

**Título:** VITIS VINIFERA YIELD OPTIMIZATION IN THE RIBEIRO PDO

**Nombre:** González Fernández, Estefanía

**Universidad:** Universidad de Vigo

**Departamento:** Biología vegetal y ciencias del suelo

**Fecha de lectura:** 25/03/2021

**Mención a doctor europeo:** concedido

**Programa de doctorado:** Programa de Doctorado en Ciencia y Tecnología Agroalimentaria por la Universidad de Vigo

**Dirección:**

> **Director:** FRANCISCO JAVIER RODRÍGUEZ RAJO

> **Codirector:** María FERNÁNDEZ GONZÁLEZ

**Tribunal:**

> **presidente:** CARMEN GALAN SOLDEVILLA

> **secretario:** DAVID RODRÍGUEZ DE LA CRUZ

> **vocal:** Helena Isabel da Costa Ribeiro

**Descriptores:**

> CONTROL AMBIENTAL DE ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS

> HONGOS

> BOTANICA

> FITOPATOLOGIA AGRICOLA

**El fichero de tesis** ya ha sido incorporado al sistema

> <http://hdl.handle.net/11093/2209>

**Localización:** REPOSITORIO BIBLIOTECA UNIVERSITARIA DE LA UNIVERSIDAD DE VIGO

**Resumen:** INTRODUCCIÓN

La vid ha sido un importante cultivo a lo largo de la región mediterránea desde la domesticación de las formas silvestres. A su vez, el sector vitivinícola tiene importantes connotaciones en el ámbito socio-cultural, ambiental y económico, con avances notables en la mecanización y modernización del sector durante las últimas décadas. La variabilidad creciente de las condiciones climáticas asociada al cambio climático hace necesarios estudios más detallados y desde diversos puntos de vista de las características del ecosistema agronómico con el objetivo de prevenir consecuencias graves en el rendimiento del cultivo y la calidad de la cosecha, y para asegurar la disponibilidad de alimento que cubra las necesidades actuales y futuras de la población. La variabilidad en las condiciones meteorológicas puede afectar a los cultivos de diferentes formas, e indirectamente alterar la incidencia y severidad de distintas plagas y enfermedades en el cultivo. En

