grano Menudo»; «MBM Tinto»: «Moscatel de Bago Miúdo Tinto».

Ensayo 3: Efecto del tratamiento con termoterapia con agua caliente (TAC) y con *Trichoderma atroviride* SC1 sobre las infecciones por hongos asociados a enfermedades de la madera de la vid (EMV) en viveros de vid.

Evaluación de hongos asociados a EMV:

La efectividad de los tratamientos ha variado según la enfermedad evaluada y el momento de aplicación de los mismos. En cuanto a los tratamientos aplicados durante la fase de hidratación antes del injertado, la combinación TAC-TCH fue la más efectiva tanto para el Pie negro como para la enfermedad de Petri (Fig. 35).

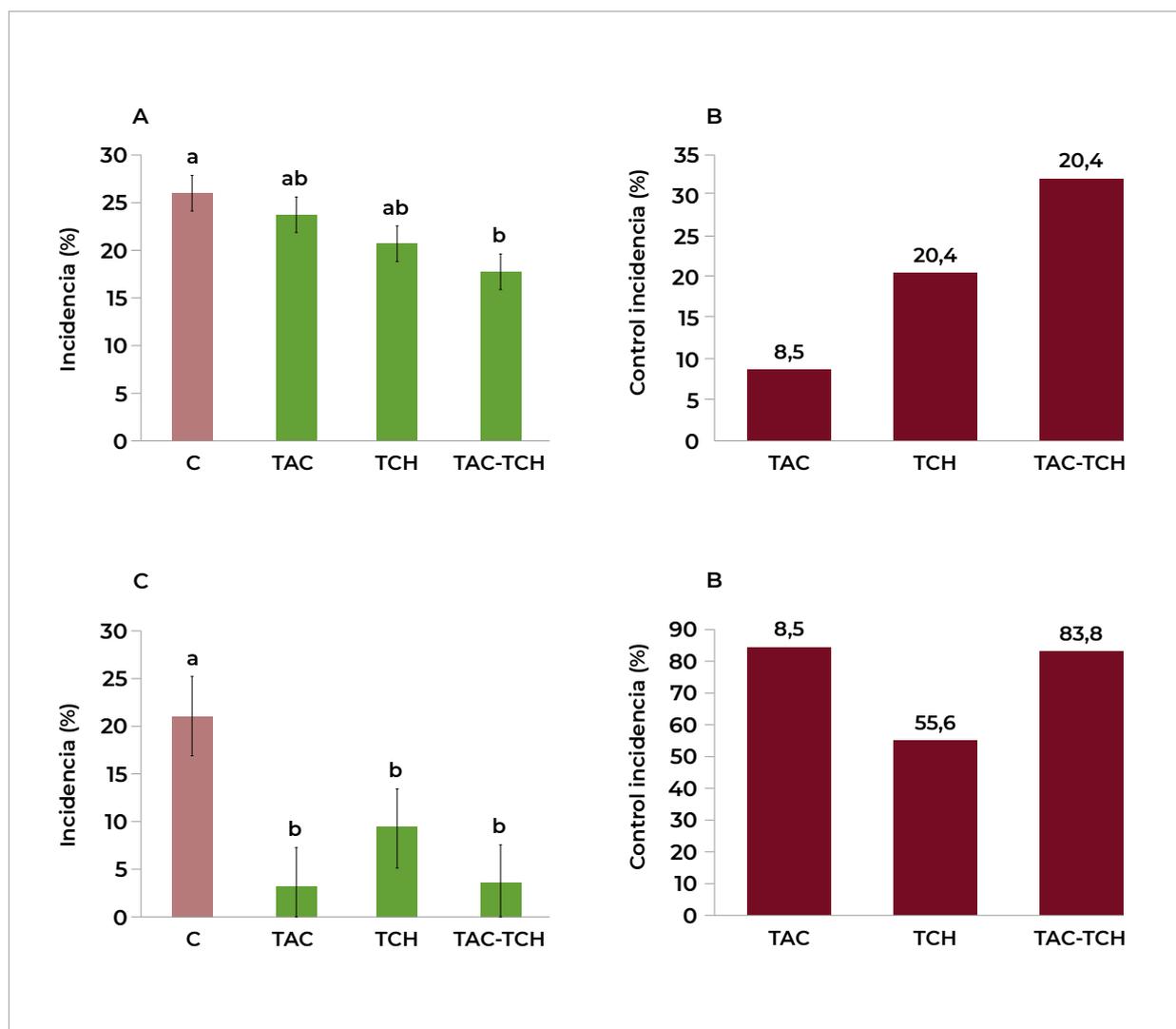


Figura 35. Porcentajes de incidencia y de control de la enfermedad, de los tratamientos aplicados antes del injertado (Ensayo producción de planta en vivero): (A) y (B) Pie negro; (C) y (D) Enfermedad de Petri. TAC: Termoterapia con agua caliente (T1); TCH: *Trichoderma atroviride* SC1 (Vintec®) (T2); TAC-TCH: Combinación TAC y TCH (T3).

El tratamiento con TCH aplicado en planta enraizada previa plantación en un viñedo comercial, fue muy efectivo para reducir la afección por hongos asociados al Pie Negro (Fig. 36). En el caso de la enfermedad de Petri, el tratamiento TAC fue el más efectivo para reducir la incidencia de la enfermedad (Fig. 36).

