



Universidad de Córdoba
Campus agroalimentario ceiA3

Programa de doctorado
Recursos Naturales y Gestión Sostenible



Estudio aerobiológico y fenológico de viñedos de la denominación de origen Montilla-Moriles

**Aerobiological and phenological study of
vineyards in the denomination of origin
Montilla-Moriles**

Directoras
Carmen Galán Soldevilla y Purificación Alcázar Teno

Autor:
Moisés Martínez Bracero
2019

TITULO: *ESTUDIO AEROBIOLÓGICO Y FENOLÓGICO DE VIÑEDOS DE LA DENOMINACION DE ORIGEN MONTILLA-MORILES*

AUTOR: *Moisés Martínez Bracero*

© Edita: UCOPress. 2019
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>
ucopress@uco.es



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

Programa de doctorado: Recursos Naturales y Gestión Sostenible

Título de la tesis:

Estudio aerobiológico y fenológico de viñedos de la denominación de origen Montilla-Moriles.

Aerobiological and phenological study of the vineyards in the denomination of origin Montilla-Moriles.

Directoras

Carmen Galán Soldevilla Purificación Alcázar Teno

Autor de la tesis: Moisés Martínez Bracero

Fecha de depósito tesis en el Idep: 18 de octubre de 2019



TÍTULO DE LA TESIS: Estudio aerobiológico y fenológico de viñedos de la denominación de origen Montilla-Moriles.

DOCTORANDO/A: Moisés Martínez Bracero

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS

(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

El doctorando ha realizado un estudio tanto aerobiológico como fenológico en viñedos de la denominación de origen Montilla-Moriles. Se trata de un trabajo original de gran interés ya que no se han realizado estudios de este tipo en el sur de España pese a existir una importante superficie de viñedo y ser un sector muy presente en nuestra zona. Se han obtenido resultados muy interesantes tanto en el comportamiento fenológico de las diferentes variedades de vid que se encuentran en el área de estudio como de los posibles patógenos que aparecen en el aire. El estudio de las concentraciones de esporas de hongos causantes de enfermedad en el viñedo es de gran utilidad a la hora de conocer el momento y las condiciones más favorables para su desarrollo y poder así programar el tratamiento con un menor coste económico y ambiental. Se han desarrollado análisis estadísticos novedosos en esta área de estudio que han permitido realizar un análisis de los resultados de forma más clara. Se han publicado 3 trabajos científicos relacionados con el tema en revistas de impacto en el área de estudio. Las revistas en las que se han publicado los trabajos se encuentran indexadas en el Journal Citation Report (JCR). El doctorando ha realizado estancias de investigación tanto nacionales como internacionales que han contribuido a su formación en el área de estudio.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 18 de OCTUBRE de 2019

Firma del/de los director/es

Fdo.: ARNEN GARCÍA Fdo.: PURIFICACIÓN ALCÁZAR TORO
SEDEVILLA



CERTIFICATION

Moisés Martínez Bracero PhD student, from the University of Cordoba (Spain), spent a research period of three months (from 1 st of September to 30 st of November) at the University of Szczecin, Department of Plant Taxonomy and Phytogeography, Faculty of Biology, to carry out a study of aerobiology regarding the identification of fungal spores and advanced statistical methods.

Moisés Martínez Bracero demonstrated to be a very clever and proficient researcher and he performed an excellent and careful work, achieving a very good results.

This research period could thus be considered as the basis for further future collaborations.

Szczecin, 30.11. 2106 r.

UNIwersytet Szczeciński
Wydział Biologii
KATEDRA TAKSONOMII ROŚLIN I FITOGEOGRAFII
71-415 Szczecin, ul. Wąska 13

The Tutor and Project Responsible
(Agnieszka Grinn-Gofroń Associate Prof.)

KIEROWNIK KATEDRY
Taksonomii Roślin i Fitogeografii

dr hab. Beata Bosiacka, prof. US

INFORME SOBRE APORTACIONES DERIVADAS DE LA TESIS DOCTORAL Y FACTOR DE IMPACTO DE LAS REVISTAS CIENTÍFICAS (JOURNAL CITATION REPORTS)

Publicaciones en revistas científicas (Capítulos de la tesis)

Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., Velasco-Jiménez, M. J., Calderón-Ezquerro, C., and Galán, C. (2018). Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain. *The Journal of Agricultural Science*, 156(6), 821-831. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0021859618000783>

Factor de impacto (JCR, 2018): 1.330. Posición de la revista en relación a su categoría específica (Agricultura): 19/56; segundo cuartil (Q2), primer tercil (T1).

Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., Velasco-Jiménez, M. J., and Galán, C. (2019). Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles southern Spain. *European Journal of Plant Pathology*, 153(1), 1-13. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1532-6>

Factor de impacto (JCR, 2018): 1.744. Posición de la revista en relación a su categoría específica (Horticultura): 9/36; primer cuartil (Q1), primer tercil (T1).

Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., Velasco-Jiménez, M. J., and Galán, C. Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum. (2019). *Aerobiologia*. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10453-019-09604-z>

Factor de impacto (JCR, 2018): 1.931. Posición de la revista en relación a su categoría específica (Biología): 37/87; segundo cuartil (Q2), segundo tercil (T2).

Publicaciones en revistas científicas (Otras publicaciones derivadas)

Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., de la Guardia, C. D., González-Minero, F. J., Ruiz, L., Pérez, M. T., and Galán, C. (2015). Pollen calendars: a guide to common airborne pollen in Andalusia. *Aerobiologia*, 31(4), 549-557. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9385-3>

Factor de impacto(JCR, 2015): 1.452. Posición de la revista en relación a su categoría específica: 41/86; segundo cuartil (Q2), primer tercil (T1).

Comunicaciones presentadas en congresos internacionales

Martínez-Bracero, M.; Velasco-Jiménez, M.J.; Alcázar, P.; Galán, C. (2016) Phenolgy and aerobiology of *Vitis vinifera* in Montilla-Moriles, South Spain. 6th European Symposium of Aerobiology, 18 - 22 de Julio de 2016. Lyon (France). Poster.

Martínez-Bracero, M.; Alcázar, P.; Grinn-Gofroń, A. Galán, C. (2017) Fungal spores affecting vineyards across Europe, a preliminary study. Mediterranean Palynology APLE-GPPSBI-APLF Symposium, 4 al 6 de Septiembre de 2017. Barcelona (España). Comunicación oral.

Martínez-Bracero, M.; Alcázar, P.; Velasco-Jiménez, M.J.; Galán, C. (2018) Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles, southern Spain. International Congress of Aeobiology, 3 al 7 de Septiembre de 2018. Parma (Italia). Comunicación oral.

Wójcik, M.; Voloshchuk, H.; Martínez-Bracero, M.; Kasprzyk, I. (2019) Allergenic fungal spores in vineyard – the threats for workers. 58th Congress of the Polish Botanical Society. Botany without borders, 1 al 7 de julio de 2019. Cracovia (Polonia). Comunicación oral

Comunicaciones presentadas en congresos nacionales

Martínez-Bracero, M.; Velasco-Jiménez, M.J.; Alcázar, P.; Galán, C. (2017). Fenología y Aerobiología de los Viñedos de la Denominación de Origen Montilla-Moriles. Jornadas de divulgación de proyecto de investigación y desarrollo relacionado con la D.O.P. Montilla-Moriles, 24 de enero de 2017, Montilla, Córdoba (España). Comunicación oral.

Martínez-Bracero, M.; Velasco-Jiménez, M.J.; Alcázar, P.; Galán, C. (2019). Estudio de polen de vid y esporas de hongos aerovagantes en la denominación de origen Montilla-Moriles. XV Congreso de Salud Ambiental y II Jornada de la Asociación Española de Aerobiología, 22-24 de mayo de 2019, Valencia (España). Comunicación oral.

Como el fuego prueba la dureza del hierro, así el vino bebido hasta embriagarse, descubre los corazones de los soberbios

Anónimo

Agradecimientos

Siempre me he preguntado el porqué de todo y esa búsqueda me llevó paso a paso a que, conforme llegué a la facultad, quisiese ser investigador. Siempre me es difícil realizar la introducción de un nuevo apartado, y más este en el cual pretendo no olvidar a nadie. Agradecimientos es el último apartado que se escribe en una tesis aunque se encuentre al principio de la misma, como he leído en tesis anteriores. Por mi parte, al igual que mi guía (a la que mencionaré más adelante), llevo mucho tiempo pensando en cómo escribir estos agradecimientos, con mi lista de personas para no dejarme a nadie, pero durante estos años de aprendizaje ésta ha ido aumentándose. Se dice que detrás de un gran hombre hay una gran mujer, pues en esta lista de agradecimientos hay unas pocas.

Es de recibo agradecer en primer lugar a mis directoras de tesis, Carmen Galán Soldevilla y Purificación Alcázar Teno, por tantas horas de ayuda, correcciones y, para que mentir, *cursivas*. Este es el resultado de un camino que he hecho guiado por ellas, tanto en los artículos, los congresos y los diversos cursos a los que se me ha permitido asistir. Todo para mejorar mis conocimientos e intentar acercarme, un solo paso, a los que poseen ellas. He aprendido mucho de estas dos grandes mujeres y esta tesis no hubiese llegado hasta aquí si no hubiese sido por su apoyo.

Es imposible continuar sin dedicarle una mención especial a María José Velasco Jiménez, guía y acompañante en estos años en el laboratorio. Gracias a que vive en Montilla ha sido mi enlace con los agricultores y la propia denominación de origen en los comienzos de esta andadura y como ella misma me dijo hace poco: “Te cogí chiquito y te dejo con la tesis medio terminada”. No hay palabras que puedan expresar cuan agradecido estoy.

En estos años distintas personas han sido mis acompañantes, y yo el suyo, en las horas de fenología. Por todas las horas de coche y bajo el sol no puedo dejar de agradecer a Lola, José y Rocío, su compañía, su tiempo y las charlas. Cabe destacar a Pilar, ya que con ella he tenido momentos que nunca olvidaré y es quien me ayudó con una de las ilustraciones de la presente tesis. A Manuel Arenas, por todos los conocimientos compartidos y por tantos desayunos. También agradecer a José Antonio los ratos que hemos podido compartir, ya que gracias a él se ha ido automatizando poco a poco el recuento e identificación de los granos de polen. A Herminia García Mozo por todos los ratos de desahogo. A Carmen García y Paco, por su innegable

colaboración conduciéndome por esos lagares mientras me sacaba el carnet de conducir, y por toda su ayuda.

Al departamento de Biología Vegetal y Ciencias del suelo del campus de Ourense de la Universidad de Vigo, por su buena acogida y todo lo aprendido allí.

Imposible olvidar a Agnieszka Grinn-Gofroń, mi tutora en la estancia en el extranjero. Gracias por todo tu apoyo, por todo lo que me has enseñado sobre esporas de hongos y por los buenos ratos que compartimos en Szczecin. Siempre serás mi mejor ayudante, y yo el tuyo. También he de agradecerte que me pusieses en manos de tu tocaya Agnieszka Strzelczak, que tanto me enseñó de estadística muy útil para esta tesis. Dziękuję bardzo.

A Enrique Garrido, como director del consejo regulador, por acogernos en la denominación. Agradecer a Juan Portero y a su hija Ángela el mostrarnos la denominación y los distintos lagares donde podríamos hacer la fenología y colocar los captadores portátiles. A Juan Córdoba, Antonio López, Manuel Jiménez y Santiago Jiménez por dejarnos trabajar en sus fincas y por todos los comentarios recibidos por ellos. A Charo y a Sole, las dueñas de “La Primilla”, por dejarnos poner el captador en vuestra casa, por todas las conversaciones, las ayudas y los buenos ratos pasados en todo este tiempo. Mil gracias.

A Bodegas Campos, causa de la selección de esta nueva línea de investigación y ayuda para comenzar los primeros años de tesis. La antigua bodega en la cual he podido demostrar lo que sé de vino y tomar más cariño, si cabe, a los caldos de esta tierra.

A mis padres, por todos los momentos de preocupación, por todas las horas escuchándome y en las cuales con sólo tus oídos ponías solución a las dudas que surgían en esta andadura. Yo soy tu luz y tu mi aceite, no podría iluminar tanto si no fuese por ti. A mi hermana Azahara, mi tía Rocío y mi tío Ramón, por todos los ratos pendientes de mí, de mis viajes de mis idas y venidas, por compartir tantos momentos en este camino y por todo vuestro apoyo.

A mi familia



Índice

Índice

1. Resumen	5
1.1. Resumen	7
1.2. Abstract	9
2. Introducción	13
2.1. Contexto de la tesis doctoral	13
2.2. La vid (<i>Vitis vinifera</i> L.)	14
2.2.1. Distribución geográfica del viñedo	14
2.2.2. Importancia de la vid	15
2.3. Fenología	18
2.3.1. Fenología del viñedo	19
2.4. Enfermedades fúngicas de la vid	22
2.4.1. Oídio, <i>Uncinula necator</i> (<i>Erysiphe necator</i>)	22
2.4.1.1. Ciclo biológico	23
2.4.2. Podredumbre gris, <i>Botrytis cinerea</i> .	24
2.4.2.1. Ciclo biológico	24
2.4.3. Mildiu, <i>Plasmopara viticola</i>	26
2.4.3.1. Ciclo biológico.	26
2.5. Aerobiología	28
2.5.1. Evolución de los captadores aerobiológicos	29
2.5.2. Aerobiología del viñedo	30
2.5.2.1. Polen de <i>Vitis vinifera</i>	30
2.5.2.2. Esporas de hongos	31
2.5.2.2.1. <i>Uncinula necator</i>	31
2.5.2.2.2. <i>Botrytis cinerea</i>	31
2.5.2.2.3. <i>Plasmopara viticola</i>	32
3. Objetivos	33
3.1. Capítulo I	35
3.2. Capítulo II	36
3.3. Capítulo III	36
4. Material y Métodos	39
4.1. Zona de estudio en la Denominación de Origen Montilla Moriles	39
4.2. Variedades	40
4.2.1. Pedro Ximénez	41
4.2.2. Verdejo	42

4.2.3.	Moscatel grano menudo	43
4.2.4.	Chardonnay	43
4.3.	El método aerobiológico	44
4.3.1.	Tipos de captadores	44
4.3.1.1.	Captador tipo Hirst	44
4.3.1.2.	Captadores portátiles (Portable Spore Traps, PST)	46
4.3.2.	Preparación y análisis de muestras	48
4.3.2.1.	Preparación de muestras del captador tipo Hirst	49
4.3.2.2.	Preparación de muestras de los captadores portátiles	49
4.3.2.3.	Análisis de las Muestras	50
4.4.	Manejo estadístico de datos aerobiológicos y fenológicos.	50
4.4.1.	Consideraciones básicas	50
4.4.2.	Modelos de análisis multivariable	50
4.4.2.1.	Árboles de decisión	51
4.4.2.2.	Análisis de redundancia (RDA)	51
4.4.2.3.	Modelo de trayectorias	51
5.	Capítulo 1	53
6.	Capítulo 2	67
7.	Capítulo 3	83
8.	Discusión	97
9.	Conclusiones	109
9.1.	Conclusiones	111
9.2.	Conclusions	113
10.	Bibliografía	115
	Anexo 1	131



1. Resumen

1.1. Resumen

El viñedo es uno de los cultivos perennes más abundantes en el mundo, con las mayores concentraciones de hectáreas localizadas en Europa. Una de las principales amenazas para este cultivo son las enfermedades fúngicas, siendo las principales el Mildiu (*Uncinula necator*), el Oídio (*Plasmopara viticola*) y la podredumbre gris (*Botrytis cinerea*). Un conocimiento sobre el contenido de esporas de hongos en el aire es considerado útil como indicador del desarrollo de patógenos, mientras que las concentraciones de polen aerovagante son una herramienta importante para el conocimiento de la intensidad y la estacionalidad de la floración.

El objetivo principal de la tesis ha sido conocer las relaciones que existen entre la fenología del viñedo, el polen aerovagante y los factores meteorológicos, además del estudio de las esporas en el aire de hongos patógenos del viñedo.

El estudio se ha realizado en cuatro viñedos de la DOP Montilla-Moriles durante el periodo 2015-2018. Las concentraciones de esporas de hongos y granos de polen se han monitorizado mediante dos tipos de captadores de impacto: uno tipo Hirst y varios captadores de tipo pasivo. Para el muestreo aerobiológico se procedió según el Manual de Calidad y Gestión de la Red Española de Aerobiología (REA) y los requerimientos mínimos de la European Aerobiology Society (EAS). El análisis de los granos de polen se realizó mediante la lectura de la muestra superando el 10% de la superficie total y en el caso de las esporas de hongos superando el 5% de la superficie total. Los datos fenológicos se tomaron semanalmente (dos veces en semana durante la floración) para las 4 variedades a estudio (Pedro Ximénez, Verdejo, Moscatel de Grano menudo y Chardonnay). Mediante el programa R se realizaron correlaciones de Spearman para comparar las concentraciones de granos de polen y esporas de hongos con los parámetros meteorológicos. Debido a las complejas relaciones entre la meteorología y las concentraciones de granos de polen y esporas, se procedió también a la realización de Análisis de Redundancia (RDA) y árboles de decisión.

Resumen

Respecto a las esporas de hongos detectadas en la DOP, *Uncinula necator* ha sido la espora más común, seguida por *Botrytis cinerea* y, en último lugar, *Plasmopara viticola*. La mayor presencia de esporas se detectó durante los estadios previos a la floración, la temperatura media fue el factor que más afectó de forma significativa a las tres esporas. *Botrytis cinerea* ha presentado correlación con el punto de rocío, *Plasmopara viticola* con la humedad y el punto de rocío y *Uncinula necator* presenta mayor correlación con la precipitación aunque no significativamente. Los tipos polínicos más importantes en la zona de muestreo, por orden abundancia, fueron: *Olea*, *Quercus*, *Poaceae*, *Urticaceae*, *Urtica membranacea*, *Vitis*, *Plantago*, *Pinus* y *Amaranthaceae*. Los parámetros meteorológicos con mayor influencia para el contenido polínico fueron la temperatura y el punto de rocío.

Se ha observado una correlación significativa entre las concentraciones de polen y esporas semanales de los captadores pasivos y el captador volumétrico, pero la integral estacional de esporas siempre fue más alta con el captador volumétrico que con los pasivos. La comparativa entre los captadores pasivos y el volumétrico pone de manifiesto una buena representación de la DOP con los datos obtenidos mediante el captador volumétrico, siendo éste el más recomendado para zonas amplias. En términos del período de floración, los cultivares estudiados se han clasificado como "cultivares tempranos". El espectro de polen en la zona de estudio es consecuencia del uso agrícola de la tierra, con altas concentraciones de algunos tipos de polen de especies cultivables, y una menor diversidad de otros tipos polínicos en el aire en comparación con estudios realizados en zonas urbanas. El análisis de RDA ha ofrecido una mejor explicación de la compleja relación entre los parámetros meteorológicos y el polen aerovagante, en comparación con los resultados del análisis de correlación Spearman.

1.2. Abstract

The vineyard is one of the most abundant perennial crops in the world, with the highest concentrations of hectares located in Europe. Principal vineyard diseases are powdery mildew (*Uncinula necator*), grey mould (*Botrytis cinerea*), and downy mildew (*Plasmopara viticola*). Knowledge about airborne fungal spore concentrations is useful as indicator of pathogen development, while airborne pollen concentrations are an important tool for studying the timing and intensity of flowering.

The main goal of the thesis has been to know the relationships between the phenology of the vineyard, the airborne pollen and meteorological factors, as well as the study about pathogenic fungal spores causing diseases in the vineyard.

The study was carried out in four vineyards of the PDO Montilla-Moriles during the 2015-2018 period. The concentrations of fungal spores and pollen grains have been monitored using two types of impact collectors: a Hirst type and several passive spore traps (PTS). For aerobiological sampling, we proceeded according to the Management and Quality manual of the Spanish Network of Aerobiology (REA) and the minimum requirements of the European Aerobiology Society (EAS). The analysis of pollen grains was performed exceeding 10% of the total surface area of the daily sample and for fungal spores the 5%. Phenological data were taken weekly (twice a week during flowering) for the 4 varieties under study (Pedro Ximénez, Verdejo, Small Grains Muscat and Chardonnay). Using the R program, Spearman correlations were made to compare pollen and fungal spore concentrations with the meteorological parameters. Due to the complex correlations between meteorology and pollen and spore concentrations, Redundancy Analysis (RDA) and decision trees were also carried out.

Regarding fungal spores detected in the PDO, *Uncinula necator* has been the most common spore, followed by *Botrytis cinerea* and *Plasmopara viticola*. The highest presence of spores was detected during the stages prior to flowering; the average temperature was the factor that most significantly affected the three spores. *Botrytis cinerea*

Resumen

has correlated with dew point, *Plasmopara viticola* with moisture and dew point and *Uncinula necator* with rainfall but not significantly. The most important pollen types in the sampling area, in order of abundance, were: *Olea*, *Quercus*, *Poaceae*, *Urticaceae*, *Urtica membranacea*, *Vitis*, *Plantago*, *Pinus* and *Amaranthaceae*. The meteorological parameters with greatest influence on airborne pollen were the temperature and the dew point.

A significant correlation has been observed between the weekly pollen and spore concentrations of the passive and Hirst-type samplers, but the seasonal spore integral was always higher for the Hirst-type sampler than for the passive ones. The comparison between the passive and the Hirst samplers shows the good representation of the PDO according to the data obtained by the Hirst sampler, being the most recommended for large areas. In terms of the flowering period, the cultivars studied have been classified as "early cultivars". The pollen spectrum in the study area is a consequence of agricultural land use, increasing the pollen concentrations of cultivated species and decreasing the diversity of pollen types in the air. The RDA analysis has offered a better explanation of the complex relationship between the meteorological parameters and airborne pollen, comparing with the results of the Spearman correlation analysis between the studied variables.

2. Introducción



2. Introducción

2.1. Contexto de la tesis doctoral

La presente tesis doctoral se centra en el estudio de la fenología del viñedo (*Vitis vinifera* subsp. *vinifera* L.), y el uso de la aerobiología para estudiar el contenido de polen en el aire y de las principales esporas de hongos causantes de enfermedades en el viñedo, como el oídio (*Uncinula necator* (Schw.) Burr.), el mildiu (*Plasmopara viticola* (Berk. and Curt.) Berk. and de Toni) y la podredumbre gris (*Botrytis cinerea* Pers.) (Agrios et al., 2004; Fernández-Gonzalez et al., 2009). La tesis se desarrolla en el marco de la denominación de origen Montilla-Moriles.

