



**TÍTULO DEL PROYECTO:** DESARROLLO DE NUEVAS ESTRATEGIAS DE MANEJO INTEGRADO DE LAS ENFERMEDADES FÚNGICAS DE LA MADERA DE VID

**Entidades participantes:** Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico y Alimentario (CIDA), Estación de Viticultura y Enología de Galicia (EVEGA), Instituto Regional de Investigación y Desarrollo Agroalimentario y Forestal de Castilla-La Mancha (IRIAF), Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL), Instituto Técnico Agronómico Provincial de Albacete (ITAP), Universidad Complutense de Madrid (UCM), Centro de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de Extremadura (CICYTEX), Universidad de León (ULE), Parque Tecnológico del Vino (VITEC)

**Investigador Coordinador (OPI al que pertenece):** Dr. David Gramaje Pérez (CIDA)

**TÍTULO DEL SUBPROYECTO PARTICIPADO POR EL IRIAF:** DESARROLLO DE UNA TECNOLOGÍA PARA REFORZAR LA RESISTENCIA DE PORTAINJERTOS Y VARIEDADES A LOS PATÓGENOS FÚNGICOS DE LA MADERA DE VID

**Organismo Financiador:** Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA)

**Duración:** desde: abril 2017 hasta: 31 diciembre 2020

**Nº de Proyecto:** RTA2015-00015-C02-01

**Financiación:** Total: 300.000 € / Subproyecto IRIAF: 150.000 €

**PERSONAL INVESTIGADOR DEL SUBPROYECTO PARTICIPADO POR EL IRIAF:**

EQUIPO PARTICIPANTE	SITUACIÓN ADMINIST. (*)	DEDICACIÓN (UNICA O COMPARTIDA)	CENTRO
<b>INVESTIGADOR PRINCIPAL:</b> Dr. David Gramaje Pérez	Contratado	Compartida	Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico y Alimentario (CIDA)
<b>PERSONAL INVESTIGADOR:</b> Dr. Juan Luis Chacón Vozmediano	Funcionario	Compartida	Centro de Investigación de la Vid y el Vino (IVICAM-IRIAF)
<b>PERSONAL INVESTIGADOR:</b> Dr. Pedro Miguel Izquierdo Cañas	Contratado	Compartida	Centro de Investigación de la Vid y el Vino (IVICAM-IRIAF)
<b>PERSONAL INVESTIGADOR:</b> D. Jesús Martínez Gascueña	Funcionario	Compartida	Centro de Investigación de la Vid y el Vino (IVICAM-IRIAF)

(\*) Funcionario, Contratado o Becario. (En el caso de Contratado o Becario, indicar la duración del Contrato o Beca)

**OBJETIVOS**

1. Evaluar y optimizar métodos de control de las enfermedades fúngicas de la madera de vid (EFMV), basadas en la sensibilidad de portainjertos y variedades obtenidas de colecciones y bancos de



germoplasma y en el desarrollo de un programa integrado de estrategias de manejo en viveros de vid.

2. Caracterizar la microbiota rizosférica asociada al uso de portainjertos de interés en ámbitos vitícolas seleccionados en España y su interacción con las EFMV bajo condiciones de estrés hídrico.

3. Evaluar y optimizar métodos de biocontrol de las EFMV mediante el uso de microorganismos y extractos vegetales.

4. Desarrollar modelos epidemiológicos de distribución espacial de síntomas asociados a las EFMV a gran escala.

## RESULTADOS FINALES

### Actividad 1. Inoculación de portainjertos y variedades de vid con hongos de la madera.

Se ha completado esta actividad con la inoculación de material vegetal (portainjertos y variedades) con varios patógenos asociados a las enfermedades de la madera:

- Ensayo 1: 33 portainjertos de vid inoculados con *Dactylonectria macrodidyma* (pie negro) en el ICVV.
- Ensayo 2: 48 portainjertos de vid inoculados con *Phaeomoniella chlamydospora* (enfermedad de Petri) en la UPV.
- Ensayo 3: 6 variedades de vid inoculadas con *Neofusicoccum parvum* (decaimiento por Botryosphaeria) en el IVICAM.
- Ensayo 4: 22 portainjertos de vid inoculados con *Neofusicoccum parvum*
- Ensayo 5: 19 portainjertos de vid inoculados con *Cadophora luteo-olivacea*
- Ensayo 6: 15 variedades de vid inoculadas con *Phaeomoniella chlamydospora* (enfermedad de Petri) en el ITACyL.
- Ensayo 7: 38 variedades de vid inoculadas con *Phaeomoniella chlamydospora* (enfermedad de Petri) en la EVEGA.