consecuencia, es necesaria la adaptación del sistema agrícola al contexto actual de cambio climático para proporcionar una mayor flexibilidad y capacidad de respuesta a los agricultores, incluyendo medidas como la predicción de la cosecha, la detección de momentos de riesgo potencial de infección en los cuales es necesaria la aplicación de tratamientos fitosanitarios y la identificación de factores influyentes en el estado del cultivo. La aplicación de estas medidas para la gestión del cultivo conduce a una producción más sostenible y a un incremento de la eficiencia en el consumo de recursos, lo que aumenta la productividad y fortalece la capacidad de adaptación a eventos meteorológicos extremos, al mismo tiempo que se incrementa progresivamente la calidad ambiental. Las características bioclimáticas específicas del noroeste de la península ibérica, con temperaturas moderadas y elevada humedad relativa durante el ciclo anual de crecimiento de la vid, favorecen el desarrollo de enfermedades fitopatógenas responsables de importantes pérdidas de cosecha anuales. La metodología propuesta para el control de enfermedades en el cultivo se basa en un sistema de monitorización efectivo y el establecimiento de umbrales de infección, con el objetivo de proporcionar un sistema de soporte a decisiones para orientar la gestión del cultivo hacia los principios del Control Integrado de Plagas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio fue llevado a cabo en un viñedo en Cenlle, que pertenece a la Denominación de Origen Protegida (DOP) Ribeiro, en el noroeste de España. El período de estudio comprendió de 2016 a 2019, durante el ciclo vegetativo anual de la vid de cada año, considerando éste desde el estadio fenológico 03 según la escala BBCH, de “yemas hinchadas, pero no verdes”, hasta la vendimia. Las variedades de vid estudiadas fueron Treixadura, Godello, Loureira y Albariño, todas ellas variedades blancas preferentes de la DOP Ribeiro. Se han llevado a cabo observaciones fenológicas en 22 plantas de cada variedad considerada, siguiendo la escala estandarizada BBCH. Los datos meteorológicos se recogieron utilizando una microestación meteorológica HOBO, y la estación de MeteoGalicia de Leiro. También se han llevado a cabo estudios de producción polínica y de fertilidad vegetal en 10 plantas seleccionadas de cada variedad en el viñedo de estudio de Cenlle. Se determinó el polen por antera siguiendo el método volumétrico, y en base a los resultados obtenidos, la determinación del número de anteras por flor y la estimación del número de flores por cepa, calculamos la producción de polen por planta. Se evaluó la viabilidad de los granos de polen mediante el método de tinción azul de tripán, y la eficacia de la fecundación se estudió determinando el índice de corrimiento o pérdida de botones florales. La toma de muestras aerobiológicas y su procesado se llevó a cabo siguiendo el protocolo de la Red Española de Aerobiología (REA), usando un captador volumétrico tipo Hirst modelo Lanzoni VPPS-2000 para el muestreo de partículas atmosféricas de granos de polen de *Vitis vinifera*, conidios de *Botrytis cinerea*, conidios de *Erysiphe necator* y esporangios de *Plasmopara viticola*. También utilizamos un captador ciclónico modelo Burkard para el muestreo de partículas proteínicas atmosféricas que fueron analizadas mediante ensayo inmunológico para la detección y cuantificación de proteínas atmosféricas de *Botrytis cinerea* atribuibles al material germinativo de sus conidios. Para este ensayo inmunológico se aplicó un PTA-ELISA indirecto (Plate Trapped Antigen-Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay), desarrollando para ello una curva de calibrado y un protocolo de extracción específico para las muestras obtenidas. Para el análisis estadístico de los datos obtenidos, se aplicaron análisis de correlación entre las diferentes variables para determinar la influencia de las variables estudiadas en los objetivos considerados. A partir de los resultados obtenidos en los análisis de correlación, se aplicaron análisis de regresión lineal múltiple para desarrollar modelos predictivos capaces de explicar gran parte de la variabilidad de los datos, describiendo la relación entre la variable predicha y aquéllas con la mayor influencia sobre ella. Los modelos obtenidos se validaron para verificar su funcionamiento y precisión aplicando la prueba t de Student y el procedimiento de validación cruzada Leave-One-Out-Cross-

Validation (LOOCV).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### -Distribución de los patógenos estudiados en el viñedo

En el viñedo de estudio de Cenlle, se ha detectado la presencia constante de conidios de *Botrytis cinerea* en la atmósfera del viñedo, mostrando una clara predominancia en comparación con los otros dos patógenos estudiados. La cantidad de conidios de *B. cinerea* fue superior que la cantidad de conidios de *Erysiphe necator* y esporangios de *Plasmopara viticola* en la mayoría de los años considerados, excepto en 2016, en el cual la cantidad de conidios de *E. necator*, con 17111 conidios, superó ligeramente la cantidad de conidios de *B. cinerea* de 16752 conidios.

Atendiendo a la distribución intra-anual de las esporas, los niveles atmosféricos más altos de conidios de *B. cinerea* se detectaron en los meses centrales del ciclo de desarrollo de la vid, durante junio, seguido de julio y mayo. Al considerar los períodos 2008-2019 y 2016-2019, observamos que la cantidad de esporas de *B. cinerea* es mayor en mayo que en julio para el período 2008-2019, pero es mayor en julio que en mayo al considerar el período 2016-2019. Este cambio en la distribución de los niveles de esporas podría indicar variaciones en el comportamiento de desarrollo del patógeno y el avance de la enfermedad en el viñedo debido al progresivo calentamiento del clima detectado durante los últimos años, pero esta afirmación debe ser constatada con bases de datos más largas en las que se recojan los niveles atmosféricos de esporas fúngicas y las condiciones meteorológicas.