La vid es uno de los principales cultivos en la Cuenca Mediterránea, apareciendo el consumo de vino dentro de la dieta mediterránea como patrimonio inmaterial de la humanidad reconocido por la UNESCO. La producción enológica es uno de los principales beneficios del cultivo de la vid. El conocimiento de los ciclos biológicos de la vid, así como de los principales agentes causantes de enfermedad, ayudará a un mejor manejo del cultivo, que se traducirá en una reducción del gasto económico en tratamientos y un beneficio al medio ambiente, como ha sido demostrado en estudios anteriores (Fernández-Gonzalez et al., 2009; Oliveira and Cunha, 2015; Holb and Füzi, 2016). Así mismo, el estudio de las concentraciones de granos de polen en el aire zonas de viñedo puede considerarse como un buen indicador de la floración y, por tanto, puede ser usado para predicciones de cosecha. Para realizar estos estudios debe contarse con bases de datos prolongadas en el tiempo, como se ha demostrado para la vid (Fernández-González et al., 2011; Cunha et al., 2016), así como para otras plantas del mediterráneo, como el olivo (Galan et al., 2004; Oteros et al., 2014).

2.2. La vid (*Vitis vinifera* L.)

La vid (*Vitis vinifera* L.) pertenece a la familia Vitaceae, familia de plantas normalmente trepadoras, integrada por entre 14 y 16 géneros y en torno a 750 especies de carácter pantropical. Por su lado, el género *Vitis* presenta unas 60 especies de Norteamérica, Europa y Asia. Pese a que la filogenia interna de la especie se encuentra todavía en discusión, actualmente se distinguen claramente la variedad cultivada (*Vitis vinifera* subsp. *vinifera* L.), y la silvestre (*Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* ((C.C. Gmel.) Hegi). Los principales caracteres diferenciadores son el hermafroditismo floral, el mayor vigor de brotes y sarmientos, así como un mayor ecotipo de la variedad cultivada frente a la silvestre, entre otras (Myles et al., 2011; Terral et al., 2009; Zecca et al., 2012).

2.2.1. Distribución geográfica del viñedo

La distribución geográfica de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* (vid silvestre), tras la última expansión glaciaria, fue descrita por Zohary y Spiegel-Roy (1975) (Figura 1). El comienzo del cultivo del viñedo (*Vitis vinifera* subsp. *vinifera*) se ha establecido a partir de evidencias arqueológicas hace unos 5000 años en torno al valle del Creciente Fértil. Esta domesticación se propagó hacia el oeste gradualmente. Hoy en día quedan patentes orígenes de la viticultura en Italia, durante el primer milenio a.C. (Di Vora and Castelletti, 1995); Grecia y Creta

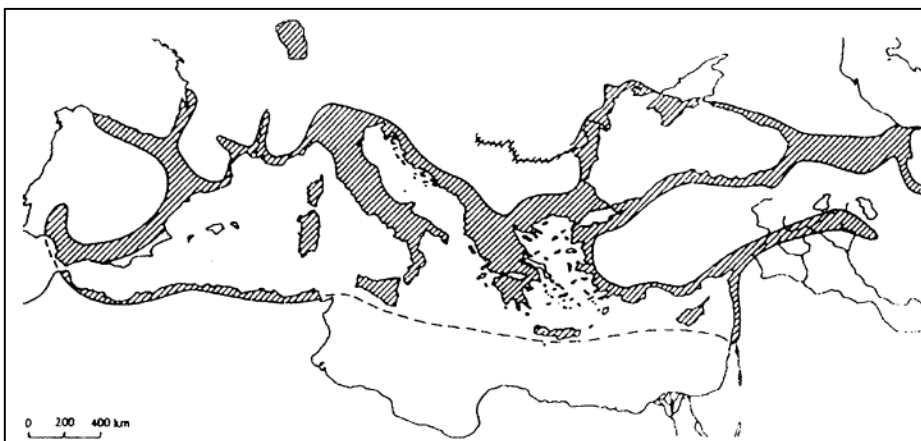


Figura 1. Rango de distribución de *Vitis vinifera* subsp. *sylvestris* en la cuenca mediterránea, Zohary y Spiegel-Roy (1975)

durante el primer milenio a.C. (Valamoti et al., 2007); y en España y el Magreb, durante el primer milenio a.C. con la influencia de los fenicios (Buxó and Piqué, 2008; Núñez and Walker, 1989), siendo altamente extendida durante el imperio romano en el primer siglo a.C. En la figura 2 se observa la expansión del cultivo vinícola en Europa (Forni, 2006), esta expansión tiene en cuenta 2 zonas iniciadoras a partir de las cuales se extiende por toda la cuenca mediterránea, así como zonas aledañas. Pese a su domesticación, los niveles de variación genética son elevados y comparables a los del maíz (Buckler et al., 2006; Lijavetzky et al., 2007; Myles et al., 2011).

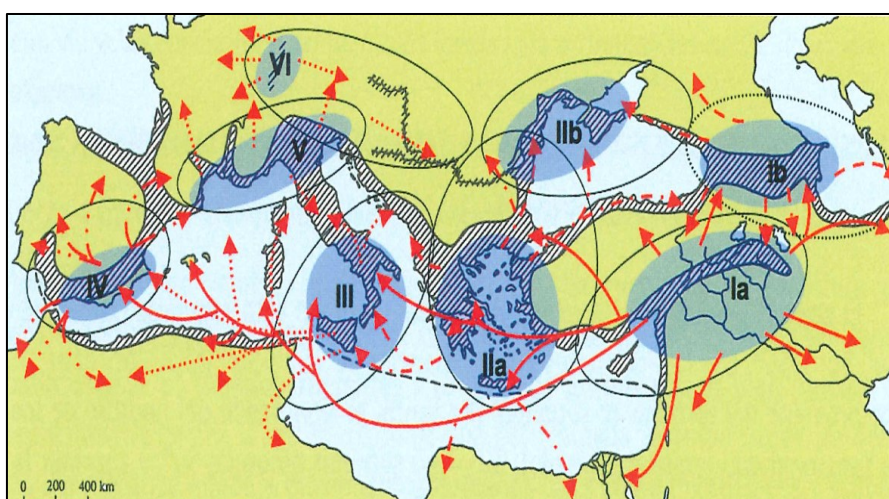


Figura 2. Áreas de paradomesticación de *Vitis vinifera* subsp. *vinifera* y centros de domesticación. (Forni, 2006). Adaptado por Ocete et al (2007).

2.2.2. Importancia de la vid

La vid es uno de los cultivos perennes más abundantes en el mundo, con más de siete millones de hectáreas dispersas por todos los continentes, excepto la Antártida. Su presencia se concentra en las zonas tropicales y templadas, entre las latitudes 50° norte y 43° sur. La uva tiene tres productos finales: la uva de mesa, la uva pasa y el vino. De ellos destaca el vino, suponiendo más del 70% de la producción total de uvas a nivel mundial. Con más de 45 millones de toneladas de uva, para la producción de más de 253 millones de hectolitros de vino, supone un gran motor económico a nivel mundial (OIV, 2015).

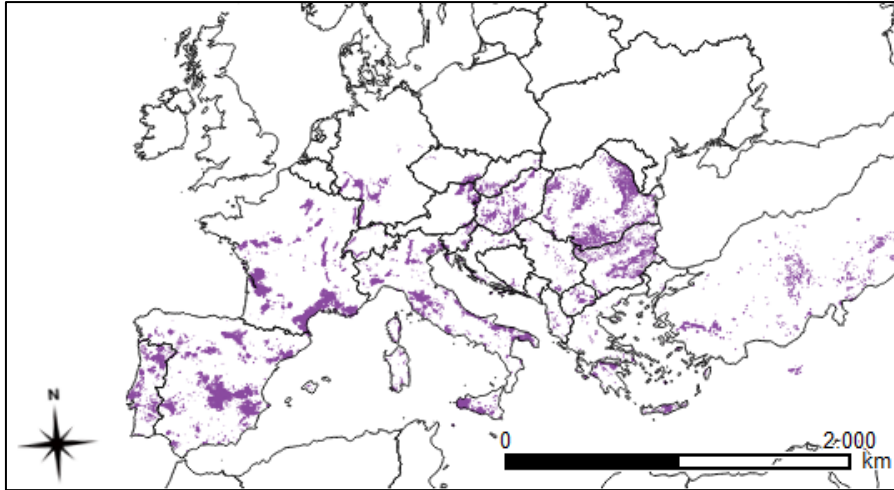


Figura 3. Zonas de cultivo del viñedo en Europa, elaboración propia a partir de los datos obtenidos del proyecto Corine Land Cover

Según los datos de la Organización Internacional del Vino (OIV) (www.oiv.int), las mayores concentraciones de cultivos de vid (*Vitis vinifera* subsp. *vinifera*) se concentran en Europa, con más de 4 millones de hectáreas. La distribución de dichos cultivos en Europa se muestra en la figura 3, suponiendo en torno al 50% del total mundial, teniendo en cuenta tanto el número de hectáreas como la producción de uva (OIV, 2015).

Dentro de Europa, las mayores superficies de cultivo de viñedo se encuentran en España, Francia e Italia, de mayor a menor; sin embargo, aunque España presenta la mayor concentración de hectáreas, este cultivo se encuentra en tercer lugar en cuanto a producción (Figura 4). Por otro lado, es importante señalar que, pese a que la superficie dedicada al cultivo se encuentra en disminución en los tres países de mayor superficie, la producción española de fruto se está equiparando a los otros dos países. Este dato muestra un aumento del rendimiento de las superficies dedicadas al viñedo.

Según el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación la producción de uva española se destina básicamente a la producción de vino, suponiendo la uva destinada a este producto más de un 95% del total.

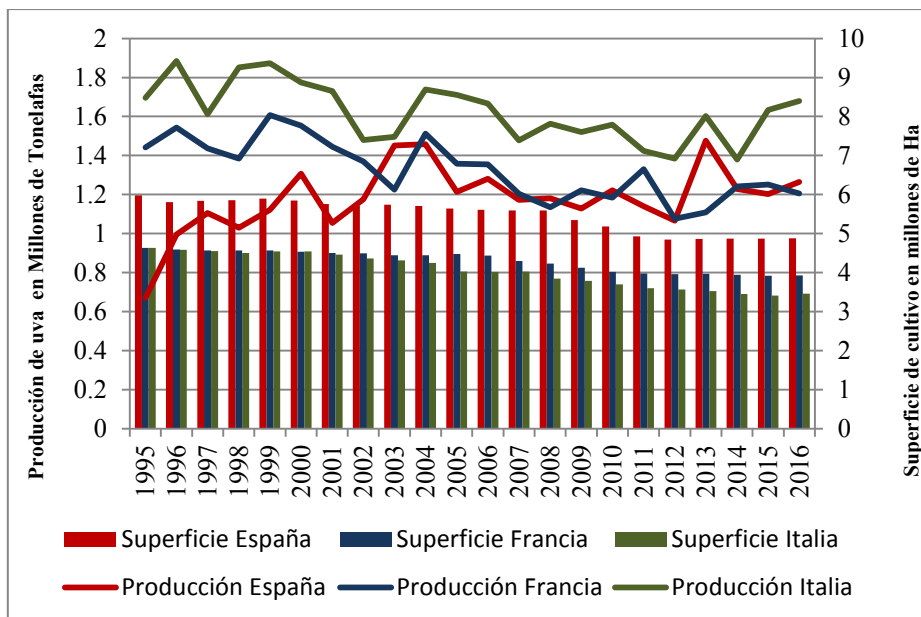


Figura 4. Superficie de viñedo y producción total de uvas en los principales países productores europeos, elaboración propia a partir de los datos obtenidos de la Organización Internacional de la Viña y el Vino (OIV)

De todo el vino producido en España el 67% se obtiene de las denominadas “zonas de calidad superior”, como son las denominaciones de origen protegido (DOP), los vinos de calidad con indicación geográfica (IG) y los vinos de pago (VP). Debido a la gran diversidad de zonas biogeográficas en España, hay más de 90 zonas de calidad superior, de las cuales la gran mayoría son DOP. Estos datos muestran la apuesta del país por vinos de calidad, ya sean tintos, rosados o espumosos. Hoy en día, son más de cien mil los agricultores adscritos a estas distintas denominaciones, lo que supone una gran importancia económica dentro del país (<http://www.mapa.gob.es>).

2.3. Fenología

El término fenología procede del griego “*phainos*”, que significa mostrar, aparecer (Hopp et al., 1972). Dicho término, usado por primera vez por el botánico Carles Morren en 1853, fue descrito en primera instancia por Lieth (1974) como el estudio de los fenómenos biológicos que se repiten periódicamente en el tiempo, de los factores bióticos y abióticos que influyen en ellos y la interacción entre estos fenómenos y una o varias especies. Pese a distintas descripciones realizadas posteriormente por diversos autores, actualmente la fenología se define como el estudio de los eventos biológicos recurrentes del ciclo de vida de las plantas y animales, especialmente su sincronización y relaciones con el tiempo y el clima (Schwartz, 2013).

Existen registros fenológicos de distintas especies con especial interés desde épocas muy antiguas, como el registro anual de la floración del cerezo en Kyoto (Japón) que comenzó hacia el año 705 d.C. Sin embargo, los considerados como primeros “calendarios estacionales”, que recogían la sabiduría popular sobre los ciclos de vida de plantas y animales, comenzaron a aparecer en el siglo XVIII. Fue en 1751 cuando Linneo en su obra *Philosophia Botánica*, describió los métodos para la realización de dichos calendarios. Durante los siglos XVIII y XIX diferentes redes y sociedades se encargaron de realizar estudios fenológicos en distintos países, como Alemania (1781), Rusia (1838) o Bélgica (1842). En el caso de la vid se cuenta con datos fenológicos que datan desde siglo XIV en Burgundy (Francia), gracias a los cuales se han podido extrapolar las variaciones en los cambios de temperatura a lo largo de los siglos (Chuine et al., 2004).

Esta ciencia se considera como multidisciplinar al utilizar conocimientos de la botánica, fisiología, ecología, meteorología y climatología, entre otras. Por otro lado, debido a su carácter fundamentalmente descriptivo, y basado en la observación, se requiere un método y una precisión muy clara a la hora de la toma de los datos.

En 1997 Meier diseñó una escala fenológica para la normalización de los datos, una escala adaptada por la BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische industrie) para

distintas especies de interés agronómico. En esta escala se divide el ciclo completo de desarrollo de las plantas en diez estadios principales claramente distinguibles. Estos estadios principales son descritos usando números, del 0 al 9 en orden ascendente. Con un segundo número, de nuevo del 0 al 9, se pueden presentar los estadios representativos para las diferentes especies y a diferente escala, donde el 99 representa al estadio posterior a la cosecha y el 00 al estadio de yemas durmientes (Meier, 2001), facilitando de esta forma la comparación entre especies. En 1994 Lorenz definió la escala fenológica de la BBCH para la vid, cuyos estadios representativos se observan en el siguiente apartado.

2.3.1. Fenología del viñedo

La estacionalidad anual del clima mediterráneo propicia que las plantas respondan con patrones estacionales en sus ciclos de vida como adaptación a los cambios cíclicos del clima. Este comportamiento es más notorio en los organismos vegetales que en los animales, ya que los primeros no pueden adquirir características comportamentales.

Estos ciclos fenológicos, tanto el vegetativo como el reproductor, varían en longitud dependiendo de la variedad y la zona en la que se encuentre la planta. Este estudio abarca desde el desborre, a finales de invierno, hasta la completa maduración a finales de verano o inicios del otoño (Hidalgo, 2002).

Para la vid se han descrito los distintos estadios específicos propuestos por Lorenz (1994), siguiendo la estructura de la BBCH (Meier, 1997) (Tabla 1). Durante el proceso de brotación (estadio principal 0), tras el hinchado de las yemas se diferenciarán las vegetativas de las reproductoras, desarrollándose en primera instancia las vegetativas para el desarrollo de las hojas (estadio principal 1). Cabe destacar que los estadios principales 2 (Formación de brotes laterales/macollamiento (ahijamiento)), 3 (Elongación del tallo o crecimiento de la roseta, desarrollo del brote (tallo principal)) y 4 (Desarrollo de las partes vegetativas cosechables de la planta / formación de órganos de propagación vegetativa / hinchamiento de las panículas o espigas

Introducción

(embuchamiento) de la escala general de la BBCH no se han descrito como específicos de la vid (Tabla1). Dependiendo del año y de la variedad a estudio, el desarrollo foliar se alarga más o menos en el tiempo pudiendo superponerse al proceso de aparición del órgano floral (estadio principal 5). El órgano floral se continúa desarrollando y diferenciando hasta llegar a la floración (estadio principal 6). En cuanto al desarrollo de la flor, es importante presentar su especial forma de apertura. En la vid, los pétalos están unidos por unas células epiteliales que forman un capuchón floral (figura 5). Cuando se completa el desarrollo floral, se forma el tejido de abscisión que produce la caída del capuchón floral, dejando libres tanto al gineceo como al androceo (Kozma, 2003; Levadoux, 1946).

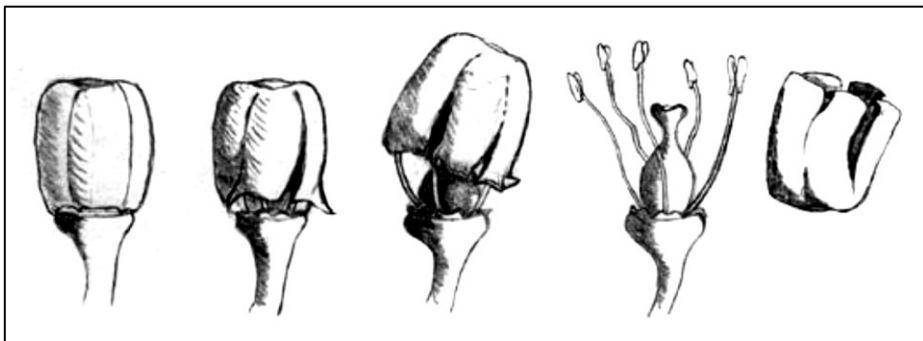


Figura 5. Secuencia de eventos durante la caída de la caliptra (Kozma, 2003)

Tras el proceso de fecundación comienza la formación del fruto (estadio principal 7) que, una vez alcanzado su tamaño óptimo, iniciará su proceso de maduración (estadio principal 8) que concluye con la vendimia o cosecha de la vid. Tras la vendimia las hojas se decoloran y caen (estadio principal 9). Dentro de cada uno de los estadios principales, Lorenz (1994) describe los estadios secundarios para la vid en la tabla 1.

Código Descripción

Estadio principal 0. Brotación

- | | |
|----|--|
| 00 | Letargo: las yemas de invierno, de puntiagudas a redondeadas, marrón brillante u oscuro según la variedad; escamas de las yemas cerradas, de acuerdo con la variedad |
| 01 | Comienzo del hinchado de las yemas; los botones empiezan a hincharse dentro de las escamas |

03	Fin del hinchado de las yemas: yemas, hinchadas, pero no verdes
05	Estadio lanoso; lana marrón, claramente visible
07	Comienzo de la apertura de las yemas: ápices foliares verdes, apenas visibles
09	Apertura de las yemas: ápices foliares claramente visibles
Estadio principal 1. Desarrollo de las hojas	
11	Primera hoja, desplegada y fuera del brote
12	2 hojas, desplegadas
13	3 hojas, desplegadas
1..	Los estadios continúan hasta ...
19	9 o más hojas, desplegadas
Estadio principal 5. Aparición del órgano floral	
53	Inflorescencias, claramente visibles
55	Inflorescencias hinchándose; las flores apretadas entre sí
57	Inflorescencias, desarrolladas completamente; flores separándose
Estadio principal 6. Floración	
60	Los primeros capuchones florales, separados del receptáculo
61	Comienzo de la floración: alrededor de 10 % de capuchones caídos
62	Alrededor de 20 % de capuchones caídos
63	Floración temprana: alrededor de 30 % de capuchones caídos
64	Alrededor de 40 % de capuchones caídos
65	Plena floración: alrededor de 50 % de capuchones caídos
66	Alrededor de 60 % de capuchones caídos
67	Alrededor de 70 % de capuchones caídos
68	Alrededor de 80 % de capuchones caídos
69	Fin de la floración
Estadio principal 7. Formación del fruto	
71	Cuajado de frutos; los frutos jóvenes comienzan a hincharse; los restos florales perdidos
73	Bayas del tamaño de un perdigón, los racimos comienzan a pender
75	Bayas de tamaño guisante (arvejas); los racimos, colgantes
77	Las bayas comienzan a tocarse
79	Todas las bayas de un racimo se tocan
Estadio principal 8. Maduración de frutos	
81	Comienzo de la maduración; las bayas comienzan a brillar
83	Las bayas, brillantes
85	Ablandamiento de las bayas
89	Bayas, listas para recolectarse
Estadio principal 9. Comienzo del reposo vegetativo	
91	Después de la vendimia; fin de la maduración de la madera

Introducción

- 92 Comienzo de la decoloración foliar
- 93 Comienzo de la caída de las hojas
- 95 Alrededor de 50 % de las hojas caídas
- 97 Fin de la caída de las hojas
- 99 Poda

Tabla 1. Descripción de los estadios fenológicos de la Vid en la BBCH

2.4. Enfermedades fúngicas de la vid

Las enfermedades fúngicas son uno de los principales problemas de la vid, habiendo sido causa de gran mortandad en pies de cepa durante algunos periodos de tiempo, como ejemplo la filoxera durante el siglo XIX (Piqueras Haba, 2005).

Como se pone de manifiesto en estudios previos sobre hongos causantes de enfermedades en viñedos (Fernández-Gonzalez et al., 2009; Moyer et al., 2014; Rodríguez-Rajo et al., 2010; Rossi et al., 2013), las principales enfermedades son: el oídio (*Uncinula necator*) y la podredumbre gris (*Botrytis cinerea*), ambos pertenecientes al Reino Fungi, Filum Ascomycota; y el mildiu (*Plasmopara viticola*), protista perteneciente al Reino Chromista, Filum Oomycota (Ainsworth, 2008). Otras enfermedades como, black-rot, eutipiosis, excoriosis, podredumbre de la raíz, yesca, antracnosis, negrilla, y podredumbre blanca de las uvas pueden producir también daños serios en el cultivo de la vid (España. Ministerio de agricultura, 1998; Hidalgo, 2002)

2.4.1. Oídio, *Uncinula necator* (*Erysiphe necator*)

A esta enfermedad se la conoce con diversos nombres, como la ceniza, cenicilla, polvillo, polvo, cendrada, cendrosa, sendreta, malura, rolla, blanqueta, negra; aunque es más comúnmente conocida como oídio (Hidalgo, 2002).

El causante de dicha enfermedad es *Uncinula necator* (Schw) Burr (syn. *Erysiphe necator* Schw), hongo heterotálico de la familia Erysiphaceae. Esta enfermedad comenzó a presentarse en Europa en 1845, habiendo sido observada en viveros de Gran Bretaña y Francia,

con posible llegada desde Estados Unidos (Piqueras Haba, 2005). Hoy en día, dicha enfermedad se encuentra muy extendida por toda España (Piqueras Haba, 2005).

2.4.1.1. Ciclo biológico

Durante el invierno el oídio sobrevive como micelio (fase asexual) en las escamas de las yemas invernales (figura 6). Los cleistotecios (fase sexual) pueden conservarse también durante el invierno, en los sarmientos, hojas y corteza de las cepas (Hidalgo, 2002).