### Actividad 2. Evaluación de la reacción de los portainjertos y variedades de vid a la inoculación.

Los resultados han permitido establecer escalas de tolerancia del material vegetal a la infección por hongos de la madera:

Ensayo 1: portainjertos más susceptibles 145M y 19-62M. Portainjertos más tolerantes 161-49C y 14539Ca.

Ensayo 2: portainjertos más susceptibles RG7 y RG4. Portainjertos más tolerantes Rupestris FW No.1 y Cardeden 31.

Ensayo 3: variedad más susceptible Tinto Velasco. Variedades más tolerantes Bobal y Monastrell.

Ensayo 4: portainjertos más susceptibles RG8 y Castel 6971. Portainjertos más tolerantes 333 EM y 140Ru

Ensayo 5: portainjertos más susceptibles 31R. Portainjertos más tolerantes 6736 Castel y Millardet 33A-1

Ensayo 6: variedades más susceptibles Merenzao y Doña Blanca. Variedades más tolerantes Estaldiña y Albillo mayor.

Ensayo 7: variedades más susceptibles Tempranillo y Treixadura. Variedades más tolerantes Caiño BN y Castañal.



### **Actividad 3. Determinación de la susceptibilidad varietal a las infecciones naturales por los patógenos fúngicos de madera de la vid.**

Ensayo 1: parcela del IRIAF (11 años de edad con 47 variedades injertados sobre 110 Richter). Las variedades con mayor porcentaje de síntomas asociados a la yesca fueron Monastrell, Moscatel de Alejandría y Sauvignon Blanc.

Ensayo 2: parcela del INTIA-GN (7 años de edad con 16 portainjertos injertados con Tempranillo). EL portainjerto más susceptible a Eutipiosis fue 161-49C. En un segundo nivel de afección se situaron los portainjertos R-99, Rupestris y Gravesac. Con afecciones leves, el resto.

Ensayo 3: parcela de la EVEGA (20 años de edad con 10 variedades injertadas sobre 196-17 Castel). Albariño, y Lado fueron las variedades con mayor incidencia de EMV. La formación a cordón simple con poda a pulgares de dos yemas fue la que presentó valores de severidad significativamente más altos que los otros sistemas de conducción. Asimismo, se observó una mayor tendencia de afección en podas a guyot simple.

Ensayo 4: parcela del ITAP (16 años de edad con 10 variedades injertadas sobre 110 R). Las variedades más tolerantes fueron Cabernet Sauvignon, Macabeo Monastrell y Syrah.

Ensayo 5: parcela del ITACyL (6 años de edad con 48 variedades injertadas sobre 110 R). El porcentaje de plantas con síntomas asociados a las EMV fue muy bajo durante los 3 años de estudio y no permitió identificar cultivares tolerantes o susceptibles a la infección.

### **Actividad 4. Diseño de un protocolo de lucha integrada en viveros de vid.**

Se ha diseñado un protocolo de manejo integrado de las enfermedades de la madera en un vivero de vid localizado en Galicia integrando la termoterapia con agua caliente antes del injerto seguido de la aplicación de *Trichoderma atroviride* cepa SC1.

### **Actividad 5. Evaluación del material vegetal durante el proceso de producción de planta injertada y en campo de vivero.**

Se ha evaluado el material vegetal después de la fase de formación del callo. Los resultados han mostrado que la combinación termoterapia con agua caliente seguido de la aplicación de *T. atroviride* SC1 reduce la incidencia de hongos asociados al pie negro y la enfermedad de Petri en un 31,5 y 83,8%, respectivamente.