Con respecto a la distribución intra-anual de los conidios de *E. necator* y los esporangios de *P. viticola*, no se encontraron variaciones importantes entre los períodos considerados 2008-2019 y 2016-2019. La cantidad mensual de conidios de *E. necator* fue mayor en junio, seguido de mayo y julio, coincidiendo con condiciones ambientales favorables para el desarrollo del oidio. Los registros de concentraciones atmosféricas de esporangios de *P. viticola* fueron los menores en todos los meses en comparación con los otros dos patógenos estudiados, mostrando los niveles máximos en julio, seguido de junio y mayo. Esta aparición tardía de los niveles máximos de concentraciones atmosféricas de esporangios podría indicar un estado maduro del micelio fúngico de *P. viticola*, que provocaría sucesivos ciclos secundarios de infección con altas tasas de producción y liberación de esporangios.

### -Indicadores bioclimáticos desarrollados para los patógenos de la vid estudiados

Los indicadores bioclimáticos desarrollados en este trabajo, basados en la identificación y evaluación de los principales períodos de riesgo de infección en función de las condiciones fenológicas, meteorológicas y de los niveles atmosféricos de esporas, se utilizaron para reducir el número de tratamientos fitosanitarios en el viñedo, mejorando de forma efectiva la gestión de enfermedades en el cultivo basándose en las estrategias de Control Integrado de Plagas.

Como resultado de la aplicación del modelo fúngico genérico de Magarey junto con datos fenológicos y aerobiológicos, se han identificado y evaluado de forma efectiva los principales momentos de riesgo de infección provocados por *Botrytis cinerea*, responsable de la podredumbre gris de la vid. La identificación de estos períodos de riesgo se llevó a cabo considerando los estadios fenológicos de la planta más susceptibles a la infección, que en este caso concreto son la floración (estadio 6 – escala BBCH) y la maduración de las bayas (estadio 8 – escala BBCH), y durante estos estadios se ha aplicado la ecuación genérica de Magarey, que estima el requerimiento de humedad del patógeno para alcanzar una intensidad crítica de la enfermedad a una determinada temperatura, lo cual determina la influencia de condiciones meteorológicas favorables durante una

fase fenológica susceptible. Los períodos de riesgo identificados de este modo se han evaluado mediante el análisis de las concentraciones atmosféricas de conidios de *Botrytis cinerea* durante los períodos de condiciones meteorológicas favorables identificados con la aplicación del modelo de Magarey para identificar el riesgo de infección real durante los siguientes días. En base a los niveles de esporas fúngicas, se han establecido tres categorías utilizando para ello umbrales de concentraciones de esporas, siendo momentos de alto riesgo de infección aquéllos con concentraciones mayores o iguales a 100 esporas/m<sup>3</sup>, riesgo moderado con concentraciones de entre 10 y 100 esporas/m<sup>3</sup>, y riesgo bajo con concentraciones menores que 10 esporas/m<sup>3</sup>. Esta información se ha utilizado para reducir el número de tratamientos fúngicos en el viñedo puesto que se han aplicado cuando se ha detectado un riesgo de infección importante, alcanzando una reducción de entre el 25-35% en tratamientos anuales contra *Botrytis cinerea*. Además, como resultado de la administración de un tratamiento fúngico preventivo en el estadio fenológico de aparición de las inflorescencias (estadio 5 – escala BBCH), previo a la floración, se ha logrado una mejora significativa del estado fitosanitario del viñedo, contribuyendo al control del desarrollo de fases latentes de la enfermedad y reduciendo las fuentes de inóculo para infecciones posteriores.