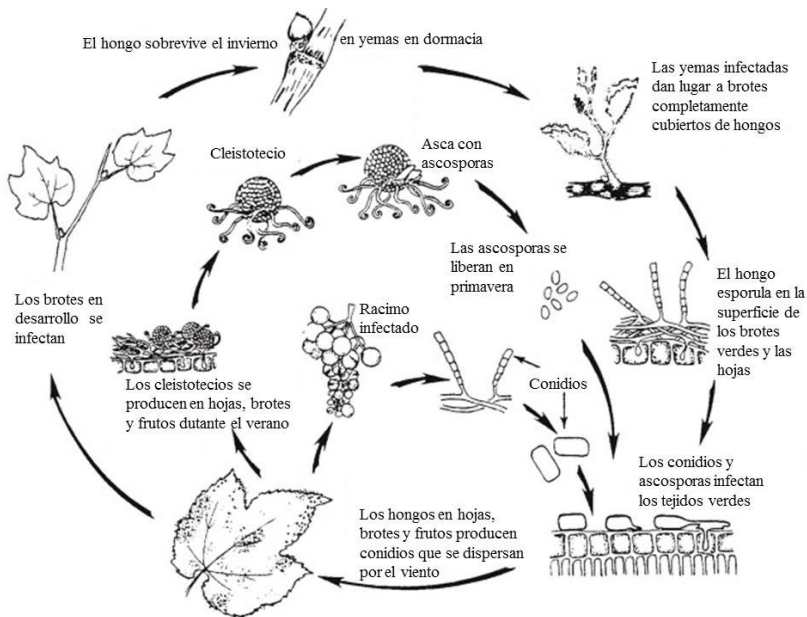


Figura 6. Ciclo de vida de *Uncinula necator*, traducido de Pearson and Goheen (1988)

Al comienzo de la brotación de las yemas, el micelio se desarrolla en tejidos nuevos, adhiriéndose a ellos mediante órganos prensores, y emitiendo haustorios al interior celular para la adquisición de nutrientes. Cuando el micelio alcanza la madurez, llegan a formarse gran cantidad de conidios en su ciclo asexual que, siendo transportados por el viento, propagan la enfermedad al instalarse sobre cualquier órgano verde de la vid. Por esta razón, a partir de focos primarios se

Introducción

pueden generar sucesivas contaminaciones secundarias durante todo el crecimiento vegetativo de la vid.

Los cleistotecios maduran con temperaturas altas y un grado de humedad relativamente alto, generando esporas que producirán un micelio de las mismas características que el producido mediante la reproducción asexual.

2.4.2. Podredumbre gris, *Botrytis cinerea*.

Esta enfermedad es también conocida como gangrena, pudrición, moho gris, *Botrytis*, podrit, entre otras formas, aunque la más común es la de podredumbre gris.

La enfermedad está causada por *Botrytis cinerea* Pers., fase sexual de *Botryotinia fuckleliana* (de Bary) Whetzel., perteneciente a la familia Sclerotiniaceae. El nombre proveniente del latín “*Botrys cinere*” que significa cenizas de uva. Este ascomicete causa enfermedad por todo el área del viñedo español, sufriendo daños más importantes en la costa, puesto que presentan condiciones climáticas favorables, ya que es la humedad la que propicia su crecimiento.

2.4.2.1. Ciclo biológico

Durante el invierno, el hongo se conserva principalmente como esclerocios bien visibles en los sarmientos, en forma de manchas negruzcas alargadas (Figura 7). Estos esclerocios se presentan con mayor abundancia en las extremidades que en la base de la planta. El hongo se conserva también como micelio en las grietas de la madera y, en menor medida, en las yemas.

Durante la primavera se produce la maduración de los órganos de conservación originándose conidióforos formadores de conidios que, diseminados por el viento y la lluvia, germinan sobre los órganos verdes de la planta. La penetración de los conidios en los tejidos vegetales puede realizarse directamente, aunque las heridas favorecen la penetración. La máxima sensibilidad de las bayas ocurre durante la maduración, debido a la concentración de azúcares. Los capuchones

florales constituyen, así mismo, un buen sustrato para la instalación del hongo.

Al germinar los conidios sobre la planta se produce un micelio más o menos ramificado en el interior de los órganos infectados. Al salir al exterior produce conidióforos grises ramificados con conidios pequeños y ligeramente elípticos (Hidalgo, 2002). Al principio estas formaciones son hialinas, llegando a tomar coloración grisácea en torno a los 3–5 días. La gran acumulación de conidióforos en la zona atacada del órgano forma una vellosidad grisácea que otorga el nombre vulgar de la enfermedad “podredumbre gris”. Estos conidios producen nuevas infecciones secundarias a lo largo del periodo vegetativo de la vid.

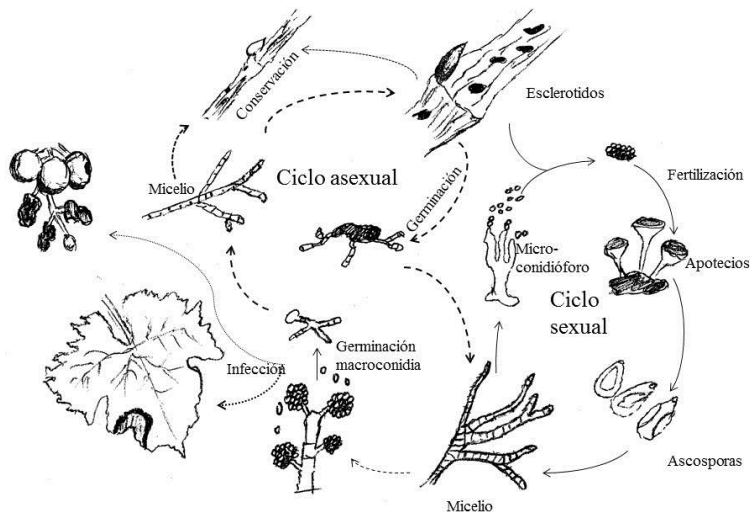


Figura 7. Ciclo de vida de *Botrytis cinerea*, elaboración propia redibujado y traducido a partir de Billard (2011)

En otoño aparecen esclerocios en hojas y tallos, blandos y de coloración blanca en el interior, dura y negra externamente. Estos órganos hibernarán produciendo durante la siguiente primavera conidios que continuarán manteniendo y difundiendo la enfermedad.

Durante el ciclo sexual se desarrollan los apotecios (Figura 7) y ascas con ocho ascosporas binucleadas. Los detalles celulares de la plasmogamia y el inicio de la apotecia aún no se han descrito

Introducción

(Williamson et al., 2007). Además, los apotecios no se registran o son raros en la mayoría de los cultivos atacados por *B. cinerea* y cualquier conclusión sobre el papel del ciclo sexual en la especie se basa principalmente en el análisis molecular de la variación genética (Beever and Weeds, 2007).

2.4.3. Mildiu, *Plasmopara viticola*

También denominada como mildio, mildeo, mildeu niebla, añublo, o perospora, entre otras formas.

Esta enfermedad está causada por *Plasmopara viticola* Berl. y de Toni., perteneciente a la familia Peronosporaceae. Fue observada en Francia por Planchón en 1878, procedente de América, se convirtió en una de las mayores plagas de Europa. Es una enfermedad muy conocida y temida por los viticultores a nivel mundial, produciendo daños muy graves en condiciones climáticas favorables.

2.4.3.1. Ciclo biológico.

Durante el invierno, el hongo se conserva en las hojas muertas de la vid en forma de oosporas, fase sexual.

En primavera, las temperaturas y el grado de humedad son propicios para la germinación de las oosporas, que emiten filamento con un abultamiento en el extremo, en forma de saco, que contiene las zoosporas (Figura 8). Estas zoosporas son responsables de la infección primaria de las hojas. Las zoosporas se mueven por el agua gracias a dos cilios móviles que pierden al producirse la fijación y emisión del tubo promicélico. Este tubo penetra en la planta por los estomas, formando un micelio interno continuo, ramificado y con haustorios. La zona atacada de la hoja presenta por el haz un color verde claro denominándose mancha de aceite y por el envés una pelusilla blanquecina formada por los esporangios que emergen a partir de los estomas.

Los esporangios se desprenden dispersándose por el viento y el agua, dando lugar a nuevos micelios en nuevas plantas. De esta manera se

producen las infecciones secundarias, que se renuevan bajo condiciones favorables.

El óptimo desarrollo de los conidios es de 24°C, inhibiéndose su poder germinativo a los 30°C así mismo se necesita presencia de agua para el desplazamiento de las zoosporas. Este desarrollo de nuevos ciclos sexuales se sucede durante la fase vegetativa de la vid, su número e intensidad dependerán en gran medida de factores climáticos como la humedad y la lluvia.

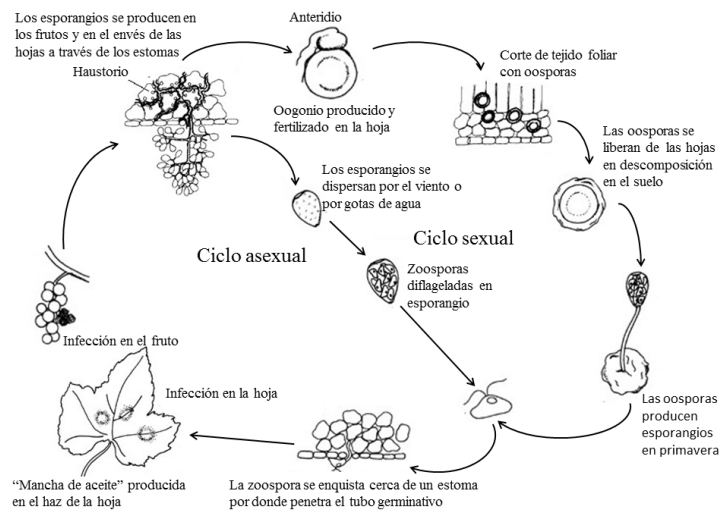


Figura 8. Ciclo de vida de *Plasmopara viticola*. Traducido de Ash (2005)

Llegado el otoño forman anteridios y oogonios que se fusionan en el micelio interno de las hojas, las oosporas quedan retenidas en las hojas que caen al suelo, permaneciendo durante todo el invierno y propiciando nuevas infecciones en la siguiente primavera. Además de los daños ocurridos en las hojas, puede haber contaminaciones en inflorescencias y racimos con análogas características.

2.5. Aerobiología

El término “Aerobiología” fue acuñado en los años 30 por Fred C. Meier, incluyendo bajo esta denominación los estudios realizados sobre el contenido de esporas de hongos, granos de polen y bacterias en el aire (Gregory, 1973). Posteriormente, en el año 1975 Pathirane consideró la Aerobiología como una ciencia multidisciplinar que comprende la liberación, retención, dispersión, deposición e incidencia en la atmósfera de esporas, granos de polen y microorganismos aerovagantes.

La aerobiología es una ciencia multidisciplinar que se basa en distintas materias, como la botánica, paleobotánica, taxonomía, agronomía, ciencias forestales, apicultura, farmacología y alergología. Debido a esta razón, la aerobiología posee distintas aplicaciones indirectas en el marco de la medicina, para la previsión de alergias e infecciones fúngicas (Alcázar et al., 2016, 2011; D’Amato et al., 2007; Velasco-Jiménez et al., 2017); en la agricultura, para detectar la aparición de plagas, control de viabilidad de cultivos y predicción de cosecha (Fernández-Gonzalez et al., 2009; Fernández-González et al., 2011; Oteros et al., 2014); estudios del impacto del cambio climático (Galán et al., 2005; García-Mozo et al., 2006; Rasmussen, 2002), y el biodeterioro (deterioro fúngico) (Ruga, 2008).

En España fue durante la época de los 80 cuando esta ciencia tuvo pleno desarrollo con numerosos grupos de investigación que enfocaron sus estudios a la dinámica de los microorganismos y partículas biológicas aerovagantes. Habitualmente se trabaja en redes de muestreo que abarcan distintas áreas de territorio, constituyendo un instrumento fundamental para conocer el contenido de polen atmosférico (West and Kimber, 2015). En este contexto se encuentran la Red Andaluza de Aerobiología (RAA), dentro de la Red Española de Aerobiología (REA), que a su vez forma parte de la European Aeroallergen Network (EAN). La EAN presenta más del 60% de los captadores en funcionamiento a nivel mundial, siendo el captador tipo Hirst el utilizado en dicha red (Buters et al., 2018).

2.5.1. Evolución de los captadores aerobiológicos

Pese a que ya Darwin en “El origen de las especies” expusiese una lámina con dibujos de esporas de hongos y granos de polen apreciados, gracias a los microscopios de la época, los estudios sobre la concentración de polen en la atmósfera no comenzaron hasta 1873 cuando Backley realizó una serie de estudios aerobiológicos en la atmósfera de Manchester. Estos estudios fueron realizados utilizando un captador de partículas bajo un tejado. El objetivo fue el análisis para el recuento e identificación de diversos tipos de granos de polen y su relación con la sintomatología de sus pacientes con "fiebre del heno". Desde ese momento surgió una preocupación por conocer la altura a la que debe de encontrarse el captador para la toma de datos, considerándose en aquel momento que la altura respiratoria humana era la más acertada.

En 1945, y a partir de los conocimientos aportados por Backley, Durham desarrolló una técnica que fue utilizada a nivel global. Sin embargo, este método gravimétrico dependía de la velocidad del viento y del peso y tamaño de las esporas y de los granos de polen para el impacto de las partículas en las muestras del captador. Además, al tratarse de un captador no volumétrico, los datos se presentan en concentración de granos de polen por cm^2 de la muestra.

Fue durante este mismo año cuando May inventó un nuevo método de captura de aspiración propia, el “Cascade impactor”, con una aspiración de 17,5 l/min.

Ya entrados en la segunda mitad del siglo XX, en el año 1952, Hirst desarrolló su aparato volumétrico “spore-trap” que aspiraba 10 l/min. Este aparato presentaba un orificio de entrada de 14 mm de ancho y 2 mm de altura. Tras este orificio se colocaba una preparación con adhesivo, desplazándose la muestra a una velocidad de 2 mm/h gracias a un sistema de relojería. Con este método se podían muestrear esporas desde tan sólo 2 μm de tamaño, añadiendo un conocimiento más realista que los muestreos gravimétricos sobre el contenido de partículas, además de realizar curvas circadianas estableciendo concentración de esporas por m^3 de aire (Martínez-Cócera and Villalón

Introducción

García, 2003). Este nuevo aparato contaba con una protección frente a la lluvia.

Fue más tarde cuando Burkard (Burkard Manufacturing Co Ltd) incorporó el motor dentro de una estructura que evitaba la humedad. Además, el portaobjetos fue sustituido por un tambor que soporta una cinta de 345 mm, permitiendo un muestreo de 7 días, con la posibilidad de distinguir el contenido de polen o esporas en el aire a las diferentes horas del día, al estar conectado a un reloj.

2.5.2. Aerobiología del viñedo

2.5.2.1. Polen de *Vitis vinifera*

Los granos de polen de *Vitis vinifera* son tricolporados con un tamaño medio de 23 μm . En visión polar se observa un contorno ecuatorial poligonal (Figura 9), en visión ecuatorial el contorno es circular o elipsoidal (Figura 10). El polen es tricolporado, con colpos estrechos y largos dentro de los cuales se observa un poro central. En cuanto a la exina, la zona intercolpar está finamente reticulada (Sulmont, 2011).



Figura 9. Visión polar con la característica forma poligonal, elaboración propia

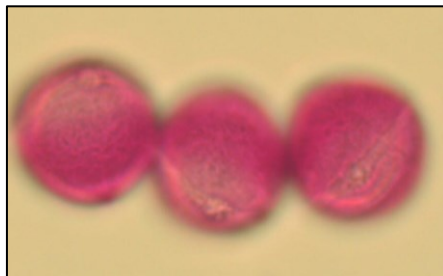


Figura 10. Visión ecuatorial de los granos de polen de *Vitis vinifera* en la que se observan los colpos y los poros, elaboración propia

2.5.2.2. Esporas de hongos

Como se ha comentado anteriormente, en el presente estudio se tuvieron en cuenta las principales enfermedades que afectan al viñedo. El reconocimiento de los conidios de *Uncinula necator* y *Botrytis cinerea*, así como de los esporangios de *Plasmopara viticola*, se realizó utilizando la bibliografía de Smith (1986, 1984).

2.5.2.2.1. *Uncinula necator*

Las esporas de *U. necator* son unicelulares, cilíndricas y truncadas en los extremos. Con una longitud de entre 16 y 29 μm y un grosor de entre 10 y 12 μm . Se caracterizan por presentar una membrana hialina y un contenido granuloso con vacuolas (figura 11).

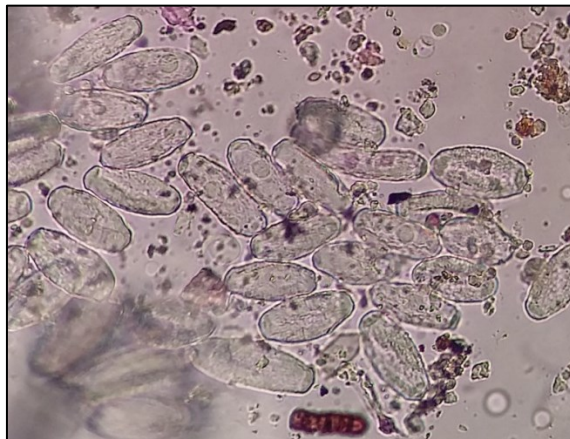


Figura 11. Esporas de *Uncinula necator*, elaboración propia

2.5.2.2.2. *Botrytis cinerea*

Los esporas de *B. cinerea* son unicelulares, lisas, elipsoidales, ovoides, esféricas o subsféricas. La coloración varía de hialina a gris-ceniza. El tamaño puede variar de 10 a 12 μm de longitud y 8 a 10 μm de grosor. Es notable la presencia de un hilum ligeramente protuberante, que se observa a menudo (figura 12).

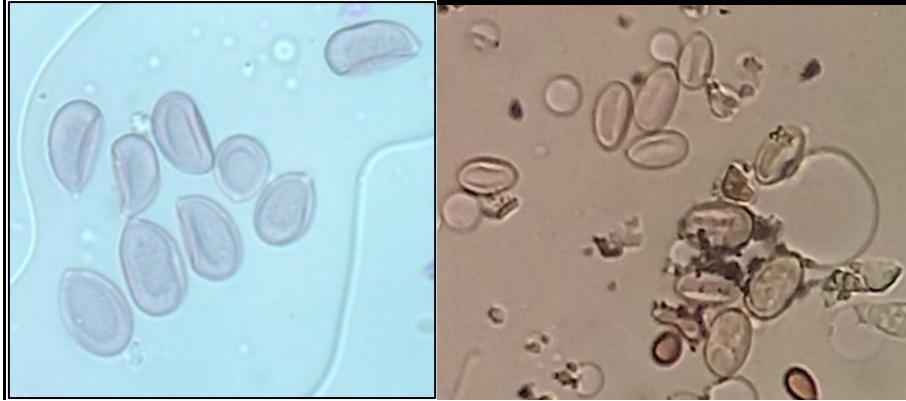


Figura 12. Conidios de *Botrytis cinerea*, elaboración propia

2.5.2.2.3. *Plasmopara viticola*

Los esporangios de *P. viticola* tienen forma ovoidea, siendo más ensanchada en el ápice. Son hialinas. Su tamaño varía entre longitudes de 17-40 μm y grosores de 10-20 μm (figura 13).



Figura 13. Esporangios de *Plasmopara viticola*, elaboración propia



3. **Objetivos**

3. Objetivos

El objetivo principal de esta tesis ha sido realizar un estudio fenológico y del polen aerovagante en viñedos, dentro del entorno de la DOP Montilla-Moriles, así como estudiar el contenido de esporas de hongos en el aire de aquellas especies causantes de enfermedad en dicho cultivo. Para ello se realizaron estudios fenológicos y aerobiológicos (Capítulos I y II) utilizando dos tipos de captadores: un captador volumétrico de tipo Hirst y varios captadores pasivos para la toma de muestras. Por otro lado, se ha realizado un estudio sobre los distintos tipos polínicos detectados en el aire de la zona para conocer la importancia de la vid en el espectro polínico, respecto a otros cultivos y vegetación anemófila típica de la zona (Capítulo III).

3.1. Capítulo I

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain.

El principal objetivo es el estudio de la relación entre la fenología y la aerobiología de *Vitis vinifera* en la DOP Montilla-Moriles.

Objetivos específicos:

- 1- Comparar los estadios fenológicos de la vid en diferentes zonas de cultivo y variedades en la DOP Montilla-Moriles.
- 2- Analizar la relación entre las concentraciones polínicas de *Vitis vinifera*, los parámetros meteorológicos y los estadios fenológicos observados.
- 3- Comparar posibles diferencias entre el captador volumétrico y varios captadores portátiles pasivos ubicados en la zona de estudio.

Objetivos

3.2. Capítulo II

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

El principal objetivo es estudiar el contenido de esporas en el aire de los principales hongos causantes de enfermedad en el marco de la DOP Montilla-Moriles.

Objetivos específicos:

- 1- Examinar la relación entre las concentraciones de esporas de hongos, la fenología de *Vitis vinifera* y los parámetros meteorológicos.
- 2- Comparar la distribución espacial de las esporas de hongos en diferentes viñedos de la DOP Montilla-Moriles.
- 3- Comparar las concentraciones de hongos registradas con distintos tipos de captadores basados en diferentes principios.

3.3. Capítulo III

Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum

El objetivo principal es el estudio del espectro polínico en el marco de la DOP Montilla-Moriles, y como afectan los cultivos en el mismo.

Objetivos específicos:

- 1- Definir el espectro polínico dentro de un área agrícola y el efecto de los cultivos en las concentraciones de polen
- 2- Estudiar la relación entre los parámetros meteorológicos y las concentraciones de granos de polen en el aire para diferentes tipos polínicos.
- 3- Comparación de análisis estadísticos usados en esta ciencia para conocer si la correlación de Spearman y el análisis de redundancia (RDA) entre las diferentes variables llegan a proporcionar información relevante.

A green abstract graphic consisting of overlapping, textured shapes that resemble leaves or feathers, positioned behind the text.

Material y Métodos

4. Material y Métodos

4.1. Zona de estudio en la Denominación de Origen Montilla Moriles

La Denominación de origen Protegida (DOP) Montilla-Moriles se encuentra en el sur de la provincia de Córdoba y queda delimitada geográficamente por los ríos Guadalquivir (al norte), Genil (al oeste) y Guadiato (al este); mientras que al sur queda delimitada por las sierras béticas. La zona presenta un clima Termo-Mediterráneo, con veranos cálidos e inviernos templados (figura 14). Dentro de la denominación se distinguen dos zonas principales: la zona de producción y la zona de crianza, incluyéndose en esta última parte del municipio de Córdoba.



Figura 14. Mapa de la denominación de origen Montilla-Moriles
<https://www.montillamoriles.es/>

Los suelos de la denominación son predominantemente margas arenosas blancas, conocidas localmente como "albariza", con intercalaciones de calcarenita y margas blancas o de color crema (Álvarez et al., 2007). Estos suelos son idóneos para el cultivo de la vid, contando con una subzona de calidad superior localizada en la sierra de Montilla y Moriles Alto.

