

UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA

Efecto de la termoterapia con agua caliente para el control de *Xylella fastidiosa* sobre plantas de vivero de vid.

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Máster Universitario en Ingeniería Agronómica

ALUMNO: Vicent Soler Pons

TUTORA: Dra. Núria Pascual Seva

TUTOR EXTERNO: D. Vicente Durá Barceló

Curso académico: 2020/2021

VALENCIA, 26 de julio de 2021

Título: Efecto de la termoterapia (tratamiento con agua caliente) para el control de *Xylella fastidiosa* en plantas de vivero de vid

Resumen:

La *Xylella fastidiosa* es una bacteria que presenta un gran potencial patógeno sobre diversas especies. En el caso de la vid (*Vitis vinifera L.*), el “Plan de contingencia de la Comunitat Valenciana frente a *Xylella fastidiosa*” contempla el uso de la termoterapia (con agua caliente), aunque hasta donde se conoce no existen estudios que analicen el efecto de esta tecnología a nivel comercial. Por lo que el presente Trabajo Final de Máster tiene como objetivo principal comprobar el efecto del tratamiento con agua caliente (termoterapia) para el control de *Xylella fastidiosa* en plantas de vivero de vid, comparando su impacto sobre el desarrollo vegetativo de distintas combinaciones de variedades y portainjertos. Para conseguir este objetivo, se determinó si el material vegetal sometido a termoterapia había sufrido o no daños durante su desarrollo vegetativo en el vivero.

Para ello se realizó un plan de injerto con combinaciones de variedades de vid (uva tinta, uva blanca y uva de mesa) con distintos portainjertos (Richter 110, Ruggeri 140, Paulsen 1103, Millardet Grasset 41B y Selection Oppenheim nº4 SO4). Más concretamente, se utilizaron las siguientes variedades de vid:

- Uva tinta: Garnacha Tintorera (Alicante Bouschet), Tempranillo y Tinto Pámpana Blanca
- Uva blanca: Airén y Parellada
- Uva de mesa: Moscatel Italia, Regal Seedless y Victoria

Una vez realizada la plantación, durante el desarrollo vegetativo, se procedió a realizar en distintos momentos de su desarrollo un control de cada uno de los lotes del vivero, determinándose la brotación, la longitud del crecimiento vegetativo y del crecimiento de los entrenudos de los sarmientos. Y tras el arranque de las plantas, se determinó el porcentaje de injertos que habían sobrevivido (y por tanto el porcentaje de supervivencia definitivo).

Tras estudiar los datos obtenidos mediante análisis de la varianza (ANOVA), utilizando el programa Statgraphics, se llegó a la conclusión, de que el tratamiento con termoterapia no afectaba de igual manera a todas las combinaciones, sino que según el portainjerto y la variedad de *Vitis vinifera L.* que se había elegido, se obtuvo un resultado satisfactorio o no.

En cuanto, al porcentaje de brotación, destacó el efecto del tratamiento sobre los portainjertos P-1103, SO4 y 41-B, dando como resultado una mayor brotación en las plantas que habían sido tratadas con agua caliente. Por otro lado, en el crecimiento vegetativo el tratamiento con agua caliente, o bien no tuvo efecto sobre el crecimiento o provocó un ligero retardo, para la mayor parte de las combinaciones. Y más aún, adentrándose un poco más en el estudio del crecimiento vegetativo, se concluyó que, en el crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo, el efecto del tratamiento influyó significativamente sobre los portainjertos R-110, P-1103, SO4 y 41-B. Finalmente, en referencia a los resultados del porcentaje de supervivencia, el tratamiento con termoterapia tuvo un efecto positivo en un total de 11 combinaciones, donde se obtuvo un resultado de supervivencia igual o mayor a las plantas sin tratar.

Palabras clave: *Vitis vinifera L.*, portainjerto, agua caliente, bacteria.

Alumno: Vicent Soler Pons

Tutora académica: Dra. Núria Pascual Seva

Tutor externo: D. Vicente Durà Barceló

Valencia, 26 de julio de 2021

Títol: Efecte de la termoteràpia (tractament amb aigua calenta) per al control de *Xylella fastidiosa* en plantes de viver de vinya

Resum:

La *Xylella fastidiosa* és una bactèria que presenta un gran potencial patògen sobre diverses espècies. En el cas de la vinya (*Vitis vinifera* L.), el “Pla de contingència de la Comunitat Valenciana enfront de *Xylella fastidiosa*” contempla l'ús de la termoteràpia (amb aigua calenta), encara que fins on es coneix no existeixen estudis que analitzen l'efecte d'aquesta tecnologia en l'àmbit comercial. Pel que el present Treball Final de Màster té com a objectiu principal comprovar l'efecte del tractament amb aigua calenta (termoteràpia) per al control de *Xylella fastidiosa* en plantes de viver de vinya, comparant el seu impacte sobre el desenvolupament vegetatiu de diferents combinacions de varietats i portaempelts. Per aconseguir aquest objectiu, es va determinar si el material vegetal sotmés a termoteràpia havia patit o no danys durant el seu desenvolupament vegetatiu en el viver.

Per a això es va dur a terme un pla d'empelt amb combinacions de varietats de vinya (raïm negre, raïm blanc i raïm de taula) amb diferents portaempelts (Richter 110, Ruggeri 140, Paulsen 1103, Millardet Grasset 41B i Selection Oppenheim núm. 4 SO4). Més concretament, es van utilitzar les següents varietats de vinya:

- Raïm negre: Tintorera (Alacant Bouschet), Tempranillo i Tinto Pámpana Blanca
- Raïm blanc: Airén i Parellada
- Raïm de taula: Moscatell Itàlia, Regal Seedless i Victoria

Una vegada realitzada la plantació, durant el desenvolupament vegetatiu, es va procedir a realitzar en diferents moments del seu desenvolupament un control de cadascun dels lots del viver, determinant-se la brotada, la longitud del creixement vegetatiu i del creixement dels entrenucs dels sarments. I després de l'arrancada de les plantes, es va determinar el percentatge d'empelts que havien sobreviscut (i per tant el percentatge de supervivència definitiu).

Després d'estudiar les dades obtingudes mitjançant anàlisis de la variància (ANOVA), utilitzant el programa Statgraphics, es va arribar a la conclusió, que el tractament amb termoteràpia no afectava d'igual manera a totes les combinacions, sinó que segons el portaempelt i la varietat de *Vitis vinifera* L. que s'havia triat, es va obtenir un resultat satisfactori o no.

Pel que fa, al percentatge de brotada, va destacar l'efecte del tractament sobre els portaempelts P-1103, SO4 i 41-B, donant com a resultat una major brotada en les plantes que havien sigut tractades amb aigua calenta. D'altra banda, en el creixement vegetatiu el tractament amb aigua calenta, o bé no va tindre efecte sobre el creixement o va provocar un lleuger retard, per a la major part de les combinacions. I més encara, endinsant-se un poc més en l'estudi del creixement vegetatiu, es va concloure que, en el creixement entre el sisé i seté entrenuc, l'efecte del tractament va influir significativament sobre els portaempelts R-110, P-1103, SO4 i 41-B. Finalment, en referència als resultats del percentatge de supervivència, el tractament amb termoteràpia va tindre un efecte positiu en un total d'11 combinacions, on es va obtenir un resultat de supervivència igual o major a les plantes sense tractar.

Paraules clau: *Vitis vinifera* L., portaempelt, aigua calenta, bactèria.

Alumne: Vicent Soler Pons

Tutora acadèmica: Dra. Núria Pascual Seva

Tutor extern: D. Vicente Durà Barceló

València, 26 de juliol de 2021

Title: Effect of thermotherapy (hot water treatment) for the control of *Xylella fastidiosa* in grapevine nursery plants.

Summary:

Xylella fastidiosa is a bacterium with a great pathogenic potential on several species. In the case of grapevine (*Vitis vinifera L.*), the "Contingency plan of the Valencian Community against *Xylella fastidiosa*" contemplates the use of thermotherapy (with hot water), although as far as is known there are not studies that analyse the effect of this technology at a commercial level. Therefore, the main objective of this Master's thesis is to test the effect of hot water treatment (thermotherapy) for the control of *Xylella fastidiosa* in grapevine nursery plants, comparing its impact on the vegetative development of different combinations of varieties and rootstocks. To achieve this objective, it was determined whether or not the plant material subjected to thermotherapy had suffered damage during its vegetative development in the nursery.

For this purpose, a grafting plan was carried out with combinations of vine varieties (red grape, white grape and table grape) with different rootstocks (Richter 110, Ruggeri 140, Paulsen 1103, Millardet Grasset 41B and Selection Oppenheim n°4 SO4). Specifically, the following grape varieties were used:

- Red grape: Garnacha Tintorera (Alicante Bouschet), Tempranillo and Tinto Pámpana Blanca.
- White grape: Airén and Parellada
- Table grapes: Moscatel Italia, Regal Seedless and Victoria.

After planting, during vegetative development, each of the batches in the nursery was monitored to determine sprouting, the length of vegetative growth and the length of shoot internode growth. After the plants were pulled up, the percentage of grafts that had survived (and therefore the definitive survival rate) was determined.

After studying the results obtained by analysis of variance (ANOVA), using the Statgraphics programme, it was concluded that the thermotherapy treatment did not affect all the combinations in the same way, but that depending on the rootstock and the variety of *Vitis vinifera L.* that had been chosen, a satisfactory result was obtained or not.

In terms of the percentage of sprouting, the effect of the treatment on the P-1103, SO4 and 41-B rootstocks, resulting in greater sprouting on the plants that had been treated with hot water. On the other hand, in vegetative growth, the hot water treatment either had no effect on growth or caused a slight delay for most of the combinations. Furthermore, going further into the study of vegetative growth, it was concluded that, in the growth between the sixth and seventh internode, the effect of the treatment had a significant influence on the rootstocks R-110, P-1103, SO4 and 41-B. Finally, in reference to the results of the survival percentage, the thermotherapy treatment had a positive effect in a total of 11 combinations, where the survival result was equal to or higher than that of the untreated plants.

Key words: *Vitis vinifera L.*, rootstock, hot water, bacteria.

Student: Vicent Soler Pons

Academic tutor: Dr. Núria Pascual Seva

External tutor: D. Vicente Durà Barceló

Valencia, 26th July 2021

A Núria Pascual Seva por toda la ayuda recibida durante el trabajo.
A la empresa Viveros Enrique Bravo S.L. por la ayuda prestada en todo momento.
A todos mis compañeros/as de trabajo.
A toda mi familia.

ÍNDICE

1. Introducción	1
1.1. Viveros de plantas de vid	1
1.1.1. Origen	1
1.1.2. Superficie en España	1
1.1.3. Proceso viverístico	2
1.2. Viveros Enrique Bravo S.L	3
1.2.1. Proyecto I+D TERMOXYVID	4
1.3. Xylella fastidiosa	4
1.3.1. Síntomas y daños	5
1.3.2. Situación en la Comunidad Valenciana	5
1.3.3. Medidas de control	6
1.3.4. Termoterapia	8
2. Objetivos	9
3. Material y métodos	10
3.1. Material vegetal	10
3.1.1. Portainjertos	10
3.1.2. Variedades de <i>Vitis Vinifera L.</i>	11
3.1.3. Plan de injertación (Portainjerto-variedad)	11
3.2. Situación geográfica de las pruebas	14
3.2.1. Nivel industrial (termoterapia)	14
3.2.2. En campo (Vivero experimental)	14
3.3. Pruebas para determinar la ausencia de daños al material vegetal	15
3.3.1. Supervivencia de injertos en brotación	16
3.3.2. Crecimiento vegetativo	16
3.3.3. Supervivencia de injertos al final de la etapa de desarrollo vegetativo	16
3.4. Análisis estadístico	17
4. Resultados	18
4.1. Richter 110 (R-110)	18
4.2. Ruggeri 140 (RU-140)	21
4.3. Paulsen 1103 (P-1103)	23
4.4. Selección Oppenheim de Teléki nº4 (SO4)	26
4.5. 41-B Millardet y de Grasset (41-B)	28
4.6. Termoterapia x2 (Aplicación del tratamiento termoterapia a portainjertos y yemas)	31
5. Discusión	34
6. Conclusiones	37
7. Bibliografía	38

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Superficie total (hectáreas), dedicada a viveros de viñedo en España por comunidades autónomas (MAPAMA,2019).

Tabla 2. Variedades de portainjertos utilizadas y cantidad de cada una de ellas.

Tabla 3. Resumen de las diferentes combinaciones portainjerto- variedad utilizadas para comprobar supervivencia y desarrollo de plantas injertadas en vivero establecido en campo una vez sometidos los portainjertos a termoterapia y en ocasiones también las yemas de la variedad.

Tabla 4. Cuadro resumen del Análisis de la varianza sobre las diferentes pruebas (% brotación, crecimiento vegetativo y crecimiento entrenudos) realizadas para determinar si el tratamiento de termoterapia al portainjerto Richter 110 (R-110) causa o no efectos significativos sobre su desarrollo vegetativo al ser injertado con variedades diferentes de *Vitis vinífera* L., respecto a unas plantas sin tratamiento (plantas control).

Tabla 5. Cuadro resumen del Análisis de la varianza sobre las diferentes pruebas (% brotación, crecimiento vegetativo y crecimiento entrenudos) realizadas para determinar si el tratamiento de termoterapia al portainjerto Ruggeri 140 (RU-140) causa o no efectos significativos sobre su desarrollo vegetativo al ser injertado con variedades diferentes de *Vitis vinífera* L., respecto a unas plantas sin tratamiento (plantas control).

Tabla 6. Cuadro resumen del Análisis de la varianza sobre las diferentes pruebas (% brotación, crecimiento vegetativo y crecimiento entrenudos) realizadas para determinar si el tratamiento de termoterapia al portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) causa o no efectos significativos sobre su desarrollo vegetativo al ser injertado con variedades diferentes de *Vitis vinífera* L., respecto a unas plantas sin tratamiento (plantas control).

Tabla 7. Cuadro resumen del Análisis de la varianza sobre las diferentes pruebas (% brotación, crecimiento vegetativo y crecimiento entrenudo) realizadas para determinar si el tratamiento de termoterapia al portainjerto Selección Oppenheim de Teléki nº4 (SO4) causa o no efectos significativos sobre su desarrollo vegetativo al ser injertado con variedades diferentes de *Vitis vinífera*, respecto a unas plantas sin tratamiento (plantas control).

Tabla 8. Cuadro resumen del Análisis de la varianza sobre las diferentes pruebas (% brotación, crecimiento vegetativo y crecimiento entrenudo) realizadas para determinar si el tratamiento de termoterapia aplicado tanto a los portainjertos, Richter 110 (R-110) y Ruggeri 140 (RU-140), como a las yemas de las variedades Garnacha Tintorera, Parellada y Airén, causa o no efectos significativos sobre su desarrollo vegetativo, respecto a unas plantas sin tratamiento (plantas control).

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1. Hoja de vid afectada por x. fastidiosa en mallorca. (fuente: servicio sanidad vegetal de la generalitat valenciana).

Imagen 2. Resumen de las tareas realizadas entre los meses de marzo-mayo para la obtención de los injertos destinados al estudio: 1. empleo de la máquina omega para la unión patrón-variedad; 2. detalle de la unión patrón-variedad; 3. aplicación de parafina hormonada (cera) y separación por combinaciones de variedades antes de estratificar; 4. palots llenos de injertos situados dentro de una cámara de temperatura controlada en estratificación; 5 y 6. brotación y formación del callo del injerto una vez pasado 30 días en la cámara; 7. segunda aplicación de parafina protectora antes de trasladarse al campo del vivero; 8. establecimiento de vivero en campo.

Imagen 3. Aplicación del tratamiento con agua caliente (termoterapia) en las instalaciones de viveros enrique bravo s.l situadas en el municipio de la pobla del duc (valencia).

Imagen 4. Evolución del crecimiento vegetativo entre los meses de junio a octubre del 2020.

Imagen 5. proceso de arranque y posterior clasificación de las plantas una vez finalizada la etapa de desarrollo vegetativo.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama del proceso viverístico general.

Figura 2. Diagrama representativo de la estructura del vivero experimental establecido en campo de los injertos tratados con termoterapia.

Figura 3. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de Vitis vinífera en combinación sobre el portainjerto Richter 110 (R-110) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 4. Diagramas de barras representando el crecimiento vegetativo (cm) de diferentes variedades de Vitis vinífera en combinación sobre el portainjerto Richter 110 (R-110) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 5. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudos (cm) de diferentes variedades de Vitis vinífera en combinación sobre el portainjerto Richter 110 (R-110) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 6. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de Vitis vinífera en combinación sobre el portainjerto Richter 110 (R-110) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 7. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Ruggeri 140 (Ru-140) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 8. Diagramas de barras representando el crecimiento vegetativo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Ruggeri 140 (Ru-140) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 9. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudos (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Ruggeri 140 (Ru-140) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 10. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Ruggeri 140 (Ru-140) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 11. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 12. Diagramas de barras representando el crecimiento vegetativo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 13. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 14. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 15. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Selección Oppenheim de Teléki n°4 (SO4) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 16. Diagramas de barras representando el crecimiento vegetativo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Selección Oppenheim de Teléki n°4 (SO4) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 17. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudos (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Selección Oppenheim de Teléki n°4 (SO4) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 18. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Selección Oppenheim de Teléki n°4 (SO4) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 19. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto 41-B Millardet y de Grasset (41-B) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia.

Figura 20. Diagramas de barras representando el crecimiento vegetativo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto 41-B Millardet y de Grasset (41-B) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia.

Figura 21. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudos (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto 41-B Millardet y de Grasset (41-B) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia.

Figura 22. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto 41-B Millardet y de Grasset (41-B) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia.

