



Síntomas internos de necrosis vascular y sectorial, y podredumbre blanda causados por hongos de la madera de la vid. / Rafael Lafuente

Enfermedades fúngicas de la madera de la vid

Líneas de investigación actuales y últimos avances para su control

Texto y fotografías: **María Mercedes Maldonado, Marcos Andrés Sodupe, Carmen Berlanas, Rebeca Bujanda y David Gramaje.** Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV)

María del Pilar Martínez Diz y Emilia Díaz Losada. Estación de Viticultura e Enología de Galicia (EVEGA)-INGACAL

En la actualidad, son numerosos los grupos de investigación que trabajan en diferentes aspectos del patosistema enfermedades fúngicas de la madera de la vid (EMV) y, entre ellos, en el desarrollo de estrategias para su control. Por citar un ejemplo, el pasado Congreso Internacional sobre las EMV que se celebró en julio de 2017 en Reims (Francia)

reunió a 240 científicos de 29 países. El control de las EMV no es sencillo debido a: 1) el elevado número de hongos patógenos asociados a las distintas patologías. Actualmente, existen 130 especies fúngicas asociadas a las EMV en el mundo, de las cuales más del 50% han mostrado ser patogénicas mediante ensayos *ad hoc*; 2) la biología y epide-

miología de estos patógenos es compleja, algunos hongos se caracterizan por ser habitantes comunes del suelo (enfermedad de Petri, pie negro) mientras que en otros su dispersión se produce preferentemente por esporas a través del viento y del agua de lluvia (enfermedad de Petri, yesca, decaimiento por *Botryosphaeria*, eutiposis). Además, algunas de estas

enfermedades pueden estar presentes ya en el plantón de vid que se adquiere del vivero; y 3) la falta de materias activas autorizadas y eficaces para su aplicación en viveros y para proteger las heridas de poda. En este artículo, se pretende resaltar los últimos avances en la investigación sobre el control de las EMV en viveros y en campo presentados en el Congreso de Reims, así como detallar las investigaciones actuales llevadas a cabo en el Instituto de Ciencias de la Vid y del Vino (ICVV) en colaboración con distintas instituciones.

Síntomas asociados a las enfermedades de la madera

Actualmente, las enfermedades que presentan una mayor incidencia en planta joven en España son la enfermedad de Petri, el pie negro de la vid y el decaimiento por *Botryosphaeria*. Esta última enfermedad también puede afectar a vides adultas, junto con la yesca y la eutipiosis (figura 1).

Los síntomas en campo de la enfermedad de Petri y el pie negro son difíciles de distinguir. En los primeros años tras la plantación se observa retraso en la brotación, escaso desarrollo, achaparramiento, entrenudos cortos, clorosis y amarilleamiento (figura 2A).

La **enfermedad de Petri** está causada por hongos pertenecientes al género *Phaeoacremonium*, y las especies *Phaeomoniella chlamydospora* y *Cadophora luteo-olivacea*. Afectan principalmente a la parte basal del patrón, colonizando los tejidos xilemáticos, de modo que al realizar cortes transversales y longitudinales de la madera se aprecian pequeñas punteaduras o estrías necróticas, respectivamente, correspondientes a los vasos afectados por la enfermedad, observándose en ocasiones exudaciones gomosas (figuras 2B y C).

La enfermedad del **pie negro** se caracteriza por afectar al sistema radicular y a la base del patrón, provocando lesiones necróticas que resultan en una reducción de la masa radicular (figura 2D y E). Esta enfermedad está causada por especies pertenecientes a los géneros *Campylocarpon*, *Cylindrocladiella*, *Dactylonectria*, *Ilyonectria*, *Neonectria* y *Thelonectria*.

Figura 1. Esquema de las diferentes enfermedades de la madera y sus agentes causales en vid joven y adulta.