Pese a que los vinos en la provincia de Córdoba eran conocidos desde época romana, excavaciones arqueológicas realizadas en Montilla han

encontrado semillas de la vid datadas entre los siglos VIII al IX aC. La denominación Montilla-Moriles es una de las más antiguas de España, su reglamento inicial fue publicado en el Boletín Oficial del Estado en el año 1945 (BOE-A-1945-10437), colocándola como la cuarta denominación de origen de vinos en España, siendo las 3 anteriores también andaluzas: Jerez-Xérès-Sherry, Manzanilla Sanlúcar de Barrameda (reglamento del año 1935) (BOE-A-1935-718; BOE-A-1933-8632), y Málaga (reglamento del año 1937) (BOE-A-1937-11280).

Actualmente, más de 2000 viticultores se encuentran adscritos a dicha denominación, así como 60 bodegas y 16 municipios. De entre ellas se seleccionaron para el presente estudio algunas de las fincas, preseleccionadas por el ATRIA (Agrupación para el Tratamiento Integrado en Agricultura), que representan a 7 bodegas. Así mismo, la denominación de origen tiene recogidas 11 variedades, de las cuales se seleccionaron 4 de ellas para el presente estudio debido a su presencia dentro de la denominación.

4.2. Variedades

Entre las once variedades admitidas en la denominación, se han escogido la variedad Pedro Ximénez, por ser la más utilizada; la variedad Verdejo, como variedad también muy utilizada para vinos jóvenes desde hace años; además de las variedades Moscatel, de grano menudo, y Chardonnay, con una baja presencia en la denominación, por ser éstas dos variedades utilizadas en otras zonas de Europa. Las distintas partes características de la cepa se muestran en la figura 15. Las características diferenciadoras de cada variedad se observan a continuación, según los datos obtenidos del anterior Ministerio de Agricultura, Pesca, Alimentación y Medio Ambiente (www.mapama.gob.es).

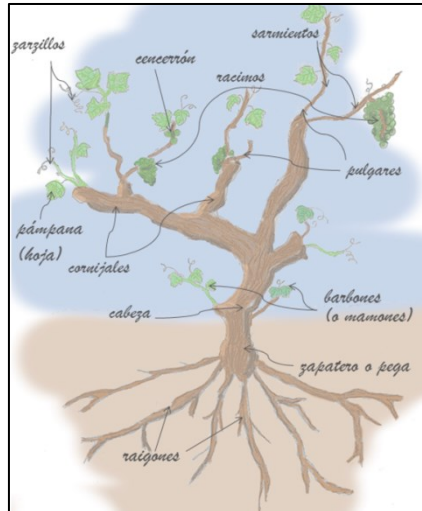


Figura 15. Partes de la cepa. Imagen redibujada por María Pilar Plaza García y adaptada por el autor de la presente tesis a semejanza del cuadro de Bodegas Campos de la sala “La Cepa” (José Campos)

4.2.1. Pedro Ximénez

- Pámpano: entrenudo verde con rayas rojas en la cara dorsal y ventral
- Hoja adulta: Lóbulos con disposición poco medio – poco abierta en el seno peciolar. Dientes con ambos lados convexos de longitud medios y con relación longitud anchura grande.
- Racimo: tamaño grande, compacidad media y longitud del peciolo corta (Figura 16).
- Fenología: época de desborre media, época de maduración media.
- Aptitudes agronómicas: Porte erguido, variedad vigorosa de buena producción. Racimos poco uniformes con gran cantidad de hojas menudas. Muy sensible a



Figura 16. Racimo de la variedad Pedro Ximénez, elaboración propia

Material y Métodos

Botrytis cinerea y a *Plasmopara viticola*, sensible a *Uncinula necator*.

- Potencial enológico: Mostos muy alcohólicos de baja acidez adecuados para crianza biológica. Pasificadas se obtienen mostos de 54-57° Brix dando los vinos Pedro Ximénez. Vinos muy azucarados con bastante extracto seco que conservan su gusto de fruta y aroma.

4.2.2. Verdejo

- Pámpano: entrenudo verde en caras dorsal y ventral
- Hoja adulta: lóbulos con disposición medio abierta, en lira, en el seno peciolar. Dientes rectilíneo-convexos de longitud medios y con relación longitud anchura grande.
- Racimo: tamaño pequeño-mediano, compacidad alta y longitud del peciolo muy corta (figura 17).
- Fenología: época de desborre temprana-media, época de maduración temprana-media.
- Aptitudes agronómicas: Planta poco vigorosa de porte horizontal. Fertilidad baja con producción media en racimos pequeños. Medianamente resistente a la sequía, adaptada a terrenos poco fértiles, arcillosos. Muy sensible a *Uncinula necator*.
- Potencial enológico: Vinos medianamente alcohólicos con cierto cuerpo pero con cierta suavidad, regusto ligeramente amargo. Utilizada para vinos generosos, aunque actualmente es más usada para vinos jóvenes mono varietales o en mezclas con diversas proporciones.



Figura 17. Racimo de la variedad Verdejo, elaboración propia.

4.2.3. Moscatel grano menudo

- Pámpano: entrenudo verde con rayas rojas en caras dorsal y ventral
- Hoja adulta: lóbulos con disposición poco abierta, en “V”, en el seno peciolar. Dientes con ambos lados rectilíneos de longitud medios y con relación longitud anchura mediana.
- Racimo: tamaño pequeño-mediano, compacidad alta y longitud del pecíolo muy corta (Figura 18).
- Fenología: época de desborre temprana-media, época de maduración muy temprana.
- Aptitudes agronómicas: planta poco vigorosa de porte entre semierguido y erguido. Fertilidad media con poca productividad y racimos pequeños. Medianamente resistente a la sequía, prefiriendo suelos pobres que retrasen la maduración.
- Potencial enológico: vino muy alcohólico de color amarillo dorado, muy aromático, muy amplio y sabroso en boca. Utilizado antiguamente para vinos dulces, actualmente es empleado para la elaboración de vinos jóvenes o fermentados en barrica con cierto grado de azúcar.



Figura 18. Racimo de la variedad Moscatel de Grano menudo, elaboración propia

4.2.4. Chardonnay

- Pámpano: entrenudo verde con rayas rojas en la cara dorsal y verde en la cara ventral.
- Hoja adulta: lóbulos con disposición en el seno peciolar de profundidad superficial con lóbulos abiertos. Dientes con ambos lados rectilíneos de longitud medios y con relación longitud anchura pequeña.
- Racimo: tamaño pequeño, compacidad media-alta y longitud del pecíolo muy corta (Figura 19).

Material y Métodos

- Fenología: época de desborre muy precoz a precoz, época de maduración muy temprana.
- Aptitudes agronómicas: vigorosa, se adapta a diversos climas y terrenos, siempre que no sean húmedos. Muy resistente a clorosis pero no a la sequía. Rendimiento bajo. Sensible a *Uncinula necator* y poco resistente a *Botrytis cinerea*.
- Potencial enológico: Vinos varietales o complementarios, así como potentes afrutados y de acidez alta.



Figura 19. Racimo de la variedad Chardonnay, elaboración propia

4.3. El método aerobiológico

4.3.1. Tipos de captadores

Para este estudio se utilizaron dos tipos de captadores para realizar muestreos de polen y esporas en el aire, tanto a nivel de la DOP como a nivel de finca. Cada uno de ellos se basa en diferentes principios de impacto: captura pasiva o volumétrica de polen y esporas, por lo que la comparación entre ambos ha de hacerse teniendo en cuenta las mismas.

4.3.1.1. Captador tipo Hirst

Captador volumétrico basado en el principio de impacto (Hirst, 1952). Cabe destacar que, aunque hoy en día existen captadores que incorporan placas solares, el captador del que disponemos en nuestro grupo de investigación necesita de corriente eléctrica, siendo un carácter a tener en cuenta a la hora del diseño del experimento en campo. El captador consta básicamente de 3 unidades: unidad de impacto, veleta y bomba de vacío (Figuras 20 y 21).

- Unidad de impacto. Consta de un orificio de entrada de 14 x 2 mm, y de un soporte circular (tambor) que, gracias a un mecanismo de relojería, gira a razón de 2 mm por hora. Sobre este tambor se dispone un fragmento de cinta de Melinex®

impregnada con una solución de fluido de silicona diluida en ciclohexano que permite la adhesión de las partículas que penetren por el orificio de entrada, minimizando los efectos de rebote.

- Veleta. Se encuentra adosada al exterior de la estructura metálica protectora de la unidad de impacto, cuya función es mantener el orificio de entrada en la dirección del viento dominante. Mediante esta veleta, se favorece la eficacia de captación de partículas aerovagantes.
- Bomba de vacío. Permite la succión del aire con un volumen determinado, con regulación a partir de un sistema de ajuste. El volumen utilizado para la obtención de muestras aerovagantes es de 10 litros por minuto, similar al volumen de inhalación de aire por el pulmón humano.

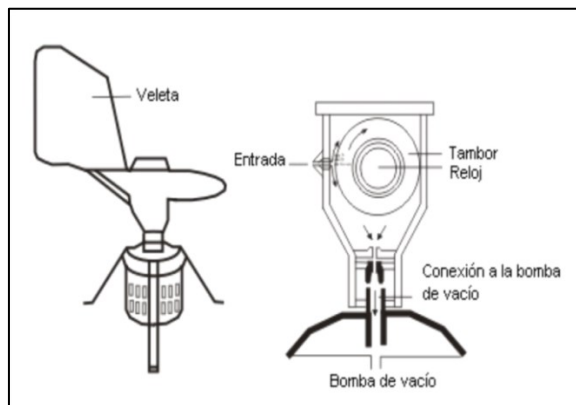


Figura 20. Partes del captador tipo Hirst (Galán et al., 2007)



Figura 21. Captador tipo Hirst localizado en la Sierra de Montilla, elaboración propia (Lagar de La Primilla)

Este captador se situó a 8 metros sobre el nivel del suelo, en el lugar de la primilla que se encuentra en la Sierra de Montilla a 472 metros sobre el nivel del mar, siendo uno de los puntos más altos de la zona de estudio y posibilitando el muestreo de toda la zona.

Se ha utilizado este tipo de captador ya que es uno de los requerimientos mínimos para formar parte de la Red Europea de Aeroalérgenos (EAN) y, por tanto, de la Red Española de Aerobiología (REA) (Jäger, 1988; Galán et al., 2007, 2014).

4.3.1.2. Captadores portátiles (Portable Spore Traps, PST)

Los captadores portátiles se fabricaron en base a los estudios de Kelly (2015) (Figura 22). El soporte basal es un aro de 80 cm de diámetro con 4 radios que lo unen con el pie del captador. En dicho pie se sustenta la barra de sujeción de 1,50 m, dentro de la cual se incorpora una segunda barra que será la que portará el captador, pudiendo regular la altura total (1.5m en el presente estudio). El captador se une a la barra de sujeción mediante un sistema de rodamientos que permiten la rotación del mismo según la dirección del viento.

El cuerpo principal se compone de un tubo de PVC de 11 cm de diámetro, con un corte a 45° en la zona delantera para disminuir la entrada de agua en la muestra. En esta zona se incorpora un segundo tubo de 2 cm de diámetro con una ranura para la incorporación de un portaobjetos cubierto de fluido de silicona para la captura de las partículas aerovagantes. En la zona posterior del cuerpo principal se encuentra una veleta que hará que el captador disponga la muestra frente al viento dominante.

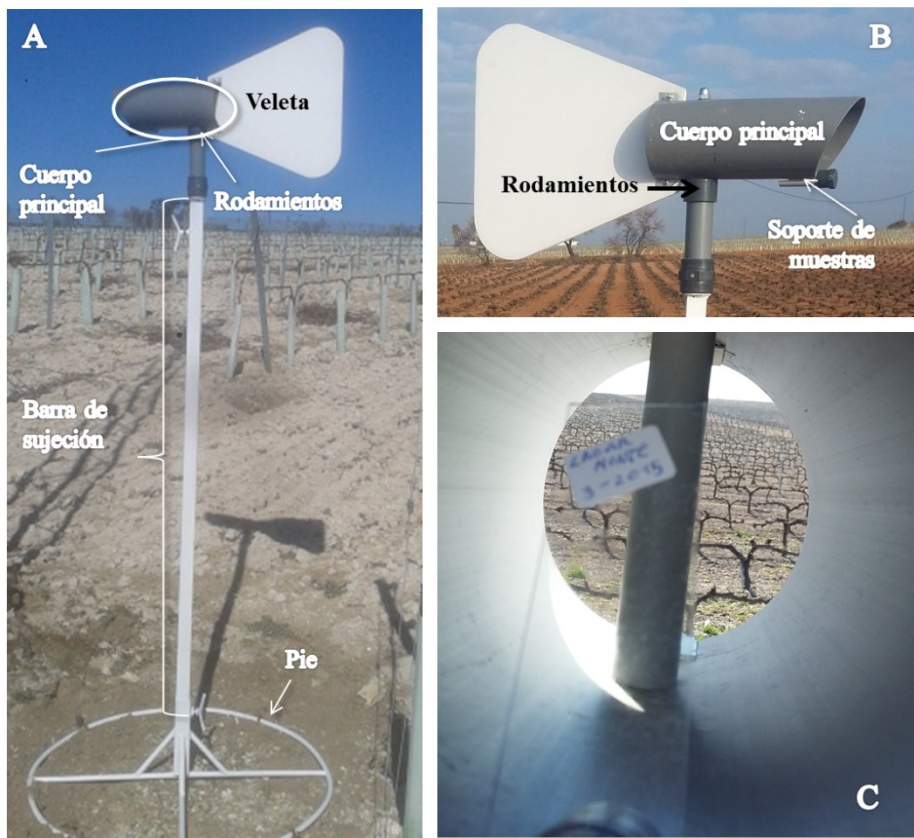


Figura 22. Partes del captador pasivo, de elaboración propia. A. Visión general del captador. B. Visión del cuerpo principal. C. Visión de la muestra dentro del captador

Para la comparación con el captador tipo Hirst se colocaron 7 captadores de tipo pasivo en 7 viñedos seleccionados a partir de los utilizados con anterioridad por la ATRIA para su propio seguimiento fenológico y de enfermedades (figura 23). Estos captadores de tipo

Material y Métodos

pasivo se utilizaron debido a su bajo coste lo que permitió realizar muestreos en diferentes zonas de la DOP con la posibilidad de localizarlos en el interior del viñedo al no necesitar suministro eléctrico. Tras dos años de muestreo se eliminaron 3 captadores debido a que aportaban datos similares, según los resultados obtenidos del análisis de correlación de Spearman aplicado a la concentración de granos de polen detectados, datos no publicados.

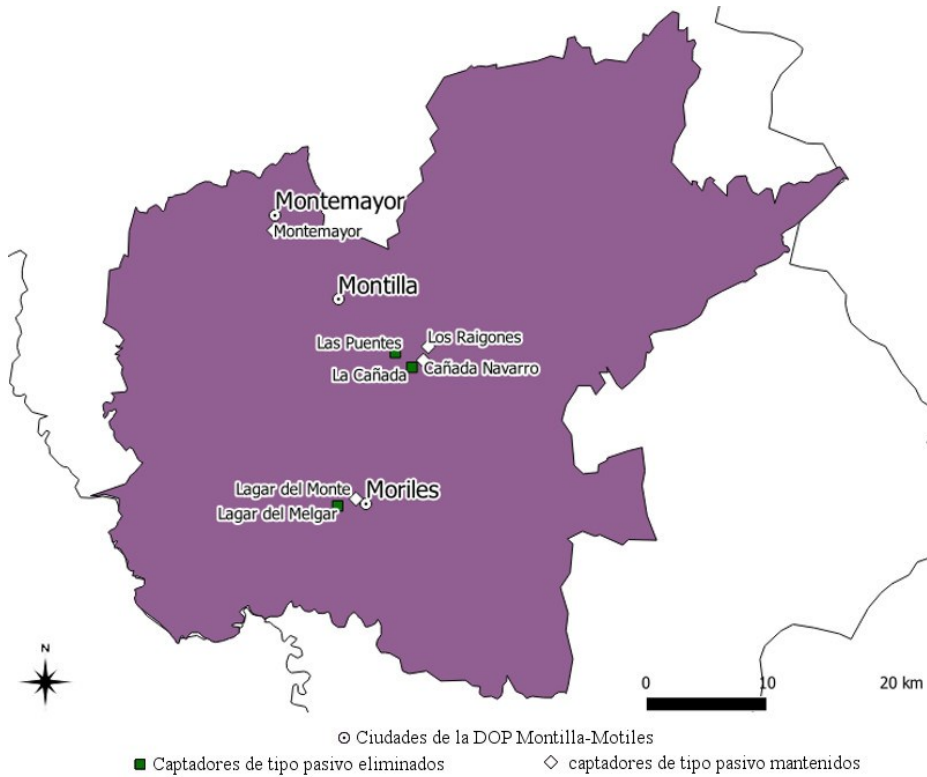


Figura 23. Localización de los captadores de tipo pasivo en la DOP Montilla-Moriles

4.3.2. Preparación y análisis de muestras

Para un estudio comparativo de los dos captadores, la preparación de las muestras, así como su posterior análisis, se realizaron siguiendo un protocolo similar. No obstante, y debido a las distintas características de cada captador, ambos métodos se explican a continuación.

4.3.2.1. Preparación de muestras del captador tipo Hirst

Con este aparato se siguió el protocolo propuesto en el Manual de Calidad y Gestión de la Red Española de Aerobiología (Galán et al., 2007), realizando los pasos que se explican a continuación.

Previa a la toma de muestras se debe preparar el tambor con la cinta de Melinex® y el fluido de silicona descritas en el apartado anterior.

Tras el muestreo se retira la cinta y se procede a la preparación de las muestras para su posterior identificación mediante microscopio óptico. En este proceso se siguen los siguientes pasos:

- Retirada de la cinta de Melinex® del tambor con las muestras del aire y colocación de la misma sobre una regla de metacrilato que contiene las divisiones pertinentes para un máximo de 7 días de muestreo
- Mediante el uso de un bisturí se corta la cinta de Melinex separando cada uno de los días de muestreo.
- Colocación de la muestra diaria sobre un portaobjetos (dimensiones 76 x 26 mm). Para la fijación de la misma se añade agua destilada al portaobjetos.
- Colocación de un cubreobjetos impregnado con glicerogelatina, como medio de montaje, teñida con fucsina, que permite una mejor identificación los granos de polen.
- Homogeneizar la muestra con el uso de pinzas, repartiendo de forma uniforme la glicerogelatina y eliminando el excedente.
- Limpieza del exceso de glicerogelatina y posterior sellado de las mismas mediante la utilización de esmalte transparente.

4.3.2.2. Preparación de muestras de los captadores portátiles

Para las muestras de los captadores PST el procedimiento es similar. En este caso es el portaobjetos (con medidas de 76 x 26 mm) el que se impregna con fluido de silicona. Tras recoger las muestras expuestas en el aparato se procede a la preparación de las mismas siguiendo los tres últimos puntos expresados anteriormente. Las muestras se cambian una vez por semana, no siendo posible distinguir concentraciones diarias.

4.3.2.3. Análisis de las Muestras

Una vez preparadas las muestras se procede a la identificación y recuento de las partículas aerovagantes a microscopía óptica, con una magnificación de 40x10. El análisis se realiza siguiendo el Manual de Calidad y Gestión de la Red Española de Aerobiología (REA), así como los mínimos requerimientos de la European Aeroallergen Network (EAN) (Galán et al., 2007, 2014).

Para el reconocimiento y recuento de los granos de polen se procedió al análisis de un mínimo del 10% de las muestras para el polen, y un mínimo del 5% para las esporas.

4.4. Manejo estadístico de datos aerobiológicos y fenológicos.

En cuanto los datos sobre el contenido de polen y esporas en el aire y los estadios fenológicos, se ha tratado de plantear una hipótesis de partida y unos objetivos claros para definir la finalidad del trabajo. En base a ello se han realizado diversas técnicas que se presentan a continuación.

4.4.1. Consideraciones básicas

Los test de normalidad son los primeros estadísticos que se deben aplicar a los datos. Según la normalidad o no normalidad otorgada por el test Shapiro-Wilk, se podrá continuar con una serie de estadísticas paramétricas o no paramétricas, como ejemplo en la selección del análisis de correlación Pearson o Spearman. En el caso de los datos aerobiológicos no se suelen cumplir las reglas de normalidad por lo cual los test no paramétricos o la normalización de los datos son los medios a utilizar.

4.4.2. Modelos de análisis multivariable

Pese a que los test de correlación aportan información útil sobre los factores que afectan a los parámetros a estudiar, los cambios en la naturaleza no suceden por la acción de parámetros aislados. Por esta razón los modelos de análisis multivariable son muy recomendados, ya

que aportan un conocimiento general de la acción de los distintos factores a la vez.

4.4.2.1. Árboles de decisión

A partir de los datos aerobiológicos, meteorológicos y fenológicos obtenidos, en este tipo de árboles se van seleccionando las variables más significativas. A partir de la variable principal de diferenciación van surgiendo distintos nodos en los cuales se representa tanto la variable escogida como los valores sobre o bajo los cuales se diferencian las ramas (en caso de variables numéricas), así como el p-valor de cada uno de los nodos. Este sistema de clasificación es binario, surgiendo dos ramas de cada nodo, por lo que el total de ramas dependerá del número de nodos obtenidos. Al final de cada rama (en los árboles realizados en este trabajo), se encuentra un gráfico de “caja” y “bigotes” mostrando la variabilidad de los datos obtenidos con la consecución de nodos anteriormente tomados.

Mediante este tipo de análisis se pueden tener en cuenta al mismo tiempo variables cualitativas y cuantitativas, pudiendo modelar datos ecológicos complejos (De'ath and Fabricius, 2000).

4.4.2.2. Análisis de redundancia (RDA)

El Análisis de Redundancia agrupa los datos de las variables dependientes, en nuestro caso concentraciones polínicas o de esporas, en relación a la varianza de los datos de las variables independientes. Para conocer la relación entre variables independientes se debe realizar tanto el análisis canónico de correspondencia (CCA) como el análisis de correspondencia gradual (DCA), siguiendo las recomendaciones de Sadyś et al. (2015). Los resultados dan información conjunta de la acción de las distintas variables.

4.4.2.3. Modelo de trayectorias

El modelo HYSPLIT es un sistema completo para calcular trayectorias sencillas de aire, ideado principalmente para la dispersión de contaminantes, con una opción de retrotrayectorias que ayuda al conocimiento de la procedencia de estas partículas (Stein et al., 2015).

Material y Métodos

El conocimiento de la procedencia de las partículas aerovagantes es de gran utilidad para relacionar sus concentraciones con los datos de fenología.



5. Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

The Journal of Agricultural Science

cambridge.org/ags

Crops and Soils Research Paper

Cite this article: Martínez-Bracero M, Alcázar P, Velasco-Jiménez M.J, Calderón-Ezquerro C, Galán C (2018). Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain. *The Journal of Agricultural Science* 1–11. <https://doi.org/10.1017/S0021859618000783>

Received: 6 February 2018
Revised: 13 August 2018
Accepted: 18 September 2018

Key words:
Aerobiology; phenology; pollen; vineyards;
Vitis vinifera

Author for correspondence:
Moisés Martínez-Bracero, E-mail: b52mabrm@uco.es

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

M. Martínez-Bracero¹, P. Alcázar¹, M. J. Velasco-Jiménez¹, C. Calderón-Ezquerro² and C. Galán¹

¹Botany, Ecology and Plant Physiology, Córdoba University, Celestino mutis building 3rd floor Campus de Rabanales 14071 Córdoba, Cordoba, Spain and ²Laboratorios de Citogenética y Mutagénesis Ambientales, Centro de Ciencias de la Atmósfera, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria Coyoacán, 04510 México city, DF, Mexico

Abstract

Phenological and aerobiological research into major crops is of great value in adapting traditional processes to the new conditions prompted by global climate change. Data on flowering phenology and airborne pollen have also proved useful for harvest forecasting purposes. The current paper reports on an agrometeorological study carried out in the Montilla-Moriles Protected Designation of Origin area (Córdoba, southern Spain) in 2015 and 2016. The study focused on four grape cultivars produced at seven local vineyards (Pedro Ximénez, the most widely grown in the area; Verdejo; Muscat blanc à petits grains; and Chardonnay, which has been recently introduced). Phenological observations were performed on a weekly basis using the Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie scale adapted for grapevine. Airborne pollen concentrations were monitored using one Hirst-type volumetric sampler and seven passive samplers. Airborne pollen was mainly detected in vineyards during inflorescence emergence and flowering. Year-on-year differences in climatic conditions led to differences in airborne pollen levels. The main variables affecting pollen concentrations were dew point and temperature. The life-cycles recorded here were shorter than in temperate climates but longer than in tropical climates. In terms of flowering period, the cultivars studied here were classed as 'early cultivars'. Data obtained using local passive samplers located directly in the vineyard confirmed that the airborne pollen concentrations recorded by the volumetric sampler were representative of the study area.

Introduction

The grapevine is among the most abundant perennial crops worldwide, covering over 7 million hectares and spanning all the continents except Antarctica. Although it is grown in temperate and tropical regions ranging from 50°N to 43°S, the highest concentration of vineyards is to be found in Europe. The optimum conditions for growth and development prevail in regions with dry summers and cold winters, which allow the plant's dormancy requirements to be met (Hidalgo, 2002; Ocete *et al.*, 2007). Spain has the largest surface area of vineyards, accounting for 0.14 of the world total, but is the world's third largest producer of wine grapes (OIV, 2015).

Climate is one of the factors most affecting wine production (Fernández-González *et al.*, 2012); meteorological variables such as temperature and rainfall directly affect grapevine phenology (Kishino and Marur, 2007; Fernández-González *et al.*, 2013; Parker *et al.*, 2013). Knowledge of crop phenology is of great value since it enables cropping practices to be rationalized and optimized (Mandelli *et al.*, 2004; Fernández-González *et al.*, 2012). Comparison of data for cultivars growing in different areas also enables assessment of their capacity to adapt to varying environmental conditions and therefore estimate their potential range (Piña and Bautista, 2004; Parker *et al.*, 2013).

Vitis vinifera L. is mainly wind-pollinated, although its particular floral morphology also allows self-pollination (Kamel, 1959); the frequency of each type of pollination depends partly on the grape variety concerned.

A number of studies have shown that airborne *Vitis* pollen concentrations provide an indirect measure of pollination and can be used as a variable when predicting final crop outcomes (Fernández-González *et al.*, 2011; Cunha *et al.*, 2016). Since the 1990s, this technique has been used widely to forecast output for other major commercial crops in the Mediterranean area, including olive (Galan *et al.*, 2004; Oteros *et al.*, 2014). The joint use of samplers of different kinds, for example, volumetric in conjunction with passive samplers, may provide more reliable data for certain locations (Belmonte *et al.*, 2000; West and Kimber, 2015). Passive samplers have been used in Mexico, in 17 US states and in Canada for fungal spore sampling (Kelly *et al.*, 2015).

© Cambridge University Press 2018

CAMBRIDGE
UNIVERSITY PRESS

Downloaded from <https://www.cambridge.org/core>. IP address: 150.214.111.74, on 25 Oct 2018 at 13:13:36, subject to the Cambridge Core terms of use, available at <https://www.cambridge.org/core/terms>. <https://doi.org/10.1017/S0021859618000783>

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

2

M. Martínez-Braceró *et al.*

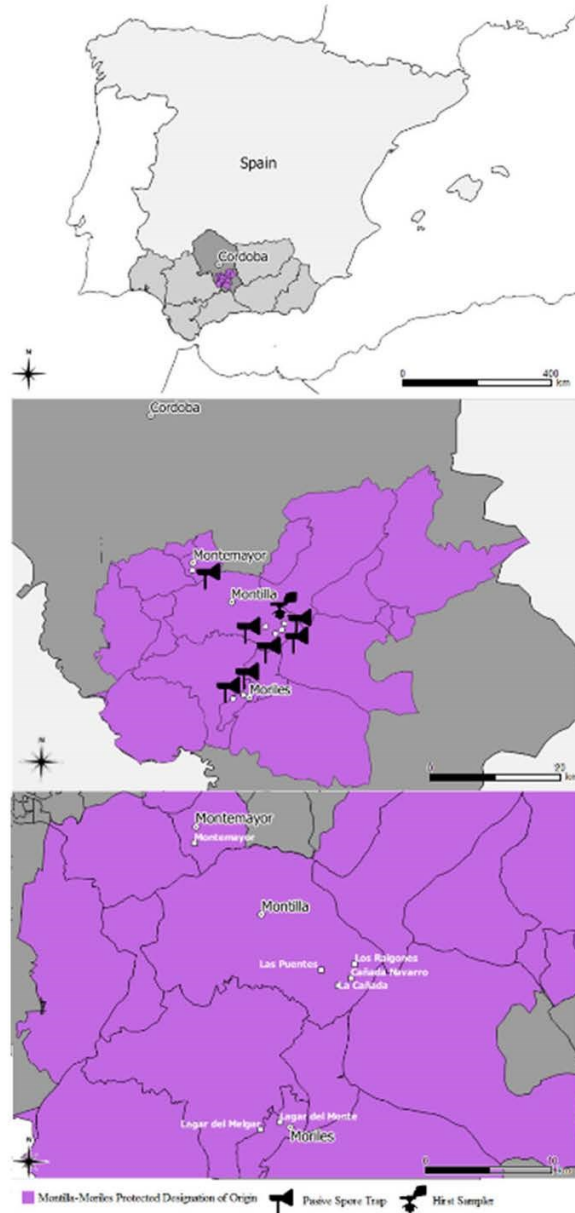


Fig. 1. Location of Montilla-Moriles Protected Designation of Origin and samplers used in the study.

Downloaded from <https://www.cambridge.org/core>. IP address: 150.214.111.74, on 25 Oct 2018 at 13:13:36, subject to the Cambridge Core terms of use, available at <https://www.cambridge.org/core/terms>. <https://doi.org/10.1017/S0021859618000783>

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

Table 1. Characteristics of the different study locations

	City	Location	Altitude (m asl)	Orientation	Varieties
Montemayor (MM)	Montemayor	37°38'12.52"N 4°41'59.98"W	350	SW	PX
Lagar de Melgar (LMr)	Moriles	37°26'01.12"N 4°38'08.87"W	381	SE	PX
Las Puentes (LPs)	Montilla	37°32'53.18"N 4°35'03.92"W	384	NE	PX
Lagar del Monte (LdM)	Moriles	37°26'21.03"N 4°37'09.31"W	403	NNW	PX
Cañada Córdoba (CC)	Montilla	37°32'14.60"N 4°34'07.18"W	424	WSW	PX, Ver
Los Raigones (LRs) ^a	Montilla	37°33'10.25"N 4°33'15.38"W	472	SW	PX
Cañada Navarro (CN)	Montilla	37°32'33.76"N 4°33'27.71"W	496	SE	PX, Ch, Ver, Mapp

PSW, south-west; SE, south-east; NE, north-east; NNW, north-north-west; WSW, west-south-west; PX, Pedro Ximénez; Ver, Verdejo; Ch, Chardonnay; Mapp, Muscat à petit grains.
^aLocation of the Hirst-type spore trap.

During the current study, airborne *Vitis* pollen concentrations and phenological behaviour were measured in order to achieve the following aims: (1) to compare observed phenological stages for grapevine cultivars and vineyards at different locations within the Montilla-Moriles Protected Designation of Origin (PDO) area; (2) to analyse the relationship between *Vitis* pollen concentration, phenological observations and weather-related parameters in the PDO area; and (3) to test for possible differences between volumetric and passive samplers located at several sites in the PDO area.

Materials and methods

The current study was carried out in seven vineyards within the Montilla-Moriles PDO area (Fig. 1). This area is located in the south of Córdoba province (southern Spain), in the vicinity of the two main towns, Montilla and Moriles. The area has a Thermo-Mediterranean climate with hot, dry summers. Soils in most of the study area are predominantly white sandy loams, known locally as 'albariza' (whitish), with intercalations of calcarenite, and white or cream-coloured marls; these soils occupy much of the surface of the Sierra de Montilla (Álvarez *et al.*, 2007).

Airborne pollen concentrations were monitored using a Hirst-type volumetric spore trap (Hirst, 1952) located in the Sierra de Montilla, in conjunction with seven passive spore traps (PSTs) (Kelly *et al.*, 2015) located in the study vineyards (Fig. 1 and Table 1). The sampling was carried out from stage 5 (inflorescence emergence) to harvest (Meier, 1997). The Hirst type active spore trap has been described in detail by Hirst (1952). Passive spore traps are also based on the impact principle and are formed by a cylindrical support holder over a base, on which it rotates thanks to bearings and a vane that places it downwind. Inside the cylindrical support, the impact unit is inserted which, impregnated with the same solution used for the Hirst sensor, traps the airborne particles. While the Hirst-type spore trap is volumetric PSTs are non-volumetric, depending on wind velocity. Hirst-type traps were changed once a week, giving daily and hourly data; however, PSTs supply only weekly data in the current study and were also changed once a week. Both types of the trap were used in Los Raigones (LRs), while only passive samplers were used in Cañada Navarro (CN), Cañada Córdoba (CC), Las Puentes (LPs), Lagar del Monte (LdM), Lagar de Melgar (LMr) and Montemayor (MM). Hirst trap location and data analysis were in accordance with the standard protocol developed by the Spanish Aerobiology Network (REA) (Galán *et al.*, 2007) and the minimum recommendations of the European Aeroallergen Society (EAS)

(Galán *et al.*, 2014). In this case, the location of the Hirst sampler was 8 m above ground level. Airborne pollen was expressed as a daily average number of pollen grains/m³ of air. The *Vitis* pollen season was defined using the Hirst sampler for reference purposes; the start date was defined as the first of 5 consecutive days with a concentration of over five pollen grains/m³. The current study considered the Seasonal Pollen Integral (SPIn), i.e. summing the average daily concentration over the Pollen Season (Galán *et al.*, 2017). Passive spore traps were placed in the centre of each vineyard, 1.5 m above ground level, and slides were changed once a week. Concentrations were performed for six longitudinal transects per slide, thus covering >0.10 of the total surface area. Values were expressed as pollen grains/cm²/week. Daily concentrations from Hirst-type traps were summed to obtain weekly data for better comparison with PSTs data.

Phenological observations were carried out weekly (twice-weekly during the flowering season, as recommended by Fernández-González *et al.*, 2011) throughout the active *Vitis* life-cycle in 2015 and 2016. The seven study vineyards contained four *Vitis* cultivars: Pedro Ximénez, Verdejo, Muscat Blanc à petits grains and Chardonnay. Data were obtained from 20 individual plants per vineyard. The location of the vineyards is shown in Fig. 1 and characteristics are provided in Table 1: LRs, LPs, LdM, LMr and MM contained only Pedro Ximénez; CC Pedro Ximénez and Verdejo, and CN all four cultivars. The phenological scale developed by Lorenz *et al.* (1994), and adapted by Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Cernische Industrie as a standardized scale for grapevine phenological observations (Meier, 1997), was selected as the standard tool. The five principal stages were monitored: stage 0 (sprouting), stage 1 (leaf development), stage 5 (inflorescence emergence), stage 6 (flowering), stage 7 (development of fruits) and stage 8 (ripening of berries). The phenological calendar was drawn up taking as the start date of each phenological stage the date on which over 0.50 of the vines studied had reached that stage. The mean date of each stage was calculated as the average for the 20 individual plants studied at each sampling site, which were selected randomly from a plot containing 100 plants.

Weather data were obtained from a Campbell-type station located in the main town in the study area (Montilla), at a distance of 200 m from the Hirst-type volumetric sampler. The following weather-related parameters were measured: daily maximum, mean, minimum temperature, rainfall, relative humidity, solar radiation and dew point.

Spearman correlations tests were applied to test for correlations between pollen concentrations and weather-related parameters.

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

4

M. Martínez-Bracero *et al.*

Table 2. Start DOY/ duration of each stage and total days of the cycle in the studied vineyards

Point	Phenological grapevine principal BBCH growth stages																Total ^a
	0		1		5		6		7		8						
	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016	2015	2016			
Pedro Ximénez	MM	79/11	70/35	90/24	105/28	95/26	105/40	128/7	145/9	135/41	154/49	203/42	146	175			
	Lmr	79/13	77/28	92/26	105/28	100/27	112/35	130/9	147/12	139/37	159/44	203/42	146	168			
	LP's	79/14	70/21	93/21	105/28	95/29	112/28	125/10	140/12	135/35	152/44	170/55	146	175			
	LdW	79/13	77/28	92/22	105/28	100/21	105/40	132/7	145/14	138/37	159/51	176/49	146	168			
	CC	79/13	63/35	92/22	98/35	95/31	105/40	127/12	145/9	139/31	154/42	170/55	146	172			
Verdejo	LRS	86/14	77/28	100/25	105/32	103/26	112/35	135/4	147/12	139/43	159/51	182/50	146	168			
	CN	79/11	70/35	90/24	105/26	95/29	105/40	125/10	145/9	135/43	154/49	170/55	146	165			
	average	80/12	72/30	92/23	102/31	97/27	108/37	129/8	145/11	137/37	156/47	174/52	146	170			
Chardonnay	Average ^b	76/48		97/27		102/32		137/10		146/42		189/44	158				
	CC	71/15	70/28	86/28	98/33	95/30	98/42	125/7	140/12	132/38	152/44	170/54	133	165			
	CN	71/19	70/28	90/24	98/33	95/25	98/47	120/19	145/9	139/31	154/42	170/54	133	179			
	average	71/16	70/28	88/26	98/33	95/27	98/45	122/13	142/10	135/34	153/43	170/54	133	172			
	average ^b	70/23		93/29		97/36		132/12		144/39		186/36	151				
Muscat à petit grains	CN	65/14	50/32	79/35	82/44	95/30	91/40	125/7	131/21	132/30	152/37	162/42	139	167			
	Average	58/23		80/39		93/35		129/14		143/33		175/35	152				
	average	75/19		93/30		97/38		135/8		143/40		183/27	125	147			

DOY: day of year; BBCH: Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie.
^aNumber of days spent in the total cycle.
^bAverage between the two years of study.

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

The Journal of Agricultural Science

5

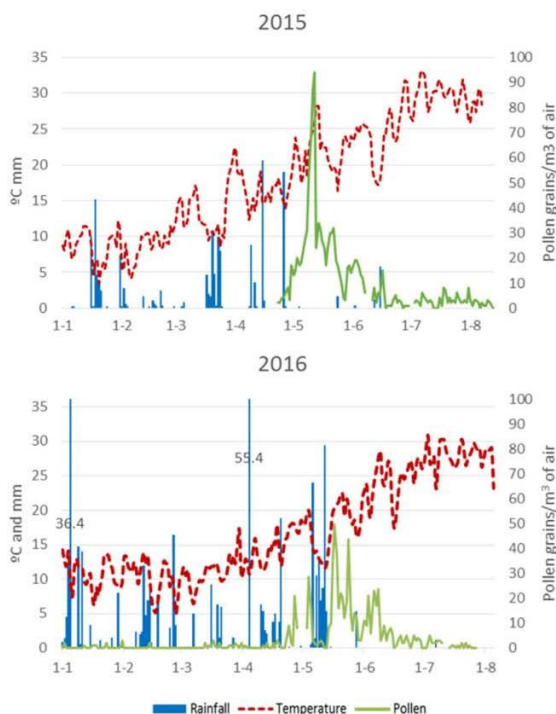


Fig. 2. Pollen concentration, temperature and precipitation in the 2 years of study.

Significance was calculated for $P < 0.001$, $P < 0.01$ and $P < 0.05$; the R program (R Core Team, 2014) was used for statistical analysis.

Finally, back-trajectories were performed for days with high airborne pollen concentrations prior to the starting dates observed in the field for the phenological stage 6 (flowering), using the Hybrid Single-Particle Lagrangian Integrated Trajectory (HYSPLIT) online model (Stein *et al.*, 2015), in order to identify the source of pollen grains. Three episodes were studied: 20 April 2015, 27 April 2016 and 4 May 2017.

Results

Average temperature and rainfall for the study area during the *Vitis vinifera* phenological period were determined using data for previous years (2009–2016) and then compared with the data for 2015–2016. During 2009–2016, the average temperature was 19.12 °C and average rainfall 245.71 mm. Both temperature and rainfall were, therefore, lower than the local average in 2015 (17.40 °C and 160.2 mm); in 2016, temperatures were also lower (18.86 °C), while rainfall was higher than average (313.0 mm).

The vine life-cycle (from stage 0 to harvest) lasted between 125 and 179 days at all study sites in both years. Data for different cultivars (Table 2) showed that the shortest life-cycle was recorded

for Muscat Blanc à petits grains (125–147 days), followed by Verdejo (133–179 days), Chardonnay (139–167 days) and finally Pedro Ximénez (146–175 days).

The earliest start date for each stage was recorded for Chardonnay; start dates were slightly later for Muscat Blanc à petits grains and Verdejo, while the last variety to start each stage was Pedro Ximénez (Table 2). The duration of each phenological stage was generally shorter in 2015 than in 2016, with the exception of flowering, which lasted longer in 2015. Comparison of start dates for Pedro Ximénez at different study sites revealed that the latest start was at LRs.

Phenological stage start dates (Julian days) and duration in both study years are shown in Table 2, taking into account all cultivars at all sites. Stage 0 (Sprouting) started between late February and early March; Stage 1 (Leaf development) between late March and early April; Stage 5 (Inflorescence emergence) during April; Stage 6 (flowering) between late April and early May in 2015 and during the second fortnight in May in 2016; Stage 7 (development of fruits) started between early May (2015) and early June (2016); and finally Stage 8 (ripening of berries) started between late June and late July in both study years.

The pollen season, defined using data from the Hirst-type spore trap, started on 30 April and ended on 17 July in 2015,

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

6

M. Martínez-Bracero *et al.*

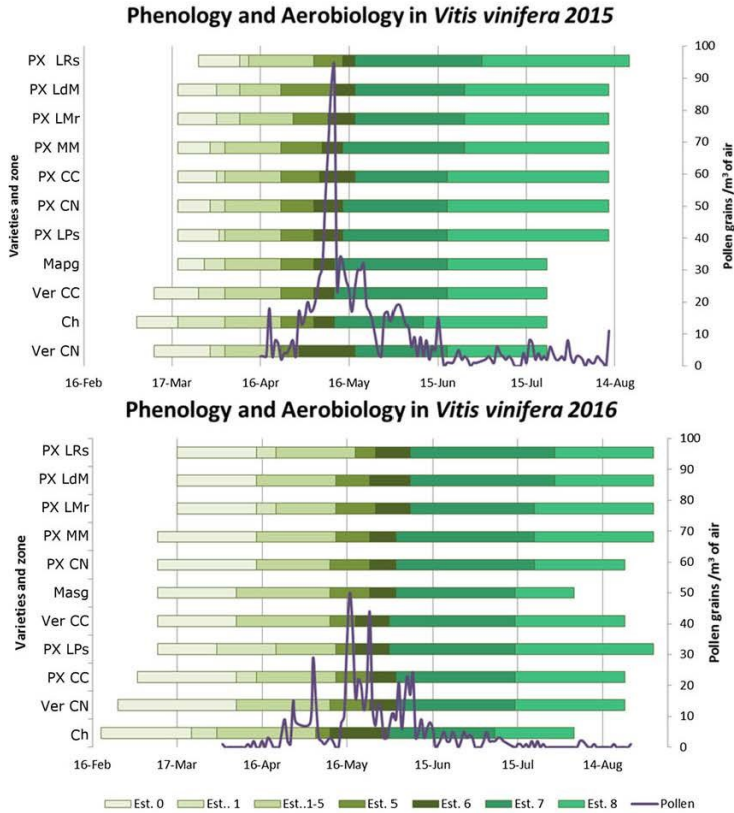


Fig. 3. Phenology of the studied vineyards and pollen concentration.

with a SPIn of 1018 pollen grains/m³. In 2016, it started on 14 May and ended on 7 June, with a SPIn of 458 pollen grains/m³. Pollen concentrations, temperatures and rainfall in the 2 study years are shown in Fig. 2. The peak daily concentration for 2015 (94 pollen grains/m³) was recorded on 12 May, coinciding with flowering at most study vineyards. In 2016, the peak concentration was recorded on 17 May (50 pollen grains/m³) when only Chardonnay was in flower, although a second, lower, peak was observed on 24 May, when the other cultivars had started to flower (Fig. 3).

As well as with the Hirst, PSTs pollen concentrations were compared with phenology (Fig. 4). During 2015, pollen concentrations matched the phenology; weekly peaks were counted during flowering. On the other hand, during 2016, one peak was found in all cases before flowering, but in most cases, the highest pollen concentrations were found during stage 6 (flowering).

Correlations between the main weather-related parameters and pollen season data are shown in Table 3. Daily differences were compared using data from the Hirst-type volumetric pollen trap. Temperature and dew point were found to be significant parameters in 2015 ($P < 0.001$ and < 0.05 , respectively), while in 2016 temperature, relative humidity, solar radiation and dew point all proved significant ($P < 0.001$ for the three first, and < 0.01 for dew point). Daily concentrations of the pre-peak of *Vitis* pollen type were compared with meteorological parameters: in this case, temperature affected pollen concentrations positively and significantly in both years ($P < 0.001$). Solar radiation also had a positive significant relationship with pollen concentration ($P < 0.05$). Rainfall affected pollen concentrations negatively and this relationship was only statistically significant in 2016 ($P < 0.01$).

