



Estudio sobre las
**ENFERMEDADES FÚNGICAS DE
LA MADERA DE LA VIÑA**
en el Valle de La Orotava, Tenerife





ESTUDIO SOBRE LAS ENFERMEDADES FÚNGICAS DE LA MADERA DE LA VIÑA EN EL VALLE DE LA OROTAVA, TENERIFE

Santiago Perera González¹, Christian Rodríguez García², Jonay Delgado Hernández¹, Eugenia Trujillo García¹, David Hernández Hernández², Ana Espino de Paz³, Felipe Siverio de la Rosa^{2,3}

¹Unidad de Experimentación y Asistencia Técnica Agraria. Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural. Cabildo Insular de Tenerife.

²Unidad de Protección Vegetal. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA).

³Sección de Laboratorio de Sanidad Vegetal. Dirección General de Agricultura. Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Soberanía Alimentaria del Gobierno de Canarias.

RESUMEN

Las enfermedades de la madera de la viña (EMV) representan uno de los mayores desafíos actuales para la sostenibilidad de la viticultura a nivel mundial. Estas enfermedades provocan daños significativos en los viñedos cada año, y su incidencia está aumentando rápidamente en todos los países productores. En los últimos años se viene observando un aumento de síntomas asociados a estas enfermedades en la comarca de la Denominación de Origen Valle de La Orotava que integra los municipios de La Orotava, Los Realejos y Puerto de la Cruz. Los síntomas asociados a esta enfermedad incluyen el retraso del desarrollo y el escaso vigor de las plantas mostrando brotaciones reducidas o retrasadas, brotes con entrenudos cortos, hojas de menor tamaño y cloróticas y, finalmente, la muerte de las plantas. Este trabajo surge de la necesidad de conocer la etiología de estas enfermedades en la comarca. En el trabajo se prospectaron 15 fincas afectadas por la enfermedad de las que se recogieron 39 muestras que se analizaron para la obtención de aislados fúngicos de síntomas y signos de enfermedad. Los síntomas principalmente encontrados en las muestras y analizados fueron: necrosis en peciolo, necrosis en hoja, necrosis externa, necrosis interna con grietas superficiales, necrosis de la médula, necrosis sectorial y punteaduras necróticas. Posteriormente, se realizó la purificación de los aislados fúngicos obtenidos y su caracterización morfológica, micromorfológica y molecular. Los resultados permitieron detectar principalmente hongos de la familia Botryosphaeriaceae como *Neofusicoccum australe*, *N. luteum*, *N. parvum*, *N. stellenboschiana*, o *Diplodia seriata*, aunque la especie más frecuente fue *N. parvum* que se detectó en todas las parcelas, en todos los tipos de síntomas y signos analizados, y en un porcentaje muy elevado de las muestras. Cabe destacar que *Neofusicoccum stellenboschiana* es la primera vez que se detecta en viña en Canarias y en España.

ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN.....	6
1.1.- Antecedentes del cultivo de la viña en el Valle de La Orotava.....	8
1.2.- Enfermedades de la madera de la viña (EMV).....	11
2.- MATERIAL Y MÉTODOS.....	15
2.1.- Selección de parcelas con síntomas.....	15
2.2.- Evaluación de síntomas y grado de ataque	17
2.3.- Muestreo de plantas con síntomas	21
2.4.- Preparación de las muestras, aislamiento de hongos e identificación de aislados.....	22
2.5.- Propuesta de valoración al azar.....	24
3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
3.1.- Evaluación de síntomas y grado de ataque	24
3.2.- Preparación de las muestras, aislamiento de hongos e identificación de aislados.....	30
3.3.- Propuesta de valoración al azar.....	49
4.- CONCLUSIONES.....	50
5.- AGRADECIMIENTOS	51
6.- BIBLIOGRAFÍA	52
7.- ANEXOS.....	60



1.- INTRODUCCIÓN

La superficie en Canarias dedicada a uva de vinificación es de 6.328,1 ha, siendo el segundo cultivo más importante en términos de superficie cultivada después del plátano. Tenerife es la isla con más superficie de viñedo del archipiélago, 2.763,5 ha, constituyendo uno de los principales cultivos de las medianías¹ de la isla (ISTAC, 2022). En el Valle de La Orotava, situado en el norte de Tenerife (figura 1), se cultivan actualmente 313,1 ha de viña, a pesar de que su superficie ha disminuido un 47,8 % en los últimos 10 años (figura 2). Parte de la superficie dedicada a la viña se encuentra asociada a otros cultivos como la papa o los frutales templados (figura 3). En conjunto supone un 13,8 % de la superficie agrícola del Valle de La Orotava (19,7 % del municipio de La Orotava y 9,1 % de la de Los Realejos, ya que no se cultiva actualmente viña en el Puerto de la Cruz), teniendo, por lo tanto, una gran importancia en el sector agrícola de la comarca.



¹ En las islas Canarias se denomina medianías a la franja de territorio de una isla que está situada entre los 600 y los 1500 metros de altura sobre el nivel del mar (entre las franjas de costa y cumbre). Esta franja presenta un clima caracterizado principalmente en el norte de las islas por la presencia frecuente del “mar de nubes” formado por la condensación de la masa de aire que aportan los vientos alisios y que genera un clima tipo templado y húmedo que reduce la insolación y la evaporación (Dorta Antequera, 1993).



Figura 1. Valle de La Orotava. A (página anterior), localización en la isla de Tenerife y mapa de cultivo. B, relieve del Valle de La Orotava en la isla de Tenerife (Google Earth).

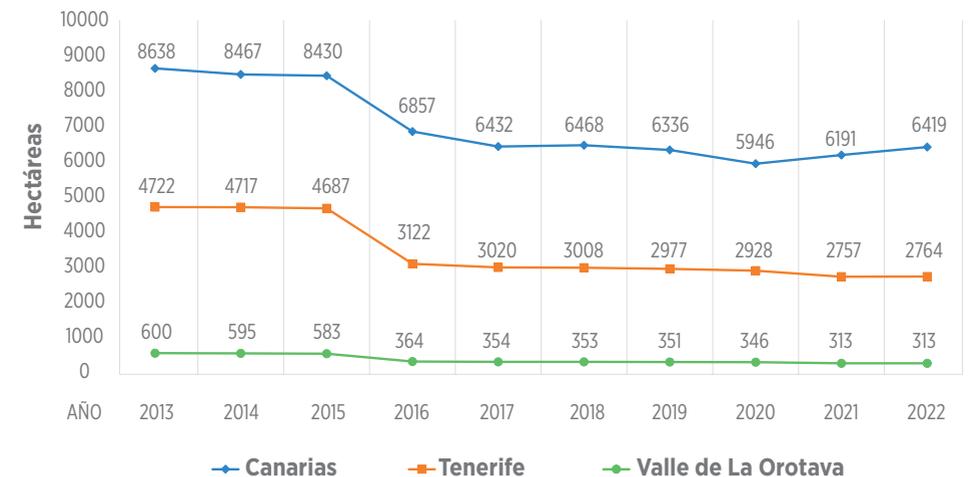


Figura 2. Evolución de las superficies de cultivo de viña en Canarias, Tenerife y el Valle de La Orotava en los últimos 10 años (2013-2022) (Municipios de La Orotava y Los Realejos, ya que en el Puerto de la Cruz no se cultiva actualmente) (ISTAC, 2022).



Figura 3. Cultivo de la viña característico del Valle de La Orotava asociado a cultivo de papas.

1.1.- Antecedentes del cultivo de la viña en el Valle de La Orotava

La introducción del cultivo de la viña en Canarias se produjo prácticamente desde la finalización de la conquista, de forma que “los grandes propietarios destinaron amplias zonas de sus haciendas al cultivo de la viña” (Hernández-Hernández, 2010). A lo largo del siglo XVI, la viña se convirtió en uno de los principales cultivos de exportación, gracias a los altos precios del vino y a la demanda de vinos de navío hacia las Indias, llegando a su máximo apogeo en el siglo XVII. Convivió en las zonas bajas con el cultivo de la caña de azúcar, al que fue desplazando progresivamente, y también compartió espacio con los cereales en las medianías de la isla. Las características del suelo del Valle de La Orotava, rico en materia orgánica, y sus condiciones climáticas marcadas por el régimen de alisios y la disponibilidad de agua, favorecieron la implantación y la consolidación del cultivo de la viña. Inicialmente predominaba la producción de vinos blancos, adquiriendo fama rápidamente el malvasía canario en los merca-

dos internacionales. A partir del siglo XVIII, el comercio de vinos canarios entra en decadencia, si bien a comienzos del siglo XIX el vino seguía constituyendo una parte importante de la producción agrícola de esta zona, conviviendo en medianías con un policultivo de secano representado por el millo, el trigo, las papas y otros cultivos de huerta, además de frutales. A partir del siglo XIX, el viñedo como cultivo de exportación fue sustituido por otros cultivos como el tabaco, y a lo largo del siglo XX, la competencia con los vinos de origen peninsular relegó a la viticultura canaria a una producción para el mercado local y el autoconsumo (Lana García-Verdugo, 2020). Desde finales del siglo pasado, el sector se ha ido tecnificando y reconvirtiendo, coexistiendo en la actualidad pequeñas explotaciones familiares con otras destinadas a la producción bajo el amparo de la Denominación de Origen Valle de La Orotava.

A principios de los años 90 se crea el Consejo Regulador de la Denominación de Origen “Valle de La Orotava”, con la finalidad de garantizar la calidad de los caldos producidos en los municipios de esta comarca. Actualmente la D.O. Valle de La Orotava está formada por 18 bodegas y 423 viticultores. Cuenta con una superficie registrada de 216 ha repartidas en 1533 parcelas. Esto supone una superficie media de 1406 m² por parcela cultivada. La mayor parte de la viña tiene una antigüedad superior a 50 años, existiendo también cultivos de más de 100 años.

En Canarias se dispone de una gran diversidad en este cultivo, ya que se conservan variedades desaparecidas del continente debido al efecto de la filoxera (*Daktulosphaira vitifoliae* (Fitch, 1855)), no presente en Canarias; motivo por el que la viña se cultiva a pie franco.

Las variedades que ocupan mayor superficie cultivada en el Valle de La Orotava son Listán Negro y Listán Blanco, junto a otras variedades minoritarias como Negramoll, Baboso Negro, Vijariego Negro, Castellana o, en el caso de variedades blancas, Vijariego Blanco, Marmajuelo, Albillo Criollo o Pedro Ximénez. Además, estas variedades se reparten de manera distinta según el municipio, siendo las variedades tintas mayoritarias en La Orotava,

mientras que en el municipio de Los Realejos se cultiva principalmente Listán Blanco (Hontorio y col., 1998).

Listán Negro y Listán Blanco son variedades productivas, adaptadas a las condiciones agronómicas de la zona y menos sensibles a plagas y enfermedades que otras variedades. Las variedades minoritarias se emplean para la elaboración de vinos monovarietales o como mejorantes. En Canarias no existen viveros que produzcan o comercialicen estas variedades de planta de viña para su cultivo ni está autorizada la importación de planta del exterior, por lo que su obtención queda en manos de los agricultores o técnicos.

El microclima del Valle de La Orotava se caracteriza por la exposición a los vientos alisios, generados por el anticiclón de las Azores. En esta zona norte de la isla, la humedad queda retenida por el relieve a una altitud aproximada de 600 m.s.n.m.; aunque estos vientos no aporten lluvias, ejercen un efecto regulador de las temperaturas y limitan la insolación, principalmente en verano. La pluviometría media de la zona oscila entre 400 y 700 l/ m²/ año, de ahí que la viña sea viable en secano. Además, el régimen térmico está condicionado por la altitud, al encontrarse la viña en laderas de elevada pendiente, lo que obliga a realizar vendimias escalonadas en distintas fechas incluso dentro de la misma explotación en algunos casos.

El sistema de conducción mayoritario es el cordón trenzado, a modo de rastra a una altura de 50 cm sobre el nivel del suelo, apoyado tradicionalmente en horquetas de madera o actualmente de hierro corrugado (figura 4) (Gea Fernández, 2010). Existen fincas reconvertidas a espaldera a finales del siglo pasado, en su mayoría fincas de mayores dimensiones. Además, la viña se puede encontrar ocasionalmente en parral bajo, en el que reposa sobre un soporte horizontal situada generalmente a un metro de altura. Las labores habituales del cultivo empiezan a finales de enero y febrero con la poda de invierno. En algunos casos se realiza una prepoda o limpieza para seleccionar ya las varas que serán podadas. Posteriormente se rehace el cordón mediante el atado de las varas que se dejaron en la poda. Antiguamente se aprovecha-



Figura 4. Sistemas de conducción de la viña en el Valle de La Orotava. A y B, cordón trenzado; C, parral bajo; y D, espaldera.

ba el terreno para sembrar las papas debajo de la viña, práctica cada vez más en desuso. En primavera se realizan las operaciones de poda en verde, tales como despampanado, despunte o desnietado. Para exponer adecuadamente los racimos a la luz y al aire se realizan las labores de remangado, con el que se rehace el cordón; deshojado; y, en algunas ocasiones, se recurre a la supresión de racimos. La vendimia tiene lugar desde finales de agosto a octubre y se realiza a mano.

1.2.- Enfermedades de la madera de la viña (EMV)

Las enfermedades fúngicas de la madera de la viña (EMV) son uno de los retos más importantes que actualmente afronta la vi-

ticultura en todo el mundo. 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 y col., 2016). Los principales motivos por los que en la actualidad se consideran una grave amenaza para el cultivo son: la gran diversidad de enfermedades y hongos patógenos asociados a las mismas, la presencia de infecciones conjuntas en las plantas y la dificultad de relacionarlas de forma clara con la expresión de los síntomas externos, el conocimiento todavía escaso sobre su epidemiología y la escasa disponibilidad de estrategias de control eficaces (Gramaje y col., 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 y col., 2016). Según estimaciones recientes, el coste anual de replantar el 1% de viña del cultivar Tempranillo en La Rioja debido a las EMV asciende a 7,16 millones de euros anuales (Martínez-Diz y col., 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). Los hongos que provocan las EMV causan síntomas como: la alteración interna de la madera de la planta por necrosis y/o por pudrición seca, una reducción del desarrollo y del vigor, presencia de brotaciones raquílicas, ausencia o retraso de la brotación, hojas pequeñas, acortamiento de entrenudos, clorosis y/o marchitez en las hojas, y un decaimiento general que puede acabar con la muerte de la planta (Luque y col., 2014). Además, es frecuente detectar la presencia de dos, tres, o más especies fúngicas simultáneamente. Esto afecta a la expresión de los síntomas externos en las plantas, que pueden aparecer tiempo después de que las infecciones se hayan producido y ser muy variables, sin encajar de manera clara en los característicos para una enfermedad concreta (tabla 1) (Armengol, 2017). Las EMV se pueden agrupar en enfermedades que afectan a las plantas de vivero y pocos años después de la plantación (enfermedad de Petri, pie negro y los decaimientos por *Botryosphaeria* y *Diaporthe*) y enfermedades de plantas adultas,

que suelen aparecer más tarde en el viñedo ya establecido (yesca, eutipiosis y los decaimientos por *Botryosphaeriaceae* y *Diaporthe*) (figura 5) (Armengol, 2017; Gramaje y col., 2020).

