

FICHA TÉCNICA

Aplicación de *Trichoderma* para proteger las herida de poda de la vid

Para proteger las heridas de poda



Red de Intercambio y transferencia de conocimientos innovadores entre las regiones vitícolas europeas



Este proyecto ha recibido financiación del programa de investigación e innovación de la Unión Europea Horizon 2020 dentro del acuerdo de financiación N° 652601

Aplicación de *Trichoderma* para proteger las herida de poda de la vid

Introducción

Las enfermedades de la madera limitan significativamente la productividad y la longevidad de los viñedos en la mayoría de las regiones vitícolas del mundo. Las enfermedades de la madera atacan la estructura leñosa permanente de la vid, incluidos tronco, cordones y pulgares (Baumgartner, 2013). Los patógenos asociados con las enfermedades de la madera de la vid, son capaces de infectar cepas sanas fundamentalmente a través de las heridas de poda y estas heridas pueden permanecer varios meses. Es importante destacar que no hay métodos de curación para controlar las EM, lo único que se puede hacer es prevenir o limitar la infección de las enfermedades de la madera utilizando diversas prácticas culturales. La prevención de infecciones en las heridas utilizando agentes de bio control es una de las técnicas utilizadas para controlar las enfermedades de la madera. Especies del género *Trichoderma* (un hongo ascomiceto originalmente presente en el suelo) han sido investigadas varias veces como potenciales agentes de bio control debido a su competencia espacial y nutritiva

Area de aplicación

El uso de *Trichoderma* para proteger las heridas de poda es una práctica muy popular e implementada por muchos viticultores en Europa.



Figura 1: Áreas vitícolas Europeas donde se aplica la *Trichoderma* (resultado de las entrevistas realizadas en WInetwork)

Aplicación práctica

Las distintas variedades de *Trichoderma spp.* son capaces de colonizar aproximadamente 1-2 cm de las heridas de poda y prevenir la penetración (en la madera) de patógenos asociados a las EM. La colonización de *Trichoderma* en las heridas de poda depende del estado fisiológico de las cepas y de las condiciones climáticas durante la poda. La temporada de poda coincide con la liberación de esporas las cuales provienen normalmente de la madera infectada. La madera puede permanecer susceptible bastante tiempo (hasta 4 semanas o más, dependiendo de la EM), pero el momento más crítico para las infecciones es entre 2 y 8 semanas después de la poda (Eskalen et al. 2007, Van Niekerk et al. 2011b).

1- Momento de aplicación

Aunque normalmente la *Trichoderma* no está limitada por las condiciones climáticas, la época en la que se realice el tratamiento puede mejorar su eficacia a la hora de colonizar las heridas y, de esta manera, su capacidad de protección. Por encima de los 0°C de temperatura puede ser una temperatura correcta, aunque algunas especies de *Trichoderma* requieren temperaturas más altas (por encima de los 10°C). Es importante también destacar que la *Trichoderma spp.*, al ser un agente de biocontrol, es susceptible a la congelación. El mejor momento de aplicación podría ser inmediatamente después de la poda para limitar el período de susceptibilidad de las heridas a las nuevas infecciones de EM. Diferentes estudios demostraron que los mejores resultados de colonización podrían conseguirse con tratamientos hechos 5 o 6 horas después de la poda. (Harvey et al., 2006, Mutawila et al., 2016).

Algunos productores recomiendan aplicar los productos de *Trichoderma* durante el lloro, ya que la presencia de savia ayuda al patógeno a colonizar las heridas más rápidamente. Al mismo tiempo, es importante comprobar la predicción meteorológica antes de la aplicación, ya que las lluvias intensas pueden interferir con el inicio de la colonización, arrastrando la *Trichoderma*.

Los científicos recomiendan plantar las vides que han sido inoculadas con *Trichoderma spp* en el vivero durante el proceso de propagación y con tratamientos repetidos 2 o 3 años después de plantar. A partir de ahí es altamente reco-

mendable repetir la aplicación (Sonowski, 2016). Las heridas grandes y pequeñas deberían ser tratadas con un agente de biocontrol, ya sea mediante pulverización o pintura, según las posibilidades económicas o el valor del viñedo.

2- Modo de aplicación

La práctica de la protección de heridas preventiva debería comenzar en cepas de 1 año tras la primera poda y continuar cada año a partir de entonces (Sosnowski, 2016). Deben tratarse tanto las heridas pequeñas como las grandes con el agente de biocontrol, usando un pulverizador con las boquillas dirigidas hacia el cordón (Sosnowski, 2016). Cuando se utilizan atomizadores, se puede conseguir una cobertura máxima si se apagan los ventiladores (sin aire), se aplica una tasa alta de agua a baja presión, seleccionando boquillas que generen grandes tamaños de gota y dirigiendo las boquillas hacia las zonas heridas.