Correlations between data from the Hirst-type sampler and from the PSTs are shown in Table 4. All correlations were

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

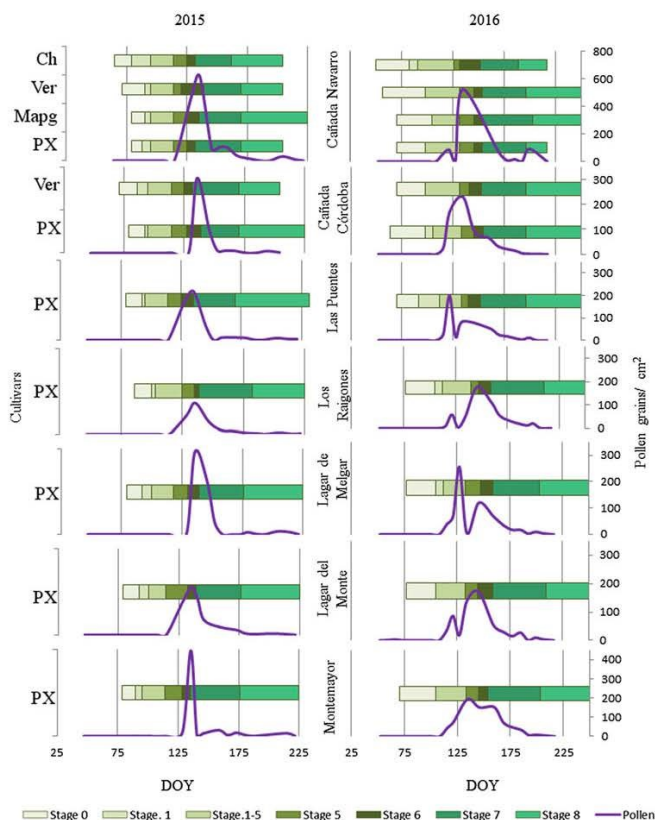


Fig. 4. Phenology and pollen concentration of PSTs in each cultivar.

Table 3. Spearman correlation between Hirst-type pollen concentrations and the daily main environmental factors

	Max temp.	Aver temp.	Min temp.	Rainfall	Relative humidity	Dew point	Solar radiation
2015	-0.522***	-0.554***	-0.592**	0.094	0.278	-0.314*	-0.068
2016	0.412***	0.422***	0.380***	-0.207*	-0.375***	0.249**	0.519***
Pre-15	0.741***	0.774***	0.602**	-0.264	-0.666***	-0.260	0.507*
Pre-16	0.672***	0.720***	0.542**	-0.581**	-0.651***	-0.208	0.433*

*** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$.
Pre-15: Prepeak of 2015, Pre-16: Prepeak2 of 2016.

significant ($P < 0.001$); the strongest correlation was recorded in 2015 between the Hirst-type sampler and the nearest PSTs (CN, LPs and LRs), while in 2016 the greatest correlations were observed between Hirst and CC, LPs and MM. In all cases, a

highly significant ($P < 0.001$) positive correlation was observed between Hirst and the sum of all PSTs.

The SPIn was higher in 2015 than in 2016 for CC, LMr, CN and the Hirst-type sampler, while the opposite was found at the

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

Table 4. Spearman correlations between the pollen concentration in Hirst-type spore trap with PSTs

	2015	2016
Cañada Navarro	0.938***	0.803***
Cañada Córdoba	0.887***	0.853***
Las Puentes	0.905***	0.861***
Los Raigones	0.968***	0.820***
Lagar del Monte	0.848***	0.771***
Lagar de Melgar	0.788***	0.804***
Montemayor	0.859***	0.882***
Sum PST	0.923***	0.796***

*** $P < 0.001$; ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$.

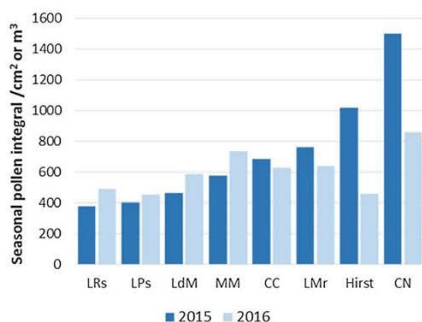


Fig. 5. Seasonal pollen Integral of all the samplers in the study in both years.

other sites (Fig. 5). The highest weekly pollen concentrations were recorded at CN and MM in 2015; weekly pollen concentrations were lower in 2016 at all sites except LPs and LRs (Fig. 6).

Back-trajectory analysis (Fig. 7) showed that on 20 April 2015 (Fig. 7a), the pollen collected had come from western and north-western Andalusia. In 2016, pollen collected on 27 April had come from west of the study area (Fig. 7b), while pollen collected on 4 May (Fig. 7c) had come from the south. In all cases, areas marked in the map indicate local vineyards, while black spots represent hourly wind changes.

Discussion

The duration of phenological stages may vary between regions due to differing soil and climate conditions (Pedro Júnior and Sentelhas, 2003). In the present investigation, however, the study sites shared the same soil and climate conditions. Fernández-González (2013) reports that in areas with a high-temperature regime, vegetative growth tends to be faster and therefore the vine life-cycle is shorter; while in colder temperate regions, growth is slower and the life-cycle therefore longer. Year-on-year differences in cycle length in the present study may thus be attributable to differences in prevailing weather conditions.

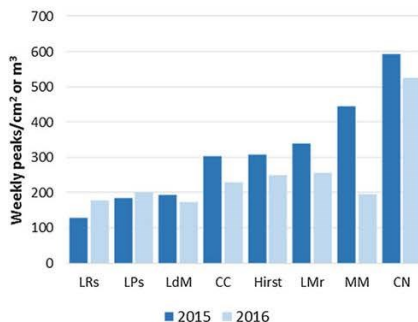


Fig. 6. Maximum weekly concentration of all the samplers in the study in both years.

Muscat Blanc à petits berries had an average cycle of 136 days; similar findings are reported for Cabernet Sauvignon (130 days) and Tannat (131 days) in sub-tropical regions (Sato *et al.*, 2011). The average cycle for Chardonnay, Verdejo and Pedro Ximénez was around 150 days and thus shorter than the 193 days reported by Jones and Davis (2000) for Cabernet Sauvignon in colder temperate regions such as Bordeaux (France). Longer cycles of between 191 and 219 days have also been observed for Cabernet Franc, Merlot Sangiovese and Syrah in the mountains of Brazil (Gris *et al.*, 2010), and for Treixadura and Godello (193 days) in northern Spain (Fernández-González *et al.*, 2013). Due to local climate conditions, the life-cycles recorded in the current study were longer than in sub-tropical regions and shorter than in colder temperate regions with higher humidity.

In the present study, Chardonnay was the first variety to flower, followed by Verdejo, Muscat Blanc à petits grains and finally Pedro Ximénez. These findings differ from those reported by Parker *et al.* (2013), whose classification of several grapevine cultivars by flowering date showed that Muscat Blanc à petits grains flowered earlier than Chardonnay. The discrepancy is probably due to climate differences between southern Spain and the various sites sampled in Parker's study.

Parker *et al.* (2013) classify Chardonnay and Muscat Blanc à petits grains as early-flowering cultivars. In the present study, Pedro Ximénez, Verdejo, Muscat Blanc à petits grains and Chardonnay flowered earlier than in northern Spain (Fernández-González *et al.*, 2013), where these cultivars have been classified as 'late cultivars'. In the current study, by contrast, they could be classified as 'early cultivars'.

Flowering is a key stage in harvest forecasting models (Cunha *et al.*, 2003; Fernández-González *et al.*, 2011; Oteros *et al.*, 2014). In 2015 the pollen season was longer, and concentrations were higher than in 2016 when rainfall was heavier. Rainfall is one of the main factors affecting pollen concentrations since it causes airborne pollen to be washed out of the atmosphere (Humble and Metz, 2017). Weaker correlations between pollen season concentrations and rainfall, relative humidity and dew point in 2015 may be attributed to lower total annual rainfall causing pollen resuspension after the peak. Pre-peak correlations show the importance of temperature and rainfall in the pollen concentrations. Nevertheless, the *Vitis* SPIn was higher in both 2015 and 2016

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

The Journal of Agricultural Science

9

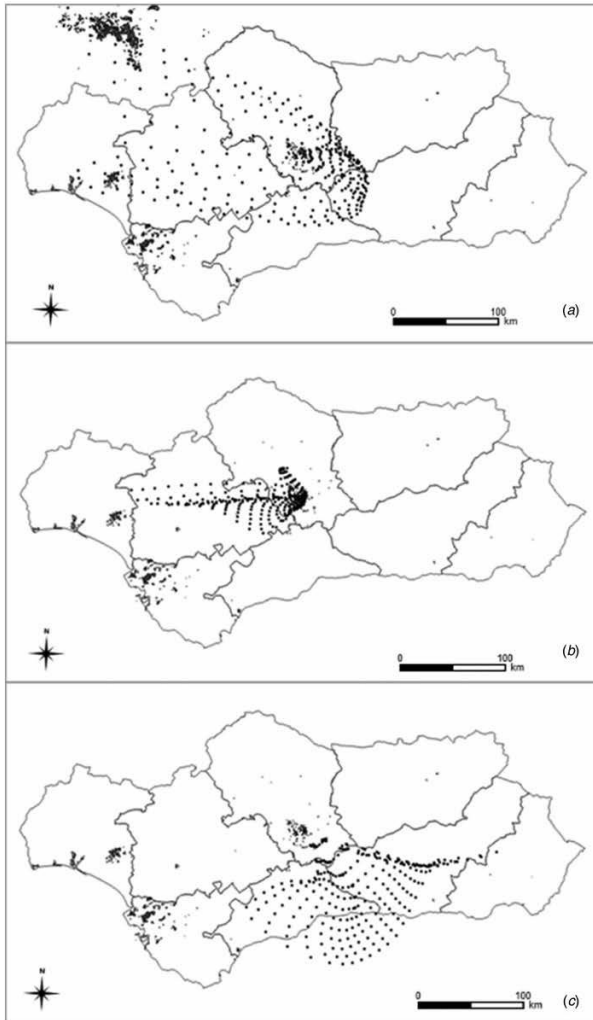


Fig. 7. Retrotrajectories during days with a higher concentration of pollen before flowering. Each point corresponds to 1 h and trajectories have been changed each hour between 00:00 and 12:00 UTM. (a) 20 April 2015, (b) 27 April 2016, (c) 4 May 2016.

than those reported in earlier studies (Ribeiro, *et al.*, 2003; Fernández-González *et al.*, 2013).

In the case of PSTs, higher SPInS during 2016 were caused by higher peak and the lower SPInS were caused by lower peak. In the case of MM, the concentration of pollen was maintained during the phenological period, causing a higher SPIn. High local storms caused the cleaning of some PSTs; however, these storms

did not affect the Hirst due to its structure, preventing water entry into the sample. Those differences explain the lower correlation between Hirst and PSTs in 2016.

Although different types of sensors provide essentially the same information – as demonstrated in earlier comparisons of Hirst and Cour samplers (Belmonte *et al.*, 2000) – the Hirst-type volumetric sampler yields data for a wider area, while

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

10

M. Martínez-Bracero *et al.*

PST provide local data (West and Kimber, 2015). One of the factors affecting these differences is the location of the different samplers. Comparison of data from the two types of the sampler is valuable for determining whether local data are representative of the region as a whole (Kelly *et al.*, 2015).

Back-trajectory analysis showed that pollen collected prior to flowering in the PDO area apparently came from elsewhere in Andalusia, for example from Huelva and Malaga, where flowering generally takes place earlier due to the more temperate coastal climate. Previous research in woody species has highlighted an advance in flowering in these areas of Andalusia (Alcázar *et al.*, 2011; Martínez-Bracero *et al.*, 2015; Velasco-Jiménez *et al.*, 2018).

Conclusions

Airborne *Vitis* pollen grains in study vineyards were detected mainly during inflorescence emergence and flowering. Due to local bioclimatic conditions in the Montilla-Moriles PDO area, grapevine life-cycles were shorter than in temperate climates but longer than in tropical climates. In terms of flowering period, the grapevine cultivars in the current study may be classed as 'early cultivars'. Data obtained using local passive samplers recorded directly in the vineyard confirmed that the airborne pollen concentrations recorded by the volumetric sampler were representative of the study area.

Financial support. This study was supported by the project 'CGL2014-54731-R-FENOMED-Estudio de tendencias fenológicas en plantas de Mediterráneo Occidental y su relación con el cambio climático'. Ministerio de Economía y Competitividad. Spain Government.

Conflicts of interest. None

Ethical standards. Not applicable

References

- Alcázar P, García-Mozo H, Trigo MdL M, Ruiz L, González-Minero FJ, Hidalgo P, de la Guardia CD and Galán C (2011) Platanus pollen season in Andalusia (southern Spain): trends and modeling. *Journal of Environmental Monitoring* 13, 2502–2510.
- Álvarez M, Moreno IM, Jos AM, Cameán AM and González AG (2007) Study of mineral profile of Montilla-Moriles 'fino' wines using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry methods. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 391–395.
- Belmonte J, Canela M and Guàrdia R-A (2000) Comparison between categorical pollen data obtained by Hirst and Cour sampling methods. *Aerobiologia* 16, 177–185.
- Cunha M, Abreu I, Pinto P and de Castro R (2003) Airborne pollen samples for early-season estimates of wine production in a Mediterranean climate area of northern Portugal. *American Journal of Enology and Viticulture* 54, 189–194.
- Cunha M, Ribeiro H and Abreu I (2016) Pollen-based predictive modelling of wine production: application to an arid region. *European Journal of Agronomy* 73, 42–54.
- Fernández-González M, Escuredo O, Rodríguez-Rajo FJ, Aira MJ and Jato V (2011) Prediction of grape production by grapevine cultivar Godello in north-west Spain. *Journal of Agricultural Science, Cambridge* 149, 725–736.
- Fernández-González M, Rodríguez-Rajo FJ, Jato V, Aira MJ, Ribeiro H, Oliveira M and Abreu I (2012) Forecasting ARIMA models for atmospheric vineyard pathogens in Galicia and Northern Portugal: Botrytis cinerea spores. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 19, 255–262.
- Fernández-González M, Rodríguez-Rajo FJ, Escuredo O and Aira MJ (2013) Influence of thermal requirement in the aerobiological and phenological behavior of two grapevine varieties. *Aerobiologia* 29, 523–535.
- Galán C, Vázquez I, García-Mozo H and Domínguez E (2004) Forecasting olive (*Olea europaea*) crop yield based on pollen emission. *Field Crops Research* 86, 43–51.
- Galán C, Carriñanos P, Alcázar P and Domínguez-Vilches E (2007) *Spanish Aerobiology Network (REA): Management and Quality Manual*. Córdoba, Spain: Servicio de Publicaciones, Universidad de Córdoba.
- Galán C, Smith M, Thibaudon M, Frenguelli G, Oteros J, Gehrig R, Berger U, Clot B and Brandao R and EAS QC Group (2014) Pollen monitoring: minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiologia* 30, 385–395.
- Galán C, Ariatti A, Bonini M, Clot B, Crouzy B, Dahl A, Fernández-González D, Frenguelli G, Gehrig R, Isard S, Levetin E, Li DW, Mandrioli P, Rogers CA, Thibaudon M, Sauliene I, Skjøth C, Smith M and Sofiev M (2017) Recommended terminology for aerobiological studies. *Aerobiologia* 33, 293–295.
- Gris EF, Burin VM, Brighenti E, Vieira H and Bordignon-Luiz MT (2010) Phenology and ripening of *Vitis vinifera* L. grape varieties in São Joaquim, southern Brazil: a new South American wine growing region. *Ciencia e Investigación Agraria (International Journal of Agriculture and Natural Resources)* 37, 61–75.
- Hidalgo L (2002) *Tratado de Viticultura General*. Madrid, Spain: Mundi-Prensa.
- Hirst JM (1952) An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology* 39, 257–265.
- Humble BC and Metz GM (2017) Clearing the air: a retrospective observational study of rainfall and pollen count data in Oklahoma City, OK (abstract). *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 139, Supplement, AB122.
- Jones GV and Davis RE (2000) Climate influences on grapevine phenology, grape composition, and wine production and quality for Bordeaux, France. *American Journal of Enology and Viticulture* 51, 249–261.
- Kamel A (1959) *Estudio Sobre la Sexualidad de las Uvas de Mesa en España*. Madrid, Spain: Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas.
- Kelly HY, Dufault NS, Walker DR, Isard SA, Schneider RW, Giesler LJ, Wright DL, Marois JJ and Hartman GL (2015) From select agent to an established pathogen: the response to *Phakopsora pachyrhizi* (soybean rust) in North America. *Phytopathology* 105, 905–916.
- Kishino AY and Marur IPH (2007) Factores climáticos e o desenvolvimento da videira. In Kishino AY, de Carvalho SC and Roberto SR (eds), *Viticultura Tropical: o Sistema de Produção do Paraná*. Londrina, Brazil: IAPAR, pp. 59–86.
- Lorenz DH, Eichhorn KW, Bleiholder H, Klose R, Meier U and Weber E (1994) Phänologische entwicklungsstadien der weinrebe (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*). Codierung und beschreibung nach der erweiterten BBCH-Skala. *Wein-Wissenschaft* 49, 66–70.
- Mandelli F, Tonietto J, Camargo UA and Czeremainski ABC (2004) Fenologia e necessidades térmicas da videira na Serra Gaúcha. In XVIII Congresso Brasileiro de Fruticultura. Florianópolis, Brazil: Sociedade Brasileira de Fruticultura. CD-ROM.
- Martínez-Bracero M, Alcázar P, de la Guardia CD, González-Minero FJ, Ruiz L, Trigo Pérez MM and Galán C (2015) Pollen calendars: a guide to common airborne pollen in Andalusia. *Aerobiologia* 31, 549–557.
- Meier U (1997) *Growth Stages of Mono- and Dicotyledonous Plants*. Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft BBCH-Monograph. Berlin, Germany: Wissenschafts-Verlag.
- Ocete R, Cantos M, López-Gallardo A, Pérez-Troncoso A, Lara M, Failla O, Ferragut FJ and Liñán J (2007) Caracterización y conservación del recurso fitogenético vid silvestre en Andalucía. In *Consejería de Medio Ambiente Junta Andalucía*. Sevilla, Spain: Falcor.
- OIV (2015) *Compendio de Métodos Internacionales de Análisis de los Vinos y Mostos*. Paris, France: OIV.
- Oteros J, Orlandi F, García-Mozo H, Aguilera F, Dhiab AB, Bonfiglio T, Abichou M, Ruiz-Valenzuela L, Mar del Trigo M, de la Guardia CD, Domínguez-Vilches E, Msallem M, Fornaciari M and Galán C (2014) Better prediction of Mediterranean olive production using pollen-based models. *Agronomy for Sustainable Development* 34, 685–694.
- Parker A, de Cortázar-Atauri IG, Chuine I, Barbeau G, Bois B, Boursiquot J-M, Cahurel J-Y, Claverie M, Dufourcq T, Géný L, Guimberteau G, Hofmann RW, Jaquet O, Iacombe T, Monamy C, Ojeda H, Panigai L, Payan J-C, Lovelle BR, Rouchaud E, Schneider C,

Capítulo 1

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

The Journal of Agricultural Science

11

- Spring J-L, Storchi P, Tomasi D, Trambouze W, Trought M and van Leeuwen C** (2013) Classification of varieties for their timing of flowering and veraison using a modelling approach: a case study for the grapevine species *Vitis vinifera* L. *Agricultural and Forest Meteorology* **180**, 249–264.
- Pedro Júnior MJ and Sentelhas PC** (2003) Clima e produção. In Pommer CV (ed.) *Uva: Tecnologia de Produção, Pós-Colheita, Mercado*. Porto Alegre: Cinco Continentes, pp. 63–107.
- Piña S and Bautista D** (2004) Ciclo fenológico de cultivares de vid (*Vitis vinifera* L.) para mesa en condiciones tropicales. *Bioagro* **16**, 9–15.
- R Core Team** (2014) *R: a Language and Environment for Statistical Computing*. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Ribeiro H, Cunha M and Abreu I** (2003) Airborne pollen concentration in the region of Braga, Portugal, and its relationship with meteorological parameters. *Aerobiologia* **19**, 21–27.
- Sato AJ, Jubileu BS, de Assis AM and Roberto SR** (2011) Phenology, production and must compounds of 'Cabernet Sauvignon' and 'Tannat' grapevines in subtropical climate. *Revista Brasileira de Fruticultura* **33**, 491–499.
- Stein AF, Draxler RR, Rolph GD, Stunder BJ, Cohen MD and Ngan F** (2015) NOAA's HYSPLIT atmospheric transport and dispersion modeling system. *Bulletin of the American Meteorological Society* **96**, 2059–2077.
- Velasco-Jiménez MJ, Alcázar P, Valenzuela LR, Gharbi D, de la Guardia CD and Galán C** (2018) Pinus pollen season trend in South Spain. *Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* **152**, 657–665.
- West JS and Kimber RBE** (2015) Innovations in air sampling to detect plant pathogens. *Annals of Applied Biology* **166**, 4–17.



6. Capítulo 2

Fungal spores affecting vineyards in
Montilla-Moriles Southern Spain



Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

M. Martínez-Bracero · P. Alcázar ·
M. J. Velasco-Jiménez · C. Galán

Accepted: 29 June 2018
© Koninklijke Nederlandse Planteziektenkundige Vereniging 2018

Abstract The most common *Vitis vinifera* diseases are powdery mildew (*Uncinula necator*), grey mould (*Botrytis cinerea*) and downy mildew (*Plasmopara viticola*). Greater knowledge of the factors involved in fungus reproduction and plant infection will help to fine-tune treatment application calendars, thus cutting farmers' costs and reducing adverse environmental effects. The main aim of this study was to investigate the relationship between airborne spore concentrations, weather-related parameters and grapevine phenology. Phenological observations and airborne spore detection were carried out during the *Vitis vinifera* growing period (February–August) from 2015 to 2017. Phenological data were collected weekly for four grape varieties (Pedro Ximénez, Verdejo, Muscat à petit grains and Chardonnay). Airborne fungal spores were monitored using one Hirst-type volumetric spore trap, following the standard protocol developed by the Spanish Aerobiology Network (REA) and the

European Aeroallergen Society (EAS), and 4 Passive Spore Traps (PST), following the protocol proposed by Kelly et al. (*Phytopathology*, 105, 905–916, 2015). During this study, *U. necator* was the most common, followed by *B. cinerea* and *P. viticola*. A significant correlation was found between the all PSTs weekly spore concentrations and the Hirst sampler but the seasonal spore integral was always higher for the Hirst-type sampler than for PSTs. Airborne *U. necator* spore concentrations were higher prior to blooming, and correlated with average temperature and rainfall. *B. cinerea* recorded the highest concentrations during leaf development, inflorescence emergence and flowering; airborne spore concentrations were correlated with both dew point and daily average temperature. *P. viticola* presented lower concentration but it was most frequently recorded spore during the stages prior to blooming, and displayed stronger correlations with humidity, dew point and average temperature. Weather conditions over the study period in the Montilla-Moriles Protected Designation of Origin (PDO) area probably gave rise to spore concentrations lower than those reported for vineyards elsewhere in Spain, but higher than those recorded locally in areas where not associated with vineyards. The Hirst-type sampler yielded spore data representative of the whole study area. Knowledge of the factors influencing fungal spore concentration will help to fine-tune treatment calendars, and thus reduce the economic and environmental effects of treatment.