Figura 23. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre los portainjertos Richter 110 (R-110) y Ruggeri 140 (RU-140) en tres tipos de tratamiento: control, termoterapia y termoterapiax2. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 24. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudos (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre los portainjertos Richter 110 (R-110) y Ruggeri 140 (RU-140) en tres tipos de tratamiento: control, termoterapia y termoterapiax2. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Figura 25. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre los portainjertos Richter 110 (R-110) y Ruggeri 140 (RU-140) en tres tipos de tratamiento: control, termoterapia y termoterapiax2. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

1. Introducción

1.1. Viveros de plantas de vid

1.1.1. Origen

La viticultura europea estaba basada en el cultivo de las especies de *Vitis vinifera L.* sobre sus propias raíces y su forma de propagación se realizaba mediante las técnicas de estaquillado y la plantación directa, que consistía en plantar sarmientos directos de la variedad deseada de *Vitis vinifera L.* (Hidalgo, 2002). Ahora bien, a finales del siglo XIX, con la llegada de la filoxera desde América a Europa, esta viticultura fue desapareciendo progresivamente, ya que en pocos años arrasó con el viñedo europeo. En el año 1869, en el Congreso Mundial Vitivinícola de Beaune (Francia), se presentaron algunas vides americanas a las que aparentemente no les afectaba la filoxera. Inmediatamente Richter, Couderec, Millardet y Gasset o Paulsen, entre otros, empezaron a estudiar la problemática y aportaron información relevante, motivo por el cual algunos portainjertos actuales deben su nombre a estos investigadores (Salazar et al, 2005).

Una de las aportaciones fue la obtención de vides americanas o portainjertos de vid resistentes a la filoxera cruzando variedades americanas entre sí o con variedades europeas que quedaban sanas. No obstante, como los agricultores no disponían de este material vegetal, ya que era difícil de multiplicar y cultivar, surgió la necesidad de propagar rápida y eficazmente vides americanas y barbados y se crearon los primeros viveros de vid a finales del siglo XIX y principios del XX (Salazar et al, 2005). Inicialmente, los viveros de viña solo se dedicaban a multiplicar estas plantas americanas, que vendían al viticultor, que era el encargado de plantarlas y cuidarlas durante un año para posteriormente injertarlas de la variedad deseada, pero en la actualidad los viveros ya disponen de la planta definitiva (ya injertada), lista para que el agricultor la plante en campo definitivo.

Por último, si nos centramos en el origen de los viveros en la Comunitat Valenciana, cobra relevancia la zona de Aiello de Malferit, al sur de la provincia de Valencia, de donde surgieron los primeros viveros de vides americanas, ya que esta zona reunía las condiciones necesarias para el desarrollo de estas: clima adecuado, buena disponibilidad de agua, tierras muy fértiles y trabajadores que rápidamente supieron adaptarse y ofrecer una solución al problema de la filoxera (Piqueras, 2005).

1.1.2. Superficie en España

El sector vitivinícola a nivel mundial depende de la producción anual de millones de injertos de vid para sustituir a las plantas adultas que mueren en el viñedo por motivos variados, y que deben ser sustituidas, así como también para la plantación de nuevos viñedos.

La mayor superficie de viveros en España se situaba principalmente en Navarra, no obstante, observando los datos publicados del último año del Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, vemos que la Comunitat Valenciana ha superado a Navarra, con una diferencia considerable (**Tabla 1**). La Comunitat Valenciana alcanzó un total de 646 ha dedicadas a la producción de viveros de vid con respecto a las 476 ha de la comunidad foral de Navarra (MAPAMA, 2019).

Tabla 1. Superficie total (hectáreas), dedicada a viveros de viñedo en España por comunidades autónomas (MAPAMA,2019).

Provincias y Comunidades Autónomas	Viveros de vid (ha)
Navarra	476
Cataluña	114
Castilla la Mnacha	75
Andalucía	193
C.Valenciana	645
Alicante	117
Castellón	-
Valencia	528
Total España	1.503

Eso nos indica, que las condiciones de producción de viveros de vid en la zona de Valencia son cada vez más óptimas. Gracias a esto los viveristas de la provincia de Valencia están siendo más valorados a nivel europeo.

1.1.3. Proceso viverístico

Los viveros de viñedo ocupan solamente, un 0,16 % de la superficie dedicada al cultivo de la vid en España (MAPAMA, 2019), pero son los encargados de suministrar las plantas a la mayoría de los viticultores de todo el país. Por tanto, el proceso viverístico desarrollado en cada uno de estos viveros es clave para que al agricultor le llegue una planta totalmente sana y perfecta para cultivar. Para ello, todos los años los viveros son inspeccionados por órganos oficiales que verifican el mantenimiento del estado sanitario en cumplimiento de la normativa vigente.

Las plantas de vid consisten en la unión física (injerto) de un sarmiento de una variedad americana (portainjerto) a un fragmento de sarmiento de una variedad de uva vinífera o de mesa determinada (variedad). Mientras que el portainjerto desarrolla el sistema radical de la futura planta adulta y la variedad injertada desarrollará el aparato vegetativo responsable de la producción de uvas (viníferas o de mesa) cuyo destino es el mercado.

En general, el proceso de propagación de la vid es casi idéntico en todos los viveros y se basa en la obtención de injertos a partir de plantas madre, tanto de portainjertos como de variedades. Por esa razón, la mayoría de ellos cuentan con campos de plantas madre que le proporcionan estacas y yemas de especies y variedades comerciales, así como de patrones acordes con las condiciones ecológicas de la zona, en función de la cantidad de material de multiplicación que se quiera obtener. Un vivero completo debe tener campos de pies madres para la producción de madera a multiplicar, parcelas para la producción de barbados y parcelas para la producción de plantas injerto (vivero de plantas injertadas con variedades de vid deseadas) junto a otras instalaciones auxiliares, tal y como se puede ver en la **Figura 1** donde se muestra el proceso viverístico general. En los viveros de planta-injerto se producen portainjertos enraizados que llevan efectuado el injerto, suministrando al agricultor la plantación definitiva (Hidalgo, 2002).

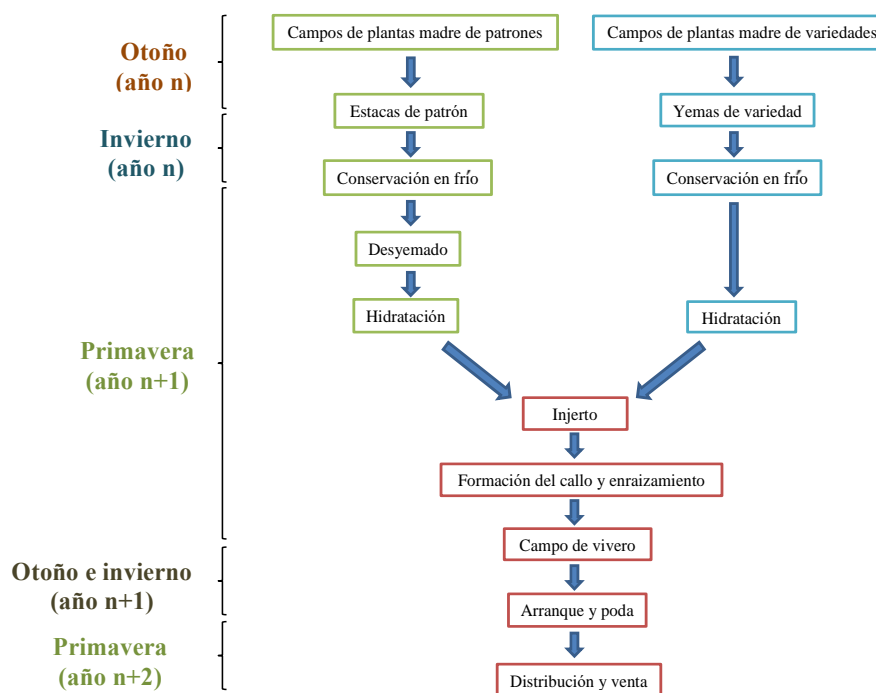


Figura 1. Diagrama del proceso viverístico general.

1.2. Viveros Enrique Bravo S.L

Viveros Enrique Bravo S.L es una empresa dedicada a la producción y venta de estacas y plantas de vid, que se fundó en el año 2005 con la finalidad de continuar la actividad viverística iniciada en décadas anteriores. Actualmente, se trata en una de las empresas más grandes a nivel nacional en la producción de estacas de vid, con reconocido prestigio entre sus clientes y competidores directos (Viveros Enrique Bravo S.L, 2021).

La producción anual de portainjertos producidos por la empresa Viveros Enrique Bravo S.L, que en la actualidad oscila alrededor de 15 millones de unidades, evidencia la importancia que tiene esta empresa en el sector vitivinícola. Además, la extensión y ubicación de los terrenos del vivero, el clima favorable y la gran profesionalidad de los trabajadores permiten obtener estacas de primera calidad.

Su actividad actual se centra en la producción de plantas de viña, en la confección y venta de estaca, barbado e injertos de material certificado. Las principales variedades de estacas y barbados de material certificado que ofrece el vivero son: R-110, RU-140, P-1103, SO4, 41-B y 161-49. En la producción de injertos de viña, se dedica al injerto de variedades blancas y tintas para vinificación y para uva de mesa.

Este vivero cumple con todos los requisitos exigidos en la Ley 30/06 de 26 de Julio (BOE 178) y el Real Decreto 1891/2008 de 14 de noviembre (BOE 294), por lo que está inscrito en el registro de productores de semillas y plantas de vivero y autorizado para la producción y venta de plantas de viveros de vid.

La empresa Viveros Enrique Bravo S.L., ha llevado a cabo numerosos proyectos con el fin de vender un material vegetal 100 % sano y adaptarse a las necesidades de los mercados y exigencias de los clientes.

1.2.1. Proyecto I+D TERMOXYVID

La aparición de la bacteria *Xylella fastidiosa* (*X. fastidiosa*) en España, inicialmente en las Islas Baleares y más recientemente en la Comunitat Valenciana, supone una terrible amenaza para el sector agrícola español por la gran variedad de cultivos que pueden verse afectados, entre ellos los cítricos, olivo y vid, por citar tres de los más representativos para la economía española. Por ello, Viveros Enrique Bravo S.L. propone desarrollar un proyecto multidisciplinar que permita validar mediante estudios técnicos la eficacia de la termoterapia como método de control sobre portainjertos de vid de la bacteria *X. fastidiosa*.

El proyecto TERMOXYVID pretende comprobar la eficacia de una instalación industrial que permita el tratamiento con agua caliente (termoterapia) para el control de *X. fastidiosa* en material vegetal de vid empleado para estacas, utilizando un microorganismo bioindicador no patógeno, ofreciendo de este modo un soporte técnico que avale la eficacia de este método de control sobre portainjertos de vid de la bacteria *X. fastidiosa*.

Si bien la termoterapia se ha empleado a nivel industrial para el control de hongos de enfermedades de madera de vid, no existen evidencias de su empleo para hacer frente a *X. fastidiosa*. Pese a que tampoco se ha constatado la aplicación de este tratamiento de agua caliente en portainjertos de vid, el principal reto tecnológico de TERMOXYVID consiste, precisamente, en demostrar y avalar la efectividad de la termoterapia sobre portainjertos de vid para acabar con la bacteria sin dañar el material vegetal.

En este sentido, se debe asegurar que el tratamiento realizado no tiene un efecto perjudicial para el material vegetal, lo que es objeto de este trabajo final de máster. Se comprobará el efecto del tratamiento con agua caliente (termoterapia) para el control de *X. fastidiosa* en plantas de vivero de vid, comparando su impacto sobre el desarrollo vegetativo y radical de distintas combinaciones de variedades y portainjertos.

Esta iniciativa, liderada por Viveros Enrique Bravo en colaboración con el Instituto de Investigación de la Viña y el Vino de la Universidad de León y la empresa RG Projects, está cofinanciada por el CDTI con fondos FEDER de la Unión Europea, con una duración de tres años y se desarrolló en el marco del Programa Operativo Plurirregional de Crecimiento Inteligente 2014-2020.

1.3. *Xylella fastidiosa*

La *X. fastidiosa* es una bacteria Gram-negativa, aeróbica, responsable de enfermedades con efectos muy graves en numerosas especies de interés agrícola, destacando, para la Comunitat Valenciana, clorosis variegada de los cítricos (CVC), la enfermedad de Pierce en viña, el “phony peach” del melocotonero, el quemado de las hojas del almendro y el “olive quick decline syndrome” (síndrome de decaimiento rápido del olivo), y cuyo óptimo de crecimiento se sitúa entre los 26-28°.

Es una bacteria que se encuentra en el xilema, y se multiplica dentro de los vasos llegando a taponarlos y a obstruir el flujo de savia bruta, transmitiéndose de unas plantas a otras bien por insectos vectores capaces de alimentarse de la savia que circula por el xilema o bien por injerto de material vegetal infectado, provocando síntomas que se corresponden con falta de agua o carencia de nutrientes. La bacteria está ampliamente distribuida por el continente americano, Irán y en la UE se ha detectado en Italia (2013 y 2018), en Francia (2015 y 2020), España (2016, 2017 y 2018) y en enero de 2019 en Portugal, en el municipio de Vila Nova de Gaia (Agroambient GVA,2021).

Hay 3 subespecies principales de la bacteria *X. fastidiosa*: *subsp. fastidiosa*, *subsp. pauca* y *subsp. multiplex*. En Europa han aparecido recombinantes de estas subespecies, como en el caso de Italia que está presente un recombinante de la subespecie *pauca* denominada CoDiRO y en Córcega (Francia) que está presente una recombinación entre las subespecies *multiplex-sandyi*.

Considerando que los principales hospedadores de *X. fastidiosa* son olivos, cítricos, viña, frutales leñosos, especies forestales del género *Quercus* y varias ornamentales, y, teniendo en cuenta que la superficie de cultivo de estos hospedadores en la C. Valenciana es muy importante, se hace necesario establecer un protocolo de prospecciones de *X. fastidiosa*, con el objetivo de que los inspectores sean capaces de identificar rápidamente la sintomatología que produce (Agroambient GVA,2021).

1.3.1. Síntomas y daños

Los síntomas varían mucho de unos hospedantes a otros, pero en general están asociados al estrés hídrico en mayor o menor grado: marchitez, decaimiento generalizado, y en casos más agudos, secado de hojas y ramas, e incluso muerte de la planta. En otros casos, los síntomas se corresponden más a los ocasionados por salinidad o deficiencias en la planta de minerales, como clorosis internervial o moteado. En general, la producción de frutos comerciales disminuye drásticamente, por lo que las pérdidas económicas son muy elevadas.

El síntoma más característico es el quemado de la hoja o brotes (**Imagen 1.**). Una parte verde se seca de repente, volviéndose marrón mientras los tejidos adyacentes permanecen amarillos o rojizos. La desecación se extiende con facilidad pudiendo ocasionar el marchitamiento total y la caída de la hoja.



Imagen 1. Hoja de vid afectada por X. fastidiosa en Mallorca. (Fuente: Servicio sanidad vegetal de la Generalitat Valenciana).

Este tipo de síntomas también se pueden producir por otras causas no asociadas a ninguna plaga o enfermedad (agentes abióticos o medioambientales): estrés hídrico, viento, salinidad, exceso de nutrientes, etc. La diferencia entre los síntomas producidos por estas causas, y los ocasionados por la presencia de *X. fastidiosa*, radica en que cuando se deben a causas abióticas o medioambientales, el quemado de hojas suele ser generalizado, afectando tanto a las partes jóvenes como a las más viejas, y suele observarse en todas las plantas del mismo lote, puesto que se han desarrollado en las mismas condiciones. En muchas ocasiones, la planta tiende a rebrotar de nuevo en la base, pero no se recupera la producción.

1.3.2. Situación en la Comunidad Valenciana

La primera detección de *X. fastidiosa* en la península ibérica, se detectó el 30 de junio de 2017 en el municipio de Guadalest, en la provincia de Alicante (Comunitat Valenciana), en 12 almendros adultos que resultaron positivos a la presencia de esta bacteria y en los que se identificó la subespecie *multiplex* ST6.

A raíz de la primera detección, se han realizado prospecciones intensivas en la zona demarcada y las comarcas limítrofes, y en la actualidad se han identificado en la Comunitat Valenciana, hasta julio de 2021, 4.611 plantas infectadas de 21 especies diferentes pertenecientes a 63 municipios.

En este último análisis de situación del 9 de julio del 2021, correspondiente a la 15a actualización, se declaran nuevos positivos (Agroambient GVA,2021):

- 63 términos municipales diferentes
- 835 muestras positivas y 338 ha adicionales con los 50 m de alrededor
- Nueva Zona Infectada: 2.630 ha
- 16 especies vegetales infectadas, *Cistus monspeliensis*, *Genista scorpius* y *Ulex parviflorus*, primera detección de esta especie en la CV.
- La Zona Demarcada ocupaba 128.003 ha y aumenta en 7.189 ha hasta las 135.305 ha tras la decimoquinta actualización (2 municipios nuevos: Benifallim y La Vila Joiosa, pero mismos viveros afectados por la zona demarcada y sus restricciones).

No obstante, se realizará una nueva auditoría en el próximo mes de septiembre a fin de evaluar sobre el terreno la evolución de los trabajos de la Conselleria de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Comunitat Valenciana, sobre la *X. fastidiosa*. Porque en la última auditoría, realizada en abril de 2019 (en 2020 no hubo debido a la pandemia), la Comisión Europea lamentó que “el trabajo no se completó” debido a una “aplicación tardía y parcial de las medidas de erradicación”, por lo que la zona demarcada tiene “un alto potencial de infección” (Agroinformación, 2021).