Para la detección de los principales momentos de riesgo de infección causados por *Erysiphe necator*, responsable del oídio de la vid, hemos considerado el estudio del desarrollo fenológico de la vid, las concentraciones atmosféricas de conidios del hongo y las condiciones meteorológicas que favorecen la dispersión de los conidios de *E. necator*. Para ello, se ha adaptado el modelo de días fisiológicos o Physiological P-days como una ecuación descriptiva para predecir los días con condiciones ambientales favorables para la dispersión de conidios de *E. necator*. En esta adaptación se han cambiado las temperaturas cardinales incluidas en la ecuación para considerar los umbrales térmicos de desarrollo del patógeno, usando temperaturas de 6, 25 y 35 °C como temperatura mínima, óptima y máxima respectivamente para el desarrollo y dispersión del hongo. Además de esta adaptación, el uso directo de los valores diarios de P-days en lugar de su acumulación, nos ha permitido relacionar las condiciones térmicas con la dispersión atmosférica de conidios a lo largo de la campaña de desarrollo de la vid, obteniendo valores diarios que indican posibles episodios de dispersión de conidios generados en ciclos de infección secundarios, lo cual ha sido corroborado por su coincidencia con altas concentraciones atmosféricas de esporas. En base a los resultados obtenidos, determinamos un rango de valores de riesgo de infección entre 100 y 160 P-days como umbral para posibles ciclos de infección secundarios y episodios de dispersión de conidios, puesto que las concentraciones atmosféricas de conidios más altas detectadas durante los picos de la estación (primer y máximo pico de esporas) se detectaron después de alcanzar este límite de valores P-days. Además, al igual que en el caso anterior, hemos propuesto la administración de un tratamiento fitosanitario en el estadio previo a la floración, puesto que ha sido identificado como altamente vulnerable en nuestra región climática por la ecuación adaptada P-days, con el objetivo de prevenir ciclos de infección y la aparición de altos niveles de esporas fúngicas en la atmósfera del viñedo. Como resultado, se ha logrado una reducción de entre el 15-25% en tratamientos fitosanitarios debido a la identificación de los principales momentos de riesgo de infección de oídio en el viñedo, lo cual ha generado una reducción en los costes de producción de 1500 € por hectárea, y un total de 3 millones de euros al año considerando la Denominación de Origen Protegida Ribeiro al completo. La información obtenida puede ser utilizada como un indicador de alerta directo del riesgo de infección secundaria, determinando la carga atmosférica de propágulos infectivos que conduce a diferentes intensidades de enfermedad en el cultivo. El estudio epidemiológico aplicado para la detección de los momentos de riesgo causados por *Plasmopara viticola*, responsable del mildiu de la vid, se basó en el principio del triángulo de la enfermedad, al igual que para los otros dos indicadores desarrollados. Este principio es uno de los paradigmas de la fitopatología, según el

cual la existencia de una enfermedad vegetal requiere de la interacción de tres agentes causales, que son la presencia de un patógeno virulento, un estado susceptible del huésped (la planta), y condiciones meteorológicas favorables para el desarrollo del patógeno; siguiendo esto, la ausencia de cualquiera de estos factores previene la enfermedad, lo cual supone una información relevante para el establecimiento de las estrategias de Control Integrado de Plagas orientadas a la reducción del número de aplicaciones de tratamientos fitosanitarios en la gestión del cultivo. Para alcanzar esto, se ha estudiado la fenología de la vid como huésped de la infección, se han analizado las concentraciones atmosféricas de esporangios de *P. viticola* como indicador biológico de la presencia de la enfermedad, y se han evaluado las condiciones meteorológicas para predecir la ocurrencia de las condiciones ambientales ideales para el desarrollo del patógeno, utilizando para ello el índice de Goidanich en este caso. Siguiendo la metodología descrita por Goidanich, se han determinado posibles brotes de la enfermedad o ciclos de riesgo de infección (Infection Risk Cycles – IRC), calculando los requerimientos tanto para contaminaciones fúngicas primarias como secundarias. Esta metodología consiste en el cálculo de un algoritmo siguiendo una tabla preestablecida, que representa el porcentaje de desarrollo fúngico variando de 0 a 100%. El IRC está completo (100%) al final del período de incubación teórico, cuando la infección fúngica es evidente, con la aparición de las “manchas de aceite” y estructuras de fructificación asexual (esporangióforos), indicadores característicos de la enfermedad. Se ha utilizado el índice de Goidanich como un indicador de las necesidades de tratamiento fitosanitario, estableciendo el 80% del valor del índice como valor umbral para el tratamiento. El uso del 80% del valor de este índice puede ser implementado como un sistema de alerta para la detección del riesgo de infección real de mildiu en el viñedo. Para ello, este índice podría usarse conjuntamente con las concentraciones atmosféricas de esporangios y datos fenológicos para detectar de forma efectiva el riesgo de enfermedad, lo cual lleva a una reducción del número de tratamientos fúngicos, reduciendo los costes económicos asociados y los posibles impactos ambientales. Además, también proponemos algunas modificaciones en las prácticas de manejo del cultivo para mejorar el estado fitosanitario del mismo, como la retirada de los restos de poda del suelo del viñedo y algunos cambios en la fecha de aplicación de los tratamientos, aplicando el primer tratamiento durante el invierno para reducir la población de oosporas de resistencia.