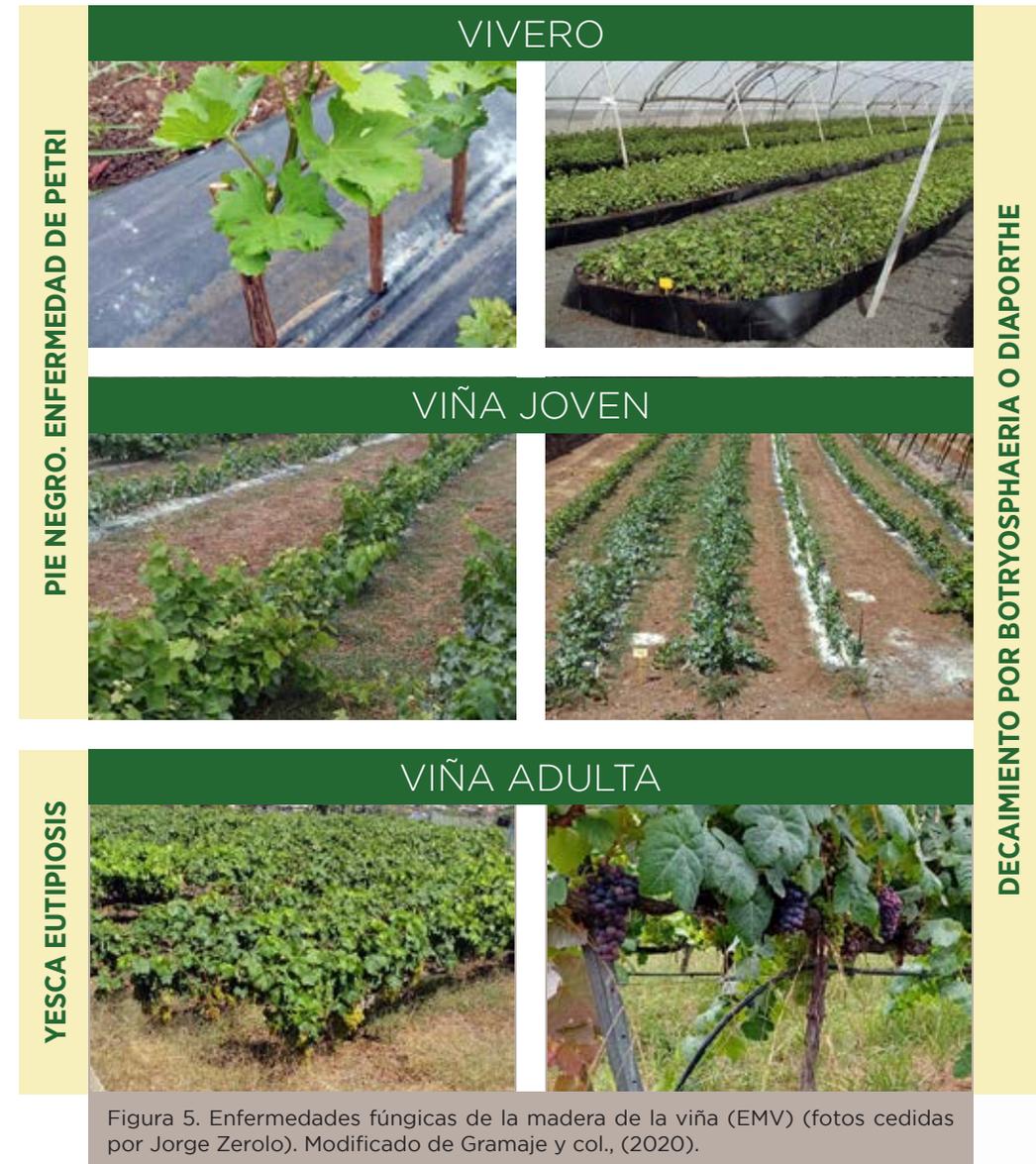


Figura 5. Enfermedades fúngicas de la madera de la viña (EMV) (fotos cedidas por Jorge Zerolo). Modificado de Gramaje y col., (2020).

Tabla 1. Enfermedades de la madera de la viña y organismos nocivos que las causan en España

Enfermedades	Organismos nocivos
Enfermedad de Petri/Yesca	<i>Phaeoconiella chlamydospora</i> , <i>Phaeoacremonium</i> spp., <i>Cadophora luteo-olivacea</i> , <i>Cadophora viticola</i> , <i>Fomitiporia mediterranea</i> , <i>Pleurostoma richardsiae</i> , <i>Stereum hirsutum</i>
Pie negro	<i>Campylocarpon fasciculare</i> , <i>Cylindrocladiella parva</i> , <i>Cylindrocladiella peruviana</i> , <i>Dactylonectria</i> spp., <i>Ilyonectria</i> spp., <i>Neonectria</i> spp., <i>Thelonectria olida</i>
Decaimiento por Botryosphaeria	<i>Botryosphaeria dothidea</i> , <i>Diplodia</i> spp., <i>Neofusicoccum</i> spp., <i>Dothiorella iberica</i> , <i>Dothiorella sarmentorum</i> , <i>Lasiodiplodia theobromae</i> , <i>Spenceriartinsia viticola</i>
Decaimiento por Diaporthe Excoriosis	<i>Diaporthe</i> spp.
Eutipiosis	<i>Anthostoma decipiens</i> , <i>Crytovalsa ampelina</i> , <i>Eutypa lata</i> , <i>Eutypa leptoplaca</i> , <i>Eutypella</i> spp., <i>Fomitiporia punctata</i>

Modificado de Gramaje y col., 2020

Actualmente no existen tratamientos químicos que sean eficaces para combatir los hongos de la madera en la viña. El uso de arsenito sódico, un producto muy eficaz para el control de las EMV en viñas adultas, está prohibido en la UE desde 2003. También se prohibieron otros fungicidas utilizados en el tratamiento de EMV en viveros como los bencimidazoles, carbendazima y benomilo. Por lo tanto, hoy en día, el control de las EMV se basa en la aplicación de medidas y tratamientos preventivos.

Como resultado de la falta de tratamientos curativos eficaces, se ha producido un aumento en la incidencia de EMV en España y otras regiones vitivinícolas a nivel mundial. En Canarias se viene detectando este problema desde hace años, y en particular en viñedos de la vertiente norte de la isla de Tenerife. La preocupación de agricultores y técnicos por el aumento de este tipo de enfermedades en la viña queda recogida en varios documentos técnicos, elaborados por el Servicio Técnico de Agricultura del Cabildo de Tenerife (Palmero, 2017; Rodríguez de Acuña y Perera, 2020; Rodríguez de Acuña y col., 2024). Sin embargo, no se ha realizado ningún estudio para identificar de forma sistemática los patóge-

nos implicados. La única información disponible es la recogida en estos mismos informes y en los resúmenes de resultados de los análisis realizados en los Laboratorios de Diagnóstico (Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Dirección General de Agricultura del Gobierno de Canarias, Laboratorio de Fitopatología de la Granja Agrícola Experimental del Cabildo de Gran Canaria, Laboratorio de Fitopatología del Servicio Agrícola de la Caja Insular de Ahorros de Gran Canaria y el Departamento de Protección Vegetal del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias) (Gallo-Llobet y col., 1984; Espino de Paz y col., 2013). Además, se realizó un estudio en Lanzarote sobre 15 muestras recogidas en diferentes viñedos que mostraban síntomas externos característicos de enfermedades de la madera (Pérez y col., 2020).

Por lo tanto, era necesaria la identificación de las EMV presentes en los cultivos de viña del Valle de La Orotava y los patógenos que las producen para poder tomar medidas preventivas y de control adecuadas, y evitar su propagación a otros cultivos cercanos.

Los objetivos de este estudio fueron:

- Identificación en campo de los síntomas asociados a las EMV y determinación de su prevalencia en las parcelas objeto de estudio.
- Identificación de los aislados fúngicos asociados a las EMV.
- Establecimiento de un protocolo de muestreo para futuras prospecciones en otras comarcas e islas, con una propuesta de valoración al azar.

2.- MATERIALES Y MÉTODOS

2.1.- Selección de parcelas con síntomas

Se seleccionaron 15 parcelas con una elevada incidencia de EMV en un muestreo dirigido siguiendo las indicaciones del personal técnico del Consejo Regulador de la Denominación de Origen Valle de La Orotava y de la Agencia de Extensión Agraria de La Orotava del Cabildo Insular de Tenerife. Los datos de las fincas seleccionadas se detallan en la tabla 2 y en la figura 6.

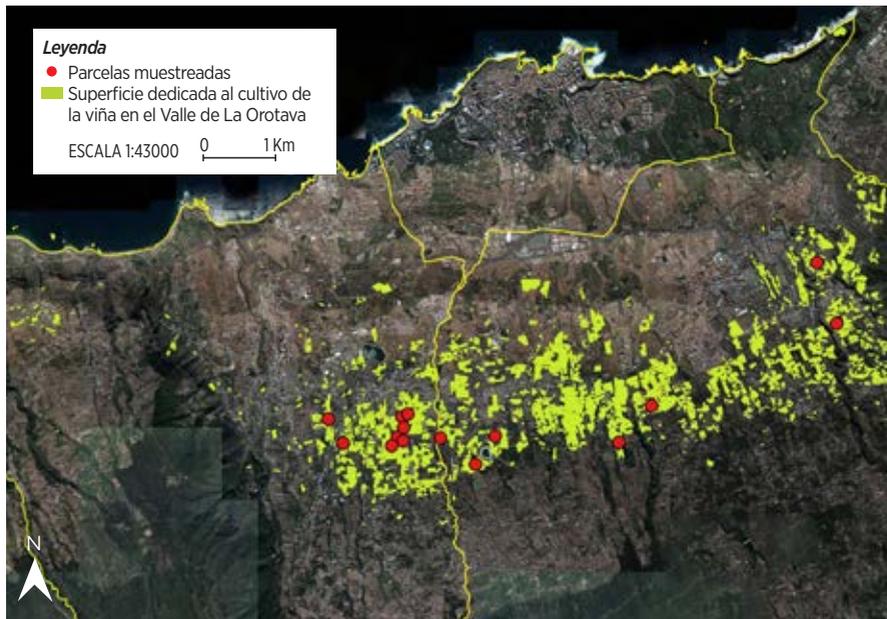


Figura 6. Distribución de las parcelas de viña prospectadas en el Valle de La Orotava en el norte de Tenerife.

Tabla 2. Parcelas seleccionadas para el muestreo dirigido a cultivos de viña con síntomas

Parcela	Municipio	Superficie (m ²)	Altitud media (m.s.n.m.)	Pendiente media (°)	Inicio del cultivo (año) ¹
1	Los Realejos	6.093	532	15,8	1972
2	Los Realejos	5.028	570/616	27/36	<1960
3	Los Realejos	1.532	521	21	1950
4	Los Realejos	1.264	528	12,6	1970
5	Los Realejos	5.602	549	23,6	<1970
6	La Orotava	8.679	503	10,9	1940
7	La Orotava	15.321	540	15,4	1970
8	La Orotava	20.944	503	17,8	1960
9	Los Realejos	4.624	390	20	1972

Parcela	Municipio	Superficie (m ²)	Altitud media (m.s.n.m.)	Pendiente media (°)	Inicio del cultivo (año) ¹
10	La Orotava	38.892	496	13,10	2003
11	La Orotava	11.046	561	16,2	<1940
12	La Orotava	16.231	625	31	2003
13	La Orotava	3.719	530	21,7	1980
14	La Orotava	1.696	552	22,6	1998
15	Los Realejos	6.482	512	33,5	<1970

¹ Las parcelas en las que se indica “menor que” (<) antes de la fecha están inscritas en el registro vitícola con fecha de 1900, por lo que podrían haber iniciado el cultivo de la viña antes del siglo pasado.

2.2.- Evaluación de síntomas y grado de ataque

Para la determinación del índice de intensidad de enfermedad (IIE) y el nivel de afección de los síntomas se tomaron aproximadamente el 10 % de las plantas de cada parcela en el caso de sistema de conducción en cordón trenzado y el 5 % de las plantas en el caso de espaldera y parral bajo. Cuando las parcelas inspeccionadas tenían una superficie inferior a 5.000 m², se valoraron 50 plantas. Una vez establecido el número de plantas a evaluar en función del total de plantas de la parcela, se estableció un intervalo regular de plantas (número de plantas) en el recorrido a realizar por todas las líneas de cultivo, valorándose la planta correspondiente al final de cada intervalo. Este procedimiento permitió realizar una prospección regular de la parcela en toda su superficie.

Para la determinación del IIE, cada planta seleccionada fue valorada de forma general según una escala visual de síntomas de 0 a 10 en función de la gravedad de los daños (correspondiendo un 0 a una planta sana y 10 a una planta totalmente afectada). Además, se establecieron tres tipos de síntomas de acuerdo con los descritos en la bibliografía asociados a las EMV: A, decoloraciones y necrosis internerviales en las hojas (amarillentas en las variedades blancas y rojizas en las tintas); B, decaimiento y desecación (brotes raquíticos y débiles, con entrenudos cortos, hojas

pequeñas, cloróticas y deformadas); y C, necrosis en sarmientos, peciolo de hojas o pedúnculos de racimos. Se aplicó un valor de 1 a 3 (bajo, medio y alto) según el nivel de afección para cada una de ellas. Los tipos de síntomas A, B, C, y excoriosis se muestran en las figuras 7, 8, 9 y 10, respectivamente. En el Anexo I se detalla la plantilla empleada para registrar los síntomas.

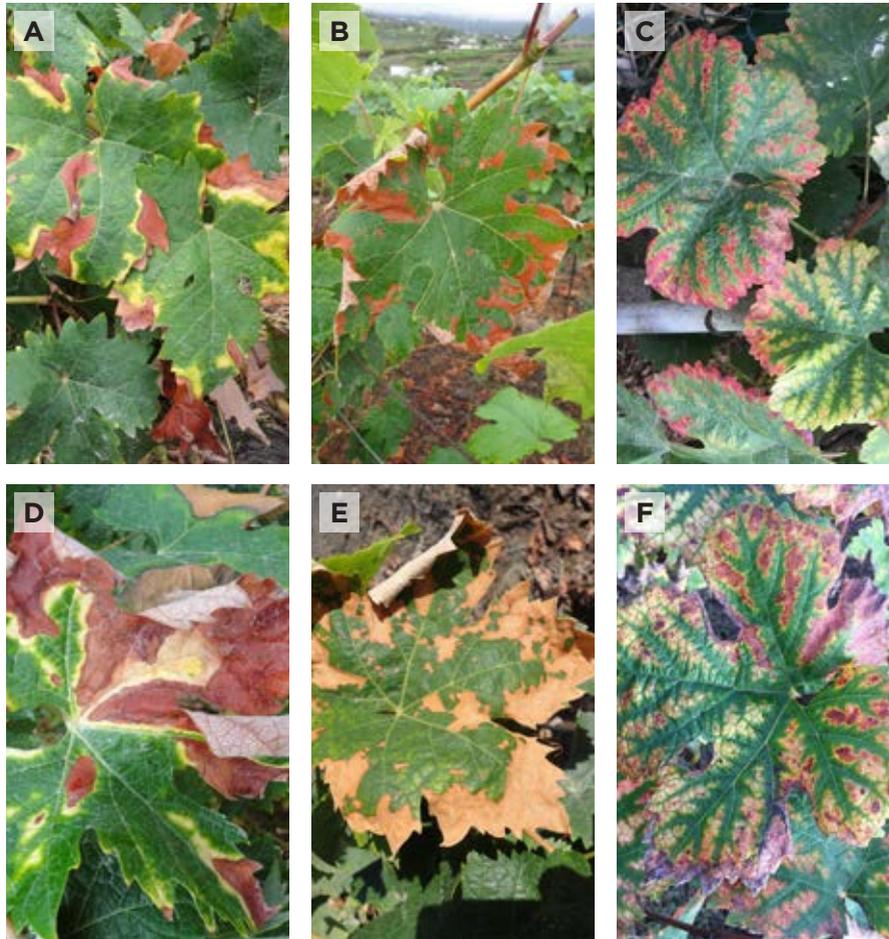


Figura 7. Síntomas tipo A (decoloraciones y necrosis internerviales en las hojas, amarillentas en las variedades blancas y rojizas en las tintas). A y D, necrosis en bordes de hoja con franjas amarillentas; B y E, secas en el borde de las hojas; C y F, síntoma de hoja de tigre.