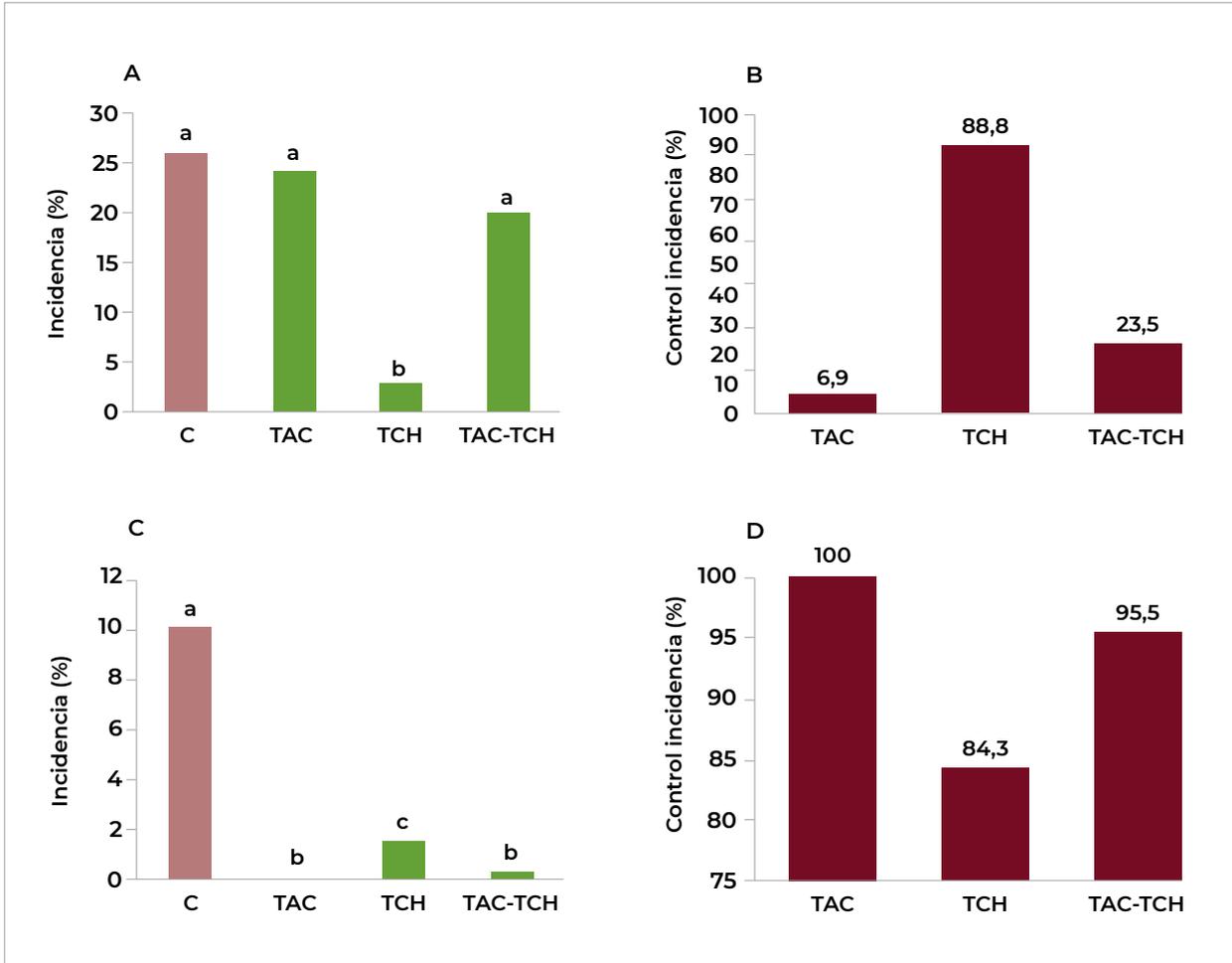


Figura 36. Porcentajes de incidencia y de control de la enfermedad, de los tratamientos aplicados en planta enraizada en el campo del vivero previa plantación en un viñedo comercial (Ensayo viñedo comercial): (A) y (B) Pie negro; (C) y (D) Enfermedad de Petri. TAC: Termoterapia con agua caliente (T1); TCH: *Trichoderma atroviride* SC1 (Vintec®) (T2); TAC-TCH: Combinación TAC y TCH (T3).

Variables de crecimiento vegetativo:

En cuanto al porcentaje de brotación de las plantas del ensayo de producción de planta en vivero, en general, se observó un descenso para todos los de tratamientos evaluados, observándose en algunos casos diferencias significativas con respecto al control, para algunas de las variedades evaluadas (Fig. 37A). El tratamiento combinado de TAC y TCH (T3), fue el que en general más redujo el porcentaje de brotación siendo significativamente menor en las variedades «Brancellao», «Merenzao», «Sousón», «Albarín Blanco», «Godello» y «Loureira». En el caso de la variedad «Loureira», el porcentaje de brotación fue significativamente más alto que el control.

Con respecto a la longitud del brote, en general los tratamientos aplicados la disminuyeron ligeramente, si bien solo se mostraron diferencias significativas con el tratamiento combinado de TAC y TCH (T3) para las variedades «Mencía», «Merenzao», «Doña Blanca» y «Loureira» (Fig. 37B).

Ninguno de los tratamientos estudiados afectó significativamente el porcentaje de brotación de las plantas del ensayo del viñedo comercial, siendo en general muy alto para todas las variedades objeto de estudio (Fig. 38A). La longitud del brote de estas plantas tampoco varió significativamente para ninguna de las variedades evaluadas excepto para la variedad «Sousón», en la que el tratamiento TAC aumentó significativamente la longitud del brote con respecto al control (Fig. 38B).

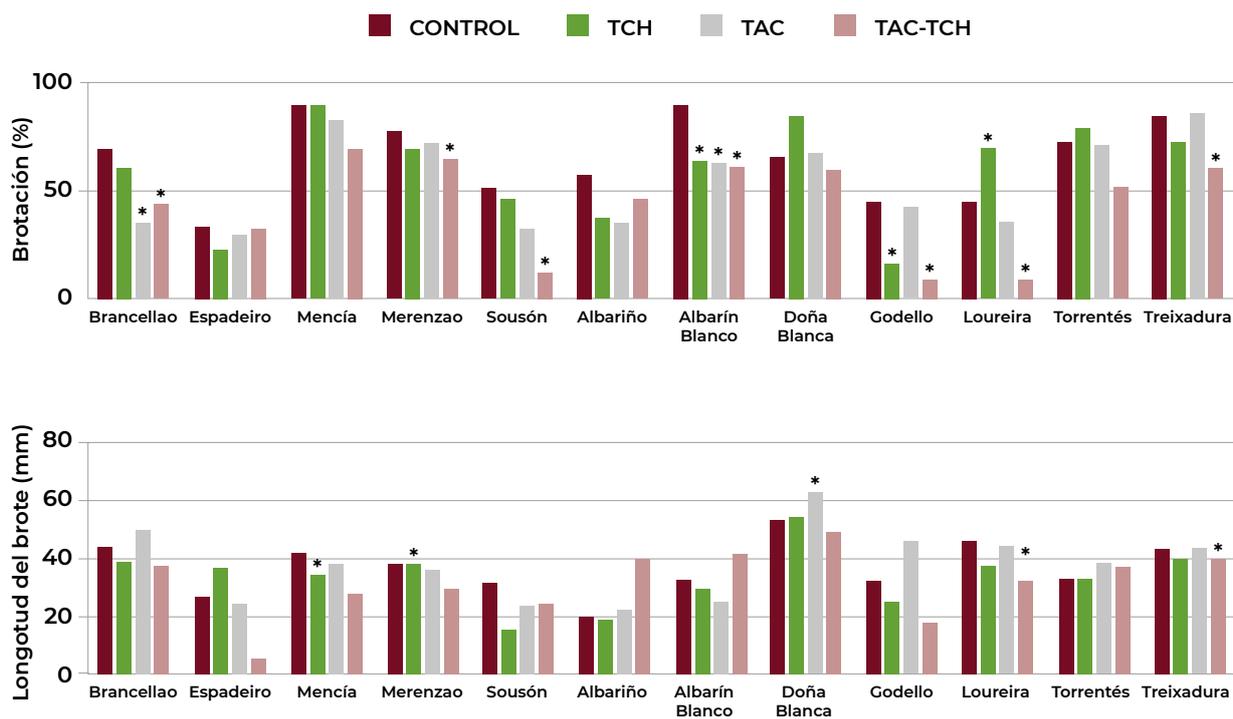


Figura 37. Porcentaje de brotación y longitud del brote de las distintas variedades objeto de estudio, dos meses tras la plantación en el campo del vivero (Ensayo producción de planta en vivero). (*) Significativamente diferentes con respecto al control.