1.3.3. Medidas de control

Las medidas fitosanitarias frente a *X. fastidiosa* están recogidas en la legislación tanto comunitaria como estatal y autonómica:

- Reglamento (UE) 2016/2031, reglamentos de desarrollo del parlamento europeo y del consejo de 26 de octubre de 2016, relativo a las medidas de protección contra las plagas de los vegetales.
- Reglamento (UE) 2020/1201, reglamento de ejecución sobre medidas para evitar la introducción y la propagación dentro de la Unión Europea de *X. fastidiosa*
- Plan de Contingencia Nacional y Autonómico frente a la *X. fastidiosa*
- Resoluciones del Director General de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Comunidad Valenciana

Dentro de las medidas de control para evitar la propagación de la *X. fastidiosa* en la Comunitat Valenciana podemos encontrar las siguientes:

- Zonas Demarcadas (ZD)

Incluye la obligatoriedad que tiene cada Estado miembro de establecer una zona demarcada tras la confirmación oficial de la presencia de la *X. fastidiosa*. Cada zona demarcada está compuesta de una zona infectada más una zona tampón.

- **Medidas de erradicación**

Las medidas de erradicación establecidas en los artículos 7 a 11 del Reglamento de Ejecución (UE) 2020/1201 de la Comisión se aplican a cualquier brote de *X. fastidiosa* detectado en el territorio de la Unión, a excepción de las zonas infectadas en las que se autorizan medidas de contención (por ejemplo, al sur de Apulia, Córcega y Baleares).

Dentro de la zona infectada, se deben eliminar todas las plantas infectadas o sintomáticas. También se eliminarán las plantas que pertenezcan a la misma especie que la planta infectada u otras especies que se encuentren infectadas en la zona demarcada, independientemente de su estado sanitario.

- **Medidas de contención**

Las zonas donde aplicar estas medidas deben ser aprobadas por la Comisión. Actualmente son aplicables al sur de Apulia (Italia), Córcega (Francia) y Baleares (España), ya que la bacteria ya está ampliamente establecida en esas áreas y la erradicación no sería factible.

- **Movimiento de plantas dentro y fuera de las áreas demarcadas**

Se aplican requisitos estrictos para el movimiento de plantas específicas fuera de zonas demarcadas y de zonas infectadas a zonas tampón. El Reglamento 2020/1201 restringe la circulación de vegetales especificados dentro de la UE, y establece la prohibición de trasladar fuera de la zona demarcada los vegetales especificados que se hayan cultivado en una zona demarcada (salvo excepciones muy restrictivas). 63 viveros y centros de jardinería en la Comunitat Valenciana tienen restringido el movimiento del material vegetal a solo dentro de la zona demarcada (Agroambient GVA,2021).

Para el movimiento de vegetales especificados dentro de la zona tampón, éstos deben circular acompañados de pasaporte fitosanitario, y con una declaración responsable firmada, en la que se especifique el destino de la zona tampón de la mercancía.

Los vegetales especificados que circulen a través de áreas demarcadas o dentro de ellas deberán transportarse en contenedores o envases cerrados, que garanticen que no pueda producirse ninguna infección por el organismo especificado o cualquiera de sus vectores.

- **Otras medidas preventivas para los agricultores**

Los muestreos de vectores de *X. fastidiosa* realizados en la primera quincena de marzo, indican que la mayoría de los vectores inmaduros están en su estado inicial (una espuma apenas visible), pero en zonas más cálidas, han empezado a aparecer espumas de ninfas de estados algo más avanzados (Agroambient GVA,2021).

En particular, los propietarios de las parcelas que pudieran resultar afectadas, tanto en la zona infectada como en la zona tampón, estarán obligados a permitir el acceso a sus parcelas al personal de la administración competente, para la ejecución de las medidas fitosanitarias previstas. También, los propietarios que detecten la presencia de la plaga o de sus síntomas tienen la obligación de comunicarlo a los servicios de sanidad vegetal de su provincia.

Las actuaciones sobre la cubierta herbácea también son de gran interés ya que se pueden aislar ahí gran parte de vectores transmisores de la bacteria, siendo las más recomendables (Agroambient GVA,2021):

- Laboreo del suelo: mediante labores superficiales del suelo, de no más de unos 5 cm para no afectar a las raíces del cultivo, pero lo suficiente como para producir la escarda de la vegetación espontánea y su incorporación al suelo.
- Desbroce de la vegetación: si no es posible el laboreo deberá realizarse un desbroce, mecánico o manual de la vegetación espontánea, y su preferente incorporación al suelo.
- Control químico: cuando no sea posible ninguna de las acciones anteriores, podrán emplearse herbicidas para el control de las plantas espontáneas e insecticidas para el control de las ninfas. Deben emplearse productos autorizados, por lo que se recomienda consultar el registro oficial de productos fitosanitarios del Ministerio, como sería el caso para el cultivo de la vid las siguientes sustancias activas: aceite de naranja, acetamiprid, betaciflutrin, cipermetrin, deltametrin, flupiradifurona, lambda cihalotrin y piretrinas.

1.3.4. Termoterapia

Actualmente no existen mecanismos efectivos de control para su erradicación, más allá del arrancamiento y quema de los vegetales infectados o tratamientos con insecticidas para tratar de controlar los insectos vectores que favorecen su propagación. No obstante, y como medida preventiva para controlar la propagación de la enfermedad, las autoridades sugieren el empleo de la termoterapia (tratamiento del material vegetal con agua caliente) como método de control. Esta técnica, a pesar de no ser completamente eficaz, reduce de manera significativa buena parte de la flora patógena de la madera de la vid (Gramaje y Armengol, 2011; Luque et al., 2014).

Además, se ha comprobado, en diversas investigaciones, que, en algunas fases del proceso de un vivero de vid, como el desyemado, el injertado, el enraizamiento en campo, etc., son propensas a la entrada de patógenos. Por tanto, también resulta necesario implementar técnicas de manejo en el vivero para reducir el riesgo de infección o para asegurar su mantenimiento a niveles bajos en la producción de plántones, ya que no existen estrategias de control que permitan erradicar la enfermedad (Agustí Brisach et al., 2013).

La tolerancia de las plantas y de los patógenos depende de diversos factores como: el clima de procedencia de los injertos (en Nueva Zelanda con tratamientos a 50 °C obtienen resultados satisfactorios debido a la mayor susceptibilidad de los patógenos y a la menor tolerancia de las plantas a altas temperaturas, mientras que en España son más efectivos los tratamientos a 53 °C; Gramaje y Armengol, 2011); la variedad de la vid (se sabe que la variedad Pinot noir es más sensible que otras como Chardonnay, Merlot o Cabernet); el patógeno presente en el material vegetal (para hongos asociados al pie negro basta con 50°C, en cambio, los relacionados con la enfermedad de Petri requieren de temperaturas entre 51-53°C (Gramaje et al., 2008; Berstch et al., 2013).

En las condiciones de cultivo españolas se ha observado que es posible un tratamiento de 53°C durante 30 minutos sin que la planta sea dañada y reduciendo de manera significativa la presencia de los patógenos que causan las enfermedades fúngicas de la madera de la vid (Agustí Brisach et al., 2013).

Desafortunadamente existen pocos estudios técnicos que incidan en la efectividad de esta tecnología para la desinfección de material vegetal contaminado con este patógeno. Por este motivo, el objetivo principal de este trabajo fin de máster es comprobar si realmente este tratamiento con agua caliente, sobre el material vegetal, resulta o no perjudicial para el desarrollo vegetativo normal de una planta de vid tanto en el vivero como en el campo definitivo.

2. Objetivos

El presente Trabajo Final de Máster tiene como objetivo principal comprobar el efecto del tratamiento con agua caliente (termoterapia) para el control de *X. fastidiosa* en plantas de vivero de vid, comparando su impacto sobre el desarrollo vegetativo de distintas combinaciones de variedades y portainjertos.

Las diferentes combinaciones portainjerto-variedad seleccionadas han sido elegidas para poder comparar de la manera más eficaz el efecto de termoterapia sobre injertos de variedades de uva de mesa como de variedades uva de vinificación (uva blanca y uva tinta), para así llevar a cabo un estudio completo y comprobar el comportamiento en campo de estas con la técnica de termoterapia y en control. Cada variedad se ha injertado con 2 o más patrones (portainjertos), para determinar su comportamiento y poder comparar los resultados. Además, la elección de estas variedades ha sido adaptada a la demanda del mercado, eligiendo las variedades que más se venden con el pie más demandado por los agricultores.

Para conseguir este objetivo, se determinará si el material vegetal sometido a termoterapia ha sufrido o no daños durante su desarrollo vegetativo en el vivero. Para ello, todos los injertos tratados con termoterapia se han situado en una zona concreta del campo y así se podrá comparar la evolución de los diferentes tipos de variedades a la hora del manejo y la toma de medidas, siendo esta más rápida y eficiente.

Con el fin de verificar que el material vegetal sometido a termoterapia no ha sufrido daños que condicionen su posterior desarrollo vegetativo, se han realizado análisis de brotación, crecimiento vegetativo, crecimiento de los entrenudos y supervivencia.

Por tanto, una vez establecido el vivero experimental en campo, se procedió a la toma de datos con el fin de determinar el grado de supervivencia y el grado de desarrollo vegetativo.

3. Material y métodos

3.1. Material vegetal

3.1.1. Portainjertos

Las estacas (portainjertos o también conocido como patrón) son fragmentos de tallo con yemas que se separan de la planta madre y que se introducen en el suelo para que arraiguen en él y formen nuevas plantas, que tendrán las mismas características genotípicas que su progenitor (Pascual et al., 2020).

En este estudio, se ha llevado a cabo una selección de las principales variedades (más comunes en el mercado) de portainjertos y cultivadas por la empresa Viveros Enrique Bravo S.L. Considerando en su elección los principales caracteres que cada variedad desarrolla:

- Vigor
- Facilidad de estaquillado y de injerto
- Adaptación a las condiciones del medio: sequía, humedad, salinidad...
- Acción sobre el ciclo vegetativo del injerto y sobre la calidad de las uvas

Para ello, se han realizado diversos lotes de 200 portainjertos cada uno, siguiendo el proceso viverístico para su obtención (proceso idéntico en todos los viveros de vid). Primeramente, en el campo de cada variedad de portainjertos se ha recogido las muestras (sarmientos obtenidos de las plantas madre entre 5-10 metros de longitud), una vez en el almacén se procede al corte de la estaca. Dependiendo de las características y la calidad del material vegetal procedente del campo y de la longitud de la estaca, se podrán obtener mayor o menor cantidad de estacas por sarmiento. Por otra parte, hay que destacar que, cuando se realiza el corte, se dejan como mínimo 2 nudos por estaca, ajustando el corte en la parte basal justamente por debajo del primer nudo y dejando en la parte apical 2-4 cm por encima del 2º nudo o de los siguientes que es donde se realizara la unión (injerto) de la variedad de *Vitis vinífera L.* elegida. Posteriormente se eliminan las yemas presentes en las estacas y se almacenan en cámaras frigoríficas con una temperatura aproximada de 2-3°C y una humedad relativa del 90%.

Una vez realizado este proceso se ha estimado la cantidad de portainjertos destinados a este estudio final de máster (**Tabla 2**), los cuales se van a someter al tratamiento con termoterapia, y que se muestran a continuación:

Tabla 2. Variedades de portainjertos utilizadas y cantidad de cada una de ellas.

PATRÓN	TOTAL
R-110 (Richter 110)	4.600
RU-140 (Ruggeri 140)	4.000
P-1103 (Paulsen 1103)	4.800
SO4 (Selección Oppenheim de Teléki nº4)	4.000
41-B (41B Millardet y de Grasset)	1.000
TOTAL	18.400

3.1.2. Variedades de *Vitis Vinifera L.*

La vid es uno de los cultivos más antiguos del mundo, en las últimas décadas ha aumentado notablemente debido a nuevas técnicas más modernas que facilitan el trabajo del agricultor, y que permiten una respuesta a las exigencias del mercado. Entre ellas que se encuentra la aplicación de las recientes normativas europeas de producción integrada (Reyner, 2002).

Las diferentes variedades del viñedo suelen agruparse según su finalidad: uva de mesa (en referencia a la producción que se consume en fresco) y uva de transformación (para aquella producción cuyo destino es la elaboración de vino, mosto y pasificación).

De la superficie de producción en España, un 98,06% se corresponde con los viñedos de uva para vinificación, seguida de muy lejos por un 1,6% correspondiente a la uva de mesa, un 0,18% de viñedo para uva de pasificación y, por último, un 0,16% correspondiente a los viveros de viñedo (MAPAMA, 2019).

En este estudio, se han elegido las variedades que, comercialmente, son de las más utilizadas en el territorio español, tanto de uva de mesa como uva de vinificación, y así poder realizar un análisis más amplio sobre cómo afecta el tratamiento con agua caliente cuando estas son unidas con el patrón (portainjerto) elegido.

Para la obtención de las yemas, en el mes de febrero se llevó a cabo la poda de las viñas, donde se recogen los sarmientos de plantas de vid certificadas y se trocean en porciones pequeñas dejando únicamente un nudo (yema) por porción, y se mantendrá en cámaras frigoríficas hasta que estas sean unidas con el portainjerto. De todas las variedades certificadas que la empresa Enrique Bravo tiene en sus explotaciones, se han elegido las siguientes:

- Uva tinta de vinificación: Tinto de Pámpana Blanca, Garnacha Tintorera (Garnacha Alicante Bouschet) y Tempranillo.
- Uva blanca de vinificación: Airén y Parellada
- Uva de mesa: Victoria, Italia y Regal Sedless

3.1.3. Plan de injertación (Portainjerto-variedad)

Una vez recogido, todo el material vegetal necesario para realizar el estudio, en el mes de marzo las estacas se sumergen en agua a la que se le añaden fungicidas (o se realiza a posteriori una inmersión en dicho producto) entre 1 y 12 horas y las yemas troceadas se empapan con agua durante períodos que pueden variar desde unas horas hasta unos 4 días y, finalmente, son injertados: mediante el empleo de una máquina omega destinada exclusivamente para ello.

Nada más injertado, las uniones del injerto se sumergen en parafina fundida a una temperatura de entre 70 y 75°C, la cual contiene reguladores del crecimiento y fungicidas que favorecerán la unión y evitarán la colonización y el desarrollo fúngico. Y seguidamente, se ponen en *palots* (cajas grandes de plástico) con turba esterilizada en el fondo para ponerlos a estratificar y que se produzca la soldadura del injerto. Esta estratificación consiste en situar manojos pequeños de injertos en posición vertical con el injerto mirando hacia arriba y cubiertos con un espesor de 5 a 20 cm de turba procurando que ésta penetre en las estacas eliminando posibles bolsas de aire y aportando humedad de manera periódica mediante riegos finos hasta que aproximadamente a los 30 días se observa la formación del callo.

Finalizado el proceso de estratificación y una vez sacados los injertos de la cámara, se han tratado con fungicida pulverizando superficialmente los injertos, dejándolos en reposo a temperatura ambiente durante 1 semana, hasta que se ha alcanzado el endurecimiento del callo. Antes de proceder de nuevo al parafinado de los injertos, se han eliminado los brotes y las pequeñas raíces que han surgido en este tiempo.

A continuación, se sumergen de nuevo en cera (parafina protectora), vuelven a sumergirse en agua fría para reducir la temperatura y se realiza una imbibición de la parte inferior del injerto en fungicidas (Gramaje, y Armengol, 2011). Tras haber realizado este encerado, el injerto, se lleva a campo dónde son plantados sobre el suelo. Todo este proceso se muestra en la **Imagen 2**.



Imagen 2. Resumen de las tareas realizadas entre los meses de marzo-mayo para la obtención de los injertos destinados al estudio: 1. Empleo de la máquina omega para la unión patrón-variedad; 2. Detalle de la unión patrón-variedad; 3. Aplicación de parafina hormonada (cera) y separación por combinaciones de variedades antes de estratificar; 4. Palots llenos de injertos situados dentro de una cámara de temperatura controlada en estratificación; 5 y 6. Brotación y formación del callo del injerto una vez pasado 30 días en la cámara; 7. Segunda aplicación de parafina protectora antes de trasladarse al campo del vivero; 8. Establecimiento de vivero en campo.

Las combinaciones de variedades han sido elegidas para poder comparar de la manera más eficaz variedades de uva tinta, uva blanca y uva de mesa con distintos portainjertos. Cada variedad se ha injertado con 2 o más patrones (portainjertos), para así poder también compararlas y poder realizar un mejor estudio. Más aún, la elección de estas variedades ha sido adaptada a la demanda del mercado, eligiendo las variedades que más se venden con los portainjertos más elegidos por los agricultores. El plan de injertación de este estudio sobre portainjertos tratados con termoterapia que incluye el uso de variedades de uva tinta, uva blanca y uva de mesa, es el siguiente:

- Uva de mesa:
 - Regal (R-110, SO4, P-1103)
 - Italia (SO4, R-110)
 - Victoria (P-1103, SO4)
- Uva tinta:
 - Garnacha Tintorera (R-110, RU-140, SO4)
 - Tinto de Pámpana Blanca (P-1103, RU-140)
 - Tempranillo (41-B, SO4, R-110, RU-140)
- Uva blanca:
 - Airén (RU-140, P-1103, 41-B)
 - Parellada (RU-140, R-110)

Por otro lado, para profundizar en el estudio se han incluido determinadas combinaciones en las que la variedad también ha sido tratada con termoterapia. Con todo ello, el estudio se ha realizado sobre un total de 18.400 injertos como se muestra en la **Tabla 3**, y que se estableció en un vivero experimental en campo.

Tabla 3. Resumen de las diferentes combinaciones portainjerto- variedad utilizadas para comprobar supervivencia y desarrollo de plantas injertadas en vivero establecido en campo una vez sometidos los portainjertos a termoterapia y en ocasiones también las yemas de la variedad.