Figura 8. Síntomas tipo B. Plantas con decaimiento y desecación.



Figura 9. Síntomas tipo C. A y B, necrosis en sarmientos; C, necrosis en peciolo de hoja; y D, necrosis en pedúnculo de racimo.

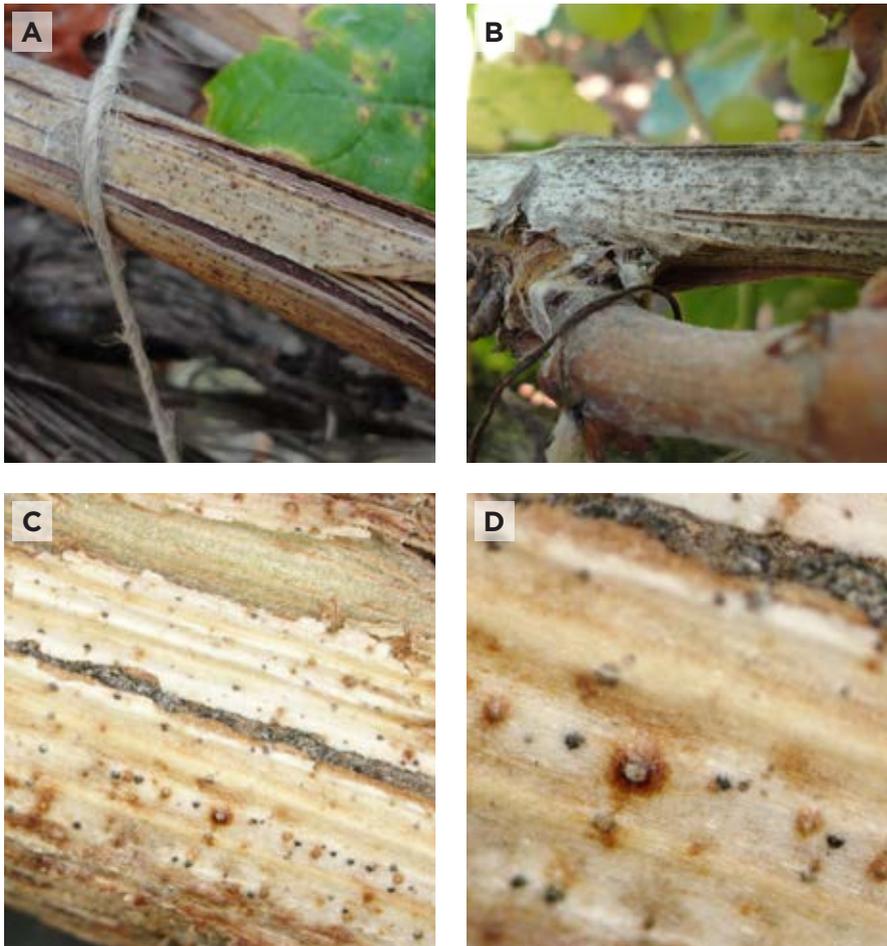


Figura 10. Síntomas de excoriosis. A, agrietado; B, plateado acompañado de puntos negros; C y D, detalle de los síntomas a la lupa.

Se utilizó el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 29 para el estudio estadístico de los valores del IIE. En el caso del análisis entre localidades (La Orotava y Los Realejos) y entre variedades (Listán Blanco y Listán Negro) se empleó la prueba no paramétrica de U-Mann Whitney indicada para comparar 2 grupos de muestras independientes que no cumplen la normalidad. La prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis, indicada para com-

parar más de 3 grupos de muestras independientes cuya variable no cumple la normalidad, se utilizó para el análisis entre los métodos de conducción (trenzado, espaldera y mixto).

2.3.- Muestreo de plantas con síntomas

Para el muestreo de plantas con síntomas asociados a EMV se marcaron hasta tres cepas en cada una de las 15 fincas estudiadas. Estas plantas fueron seleccionadas en las zonas de las parcelas con una mayor incidencia y expresión de síntomas de enfermedad. Cada una de las plantas seleccionadas fueron georeferenciadas y codificadas, registrándose los datos de la muestra en una plantilla (Anexo II). Se tomó material vegetal con síntomas procedente de hojas, madera del año y madera del año anterior de plantas adultas, flameando el material de corte con alcohol para su desinfección (figura 11). Entre las muestras recogidas no se encontró material joven o de reciente plantación. Las muestras se llevaron en bolsas plásticas con su respectiva identificación a la Unidad de Protección Vegetal del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias y al Laboratorio de Sanidad Vegetal de la Dirección General de Agricultura del Gobierno de Canarias.





Figura 11. Recogida de muestras en campo. A, material de campo para la recogida de muestras; B, material usado para la desinfección (soplete y etanol); C, selección de porciones de viña con síntomas; D, embolsado y etiquetado de la muestra.

2.4.- Preparación de las muestras, aislamiento de hongos e identificación de aislados

Las muestras se analizaron inmediatamente o se conservaron en nevera a 5 °C hasta su procesado. Se seleccionaron porciones de material vegetal con síntomas de cada una de las muestras para su análisis y se fotografiaron los síntomas internos y externos con una cámara Sony Cyber-shot DSC-H9 o Nikon Coolpix B500 en un soporte de sobremesa de la marca Hama. Las porciones de material vegetal se lavaron con agua y se cortaron en fragmentos de unos 5 cm, adecuados para su desinfección. Los sarmientos utilizados para los análisis de síntomas internos se pelaron antes de la desinfección. El protocolo de desinfección consistió en la inmersión de los fragmentos durante 1 min en lejía apta para el tratamiento de agua de consumo (30 g de cloro activo por litro) diluida 1:10. A continuación, los fragmentos se dejaron escurrir unos segundos, se sumergieron en etanol al 70 % durante 1 min y se lavaron introduciéndolos de manera

sucesiva en dos recipientes de agua destilada estéril (1 min en cada recipiente). Por último, se dejaron secar en papel de filtro estéril en una cabina de flujo laminar durante 30 min. De los fragmentos ya desinfectados, se retiraron porciones de interés de la zona de avance de las lesiones que se sembraron en placas de Petri de 9 cm con 20 ml de medio de cultivo papa dextrosa agar con estreptomicina (PDAS: 39 g/l de PDA (CONDALAB, Cat. 1022, Madrid) y se añadieron 300 mg/l de estreptomicina (Sigma-Aldrich, S9137)). Las placas de medio de cultivo con las siembras se incubaron a 25 °C en la oscuridad (Sanyo MIR 253). Se observó el crecimiento de hongos a los 3 y 7 días, que se purificaron tomando puntas de hifas de las zonas de avance de las colonias y se resembraron en PDA. Los aislados, una vez purificados convenientemente, se conservaron introduciendo 6 cilindros de 0,5 cm de diámetro de medio de cultivo con el hongo en glicerol al 25 % y se mantuvieron en un congelador a -80 °C. Los aislados se examinaron para determinar el color de la colonia y el patrón de crecimiento a simple vista en placas PDA. La morfología del micelio y de las estructuras reproductivas se estudió a la lupa binocular y al microscopio (Nikon SMZ25 y Nikon Eclipse 50i, respectivamente). Los aislados se agruparon según sus características morfológicas con el fin de obtener una primera identificación tentativa a nivel de género. Con base a esta caracterización preliminar, se seleccionaron aislados representativos de las parcelas prospectadas y de las potenciales especies identificadas, en especial de la familia Botryosphaeriaceae, para la identificación molecular. Se cultivaron aislados de hongos en placas de PDA durante 7 días a 25 °C y se rasparon superficialmente unos 20 mm² de micelio con un bisturí estéril. El micelio recuperado se trituró en un tubo Eppendorf con un micropistilo y el ADN se extrajo con el kit de purificación de ADN EZNA (Omega BIO-TEK, Norcross, GA, EE. UU.) o utilizando una modificación del método de extracción rápida HotSHOT de Truett y col. (2000) como se describe en Collado-Romero y col. (2006). Los extractos de ADN genómico se almacenaron a -20 °C hasta su uso.

La identificación molecular de las especies se llevó a cabo en el Servicio de Genómica del Servicio General de Apoyo a la Investigación de la Universidad de La Laguna (SG-SEGAI), mediante amplificación por PCR y secuenciación de la región ITS1-5.8S-ITS2 (ITS1-2) del ADN ribosómico. Además, para las especies de la familia Botryosphaeriaceae se analizaron regiones correspondientes al factor de elongación 1 *alfa* (*tef1*), beta tubulina (*tub2*) y de la región de la segunda subunidad mayor de la RNA polimerasa II (*rpb2*). Las secuencias de ADN se inspeccionaron y editaron manualmente utilizando la aplicación MEGA (Tamura y col., 2021). A continuación, se realizó una búsqueda de las secuencias en la base de datos de nucleótidos NCBI GenBank (nr/nt) utilizando la aplicación BLAST para su identificación (Altschul y col., 1990; Sayers y col., 2022).

2.5.- Propuesta de valoración al azar

La valoración al azar en la comarca de la D.O. Valle de La Orotava tenía por objetivo determinar la incidencia de las enfermedades fúngicas de madera de viña (porcentaje de fincas afectadas) y el grado de afección de las parcelas (grado de ataque de la enfermedad de cada parcela). Dicha valoración no se realizó en este trabajo, pero sí se establecieron las bases para hacerlo en ésta o en otras comarcas vitícolas. Se realizó el estudio aleatorio para la elección de las parcelas a valorar aplicando cuadrículas de 250×250 m² y 500×500 m².

3.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1.- Evaluación de síntomas y grado de ataque

Para la determinación del índice de intensidad de enfermedad (IIE) como escala visual de síntomas y la evaluación de los niveles de afección para los síntomas asociados (A, B y C), se observaron un total de 1.299 plantas en las 15 fincas seleccionadas, y los resultados obtenidos se detallan en la tabla 3. La práctica totalidad de las plantas mostraron síntomas de enfermedad (99,8 %), salvo dos plantas de dos parcelas distintas (parcelas 6 y 8).

En cuanto al IIE, con una escala de 0 a 10, no se superó el valor de 3,5 de media en ninguna de las fincas muestreadas, registrándose el nivel más bajo en una finca de Los Realejos con un valor de 1,4 y 3,5 como más alto en dos fincas, una en cada municipio (fincas 9 y 13). La media de las 15 fincas fue del 2,7. No se encontraron diferencias significativas de dicho índice entre las fincas localizadas en La Orotava y las situadas en el municipio de Los Realejos, ni entre las fincas cultivadas con la variedad Listán Blanco y las de Listán Negro. En cambio, si se obtuvieron diferencias significativas entre las fincas con cordón trenzado y espaldera, registrando una media de 2,3 para las fincas en espaldera y de 2,9 para las fincas con cordón trenzado.

El síntoma que se registró con mayor frecuencia fue el de blanqueamiento de la corteza de los sarmientos con puntos negros (picnidios) y grietas longitudinales, asociado a la excoriosis, que se presentó en el 100 % de las plantas evaluadas. El segundo síntoma que se observó con más frecuencia fue el de decoloraciones y necrosis internerviales en hoja en un 98,2 % de las plantas evaluadas (síntomas tipo A), seguido de la necrosis en sarmientos, peciolo de hoja o pedúnculo de racimos (síntomas tipo C) en un 91,8 % y, por último, del decaimiento y desecación en un 73,4 % (síntomas tipo B). Los síntomas asociados a la excoriosis suelen atribuirse al hongo *Phomopsis viticola* Sacc. (actualmente *Diaporthe neoviticola* (Saccardo) Udayanga, Crous & K.D. Hyde), aunque en nuestro trabajo se obtuvieron escasas detecciones de hongos de este género en las muestras recogidas. Consecuentemente, la presencia de picnidios en la práctica totalidad de las plantas prospectadas debe atribuirse a las especies de hongos detectadas como *Neofusicoccum parvum* o *Diplodia seriata*. *Neofusicoccum parvum* puede ser responsable en algunos países de los síntomas de excoriosis (Ephytia (INRAE), 2021). Con respecto a los niveles de afección para cada uno de los síntomas de EMV (tipos A, B y C) en una escala de 1 a 3, los valores más altos se obtuvieron para el síntoma de decoloración y necrosis internervial en las hojas (síntomas tipo A) con una media en el total de las fincas de 2,0, registrándose un máximo de 2,7 y un

Tabla 3.- Número de plantas evaluadas y medias de los valores del índice de intensidad de enfermedad (IIE de 0-10) y del nivel de afección (0-3) de cada tipo de síntoma por finca

Cod. Parcela	Municipio	Superficie (m ²)	Variedad	Tipo de conducción	Número de plantas evaluadas	Índice de intensidad de enfermedad ¹ (IIE) ± SD	Nivel de afección de cada tipo de síntomas ²			
							A	B	C	Excoriosis
1	Los Realejos	6.093	Listán Blanco	Cordón trenzado y espaldera	77	2,2 ± 1,2 (100,0)	1,6 (100,0)	1,2 (87,0)	1,4 (96,1)	100,0 (100,0)
2	Los Realejos	5.028	Listán Blanco	Cordón trenzado y cordón trenzado convertido a espaldera	53	3,1 ± 1,4 (100,0)	2,2 (100,0)	1,3 (92,5)	1,6 (98,1)	100,0 (100,0)
3	Los Realejos	1.532	Listán Blanco	Cordón trenzado	50	2,6 ± 1,1 (100,0)	2,2 (100,0)	0,2 (22,0)	1,2 (100,0)	100,0 (100,0)
4	Los Realejos	1.264	Listán Blanco	Cordón trenzado	50	1,4 ± 0,7 (100,0)	1,1 (100,0)	1,1 (88,0)	1,0 (98,0)	100,0 (100,0)
5	Los Realejos	5.602	Listán Blanco	Cordón trenzado	50	2,8 ± 1,3 (100,0)	1,8 (100,0)	0,9 (78,0)	1,5 (100,0)	100,0 (100,0)
6	La Orotava	8.679	Listán Blanco	Cordón trenzado	112	3,3 ± 2,0 (99,1)	1,6 (92,9)	1,1 (53,6)	1,9 (97,3)	100,0 (100,0)
7	La Orotava	15.321	Listán Blanco	Cordón trenzado	90	3,4 ± 1,1 (100,0)	2,7 (100,0)	1,4 (95,6)	1,4 (97,8)	100,0 (100,0)
8	La Orotava	20.944	Listán Negro	Cordón trenzado y espaldera	190	2,0 ± 1,4 (99,5)	1,4 (92,1)	0,9 (72,6)	0,9 (89,5)	100,0 (100,0)
9	Los Realejos	4.624	Listán Blanco	Cordón trenzado	50	3,5 ± 2,0 (100,0)	1,9 (100,0)	1,4 (88,0)	1,7 (84,0)	100,0 (100,0)
10	La Orotava	38.892	Listán Negro	Cordón trenzado y espaldera	91	2,5 ± 1,3 (100,0)	2,3 (100,0)	1,3 (86,8)	1,1 (96,7)	100,0 (100,0)
11	La Orotava	11.046	Listán Negro	Cordón trenzado	67	2,9 ± 1,2 (100,0)	2,7 (100,0)	1,1 (89,6)	1,2 (89,6)	100,0 (100,0)
12	La Orotava	16.231	Listán Negro	Espaldera	253	2,3 ± 0,7 (100,0)	2,1 (100,0)	0,8 (61,3)	0,9 (90,5)	100,0 (100,0)
13	La Orotava	3.719	Listán Blanco	Cordón trenzado	54	3,5 ± 1,8 (100,0)	1,8 (100,0)	1,8 (88,9)	0,9 (88,9)	100,0 (100,0)
14	La Orotava	1.696	Listán Negro	Cordón trenzado	50	2,3 ± 0,7 (100,0)	1,9 (100,0)	0,5 (38,0)	0,8 (80,0)	100,0 (100,0)
15	Los Realejos	6.482	Listán Negro	Cordón trenzado, espaldera y parral bajo	62	2,9 ± 1,5 (100,0)	2,2 (100,0)	1,2 (67,7)	1,2 (71,0)	100,0 (100,0)
					1299	2,7	2,0	1,1	1,3	100

¹Entre paréntesis se detalla el porcentaje de plantas con síntomas asociados a EMV (A, B y C).