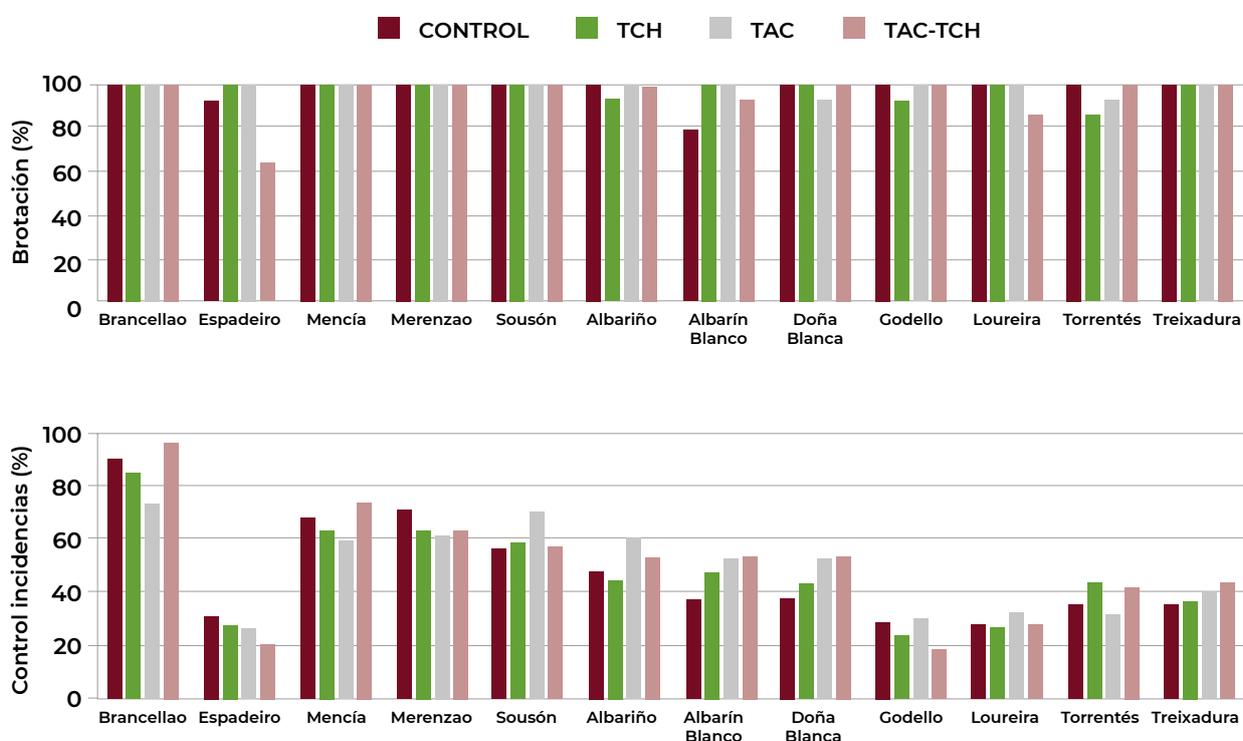


Figura 38. Porcentaje de brotación y longitud del brote de las distintas variedades objeto de estudio, dos meses tras la plantación en el campo del viñedo comercial (Ensayo viñedo comercial). (*) Significativamente diferentes con respecto al control.

6. Conclusiones

Ensayo 1: Evaluación de la tolerancia de cultivares de *Vitis vinifera* L. a *Phaeomoniella chlamydospora*.

La técnica de inoculación utilizada en el estudio (discos de agar con micelio) para evaluar la resistencia a *P. chlamydospora* fue rápida y efectiva. Todos los cultivares desarrollaron lesiones en la madera tras la inoculación, lo que indica que no hay evidencia de resistencia cualitativa al hongo patógeno *P. chlamydospora*. A pesar de esto, el presente estudio permitió clasificar diferentes variedades de vid de acuerdo con diversos signos de resistencia parcial a *P. chlamydospora*, siendo las variedades «Castañal», «Bruñal», «Caíño Blanco» o «Albilla do Avia» candidatas tolerantes prometedoras para su uso en sistemas de producción vitivinícolas donde las variedades dominantes (p.e. la variedad «Tempranillo») son muy susceptibles.

Ensayo 2: Evaluación de la tolerancia de cultivares de *Vitis vinifera* L. a *Neofusicoccum parvum*.

El uso de discos de agar con micelio como técnica de inoculación es un método rápido y efectivo para la evaluación de la resistencia a *N. parvum*. Ninguna de las variedades evaluadas en este estudio mostró evidencia de resistencia cualitativa al hongo *N. parvum*, ya que todas las variedades desarrollaron lesiones en la madera después de la inoculación. Sin embargo, se han podido clasificar las distintas variedades de vid evaluadas en función de su tolerancia o resistencia parcial a *N. parvum*, revelándose «Caíño Longo 1», «Caíño Tinto», «Caíño Longo 2», «Torrontés», «Treixadura» e «Dona Branca» como candidatos prometedores para su uso en sistemas de producción vitivinícolas en las que las variedades mayoritarias son más susceptibles.

Ensayo 3: Efecto del tratamiento con termoterapia con agua caliente (TAC) y con *Trichoderma atroviride* SC1 sobre las infecciones por hongos asociados a enfermedades de la madera de la vid (EMV) en viveros de vid.

El control más eficaz de hongos asociados a EMV viene determinado por la utilización conjunta de métodos físicos (TAC) y biológicos (ACB), tanto cuando los tratamientos son aplicados en la etapa de hidratación previa al injertado, como, tras el enraizamiento de las plantas en el campo del vivero, previa plantación en un viñedo comercial. Todos los tratamientos evaluados tuvieron un efecto de reducción del porcentaje de brotación y de la longitud del brote en las plantas del ensayo de producción de planta de vivero, siendo el tratamiento combinado de TAC y TCH (T3) los que más disminuyeron ambas variables. En general, ninguno de los tratamientos afectó el porcentaje de germinación y la longitud del brote de las plantas del viñedo comercial. El uso de agentes de control biológico se muestra como una de las herramientas de presente y futuro para la lucha contra las EMV, teniendo en cuenta la restricción del uso de productos químicos para el control fitosanitario de la vid. Por tanto, se recomienda su utilización desde los inicios de la producción de planta de vivero como medida preventiva a la infección por hongos de la madera de la vid. Es de mencionar finalmente, que la viabilidad de las plantaciones también está ligada a la adopción de técnicas de cultivo que eviten la propagación del inóculo de hongos causantes de EMV, como la eliminación de restos de poda y la protección de heridas de poda, tanto en los campos de pies madre de viveros como en las plantaciones de viñedos comerciales.

7. Publicaciones más destacadas

- MARTÍNEZ-DIZ M.P., DÍAZ-LOSADA E., BARAJAS E., RUANO-ROSA D., ANDRÉS-SODUPE M., GRAMAJE D. (2019): Screening of Spanish *Vitis vinifera* germplasm for resistance to *Phaeomoniella chlamydospora*. *Sci. Hort.* 246, 104-109.
- MARTÍNEZ-DIZ M.P., DÍAZ-LOSADA, GRAMAJE D. (2020): Manejo integrado de las enfermedades de la madera de la vid. *Agricultura Enero*, 22-26.
- MARTÍNEZ M.P., DÍAZ-LOSADA E., MARTÍNEZ J., CHACÓN J.L., IZQUIERDO P.M., BARAJAS E., RUBIO J.A., BERLANAS C., GRAMAJE D. (2017): Searching for resistance to grapevine trunk disease pathogens among Spanish germplasm collections. *Phytopathologia Mediterranea*, 56:552.

5. Navarra

Estación de Viticultura y Enología de Navarra (EVENA)

JOSE FÉLIX CIBRIAIN SABALZA

1. Marco de Actuación y Proyectos

Financiación Regional:

- Financiación del Departamento de Desarrollo Rural y Medio Ambiente de Gobierno de Navarra en el ámbito de experimentación en viticultura y enología.

Financiación Nacional:

- Proyecto: Desarrollo de nuevas estrategias de manejo integrado de las enfermedades fúngicas de la madera de la vid (RTA2015-00015-C02-01), concedido por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Periodo de actuación: 2015 – 2019.

2. Participantes

J. Félix Cibriain Sabalza, Laura Caminero Lobera, Ana Sagüés Sarasa.

3. Objetivos

Se efectuó un seguimiento de la aparición de sintomatología en una plantación joven de Tempranillo con 16 portainjertos diferentes, y determino la susceptibilidad de distintos portainjertos de vid a partir de las infecciones naturales por patógenos fúngicos de la madera. Como segundo objetivo, se planteó caracterizar las comunidades microbianas rizosféricas asociadas a seis portainjertos de interés en el sector.

- Ensayo 1. Evaluación de síntomas. Campañas 2016, 2017 y 2018.
- Ensayo 2. Caracterización de las comunidades microbianas rizosféricas asociadas a seis portainjertos.

4. Ensayos Experimentales

Para estos cometidos, la Sección de Viticultura y Enología de Evena dispone de una viña en la parcela experimental de Baretón, situada en Olite dentro de la comarca agraria de la Ribera Alta de Navarra, plantada en 2011 con 16 portainjertos injertados con el cultivar Tempranillo. Está dispuesta en un diseño experimental en bloques al azar con tres repeticiones.