R-110				
CLON PORTAINJERO	VARIEDAD	CLON	CANTIDAD	OBSERVACIONES
237	ITALIA	ESTANDAR	-	CONTROL
			800	TERMOTERAPIA
237	REGAL	ESTANDAR	-	CONTROL
			800	TERMOTERAPIA
237	PARELLADA	I-54	-	CONTROL
			400	TERMO ESTACA+YEMA
			400	TERMOTERAPIA
237	TEMPRANILLO	RJ-43	-	CONTROL
			1.000	TERMOTERAPIA
237	G.TINTORERA	803	-	CONTROL
			400	TERMO ESTACA+YEMA
			800	TERMOTERAPIA
TOTAL			4.600	
RU-140				
CLON PORTAINJERO	VARIEDAD	CLON	CANTIDAD	OBSERVACIONES
101	PARELLADA	I-54	-	CONTROL
			200	TERMO ESTACA+YEMA
			600	TERMOTERAPIA
101	TEMPRANILLO	RJ-43	-	CONTROL
			800	TERMOTERAPIA
101	G.TINTORERA	803	-	CONTROL
101	AIREN	20-14	-	CONTROL
			200	TERMO ESTACA+YEMA
			600	TERMOTERAPIA
101	TINTA PAMPANA BLANCA	-	-	CONTROL
			800	TERMOTERAPIA
TOTAL			4.000	
P-1103				
CLON PORTAINJERO	VARIEDAD	CLON	CANTIDAD	OBSERVACIONES
E-37	VICTORIA	ESTÁNDAR	-	CONTROL
			1.800	TERMOTERAPIA
E-37	AIREN	20-14	-	CONTROL
E-37	REGAL	ESTÁNDAR	1.000	TERMOTERAPIA
			-	CONTROL
E-37	TINTA PAMPANA BLANCA	-	1.000	TERMOTERAPIA
			-	CONTROL
TOTAL			4.800	
SO4				
CLON PORTAINJERO	VARIEDAD	CLON	CANTIDAD	OBSERVACIONES
102	TEMPRANILLO	RJ-43	-	CONTROL
			800	TERMOTERAPIA
102	G.TINTORERA	803	-	CONTROL
			800	TERMOTERAPIA
102	ITALIA	ESTANDAR	-	CONTROL
			800	TERMOTERAPIA
102	VICTORIA	ESTANDAR	-	CONTROL
			800	TERMOTERAPIA
102	REGAL	ESTANDAR	-	CONTROL
			800	TERMOTERAPIA
TOTAL			4.000	
41-B				
CLON PORTAINJERO	VARIEDAD	CLON	CANTIDAD	OBSERVACIONES
80	TEMPRANILLO	RJ-43	200	CONTROL
			400	TERMOTERAPIA
80	AIREN	20-14	200	CONTROL
			200	TERMOTERAPIA
TOTAL			1.000	

Finalmente, todas estas variedades “control” menos las injertadas con el pie 41-B, se plantan cada una junto a las injertadas de cada variedad/pie sin tratamiento, por este motivo en la fila de control no se indica ninguna cantidad concreta, ya que se podrán comparar con cantidades equivalentes a las usadas en las distintas combinaciones.

3.2. Situación geográfica de las pruebas

Para alcanzar los objetivos planteados en el presente estudio, la empresa VIVEROS ENRIQUE BRAVO, S.L. ha dejado a nuestra disposición sus instalaciones tanto a nivel industrial como en campo, para así poder llevar a cabo todas las labores técnicas durante la totalidad del proyecto (12 meses).

3.2.1. Nivel industrial (termoterapia)

Una vez se dispuso del material vegetal, en concreto estacas de variedades americanas que se usarán como portainjertos, se empaquetaron en manojos de 200 unidades y se etiquetaron por variedades (en distintos colores de fleje) y se trasladaron a la nave industrial situada en la calle Don José Esteve Pastor, 1ª, de La Pobra del Duc (Valencia).

En esta nave, se sitúa el prototipo industrial para la aplicación de termoterapia que se utilizó para realizar parte de este estudio final de máster, tal y como lo podemos observar en la siguiente imagen (**Imagen 3**):



Imagen 3. Aplicación del tratamiento con agua caliente (termoterapia) en las instalaciones de Viveros Enrique Bravo S.L situadas en el municipio de La Pobra del Duc (Valencia).

Se colocaron todas las variedades en una jaula de acero inoxidable para asegurar que no se movieran dentro del prototipo, de esta forma se han sometido al tratamiento estándar de termoterapia (45 min a una temperatura constante de 50°C). Tras la aplicación de termoterapia en condiciones estándar, las estacas fueron almacenadas en cámaras frigoríficas hasta ser utilizadas en el proceso de injertación.

3.2.2. En campo (Vivero experimental)

Una vez pasado el tiempo adecuado de estratificación tras el proceso de injertación, el día 1 de junio del 2020, los injertos (tanto los sometidos a termoterapia como los control) fueron llevados a campo y plantados. El vivero se encuentra en el municipio de Villena (Alicante), más concretamente, en las parcelas 25 y 28 del polígono 14, con un total de 11 hectáreas.

Todos los injertos tratados con termoterapia se situaron en una zona concreta del campo para así comparar la evolución de los diferentes tipos de variedades a la hora del manejo, facilitando la toma de medidas, haciéndola más rápida y eficiente. En cambio, tal y como se ha indicado anteriormente, todas las combinaciones que no habían sido tratadas, variedades “control”, se plantaron junto a las injertadas de cada variedad/pie sin tratamiento en las parcelas 25 y 28, menos las injertadas con el pie 41-B que se plantaron junto a las tratadas con termoterapia ya que se disponía de poca cantidad de estas.

En la **Figura 2** se muestra un diagrama representativo de la estructura del vivero experimental establecido en campo de aquellos injertos tratados con termoterapia.

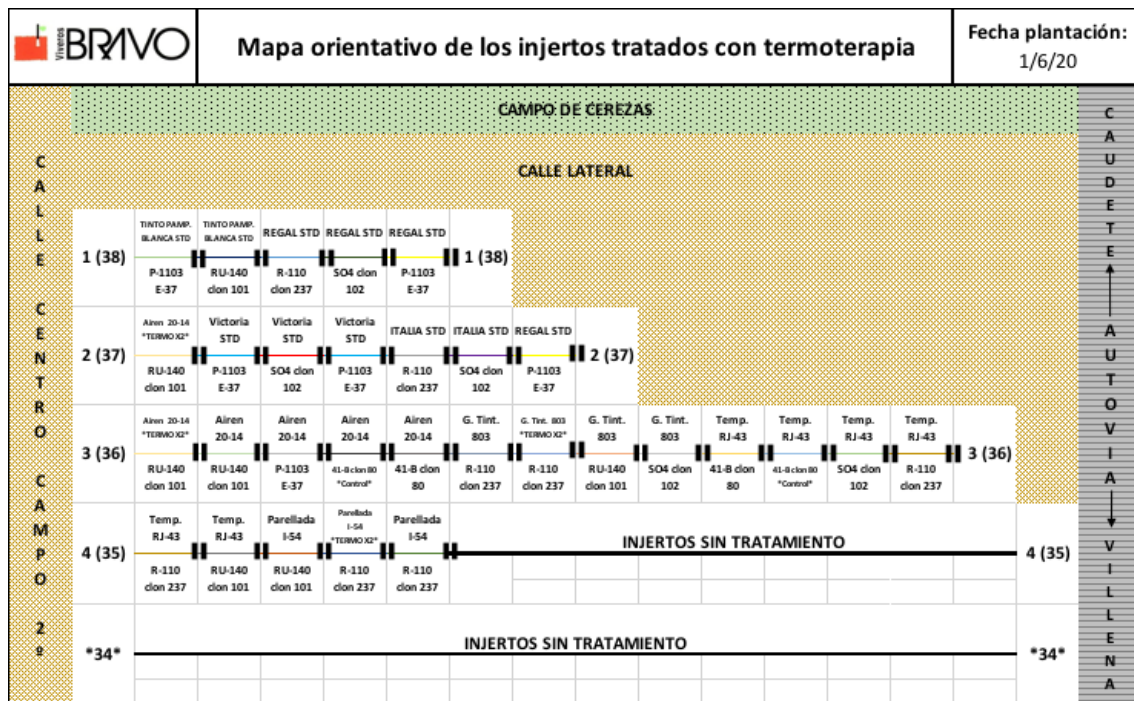


Figura 2. Diagrama representativo de la estructura del vivero experimental establecido en campo de los injertos tratados con termoterapia.

Para garantizar el correcto crecimiento de la plantación, la empresa Viveros Enrique Bravo continuó con el mantenimiento habitual del vivero siguiendo su metodología propia de trabajo en cuanto a fertirrigación, tratamientos fitosanitarios, etc. para evitar cualquier plaga o enfermedad que pueda afectar al material plantado.

3.3. Pruebas para determinar la ausencia de daños al material vegetal

Como se ha detallado anteriormente, se han utilizado tanto variedades de uva de mesa como variedades de vinificación, para así llevar a cabo un estudio completo y comprobar el comportamiento en campo de estas variedades con la técnica de termoterapia. Para ello, se ha de verificar que el material vegetal sometido a termoterapia no haya sufrido daños que condicionen su posterior desarrollo vegetativo, realizando un análisis de mortalidad, crecimiento vegetativo y crecimiento de los entrenudos.

Con el fin de permitir inferir conclusiones válidas sobre esta población la muestra debe ser "representativa" de ésta. En teoría la única forma de garantizar la representatividad de una muestra es seleccionando al azar los individuos que la van a componer, de forma que todos los individuos de la población tengan "a priori" una probabilidad idéntica de pertenecer a la muestra.

Aunque esta forma de proceder rara vez sea aplicable de forma estricta en la práctica, siempre hay que extremar las precauciones para que la forma real de obtener la muestra sea lo más parecida posible a la ideal.

La metodología de trabajo establecida ha sido analizar 3 repeticiones para cada portainjerto/variedad de 100 plantas cada una de ellas, seleccionando cada repetición aleatoriamente al principio, a la mitad y al final de cada línea de plantación portainjerto/variedad, realizando siempre el muestreo en el mismo lugar de la repetición. Por tanto, una vez establecido el vivero experimental en campo, se procedió a la toma de datos con el fin de determinar el grado de supervivencia y el grado de desarrollo vegetativo.

3.3.1. Supervivencia de injertos en brotación

Las primeras medidas de estudio realizadas fueron la supervivencia de plantas control/termoterapia. El muestreo de supervivencia de termoterapia se realizó el 16 julio y en control el 20 julio del 2020. Para la evaluación del nivel de mortalidad se contabilizaron como plantas vivas aquellas que han presentado una parte aérea bien desarrollada, y como plantas muertas aquellas que, aun habiendo brotado, no tenían un sistema aéreo bien desarrollado.

3.3.2. Crecimiento vegetativo

Para obtener una primera toma de datos del crecimiento vegetativo, cuya evolución se muestra en la **Imagen 4**, se tomaron medidas los días 21-24 de julio de 2020 en las que se midió la parte aérea de las plantas vivas para obtener la relación parte aérea/sistema radical con el fin de conocer el comportamiento en campo de las plantas.



Imagen 4. Evolución del crecimiento vegetativo entre los meses de junio a octubre del 2020.

Para profundizar un poco más en el estudio, también se analizó el crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo. Estas medidas se realizaron el 28 y 30 de julio para el caso del material tratado con termoterapia y control respectivamente. Tras 45 días se realizó una segunda medida para comprobar si había variado el crecimiento en alguna de las combinaciones.

Una vez recogidos estos datos en el campo, y teniendo en cuenta los datos del mes de julio (1º muestreo del crecimiento) y del mes de octubre (2º muestreo del crecimiento), se obtendría el crecimiento (en cm) durante estos meses, restando el 2º muestreo menos el 1º muestreo.

3.3.3. Supervivencia de injertos al final de la etapa de desarrollo vegetativo

Finalmente, el estudio se completó en el mes de diciembre de 2020 una vez finalizada la etapa de desarrollo vegetativo de la planta. Con esta parada vegetativa se procedió al arranque de las plantas de campo y a su clasificación en categorías, así como a un recuento final y definitivo del número de plantas que han sobrevivido a la totalidad del ciclo a fin de determinar la tasa de supervivencia, tal y como se muestra en la **Imagen 5**.



Imagen 5. Proceso de arranque y posterior clasificación de las plantas una vez finalizada la etapa de desarrollo vegetativo.

Estos datos nos indicarán el total de injertos que han sobrevivido durante todo su ciclo de desarrollo en el campo de multiplicación. Siendo estos los datos más fiables, ya que fueron examinados y clasificados uno por uno, una vez arrancados del vivero. Con todo ello, podemos comparar el % de brotación calculado en el mes de julio con el de la supervivencia una vez arrancados del campo en el mes de noviembre y diciembre, y así poder llegar a la conclusión de que no todos los injertos brotados en el mes de julio pudieron sobrevivir.

3.4. Análisis estadístico

Para la realización del análisis estadístico se ha utilizado el programa STATGRAPHICS Centurion XVI. Se han analizado los resultados mediante el análisis multifactorial de la varianza (ANOVA), realizando la separación de medias mediante el test LSD ($p \leq 0,05$) cuando el efecto resultó significativo ($p \leq 0,05$) en el ANOVA. Previamente se comprobó que las series de datos siguiesen una distribución normal, y aquellos datos que se presentaban en porcentaje, se transformaron mediante la expresión: $\text{arc sen} \sqrt{x}$.

Los resultados del ANOVA se sintetizan en tablas resumen (Cuadro Resumen del Análisis de la Varianza) ubicadas en el apartado de resultados. En la parte superior de las tablas, concretamente, en la primera columna estarán los valores medios de cada uno de los niveles de los factores, correspondientes a las variedades y los tratamientos, como también los valores de la interacción si esta es significativa. En la segunda columna de la parte superior, se ha marcado en letras (a, b, c o un par de ellas) cada uno de los niveles, asignando letras iguales a aquellos que no tengan diferencias estadísticamente significativas.

El método utilizado para discriminar estas medias es el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, teniendo un riesgo del 5% al decir que cada par de medias es significativamente diferente. Los intervalos LSD se han representado en cada una de las figuras que se muestran en el apartado de resultados haciendo uso de la herramienta Excel. Para ello se ha calculado previamente su valor siguiendo la siguiente ecuación: $\text{LSD} = \sqrt{2} * t * \text{ES}$, siendo:
 t = valor obtenido de la distribución t student para los grados de libertad de los residuos
 ES = Error estándar de la interacción

En la parte inferior de la tabla, en la primera columna, se mostrará el porcentaje de la Suma de Cuadrados para conocer la variabilidad asignada a cada término, comparando la varianza asociada a cada efecto con la varianza residual para ver si dicho efecto es o no significativo y comprobando si la correspondiente F_{ratio} es demasiado elevada para ser una F de Fisher con los grados de libertad correspondientes. Para ello se calcula (en la segunda columna de la parte inferior) la probabilidad de que una F de Fisher, con los grados de libertad correspondientes, tome valores tan elevados o más como el valor obtenido para la F_{ratio} . Es así, que cuanto menor sea esa probabilidad, a la que se denomina P-value, más fuerte será la evidencia respecto a la existencia poblacional del efecto correspondiente (Romero y Zúnica, 2013). En general, se considera que un efecto es significativo al 95% si su P-value es menor que 0,05 (representado con un *), y que es significativo al 99% (indicado con dos **) si resulta menor que 0,01.

4. Resultados

Una vez tomados los datos, se ha procedido al análisis estadístico de cada una de las pruebas realizadas durante el estudio, para ver si realmente el tratamiento con agua caliente afecta significativamente, o no, al material vegetal. Los resultados obtenidos se analizan por tipo de portainjertos utilizados, ya que no todos han sido injertados con las mismas variedades de *Vitis Vinifera L.*

4.1. Richter 110 (R-110)

La primera medida del estudio ha sido observar el porcentaje de brotación de los injertos control/termoterapia, es decir, la supervivencia de estos una vez plantados en el vivero experimental. Analizando los resultados del ANOVA expuestos en la siguiente tabla (**Tabla 4**) se puede ver que la combinación patrón-variedad tiene un efecto significativo (p -valor $< 0,01$), y que la interacción de esta combinación con los diferentes tratamientos también tiene un efecto significativo al 95% (p -valor $< 0,05$).

Tabla 4. Cuadro resumen del Análisis de la varianza sobre las diferentes pruebas (% brotación, crecimiento vegetativo y crecimiento entrenudos) realizadas para determinar si el tratamiento de termoterapia al portainjerto Richter 110 (R-110) causa o no efectos significativos sobre su desarrollo vegetativo al ser injertado con variedades diferentes de *Vitis vinifera L.*, respecto a unas plantas sin tratamiento (plantas control).

RICHTER 110 (R-110)									
	Brotación (%)			Crecimiento vegetativo (cm)			Crecimiento entrenudos (cm)		
Variedades									
Italia	43.50%	bc		22.76	b		0.61	b	
Regal	34.33%	c		14.18	c		0.61	b	
Parellada	74.17%	a		25.13	b		0.85	a	
Tempranillo	46.83%	b		31.05	a		0.33	c	
G.Tintorerá	51.50%	b		23.09	b		0.37	c	
Tratamiento									
Control	47.33%			25.49	a		0.64	a	
Termoterapia	52.80%			20.99	b		0.46	b	
	% suma de cuadrados	p-Valor		% suma de cuadrados	p-Valor		% suma de cuadrados	p-Valor	
Variedades	65.98%	0.0000	**	63.87%	0.0000	**	28.82%	0.0012	**
Tratamiento	2.79%	0.1091	ns	10.97%	0.0001	**	6.96%	0.0182	*
Interacción	11.41%	0.0493	*	16.25%	0.0002	**	43.20%	0.0001	**
Residual	19.83%			8.92%			21.03%		

En la **Figura 3** se representan las medias del porcentaje de brotación para cada una de las combinaciones con los dos tipos de tratamientos. Los datos obtenidos muestran que la brotación en la variedad Parellada (variedad de uva blanca) es significativamente superior al resto de variedades.