ENFERMEDADES DE MADERA DE LA VID	VIÑA JOVEN (<8-10 años)	PIE NEGRO	<i>Dactylonectria</i> spp., <i>Thelonectria</i> spp., <i>Campylocarpon</i> spp., <i>Neonectria</i> spp., <i>Ilyonectria</i> spp., <i>Cylindrocladiella</i> spp.
		ENFERMEDAD DE PETRI	<i>Pa. chlamydospora</i> , <i>Phaeoacremonium</i> spp., <i>Cadophora luteo-olivacea</i>
	VIÑA ADULTA (>8-10 años)	DECAIMIENTO POR BOTRYOSPHAERIA	<i>Botryosphaeriaceae</i> spp.
		YESCA	<i>Phaeomoniella chlamydospora</i> , <i>Phaeoacremonium</i> spp.
		EUTIPIOSIS	<i>Diatrypaceae</i> spp.
		DECAIMIENTO POR BOTRYOSPHAERIA	<i>Botryosphaeriaceae</i> spp.

Figura 2. A) Síntomas de decaimiento en plantas jóvenes de vid; cortes transversales (B) y longitudinales (C) de un portainjerto joven de vid mostrando necrosis xilemática; D) reducción de la masa radicular en plantas afectadas; E) corte transversal de una planta joven de vid afectada por pie negro.