ENSAYO 1: Evaluación de síntomas. Campañas 2016, 2017 y 2018.

Material y métodos

Para el primer objetivo a lo largo de tres campañas, se realizó un seguimiento de las parcelas durante todo al periodo vegetativo de la planta. La susceptibilidad varietal se estimó a partir de las evaluaciones de intensidad de síntomas observados en brazos y hojas en tres momentos del ciclo vegetativo anual.

En seis de esos portainjertos, los más comúnmente utilizados, y que representan una gran parte de la diversidad genética existente en portainjertos, se tomaron 80 muestras de suelo en dos momentos diferentes, en mayo y en noviembre durante dos años consecutivos.

Complementariamente al estudio planteado durante las campañas 2015, 2016 y 2017, se consideró interesante efectuar una medición de la expresión vegetativa mediante la estimación de la superficie foliar expuesta.



Figura 39. Características del viñedo.

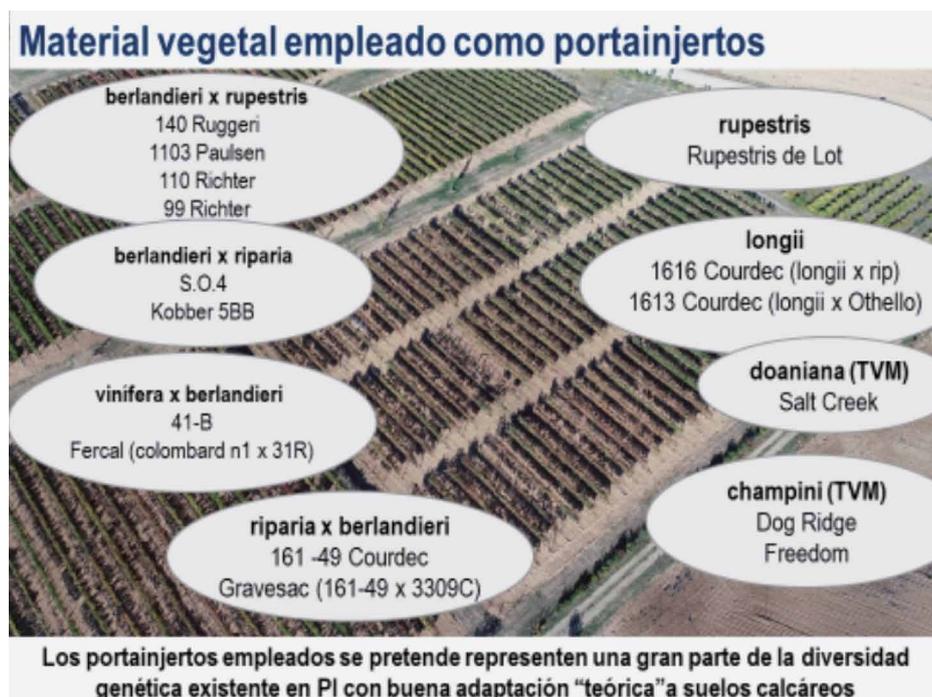


Figura 40. Descripción de los portainjertos evaluados en el primer objetivo.

Las enfermedades de las que se ha realizado el seguimiento son Yesca, Botryosphaeria y Eutipiosis. Los momentos de control se llevaron a cabo en: mitad de mayo (brotes 10-20 cm); junio (floración) y principios de agosto (inicio de envero)

Los síntomas evaluados se clasificaron en función de su intensidad tal como se define en la tabla 7.

YESCA	
Y1	DECOLORACIONES INTERNERVIALES
Y2	SECADO HOJA
Y3	DEFOLIACIÓN
Y4	PASIFICACIÓN RACIMO
BOTRYOSPHAERIA	
B1	FALTA BROTACIÓN
B2	SECADO BRAZO
EUTIPIOSIS	
E1	FALTA BROTACIÓN
E2	RAQUITISMO BROTE
E3	HOJAS QUEMADAS

Tabla 7. Evaluación de los síntomas en función de su intensidad

ENSAYO 2: Caracterización de las comunidades microbianas rizosféricas asociadas a cinco portainjertos.

Material y métodos

Para el segundo objetivo, se caracterizó el microbioma fúngico y bacteriano de la rizosfera de cinco portainjertos (110 Richter, 1103 Paulsen, 140 Ruggeri, 41-B Millardet y 161-49 Courdec) mediante secuenciación de amplicones (Figura 41). Las muestras se recogieron en las campañas 2016 y 2017. Además, se cuantificó la presencia de hongos asociados al pie negro de la vid mediante PCR a tiempo real (qPCR).

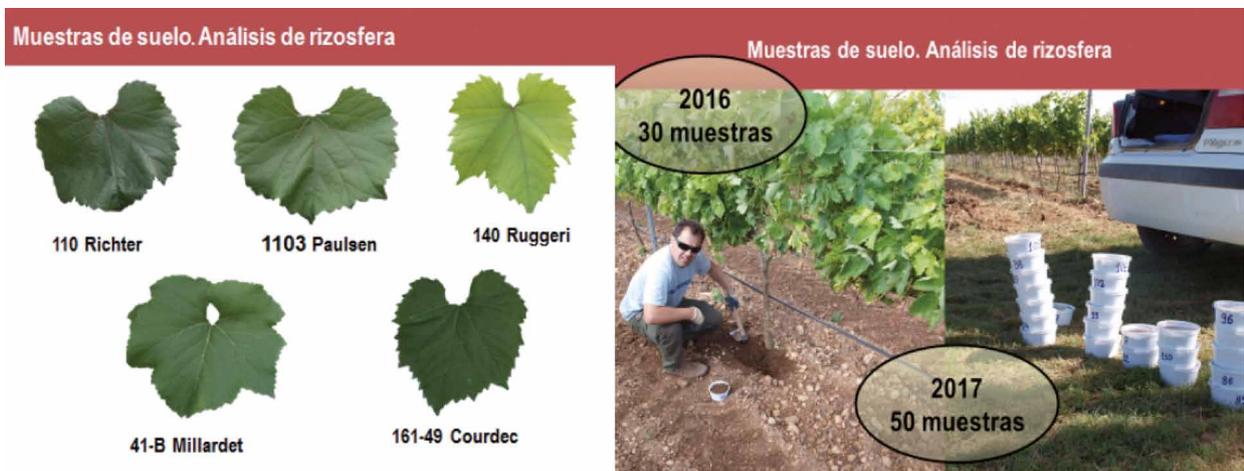


Figura 41. Portainjertos muestreados.

4. Resultados

Ensayo 1: Evaluación de síntomas. Campañas 2016, 2017 y 2018.

Básicamente los síntomas aparecidos en la parcela objeto de estudio han sido de Eutipiosis. La sintomatología descrita referida a *Botryosphaeria* y a los síntomas de Yesca no han sido patentes a lo largo de la serie de años de estudio.

Por tanto, los resultados más relevantes referidos a Eutipiosis en cada uno de los portainjertos se muestran en las siguientes gráficas correspondientes a cada uno de los años de estudio.