Se han probado distintos pulverizadores (pulverizadores de tratamiento herbicida adaptados, pulverizador con pantalla antideriva, atomizador y nebulizador en cepas con poda a vara o a pulgar, modificando el volumen de agua. De acuerdo con los resultados obtenidos, es importante seleccionar el pulverizador adecuado y la cantidad de agua necesaria para alcanzar la máxima cobertura de las cepas.

A la hora de preparar el tratamiento, es muy recomendable limpiar con cuidado el tanque de residuos de fungicidas previos para no “desactivar” la *Trichoderma*.

Uno de los obstáculos más importantes para el uso y difusión de *Trichoderma* es la variabilidad en los resultados obtenidos por los viticultores. De hecho numerosos factores pueden influir en la capacidad de biocontrol de los productos basados en la *Trichoderma*, como son, la cepa de *Trichoderma* utilizada, el método utilizado para su distribución, el estado fenológico de las cepas, el tiempo transcurrido entre poda y aplicación de la *Trichoderma*, la interacción del antagonista (*Trichoderma*) con la planta huésped y por último pero no menos importante, los factores medioambientales (Di Marco et al., 2004.). Además, la actividad de biocontrol puede variar dependiendo de las variedades de vid, (Mutawila et al. 2011a). Todos estos factores, si no se gestionan correctamente o no se toman en consideración, pueden producir resultados insatisfactorios. Por tanto es muy importante no considerar el tratamiento con *Trichoderma* similar a un tratamiento químico.

Resultados

Entre todas las especies y cepas de *Trichoderma*, son varias las usadas en las diferentes regiones europeas para proteger las heridas de poda: *Trichoderma atroviride* SC1 y I1237, *Trichoderma asperellum* ICC012, *Trichoderma gamsii* ICC 080 y *Trichoderma harzianum* ICC012 :

- El hongo *Trichoderma atroviride* SC1 ha sido aislado de la madera muerta de avellano y seleccionado por su alta capacidad de colonización y su gran productividad de enzimas hidrolíticas (quitinasas, proteasas y celulasas). *Trichoderma atroviride* SC1 es altamente competitivo y un eficiente antagonista contra los hongos *Phaeoacremonium minimum* y *Phaeomoniella chlamydospora*, siendo por tanto capaz de reducir las infecciones que anualmente se producen por los patógenos asociados a la Yesca (D'Enjoy et al., 2016.).
- *Trichoderma atroviride* I1237 tiene la ventaja de que coloniza rápido las heridas de poda, para competir por los nutrientes y por el espacio con los hongos patógenos, así como sus propiedades antibiosis y micoparasitismo.
- *Trichoderma asperellum* and *Trichoderma gamsii* ICC 080 pueden tener un efecto sobre los patógenos de las EM (especialmente sobre P.Ch) a 10 y 15°C respectivamente. Ambas especies sobreviven a 5°C.

Para futuras aplicaciones prácticas, se deberían llevar a cabo ensayos experimentales que confirmen su eficacia en distintas condiciones de aplicación, aunque *Trichoderma atroviride* SC1 (Vintec, Belchim Protección de Cultivos; 2 x 1010 conidia g-1 producto formulado) se espera que sea un competidor fuerte robusto y adaptable para otros microorganismos, ya que se trata de una variedad de crecimiento rápido en un rango de 5-37°C de temperatura y un buen colonizador de la madera (Longa et al., 2008).

“La efectividad protectora de los tratamientos basados en *Trichoderma* spp. depende de la habilidad de estos hongos para colonizar las heridas de poda en las cepas (John et al., 2008). Normalmente necesitan un periodo de tiempo para que su colonización sea completa, durante el cual las cepas podadas son susceptibles a infecciones o a que el tratamiento sea lavado por las lluvias. Sin embargo, los métodos basados en *Trichoderma* requieren más pruebas en el campo para que puedan ser evaluados de modo más preciso y posiblemente podrían optimizarse mediante una combina-



Trichoderma atroviride SC1 (DLR Rheinpfalz)

Aplicación de *Trichoderma* para proteger las herida de poda de la vid



Figura 3: Tratamiento de las heridas de poda en un viñedo afectado por la Yesca. (Eszterházy Károly University, N. Burghardt)

ción de manejo (como la combinación con otros productos biológicos o químicos, cirugía correctiva, reducción del número y tamaño de las heridas de poda y aplicación de métodos sanitarios)” (Bertsch et al., 2013).