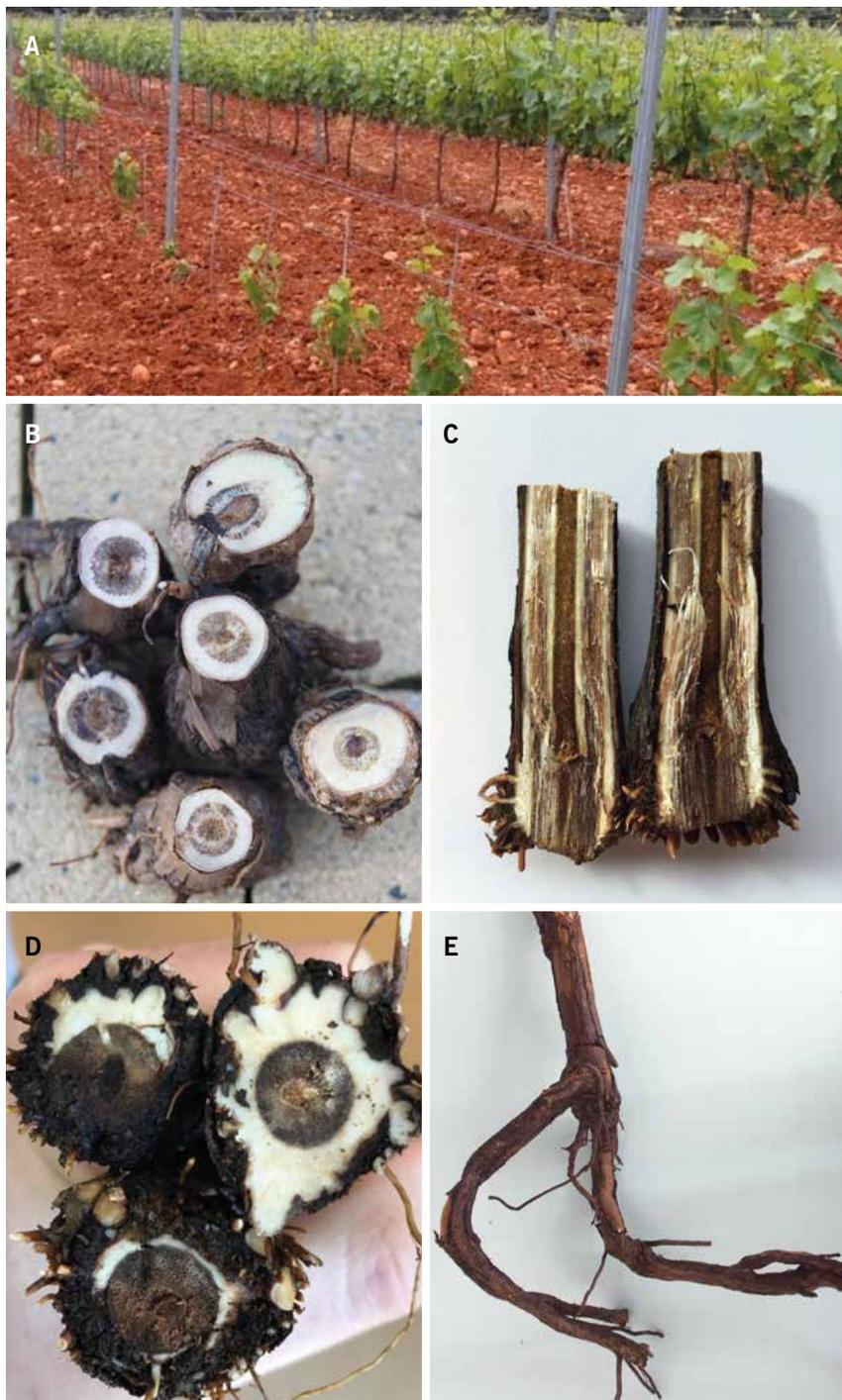




Figura 3. A) síntoma en campo del decaimiento por *Botryosphaeria*: desecación de sarmientos y muerte del brazo; B) necrosis sectoriales en la madera que toman color marrón oscuro y consistencia dura; C) síntomas externos de yesca asociados a la forma lenta o crónica: coloraciones internerviales en hojas 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) y H) síntomas externo de eutipiosis: brotes débiles, con entrenudos cortos, hojas más pequeñas y algo deformadas, cloróticas y con necrosis, generalmente marginales.

La enfermedad del **decaimiento por *Botryosphaeria***, causada por 26 especies de la familia Botryosphaeriaceae, se caracteriza por producir necrosis sectoriales de la madera de los brazos o del tronco principal de las plantas que causan su desecación y muerte (figura 3A y B).

La **yesca** está causada por los hongos *Phaeoconiella chlamydospora* y *Phaeoacremonium spp.*, y por varios hongos basidiomicetos; el más frecuente es *Fomitiporia mediterranea*. Esta enfer-

medad puede presentarse externamente bajo dos formas según su evolución: lenta y rápida o apopléjica. En la primera, las hojas muestran coloraciones en las zonas internerviales, que posteriormente evolucionan a necrosis (figura 3C). La producción se reduce y los racimos incluso llegan a pasificarse prematuramente. Estos síntomas pueden manifestarse de forma crónica en algunas plantas y de forma totalmente errática en otras, de manera que aquéllos se desarrollan un

año pero no el siguiente. En la forma apopléjica, que se da sobre todo en verano, se produce la muerte repentina de la planta (figura 3F). Las secciones transversales de los troncos afectados muestran una variedad de síntomas internos de la madera, como estrías necróticas en el xilema, a veces rodeadas por una decoloración de la madera de color rosa a marrón (figura 3D). En estados avanzados de la enfermedad, suele observarse una podredumbre seca y esponjosa de la

madera en las zonas centrales del tronco o brazos (figura 3E).

La **eutipiosis**, causada por el ascomiceto *Eutypa lata* y otros 23 hongos diatripaceos, se caracteriza por una necrosis sectorial de color marrón oscuro en las secciones transversales de la madera. Las plantas afectadas desarrollan brotes débiles, con entrenudos cortos, hojas más pequeñas algo deformadas, cloróticas y con necrosis generalmente marginal (figura 3G y H). Los síntomas foliares pueden aparecer de 3 a 8 años después de la infección y variar de un año a otro. Los racimos maduran de manera desigual, son pequeños y, en casos severos, los frutos se pasifican y mueren.

Biología de los agentes causales y epidemiología

La biología de los hongos de la madera de la vid es compleja. Varios estudios han demostrado que estos hongos pueden vivir de forma endófito en la planta, provocando infecciones asintomáticas hasta que, bajo ciertas condiciones de estrés y manejo del cultivo, modifican su comportamiento dando lugar a la expresión de síntomas.

En general, los hongos que causan las enfermedades de Petri y del pie negro de la vid se caracterizan por ser habitantes comunes del suelo. Algunas de estas especies producen estructuras de resistencia que les permiten sobrevivir