#### -Predicción de la cosecha de la vid

En base a los factores estudiados con influencia sobre la cosecha final, desarrollamos un modelo de predicción capaz de predecir la cosecha final de uva para la variedad Godello, considerando variables aerobiológicas, meteorológicas y variables morfológicas-florales relacionadas con la producción de polen por planta y los procesos de liberación de polen, así como características determinantes del polen implicadas en la fertilidad vegetal, como la viabilidad de los granos de polen o su capacidad de germinación. El modelo obtenido utilizó las variables meteorológicas y morfológicas-florales que mostraron la mayor influencia en la cosecha, explicando el 98.9% de la variabilidad de los datos de producción de cosecha y mostrando un gran ajuste entre los valores reales y los predichos. Las variables seleccionadas como independientes en el modelo fueron la temperatura máxima de la 2ª decena de julio, la lluvia de la 2ª decena de abril y el número de inflorescencias por cepa. La influencia estadística de las variables meteorológicas, la temperatura máxima de la 2ª decena de julio y la lluvia de la 2ª decena de abril, sobre la cosecha final de uva fue negativa, con coeficientes de correlación y de la ecuación del modelo de regresión negativos en ambos casos. La influencia negativa de la temperatura máxima de la 2ª decena de julio en la cosecha pudo deberse a los períodos detectados en los meses de julio y agosto en el viñedo de estudio de eventos de corta duración de temperaturas extremas, entre 35 y 40 °C, coincidiendo principalmente con el estadio de desarrollo del fruto (estadio 7 – escala BBCH). Estos eventos extremos de

calor durante el cuajado y desarrollo del fruto pueden provocar una desaceleración del crecimiento de las bayas y un bloqueo de la acumulación de azúcares, que puede producir pérdidas de producción debido a la reducción del desarrollo de la baya y al retraso en la maduración, comprometiendo la composición final del fruto. Los eventos de calor extremo tienen un efecto inhibitorio en varios transportadores de azúcares y enzimas metabólicas de sacarosa implicadas en el proceso de adquisición de azúcares en las bayas. Esta reducción en la acumulación de azúcares en las bayas inducida por altas temperaturas se ha relacionado con una reducción del 35% de la fotosíntesis hasta doce días después de la exposición a altas temperaturas, puesto que no hay suficiente carbono disponible para que las bayas continúen el proceso de maduración durante el evento de altas temperaturas y varios días después. La reducción de la fotosíntesis inducida por altas temperaturas está posiblemente relacionada con limitaciones en la carboxilación y la regeneración de la ribulosa-1,5-bifosfato (sustrato RuBP), puesto que el estado de activación de la enzima ribulosa-1,5-bifosfato carboxilasa/oxigenasa (RuBisCO) se inhibe a altas temperaturas.