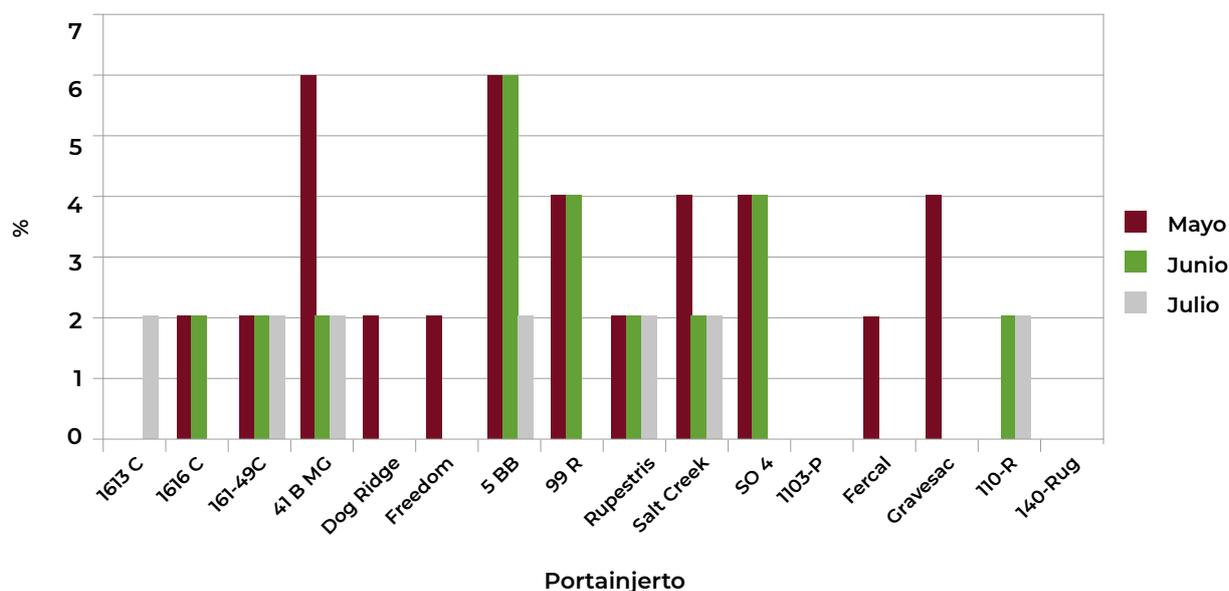


Figura 42. Porcentaje de cepas con Eutipiosis durante la campaña 2016.

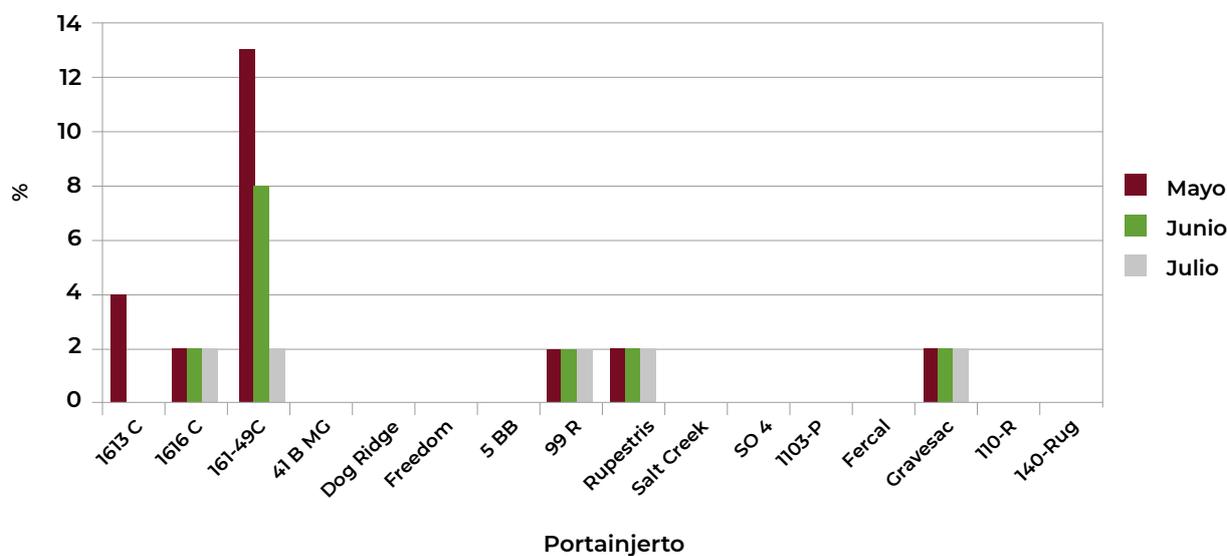


Figura 43. Porcentaje de cepas con Eutipiosis durante la campaña 2017.

Del análisis de los datos acumulativos, el portainjerto con una incidencia severa de Eutipiosis es el 161-49 de Courdec. En un segundo nivel de afección se situaron los portainjertos R-99, Rupestris y Gravesac. Con afecciones leves, el resto.

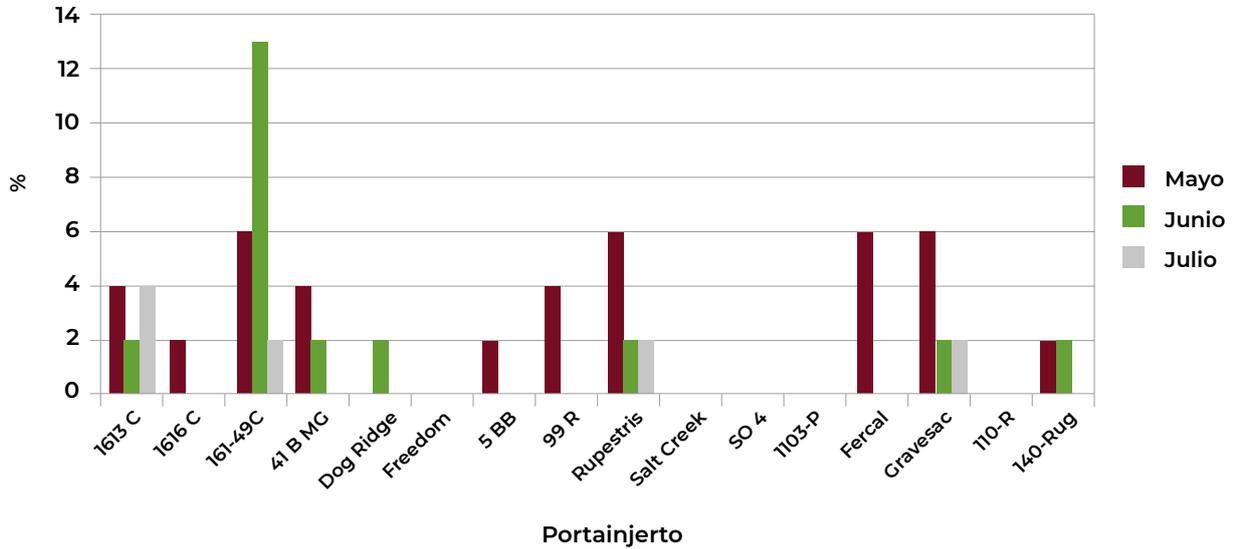


Figura 44. Porcentaje de cepas con Eutipiosis durante la campaña 2018.

En referencia a la medición de la superficie foliar externa (SFE) durante las campañas 2015, 2016 y 2017, resaltar el hecho de que en las condiciones de la plantación, los portainjertos han demostrado significativamente diferencias, destacando por su menor superficie el 161-49C. Figura 45.