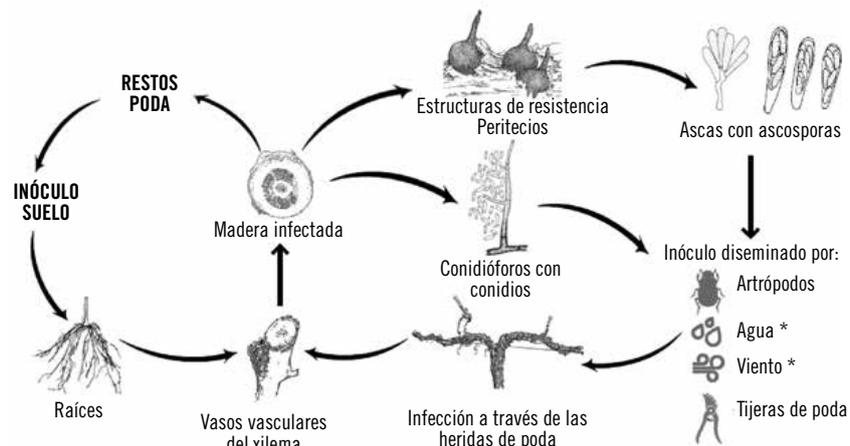


Figura 4. Ciclo de la enfermedad de *Phaeoacremonium minimum*, agente causal de la yesca y la enfermedad de Petri. Los asteriscos indican las vías principales de diseminación. Fuente: Gramaje et al., 2015. *Fungal Biology* 119: 759-783.

durante largo tiempo en ausencia de hospedante. En el caso de los hongos que causan el decaimiento por *Botryosphaeria* y la eutipiosis, su dispersión se produce por esporas a través del viento y del agua de lluvia, medios a través de los cuales también pueden transmitirse las esporas de los hongos que causan la enfermedad de Petri y la yesca. Recientemente, se ha demostrado que las esporas de hongos de la madera también pueden diseminarse a través de insectos.

Respecto a la infección de las plantas, se sabe que los hongos causantes de la enfermedad del pie negro infectan a las vides a través de heridas en las raíces o en la parte basal del patrón que está en contacto con el suelo. En cambio, los hongos causantes del decaimiento por *Botryosphaeria*, la eutipiosis y la yesca, penetran en las plantas a través de las

heridas de poda que se producen en la parte aérea de la planta. Los hongos causantes de la enfermedad de Petri pueden penetrar en la planta tanto a través de las raíces como a través de las heridas de poda. El ciclo de enfermedad de la especie *Phaeoacremonium minimum*, hongo asociado a la enfermedad de Petri y de la yesca, se representa en la figura 4.

Los estudios realizados hasta el momento demuestran que las enfermedades pueden estar presentes al inicio del ciclo del cultivo, esto es, en el momento en el que la madera de las plantas madre entra en el ciclo viverístico de la producción de planta. Una vez en el campo, y si las condiciones lo permiten, las enfermedades se manifestarán en etapas tempranas (Petri, pie negro) o quedarán latentes para manifestarse más tarde (yesca, decaimiento por *Botryosphaeriaceae*, eutipiosis).

Ensayo en invernadero donde se evalúa el efecto de diferentes situaciones de estrés abiótico en la colonización por hongos de la madera y en la expresión de síntomas de la enfermedad. / Rafael Lafuente



Últimos avances en el control

El desarrollo de nuevas estrategias de control integrado de las EMV se ha convertido en un tema prioritario para numerosos grupos de investigación en todo el mundo, debido principalmente a las graves pérdidas económicas que estas ocasionan. A continuación se detallan los últimos avances presentados en el Congreso de Reims, así como los últimos trabajos publicados sobre el manejo de las EMV.

Prácticas culturales: poda y conducción

La poda de la vid durante sus primeros años de vida resulta crucial, ya que determinará en gran medida la morfología y arquitectura futura de la planta y controlará la producción del viñedo. El tipo de poda y conducción de la planta puede tener una gran influencia en la incidencia de las EMV. Parece obvio pensar que, sabiendo que la mayoría de los hongos asociados a las EMV pueden penetrar en la planta a través de las heridas de poda y colonizar el sistema vascular, un sistema de poda en el que se minimicen los cortes provocará una disminución en la incidencia de estos hongos.

Científicamente, esta hipótesis se ha demostrado en un estudio reciente publicado por investigadores de la Universidad de Davis en California, en el cual compararon la presencia de hongos de la madera en plantas con un sistema de poda corta sobre cordón Royat doble o un sistema de poda mínima (cortar los extremos de la vegetación cuando se aproximan al suelo, abriéndose hacia la calle, para facilitar las operaciones de cultivo). Estos autores concluyeron que la poda mínima resultaba en una menor incidencia de necrosis causada por hongos de la madera como consecuencia del menor número, diámetro y proximidad de los cortes de poda.