M. Martínez-Bracero (✉) · P. Alcázar ·
M. J. Velasco-Jiménez · C. Galán
Botany, Ecology and Plant Physiology Celestino Mutis building
3th floor Campus de Rabanales 14071 Córdoba, Córdoba
University, Córdoba, Spain
e-mail: b52mabrm@uco.es

P. Alcázar
e-mail: bv2altep@uco.es

M. J. Velasco-Jiménez
e-mail: bv2vejim@uco.es

C. Galán
e-mail: bv1gasoc@uco.es

Keywords Fungal spores · Vineyards · Montilla-Moriles · Mildew · Oidium · Downy mildew

Capítulo 2

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

Eur J Plant Pathol

Introduction

The grapevine is among the most abundant perennial crops worldwide, covering over seven million hectares and spanning all the continents except Antarctica (Cunha et al. 2016). Although it grows in temperate and tropical regions ranging from 50°N to 43°S, the highest concentration of vineyards is to be found in Europe (OIV 2015). The optimum conditions for growth and development prevail in regions with dry summers and cold winters which allow the plant's dormancy requirements to be met (Pedro Júnior and Sentelhas 2003). Spain has the largest surface area of vineyards, accounting for 14% of the world total, but is the world's third largest producer (OIV 2015).

The most common *Vitis vinifera* diseases are powdery mildew (*Uncinula necator* (Schw.) Burt.), grey mould (*Botrytis cinerea* Pers.), and downy mildew (*Plasmopara viticola* (Berk. & Curt.) Berk. & de Toni) (Fernández-Gonzalez et al. 2009; Rodríguez-Rajo et al. 2010; Rossi et al. 2013; Moyer et al. 2014). The strategy most widely adopted by winegrowers to reduce the impact of these fungal diseases is the systematic application of chemical fungicides, generally following current calendars based on the phenological growth stages of the grapevine (Bugiani et al. 1995; Fernandez-Gonzalez et al. 2012).

Airborne spore concentrations may serve as an indicator of pathogen development, and could therefore be useful when infection levels are initially determined by the presence of inoculum rather than by the prevailing weather (Carisse et al. 2008; Holb and Füzi 2016).

The main purpose of this study was to measure airborne spore concentrations for the principal fungi causing disease in vineyards. The specific aims were: 1, to examine the relationship between airborne fungal spore concentrations, *Vitis vinifera* phenology and weather patterns; 2, to compare spatial distribution in different vineyards within the Protected Designation of Origin (PDO) Montilla-Moriles; and 3, to compare the airborne fungal spore concentrations detected using two different types of sampler based on different principles.

Material and methods

The study was carried out in four vineyards within the Montilla-Moriles PDO area (Fig. 1), located in the south of Córdoba province (southern Spain), in the vicinity of the two main towns, Montilla and Moriles. The area has

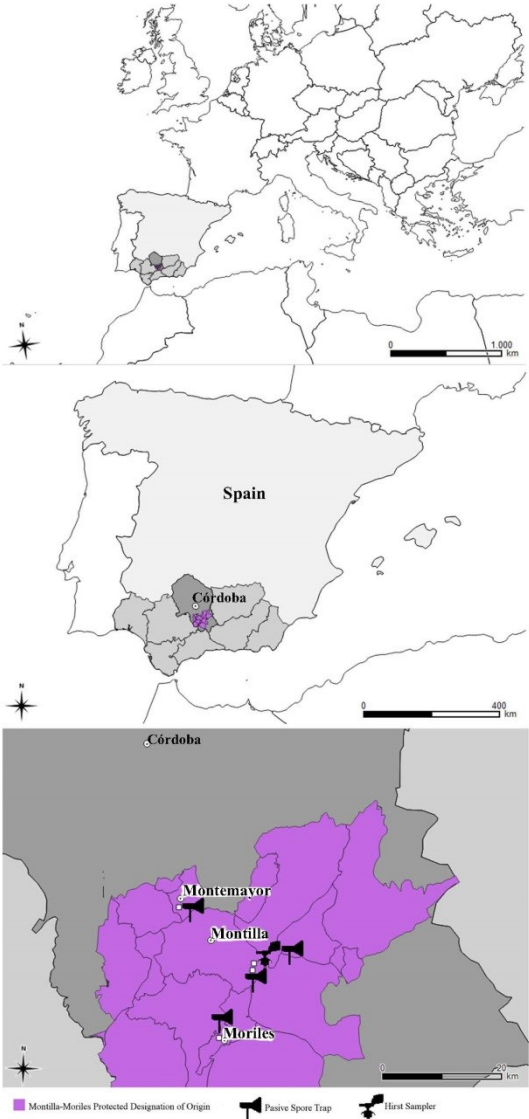
a Thermo-Mediterranean climate with hot, dry summers (average temperature 26.26 °C and total rainfall 29.32 mm) and temperate winters (average temperature 9.86 °C and total rainfall 209.13 mm). Soils in most of the study area are predominantly white sandy loams, known locally as "albariza" (whitish), characterized by the presence of white or cream-coloured marls (clay-containing limestone) typical of the Guadalquivir basin; these soils occupy much of the surface of the Sierra de Montilla (Álvarez et al. 2007).

Phenological observations were carried out weekly, twice-weekly during the flowering season, as recommended by Fernández-González et al. (2011) throughout the active *Vitis* life cycle from 2015 to 2017. The four study vineyards contained four *Vitis* varieties: Pedro Ximénez, Verdejo, Muscat Blanc à petits grains and Chardonnay. Data were collected for 20 individual plants per vineyard. The location of the study vineyards is shown in Fig. 1 and characteristics are given in Table 1: Los Raigones (LRs), Lagar del Monte (LdM), and Montemayor (MM) contained only Pedro Ximénez vines, while Cañada Navarro (CN) contained all four study varieties. The phenological scale developed by Lorenz et al. (1994), adapted by the BBCH (Biologische Bundesanstalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie) as a standardized scale for grapevine phenological observations (Meier 1997), was selected as the standard tool. The five principal stages were monitored: stage 1 (leaf development), stage 5 (inflorescence emergence), stage 6 (flowering), stage 7 (development of fruits) and stage 8 (ripening of berries). The phenological calendar was drawn up taking as the start date of each phenological stage the date on which over 50% of the vines studied at a given site had reached that stage. The mean date of each stage was calculated as the average for the 20 individual plants studied at each sampling site, which were selected randomly from a plot containing 100 plants.

Airborne fungal spore concentration was monitored using one Hirst-type volumetric spore trap (Hirst 1952), located in the Sierra de Montilla, and 4 passive spore traps (PSTs) (Kelly et al. 2015) located in the study vineyards (Fig. 1 and Table 1). Both types of sampler were used at LRs, and only PSTs at the other sites (CN, LdM and MM). Hirst trap location was in accordance with the standard protocol developed by the Spanish Aerobiology Network (REA), (Galán et al. 2007) and the minimum recommendations of the European Aeroallergen Society (EAS) (Galán et al. 2014). Data

Eur J Plant Pathol

Fig. 1 Location of Montilla Moriles Protected Designation of Origin and samplers used in the study



Capítulo 2

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

Table 1 Characteristics of the different studied points

	City	Location	Altitude	Crop orientation	Land type	Varieties
Montemayor (MM)	Montemayor	37°38'12.52"N 4°41'59.98"W	350	SW	Calcium Luvisol	PX
Lagar del Monte (LdM)	Moriles	37°26'21.03"N 4°37'09.31"W	403	NNW	Calcareous fluvisol	PX
Los Raigones (LRs)*	Montilla	37°33'10.25"N 4°33'15.38"W	472	SW	Calcareous fluvisol	PX
Cañada Navarro (CN)	Montilla	37°32'33.76"N 4°33'27.71"W	496	SE	Calcareous fluvisol	PX, Ch, Ver, SgM

PX Pedro Ximenez, Ver Verdejo, Ch Chardonnay, SgM Small grains Muscat

*Location of the Hirst-type spore trap

analysis was performed for over 5% of the total sample surface. Airborne fungal spores were expressed as a daily average of fungal spores/m³ of air. PSTs were placed in the centre of each vineyard, one and a half metres above ground level, and slides were changed once a week. Counting slides were performed for four longitudinal transects per slide, thus covering over 5% of the total surface area. Values were expressed as fungal spores/cm² per week. Terminology about spore concentrations has been used following the terms recommended by the EAS (Galan et al. 2017).

Weather data were obtained from a Campbell-type station located in the main town in the study area (Montilla), at a distance of 200 m from the Hirst-type volumetric sampler. The following weather-related parameters were measured continuously during the *Vitis vinifera* phenological period (February–August): daily maximum, average and minimum temperature, rainfall, relative humidity, solar radiation and dew point.

Spearman analysis were applied to test correlations between fungal spore concentration and weather-related variables, as well as between the two types of sampler. Significance was calculated for $p < 0.001$, $p < 0.01$, $p < 0.05$ and $p < 0.1$; the R software package (R Development Core Team 2008) was used for statistical analysis. In order to compare samplers, Spearman correlation tests were applied to the Hirst weekly sum, individual PST weekly concentration and the joint weekly sum of all PSTs. Decision trees were constructed using the Program R party package (Hothorn et al. 2012) to identify the main factors affecting fungal spore concentration, using Hirst data for reference purposes. The Lorenz scale (Lorenz et al. 1994), as modified by Coombe (1995), was used for multivariable analysis. The Coombe (1995) scale assigns a number (determined

by direct observation) to each phenological stage. The scaled numbering enables mathematical models to be constructed, into which phenological events are incorporated as numerical variable.

To identify differences within the PDO, statistical Redundancy Analysis (RDA) was performed using data from PSTs, as recommended by Sadyś et al. (2015). Analysis was carried out using the VEGAN package (Dixon 2003) for R program (R Development Core Team 2008). RDA results were expressed graphically on biplots, where rows represented meteorological and geographical parameters. The significance of the correlation between parameters was determined by the length of the arrows, longer arrows indicating stronger correlation (Braak 1986). Vector relationships (directly or inversely proportional) were identified by the position of spore types in terms of arrow ends.

Results

Average temperature and rainfall for the study area during the *Vitis vinifera* phenological period were determined using data for previous years (2009–2014), and were then compared to the data for 2015–2017. Average temperature was 19.12 °C, and average rainfall 245.71 mm. Both temperature and rainfall were therefore lower than the local average in 2015 (17.40 °C and 160.2 mm); in 2016, temperatures were also lower (18.86 °C), while rainfall was higher than average (313.0 mm); the reverse was the case in 2017, when temperatures were higher (20.52 °C) and rainfall lower than average (215.4 mm).

Uncinula necator was the most frequently-recorded airborne fungal spore. Of the three study spores, it

Capítulo 2

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

Eur J Plant Pathol

Table 2 Concentration and percentage of spores in Hirst Sampler

		<i>Uncinula</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Plasmopara</i>	Total
2015	Total Spores	669	297	75	1041
	Maximum	32	10	6	
	Percentage	64.27%	28.53%	7.20%	
	Date of max	20-apr	13-apr	2-Mar	
2016	Total Spores	1819	612	212	2643
	Maximum	72	44	12	
	Percentage	68.82%	23.16%	8.02%	
	Date of max	14-Mar	27-apr	5-Mar	
2017	Total Spores	1235	723	150	2108
	Maximum	45	76	19	
	Percentage	58.59%	34.30%	7.12%	
	Date of max	20-May	25-Mar	28-Mar	

accounted for the largest share of the total Seasonal Spore Integral (SSIn), representing 58–64% of the three study spores in the Hirst spore trap and 93–100% in PSTs (Tables 2 and 3). Daily peaks were recorded from March to May (Fig. 2); higher weekly peaks were recorded by the PSTs (Table 3).

Botrytis cinerea was the second most common of the three study spores in the SSIn, accounting for 23–34% of study spores in the Hirst spore trap and less than 7% in the PSTs (Tables 2 and 3). Daily concentration peaks

occurred at different times between late March and early June (Fig. 2).

The least frequently-recorded of the three was *Plasmopara viticola*, which accounted for 7–8% of the study spores in the Hirst spore trap and less than 2% in the PSTs (Tables 2 and 3). Daily concentration peaks were detected during March (Fig. 2).

In all cases, the highest SSIn were recorded in 2016, coinciding with longer *Vitis vinifera* life cycles (Fig. 2). Meanwhile higher daily peaks were recorded for *U. necator* in the PSTs, whereas for *B. cinerea* and *P. viticola* higher daily peaks were detected using the Hirst spore trap (Tables 2 and 3).

Correlations between fungal spore concentrations and weather-related variables displayed year-on-year differences (Table 4). *U. necator* concentrations were more strongly correlated with rainfall and relative humidity in years with higher rainfall. *B. cinerea* spore concentrations displayed stronger correlation with dew point in warmer years, while no correlation was observed between spore concentrations and weather variables in cooler, drier years. *P. viticola* spore concentrations was correlated strongly with relative humidity and dew point in all cases; rising temperature prompted a strong correlation between fungal spore concentrations, solar radiation and average temperature.

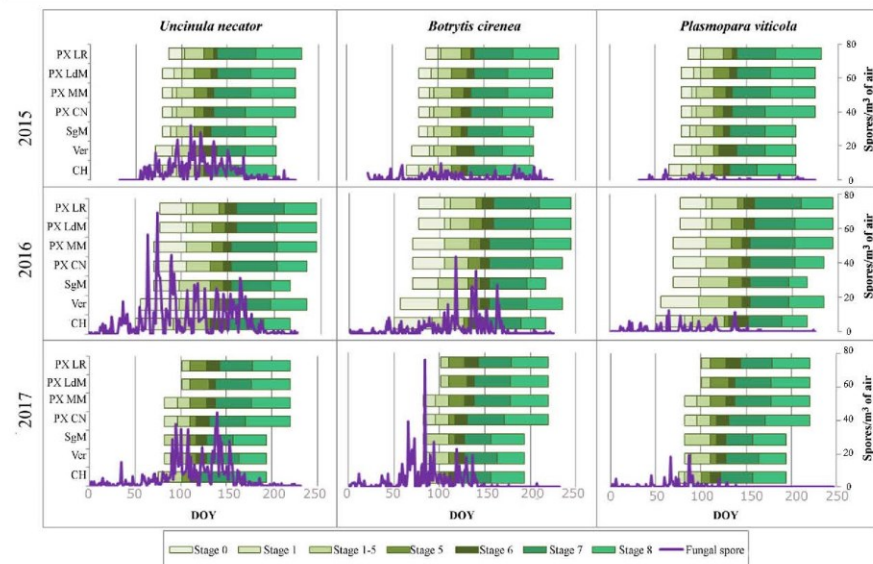
Table 3 Total concentration, maximum (Max), date of Maximum (Date) and percentage (Per) in Passive Spore Traps

		<i>Uncinula</i>				<i>Botrytis</i>				<i>Plasmopara</i>				Total
		Total	Max	Date	Per	Total	Max	Date	Per	Total	Max	Date	Per	
MM	2015	94	40	5–13 /4	93.07%	7	4	5–13 /4	6.93%	0	0	–	0.00%	101
	2016	655	81	10–17/5	98.35%	5	3	7–14/4	0.75%	6	4	31/3–7/4	0.90%	666
	2017	134	39	30/3–6/4	100.00%	0	0	–	0.00%	0	0	–	0.00%	134
LdM	2015	142	28	13–20/3	95.95%	5	4	04–11/6	3.38%	1	1	5–13 /4	0.68%	148
	2016	428	78	10–17/5	97.49%	7	4	10–17/5	1.59%	4	2	21–28/4	0.91%	439
	2017	79	25	23–30/5	98.75%	1	1	30/3–6/4	1.25%	0	0	–	0.00%	80
LRs	2015	150	34	21–28/4	94.94%	7	3	04–11/6	4.43%	1	1	27–6/3	0.63%	158
	2016	249	50	24–31/3	96.89%	5	2	24–31/3	1.95%	3	1	3–10/5	1.17%	257
	2017	62	17	20–27/4	92.54%	4	2	30/5–6/6	5.97%	1	1	30/3–6/4	1.49%	67
CN	2015	108	24	5–13 /4	96.43%	3	2	13–20/4	2.68%	1	1	20–27/3	0.89%	112
	2016	189	47	10–17/5	97.93%	1	1	17–24/3	0.52%	3	2	21–28/5	1.55%	193
	2017	101	34	9–16/5	98.06%	0	0	–	0.00%	2	2	30/3–6/4	1.94%	103
Totals	2015	494	40		95.18%	22	4		4.24%	3	1		0.58%	519
	2016	1521	81		97.81%	18	4		1.16%	16	4		1.03%	1555
	2017	376	39		97.92%	5	2		1.30%	3	2		0.78%	384

Capítulo 2

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

Eur J Plant Pathol



PX= Pedro Ximénez, Ver= Verdejo, SgM=Small grains Muscat, CH=Chardonnay, LR=Los Raigones, LdM = Lagar del Monte, MM=Montemayor, CN= Cañada Navarro

Fig. 2 Phenology and spores concentration in the 3 years of study

Spearman tests for potential correlations between the Hirst and PST samplers (Table 5) showed a positive significant correlation between total weekly PST data and weekly Hirst data in 2015 and 2016, but not in

Table 4 Spearman correlation between spore concentrations and meteorological parameters

		<i>Uncinula</i>	<i>Botrytis</i>	<i>Plasmopara</i>		
2015	Relative humidity	0.0377	0.025	0.2297	***	
	Rainfall	-0.1342	**	-0.0154	0.0379	
	Dewpoint	0.0072		0.1269	0.1634	**
	Solar radiation	0.1439	**	0.0743	-0.1151	
	Aver. Temp	-0.025		0.0499	-0.1204	
2016	Relative humidity	-0.215	***	0.0559	0.2166	***
	Rainfall	-0.1163	*	0.0682	0.0515	
	Dewpoint	-0.3386	***	-0.1704	**	-0.1717
	Solar radiation	0.226	***	0.0705	-0.1122	
	Aver. Temp	-0.1094		0.0682	*	-0.2406
2017	Relative humidity	0.0733		0.2957	***	0.2599
	Rainfall	-0.0648		0.0884	0.0429	
	Dewpoint	-0.1058		-0.3151	***	-0.2566
	Solar radiation	0.0959		-0.2565	***	-0.2206
	Aver. Temp	-0.1649	**	-0.4031	***	-0.3429

Signif. codes: '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Capítulo 2

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

Eur J Plant Pathol

Table 5 Spearman correlation between spore concentrations and meteorological parameters

		<i>U. necator</i> Hirst	<i>B. cinerea</i> Hirst	<i>P. viticola</i> Hirst
2015	LRs	0.4182 *	0.0175	0.0578
	CN	0.594 **	0.3342	0.2133
	LdM	0.2773	0.1677	0.0798
	MM	0.4584 *	0.3788	0.4765
	PST	0.6112 ***	0.4228 *	0.558 **
2016	LRs	0.2713	0.08	0.2713
	CN	0.1148	0	0.1148
	LdM	0.2942	0.415 *	0.2942
	MM	0.1844	0.2044	0.1844
	PST	0.4449 **	0.415 *	0.4449 **
2017	LRs	0.0924	-0.3667	0.3
	CN	-0.2308	-	0.3
	LdM	0.4916	0.1375	-
	MM	0	-	-
	PST	0.2343	-0.3667	0.3

Signif. codes: '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

2017. However, no significant correlation was observed between Hirst and individual PST data over the study period.

Correlations between spore concentrations and phenological stages were investigated using boxplots based on data from all study years (Fig. 3). *U. necator* displayed similar medians for all stages, except stage 8, but 25% of data over the median were higher in stage 0. *B. cinerea* displayed no marked difference between stages, though higher medians were recorded in stages 1, 5 and 6. The highest median for *P. viticola* coincided with stage 5.

Data obtained from PSTs, used to compare differences between sampling sites (Fig. 4), revealed that the highest *U. necator* spore concentrations were recorded in Montemayor, the other three displaying similar but lower concentrations.

Decision trees highlighted the importance of the influence of phenological stages on fungal spore concentrations in all cases (Fig. 5). For *U. necator*, the most influential stages were those prior to stage 8 (fruit development); dew point increased spore concentration, which declined with rainfall. *B. cinerea* concentrations were concentrated mostly in stages 1 (leaf development), 5 (inflorescence emergence) and 6 (flowering); in the other stages, concentrations were higher with lower

temperatures. *P. viticola* was recorded more frequently from stages 0 (winter dormancy) to 6 (flowering); during stages 7 (fruit development) and 8 (ripening of berries), higher concentrations were found at lower temperatures.

In the Redundancy analysis (Fig. 6), only the RDA1 axis was significant, as shown in Table 6. For *U. necator*, airborne concentrations were positively affected by land type, humidity and rainfall, and negatively affected by the advance of phenological stages.

Discussion

The quota of the SSIn corresponding to the three studied fungal spores was similar in all study years, regardless of total spore concentration. *U. necator* was more abundant than *B. cinerea* and *P. viticola*; these findings differ from those reported in earlier studies of Spanish vineyards (Diaz et al. 1998; Fernández-Gonzalez et al. 2009). However, total spore integrals were lower than those recorded in Galicia and Portugal (Fernández-Gonzalez et al. 2009, 2012, 2013; Rodríguez-Rajo et al. 2010; Sousa et al. 2016).

The *U. necator* SSIn was similar to that obtained elsewhere in Spain, as well as in Europe, although daily peak concentrations were lower (Fernández-González et al. 2013; Holb and Füzü 2016). The highest concentrations were recorded between bud break and flowering, as reported by other authors (Rossi et al. 2010). Studies of ascospore dispersal from overwintering cleistothecia prior to bud break (Moyer et al. 2014) mostly indicate a critical period between stages 0 and 7 (Campbell et al. 2007; Fernández-González et al. 2013; Gadoury et al. 2007). Although temperature and rainfall have been identified as the weather variables most strongly correlating with *U. necator* spore concentrations (Fernández-González et al. 2013; Holb and Füzü 2016), in the present study correlations with these parameters were always negative but not statistically significant in all studied years. A number of authors have highlighted the synchronization of ascospore dispersal and certain phenological stages in various bioclimatic areas (Cortesi et al. 1997; Gee et al. 2000; Grove 2007; Fernández-González et al. 2013), as was also recorded here.