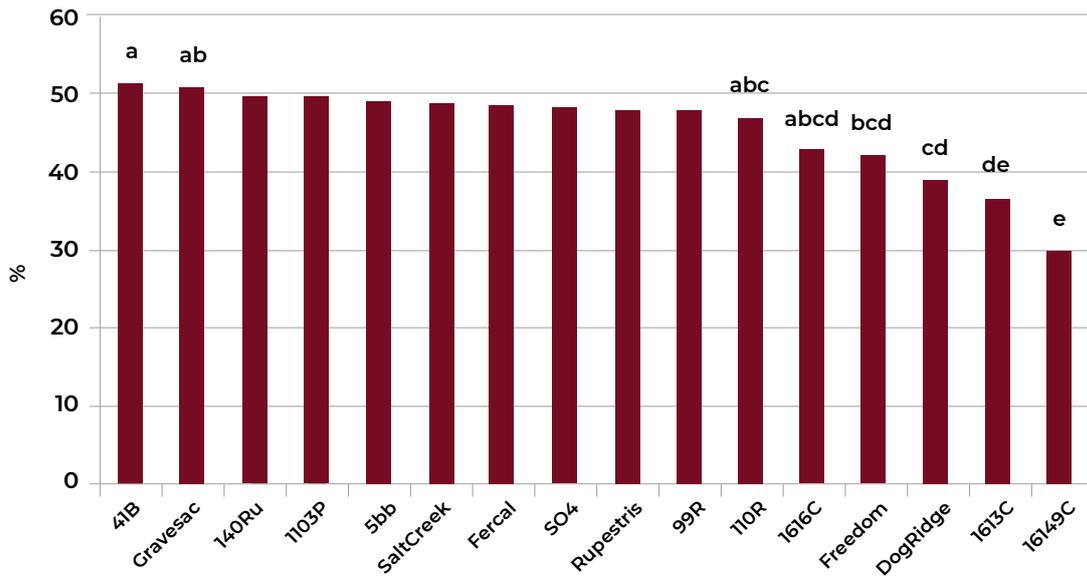


Figura 45. Superficie foliar externa (m²).

Ensayo 2: Caracterización de las comunidades microbianas rizosféricas asociadas a seis portainjertos.

Se remite a las conclusiones publicadas en el proyecto Proyecto RTA2015-00015-C02-00 (Programa Estatal de I+D+I orientada a los Retos de la Sociedad, del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación, 2013-2016) «Desarrollo de nuevas estrategias de manejo integrado de las enfermedades fúngicas de la madera de vid» (Berlanas *et al.*, 2019).

Los resultados mostraron que el genotipo no influía en la selección del microbioma. Se observó una correlación positiva entre la abundancia relativa de patógenos de la enfermedad del pie negro obtenida mediante secuenciación masiva de amplicones y la obtenida mediante qPCR. La rizosfera de los portainjertos «140 R» y «161-49 C» contenían menor cantidad de estos patógenos.

5. Conclusiones

- La aparición de síntomas ha resultado variable en cada uno de los años del estudio.
- La incidencia tanto de Yesca como de decaimiento por *Botryosphaeria* en la parcela ha sido residual.
- La enfermedad que mayor incidencia ha mostrado sintomatología es la Eutipiosis.
- La incidencia de la aparición de síntomas de Eutipiosis está relacionada con el portainjerto. El 161-49 de Courdec ha demostrado ser el portainjerto más vulnerable a lo largo del periodo de estudio.
- Los resultados estadísticos de SEF de los portainjertos revelan el comportamiento errático del 161-49 Courdec, que vienen a corroborar los resultados de estudios de otros autores. (Spilmont *et al.*, 2014).

6. Publicaciones más destacadas

BERLANAS C., BERBEGAL M., ELENA G., LAIDANI M., CIBRIAIN J.F., SAGÜES A., GRAMAJE D. (2019): The fungal and bacterial rhizosphere microbiome associated with grapevine rootstock genotypes in mature and young vineyards. *Frontiers Microbiol.* 10:1142.

6. La Rioja

Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV)

Marcos Andrés Sodupe Y David Gramaje Pérez

1. Marco de Actuación y Proyectos

Financiación Regional:

- Proyecto: Caracterización, epidemiología y control de los patógenos fúngicos de madera de la vid en La Rioja (R-03-16). Gobierno de La Rioja.

Financiación Nacional:

- Proyecto: Desarrollo de nuevas estrategias de manejo integrado de las enfermedades fúngicas de la madera de la vid (RTA2015-00015-C02-01), concedido por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA).

Periodo de actuación: 2006-2020

2. Participantes

Marcos Andrés Sodupe, Carmen Berlanas Vicente, Rebeca Bujanda Muñoz, Beatriz López Manzanares, Sonia Ojeda García y David Gramaje Pérez.

3. Objetivos

Las heridas producidas en el momento de la poda son la principal vía de infección de los hongos asociados a las enfermedades de la madera de la vid en planta adulta. Por tanto, los objetivos de este trabajo son:

- Evaluar la diversidad y prevalencia de hongos asociados a las EMV en las heridas naturales de la vid.
- Determinar la época de mayor susceptibilidad de las heridas de poda a la infección por hongos asociados a las EMV.

4. Ensayos Experimentales

ENSAYO 1: Evaluación de infecciones naturales por hongos de la madera en viñedos de La Rioja, Navarra

Material y métodos

Localización de las parcelas experimentales:

Este estudio se llevó a cabo en 3 viñedos experimentales. Dos de ellos se localizaron en parcelas de Agoncillo y Alfaro, dentro de la Comunidad Autónoma de La Rioja, mientras que otra se localizaba en Mendavia en la Comunidad Foral de Navarra.

Las parcelas de Alfaro y Mendavia son viñedos comerciales integrados dentro de la DOCa Rioja, mientras que la de Agoncillo es un viñedo experimental localizado en la Finca Valdegón, perteneciente al Gobierno de La Rioja.

Toma de muestras:

En noviembre de 2017, durante el periodo de reposo vegetativo, se marcaron dos sarmientos por cepa en un total de 50 cepas por cada parcela objeto de estudio y se realizó una pre poda manual a cuatro yemas en estos sarmientos. De esta pre poda se recogieron muestras de cada sarmiento por encima del corte realizado. Las muestras de aproximadamente 5 cm de los sarmientos podados se trasladaron inmediatamente al laboratorio para su análisis.

En febrero de 2018, se realizó una poda a tres yemas de los sarmientos seleccionados previamente, guardando la parte podada de cada sarmiento para su análisis posterior.

En el mes de mayo de 2018, se realizó una poda definitiva a dos yemas de los sarmientos seleccionados, recogiendo de nuevo la porción del extremo superior de los mismos, para analizar posteriormente en laboratorio. Este estudio se repitió durante la campaña 2018/19.

Análisis de las muestras:

Para la evaluación de las infecciones producidas en la madera por hongos asociados a EMV, se realizó un análisis mediante técnicas tradicionales de aislamiento e incubación en medio de cultivo.

Para ello, se realizó la desinfección superficial de las muestras mediante inmersión durante 1 minuto en una disolución al 33,3% de hipoclorito sódico (37gr/L cloro activo), seguida de dos lavados de 1 minuto con agua destilada estéril. Una vez desinfectadas las muestras, se cortaron longitudinalmente a la mitad, se tomaron pequeños trozos de madera de la zona xilemática más próxima a la herida de poda, y se sembraron en placas con medio de cultivo Agar Extracto de Malta (MEA) (Conda Laboratories), suplementado con 0,4 g/L de estreptomicina (MEAS) (Sigma-Aldrich Laboratories). Las placas se incubaron durante 10-15 días a 25°C en oscuridad. Las colonias de los hongos objeto de estudio, se repicaron a placas con medio de cultivo Agar Dextrosa Patata (PDA) (Conda Laboratories) para su identificación. La confirmación de la identificación de los hongos se realizó mediante amplificación y secuenciación de la región ITS a partir del ADN del micelio del hongo. La extracción de ADN del micelio del hongo se realizó con el kit E.Z.N.A. Plant DNA (Omega Bio-tek, Norcross, GA).

5. Resultados

Los hongos patógenos de la vid aislados durante la campaña 2017/18 fueron *Cryptovalsa ampelina* (8%), *Cytospora* sp. (27%), *Diaporthe* sp. (37%), *E. lata* (14%), *Seimastoporium vitis* (1%) y *Pa. chlamydospora* (3%). Los hongos patógenos de la vid aislados durante la campaña 2018/19 fueron *Ca. ampelina* (29%), *Cytospora* sp. (13%), *Diaporthe* sp. (4%), *Diplodia* sp. (50%) y *Eutypa* sp. (4%). Los porcentajes de infección por cada patógeno variaron dependiendo de la parcela objeto de estudio.