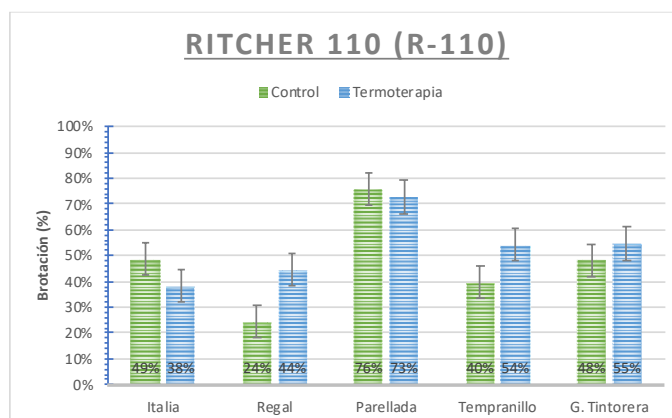


Figura 3. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Richter 110 (R-110) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Además, si se observan los intervalos LSD representados sobre cada una de las barras de esta figura, se ve que para las variedades Regal y Tempranillo, las plantas tratadas con Termoterapia obtuvieron una brotación significativamente mayor a las no tratadas (control) En el caso de la variedad Regal, a simple vista también se puede observar esta diferencia ya que tienen los valores más alejados (24% y 44%, respectivamente). Más aún, estos datos sugieren que, salvo en un número reducido de combinaciones, la termoterapia no ha tenido efectos negativos para la brotación.

Respecto a los datos del crecimiento vegetativo, tanto de la primera toma (mediados de julio), donde se midió la parte aérea de las plantas vivas, como de la toma de medidas del crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo (entre finales de julio y mediados de octubre) se observa (en la **Tabla 4**) que la combinación patrón-variedad, tratamiento e interacción tienen un efecto significativo en el crecimiento vegetativo de la parte aérea. En cambio, en el crecimiento entre los entrenudos la combinación patrón-variedad e interacción tienen un efecto significativo al 99% y el tratamiento tiene un efecto significativo al 95%.

En la **Figura 4** se puede ver que la variedad Tempranillo (variedad de uva tinta) ha sido la que significativamente ha tenido un mayor desarrollo vegetativo cuando no ha sido tratada con termoterapia y la variedad Regal la que ha obtenido un menor crecimiento respecto al resto, tanto siendo tratadas como no. Destacan los 38,67 cm obtenidos en las plantas control de Tempranillo respecto a los 23,43 cm de las plantas tratadas de esta misma variedad.

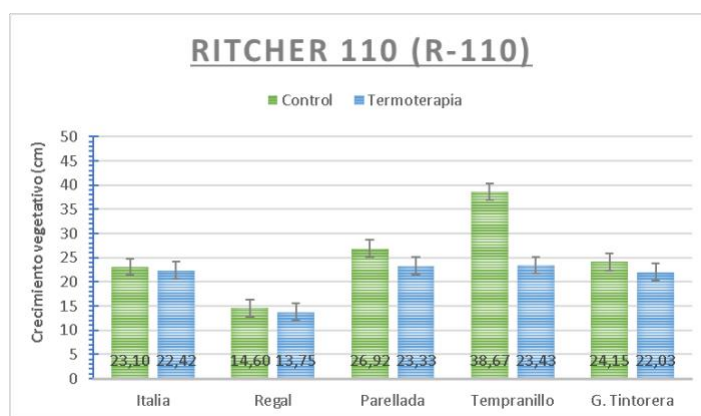


Figura 4. Diagramas de barras representando el crecimiento vegetativo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Richter 110 (R-110) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

En el crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo se obtienen resultados significativos, tanto en la combinación patrón-variedad como en el tratamiento y en la interacción de ambos. Así pues, en la **Tabla 4** se puede ver una cierta diferencia entre los tres tipos de clases de vid utilizadas: la Parellada (variedad de uva de vinificación blanca) presenta una diferencia significativa al tener un mayor crecimiento; las variedades de uva de mesa (Italia y Regal) presentan unos resultados medios iguales; y en cambio, las variedades de uva de vinificación tinta (Garnacha tintorera y Tempranillo) presenta unos resultados significativamente más bajos que los otros dos tipos. Esto puede ser debido, a que depende del tipo de vid, presentan unos entrenudos más juntos o alargados entre ellos, dando así estos resultados.

En cuanto al efecto del tratamiento, todas las variedades que han sido tratadas presentan un ligero retardo en el crecimiento, menos la variedad Parellada. Por tanto, el tratamiento con termoterapia tiene un efecto significativo sobre el crecimiento de los entrenudos, provocando un crecimiento menor respecto a las plantas no tratadas.

Además, se puede observar en la **Figura 5** que los únicos intervalos LSD que se solapan son los de las variedades Garnacha Tintorera y Regal, lo que muestra que las desviaciones respecto los valores medios son menores y, por tanto, la diferencia entre ser tratados o no, no les afecta considerablemente.

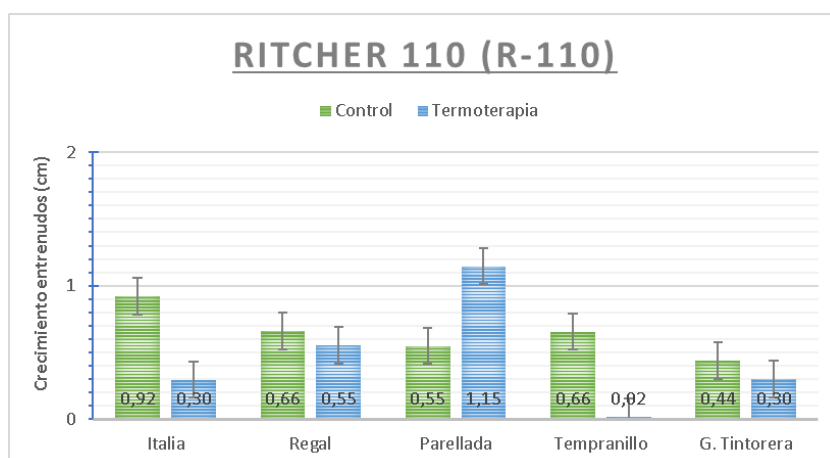


Figura 5. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudos (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Richter 110 (R-110) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Finalmente, en la última medida de supervivencia, donde se realiza un recuento final y definitivo del número de plantas que han sobrevivido a la totalidad del ciclo, no se ha podido realizar un análisis estadístico, ya que solo se dispone de un dato para cada tratamiento-variedad. Por lo tanto, se va a comentar la diferencia entre las medias de las variedades tratadas con agua caliente (termoterapia) y las no tratadas (control).

Como se puede ver en la **Figura 6** el tratamiento con termoterapia no ha tenido un efecto negativo sobre las tasas finales de supervivencia (considerando que unas diferencias del 10% son perfectamente asumibles y pueden ser debidas a otros factores/causas naturales), menos en la variedad Parellada donde sí que se muestra una diferencia del 20% sobre las plantas control (52% de supervivencia) y las plantas sometidas a termoterapia (32% de supervivencia).

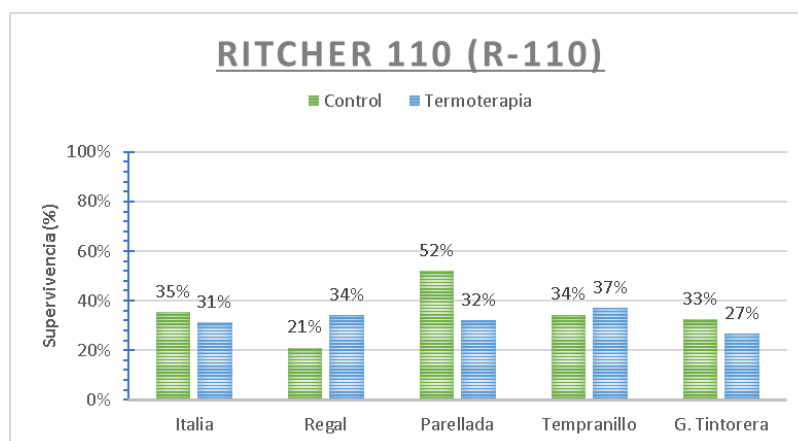


Figura 6. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Richter 110 (R-110) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

4.2. Ruggeri 140 (RU-140)

Al analizar los resultados del ANOVA expuestos en la **Tabla 5** se puede ver el efecto del tratamiento sobre el porcentaje de brotación, en el cual la combinación de este portainjerto (RU-140) con las distintas variedades y su interacción con los dos tipos de tratamiento dan como resultado un efecto estadísticamente significativo (p -valor $<0,01$).

Tabla 5. Cuadro resumen del Análisis de la varianza sobre las diferentes pruebas (% brotación, crecimiento vegetativo y crecimiento entrenudos) realizadas para determinar si el tratamiento de termoterapia al portainjerto Ruggeri 140 (RU-140) causa o no efectos significativos sobre su desarrollo vegetativo al ser injertado con variedades diferentes de *Vitis vinifera* L., respecto a unas plantas sin tratamiento (plantas control).

RUGGERI 140 (RU-140)									
	Brotación (%)			Crecimiento vegetativo (cm)			Crecimiento entrenudos (cm)		
Variedades									
Parellada	40.17%	b		22.05			0.83	a	
Airén	55.33%	a		22.75			0.42	b	
Tempranillo	39.67%	b		24.40			0.31	b	
G.Tintorera	52.67%	a		21.62			0.20	b	
Tinto P. Blanca	59.83%	a		23.77			0.39	b	
Tratamiento									
Control	49.60%			24.36	a		0.50		
Termoterapia	46.67%			21.47	b		0.36		
	% suma de cuadrados	p-Valor		% suma de cuadrados	p-Valor		% suma de cuadrados	p-Valor	
Variedades	22.34%	0.0016	**	6.80%	0.6460	ns	55.96%	0.0007	**
Tratamiento	1.04%	0.2815	ns	13.20%	0.0386	*	6.18%	0.0810	ns
Interacción	59.54%	0.0000	**	26.14%	0.0817	ns	1.25%	0.9483	ns
Residual	17.07%			53.87%			36.62%		

Los resultados muestran que las variedades Airén, Garnacha Tintorera y Tinto Pámpana Blanca tienen un porcentaje de brotación estadísticamente superior a las variedades Parellada y Tempranillo.

En la **Figura 7** se observa como el comportamiento de este portainjerto al ser tratado con agua caliente da unos resultados positivos en el caso de la variedad Parellada y Tempranillo, mientras que, para las variedades Airén y Tinto Pámpana Blanca, da lugar a una disminución en el porcentaje de brotación.

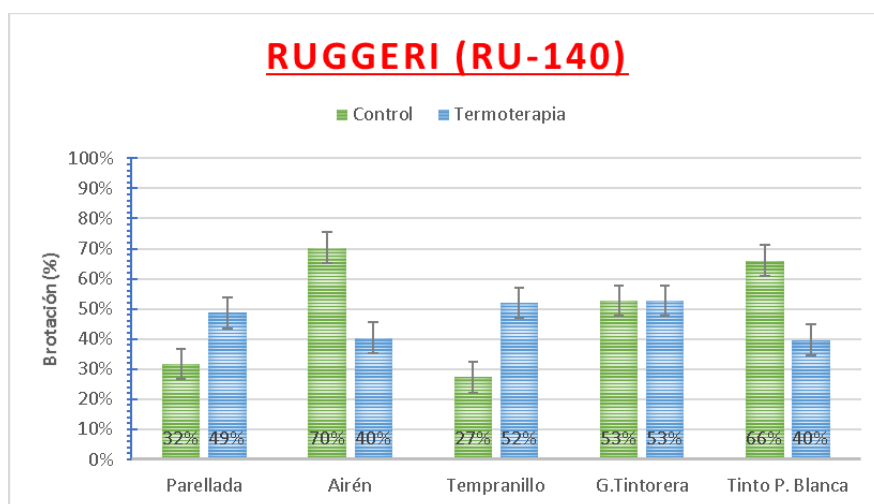


Figura 7. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Ruggeri 140 (Ru-140) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

En cuanto al análisis de los resultados del crecimiento vegetativo, se puede destacar que solamente el tipo de tratamiento tiene un efecto significativo sobre el crecimiento vegetativo.

Al aplicar la termoterapia se nota una pequeña disminución del crecimiento vegetativo en casi todas las variedades, y, por lo tanto, se puede llegar a la conclusión que al tratar con agua caliente el portainjerto RU-140 y posteriormente injertarlo en cualquier variedad de *Vitis Vinefera L.* (variedades expuestas en este estudio) influye negativamente en el desarrollo vegetativo del injerto, como se puede observar en la siguiente figura (**Figura 8**).

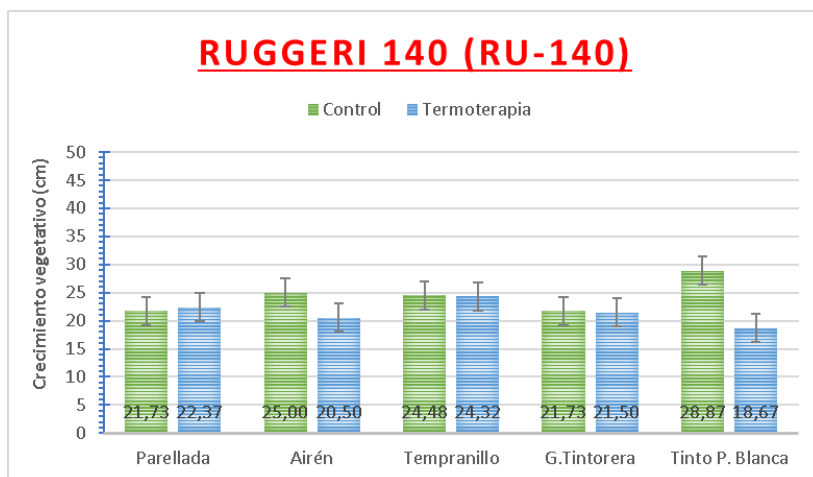


Figura 8. Diagramas de barras representando el crecimiento vegetativo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Ruggeri 140 (Ru-140) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Para profundizar un poco más en el estudio, se analiza el crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo, dando como resultado que el efecto combinación portainjerto-variedad influye significativamente ($p < 0.01$) sobre el crecimiento de los entrenudos. En concreto, si se observa la siguiente figura (**Figura 9**), la variedad Parellada es la que se diferencia del resto de variedades con un crecimiento mayor, tanto en injertos tratados como en el control.

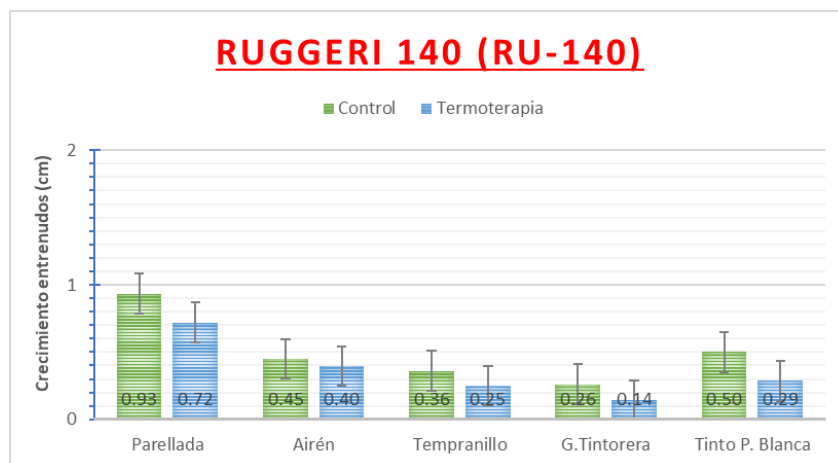


Figura 9. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudos (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Ruggeri 140 (Ru-140) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Como se ha nombrado en el apartado anterior, no se ha podido realizar un análisis estadístico de los datos de las plantas que han sobrevivido durante todo su ciclo vegetativo en el vivero experimental. Es así, que solamente se va a comentar la diferencia entre las medias de las variedades tratadas con agua caliente (termoterapia) y las que no tienen tratamiento (control).

En la siguiente figura (**Figura 10**), se puede observar que el tratamiento con termoterapia ha tenido un ligero efecto positivo sobre las tasas finales de supervivencia en las variedades Parellada, Tempranillo y Garnacha Tintorera. En cambio, el tratamiento ha tenido un efecto negativo sobre las tasas finales de supervivencia (considerando unas diferencias negativas del 10% o mayores frente al control) en las variedades Airén y Tinto Pámpana Blanca.

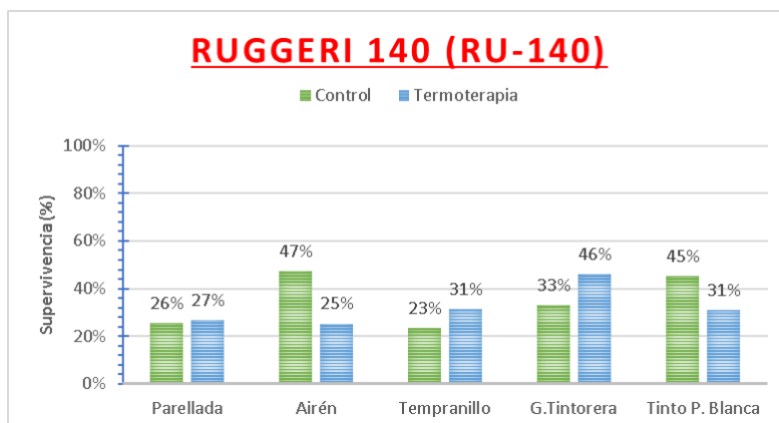


Figura 10. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Ruggeri 140 (Ru-140) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

4.3. Paulsen 1103 (P-1103)

En el cuadro resumen, llamado **Tabla 6**, del Análisis de la Varianza sobre las diferentes pruebas realizadas en el presente estudio, se observa que el tratamiento con termoterapia sobre el portainjerto P-1103 e injertado con las variedades que se muestran en la tabla, causa efectos significativos sobre su brotación inicial y sobre su crecimiento vegetativo, tanto en el desarrollo vegetativo como en el crecimiento de los entrenudos, una vez plantados en el vivero experimental.