²Los tipos de síntomas se ilustran en las figuras 7, 8 y 9: A, decoloraciones y necrosis internerviales en las hojas (amarillentas en las variedades blancas y rojizas en las tintas); B, decaimiento y

deseccación (brotes raquíuticos y débiles, con entrenudos cortos, hojas pequeñas, cloróticas y deformadas); y C, Necrosis en sarmientos, peciolo de hojas o pedúnculos de racimos. Entre paréntesis se detalla el porcentaje de plantas con cada tipo de síntomas por finca.

Tabla 4. Distribución de los tipos de síntomas observados en las muestras durante su análisis en el laboratorio

Parcela Muestra	Tejido rojizo en sarmiento	Necrosis en peciolo	Necrosis en hoja	Necrosis externa	Necrosis interna con grietas superficiales	Necrosis de la médula	Necrosis sectorial	Punteaduras necróticas
01.01							x	x
01.02						x		
02.01				x			x	
02.02	x	x	x	x		x	x	x
02.03				x		x		x
03.01		x	x	x	x	x	x	x
03.02	x	x	x	x	x		x	x
03.03	x	x	x	x		x	x	x
04.02		x	x			x	x	x
04.03		x	x	x	x	x	x	x
05.01				x			x	
06.01	x				x	x	x	x
06.02			x		x	x	x	x
06.03					x	x	x	
07.01	x			x		x		
08.01	x	x	x	x		x	x	x
08.02	x	x	x	x	x	x	x	x
08.03	x	x	x	x		x	x	x
09.01	x	x	x	x	x	x	x	x
09.02	x	x	x	x	x	x	x	x
09.03	x	x	x	x	x	x	x	x
10.01				x			x	x
10.02	x	x	x	x			x	x
10.03				x		x	x	x

11.01	x	x	x	x			x	x	x
11.02	x	x	x	x			x	x	x
11.03	x	x	x	x	x		x	x	x
12.01	x							x	
12.02				x				x	x
12.03	x	x	x	x			x	x	x
13.01	x	x	x	x			x	x	x
13.02	x	x			x		x	x	x
13.03	x	x	x	x			x	x	x
14.01	x	x	x	x			x	x	x
14.02	x	x	x	x			x	x	x
14.03	x	x	x	x			x	x	x
15.01	x	x	x	x	x		x	x	x
15.02	x	x	x	x	x		x	x	x
15.03	x	x	x	x	x		x	x	x
Nº de muestras (%)	26 (67 %)	26 (67 %)	27 (69 %)	31 (79 %)	14 (36 %)	32 (82 %)	36 (92 %)	33 (85 %)	
Nº de parcelas (%)	12 (80 %)	11 (73 %)	12 (80 %)	13 (87 %)	7 (47 %)	14 (93 %)	14 (93 %)	13 (87 %)	

mínimo de 1,1. Este síntoma se observó en el 100 % de las plantas muestreadas en 13 de las 15 fincas.

Las necrosis en sarmientos, peciolo de hojas o pedúnculos de racimos (síntomas tipo C) se observaron también en el total de las fincas evaluadas. Los porcentajes de plantas con estos síntomas superaron el 70 % en todas las fincas, alcanzando el 100 % en 2 de las 15 fincas. Los niveles de afección oscilaron entre 0,8 y 1,9, con una media en el total de las fincas de 1,3.

El decaimiento y desecación con brotes raquíuticos y débiles, con entrenudos cortos y hojas pequeñas, cloróticas y deformadas

(síntomas tipo B) dieron una media de 1,1 para las 15 fincas, con valores que iban desde el 0,2 al 1,8. Este síntoma se observó en todas las fincas y en 12 de ellas en más del 60 % de las plantas.

3.2.- Preparación de las muestras, aislamiento de hongos e identificación de aislados

De las 39 muestras recogidas en las 15 parcelas se obtuvieron 693 porciones de tejido afectado para su siembra en medio de cultivo con los síntomas indicados en la tabla 4 y anexo III. Los síntomas encontrados en las muestras y analizados fueron: necrosis sectoriales (92 %), punteaduras necróticas (85 %), necrosis de la médula (82 %) necrosis externas (79 %), necrosis en hojas (69 %), tejidos rojizo en sarmiento (67 %), necrosis en peciolo (67 %) y, por último, las necrosis internas con grietas superficiales (36 %). Se tomaron también algunas porciones para las siembras de otro tipo de material como estructuras fúngicas (signos): micelio, cirros o picnidios en algunas muestras de algunas parcelas (ver anexo 3). Las figuras 12, 13, 14 y 15 muestran fotografías obtenidas en el laboratorio de ejemplos de este tipo de síntomas y signos. Se obtuvo crecimiento fúngico en 545 de las 693 siembras realizadas (78,7 %) en medio de cultivo PDAS. La mayor parte del crecimiento fúngico obtenido en los puntos de siembra fue morfológicamente uniforme. Se obtuvieron y purificaron un total de 465 aislados que se separaron en función de sus características morfológicas, seleccionándose 204 para su identificación mediante técnicas moleculares.

La tabla 5 muestra las especies de hongos identificadas mediante técnicas moleculares distribuidas entre los distintos síntomas o signos. Los hongos pertenecientes a la familia Botryosphaeriaceae (125 aislados; 61,3 %), fueron los más frecuentemente identificados entre los 204 aislados seleccionados, siendo *Neofusicoccum parvum* el más abundante entre ellos (90 aislados, 44,6 %). Las restantes especies de esta familia identificadas fueron: *Neofusicoccum luteum* (14 aislados; 6,9 %), *Diplodia seriata* (13 aislados; 6,4 %), *Neofusicoccum stellenboschiana* (5 aislados; 2,5 %) y *Neofusicoccum australe* (3 aislados; 1,5 %). Se identifica-



Figura 12. Muestras analizadas en laboratorio. A y B, hojas; C, necrosis en peciolo; D, enrojecimiento en sarmiento; E y F, necrosis en sarmientos.

ron, además, tres especies de *Diaporthe* (3 aislados; 1,5 %), que suelen asociarse a excoriosis o decaimiento de la viña (figura 16). También se identificaron aislados del género *Alternaria* (29 aislados; 14,2 %) y de otras especies de hongos (47 aislados; 23,0 %) en muchas muestras (tabla 7), que tienen probablemente muy poca relevancia como agentes etiológicos de los daños observados, salvo algunas especies descritas también como patógenos de la viña, detectados de forma aislada y ocasional.

Tabla 5. Número de aislados identificados en los distintos síntomas y signos

Especies ¹	Síntomas y signos											Total
	Picnidios de excoresis	Cirro	Micelio	Tejido rojizo en sarmiento	Necrosis en peciolo	Necrosis en hoja	Necrosis externa	Necrosis interna con grietas superficiales	Necrosis médula	Necrosis sectorial	Punteaduras necróticas	
<i>Neofusicoccum parvum</i>	1	2	6	5	2	3	10	4	13	30	15	90
<i>N. luteum</i>					1	1	2		4	4	2	14
<i>Diplodia seriata</i>	2			1		1	2		1	6		13
<i>N. stellenboschiana</i>				1			1			3		5
<i>N. australe</i>								1		1	1	3
<i>Diaporthe ambigua</i>						1						1
<i>Diaporthe foeniculina</i>										1		1
<i>Diaporthe sp.</i>									1			1
<i>Alternaria alternata</i>	1			1	2	1	3		2	1	1	12
<i>Alternaria destruens</i>								1				1
<i>Alternaria sp.</i>				2	3	2	2	1		2	4	16
<i>Acremonium sclerotigenum</i>									1		3	4
<i>Aspergillus tabacinus</i>					1							1
<i>Aureobasidium pullulans</i>											1	1
<i>Botrytis cinerea</i>						3						3
<i>Botrytis fabae</i>						1						1
<i>Clonostachys rosea</i>							1	3	2	3	4	13
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>							1					1
<i>Didymosphaeria variabile</i>									1			1
<i>Fusarium oxysporum</i>										1		1
<i>Fusarium sp.</i>								1				1
<i>Nectria sp.</i>									1		1	2
<i>Paraconiothyrium brasiliense</i>									1		3	4
<i>Pestalotiopsis sp.</i>									1		1	2
<i>Pleosporales sp.</i>											6	6
<i>Sarocladium strictum</i>											3	3
<i>Stemphylium vesicarium</i>						1						1
<i>Stemphylium sp.</i>							1			1		2
Total	4	2	6	10	9	16	22	11	27	53	44	204
Porcentaje	2,0	1,0	2,9	4,9	4,4	7,8	10,8	5,4	13,2	26,0	21,6	100

¹ Las especies o géneros en negrita y sobre la línea discontinua son los asociados principalmente a decaimiento de la viña y excoresis

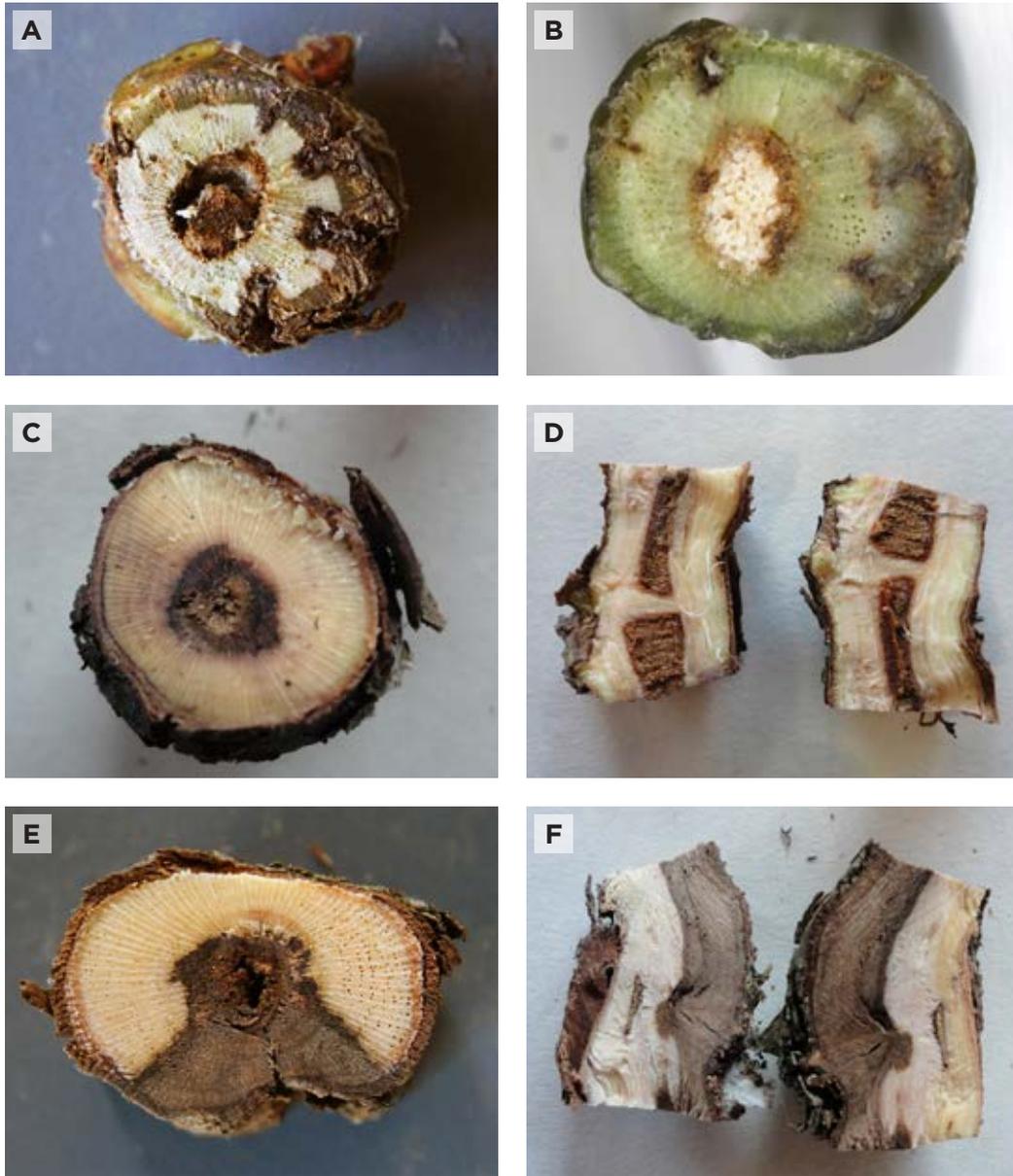


Figura 13. Muestras analizadas en laboratorio. A y B, necrosis interna con grietas superficiales; C y D, necrosis en médula; E y F, necrosis sectorial.