La influencia negativa de la lluvia de la 2ª decena de abril en la cosecha final de uva puede estar relacionada con el desarrollo de enfermedades fúngicas que pueden ser provocadas por precipitaciones abundantes durante ese período. Las variables relacionadas con la presencia de agua pueden tener diferentes implicaciones en el desarrollo y productividad de la vid dependiendo de la época del año y de su intensidad. Precipitaciones abundantes durante determinadas etapas fenológicas de la planta, como las etapas primaverales, pueden favorecer el desarrollo de enfermedades fúngicas como la podredumbre gris (causada por *Botrytis cinerea*) o el mildiu (causado por *Plasmopara viticola*), lo cual tiene una importante repercusión en la cosecha reduciendo considerablemente la producción. La ocurrencia de lluvia ligera, de aproximadamente 2 mm, induce la dispersión de la podredumbre gris ya que aumenta la dispersión de conidios fúngicos a las hojas y otros órganos vegetales por el efecto de salpicadura de las gotas de agua, aumentado esta dispersión mecánica al aumentar el tamaño de la gota. La lluvia también juega un papel fundamental en el desarrollo de los ciclos de infección causados por *Plasmopara viticola*, ya que este patógeno requiere temperaturas moderadas y precipitaciones continuas de al menos 10 mm durante 24 o 48 horas para desencadenar ciclos de infección primaria, lo cual ocurre durante los estadios primaverales. Además, la presencia de agua libre posibilita ciclos de infección secundarios rápidos y sucesivos, lo que genera altas tasas de esporulación y liberación de esporangios, provocando una rápida dispersión de la enfermedad en el viñedo. Como resultado de la búsqueda de correlaciones entre los patógenos estudiados y la lluvia durante ese período, encontramos una correlación significativa entre la lluvia acumulada durante la 2ª decena de abril (del 11 al 20 de abril) y las concentraciones atmosféricas de conidios de *B. cinerea* en el período de los 20 días previos a la floración, lo que podría estar relacionado con dificultades para un adecuado proceso de fertilización. Las estructuras de resistencia de los patógenos fúngicos para soportar las condiciones invernales en el viñedo se activan durante la primavera en la cual las temperaturas y las condiciones de humedad se vuelven favorables, propagando la enfermedad en el cultivo a través de la lluvia o el viento. Las yemas y los brotes jóvenes con inflorescencias rudimentarias pueden ser infectados a principios de la primavera y antes de la floración, provocando su desecación y caída. Estas infecciones tempranas tienen un alto potencial infeccioso durante el período de prefloración, dificultando el proceso de fertilización y provocando importantes pérdidas de rendimiento de la producción.

En el caso de la variable del número de inflorescencias por cepa, encontramos una influencia estadísticamente positiva sobre la cosecha final de uva, lo cual refleja la importancia del número de racimos en la variabilidad estacional del rendimiento del cultivo. Los principales factores que influyen en la producción final del cultivo son las condiciones ambientales, el genotipo de la variedad y las técnicas de manejo del viñedo, siendo el número de racimos por cepa un factor determinante en el rendimiento de la cosecha.

-Comportamiento reproductivo de las variedades de vid estudiadas

Para la evaluación del comportamiento reproductivo de las variedades estudiadas, hemos considerado en primer lugar el índice de corrimiento (IC) o pérdida de botones florales, calculado como la relación entre el número de flores en la inflorescencia y el número de bayas en el racimo. En este trabajo, el índice de corrimiento y el índice de cuajado se consideraron como complementarios, puesto que no se han encontrado bayas sin semilla ni LGO (live green ovaries, ovarios verdes) en los racimos estudiados. En la mayoría de los casos, obtuvimos un porcentaje de cuajado de más del 50% en todos los viñedos considerados. En el caso de la variedad Godello, el valor de corrimiento medio fue del 40.5%, con un valor muy elevado en el viñedo de Cenlle en 2017, del 68%, lo cual podría indicar la influencia de los factores ambientales, como las condiciones meteorológicas o fitopatológicas, puesto que esta variedad presentó valores mucho mayores de cuajado en el resto de años y viñedos, y ha sido descrita por otros estudios como una variedad de alto índice de cuajado. El resto de las variedades estudiadas en la presente tesis doctoral en el viñedo de Cenlle, en la comarca del Ribeiro, mostraron valores de corrimiento similares que los obtenidos para Godello en 2018 del 39%, con un valor medio para el período 2017-2018 del 37% para Albariño, 47% para Treixadura y del 33% para Loureira. Estas similitudes encontradas en el índice de corrimiento de las cuatro variedades de vid podrían estar relacionadas con el régimen de temperaturas del área, aunque las características varietales determinen los valores de corrimiento en cada caso, con valores estables para cada variedad.