En Francia, investigadores del Instituto Nacional de Investigación Agronómica (INRA) en Burdeos realizaron un seguimiento durante 10 años en varias parcelas con diferentes sistemas de conducción, y concluyeron que los sistemas con una longitud de brazos mayor exhibían menor afección por hongos asociados a la yesca comparado con sistema de conducción con brazos cortos o sin brazos. Como

ejemplo, en el sistema de conducción en Lira se observó un 14% de incidencia de yesca mientras que en el sistema de conducción en Guyot Simple con brazos cortos se observó un 36% de incidencia de esta enfermedad.

Control biológico

El interés en el uso de agentes de control biológico para las EMV ha aumentado en los últimos años debido principalmente a la retirada del registro de numerosas materias activas fungicidas. En campo esta opción ha sido relativamente poco estudiada hasta el momento y los resultados obtenidos no han sido consistentes, observándose diferencias de eficacia en función de la naturaleza de los agentes de biocontrol, el patógeno diana e incluso las variedades viníferas objeto de estudio. Sin embargo, en viveros o en condiciones controladas en invernadero, estudios recientes han demostrado el potencial de estos tratamientos contra las EMV.

En Italia, investigadores del Centro de Investigación e Innovación de la Fundación Edmund Mach (FEM) observaron que la aplicación de la cepa SC1 del hongo *Trichoderma atroviride* durante la fase de hidratación en viveros resultó eficaz en una reducción en infección por hongos asociados a la enfermedad de Petri.

En Francia, investigadores del INRA en Burdeos demostraron que el oomiceto *Pythium oligandrum* era capaz de colonizar las raíces de vid y reducir la necrosis vascular causada por *Pa. chlamydospora*. Además, se estudió la actividad antagonista de diversas bacterias aisladas de la madera de la vid y del hollejo de la uva frente a las especies *Neofusicoccum parvum* y *Pa. chlamydospora*. Varias cepas de los géneros *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Enterobacter*, *Pantoea* y *Paenibacillus* redujeron significativamente la longitud de las lesiones causada por ambos patógenos en material de propagación.

Resistencia de portainjertos y variedades

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 edafoclimática e interés comercial (ej. cultivar 'Tempranillo' y portainjertos 110 R, 140 Ru, 41 B, 1103 P).

En ensayos realizados en invernadero por el Departamento de Patología Vegetal de la Universidad de Lincoln en Nueva Zelanda el portainjerto Riparai glorie se mostró muy susceptible al pie negro de la vid, mientras que el portainjerto 101-14 MGT mostró mayor tolerancia a la infección fúngica. En lo que respecta a las especies de Botryosphaeriaceae, se concluyó que los portainjertos 5C y SO4 fueron los más susceptibles a la infección por *Neofusicoccum spp.* entre los 6 genotipos más frecuentemente utilizados en Nueva Zelanda.

Diversos estudios han determinado la susceptibilidad varietal a las infecciones naturales por los hongos de la madera de la vid en viñedos. En un estudio realizado por el Instituto de Investigación del Sur de Australia (SARDI), los cultivares Garnacha Tinta, Cabernet Sauvignon y Syrah mostraron mayor incidencia de eutipiosis, mientras Merlot, Riesling, Pinot Noir, Sauvignon Blanc, Chardonnay y Semillon se mostraron más tolerantes a la infección.

En Italia, investigadores de la Universidad Politécnica de Marche observaron que los cultivares de uva blanca Sauvignon Blanc y Riesling, entre otros, mostraron una incidencia mayor de síntomas foliares asociados a la yesca, mientras que el cultivar Pinot Blanc presentó menos síntomas de la enfermedad. En cultivares de uva tinta, el cultivar Rebo se mostró muy susceptible, mientras que los cultivares Syrah y Merlot mostraron una incidencia menor de síntomas foliares asociados a dicha enfermedad. Además, estos investigadores observaron que, en general, los cultivares injertados sobre SO4 mostraron una mayor incidencia de los síntomas asociados a la yesca que aquellos injertados sobre 1103 P.