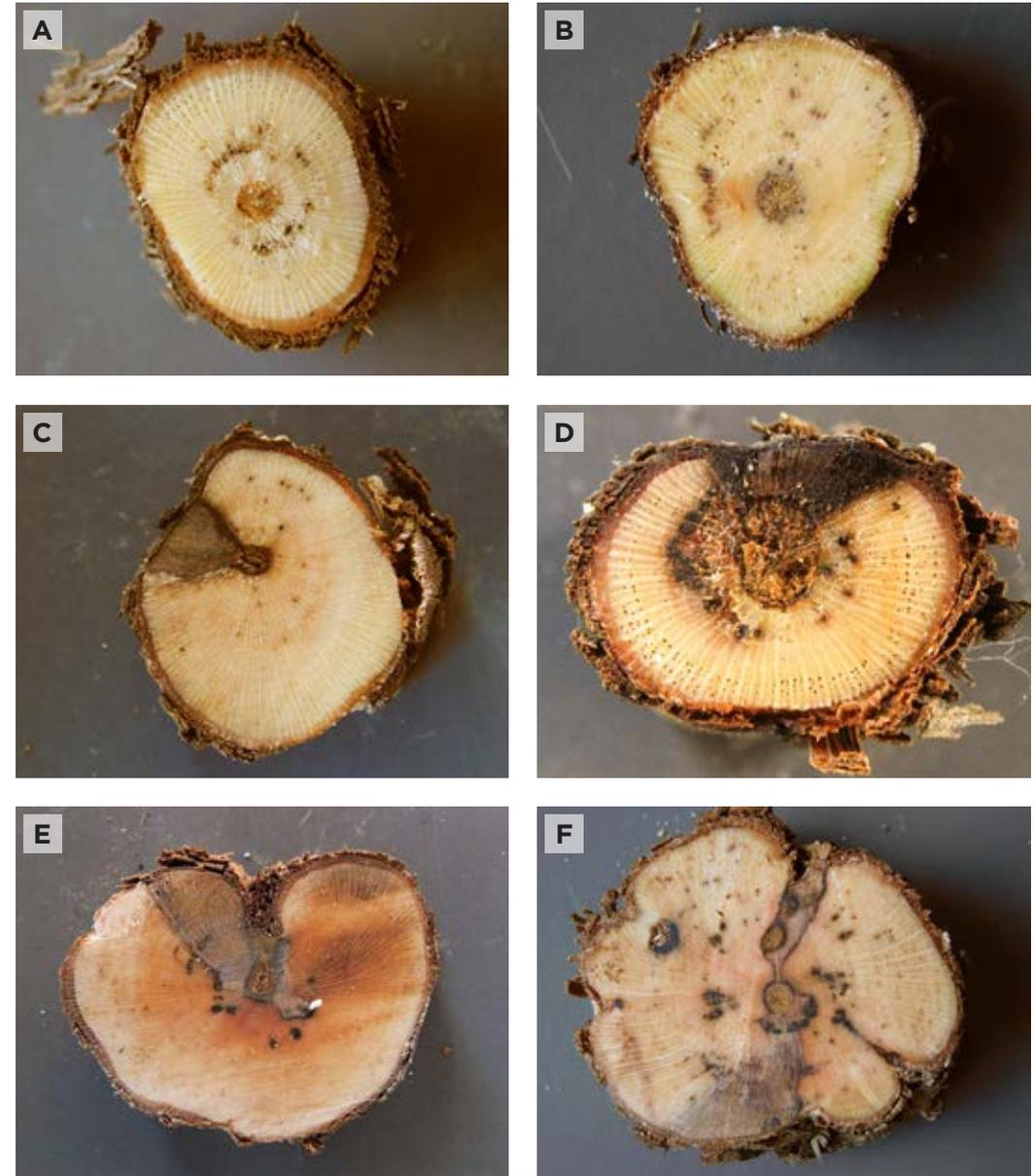


Figura 14. Muestras analizadas en laboratorio. A y B, punteaduras necróticas; C, D, E, y F, combinados de síntomas internos con necrosis sectoriales, punteaduras necróticas y necrosis en médula.

Tabla 6. Número de aislados de las especies de hongos asociados a EMV y excoriosis en las parcelas

Parcela	<i>Diaporthe ambigua</i>	<i>Diaporthe foeniculina</i>	<i>Diaporthe</i> sp.	<i>Diplodia seriata</i>	<i>Neofusicoccum australe</i>	<i>N. luteum</i>	<i>N. parvum</i>	<i>N. stellenboschiana</i>	Nº de especies de Botryosphaeriaceae
1						2	1		2
2					1		11		2
3						1	12		2
4						3	4		2
5							7		1
6			1		1	3	3		3
7							6		1
8				2		1	6	1	4
9					1	1	7		3
10				1			7		2
11							10		1
12	1	1		2		1	4	1	4
13				8			4		2
14							1	3	2
15						2	7		2
Total	1	1	1	13	3	14	90	5	5
Nº de parcelas	1	1	1	4	3	8	15	3	-

Tabla 7. Número de aislados de otras especies de hongos en las parcelas

Parcela	<i>Acremonium sclerotigenum</i>	<i>Alternaria alternata</i>	<i>Alternaria destruens</i>	<i>Alternaria</i> sp.	<i>Aspergillus tabacinus</i>	<i>Aureobasidium pullulans</i>	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Botrytis fabae</i>	<i>Clonostachys rosea</i>	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	<i>Didymosphaeria variabile</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Fusarium</i> sp.	<i>Nectria</i> sp.	<i>Paraconiothyrium brasiliense</i>	<i>Pestalotiopsis</i> sp.	<i>Pleosporales</i> sp.	<i>Sarocladium strictum</i>	<i>Stemphylium vesicarium</i>	<i>Stemphylium</i> sp.
1									2									3		
2									1					2						
3			1					1	3	1			1		1					
4	4	1			1															
5																				
6		2		2		1	1		2											
7																				
8		2		1																1
9		3		2					1											
10																	6			
11		1		1					1											1
12		1		8			2													
13																				
14		2		1					1		1	1			3					
15				1					2							2				1
Total		12	1	16	1	1	3	1	13	1	1	1	1	2	4	2	6	3	1	2
Nº de parcelas		7	1	7	1	1	2	1	8	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2

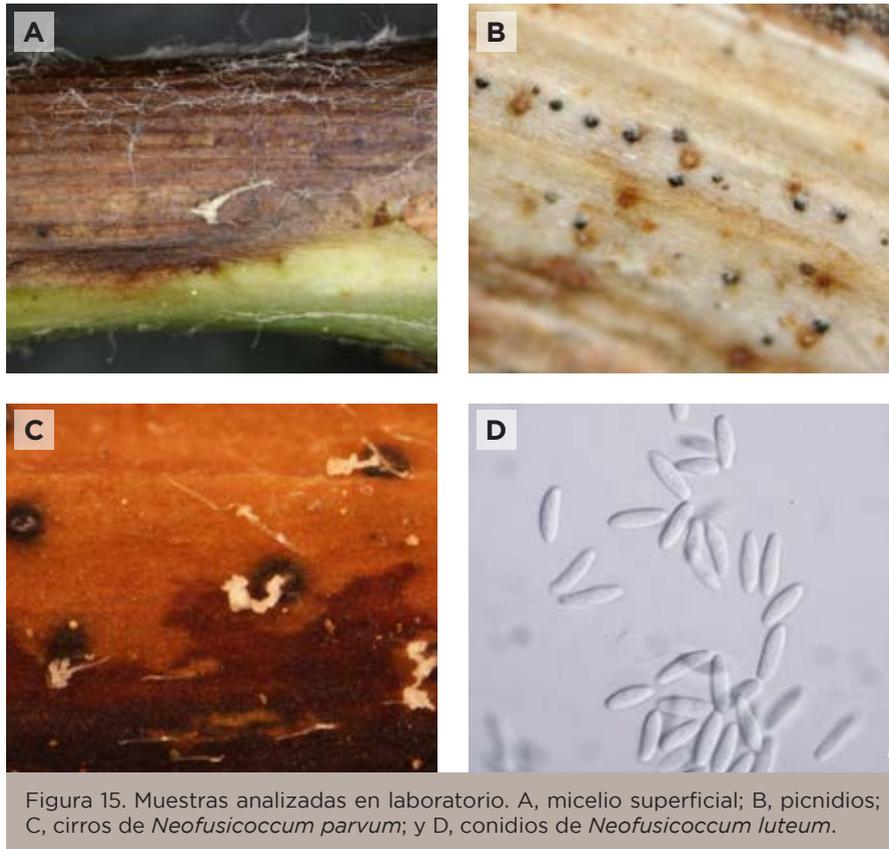


Figura 15. Muestras analizadas en laboratorio. A, micelio superficial; B, picnidios; C, cirros de *Neofusicoccum parvum*; y D, conidios de *Neofusicoccum luteum*.

Neofusicoccum parvum se pudo detectar en todos los síntomas objeto de estudio y en las diversas estructuras fúngicas de las que se realizaron aislamientos (signos), aunque también las restantes especies identificadas de esta familia se detectaron tanto en síntomas internos como síntomas externos (figura 17). Esta distribución en los viñedos del Valle de La Orotava está condicionada probablemente más por la abundancia con la que aparecieron las distintas especies que por el tipo de síntoma del que se obtuvieron. Como puede observarse en la tabla 6 es frecuente encontrar más de una especie de esta familia en una misma parcela (1-4 especies/parcela) en ocasiones incluso en la misma muestra (datos no publicados).

Neofusicoccum parvum es considerado uno de las especies más virulentas y el colonizador de madera más rápido en la viña, que podemos encontrar en la mayor parte de las regiones productoras de España (Gramaje y col., 2020) y del mundo, con un amplio rango de hospedadores entre especies leñosas cultivadas o forestales (CABI/EPPO, 2012). La tabla 8 muestra las especies de la familia Botryosphaeriaceae identificadas en viña, sus primeras citas como patógenos de este cultivo en España y las referencias bibliográficas de Canarias.

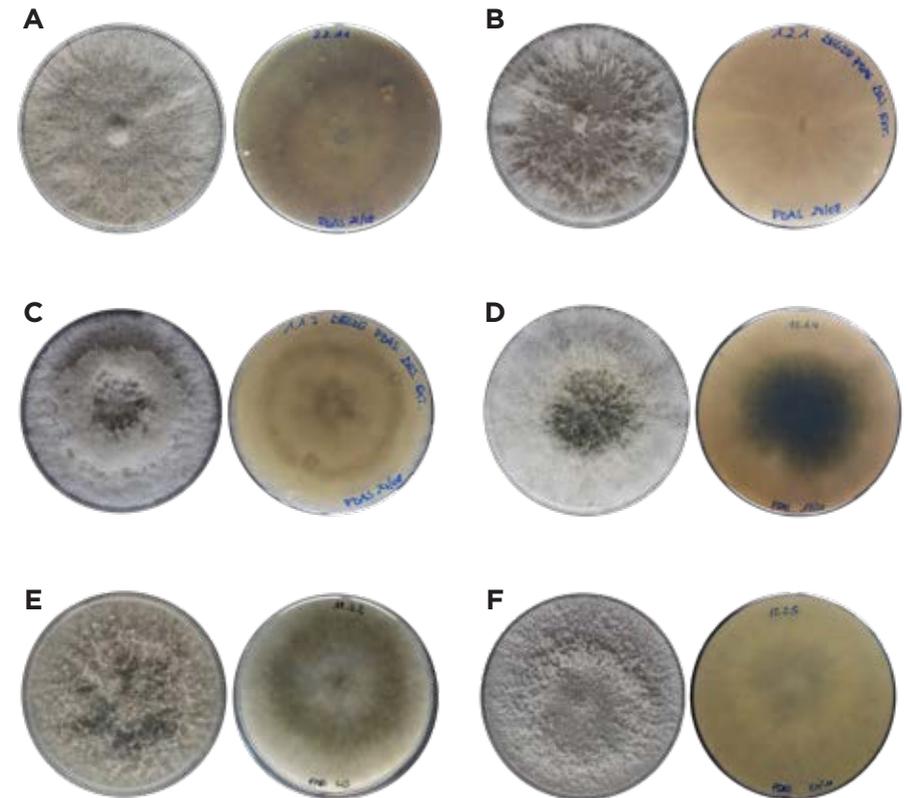


Figura 16. Aislados representativos de las distintas especies de Botryosphaeriaceae detectadas en las muestras y de *Diaporthe*. A, *Neofusicoccum australe*; B, *N. luteum*; C, *N. parvum*; D, *N. stellenboschiana*; E, *Diplodia seriata*; y F, *Diaporthe ambigua*.

Tabla 8. Especies de la familia Botryosphaeriaceae identificadas en viña, primeras citas como patógenos de viña en España y referencias en Canarias

Especie	Detección en viña	Detección en España	Detección en Canarias	Este trabajo
<i>Botryosphaeria dothidea</i>	Phillips, 2002	Armengol y col., 2001	Espino de Paz y col., 2013	
<i>Cophinforma mamane</i>	Correia y col., 2013	-	-	
<i>Diplodia africana</i>	Linaldeddu y col., 2015	-	-	
<i>D. corticola</i>	Úrbez-Torres y col., 2010b	Pintos y col., 2011	-	
<i>D. mutila</i>	Phillips, 2002	Martin y Cobos, 2007	Gallo Llobet y col, 1984	
<i>D. olivarum</i>	Linaldeddu y col., 2015	-	-	
<i>D. seriata</i>	Cristinzio, 1978	Armengol y col., 2001	Espino de Paz y col., 2013	X
<i>Dothiorella americana</i>	Úrbez-Torres y col., 2012	-	-	
<i>Do. iberica</i>	Martin y Cobos, 2007	Martin y Cobos, 2007	-	
<i>Do. neclivorem</i>	Pitt y col., 2014	-	-	
<i>Do. plurivora</i>	Abdollahzadeh y col., 2014	-	-	
<i>Do. sarmentorum</i>	Martin y Cobos, 2007	Martin y Cobos, 2007	-	
<i>Do. vidmadera</i>	Pitt y col., 2013	-	-	
<i>Do. vinea-gemmae</i>	Pitt y col., 2014	-	-	
<i>Do. (Spencermartinsia) viticola</i>	Luque y col., 2005	Luque y col., 2005	-	
<i>Do. westrale</i>	Pitt y col., 2014	-	-	
<i>Lasiodiplodia brasiliense</i>	Correia y col., 2016	-	-	
<i>L. citricola</i>	Carlucci y col., 2015	-	-	
<i>L. crassispora</i>	Úrbez-Torres y col., 2010a	-	-	
<i>L. egyptiaca</i>	Correia y col., 2016	-	-	
<i>L. euphorbiaceicola</i>	Correia y col., 2016	-	-	
<i>L. hormozganensis</i>	Correia y col., 2016	-	-	
<i>L. jatroficolica</i>	Correia y col., 2016	-	-	
<i>L. mediterranea</i>	Linaldeddu y col., 2015	Redondo Fernández, 2019	-	
<i>L. missouriana</i>	Úrbez-Torres y col., 2012	-	-	

Tabla 8 (continuación). Especies de la familia Botryosphaeriaceae identificadas en viña, primeras citas como patógenos de viña en España y referencias en Canarias