No se ha podido evaluar el material vegetal después de la fase de enraizamiento en campo de vivero debido a las dificultades para realizar los aislamientos microbiológicos en el laboratorio debido a la pandemia. Sin embargo, las muestras están conservadas en frío y se procesarán en 2021.



### Actividad 6 (Medida de la diversidad funcional de los microorganismos del suelo) y 7 (Obtención de ADN, cuantificación de patógenos asociados al pie negro de la vid y análisis genético masivo a gran escala).

Los resultados mostraron diferencias significativas en las propiedades físico-químicas de ambos suelos. Respecto a la diversidad microbiana, se identificó la microbiota esencial entre ambos viñedos y se observó que el genotipo de vid (portainjerto) es el factor principal que determina la composición de la microbiota subterránea asociada. Los resultados mostraron una correlación positiva entre el número de lecturas obtenido por secuenciación masiva y la cuantificación de hongos asociados al pie negro por qPCR, siendo el portainjerto 161-49 Couderc el que albergaba menor cantidad de hongos asociados a esta enfermedad.

Los aspectos biológicos y funcionales de la calidad del suelo utilizando diversos indicadores (biomasa microbiana, niveles de población microbiana del suelo, actividad microbiana), así como los perfiles fisiológicos de las comunidades microbianas y la cuantificación de agentes de biocontrol por qPCR no pudo evaluarse debido al recorte del 53.3% en el presupuesto inicial del subproyecto.

### Actividad 8. Inoculación en campo.

Se realizaron medidas del potencial hídrico en una fecha durante 2019 y en 4 fechas durante 2020. Estas medidas se realizaron con hojas tapadas (tratamiento tapada) con el objetivo de detener la fotosíntesis y de esta forma conseguir las medidas en el tallo, y con las hojas sin tapar (tratamiento soleada). En 2019, no se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos de riego en hojas soleadas (T1: -15,0 bar; T2: -16,5 bar; T3: -16,5 bar), mientras que en el tratamiento de riego T1 se obtuvieron valores significativamente mayores (-8,8 bar) que en los tratamientos T2 (- 10,2 bar) y T3 (-11,5 bar).

En 2020, se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos de riego en hojas tapadas (T1: - 6,3 bar; T2: -8,8 bar; T3: -10,2 bar), mientras que en el tratamiento hojas soleadas se obtuvieron diferencias significativas entre el tratamiento de riego T1 (-9,23 bar) y los otros dos tratamientos (T2: -11,78 bar; T3: -12,75 bar).

En 2019, los resultados estadísticos mostraron que había diferencias significativas entre el tratamiento riego al evaluar el peso de los sarmientos, siendo superiores los valores en T1 y T2 respecto al T3. Respecto a la longitud de las lesiones, se obtuvieron diferencias significativas en la interacción riego x hongo, sin embargo, los resultados fueron no concluyentes, ya que no se ha encontrado un patrón determinado en el riego que explique la incidencia de la enfermedad. Para *Phaeoconiella chlamydospora*, la longitud de lesiones fue mayor para el tratamiento riego T1. Para *Phaeoacremonium minimum*, la longitud de lesiones fue mayor para el tratamiento riego T3. Para *Diplodia seriata*, la longitud de lesiones fue mayor para el tratamiento riego T2.

En 2020, los resultados estadísticos mostraron que no había diferencias significativas entre los tratamientos riego y hongos, y su interacción al evaluar el peso de los sarmientos y la longitud de las lesiones.



MINISTERIO  
DE CIENCIA, INNOVACIÓN  
Y UNIVERSIDADES



AGENCIA  
ESTATAL DE  
INVESTIGACIÓN



Instituto Nacional de Investigación  
y Tecnología Agraria y Alimentaria

Durante la ejecución de los ensayos, no se observaron síntomas aéreos asociados a las EMV.

### **Actividad 9. Detección y cuantificación de patógenos asociados a las EFMV mediante PCR a tiempo real.**

No se obtuvieron diferencias significativas entre los 3 tratamientos de riego al evaluar la cantidad de inóculo de pie negro en la rizosfera. Sin embargo, el número copias de hongos asociados a esta enfermedad por microlitro fue mayor en el tratamiento de riego T1 (100% riego lisímetro), comparado con los tratamientos T2 (50% hasta pre- envero; 100% post-envero con respecto al T1) y T3 (50% lineal con respecto al T1).