Algunos elementos científicos

Una forma de controlar las enfermedades de la madera de la vid es protegiendo las heridas de poda mediante aplicaciones fungicidas. Esto puede ser problemático debido a; el número limitado de productos registrados, la dificultad de estos productos para controlar organismos taxonómicamente independientes, el reto que tienen para proteger durante el periodo de susceptibilidad de la madera, las dificultades y costes asociados con la aplicación manual de los tratamientos (Rolshausen et al., 2010.).

La integración de fungicidas con agentes biológicos para la protección de las heridas de poda, podría proveer un mejor control, aunque está limitada por la susceptibilidad de los agentes de biocontrol a los fungicidas.

La mejor forma de gestionar las EM en los viñedos es previniendo que los patógenos penetren a través de las heridas de poda. Los productos protectores de las heridas deberían ser efectivos contra todos los patógenos de la madera y además proteger la madera durante todo el periodo de susceptibilidad de las heridas. Generalmente, el objetivo de los tratamientos contra las heridas de poda es inhibir el crecimiento micelial en la misma herida y/o sellar la herida para prevenir infecciones (Newsome, 2012.). Los hongos *Trichoderma* son conocidos como hongos que muestran actividad antagonista y de hiper parasitismo respecto a otros microorganismos y se usan como control biológico para varias enfermedades.

Aunque su forma de actuar no se entiende totalmente, parece estar relacionada con el micoparasitismo, la producción de compuestos inhibidores, la competencia por nutrientes y espacio con hongos patógenos, estimulación del crecimiento de las plantas y mejora de la resistencia del huésped (Di Marco et al., 2004). Desde el año 2000 se han llevado a cabo varios ensayos para evaluar la eficacia de *Trichoderma* spp en el control de las EM. Los resultados de estos estudios han mostrado globalmente que la *Trichoderma* spp. tiene una eficiencia parcial de acuerdo a los métodos de evaluación usados para el control de los principales patóge-

Botryosphaeria	Eutipiosis	Complejo Yesca
Trichoderma spp <i>T. harzianum, T. atroviride and variedad mutante resistente al Benzimidazol.</i> ENSAYADO: Protección Heridas de Poda	Trichoderma spp <i>T. harzianum, T. atroviride, variedad mutante resistente al Benzimidazole.</i> ENSAYADO: para actividad degradadora de los metabolitos tóxicos de Eutipiosis Para protección de las heridas de poda	Trichoderma spp <i>T. harzianum, T. atroviride, T. longibrachiatum y cepa mutante r resistente al Benzimidazol.</i> ENSAYADO: Protección Heridas de Poda
Bacillus subtilis EE aislado ENSAYADO: Protección Heridas de Poda	Bacillus subtilis EE aislado ENSAYADO: Protección Heridas de Poda	Bacillus subtilis EE aislado ENSAYADO: Protección Heridas de Poda
		Pythium oligandrum ENSAYADO: resistencia inducida por colonización de la raíz

Table 1: ACBs usados para controlar EM (Yesca, Botryosphaeria y Eutipiosis)

nos de EM en la heridas de poda en campo y los cortes en vivero. Además, gracias a su amplio espectro de actividad, la *Trichoderma* es capaz de retrasar las infecciones de un amplio rango de patógenos de EM, permaneciendo hasta un año en los tejidos leñosos por debajo de la herida. Al ser un producto “vivo”, su eficiencia podría estar influenciada por el medioambiente. En particular la capacidad de colonización de la herida y la persistencia de las especies *Trichoderma* puede depender de factores intrínsecos en la herida y por tanto puede variar entre variedades y del estado fisiológico de la vid en el cual la *Trichoderma* es aplicada (Buez et al, 2014; Di Marco, 2007). Además, el efecto de protección de heridas mediante la *Trichoderma* también depende de la interacción con la vid, ya que no sólo es debido al efecto supresor directo de la *Trichoderma* sobre los patógenos, como ha sido publicado por algunos investigadores (Mutawila et al, 2011).