Además, si se observa en el análisis la combinación patrón-variedad, se ve que tiene un efecto significativo sobre el porcentaje de brotación y sobre el crecimiento vegetativo, pero no significativo ($p > 0.05$) sobre el crecimiento de los entrenudos. Más aún, la interacción de esta combinación (patrón-variedad) con los diferentes tratamientos también tiene un efecto significativo ($p\text{-valor} < 0,01$) en cuando al porcentaje de brotación y sobre el crecimiento vegetativo ($p\text{-valor} < 0,01$).

Tabla 6. Cuadro resumen del Análisis de la varianza sobre las diferentes pruebas (% brotación, crecimiento vegetativo y crecimiento entrenudos) realizadas para determinar si el tratamiento de termoterapia al portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) causa o no efectos significativos sobre su desarrollo vegetativo al ser injertado con variedades diferentes de *Vitis vinifera* L, respecto a unas plantas sin tratamiento (plantas control).

PAULSEN 1103 (P-1103)									
	Brotación (%)			Crecimiento vegetativo (cm)			Crecimiento entrenudos (cm)		
Varietades									
Regal	30.08%	c		17.75	c		0.52		
Victoria	44.67%	b		24.18	b		0.38		
Airén	54.17%	a		28.85	a		0.47		
Tinto P. Blanca	48.67%	bc		25.42	b		0.35		
Tratamiento									
Control	34.29%	b		27.94	a		0.56	a	
Termoterapia	54.50%	a		20.16	b		0.30	b	
	% suma de cuadrados	p-Valor		% suma de cuadrados	p-Valor		% suma de cuadrados	p-Valor	
Varietades	22.23%	0.0005	**	35.23%	0.0001	**	7.28%	0.5417	ns
Tratamiento	31.94%	0.0000	**	35.67%	0.0000	**	32.56%	0.0079	**
Interacción	36.11%	0.0000	**	10.53%	0.0263	*	11.85%	0.3252	ns
Residual	9.72%			12.64%			48.30%		

Si se analiza gráficamente, por separado, las diferentes pruebas realizadas en este estudio, se observa, en primer lugar, que en el porcentaje de brotación hay diferencias significativas entre la variedad de uva de mesa Regal sobre las variedades Victoria y Airén, teniendo esta variedad un porcentaje de brotación inferior al resto. También, es estadísticamente significativa la diferencia de los dos tratamientos realizados, dando como resultado una mayor brotación en las plantas que han sido tratadas con agua caliente. La interacción de esta combinación (patrón-variedad) con los diferentes tratamientos también tiene un efecto significativo (p -valor < 0,01). En todas las variedades menos en la variedad Airén, se observan diferencias significativas, ya que en esta variedad tan solo se diferencia un 8,33% entre las plantas control (58,33% de brotación) y las plantas tratadas (50% de brotación). Todo esto se puede observar en la siguiente figura (**Figura 11**).

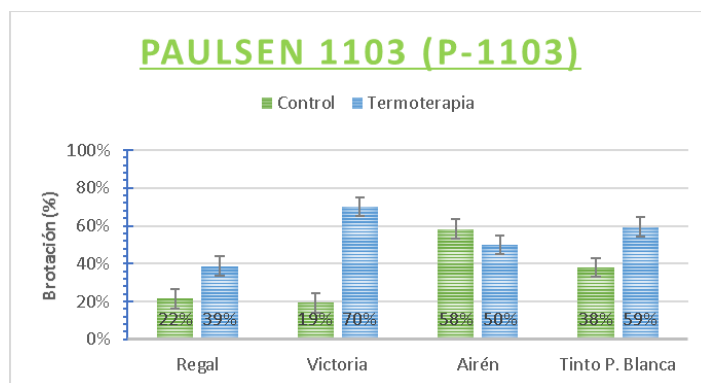


Figura 11. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

En segundo lugar, si se analizan los resultados obtenidos del crecimiento vegetativo se observa que la combinación del portainjerto P-1103 con cada una de las cuatro variedades elegidas, da como resultado una diferencia estadísticamente significativa entre ellas. La variedad de uva blanca de vinificación Airén es la que mayor crecimiento desarrolla frente a la variedad de uva de mesa Regal que fue la que mostró menor crecimiento. Esto puede ser debido a que el Airén tiene mayor afinidad al ser combinado con el portainjerto P-1103. No obstante, el tipo de tratamiento realizado también da unos resultados muy significativos, los injertos no tratados (injertos control) crecen vegetativamente mucho más que los injertos tratados (injertos tratados con termoterapia). Al analizar la interacción (**Figura 12**) se observa que la única variedad que no resulta afectada significativamente por la termoterapia es la variedad de uva blanca Airén, por tanto, a esta variedad el tipo de tratamiento realizado no le influiría sobre su desarrollo vegetativo.

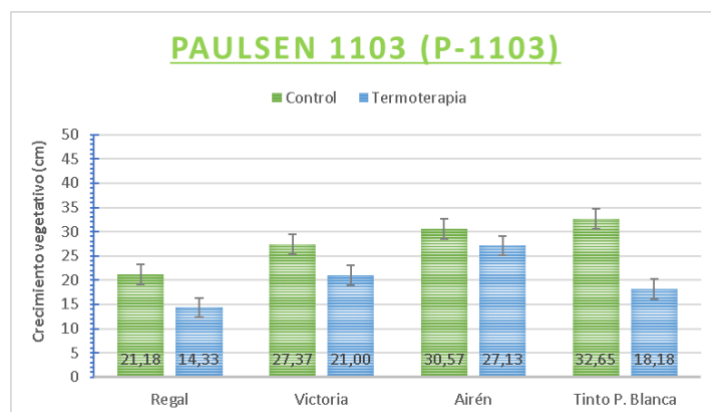


Figura 12. Diagramas de barras representando el crecimiento vegetativo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Adentrándose un poco más en el estudio del crecimiento vegetativo, se puede analizar el crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo, en que se obtiene como resultado que el efecto tratamiento influye significativamente ($p < 0.01$) sobre el crecimiento de los entrenudos. En concreto, si se observa la siguiente figura (**Figura 13**), se ve que las plantas que no han sido tratadas desarrollan un crecimiento de los entrenudos mayor que las plantas con tratamiento termoterapia.

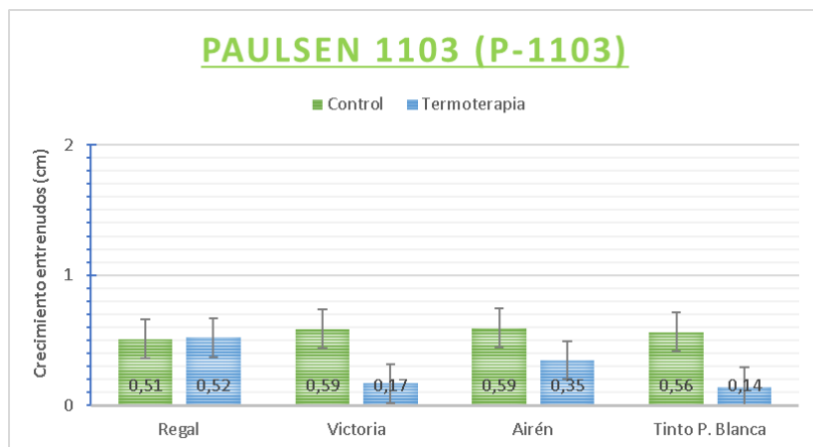


Figura 13. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Finalmente, si se analizan los datos del porcentaje de supervivencia de las plantas (**Figura 14**) que han sobrevivido durante todo su ciclo vegetativo en el vivero experimental, se puede ver que el tratamiento con termoterapia ha tenido un efecto positivo sobre las tasas finales de supervivencia (considerando que unas diferencias positivas del 10% o mayores frente al control) en todas las variedades menos en la variedad Airén, en la cual hay un diferencia de un 5% entre los dos tipos de tratamiento (45% control; 40% termoterapia).

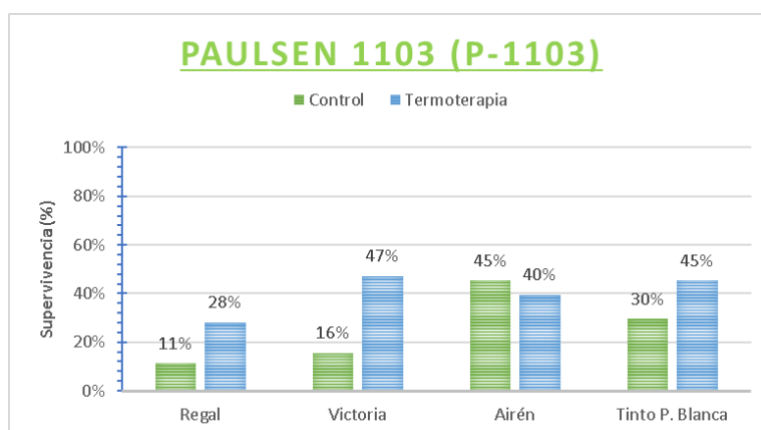


Figura 14. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

4.4. Selección Oppenheim de Teléki n°4 (SO4)

Al analizar los resultados del ANOVA expuestos en la **Tabla 7** se puede ver que la combinación patrón-variedad tiene un efecto significativo (p-valor < 0,01) tanto en el porcentaje de brotación como en el crecimiento vegetativo. También se observa que el tratamiento con termoterapia sobre el portainjerto S04 e injertado con las variedades que se muestran en la tabla, causa efectos significativos al 99% sobre su brotación inicial y al 95% sobre el crecimiento de los entrenudos. Y la interacción de esta combinación portainjerto-variedad con los diferentes tratamientos también tiene un efecto significativo (p-valor < 0,01) tanto en el porcentaje de brotación como en el crecimiento vegetativo.

Es importante destacar que, de la variedad de uva de mesa Victoria no se puede estimar ninguna comparación ni análisis estadístico ya que durante la realización del proceso de injertación no se escogió el portainjerto S04 sin tratamiento (control) y por lo tanto no hay recogida de datos de esta combinación portainjerto/variedad.

Tabla 7. Cuadro resumen del Análisis de la varianza sobre las diferentes pruebas (% brotación, crecimiento vegetativo y crecimiento entrenudo) realizadas para determinar si el tratamiento de termoterapia al portainjerto Selección Oppenheim de Teléki n°4 (SO4) causa o no efectos significativos sobre su desarrollo vegetativo al ser injertado con variedades diferentes de *Vitis vinífera*, respecto a unas plantas sin tratamiento (plantas control).

SO4									
Brotación (%)			Crecimiento vegetativo (cm)			Crecimiento entrenudos (cm)			
Variedades									
Italia	27,17%	b		21,62	a		0,71	a	
Regal	21,33%	c		16,68	b		0,63	a	
Tempranillo	40,83%	a		24,42	a		0,25	c	
G.Tintorerera	27,50%	b		17,82	b		0,38	bc	
Tratamiento									
Control	23,25%	b		21,29			0,63		
Termoterapia	35,17%	a		18,99			0,35		
	% suma de cuadrados	p-Valor		% suma de cuadrados	p-Valor		% suma de cuadrados	p-Valor	
Variedades	17,78%	0,0000	**	33,93%	0,0053	**	27,37%	0,0821	ns
Tratamiento	12,35%	0,0000	**	4,73%	0,1264	ns	15,36%	0,0497	*
Interacción	64,18%	0,0000	**	32,21%	0,0066	**	2,77%	0,8452	ns
Residual	5,68%			29,13%			54,52%		

Si se analizan los resultados del porcentaje de brotación se puede ver que hay diferencias estadísticamente significativas entre la variedad de uva tinta de vinificación Tempranillo y las cuatro restantes. También, es estadísticamente significativa la diferencia de los dos tratamientos realizados, dando como resultado una mayor brotación en las plantas que han sido tratadas con agua caliente (**Tabla 7**).

La interacción de esta combinación (patrón-variedad) con los diferentes tratamientos también tiene un efecto significativo (p-valor < 0,01), ya que el tratamiento con termoterapia aumentó la brotación en las variedades Tempranillo y G. Tintorerera, disminuyó en el caso de Italia y no afectó a la variedad de uva de mesa Regal, que tan solo se diferencia un 4,66% entre las plantas control (19% de brotación) y las plantas tratadas (23,66% de brotación), tal y como se ve reflejado en la **Figura 15**.

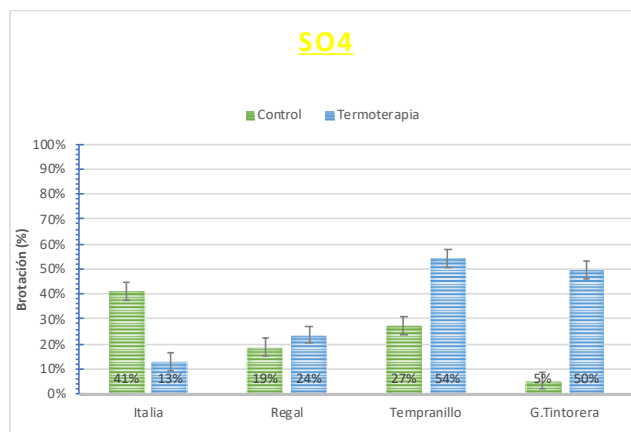


Figura 15. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Selección Oppenheim de Teléki n°4 (SO4) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

En cuando al análisis de los resultados del crecimiento vegetativo, se puede destacar que la combinación patrón-variedad y la interacción de esta con el tipo de tratamiento elegido dan como resultado un efecto estadísticamente significativo ($p < 0.01$). En la **Tabla 7** se puede ver que la variedad Italia y Tempranillo son las que más se han desarrollado vegetativamente, respecto a las variedades Garnacha Tintorera y Regal, que presentan unos valores medios. Y en cuando a la interacción (**Figura 16**) las variedades Garnacha Tintorera y Tempranillo no han resultado afectadas significativamente por la termoterapia resultan significativas. Por tanto, se puede llegar a la conclusión de que estas variedades, al ser las dos únicas variedades de uva tinta de vinificación combinadas con este portainjerto, el tipo de tratamiento realizado no le influiría sobre su desarrollo vegetativo. En cuanto a Italia y Regal ven disminuido su crecimiento por el tratamiento

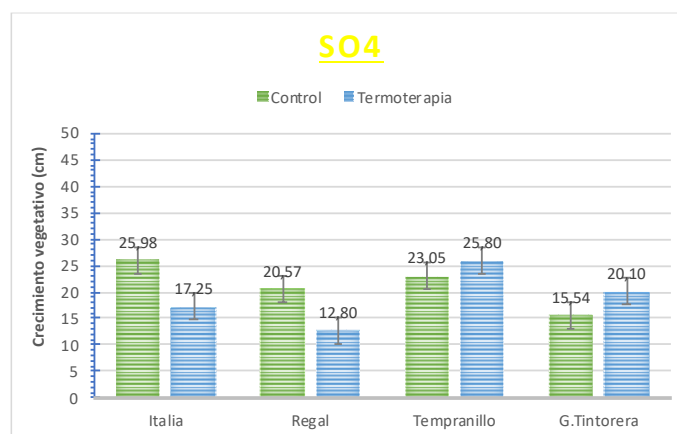


Figura 16. Diagramas de barras representando el crecimiento vegetativo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Selección Oppenheim de Teléki n°4 (SO4) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Si se analiza el crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo, se obtiene solamente un resultado significativo ($p\text{-valor} < 0,05$), siendo éste el efecto tratamiento. El tratamiento con agua caliente a afectado negativamente en el crecimiento de los entrenudos en todas las combinaciones realizadas respecto a las plantas control, tal y como se puede ver en la siguiente figura (**Figura 17**):

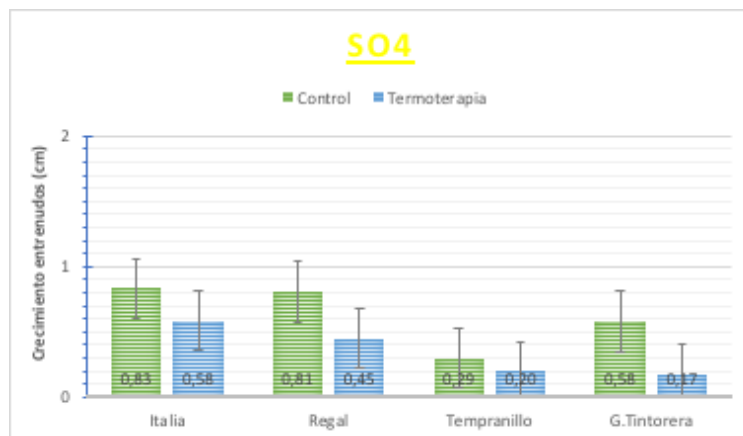


Figura 17. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudos (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Selección Oppenheim de Teléki n°4 (SO4) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Para finalizar con el análisis de este portainjerto, solamente quedaría hacer referencia a los resultados del porcentaje de supervivencia. En la **Figura 18** se puede ver que el tratamiento con termoterapia ha tenido un efecto negativo sobre las tasas finales de supervivencia (considerando unas diferencias negativas del 10% o mayores frente al control) en las variedades Italia y Regal. Y un efecto positivo sobre las variedades Tempranillo y Garnacha Tintorerá.