La viabilidad de los granos de polen, la germinación y el desarrollo del tubo polínico, son características importantes a tener en cuenta para la evaluación del funcionamiento reproductivo y la productividad de las variedades de vid, puesto que la calidad de polen es un factor esencial para asegurar una correcta producción de uva. Se evaluó la viabilidad del polen para tener en cuenta la alta sensibilidad del desarrollo de los granos de polen a las condiciones ambientales y a las características genéticas de cada variedad, identificando el porcentaje de células viables y no viables entre los granos de polen analizados. La viabilidad del polen encontrada fue mayor en 2017 que en 2018 en todas las parcelas estudiadas. Además, se han encontrado valores de viabilidad polínica mayores al aplicar el método de tinción de acetocarmín (AC) que con el método TTC (cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio) en todas las parcelas y años de estudio, con un valor de viabilidad medio del 68.75% por AC y 33.5% por TTC para la variedad Godello. Estudios previos también encontraron diferencias significativas entre ambos métodos de estudio de la viabilidad, siendo notablemente menores usando el método TTC que el método ACG (acetocarmín glicerol). Los resultados obtenidos al aplicar el método de tinción de azul de tripán sobre las variedades de vid estudiadas en la presente tesis doctoral superaron el 95% de viabilidad para las cuatro variedades, Godello, Treixadura, Loureira y Albariño, en 2018 y 2019, mostrando valores diferentes a los obtenidos mediante los métodos AC y TTC. Al aplicar este método, se obtuvo que la variedad Godello mostró los valores de viabilidad más altos y estables, con un 99% de viabilidad en ambos años, mientras que la variedad Treixadura mostró el menor valor en 2019, con un 97% de viabilidad, y un valor del 98% en 2018, no llegando a alcanzar el valor del 99% en ningún año estudiado. Las variedades Loureira y Albariño también alcanzaron el 99% de viabilidad en 2019, pero con menores valores en 2018, del 97% para Loureira y 98% para Albariño.

Como resultado de los estudios in vitro de germinación del polen aplicados, se han encontrado valores de germinación próximos al 30% en 2018, y próximos al 5% en 2017 en todos los viñedos estudiados para la variedad Godello. En base a los resultados obtenidos, hemos establecido que posiblemente las condiciones ambientales en 2017 pudieron haber afectado negativamente a la capacidad de germinación del polen, puesto que se estudiaron las mismas plantas en ambos años, 2017 y 2018. Paralelamente, el polimorfismo de los

granos de polen es un fenómeno extendido entre las plantas superiores que podría estar relacionado con la productividad irregular de algunas variedades de vid, como Loureira. La presencia de formas acolporadas de polen, de forma circular debido a la ausencia de colpos o poros germinativos, podría explicar en parte los bajos valores de germinación encontrados en 2017 para Godello que coinciden con valores elevados de viabilidad polínica, puesto que las formas acolporadas de polen son viables, pero sin capacidad de germinación.

-Nuevas líneas de investigación: combinación de análisis aerobiológicos e inmunológicos para la gestión del riesgo de infección

Se ha desarrollado una nueva metodología basada en la combinación del monitoreo aerobiológico y técnicas inmunológicas para la detección y cuantificación de concentraciones atmosféricas de proteínas presentes en la atmósfera del viñedo atribuibles al material germinativo de los conidios de *Botrytis cinerea*. Los resultados obtenidos mostraron que la metodología propuesta detectó y cuantificó de manera efectiva el material proteínico de *Botrytis cinerea* recogido mediante el captador ciclónico, puesto que se ha encontrado un patrón de variación de las concentraciones de proteínas similar al de los niveles de esporas fúngicas recogidos por el captador volumétrico tipo Hirst. Esta similitud, a pesar de que ambas variables fueron obtenidas con dos captadores diferentes, muestra la efectividad de la metodología aplicada para la detección del patógeno.