Especies de *Trichoderma* (DLR Rheinland)

Más información

www.winetwork-data.eu

Fichas técnicas:

- Buenas prácticas de poda
- Estrategia integral del viñedo

Video seminarios:

- [Resumen científico de las enfermedades de la madera de la vid](#)(Dr. Vincenzo Mondello, URCA)
- [Síntomatología y epidemiología de las enfermedades de madera de la vid](#)(Dr. Vincenzo Mondello, URCA)

Fuentes de información

- Aloi C., G. Bigot G., P.P. Bortolotti P.P., M. Cotromino M., S. Di Marco S., F. Faccini F., A. Montermini A., L. Mugnai L., R. Nannini R., F. Osti F., F. Reggiori F., 2014. Remedier® (*Trichoderma Asperellum* e *Trichoderma Gamsii*): nuova opportunità di contenimento del complesso del mal dell'Esca della vite. Risultati di quattro anni di sperimentazione in Italia. Atti Giornate Fitopatologiche. (2014), 2, 363-372
- Baumgratner K. Development of early-detection technologies for trunk diseases of grape. (2013) OECD Theme 2. Sustainability in Practice.
- Bertsch C., M. Ramírez-Suero, M. Magnin-Robert, P. Larignon, J. Chong, E. Abou-Mansour, A. Spagnolo, C. Clément and F. Fontaine Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood (review) Plant Pathology (2013) 62, 243–265.
- D'Enjoy G., Nesler A., Frati S., *Trichoderma atroviridae* SC1 is a tool for life-long protection of grape against trunk diseases Natural Products & Biocontrol (2016)
- Di Marco S., F. Osti, A. Cesari Experiments on the control of esca by *Trichoderma* Phytopathol. Mediterr. (2004) 43, 108–115
- Eskalen A., A.J. Feliciano, and W.D. Gubler. Susceptibility of grapevine pruning wounds and symptom development in response to infection by *Phaeoacremonium aleophilum* and *Phaeoconiella chlamydospora* (2007) Plant Dis. 91:1100-1104
- Harvey I.C., J.S. Hunt Penetration of *Trichoderma harzianum* into grapevine wood from treated pruning wounds, New Zealand Plant Protection(2006) 59:343-347
- John S., Wicks TJ, Hunt JS, Scott ES, Colonisation of grapevine wood by *Trichoderma harzianum* and *Eutypa lata*. Australian Journal of Grape and Wine Research (2008) 14, 18–24.
- Longa C.M.O., Pertot I., Tosi S. Ecophysiological requirements and survival of a *Trichoderma atroviride* isolate with biocontrol potential. J Basic Microbiol (2008) 48:269–277
- Mondello V. BCAs used to control GTDs (Esca, Botryosphaeria and Eutypa dieback) Winetwork project SWG meeting minutes (2016)
- Mugnai L. What preventative measures could growers take to prevent the entry of GTD agents into a vineyard? –Presentation at Wineskills Masterclass on Grapevine Trunk Disease (2012)
- Mutawila C., F. Halleen, L. Mostert Development of benzimidazole resistant *Trichoderma* strains for the integration of chemical and biocontrol methods of grapevine pruning wound protection BioControl (2015) 60:387-399
- Mutawila C., F. Halleen, L. Mostert Optimisation of time of application of *Trichoderma* biocontrol agents for protection of grapevine pruning wounds Australian Journal of Grape and Wine Research 22, (2016) 279–287
- Mutawila C., P.H. Fourie, F. Halleen, L. Mostert Grapevine cultivar variation to pruning wound protection by *Trichoderma* species against trunk pathogens Phytopathol. Mediterr. (2011) 50 (Supplement), S264–S276
- Newsome J. Grapevine Trunk Disease, A review (2012)
- Rolshausen P. E., J. R. Úrbez-Torres, S. Rooney-Latham, A. Eskalen, R. J. Smith, W. D. Gubler Evaluation of pruning wound susceptibility and protection against fungi associated with grapevine trunk diseases Am. J. Enol. Vitic. (2010) 61:1
- Sosnowski M., D. Mundy, P. Vanga, M. Ayres Practical management of grapevine trunk diseases NZ wine project outcome (2016)
- Van Niekerk J., W. Bester, F. Halleen, P. Crous, and P. Fourie, The distribution and symptomatology of grapevine trunk disease pathogens are influenced by climate. Phytopathologia Mediterranea 50 (4) (2011), 98–111
- Forscher testen Mittel gegen «Rebenkiller»-Pilz Esca
- G. E. Harman, Cornell University, Geneva, NY 14456 <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php>



Trabajo llevado a cabo por los agentes facilitadores del proyecto Winetwork. Los datos proceden del conocimiento práctico recabado en las 219 entrevistas realizadas y de la revisión de bibliografía.