Especie	Detección en viña	Detección en España	Detección en Canarias	Este trabajo
<i>L. parva</i>	Correia y col., 2013	-	-	
<i>L. plurivora</i>	Damm y col., 2007	-	-	
<i>L. pseudotheobromae</i>	Deidda y col., 2012	-	-	
<i>L. theobromae</i>	Patil y Moniz, 1969	Aroca y col., 2008	Pérez-Márquez y col., 2020	
<i>L. viticola</i>	Úrbez-Torres y col., 2012	-	-	
<i>L. vitis</i>	Yang y col., 2017	-	-	
<i>Neofusicoccum algeriense</i>	Berraf-Tebbal y col., 2014	-	-	
<i>N. australe</i>	Van Niekerk y col., 2004	Aroca y col., 2010	Este trabajo	X
<i>N. cryptoaustrale</i>	Linaldeddu y col., 2015	-	-	
<i>N. italicum</i>	Marin-Felix y col., 2017	-	-	
<i>N. kwambonambiense</i>	Abreo y col., 2013	-	-	
<i>N. luteum</i>	Phillips, 2002	Luque y col., 2009	Pérez-Márquez y col., 2020	X
<i>N. macroclavatum</i>	Billones y col., 2010	-	-	
<i>N. mangiferae</i>	Dissanayake y col., 2015	-	-	
<i>N. mediterraneum</i>	Úrbez-Torres y col., 2010a	Aroca y col., 2010	-	
<i>N. parvum</i>	Phillips, 2002	Martos y Luque, 2004	Garóe y col., 2012 (endófito), Pérez-Márquez y col., 2020 (patógeno)	X
<i>N. ribis</i>	Úrbez-Torres y col., 2012	-	-	
<i>N. stellenboschiana</i>	Yang y col., 2017	-	Este trabajo	X
<i>N. viticlavatum</i>	Van Niekerk y col., 2004	-	-	
<i>N. vitifusiforme</i>	Van Niekerk y col., 2004	Luque y col., 2009	-	
<i>Neoscytalidium hyalinum</i>	Granata y Sidoti, 1991	-	-	
<i>Sphaeropsis porosa</i>	Van Niekerk y col., 2004	-	-	

Modificado de Redondo-Fernández, 2019

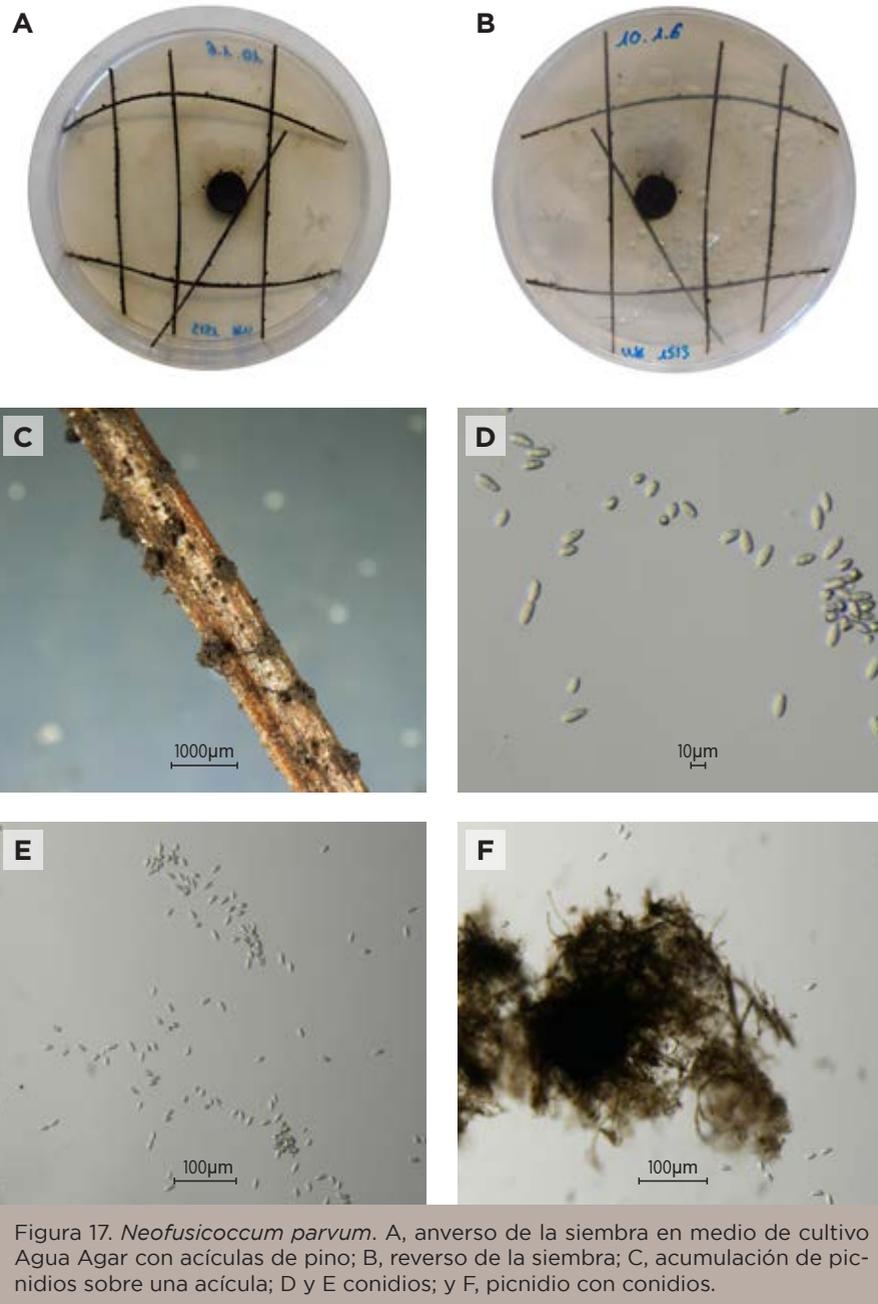


Figura 17. *Neofusicoccum parvum*. A, anverso de la siembra en medio de cultivo Agua Agar con acículas de pino; B, reverso de la siembra; C, acumulación de picnidios sobre una acícula; D y E conidios; y F, picnidio con conidios.

Neofusicoccum luteum se aisló de ocho parcelas de las quince prospectadas de prácticamente todos los tipos de síntomas objeto de estudio, aunque no de los escasos aislamientos que se hicieron a partir de estructuras fúngicas. Es una especie también citada frecuentemente en los cultivos de viña con síntomas de EMV en España desde su primera detección por (Luque y col., 2009), aunque con menor frecuencia que *N. parvum*. También ha sido detectada en otros países como Australia, Brasil, EEUU (California), España, Francia, Italia, Nueva Zelanda, Portugal, Túnez y Uruguay (Larignon, 2016).

Diplodia seriata se detectó en cuatro parcelas de necrosis sectoriales, necrosis en médula, necrosis externas en sarmientos y de tejidos rojizos de sarmiento y necrosis en hoja, también se aisló de picnidios (figura 18). Es una de las especies más frecuentemente citadas en cultivos de viña y que habita o puede habitar en la mayoría de los climas y territorios, principalmente templados. Está presente en todos los continentes y es capaz de infectar diferentes especies de plantas como hospedantes, entre las que podemos encontrar especies leñosas (CABI/EPPO, 2012). Un aspecto que puede inclinar la proporción de detecciones a su favor es que produce conidios en los medios de cultivo con mucha facilidad, a diferencia de lo que ocurre con las especies del género *Neofusicoccum*, lo que permite su pronto reconocimiento en los aislamientos y su posterior purificación e identificación.

Neofusicoccum stellenboschiana y *N. australe* se detectaron sólo en tres parcelas cada una. *Neofusicoccum stellenboschiana*, aislada de necrosis externas, necrosis sectoriales y en tejidos rojizos en sarmiento, es la primera vez que se detecta en viña en Canarias y en España, aunque sí ha sido citada en otros países europeos como Francia o Alemania. *Neofusicoccum stellenboschiana* fue descrita por primera vez causando síntomas de EMV en Sudáfrica (Van Niekerk y col., 2004; Yang y col., 2017). En Canarias también ha sido detectada en plantas de aguacate con síntomas como muerte regresiva o necrosis descendente y en pudriciones de fruto en poscosecha (Hernández y col., 2023). *Neofusicoccum australe* se detectó en necrosis sectoriales,

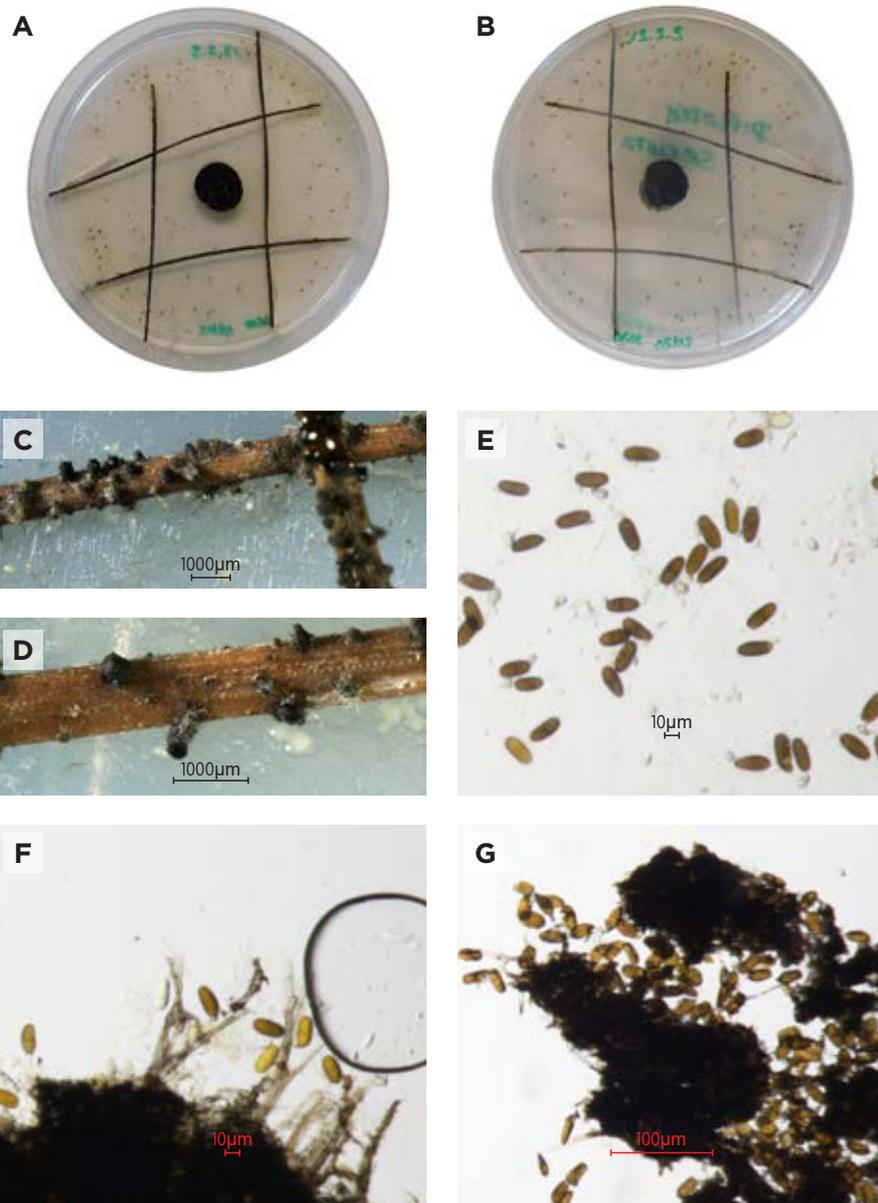


Figura 18. *Diplodia seriata*. A, anverso de la siembra en medio de cultivo Agua Agar con acículas de pino; B, reverso de la siembra; C y D, acumulación de picnidios sobre acículas; E, conidios; F y G, picnidio con conidios.

punteaduras necróticas y necrosis internas con grietas superficiales. Es una especie detectada en viña en 2004 (Van Niekerk y col., 2004), en España en 2010 (Aroca y col., 2010) y este trabajo es la primera vez que se detecta en Canarias.

Es muy probable que estas especies de Botryosphaeriaceae sean también el principal origen de las punteaduras observadas en la superficie de los sarmientos (picnidios) y no debidas a otras especies, aunque es necesario confirmarlo mediante análisis sistemático de estas estructuras. También es preciso llevar a cabo pruebas para verificar la patogenicidad en plantas de viña de los distintos aislados obtenidos (postulados de Koch), en especial con las especies que no se habían detectado anteriormente en Canarias o en España.

En otros trabajos de identificación realizados en Canarias por los laboratorios de diagnóstico en plantas de viña (Gallo-Llobet y col., 1984; Espino de Paz y col., 2013) (ver tabla 8) se detectaron especies de hongos como: *Botryosphaeria dothidea*, *Fusicocoum aesculi*, *Botryosphaeria obtusa*, *Diplodia mutila*, *Diplodia seriata*, *Pestalotiopsis guepinii*, *Phomopsis viticola*, *Phomopsis* sp., *Phaeoacremonium aleophilum*, *Phaeomoniella chlamydospora*, *Nectria radicularis*, *Cylindrocarpon destructans*, *Stereum hirsutum*. Todas estas determinaciones se llevaron a cabo utilizando exclusivamente métodos morfológicos de identificación, por lo que el establecimiento de coincidencias con trabajos actuales en los que se utilizan técnicas moleculares sólo puede realizarse en algunas especies o de forma parcial, al haber cambiado muchas de ellas de nombre o haber sido reasignadas a nuevos taxones. Asimismo, es muy probable que muchas de las especies detectadas actualmente como primeras citas pudieran haber estado ya presentes en nuestros cultivos desde entonces. Recientemente, en un muestreo de identificación de hongos asociados a EMV en Lanzarote (Pérez y col., 2020), se detectaron especies de la familia Botryosphaeriaceae pertenecientes a los géneros *Diplodia* (*D. seriata*), *Lasiodiplodia* (*L. theobromae*) y *Neofusicoccum* (*N. luteum*, *N. parvum*). También se identificaron especies asociadas con el complejo yesca/enfermedad de Petri:

Phaeomoniella chlamydospora, *Phaeoacremonium minimum* y *Phaeoacremonium parasiticum*. Por último, se aisló *Diaporthe ampelina*, la especie asociada con la excoriosis, en una única muestra.

Los datos que se recogen en este informe se refieren a un conjunto de parcelas muy afectadas por estas enfermedades. Los elevados valores encontrados en todos los índices estudiados en todas las parcelas así lo indican. La elevada afección en estas parcelas con viñas muy viejas con edades promedio de más de 50 años, que oscilan entre los 20 y, probablemente, más de 100 años, ha permitido establecer en este trabajo qué agentes microbianos son los más abundantemente asociados a los síntomas de EMV en ellas. En otros trabajos se ha encontrado una mayor presencia de las EMV en cultivos más viejos, aunque la enfermedad pueda estar presente también en cultivos jóvenes (Gramaje y col., 2018; Úrbez-Torres y col., 2012). Además, la edad de las cepas condiciona las especies de patógenos asociados a las EMV como vimos en la introducción de este informe.

Por lo tanto, para conocer la prevalencia real de las EMV en el Valle de La Orotava es necesario llevar a cabo un muestreo aleatorio de las parcelas cultivadas. Dicho estudio incluirá probablemente tanto parcelas tan afectadas como éstas que hemos examinado aquí como otras con muchas menos plantas afectadas y plantas sanas, así como una mejor representatividad de los tipos de conducción y de la edad de los cultivos.

En este trabajo sólo se incluyeron muestras de la parte aérea de la planta y en cultivos realizados sobre planta a pie franco, por lo que todas las EMV descritas sobre raíz como el pie negro o favorecidas por el uso de los injertos en el cultivo no han podido detectarse.

Aunque describir los métodos de control de estos patógenos, ya explicados en otras publicaciones (Armengol, 2017; Gramaje y col., 2020; Rodríguez y col., 2024), no es el objetivo de este informe, sí que podemos resumir las principales recomendaciones dadas para ello: desinfección de las herramientas de poda, protección o desinfección de las heridas, poda para eliminar zonas afectadas,

evitar la poda en condiciones ambientales de humedad alta, eliminación de restos de la poda, manejo adecuado de las malezas y de las enfermedades de madera en cultivos próximos de otras especies afectadas, ya que pueden servir de reservorios para algunos de los patógenos de las EMV.