Medidas generales de lucha

En el momento de establecer la plantación y durante los primeros estados de crecimiento, deberán tenerse en cuenta diversos aspectos que pueden causar estrés a las plantas y con ello favorecer el desarrollo de las enfermedades de la madera de la vid. Se deben utilizar plantas que presenten un grosor adecuado y un sistema radicular uniforme, con raíces desarrolladas en toda la base del patrón. Además, el suelo donde se efectuará la plantación no debe estar compactado ni anegado, se evitarán riegos excesivos, así como periodos prolongados sin agua, y se realizará una fertilización adecuada sin forzar la producción de la planta en los primeros años tras la plantación.

Una vez establecida la plantación, el control irá dirigido fundamentalmente a la protección de heridas de poda, ya que éstas constituyen una de las vías principales de entrada para muchos de los patógenos implicados en las enfermedades de la madera de la vid que tienen diseminación aérea. Dada la falta de materias activas fungicidas eficaces y autorizadas para el control de las EMV, el pintado de las heridas de poda con mástic se ha mostrado como una herramienta eficaz para evitar la entrada de hongos de la madera.

Como medidas prácticas en el momento de la poda se recomienda reducir el tamaño de los cortes, dejar madera de protección y favorecer la continuidad de flujo de savia en la planta. Finalmente, los restos de poda deberán ser destruidos, ya que son una importante fuente de inóculo de estos patógenos. En un estudio reciente, llevado a cabo por investigadores del Departamento de Patología Vegetal del Instituto de Investigación de la Generalitat de Catalunya (IRTA) en Cabrils, se demostró que los restos de poda pueden albergar inóculo viable de hongos de la madera hasta 42 meses después de la poda.

Investigación en el ICVV

Actualmente, las EMV son muy graves y han sido señaladas en muchos foros como una de las principales preocupaciones del sector vitivinícola. Así, en una entrevista realizada en el año 2014 al director del Instituto Francés de la Vid y el Vino, éste

manifestaba la preocupación en Francia por el problema, cuantificando incluso que aproximadamente el 12% de los viñedos franceses se consideran no productivos por culpa de daños asociados a hongos de la madera.

El objetivo de nuestro grupo de investigación en el Servicio de Investigación Vitivinícola (SIV-ICVV), “Interacciones de la vid con el medio biológico (Biovitis)”, pasa por impulsar la transferencia de los resultados científicos a la sociedad, de tal modo que nuestra actividad investigadora tenga implicaciones prácticas y de esta manera contribuya al desarrollo del sector. En este sentido, desarrollamos actualmente investigaciones financiadas con proyectos regionales y nacionales, con el objetivo de reducir el impacto que generan las EMV en todas las regiones vitivinícolas españolas:

- La **selección de portainjertos y variedades** con mayor resistencia a la infección se postula como una estrategia clave en el manejo sostenible de las EMV. En el proyecto “Desarrollo de una tecnología para reforzar la resistencia de portainjertos y variedades a los patógenos fúngicos de la madera de la vid (RTA2015-00015-C02-01) (2017-2020)”, financiado por el Instituto Nacional de Investigación y Tecnología Agraria y Alimentaria (INIA), se pretende identificar material vegetal tolerante a las EMV mediante bioensayos en condiciones que aseguren el desarrollo óptimo de la enfermedad. En concreto, se está investigando en bancos de germoplasma de variedades comerciales y minoritarias, en clones de Tempranillo y en portainjertos, en colaboración con la Estación de Viticultura y Enología de Galicia (INGACAL-EVEGA), el Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y León (ITACyL), el Centro de Investigación de la Vid y el Vino de Castilla-La Mancha (IVICAM), el Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA) y la Universitat Politècnica de Valencia (UPV).

- Tanto el **sistema radicular** de las plantas como los suelos se considera un nicho de microorganismos que pueden constituir un importante reservorio de antagonistas con potencial de ser utilizados como agentes de control biológico contra



hongos que residen en el suelo (enfermedad de Petri y pie negro), y que en gran medida son nichos insuficientemente explorados. En esta línea, gracias a la financiación del proyecto RTA-INIA, estamos actualmente analizando, en colaboración con la EVEGA, la UPV y Tecnologías e Infraestructuras Agroalimentarias (INTIA) del Gobierno de Navarra, la estructura y diversidad de las comunidades microbianas presentes en el suelo rizosférico y las raíces, y estudiando en profundidad la interacción organismo antagonista-patógeno y sus mecanismos de acción.