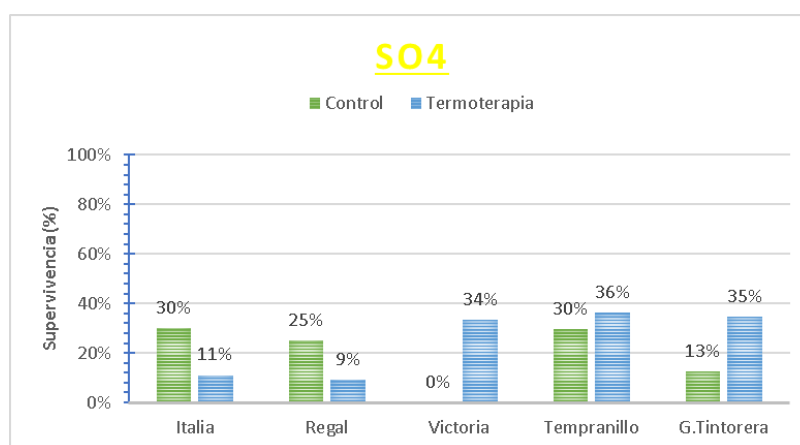


Figura 18. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto Selección Oppenheim de Teléki n°4 (SO4) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

4.5. 41-B Millardet y de Grasset (41-B)

Para el portainjerto 41-B, se disponía de tan solo 1.000 estacas en total, que se tenían que repartir para realizar tanto el tratamiento con termoterapia como para el control, destinando 600 portainjertos para el tratamiento y 400 para el control. Y, posteriormente, injertarlas con dos variedades de *Vitis vinifera* L.: Tempranillo y Airén. Para la primera variedad, se injertaron solamente 200 estacas sin tratar (realizando solo una repetición para la recogida de datos de cada prueba) y 400 estacas con tratamiento (realizando dos repeticiones de toma de datos en cada muestreo). Para la segunda variedad (Airén), 200 estacas sin tratar y 200 estacas con termoterapia (realizando en ambas solo una repetición por cada prueba realizada).

Al disponer de poco material vegetal y de pocos datos al realizar cada prueba con el fin de determinar el grado de supervivencia y el grado de desarrollo vegetativo, no se ha podido realizar un análisis estadístico. Por lo tanto, en cada una de las pruebas realizadas para el análisis de este portainjerto, solamente se va a comentar la diferencia entre las medias de las variedades tratadas con agua caliente (termoterapia) y las sin tratamiento (control), observando a que variedad le afecta más o menos el tipo de tratamiento.

Analizando la siguiente **Figura 19** se observa que el tratamiento con agua caliente es beneficioso para la variedad Tempranillo obteniendo un 12% más de brotación que en las plantas que sin tratar. Y en cambio, hay muy poca diferencia en la variedad Airén, de tan solo un 1% a favor de los injertos que no han sido tratados. Esto puede ser debido también, a que la afinidad de esta variedad de uva blanca en este patrón 41-B sea peor que la de la variedad de uva tinta, no obstante, el porcentaje de ambas variedades es muy bajo en comparación al porcentaje obtenido en otros portainjertos con la misma variedad.

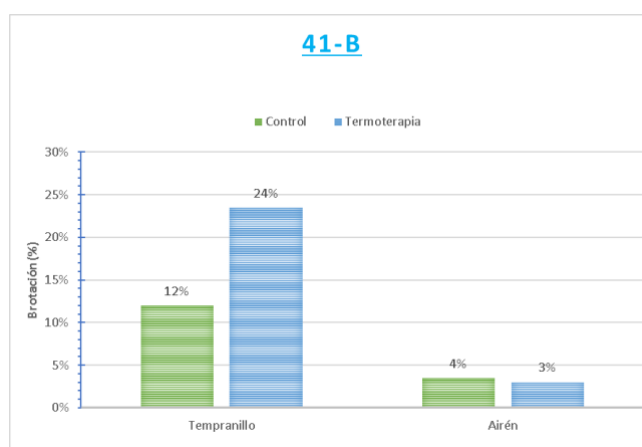


Figura 19. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto 41-B Millardet y de Grasset (41-B) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia.

Respecto a los datos del crecimiento vegetativo de la primera toma de datos (mediados de julio) donde se midió la parte aérea de las plantas vivas se puede observar que el efecto tratamiento es positivo para la variedad Tempranillo, superando en 0,85 centímetros a las plantas sin tratar, y negativo para la variedad Airén con solo una diferencia de 0,19 cm de las plantas control (10,40 cm de crecimiento vegetativo) con las plantas tratadas (10,21 cm), tal y como se puede observar en la **Figura 20**.

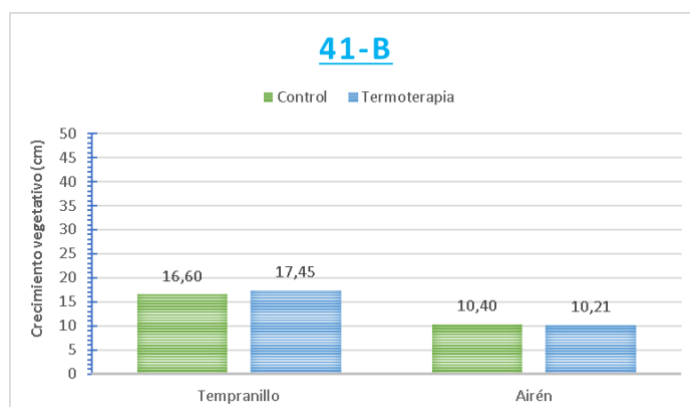


Figura 20. Diagramas de barras representando el crecimiento vegetativo (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre el portainjerto 41-B Millardet y de Grasset (41-B) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia.

En cambio, en el análisis de los datos obtenidos del crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo (entre finales de julio y mediados de octubre) se puede observar en la **Figura 21** que hay una diferencia considerable entre los dos tipos de variedades, siendo la variedad Airén la que mejores resultados ha obtenido, sobre todo en la que se ha realizado el tratamiento, superando a todas las demás en 0,40 centímetros de diferencia. Por otro lado, los resultados obtenidos de la variedad Tempranillo son mucho más bajos y prácticamente igual en ambos tratamientos. Esto puede ser debido, a que depende del tipo de vid, presentan unos entrenudos más juntos (Tempranillo) o alargados (Airén).

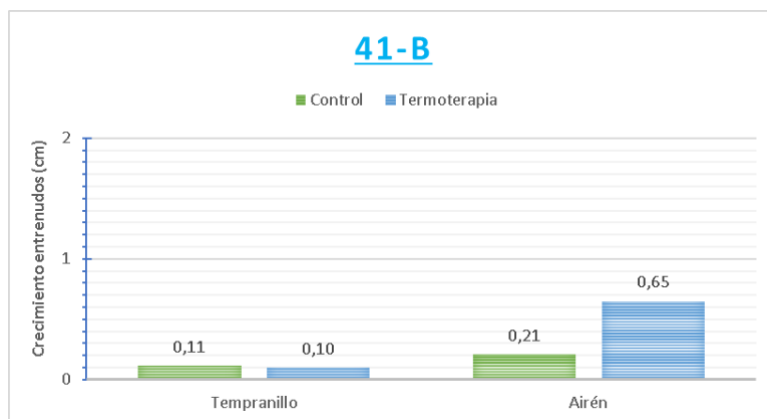


Figura 21. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudos (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto 41-B Millardet y de Grasset (41-B) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia.

Finalmente, si se analiza visualmente la **Figura 22** donde se muestran los datos del porcentaje de supervivencia de las plantas que han sobrevivido durante todo su ciclo vegetativo en el vivero experimental, se puede ver que el tratamiento con termoterapia ha tenido un efecto positivo sobre las tasas finales de supervivencia en ambas las variedades. Este resultado es satisfactorio ya que el tratamiento con termoterapia no provoca una disminución de la cantidad total de plantas que ha sobrevivido, sino que, hace todo lo contrario. Para este tipo de patrón y su combinación con las variedades Tempranillo y Airén aumenta el porcentaje de supervivencia, por lo tanto, la aplicación de termoterapia sería beneficiosa.

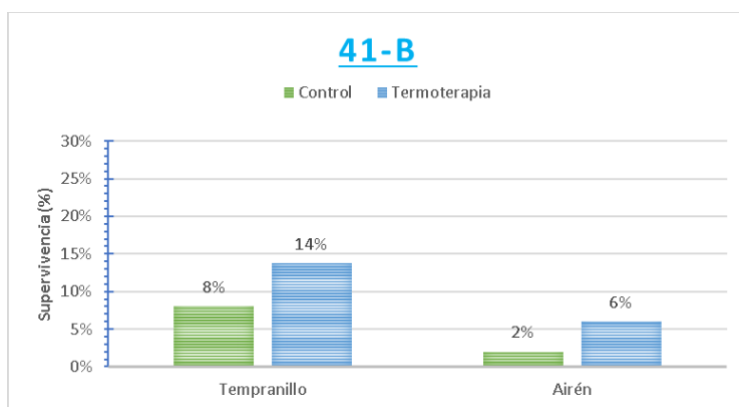


Figura 22. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre el portainjerto 41-B Millardet y de Grasset (41-B) en dos tipos de tratamiento: control y termoterapia.

4.6. Termoterapia x2 (Aplicación del tratamiento termoterapia a portainjertos y yemas)

Si se analizan los resultados del ANOVA expuestos en la **Tabla 8** sobre el porcentaje de brotación se puede ver que tanto la combinación patrón-variedad, el efecto tratamiento y la interacción de esta combinación con los diferentes tratamientos tienen un efecto estadísticamente significativo (p -valor $< 0,01$). En cuando a la combinación patrón-variedad, se puede ver que hay diferencias significativas entre la combinación Parellada/ R-110 con las otras dos combinaciones restantes (Garnacha Tintorera/R-110 y Airén/RU-140).

Tabla 8. Cuadro resumen del Análisis de la varianza sobre las diferentes pruebas (% brotación, crecimiento vegetativo y crecimiento entrenudo) realizadas para determinar si el tratamiento de termoterapia aplicado tanto a los portainjertos, Richter 110 (R-110) y Ruggeri 140 (RU-140), como a las yemas de las variedades Garnacha Tintorera, Parellada y Airén, causa o no efectos significativos sobre su desarrollo vegetativo, respecto a unas plantas sin tratamiento (plantas control).

TERMOTERAPIA x2 (YEMAS Y PORTAINJERTO)									
Brotación (%)			Crecimiento vegetativo (cm)			Crecimiento entrenudos (cm)			
Variedades									
Parellada_R-110	61.28%	a		23.28		1.00	a		
G.Tintorera_R-110	47.11%	b		22.38		0.33	b		
Airén_RU-140	45.55%	b		22.00		0.39	b		
Tratamiento									
Control	64.78%	a		25.36	a	0.48			
Termoterapia	55.89%	b		21.96	b	0.61			
Termoterapia x2	33.28%	c		20.36	c	0.63			
	% suma de cuadrados	p-Valor		% suma de cuadrados	p-Valor		% suma de cuadrados	p-Valor	
Variedades	18.30%	0.0036	**	4.51%	0.5803	ns	62.04%	0.0000	**
Tratamiento	44.71%	0.0000	**	46.43%	0.0028	**	2.26%	0.1757	ns
Interacción	23.11%	0.0036	**	8.79%	0.5846	ns	22.10%	0.0015	**
Residual	13.88%			40.27%			13.60%		

También, es estadísticamente significativa la diferencia entre los tres tratamientos realizados (**Tabla 8**), dando como resultado un mayor porcentaje de brotación en las plantas que no han sido tratadas (64,78%), un porcentaje medio en las plantas que ha sido tratado solo el portainjerto (55,89%) y un porcentaje inferior en las plantas que han sido tratadas tanto el portainjerto como las yemas (33,28%). Por tanto, el doble tratamiento afecta negativamente a la brotación inicial de los injertos una vez establecidos en el vivero experimental.

La interacción de esta combinación (patrón-variedad) con los diferentes tratamientos también tiene un efecto significativo (p -valor $< 0,01$), pero solamente en el Airén/RU-140 control, que es superior a los otros dos tratamientos, y en la Parellada/R-110 termoterapia x2, que es inferior a los otros tratamientos restantes del mismo patrón, tal y como lo podemos ver en la **Figura 23**.

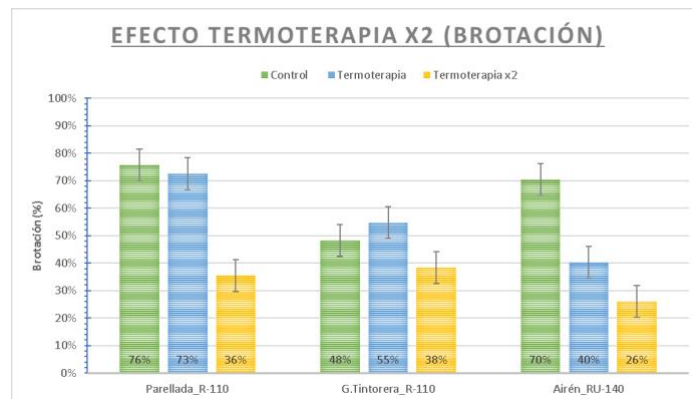


Figura 23. Diagramas de barras representando el porcentaje de brotación de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre los portainjertos Richter 110 (R-110) y Ruggeri 140 (RU-140) en tres tipos de tratamiento: control, termoterapia y termoterapia x2. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

La termoterapia aplicada tanto a portainjertos como a variedad ha afectado negativamente a todas las combinaciones ensayadas. En cambio, cuando sólo se ha aplicado al portainjerto, se observa que disminuye la brotación en la combinación Airén/RU-140, pero no afecta significativamente a las otras dos combinaciones.

En cuanto al análisis de los resultados del crecimiento vegetativo, destaca que solamente el tratamiento tiene un efecto estadísticamente significativo (**Tabla 8**). Al aplicar la termoterapia disminuye el crecimiento vegetativo en las tres variedades, y más aún, si se aplica el doble tratamiento.

Por lo tanto, se puede llegar a la conclusión que al tratar con agua caliente el portainjerto y posteriormente injertarlo en cualquier variedad de *Vitis Vinefera L.* también tratada, influye negativamente en el desarrollo vegetativo del injerto.

Del análisis del crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo, se observa que el efecto combinación portainjerto-variedad y la interacción de esta combinación con los diferentes tratamientos influyen significativamente sobre el crecimiento de los entrenudos (**Tabla 8**). La variedad Parellada es la que se diferencia del resto de variedades con un crecimiento mucho más superior al resto (**Figura 24**). De la interacción de esta combinación (patrón-variedad) con los diferentes tratamientos (p -valor < 0,01), se observa que solamente en la Parellada/R-110 hay un mayor crecimiento en las plantas tratadas (sin diferencias entre tratar solo portainjerto, o tratar también la variedad) respecto al control. En el resto de las combinaciones no se observan diferencias entre tratamientos.

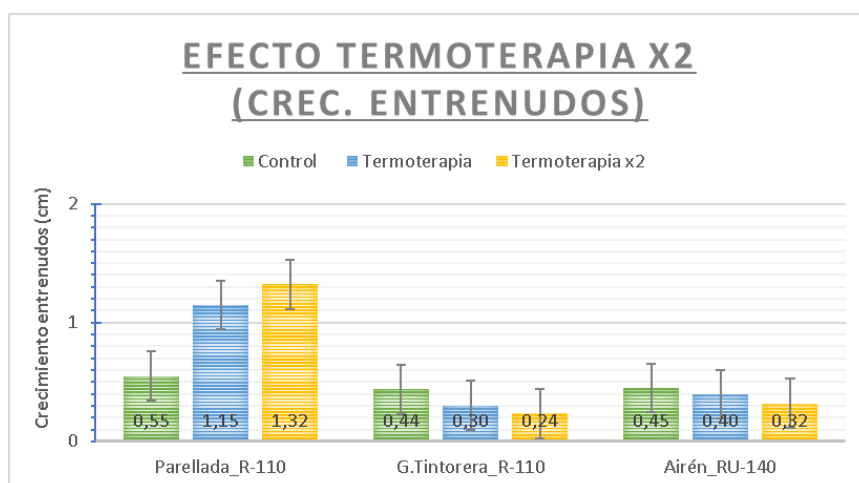


Figura 24. Diagramas de barras representando el crecimiento entrenudos (cm) de diferentes variedades de *Vitis vinífera* en combinación sobre los portainjertos Richter 110 (R-110) y Ruggeri 140 (RU-140) en tres tipos de tratamiento: control, termoterapia y termoterapia x2. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

Para concluir con el análisis sobre la aplicación del tratamiento de agua caliente tanto a las yemas como a los portainjertos, tan solo quedaría comentar los resultados de las plantas que han sobrevivido durante todo su ciclo vegetativo en el vivero experimental.

En la **Figura 25** se puede observar que ambos tratamientos con termoterapia han tenido un efecto negativo sobre las tasas finales de supervivencia (considerando unas diferencias negativas del 10% o mayores frente al control) en las variedades Parellada y Airén. No obstante, en la variedad Garnacha Tintorera el tratamiento doble ha obtenido unos resultados superiores al control y tratamiento simple.

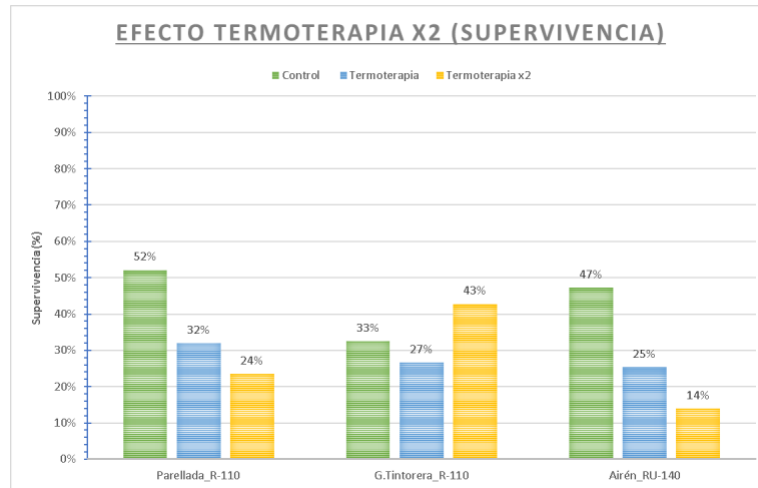


Figura 25. Diagramas de barras representando el porcentaje de supervivencia de diferentes variedades de *Vitis vinifera* en combinación sobre los portainjertos Richter 110 (R-110) y Ruggeri 140 (RU-140) en tres tipos de tratamiento: control, termoterapia y termoterapia x2. Sobre cada una de las barras se muestra el intervalo LSD de Fisher con un 95% de nivel de confianza.