3.3.- Propuesta de valoración al azar

Uno de los propósitos de este estudio de EMV en la isla de Tenerife fue el establecimiento de un protocolo con el que llevar a cabo las futuras prospecciones en otras zonas de la isla o en otras islas productoras de viña. El protocolo establecido incluye el procedimiento con el que seleccionar aleatoriamente las parcelas a prospectar de forma proporcional a la superficie de cultivo, los formularios con los datos/contenido a incluir en las prospecciones (anexo I), el procedimiento objetivo de valoración de daños en las parcelas, la recogida de muestras (anexo II), los protocolos utilizados en el aislamiento y purificación de hongos de las muestras, y los procedimientos de caracterización morfológica y molecular de los aislados obtenidos.

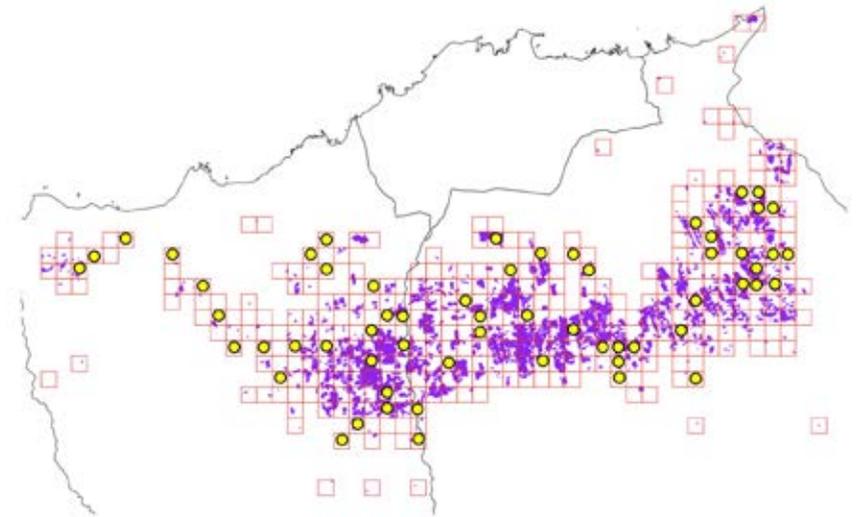


Figura 19. Selección al azar de 60 fincas en cuadrícula de 250 x 250 m² en el Valle de La Orotava.

La valoración y el muestreo no se llevaron a cabo en la zona objeto de estudio, pero sí se estableció una cuadrícula adecuada al tamaño y disposición de las parcelas en el mapa de cultivo de viña, que en este caso fue de 250 x 250 m². Se seleccionaron al azar 60 recuadros dentro de dicha cuadrícula, proporcionalmente a la superficie de cultivo, escogiendo para el potencial muestreo la parcela de mayor superficie incluida en el recuadro (figura 19).

Los procedimientos y protocolos se describen detalladamente en el apartado de materiales y métodos de este informe.

4.- CONCLUSIONES

- En las prospecciones llevadas a cabo en los municipios de La Orotava y Los Realejos pertenecientes a la Denominación de Origen Valle de La Orotava (39 muestras recogidas en 15 parcelas de viña afectadas por enfermedades de madera), se detectaron los siguientes síntomas: necrosis en peciolo, necrosis en hoja, necrosis externa, necrosis interna con grietas superficiales, necrosis de la médula, necrosis sectorial y puntaduras necróticas, compatibles con dichas enfermedades.
- La caracterización morfológica, micromorfológica y molecular de los aislados obtenidos de dichos síntomas permitieron detectar principalmente hongos de la familia Botryosphaeriaceae como *Neofusicoccum australe*, *N. luteum*, *N. parvum*, *N. stellenboschiana*, o *Diplodia seriata*.
- La especie más frecuentemente aislada fue *Neofusicoccum parvum* que se encontró en todas las parcelas, en todos los tipos de síntomas y signos analizados y en un porcentaje muy elevado de las muestras.
- La especie *Neofusicoccum stellenboschiana*, detectada en tejidos rojizos de sarmientos, necrosis externas y necrosis sectoriales de tres de las 15 parcelas prospectadas, es la primera vez que se detecta en viña en Canarias y en España.
- Se detectaron también otras especies de hongo en los aislamientos realizados como: *Acremonium sclerotigenum*, *Alter-*

naria alternata, *Alternaria destruens*, *Alternaria* sp., *Aspergillus tabacinus*, *Aureobasidium pullulans*, *Botrytis cinerea*, *Botrytis fabae*, *Clonostachys rosea*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Didymosphaeria variabile*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium* sp., *Nectria* sp., *Paraconiothyrium brasiliense*, *Pestalotiopsis* sp., *Pleosporales* sp., *Sarocladium strictum*, *Stemphylium vesicarium*, *Stemphylium* sp. que tienen probablemente muy poca relevancia como agentes etiológicos de los daños observados.

- La identificación de las EMV y de los patógenos que las producen en los cultivos de viña de la D.O. Valle de La Orotava ayudarán a tomar medidas preventivas y de control adecuadas.

5.- AGRADECIMIENTOS

Los autores queremos agradecer a todos los agricultores que facilitaron el acceso, valoración y toma de muestras en sus parcelas para la realización de este estudio. A Marian Fernández Hernández del Consejo Regulador de la D.O. Valle de La Orotava por sus aportaciones técnicas. A María Dolores Vela Delgado e Inmaculada Concepción Bernal Hurtado, personal técnico del Instituto Andaluz de Investigación y Formación Agraria (IFAPA) del Centro Rancho de la Merced (Chipiona), por impartir el Taller de Identificación de Enfermedades de la Madera en viñedos de la D.O. Valle de La Orotava y por su asesoramiento. A Rubén Jiménez Canino del Servicio de Genómica de Servicio General de Apoyo a la Investigación de la Universidad de La Laguna por su ayuda en la caracterización molecular de los aislados fúngicos. También queremos agradecer el trabajo del personal de laboratorio y campo de la Unidad de Protección Vegetal del Instituto Canario de Investigaciones Agrarias y de la Sección de Laboratorio de Sanidad Vegetal.

Este trabajo ha sido financiado por el Cabildo Insular de Tenerife con la contratación de Jonay Delgado Hernández para la realización del trabajo de campo. David Hernández Hernández disfruta de un contrato de formación de personal investigador

(FPI-PRE2020-095122) financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MCIN/AEI/10.13039/501100011033 y Fondo Social Europeo (FSE). Una parte del estudio de laboratorio y campo formó parte del Trabajo de Fin de Grado de Christian Rodríguez García, alumno del Grado en Ingeniería Agrícola y del Medio Rural de la Escuela Politécnica Superior de Ingeniería, Sección de Ingeniería Agraria.

Se ha contado también con financiación del Servicio de Sanidad Vegetal de la Dirección General de Agricultura de la Consejería de Agricultura, Ganadería, Pesca y Soberanía Alimentaria del Gobierno de Canarias y del Proyecto CAIA 2022-2024: Optimización hídrica, adaptabilidad agroclimática, y estrategias avanzadas contra hongos de la familia Botryosphaeriaceae para mejorar la calidad y producción del cultivo del aguacate en Canarias.

6.- BIBLIOGRAFÍA

Abdollahzadeh J, Javadi A, Zare R, Phillips AJL. 2014. A phylogenetic study of *Dothiorella* and *Spencermartinsia* species associated with woody plants in Iran, New Zealand, Portugal and Spain. *Persoonia Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi*.32(1):1-12. <https://www.ingentaconnect.com/content/10.3767/003158514X678606>.

Abreo E, Martinez S, Bettucci L, Lupo S. 2013. Characterization of Botryosphaeriaceae species associated with grapevines in Uruguay. *Australasian Plant Pathology*.42(3):241-9. <http://link.springer.com/10.1007/s13313-013-0200-8>.

Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic local alignment search tool. *J.Mol. Biol.* 215:403-410. <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0022283605803602>.

Armengol J. 2017. Enfermedades fúngicas de madera de la vid. Una visión general del problema. *Enoviticultura* 46:6-15. <http://hdl.handle.net/10251/101801>.

Aroca Á, Gramaje D, Armengol J, García-Jiménez J, Raposo R. 2010. Evaluation of the grapevine nursery propagation process as a source of *Phaeoacremonium* spp. and *Phaeomoniella chlamydospora* and occurrence of trunk disease pathogens

in rootstock mother vines in Spain. *European Journal of Plant Pathology*. 126(2):165-74. <http://link.springer.com/10.1007/s10658-009-9530-3>.

Aroca A, Raposo R, Gramaje D, Armengol J, Martos S, Luque J. 2008. First report of *Lasiodiplodia theobromae* associated with decline of grapevine rootstock mother plants in Spain. *Plant Disease*.92(5):832-832. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-92-5-0832B>.

Berraf-Tebbal A, Guereiro MA, Phillips AJL. 2014. Phylogeny of *Neofusicoccum* species associated with grapevine trunk diseases in Algeria, with description of *Neofusicoccum algeriense* sp. nov. *Phytopathologia Mediterranea*. 53(3):416-27. <https://oajournals.fupress.net/index.php/pm/article/view/5582>.

Billones RG, Ridgway HJ, Jones EE, Jaspers M V. 2010. First report of *Neofusicoccum macroclavatum* as a canker pathogen of grapevine in New Zealand. *Plant Disease*. 94(12):1504-1504. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-07-10-0494>.

CABI/EPPO. 2012. *Neofusicoccum parvum*. [Distribution map]. *Distribution Maps of Plant Diseases* 1134 (Edition 1). <https://doi.org/10.1079/DMPD/201233674>.

Carlucci A, Cibelli F, Lops F, Raimondo ML. 2015. Characterization of Botryosphaeriaceae species as causal agents of trunk diseases on grapevines. *Plant Disease*. 99(12):1678-88. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-03-15-0286-RE>.

Collado-Romero M, Mercado-Blanco J, Olivares-García C, Valverde-Corredor A, Jiménez-Díaz RM. 2006. Molecular variability within and among *Verticillium dahliae* vegetative compatibility groups determined by fluorescent amplified fragment length polymorphism and polymerase chain reaction markers. *Phytopathology* 96:485-495. <http://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PHYTO-96-0485>.

Correia KC, Cámara MPS, Barbosa MAG, Sales R, Agustí-Brisach C, Gramaje D, y col. 2013. Fungal trunk pathogens associated with table grape decline in Northeastern Brazil. *Phytopathologia Mediterranea*. 52(2):380-7. <https://riunet.upv.es/handle/10251/73851>.

Correia KC, Silva MA, de Morais MA, Armengol J, Phillips AJL, Cámara MPS, y col. 2016. Phylogeny, distribution and pathogenicity of *Lasiodiplodia* species associated with dieback

of table grape in the main Brazilian exporting region. Plant Pathology. 65(1):92-103. <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ppa.12388>.

Cristinzio G. 1978. Gravi attacchi di *Botryosphaeria obtusa* su vite in provincia di Isernia. Informatore Fitopatologico.;6:21-3. https://www.researchgate.net/publication/266851788_Gravi_attacchi_di_Botryosphaeria_obtusa_in_provincia_di_Isernia.

Damm U, Crous PW, Fourie PH. 2007. Botryosphaeriaceae as potential pathogens of *Prunus* species in South Africa, with descriptions of *Diplodia africana* and *Lasiodiplodia plurivora* sp. nov. Mycologia. 99(5):664-80. <http://www.mycologia.org/cgi/doi/10.3852/mycologia.99.5.664>

De la Fuente M, Fontaine F, Gramaje D, Armengol J, Smart R, Nagy Za, Borgo M, Rego C, Corio-Costet MF, 2016. Grapevine trunk diseases. A Review. OIV publications. 25 pp. <https://www.oiv.int/public/medias/4650/trunk-diseases-oiv-2016.pdf>.

Dissanayake, A.J., Zhang, W., Li, X., Zhou, Y., Chethana, T., Chukeatirote, E., Hyde KD, Yan, J., Zhang, G. y Zhao W. 2015. First report of *Neofusicoccum mangiferae* associated with grapevine dieback in China. Phytopathologia Mediterranea. 54(2):414-9. <https://oajournals.fupress.net/index.php/pm/article/view/5631>.

Dorta Antequera P. 1993. El clima: tipos de tiempo. Geografía de Canarias. Consejería de Obras Públicas, Vivienda y Aguas. Gobierno de Canarias. Volumen I, 8: 117-123.

Ephytia (INRAE). 2021. Grapevine-Phomopsis-Viticola-Excoriose. <http://ephytia.inra.fr/en/C/6093/Grapevine-Phomopsis-viticola-Excoriose>.

Espino de Paz AI, Rodríguez Rodríguez R, and Rodríguez Rodríguez JM. 2013. Enfermedades fúngicas detectadas en los laboratorios de diagnósticos de Canarias. Granja. 20:67-83. <https://revistas.grancanaria.com/index.php/GRANJA/article/view/9881/9377>.

Gallo Llobet L, Hernández Hernández JM, Jaizme Vega M del C, and Sala Mayato L. 1984. Especies fúngicas encontradas en los cultivos de Canarias en el período 1974-1984. In III Congreso Nacional de Fitopatología, ed. Sociedad Española de Fitopatología. Puerto de la Cruz, Tenerife, The Canary Islands, Spain, p. 43-50.

Garóe N, Cabrera R, Lisbel BR, Evelyn DS, Andreea C, Nélida B. Endophytic fungi from *Vitis vinifera* L. isolated in Canary Islands and Azores as potential biocontrol agents of *Botrytis cinerea* Pers.: Fr. Journal of Horticulture, Forestry and Biotechnology. 2012;16(1):1-6. [https://journal-hfb.usab-tm.ro/romana/Lucrari/Volum%2016\(1\)/1Nunez-Trujillo%20Garoe.pdf](https://journal-hfb.usab-tm.ro/romana/Lucrari/Volum%2016(1)/1Nunez-Trujillo%20Garoe.pdf).

Gea Fernández V. 2010. La viña en cordón en el Valle de La Orotava. Cabildo Insular de Tenerife. 28 pp. https://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/viti_472_vi%C3%B1a.pdf.

Gramaje D, Armengol J, Barajas E, Berbegal M, Chacón JL, Cibrián- Sabalza JF, Díaz-Losada E, López-Manzanares B, Muñoz Gómez RM, Martínez-Diz MP, Rubio JA, Sagüés Sarasa A. 2020. Guía sobre las enfermedades fúngicas de la madera de la vid. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (España). 86 pp. <http://hdl.handle.net/10261/284148>.

Gramaje D, Úrbez-Torres JR, Sosnowski MR. 2018. Managing grapevine trunk diseases with respect to etiology and epidemiology: Current strategies and future prospects. Plant Diseases. 102:12- 39. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-17-0512-FE>.

Granata G, Sidoti A. 1991. Grapevine death caused by *Nattrassia toruloidea*. Vitis. 30(4):219-22. <https://ojs.openagrar.de/index.php/VITIS/article/view/5427/5190>.