En el viñedo de Alfaro, se identificó una gran diversidad de hongos asociados a las enfermedades de la madera. *Diaporthe* sp. y *Diplodia seriata* mostraron significativamente mayores porcentajes de infección en el periodo febrero-mayo, mientras que *Cytospora* spp., *Eutypa lata* y *Phaeoconiella chlamydospora* presentaron significativamente mayor porcentajes en el periodo noviembre-febrero ($P < 0,05$) (Figura 46). En 2018/19, no se encontraron infecciones debidas a hongos asociados a las EMV ni en la muestra inicial ni durante el periodo noviembre-febrero. En ambas campañas, no se detectaron hongos de la madera en las muestras de pre poda en noviembre.

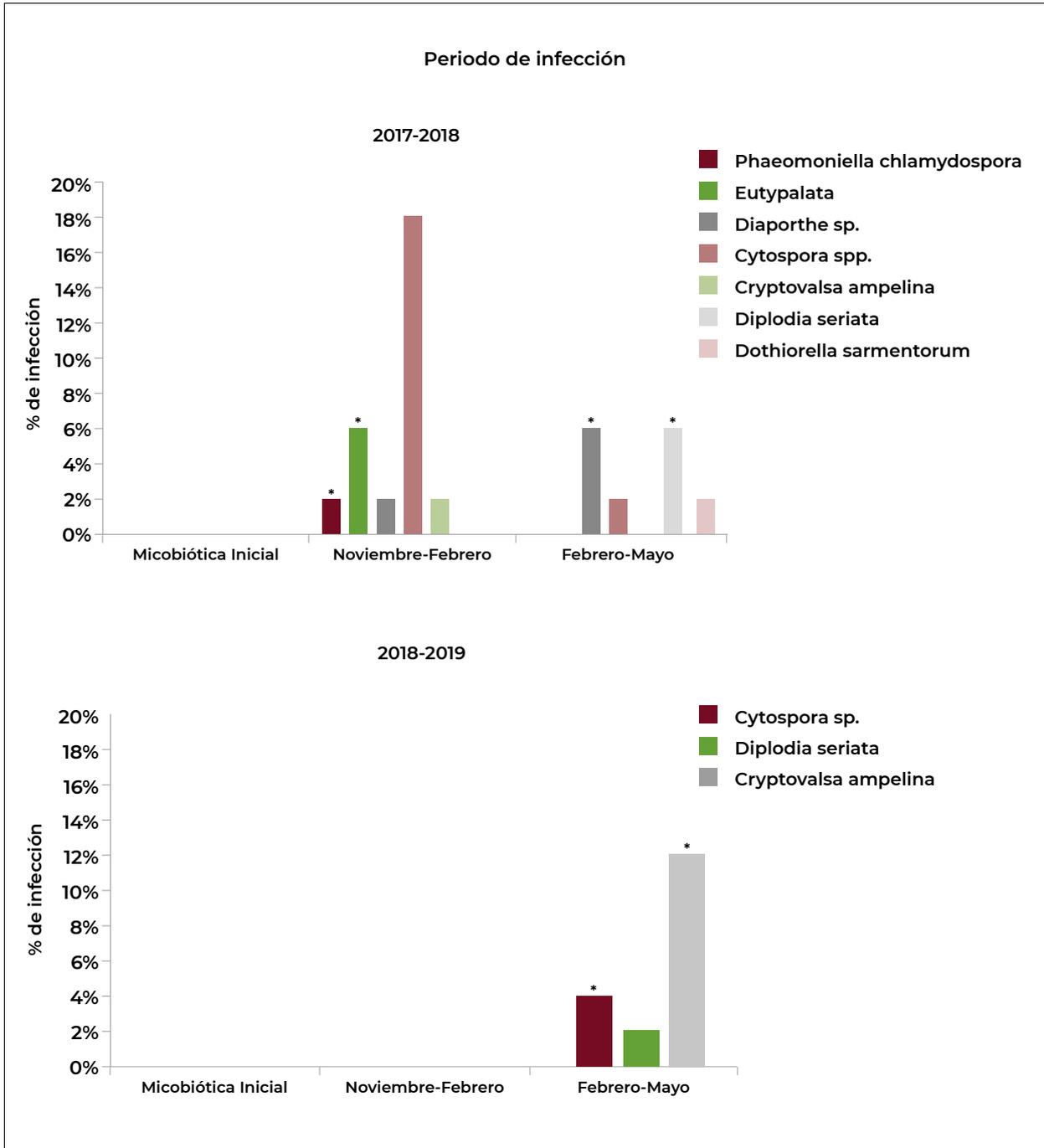


Figura 46. Porcentaje de infección por hongos de la madera en la parcela de Alfaro en las dos campañas objeto de estudio. El asterisco indica que existen diferencias significativas en el porcentaje de infección de cada taxón entre los dos periodos de infección (Nov-Feb y Feb-Mayo).

En la parcela de Agoncillo, se detectó una mayor presencia de hongos asociados a estas enfermedades en el segundo periodo de muestreo en la campaña 2017/18. Además, la diversidad de especies fúngicas varió entre periodos (Figura 47). En 2018/19, se observó mayor afección por hongos asociados a las EMV durante el periodo febrero-mayo que durante el periodo noviembre-febrero. En las muestras analizadas en noviembre no se detectó ningún hongo patógeno en las dos campañas (Figura 47).