- La principal vía de infección de los patógenos fúngicos de madera en plantaciones ya establecidas es a través de las **heridas de poda**. Una vez que colonizan el sistema vascular, no existen medidas de control efectivas para estos hongos. La estrategia más adecuada es, por tanto, la prevención de las infecciones en campo. Sin embargo, la eficacia de los tratamientos preventivos depende de la elección del momento oportuno de aplicación. La estimación del riesgo mediante la detección de inóculo aéreo en el campo permitiría a los viticultores elegir el momento óptimo para la poda y la aplicación de los



Identificación de material vegetal tolerante a las enfermedades de la madera mediante ensayos en invernadero. / Rafael Lafuente

tratamientos de protección sobre las heridas, reduciendo así las posibilidades de infección de las plantas. Esta actividad se está llevando a cabo en La Rioja, Galicia y Valencia, en colaboración con la EVEGA y la UPV, mediante proyectos regionales financiados por el Gobierno de La Rioja (2015-2018).

- Sin duda alguna, el **control biológico** constituye una de las herramientas de presente y futuro para la lucha contra las EMV. A pesar de que existen varios trabajos con resultados prometedores en viveros y en condiciones controladas en laboratorio e invernadero, no existe una solución biológica para la protección de heridas de poda en campo. Por tanto, los esfuerzos en la investigación han de centrarse en la evaluación de cepas de agentes de biocontrol que sean útiles y eficaces bajo diferentes condiciones ambientales y de presión de inóculo de hongos asociados a las EMV. En este contexto, la EVEGA, en colaboración con el SIV-ICVV, está llevando a cabo dos proyectos financiados por la Xunta de Galicia-Consellería Do Medio Rural, “Proyecto piloto para producción sostenible de plantas de vivero de vid (Vivervid)” y “Prácticas innovadoras para combatir

las enfermedades de la madera de la vid (Evid)” (2017-2019). En estas investigaciones, se está desarrollando un programa integrado de estrategias innovadoras de manejo en viveros de vid, y se evalúan nuevos productos fungicidas y agentes de control biológico para la protección de heridas de poda.

- **En vivero**, teniendo en cuenta que es difícil asegurar un material vegetal libre de hongos asociados a las EMV, las investigaciones deben centrarse en determinar qué cantidad de inóculo fúngico es necesario para provocar síntomas de la enfermedad y de esta forma reducir el rendimiento del cultivo (umbral de infección). El problema principal reside en la carencia de un método no destructivo de detección y cuantificación. La mayoría de hongos de la madera de la vid colonizan el xilema de la planta provocando infecciones no localizadas en el sistema vascular. Al contrario que ocurre con las enfermedades causadas por virus, en las que podemos identificar el agente causal mediante el análisis de hojas y sarmientos, el procesamiento de muestras para la detección de hongos de la madera implica la pérdida completa del

material vegetal. Además, estos patógenos se han aislado de material vegetal asintomático, y la aparición de síntomas en terreno definitivo se ha relacionado con el estrés a que se somete la planta para su entrada en producción. Por ello, en la línea troncal del proyecto Globalviti “Desarrollo de estrategias óptimas de plantación y manejo del viñedo para minimizar el impacto de las enfermedades fúngicas de la madera (2017-2020)”, financiado por el Ministerio de Economía, Industria y Competitividad en el marco del Programa Estratégico de Consorcios de Investigación Empresarial Nacional (CIEN) del Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial (CDTI), estamos desarrollando nuevas técnicas de muestreo y diagnóstico de hongos de la madera en material vegetal. Asimismo, se evalúa el efecto de diferentes situaciones de estrés abiótico en la colonización por hongos de la madera y en la expresión de síntomas de la enfermedad. Con estas líneas de investigación, se pretende optimizar el manejo del cultivo durante los primeros años tras la plantación para evitar el decaimiento de la madera en planta joven.