Hernández D, García-Pérez O, Perera S, González-Carracedo MA, Rodríguez-Pérez A, Siverio F. 2023. Fungal Pathogens Associated with Aerial Symptoms of Avocado (*Persea americana* Mill.) in Tenerife (Canary Islands, Spain) Focused on Species of the Family Botryosphaeriaceae. Microorganisms 11:585. <https://www.mdpi.com/2076-2607/11/3/585>.

Hernández Hernández JM. 2010. Introducción histórica sobre la presencia de la viña en Tenerife. En: Gea Fernández, V. La viña en cordón en el Valle de la Orotava. Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural. Área de Agricultura, Ganadería y Pesca, Cabildo de Tenerife. 44 pp. https://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/viti_472_vi%C3%B1a.pdf.

Hontoria M, Machín N, Gonzalo C, Luis J. 1998. Variedades de vid en la Isla de Tenerife. Cabildo Insular de Tenerife. 12 pp. https://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/viti_680_Vid%202019.pdf.

ISTAC, 2022. Estadística Agraria de Canarias / Series anuales de agricultura. Municipios, islas y provincias de Canarias. 1999-2022. https://www3.gobiernodecanarias.org/istac/statistical-visualizer/visualizer/data.html?resourceType=dataset&agencyId=ISTAC&resourceId=E01135A_000004&version=-latest#visualization/table.51.

Lana García-Verdugo D, 2020. Diagnóstico de la viticultura en Canarias. Gobierno de Canarias. pp. 100. Lorch W, 2014. Fatal wood disease affects 12 percent of French vineyards. Recuperado el 5 de septiembre de 2023 de <https://www.wine-searcher.com/m/2014/10/fatal-wood-diseases-affect-12-percent-of-french-vineyards>.

Larignon P. 2016. Maladies cryptogamiques du bois de la vigne: symptomatologie et agents pathogènes. VignevinCom, 2eme édition. 168. https://www.researchgate.net/publication/292616445_Maladies_cryptogamiques_du_bois_de_la_vigne_symptomatologie_et_agents_pathogenes%0Ahttps://www.vignevin.com/.

Linaldeddu BT, Deidda A, Scanu B, Franceschini A, Serra S, Berraf-Tebbal A, y col. 2015. Diversity of Botryosphaeriaceae species associated with grapevine and other woody hosts in Italy, Algeria and Tunisia, with descriptions of *Lasiodiplodia exigua* and *Lasiodiplodia mediterranea* sp. nov. Fungal Diversity. 29 de marzo de;71(1):201-14. <http://link.springer.com/10.1007/s13225-014-0301-x>.

Luque J, Elena G, García-Figueres F, Reyes J, Barrios G, Legorburu FJ. 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. <https://doi.org/10.1111/ajgw.12046>.

Luque J, Martos S, Aroca A, Raposo R, García-Figueres F. 2009. Symptoms and fungi associated with declining mature grapevine plants in northeast Spain. Journal of Plant Pathology. 91(2):381-90. <http://www.winetwork-data.eu/intranet/libretti/0/libretto13902-01-1.pdf>.

Luque J, Martos S, Phillips AJL. 2005. *Botryosphaeria viticola* sp. nov. on grapevines: a new species with a *Dothiorella* anamorph. Mycologia. 97(5):1111-21. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/15572536.2006.11832759>.

Marín-Félix Y, Groenewald JZ, Cai L, Chen Q, Marincowitz S, Barnes I, y col. 2017. Genera of phytopathogenic fungi: GOPHY 1. Studies in Mycology. 86(1):99-216. <https://www.ingentaconnect.com/content/10.1016/j.simyco.2017.04.002>.

Martín MT, Cobos R. 2007. Identification of fungi associated with grapevine decline in Castillo y León (Spain). Phytopathologia Mediterranea. 46(1):18-25. <https://oajournals.fupress.net/index.php/pm/article/view/5199>.

Martínez-Diz MP, 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 Hortic. 246:104-109. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.10.049>.

Martos S, Luque J. 2004. Identificación y caracterización de aislados del género *Botryosphaeria* en *Vitis*. Resúmenes del XII Congreso de la Sociedad Española de Fitopatología. Lloret de Mar, España. p. 144. <https://sef.es/sites/default/files/LloretdeMar2004.pdf>.

Palmero R. 2017. Enfermedades fúngicas de la madera en viña. Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural. Área de Agricultura, Ganadería y Pesca, Cabildo de Tenerife. 20 pp. https://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/viti_106_L_fungicasMadera.pdf.

Patil LK, Monil LA. 1969. A new anthracnose disease of grapevine from India. Journal of the University of Poona, Science and Technology.36:107-10.

Pérez M, León M, Ramón A, Armengol J. 2020. Muestreo e identificación de hongos asociados a las enfermedades de la madera de vid en Lanzarote. Enoviticultura nº 65, 16-26. <http://hdl.handle.net/10251/164963>.

Phillips AJL. 2002. Botryosphaeria species associated with diseases of grapevines in Portugal. Phytopathologia Mediterranea. 41(1):3-18. <https://oajournals.fupress.net/index.php/pm/article/view/4940>.

Pintos-Varela C, Redondo-Fernández V, Aguín-Casal O, Mansilla-Vázquez JP. 2011. First report of cankers and dieback caused by *Neofusicoccum mediterraneum* and *Diplodia corticola* on grapevine in Spain. Plant Disease. 95(10):1315-1315. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-05-11-0429>.

Pitt WM, Úrbez-Torres JR, Trouillas FP. 2015. *Dothiorella* and *Spencermartinsia*, new species and records from grapevines in Australia. Australasian Plant Pathology. 44(1):43-56. <http://link.springer.com/10.1007/s13313-014-0332-5>.

Pitt WM, Úrbez-Torres JR, Trouillas FP. 2013. *Dothiorella vidmadera*, a novel species from grapevines in Australia and notes on *Spencermartinsia*. Fungal Diversity. 61(1):209-19. <http://link.springer.com/10.1007/s13225-013-0244-7>.

Redondo Fernández V. 2019. Enfermedad de madera de viña: Identificación, patogenicidad y control biológico de los hongos causantes del decaimiento por *Botryosphaeria*. <https://investigacion.usc.es/documentos/5d1ffb2e2999521e412de171?lang=es>.

Rodríguez de Acuña F, Palmero R, Perera S. 2024. Control de las enfermedades de la madera en viña. Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural. Área de Agricultura, Ganadería y Pesca, Cabildo de Tenerife. 9 pp. https://agrocabildo.org/publica/Publicaciones/viti_822_vi%C3%B1a_2024.pdf.

Rodríguez de Acuña F, Perera S. 2020. Manejo integrado de plagas y enfermedades en cultivos de viña. Servicio Técnico de Agricultura y Desarrollo Rural. Área de Agricultura, Ganadería y Pesca, Cabildo de Tenerife. 74 pp. https://www.agrocabildo.org/publica/Publicaciones/viti_701_vi%C3%B1a_fusionado.pdf.

Sayers EW, Bolton EE, Brister JR, Canese K, Chan J, Comeau DC, Connor R, Funk K, Kelly C, Kim S, Madej T, Marchler-Bauer A, Lanczycki C, Lathrop S, Lu Z, Thibaud-Nissen F, Murphy T, Phan L, Skripchenko Y, Tse T, Wang J, Williams R, Trawick BW, Pruitt KD, Sherry ST. 2022. Database resources of the national center for biotechnology information. Nucleic Acids Res. 50:D20-D26. <https://academic.oup.com/nar/article/50/D1/D20/6447242>.

Sharma HC, Agarwal DK. 1997. A new anthracnose disease of grape vine (*Vitis vinifera*) in India. Mycopath et Mycol appl. 50(1):150.

Tamura K, Stecher G, Kumar S. 2021. MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. Mol Biol Evol 38:3022-3027. <https://academic.oup.com/mbe/article/38/7/3022/6248099>.

Truett GE, Heeger P, Mynatt RL, Truett AA, Walker JA, Warman ML. 2000. Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and tris (HotSHOT). Biotechniques 29:52-54. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.2144/00291bm09>.

Úrbez-Torres JR, Peduto F, Gubler WD. 2010. First report of grapevine cankers caused by *Lasiodiplodia crassispora* and *Neofusicoccum mediterraneum* in California. Plant Disease. 94(6):785-785. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-94-6-0785B>.

Úrbez-Torres JR, Peduto F, Rooney-Latham S, Gubler WD. 2010. First report of *Diplodia corticola* causing grapevine (*Vitis vinifera*) cankers and trunk cankers and dieback of canyon live oak (*Quercus chrysolepis*) in California. Plant Disease. 94(6):785-785. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-94-6-0785A>.

Úrbez-Torres JR, Peduto F, Striegler RK, Urrea-Romero KE, Rupe JC, Cartwright RD, Gubler WD. 2012. Characterization of fungal pathogens associated with grapevine trunk diseases in Arkansas and Missouri. Fungal Divers 52:169-189. <http://link.springer.com/10.1007/s13225-011-0110-4>.

Van Niekerk JM, Crous PW, Groenewald JZ, Fourie PH, Halleen F. 2004. DNA phylogeny, morphology and pathogenicity of *Botryosphaeria* species on grapevines. Mycologia 96:781-798. <https://doi.org/10.1080/15572536.2005.11832926>.

Vicent A, García-Figueroles F, García-Jiménez J, Armengol J, Torné L. 2001. Fungi associated with esca and grapevine declines in Spain: a three-year survey. Phytopathologia Mediterranea. 40(3):325-9. <https://oajournals.fupress.net/index.php/pm/article/view/4910>.

Yang T, Groenewald JZ, Cheewangkoon R, Jami F, Abdollahzadeh J, Lombard L, Crous PW. 2017. Families, genera, and species of Botryosphaeriales. Fungal Biol. 121:322-346. http://dx.doi.org/10.1016/j.funbio.2016.11.001.html?resourceType=dataset&agencyId=ISTAC&resourceId=E01135A_000004&version=-latest#visualization/table.

ANEXO I

PLANTILLA DE VALORACIÓN DE SÍNTOMAS - EMV

Nombre finca											
Nº Finca						Fecha					
Nº	IIE ¹	Valoración de síntomas ²			P/A ³	Nº	IIE ¹	Valoración de síntomas ²			P/A ³
		A	B	C	Excoriosis			A	B	C	Excoriosis
1						41					
2						42					
3						43					
4						44					
5						45					
6						46					
7						47					
8						48					
9						49					
10						50					
11						51					
12						52					
13						53					
14						54					
15						55					
16						56					
17						57					
18						58					
19						59					
20						60					
21						61					
22						62					

Nº	IIE ¹	Valoración de síntomas ²			P/A ³	Nº	IIE ¹	Valoración de síntomas ²			P/A ³
		A	B	C	Excoriosis			A	B	C	Excoriosis
23						63					
24						64					
25						65					
26						66					
27						67					
28						68					
29						69					
30						70					
31						71					
32						72					
33						73					
34						74					
35						75					
36						76					
37						77					
38						78					
39						79					
40						80					

¹ **Índice de intensidad de enfermedad:** 0-10, siendo 0 una planta sana y 10 una planta muerta.

² **Valoración de síntomas:** 1-3, siendo 1, bajo; 2, medio; y 3, alto. A, decoloraciones y necrosis internerviales en las hojas (amarillentas en las variedades blancas y rojizas en las tintas); B, decaimiento y desecación (brotes raquíuticos y débiles, con entrenudos cortos, hojas pequeñas, cloróticas y deformadas); y C, Necrosis en sarmientos, peciolo de hojas o pedúnculos de racimos.

³ **Presencia/ausencia**

OBSERVACIONES:

ANEXO II

PLANTILLA DE TOMA DE DATOS DE MUESTRAS - EMV

Nombre finca:	Nº de finca:		
Nombre recolector:	Fecha:		
Nº de planta:	Código de laboratorio:	Fotografías <input type="checkbox"/>	
Variedad:	Tipo de conducción:		
	Estado fenológico:		
IIE': _____	Valoración de los síntomas²		
	A. _____	B. _____	C. _____ Excoriosis. _____
Coordenadas UTM:	X:	Y:	Z:
Observaciones:			

¹**Índice de intensidad de enfermedad:** 0-10, siendo 0 una planta sana y 10 una planta muerta.

²**Valoración de síntomas:** 1-3, siendo 1, bajo; 2, medio; y 3, alto. A, decoloraciones y necrosis internerviales en las hojas (amarillentas en las

variedades blancas y rojizas en las tintas); B, decaimiento y desecación (brotes raquíticos y débiles, con entrenudos cortos, hojas pequeñas, cloróticas y deformadas); y C, necrosis en sarmientos, peciolo de hojas o pedúnculos de racimos.

ANEXO III

Distribución de los 693 fragmentos de tejido sembrados según los tipos de síntomas y signos (nº de fragmento/tipo) de las distintas parcelas y muestras											
Parcela. Muestra	Picnidios de excoriosis	Cirro	Micelio	Tejido rojizo en sarmiento	Necrosis en peciolo	Necrosis en hoja	Necrosis externa	Necrosis interna con grietas superficiales	Necrosis médula	Necrosis sectorial	Punteaduras necróticas
01.01										3	6
01.02									3		
02.01			6				2			4	
02.02				1	2	1	3		1	3	5
02.03							2		5		3
03.01					2	2	1	3	2	6	6
03.02				1	2	2	1	2		6	6
03.03				2	2	2	3		2	6	6
04.02					2	2			2	6	6
04.03					2	2	1	2	1	6	8
05.01			6				2			6	
06.01		4	2	2				2	6	6	2
06.02			3			2		3	5	6	2
06.03			2					3	4	5	
07.01		5	1	1			3		3		
08.01				2	2	2	4		2	2	2
08.02				2	2	2	4	3	2	2	2
08.03				1	3	2	4		2	2	2
09.01				2	2	2	4	2	2	4	5
09.02				2	2	2	4	2	2	6	6
09.03				1	2	2	2	2	3	6	6

Distribución de los 693 fragmentos de tejido sembrados según los tipos de

síntomas y signos (nº de fragmento/tipo) de las distintas parcelas y muestras

Parcela. Muestra	Picnidios de excoriosis	Cirro	Micelio	Tejido rojizo en sarmiento	Necrosis en peciolo	Necrosis en hoja	Necrosis externa	Necrosis interna con grietas superficiales	Necrosis médula	Necrosis sectorial	Punteaduras necróticas
10.01							3			6	4
10.02				1	1	1	3			6	7
10.03							1		1	6	6
11.01				2	2	2	4		2	2	2
11.02				2	2	3	5		2	2	2
11.03				2	2	2	4	4	2	2	2
12.01	2		3	2						3	
12.02						2			4	5	6
12.03			3	1	6	2	4		2	4	5
13.01	2			2	1	1	2		3	3	4
13.02	2			1	2		1		5	3	3
13.03	2			2	2	1	2		3	2	3
14.01				2	3	2	3		4	2	3
14.02				2	2	2	2		5	2	3
14.03				1	2	2	1		3	1	3
15.01				1	2	2	3	2	2	6	6
15.02				2	2	2	3	2	2	6	6
15.03				2	2	2	2	1	2	6	6
Nº de muestras analizadas	4	2	8	26	26	27	31	14	32	36	33
Nº de fragmentos	8	9	26	42	56	51	83	33	89	152	144



Estudio sobre las
ENFERMEDADES FÚNGICAS DE LA MADERA DE LA VIÑA
en el Valle de La Orotava, Tenerife