### **FORMACIÓN DE PERSONAL EN RELACIÓN AL PROYECTO.**

En caso de tesis doctorales indicar para cada una de ellas: título, nombre del doctorando, director de tesis, universidad y facultad o escuela, fechas de comienzo y de lectura, y calificación obtenida.

### **INFORMACIÓN CIENTÍFICA Y TÉCNICA PROPORCIONADA POR EL PROYECTO.**

Artículos científicos y divulgativos, patentes, capítulos de libros, trabajos presentados a congresos, otros trabajos de difusión

#### **Artículos científicos:**

**Autores:** Martínez-Diz, M.P.; Díaz-Losada, E.; Martínez-Gascueña, J.; Chacón-Vozmediano, J.L.; Izquierdo-Cañas, P.M.; Barajas-Tola, E.; Rubio-Cano, José Antonio.; Berlanas, C.; Gramaje-Pérez, D.

**Revista:** Phytopathologia Mediterranea.

**Título:** Searching for resistance to grapevine trunk disease pathogens among Spanish germplasm collections. DOI.: 10.14601/Phytopathol\_Mediterr-21865-2017.

**Autores:** Chacón-Vozmediano, J.L.; Gramaje, D.; Izquierdo-Cañas, P.M.; Martínez-Gascueña, J.; Mena-Morales, A.

**Revista:** European Journal of Plant Pathology.

**Título:** Evaluation of six red grapevine cultivars inoculated with *Neofusicoccum parvum*. DOI.: 10.1007/s10658-020-02111-9.

**Autores:** Chacón-Vozmediano, J.L.; Gramaje, D.; León, M.; Armengol, J.; Moral, J.; Izquierdo-Cañas, P.M.; Martínez-Gascueña, J.

**Revista:** Plants.

**Título:** Cultivar susceptibility to natural infections by fungal pathogens associated with grapevine trunk diseases, in La Mancha DO. DOI.: 10.3390/plants10061171.



MINISTERIO  
DE CIENCIA, INNOVACIÓN  
Y UNIVERSIDADES



**INIA**  
Instituto Nacional de Investigación  
y Tecnología Agraria y Alimentaria

### Libros:

**Autores:** Gramaje, D.; Armengol, J.; Barajas, E.; Berbegal, M.; Chacón-Vozmediano, J.L.; Cibriain, J.F.; Díaz-Losada, E.; López-Manzanares, B.; Muñoz-Gómez, R.M.; Martínez-Diz, M.P.; Rubio-Cano, J.A.; Sagües-Sarasa, A.

**Título:** Guía sobre las enfermedades fúngicas de la madera de la vid.

**Editorial:** Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. NIPO: 003200229 (papel), NIPO: 003200230 (en línea). Catálogo general de publicaciones oficiales: <https://cpage.mpr.gob.es>.

### Congresos:

**Autores:** Martínez-Diz, M.P.; Díaz-Losada, E.; Martínez-Gascueña, J.; Chacón-Vozmediano, J.L.; Izquierdo-Cañas, P.M.; Barajas-Tola, E.; Rubio-Cano, José Antonio.; Berlanas, C.; Gramaje-Pérez, D.

**Título:** Searching for resistance to grapevine trunk disease pathogens among Spanish germplasm collections.

**Tipo de participación:** Comunicación Oral.

**Congreso:** 10th International Workshop on Grapevine Trunk Diseases.

**Publicación:** Book of abstracts of the Congress.

**Lugar de realización:** Reims (Francia). **Fecha de realización:** 4-7 julio de 2017

**Autores:** Chacón-Vozmediano, J.L.; Gramaje, D.; Mena, A.; Izquierdo-Cañas, P.M.; Martínez, J.

**Título:** Evaluation of six red grapevine cultivars inoculated with *Neofusicoccum parvum* in a "Terroir" of La Mancha wine region (Spain)

**Tipo de participación:** Póster

**Congreso:** XIIIth International Terroir Congress

**Publicación:** Book of abstracts of the Congress

**Lugar de realización:** Online. Año: 2020