5. Discusión

En este apartado se van a comparar los resultados obtenidos en este Trabajo Fin de Máster, con el objetivo de comprobar si el efecto sobre el desarrollo vegetativo de distintas combinaciones de variedades y portainjertos tratados con agua caliente (termoterapia) es estadísticamente significativo (o no) en relación con las plantas sin tratar (control).

En primer lugar, si se analizan los datos del **porcentaje de brotación** de las distintas variedades injertadas en un mismo portainjerto, se muestra una fuerte dependencia de la combinación realizada. Así, por ejemplo, en las diferentes combinaciones sobre el portainjerto R-110 se observa cómo la máxima tasa de brotación, en los injertos que se ha realizado tratamiento con termoterapia, es del 73% en el caso de la combinación R-110/Parellada. Esto implica, que potencialmente todas las restantes combinaciones podrían haber llegado a ese nivel de brotación y cuando eso no ocurre está relacionado probablemente con el menor éxito de las otras combinaciones.

Esto puede ser debido a que el portainjerto puede ser de una especie distinta a la de la variedad, pero por lo general debe existir proximidad taxonómica entre ambos miembros. No obstante, cuanto más alejados filogenéticamente están los componentes de la combinación, mayores son las posibilidades de que se produzcan problemas de compatibilidad entre ellos. Esos problemas se manifiestan de distintas maneras y dan lugar a lo que se denomina incompatibilidad o falta de afinidad, que puede conducir al rechazo y muerte del injerto (Celeste, 2015).

De hecho, cuando se tomaron los datos del porcentaje de brotación a mediados del mes de julio del 2020 se observó que en muchas combinaciones la zona de unión entre el portainjerto y la variedad no estaba bien unida, siendo éste un posible síntoma de incompatibilidad, o, dicho de otra forma, menor afinidad entre el patrón y la variedad de *Vitis vinífera L.* elegida.

Por otro lado, en el comportamiento de los distintos portainjertos una vez tratados con agua caliente (termoterapia), se puede apreciar como Ritcher R-110 ha mostrado unos buenos índices de brotación en todas las combinaciones ensayadas, con niveles iguales o superiores a los detectados en el caso de la muestra control, detectándose solo una ligera disminución en el caso de la combinación R-110/Regal, donde las diferencias son estadísticamente significativas entre el control y la termoterapia. Destaca el efecto de la termoterapia en el portainjerto P-1103, dando como resultado una mayor brotación en las plantas que han sido tratadas con agua caliente. Se observa también como el comportamiento de los portainjertos restantes (RU-140, SO4 y 41B) frente al tratamiento es muy bueno con algunas excepciones RU-140/Airén o SO4/Italia, con diferencias significativas en ambos casos.

En segundo lugar, respecto al análisis de los resultados del **crecimiento vegetativo**, se puede destacar que el tratamiento tiene un efecto significativo sobre el crecimiento vegetativo para los portainjertos R-110, RU-140 y P-1003. En general, se ha observado cómo el tratamiento de termoterapia, o bien no tiene efecto sobre el crecimiento o provoca un ligero retardo, para la mayor parte de las combinaciones. Esto indica que el tratamiento con agua caliente provoca algún tipo de estrés a la planta no dejándola desarrollarse vegetativamente igual que las plantas control. Este efecto se podría relacionar en la reacción de las plantas a un estrés hídrico y salino, tal y como se demostró en un estudio realizado el año 2017 por Lucero et al., sobre las respuestas al estrés hídrico y salino de los portainjertos de vid P-1103 y 101-14 Mgt injertados con Cabernet Sauvignon. Este estudio concluyó que ambos tipos de estrés reducen de una forma semejante la biomasa de la planta entera: el estrés hídrico disminuye más la longitud de brotes y la superficie foliar que el estrés salino a un mismo nivel de potencial hídrico en las hojas.

Para futuros estudios, tras el arranque de las plantas en el vivero, resultaría conveniente analizar el sistema radical, ya que dicho tratamiento se ha realizado en los portainjertos, que son los encargados de desarrollar el sistema radical de la planta y así compararlo con plantas control, para ver si esta diferencia del crecimiento vegetativo puede ser debida a que las plantas tratadas con termoterapia tengan un menor desarrollo radical.

En tercer lugar, adentrándose un poco más en el estudio del crecimiento vegetativo, se puede analizar el **crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo**, donde se puede ver que el efecto del tratamiento es significativo para los portainjertos R-110, P-1103 y SO4. En general se observa que para la mayor parte de las combinaciones el impacto de la termoterapia sobre el crecimiento es negativo, con diferencias respecto del control, y destacando un efecto significativo en el caso de las combinaciones P-1103/Victoria, P-1103/Tinto Pámpana Blanca y R-110/Tempranillo. Solamente se ha tenido un impacto positivo sobre este marcador de crecimiento en el caso de las combinaciones R-110/Parellada, P-1103/Regal y Airén/41-B.

Comparando el crecimiento en altura con los datos de crecimiento de los entrenudos se observa que el posible efecto negativo de la termoterapia sobre el desarrollo de la planta apreciado en crecimiento en altura para algunas combinaciones no se detecta cuando se analiza el crecimiento a nivel del sexto-séptimo entrenudo. Este dato pone de manifiesto que no existe una muy buena correlación entre ambos marcadores de crecimiento. También, se han identificado diferencias notables para distintas variedades injertadas sobre un mismo portainjerto, lo cual confirma que el “factor combinación” portainjerto-variedad tiene un alto impacto en el desarrollo de los injertos en campo.

Todo esto es debido a que depende del tipo de vid, los entrenudos se presentan más juntos o alargados entre ellos, dando así estos resultados significativos entre unas variedades y otras. Como en el caso de la variedad Garnacha Tintorera, que refleja un crecimiento de los entrenudos mucho menor que la resta de variedades. Si se hace referencia a los resultados del **porcentaje de supervivencia**. El tratamiento con termoterapia ha tenido un efecto positivo sobre las tasas finales de supervivencia en un total de 11 combinaciones:

- Uva de mesa:
 - Regal con los portainjertos R-110 y P-1103
 - Victoria con P-1103
- Uva tinta:
 - Tempranillo con R-110, RU-140, SO4 y 41-B
 - Garnacha Tintorera con RU-140 y SO4
 - Tinto Pámpana Blanca con P-1103
- Uva blanca:
 - Parellada (RU-140)

De la variedad de uva de vinificación tinta Tempranillo se puede decir que el tratamiento ha sido todo un éxito, ya que en todas las combinaciones sobre los diferentes patrones la supervivencia ha sido superior a las plantas sin tratar (control). En cambio, en la variedad Italia (injertada con los portainjertos R-110 y SO4) y en la variedad Airén (injertada con RU-140, P-1103 y 41-B), la aplicación del tratamiento con agua caliente no ha sido exitosa, ya que en ninguna de las combinaciones se ha obtenido un resultado de supervivencia igual o mayor a las plantas sin tratar.

Por lo tanto, estos datos nos indican que para el total de injertos que han sobrevivido, durante todo su ciclo de desarrollo en el campo de multiplicación, la termoterapia no ha tenido efectos negativos salvo en un número reducido de combinaciones.

Al ser los datos más fiables, ya que fueron examinados y clasificados uno por uno, una vez arrancados del vivero, se obtiene un efecto positivo para tener en cuenta si se va a utilizar este tipo de tratamiento en el proceso viverístico, ya que se le proporcionaría al cliente final (agricultor) una planta totalmente sana y perfecta para cultivar. Además, en un estudio realizado por el instituto agroforestal mediterráneo de la Universitat Politècnica de València, se analizó una plantación comercial de vid con plantas tratadas por termoterapia con agua caliente en la que, tras cuatro años (2008-2011) de cultivo, no se observaron diferencias significativas respecto al desarrollo de las mismas, producción de uva y calidad del mosto entre plantas tratadas y no tratadas (Armengol, 2014).

Por último, para finalizar con el estudio, solamente quedaría ver el efecto del **doble tratamiento**, termoterapia tanto a los portainjertos como a las yemas, en las combinaciones R-110/Parellada, R-110/G.Tintorera y RU-140/Airén. El doble tratamiento afecta negativamente a la brotación inicial de los injertos una vez establecidos en el vivero experimental con una diferencia significativa entre los tres tratamientos realizados, dando como resultado un mayor porcentaje de brotación en las plantas que no han sido tratadas y un porcentaje inferior en las plantas que han sido tratadas tanto el portainjerto como las yemas. También, se nota una pequeña disminución del crecimiento vegetativo en las tres variedades, y más aún, si se aplica el doble tratamiento.

En cambio, en el crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo, se observa que la variedad Parellada es la que se diferencia del resto de variedades con un crecimiento muy superior al resto, sobre todo en aquellas plantas sometidas al tratamiento, tanto simple como doble. Tal y como se ha dicho anteriormente, esto puede ser debido a que depende del tipo de vid, los entrenudos se presentan más juntos o alargados entre ellos.

Y finalmente, hay que comentar que en los resultados de las plantas que han sobrevivido durante todo su ciclo vegetativo en el vivero experimental, se puede observar que ambos tratamientos con termoterapia han tenido un efecto negativo sobre las tasas finales de supervivencia en las variedades Parellada y Airén. No obstante, en la variedad Garnacha Tintorera el tratamiento doble ha obtenido unos resultados superiores al control y tratamiento simple.

6. Conclusiones

Tras un año de estudio, se ha comprobado en el presente Trabajo Final de Máster el efecto del tratamiento con agua caliente (termoterapia) para el control de *X. fastidiosa* en plantas de vivero de vid, comparando su impacto sobre el desarrollo vegetativo de distintas combinaciones de variedades y portainjertos.

Se han obtenido resultados diferentes en cada una de las pruebas realizadas: brotación, crecimiento vegetativo, crecimiento de los entrenudos y supervivencia, durante el ciclo de la planta de vid en el vivero. En general, se puede deducir que en las diferentes combinaciones patrón-variedad hay una fuerte dependencia de la combinación realizada.

En cuando, al porcentaje de brotación, se puede destacar el efecto del tratamiento sobre los portainjertos P-1103, SO4 y 41-B, dando como resultado una mayor brotación en las plantas que han sido tratadas con agua caliente. Por otro lado, en el crecimiento vegetativo el tratamiento con agua caliente, o bien no tiene efecto sobre el crecimiento o provoca un ligero retardo, para la mayor parte de las combinaciones. Y más aún, adentrándose un poco más en el estudio del crecimiento vegetativo, se puede concluir que, en el crecimiento entre el sexto y séptimo entrenudo, el efecto tratamiento influye significativamente sobre los portainjertos R-110, P-1103, SO4 y 41-B. Y si se hace referencia a los resultados del porcentaje de supervivencia, el tratamiento con termoterapia ha tenido un efecto positivo en un total de 11 combinaciones, donde se ha obtenido un resultado de supervivencia igual o mayor a las plantas sin tratar.

Con todos estos resultados obtenidos, cabe destacar que el portainjerto Paulsen 1103 (P-1103) y la variedad de uva de vinificación tinta Tempranillo, son las que mejores resultados han obtenido, no afectándole el tratamiento e incluso obteniendo respuestas del desarrollo del crecimiento y supervivencia mayores que las plantas que no han sido tratadas. En cambio, la variedad Italia (injertada con los portainjertos R-110 y SO4) y la variedad Airén (injertada con RU-140, P-1103 y 41-B), han sido las dos únicas variedades que la aplicación del tratamiento con agua caliente no ha sido exitosa, ya que en ninguna de las combinaciones se ha obtenido un resultado igual o mayor a las plantas control.

Al tratar con agua caliente el portainjerto y posteriormente injertarlo en variedades de *Vitis Vinefera L.* también tratadas, influye negativamente en el desarrollo vegetativo del injerto y supervivencia de este tras pasar todo su ciclo vegetativo en el vivero, menos en la variedad Garnacha Tintorera donde el tratamiento doble ha obtenido unos resultados superiores al control y tratamiento simple.

Esto nos lleva a la conclusión, de que el tratamiento con termoterapia no afecta de igual manera a todas las combinaciones, sino que según el portainjerto y la variedad de *Vitis vinífera L.* que se ha elegido, se obtendrá un resultado satisfactorio o no.

7. Bibliografía

AGROAMBIENT GVA (2021). Situación *Xylella fastidiosa* en la Comunitat Valenciana, visto el 14 de julio de 2021, <http://agroambient.gva.es/es/web/agricultura/xylella-fastidiosa>

AGROINFORMACIÓN (2021). Información sobre *Xylella fastidiosa* en la Comunitat Valenciana, visto el 13 de julio de 2021, <https://agroinformacion.com/la-xylella-sigue-avanzando-en-la-comunidad-valenciana-y-ya-ha-llegado-a-la-provincia-de-valencia/>

AGUSTÍ BRISACH, C., GARCÍA-JIMÉNEZ, J., ARMENGOL J., GRAMAJE, D. (2014). Las enfermedades de la madera de vid: reflexiones sobre un panorama complejo. *Phytoma España*, (260), 18-25.

ARMENGOL, J. (2017). Epidemiología de los hongos de la madera de la vid: ¿cómo sobreviven, se dispersan e infectan a las plantas? *Phytoma España*, (288), 43-45.

ARMENGOL, J. (2014). *Problemática de las enfermedades de la madera de la vid en planta joven*. Jornada técnica Winetech Plus. Instituto Agroforestal Mediterraneo. 40 pp.

BERTSCH, C., RAMÍREZ-SUERO, M., MAGNIN-ROBERT, M., LARIGNON, P., CHONG, J., ABOU-MANSOUR, E., SPAGNOLO, A., CLÉMENT, C., FONTAINE, F. (2013). Grapevine trunk diseases: complex and still poorly understood. *Plant Pathology*, (62), 243-265.

CELESTE RIVAS, G. (2015). *Portainjertos de la vid*. Trabajo final en Tecnicatura Universitaria en Enología y Viticultura. Universidad Nacional de Cuyo. 78 pp.

GRAMAJE, D., ARMENGOL, J. (2011). Fungal trunk pathogens in the grapevine propagation process: potential inoculum sources, detection, identification, and management strategies. *Plant Disease*, (95), 1040-1055.

GRAMAJE D., GARCÍA-JIMÉNEZ J Y ARMENGOL J. (2008). Sensivity of Petri disease pathogens to hot-water treatments in vitro. *Annals of Applied Biology*, (153), 95-103.

GRAMAJE, D.; ÚRBEZ-TORRES, J. R.; SOSNOWSKI, M. R. (2018). Managing grapevine trunk diseases with respect to etiology and epidemiology: current strategies and future prospects. *Plant disease*, (102), 12-39.

HIDALGO, L. (2002). *Tratado de Viticultura General*. Editorial Mundi-Prensa Libros. Madrid. 1235 pp.

LUCERO, C. C., DI FILIPPO, M., VILA, H., VENIER, M. (2017). Comparación de las respuestas al estrés hídrico y salino de los portainjertos de vid 1103P y 101-14Mgt, injertados con Cabernet Sauvignon. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias UNCuyo*, (49), 33-43.

LUQUE J., GEORGINA E., ARMENGOL J., LEGORBURU J. (2014). Las enfermedades de la madera de la vid: reflexiones sobre un panorama complejo. *Phytoma España*, (260), 18-24.

MAPAMA (2019). Superficies y producciones anuales de cultivos del Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente, visto el 2 de marzo de 2021, <https://www.mapa.gob.es/es/estadistica/temas/estadisticas-agrarias/agricultura/superficies-producciones-anuales-cultivos>

PASCUAL ESPAÑA, B., PASCUAL SEVA, N., SAN BAUTISTA PRIMO, A., CASTELL ZEISING, V. (2020). *Propagación de plantas*. Editorial Universitat Politècnica de València. Valencia. 169 pp.

PIQUERAS HABA, J. (2005). La filoxera en España y su difusión espacial: 1978-1926. *Cuadernos de geografía*, (77), 101-136.

REGLAMENTO DE EJECUCIÓN (UE) 2020/1201 DE LA COMISIÓN. Unión Europea, 14 de agosto de 2020, sobre medidas para evitar la introducción y propagación dentro de la Unión de *Xylella fastidiosa*. *Diario oficial de la Unión Europea* L 269/2, 17 de agosto de 2020, 38 pp.

REGLAMENTO (UE) 2016/2031 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO. Unión Europea, 26 de octubre de 2016, relativo a las medidas de protección contra las plagas de los vegetales, por el que se modifican los Reglamentos (UE) n° 228/2013, (UE) n° 652/2014 y (UE) n° 1143/2014 del Parlamento Europeo y del Consejo y se derogan las Directivas 69/464/CEE, 74/647/CEE, 93/85/CEE, 98/57/CE, 2000/29/CE, 2006/91/CE y 2007/33/CE del Consejo. *Diario oficial de la Unión Europea* L 317/4, 23 de noviembre de 2016, 101 pp.

REYNER, A. (2002). *Manual de viticultura: guía técnica de viticultura*. Editorial Mundi-Prensa Libros. Madrid. 497 pp.

ROMERO VILAFRANCA, R., ZÚNICA RAMAJO, L. R. (2013). Métodos estadísticos para ingenieros. Editorial Universitat Politècnica de València. Valencia. 246 pp.

SALAZAR HERNÁNDEZ, D., MELGAREJO MORENO, P. (2005). *Viticultura: Técnicas de cultivo de la vid, calidad de la uva y atributo de los vinos*. Editorial Mundi-Prensa Libros. Madrid. 325 pp.

VIVEROS ENRIQUE BRAVO S.L (2021). Empresa dedicada a la producción de plantas de viña, confección y venta de estaca, barbado e injertos de material certificado, visto el 23 de marzo de 2021, <https://viverosbravo.com/viveros-bravo-valencia>