Para evaluar la influencia de las condiciones meteorológicas en las concentraciones atmosféricas de espora (conidios de *Botrytis cinerea*) y de proteína, aplicamos un Análisis de Componentes Principales (ACP), uno de los análisis de correlación aplicados en este estudio. El ACP de 2017 extrajo tres componentes principales que explicaron el 78.85% de la varianza de los datos. El primer componente agrupó las concentraciones atmosféricas de proteína con las temperaturas media y máxima, mostrando la influencia de estas variables térmicas en las concentraciones atmosféricas de proteína. Las concentraciones atmosféricas de espora fueron agrupadas en el tercer componente junto con la velocidad del viento, lo que refleja la influencia de esta variable en los niveles atmosféricos de espora, mostrando el efecto de dispersión del viento. El ACP de 2018 también extrajo tres componentes principales, que explicaron el 78.71% de la varianza de los datos. En este caso, las concentraciones atmosféricas de espora y proteína se agruparon en el tercer componente, con una relación negativa, lo que indica una influencia inversa entre ellas. Esta relación estadística podría deberse al efecto inhibitorio de concentraciones de espora elevadas sobre la germinación de los conidios, como se ha descrito previamente para *Botrytis cinerea* y otras especies fúngicas.

Con el objetivo de predecir las concentraciones atmosféricas de proteína en función de las concentraciones de espora y de las principales variables meteorológicas con la mayor influencia estadística, obtuvimos un modelo de regresión estadísticamente significativo que refleja la relación entre los niveles atmosféricos de espora y proteína, y que explica el 40% de la variabilidad de los datos de concentración de proteína. Las variables seleccionadas como independientes en el modelo han sido las concentraciones atmosféricas de espora, la humedad relativa, y el punto de rocío de 4 días antes. Ambas variables meteorológicas, las dos relacionadas con la presencia de agua, mostraron una influencia estadística negativa sobre las concentraciones de proteína, lo que puede deberse al efecto de estas variables en el desarrollo del hongo. En condiciones de campo, niveles altos de humedad indican la presencia de agua que puede producir una dilución o lavado de compuestos azucarados de las superficies vegetales, afectando negativamente a la germinación de conidios y el proceso de infección. El modelo obtenido se ha validado mediante la prueba t de Student para muestras dependientes entre los valores reales y predichos de concentraciones de proteínas del 2018, no incluidos en el desarrollo del modelo. Según los resultados de esta prueba estadística, no se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los valores reales y los predichos con un nivel de confianza del 95%.



## CONCLUSIONES

En la presente tesis doctoral se ha desarrollado una metodología basada en el estudio de los factores influyentes en la producción final de uva desde diferentes puntos de vista de las interacciones planta-patógeno-ambiente. En base a los resultados obtenidos, se ha obtenido un modelo de predicción que explica una elevada proporción de la variabilidad de los datos de producción de uva, y que además ofrece estos resultados con una antelación de aproximadamente dos meses con respecto a la cosecha, lo cual permite la organización y optimización de las tareas de manejo del cultivo, vendimia, y trabajos de bodega, la contratación de seguros agrarios, y la detección de posibles fraudes por la introducción de uva foránea en la Denominación de Origen Protegida. Además, el modelo desarrollado supone un valioso recurso que permite considerar la variabilidad de la productividad del cultivo asociada a los impactos de cambio climático, puesto que tiene en cuenta los principales factores meteorológicos y variables morfológicas-florales que afectan a la cosecha final de uva. La inclusión de técnicas inmunológicas en la metodología desarrollada, en la que se combinan con el monitoreo aerobiológico, supone una mejora en los límites de detección de los momentos de riesgo de infección puesto que las concentraciones de proteína germinativa son un indicador de la capacidad infectiva real del hongo en el viñedo en un momento determinado, lo que conduce a una detección del riesgo de infección más precisa y en tiempo real que mejora la efectividad de los modelos epidemiológicos. Las metodologías y técnicas desarrolladas en este estudio son herramientas potenciales para la implementación de las estrategias de Control Integrado de Plagas para alcanzar una producción más sostenible y una capacidad de respuesta más eficaz a la variabilidad creciente en el sistema cultivo-patógeno asociada al cambio climático.