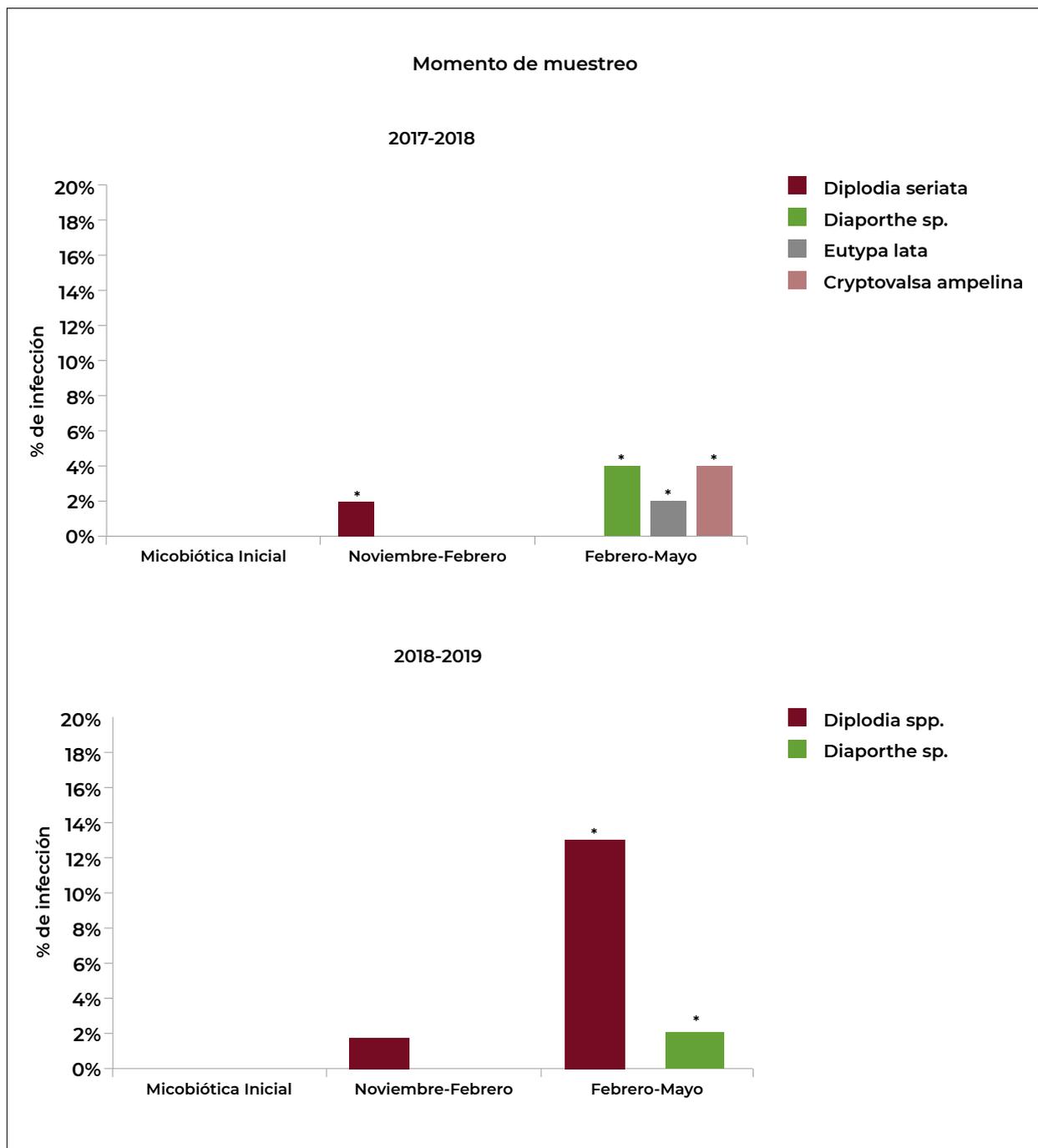


Figura 47. Porcentaje de infección por hongos de la madera en la parcela de Agoncillo en las dos campañas objeto de estudio. El asterisco indica que existen diferencias significativas en el porcentaje de infección de cada taxón entre los dos periodos de infección (Nov-Feb y Feb-Mayo).

En la parcela de Mendavia, se detectaron varios hongos de la madera en los dos periodos de infección en la campaña 2017/18. *Cryptovalsa viticola* y *C. ampelina* mostraron significativamente mayores porcentajes de infección en el periodo febrero-mayo, mientras que *Seimatosporium vitis* y *Eutypa lata* presentaron significativamente mayores porcentajes en el periodo noviembre-febrero ($P < 0,05$) (Figura 48). En la campaña 2018/19, solo se detectó infección por hongos de la madera (*Diplodia seriata*, *Eutypa* sp. y *Cytospora* spp.) en el periodo febrero-mayo. En ambas campañas, no se detectaron hongos de la madera en las muestras de pre poda en noviembre.

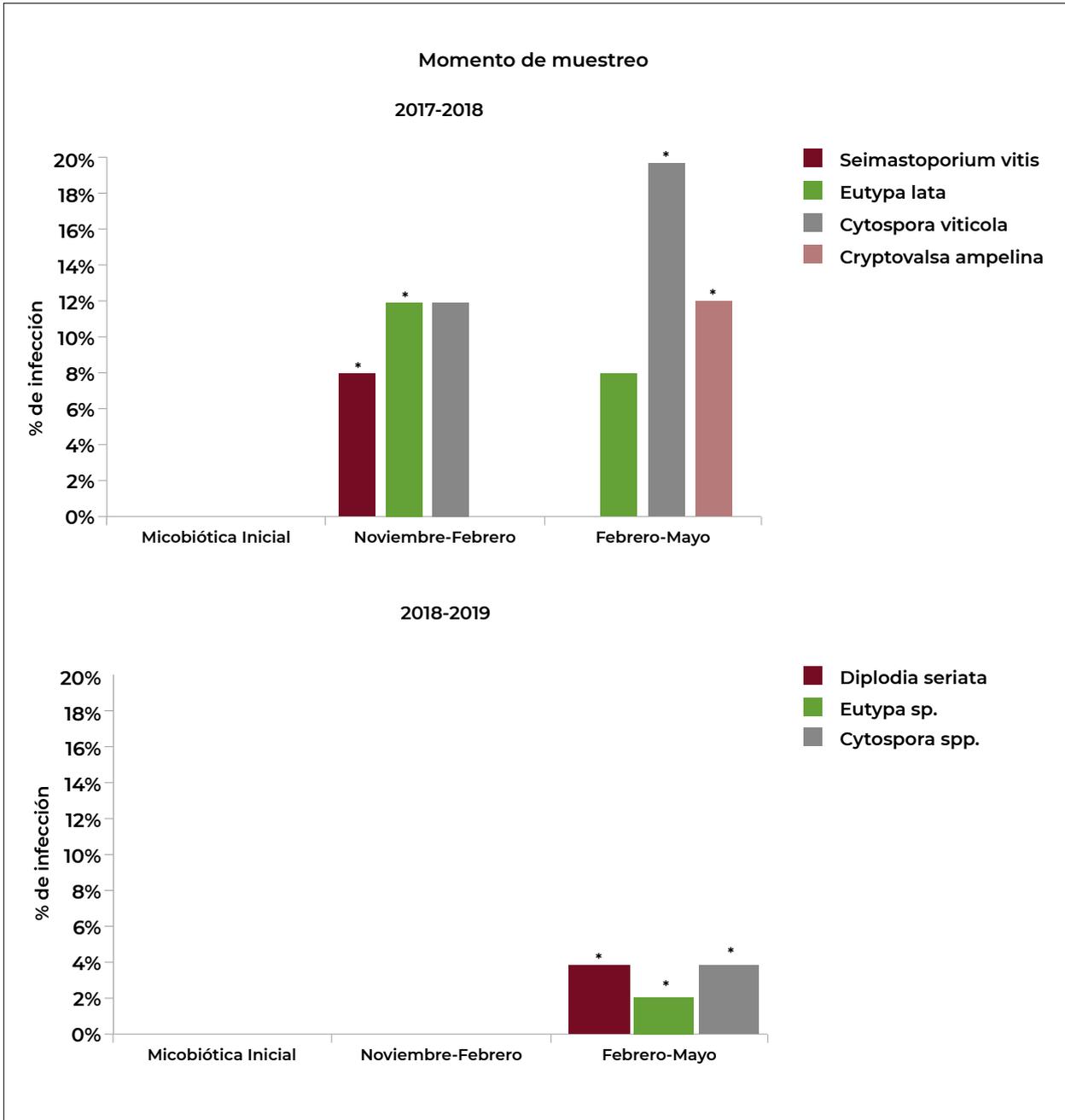


Figura 48. Porcentaje de infección por hongos de la madera en la parcela de Mendavia en las dos campañas objeto de estudio. El asterisco indica que existen diferencias significativas en el porcentaje de infección de cada taxón entre los dos periodos de infección (Nov-Feb y Feb-Mayo).

6. Conclusiones

- Existe un componente estacional en la capacidad de los hongos de la madera de infectar las heridas de poda en La Rioja y Navarra, con aislamientos más frecuentes en primavera (después de la poda de febrero) que en invierno (después de la pre-poda de noviembre).
- Desde un punto de vista fitopatológico y bajo las condiciones agroclimáticas en La Rioja y Navarra, se recomienda adelantar la poda en lo posible para evitar la infección por hongos de la madera.

7. Publicaciones más destacadas

ANDRÉS-SODUPE M. (2019): Colonización de las heridas de poda de la vid por hongos patógenos causantes de las enfermedades de la madera. Trabajo Fin de Master. Universidad de La Rioja.

MALDONADO M.M., BERLANAS C., ANDRÉS-SODUPE M., MARTÍNEZ-DÍAZ M.P., DÍAZ-LOSADA E., GRAMAJE D. (2018): Enfermedades fúngicas de la madera de la vid: líneas de investigación actuales y recomendaciones para su control. Cuaderno de campo 61, 28-35.