The *B. cinerea* SSIn was lower than that reported elsewhere in Spain and Portugal, as were daily peak concentrations (Oliveira et al. 2009; Rodríguez-Rajo et al. 2010; Fernández-Gonzalez et al. 2012). However, peak concentrations were higher than those recorded in

Capítulo 2

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

Eur J Plant Pathol

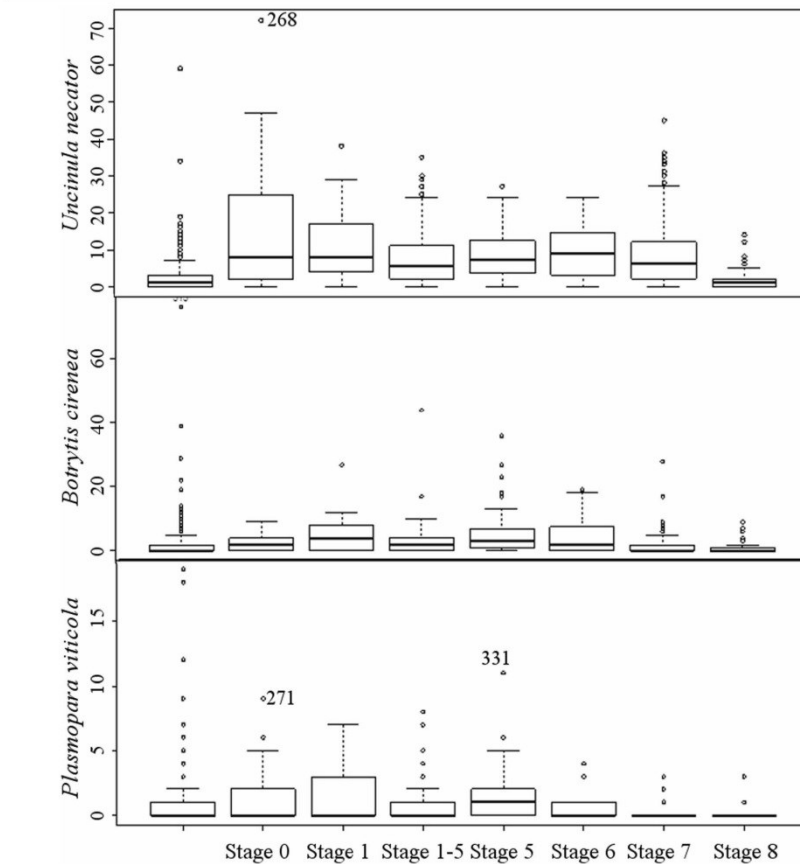


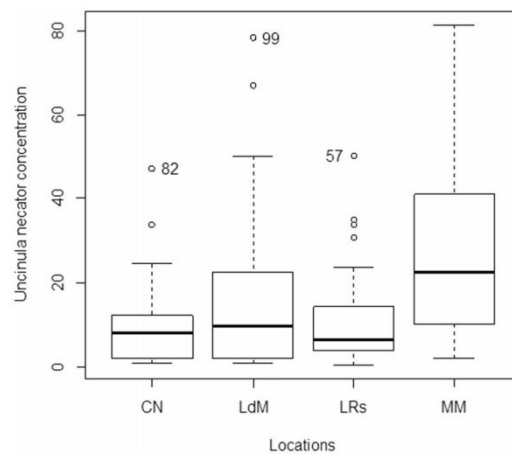
Fig. 3 Fungal spores Boxplot by stage Uinci = *U.necator*, Botr = *B.cinerea*, Plas = *P.viticola*

studies outside vineyard areas (Sousa et al. 2016). The most affecting airborne spore concentration were dew point and average temperature; these findings do not agree with those reported in northern Spain (Rodríguez-Rajo et al. 2010), where humidity was the variable correlating most strongly with spore concentrations. Because of the lower rainfall and higher temperatures in the study area examined here, spore

concentrations generally correlated more strongly with phenology than with weather variables, although the strongest correlation was with rainfall. The synchronization of *Vitis* with *B. cinerea* spore dispersal has been highlighted in a number of regions, including Galicia (Spain) (Rodríguez-Rajo et al. 2010; Fernandez-Gonzalez et al. 2012). Here, higher concentrations were observed during stages 1, 5 and 6; other authors also

Eur J Plant Pathol

Fig. 4 *Uncinula necator* concentration by location



recorded maximum concentrations mostly during stage 5 (Fernández-Gonzalez et al. 2009, 2012; Rodríguez-Rajo et al. 2010).

The *P. viticola* SSIn and daily peak spore concentrations were also lower than those reported elsewhere (Fernández-Gonzalez et al. 2009). The stronger correlation between *P. viticola* and weather parameters reflects the temperature and rainfall requirements for sporulation (Goidanich et al. 1957). Here, due to lower rainfall during the *Vitis* lifecycle, humidity and dew point were the factors most influencing sporulation. Critical temperatures were similar to those reported by Rossi et al. (2013). As decision trees showed, the correlation with phenology was also important, a finding noted for other geographical areas (Ortega-Farías et al. 2002; Mariani et al. 2007). Here, the highest concentrations were recorded during the stages prior to flowering, a result not observed in northern Spain (Fernández-Gonzalez et al. 2009). *P. viticola* is sensitive to dryness and rapidly dies when water availability is reduced; these spores are also affected by temperatures after flowering (Kiefer et al. 2002).

Placing of fungal spore samplers at a height of 1.5 m is recommended, since this ensures the recording of airborne spore concentrations from local sources as well as enabling dispersal gradients to be determined (West

and Kimber 2015). Here, the concentrations recorded by PSTs were lower than those reported for similar areas by other authors (Fernández-Gonzalez et al. 2009) this could be explained due to the non-volumetric character of the PST's.

In 2015 and 2016, a significant positive correlation was observed between the Hirst sampler and the PSTs; in 2017, correlations were not significant, and for *B. cinerea* were negative. The absence of fungal spores in PSTs during the final study year was probably due to lower rainfall and higher temperatures.

The complex relationship between fungal spore concentrations and weather variables is explained to a large extent by RDA analysis (Sadyś et al. 2015). Redundancy analysis for PSTs was not significant, due to the low spore concentrations recorded for *B. cinerea* and *P. viticola*.

Conclusions

Weather conditions over *Vitis vinifera* phenological period (February–August) in the 3 years of study (2015–17) in the Montilla-Moriles Protected Designation of Origin area probably gave rise to spore concentrations lower than those reported for vineyards elsewhere in

Capítulo 2
Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

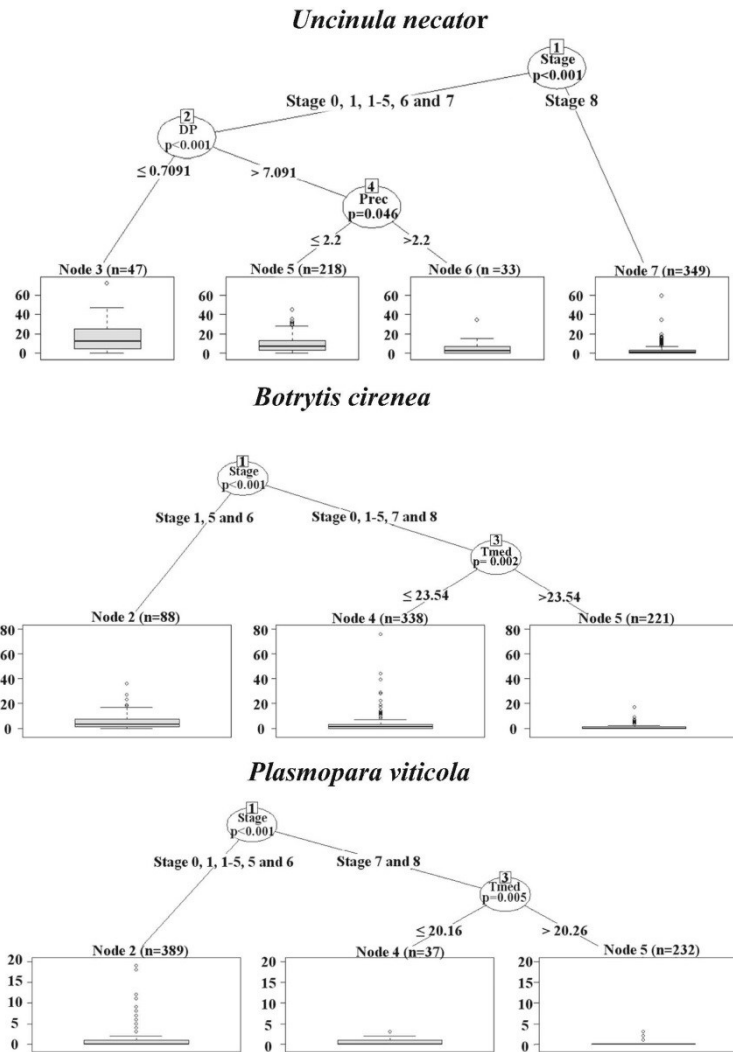


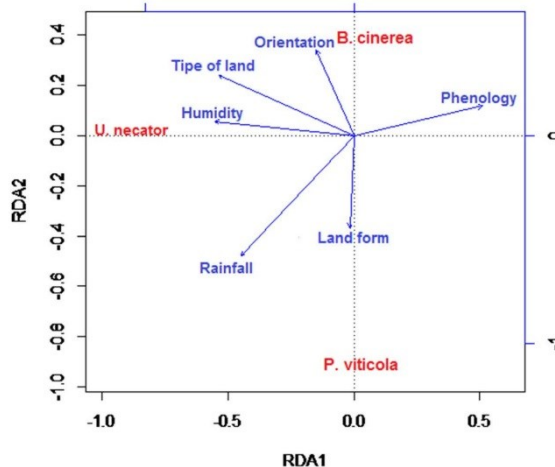
Fig. 5 Decision trees of all fungal spores by stage

Capítulo 2

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

Eur J Plant Pathol

Fig. 6 Redundancy analysis for PSTs. Representing airborne fungal spores in the 3 years of study



Spain, but higher than those recorded locally in areas without vineyards. Spores of *U. necator* and *B. cinerea* had high concentrations during the studied period, meanwhile for *P. viticola* concentrations were low and only collected in sporadic days. *Vitis vinifera* phenology is the most important factor affecting fungal spore concentrations. Due to the characteristic weather in Montilla-Moriles, temperature and dew point are the most important parameters related with *B. cinerea* concentration; and for *P. viticola* they are humidity and dew point. For *U. necator* relationship with meteorological parameters are not clear. The Hirst-type sampler spore data are representative of the whole study area, being the most recommended sampler for extensive areas. Nevertheless, it is remarkable that PST's could be used for local studies in a more restrictive area. Knowledge of the

factors influencing fungal spore concentrations will help to fine-tune treatment calendars, and thus reduce the economic and environmental effects of treatment. Further work is planned to develop the treatment calendars and advise farmers about when and how use the different treatments.

Acknowledgements This study was supported by the project "CGL2014-54731-R- FENOMED-Estudio de tendencias fenológicas en plantas del Mediterráneo Occidental y su relación con el cambio climático". Ministerio de Economía y Competitividad. Spain Government.

Compliance with ethical standards All authors in this paper have been reported about it and about the send to the present Journal; they also have done their consent.

Conflicts of interest This study do not have are no conflicts of interest.

Table 6 Results of the ANOVA test for redundancy analysis

	Df	Variance	F	Pr(>F)
RDA1	1	106.056	89.5717	0.001 ***
RDA2	1	0.013	0.011	0.937
RDA3	1	0.008	0.0065	0.957

Signif. codes: 0 '****' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

References

Álvarez, M., Moreno, I. M., Jos, Á. M., Cameán, A. M., & González, A. G. (2007). Study of mineral profile of Montilla-Moriles "fino" wines using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry methods. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20, 391–395.

Capítulo 2

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

Eur J Plant Pathol

- Braak, C. J. F. T. (1986). Canonical Correspondence Analysis: A New Eigenvector Technique for Multivariate Direct Gradient Analysis. *Ecology*, 67, 1167–1179. <https://doi.org/10.2307/1938672>.
- Bugiani, R., Govoni, P., Bottazzi, R., Giannico, P., Montini, B., & Pozza, M. (1995). Monitoring airborne concentrations of sporangia of *Phytophthora infestans* in relation to tomato late blight in Emilia Romagna, Italy. *Aerobiologia*, 11, 41–46.
- Campbell, P., Bendek, C., & Latorre, B. A. (2007). Risk of powdery mildew (*Erysiphe necator*) outbreaks on grapevines in relation to cluster development. *Cienc. E Investig. Agrar.*, 34, 5–11.
- Carisse, O., Savary, S., & Willocquet, L. (2008). Spatiotemporal relationships between disease development and airborne inoculum in unmanaged and managed *Botrytis* leaf blight epidemics. *Phytopathology*, 98, 38–44.
- Coombe, B. G. (1995). Growth Stages of the Grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1, 104–110.
- Cortesi, P., Bisiach, M., Ricciolini, M., & Gadoury, D. M. (1997). Cleistothecia of *Uncinula necator*—an additional source of inoculum in Italian vineyards. *Plant Disease*, 81, 922–926.
- Cunha, M., Ribeiro, H., & Abreu, I. (2016). Pollen-based predictive modelling of wine production: application to an arid region. *European Journal of Agronomy*, 73, 42–54. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.10.008>.
- Díaz, M. R., Iglesias, I., & Jato, V. (1998). Seasonal variation of airborne fungal spore concentrations in a vineyard of North-West Spain. *Aerobiologia*, 14, 221–227. <https://doi.org/10.1007/BF02694210>.
- Dixon, P. (2003). VEGAN, a package of R functions for community ecology. *Journal of Vegetation Science*, 14, 927–930. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02228.x>.
- Fernández-González, M., Rodríguez-Rajo, F. J., Jato, V., & Aira, M. J. (2009). Incidence of fungi in a vineyard of the denomination of origin ribeiro [Ourense-North-Western Spain]. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 16, 263–271.
- Fernández-González, M., Escuredo, O., Rodríguez-Rajo, F. J., Aira, M. J., & Jato, V. (2011). Prediction of grape production by grapevine cultivar Godello in north-west Spain. *The Journal of Agricultural Science*, 149, 725–736. <https://doi.org/10.1017/S0021859611000244>.
- Fernández-González, M., Rodríguez-Rajo, F. J., Jato, V., Aira, M. J., Ribeiro, H., Oliveira, M., Abreu, I., (2012). Forecasting ARIMA models for atmospheric vineyard pathogens in Galicia and Northern Portugal: *Botrytis cinerea* spores. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 19.
- Fernández-González, M., Rodríguez-Rajo, F. J., Escuredo, O., & Aira, M. J. (2013). Optimization of integrated pest management for powdery mildew ($Erysiphe necator$) control in a vineyard based on a combination of phenological, meteorological and aerobiological data [WWW Document]. *The Journal of Agricultural Science*, 151, 648–658. <https://doi.org/10.1017/S0021859612000743>.
- Gadoury, D.M., Seem, R.C., Pearson, R.C., Wilcox, W.F., Dunst, R.M. (2007). Effects of Powdery Mildew on Vine Growth, yield, and Quality of Concord Grapes [WWW Document]. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.2.137>
- Galán, C., González, P. C., Teno, P. A., & Vilches, E. D. (2007). *Spanish Aerobiology Network (REA): management and quality manual*. Córdoba: Servicio de Publicaciones, Universidad de Córdoba.
- Galán, C., Smith, M., Thibaudon, M., Frenguelli, G., Oteros, J., Gehrig, R., Berger, U., Clot, B., Brandao, R., & Group, E. Q. W. (2014). Pollen monitoring: minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiologia*, 30, 385–395. <https://doi.org/10.1007/s10453-014-9335-5>.
- Galan, C., Ariatti, A., Bonini, M., Clot, B., Crouzy, B., Dahl, A., Fernandez-González, D., Frenguelli, G., Gehrig, R., Isard, S., Levetin, E., Li, D. W., Mandrioli, P., Rogers, C. A., Thibaudon, M., Sauliene, I., Skjøth, C., Smith, M., & Sofiev, M. (2017). Recommended terminology for aerobiological studies. *Aerobiologia*, 33, 293–295.
- Gee, L. M., Stummer, B. E., Gadoury, D. M., Biggins, L. T., & Scott, E. S. (2000). Maturation of cleistothecia of *Uncinula necator* (powdery mildew) and release of ascospores in southern Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6, 13–20.
- Goidanich, G., Casarini, B., & Foschi, S. (1957). Lotta antiperonosporica e calendario d'incubazione. *G. Agric.*, 13, 11–14.
- Grove, G.G. (2007). Perennation of *Uncinula necator* in Vineyards of Eastern Washington [WWW Document]. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.3.242>
- Hirst, J.M., (1952). An Automatic Volumetric Spore Trap. *The Annals of Applied Biology* 39, 257–265. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1952.tb00904.x>.
- Holb, I. J., & Füzü, I. (2016). Monitoring of ascospore density of *Erysiphe necator* in the air in relation to weather factors and powdery mildew development. *European Journal of Plant Pathology*, 144, 751–762. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0823-4>.
- Hothorn, T., Hornik, K., & Zeileis, A. (2012). Unbiased Recursive Partitioning: A Conditional Inference Framework. *Journal of Computational and Graphical Statistics*. <https://doi.org/10.1198/106186006X133933>.
- Kelly, H. Y., Dufault, N. S., Walker, D. R., Isard, S. A., Schneider, R. W., Giesler, L. J., Wright, D. L., Marois, J. J., & Hartman, G. L. (2015). From select agent to an established pathogen: the response to *Phakopsora pachyrhizi* (soybean rust) in North America. *Phytopathology*, 105, 905–916.
- Kiefer, B., Riemann, M., Büche, C., Kassemeyer, H.-H., & Nick, P. (2002). The host guides morphogenesis and stomatal targeting in the grapevine pathogen *Plasmopara viticola*. *Planta*, 215, 387–393.
- Lorenz, D. H., Eichhorn, K. W., Bleiholder, H., Klöse, R., Meier, U., & Weber, E. (1994). Phänologische Entwicklungsstadien der Weinrebe (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*). Codierung und Beschreibung nach der erweiterten BBCH-Skala. *Wein-Wiss*, 49, 66–70.
- Mariani, L., Failla, O., Monte, G., Facchinetti, D. (2007). IPHEN: a model for real time production of grapevine phenological maps, in: Climate and Viticulture. Consejo de Agricultura y Alimentación de Gobierno del Aragón, pp. 272–278.
- Meier, U. (1997). Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. Blackwell Wissenschafts-Verlag.
- Moyer, M. M., Gadoury, D. M., Wilcox, W. F., & Seem, R. C. (2014). Release of *Erysiphe necator* Ascospores and Impact of Early Season Disease Pressure on *Vitis vinifera* Fruit

Capítulo 2

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

Eur J Plant Pathol

- Infection. *Am. J. Enol. Vitic. ajev.*, 2014, 13111–13324. <https://doi.org/10.5344/ajev.2014.13111>.
- OIV. (2015). Compendio de métodos internacionales de análisis de los vinos y mostos. OIV, ed. Paris.
- Oliveira, M., Guerner-Moreira, J., Mesquita, M. M., & Abreu, I. (2009). Important phytopathogenic airborne fungal spores in a rural area: incidence of *Botrytis cinerea* and *Oidium* spp. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 16, 197–204.
- Ortega-Farías, S. O., Lozano, P., Moreno, Y., & León, L. (2002). Desarrollo de modelos predictivos de fenología y evolución de madurez en vid para vino cv. Cabernet Sauvignon y Chardonnay. *Agric. Téc.*, 62, 27–37.
- Pedro Júnior, M.J., Sentelhas, P.C. (2003). Clima e produção. Uva Tecnol. Produção Pós-Colheita Merc. Porto Alegre Cinco Cont. 63–107.
- R Development Core Team. (2008). R: A language and environment for statistical computing R Foundation for Statistical Computing [WWW Document]. URL <http://www.r-project.org/> (Accessed 17 July 2017).
- Rodríguez-Rajo, F. J., Jato, V., Fernández-González, M., & Aira, M. J. (2010). The use of aerobiological methods for forecasting *Botrytis* spore concentrations in a vineyard. *Grana*, 49, 56–65. <https://doi.org/10.1080/00173130903472393>.
- Rossi, V., Caffi, T., Legler, S.E., 2010. Dynamics of Ascospore Maturation and Discharge in *Erysiphe necator*, the Causal Agent of Grape Powdery Mildew [WWW document]. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-05-10-0149>
- Rossi, V., Caffi, T., & Gobbin, D. (2013). Contribution of molecular studies to botanical epidemiology and disease modelling: grapevine downy mildew as a case-study. *European Journal of Plant Pathology*, 135, 641–654.
- Sadyś, M., Strzelczak, A., Grinn-Gofroń, A., & Kennedy, R. (2015). Application of redundancy analysis for aerobiological data. *International Journal of Biometeorology*, 59, 25–36. <https://doi.org/10.1007/s00484-014-0818-4>.
- Sousa, L., Camacho, I. C., Grinn-Gofroń, A., & Camacho, R. (2016). Monitoring of anamorphic fungal spores in Madeira region (Portugal), 2003–2008. *Aerobiologia*, 32, 303–315. <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9400-8>.
- West, J. S., & Kimber, R. B. E. (2015). Innovations in air sampling to detect plant pathogens. *The Annals of Applied Biology*, 166, 4–17. <https://doi.org/10.1111/aab.12191>.



7. Capítulo 3

Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum



Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum

Moisés Martínez-Bracero · Purificación Alcázar · María José Velasco-Jiménez · Carmen Galán

Received: 18 February 2019 / Accepted: 26 August 2019
© Springer Nature B.V. 2019

Abstract The impact of pollen grains as an allergenic factor is an important object of study. Various statistical analyses have been used to describe the behaviour of anemophilous plants, including certain Mediterranean cultivars (*Olea europaea*, *Vitis vinifera*, etc.). The main aims of this study are to define the pollen spectrum within an agricultural area and the effects of meteorological parameters and to examine whether Spearman's correlation and Redundancy Analysis (RDA) provide similar information. Aerobiological sampling was conducted using a Hirst-type volumetric spore trap from January 2015 to August 2018 in the Montilla mountains, in the south of the province of Córdoba, in an agricultural area close to a small city. In this location, the effect of ornamental plants is reduced and the cultivar effect becomes more important. Taking into account the average percentage for all years, the most abundant pollen types were *Olea*, *Quercus*, *Poaceae*, *Urticaceae*, *Urtica membranacea*, *Vitis*, *Plantago*, *Pinus* and *Amaranthaceae*. Due to the climatic characteristics of the study area, the meteorological parameters with most influence were temperature and dew point. The pollen spectrum in the study zone is caused by the agricultural use of

the land, increasing the concentrations of some allergenic pollen types and decreasing the diversity of airborne pollen types. The RDA analysis gives a better explanation of the complex relationship between meteorological parameters and airborne pollen release and dispersion compared with the Spearman's correlation.

Keywords Pollen · Agriculture · *Olea europaea* · *Vitis vinifera* · RDA

1 Introduction

Pollen allergy is increasing in Europe. The Mediterranean area has been described as having a prevalent distribution of certain plants with allergenic pollen, such as nettles, olive trees, grasses and cypress (D'Amato et al. 2007). Within cities, ornamental plants are described as one of the factors causing pollinosis. On the other hand, in rural areas anemophilous crops are among the allergenic pollen producers (Cariñanos and Casares-Porcel 2011; Velasco-Jiménez et al. 2014).

Meteorological parameters are one of the main variables affecting airborne pollen concentration. This relationship has been studied using various statistical analysis approaches, such as Spearman's correlation (Vega-Maray et al. 2003; Cariñanos et al. 2014; Maya-

M. Martínez-Bracero (✉) · P. Alcázar ·
M. J. Velasco-Jiménez · C. Galán
Department of Botany, Ecology and Plant Physiology,
University of Córdoba, Celestino Mutis Building, 3rd
Floor (C4) Rabanales Campus, 14071 Córdoba, Spain
e-mail: b52mabrm@uco.es

Manzano et al. 2016; Majeed et al. 2018; Oduber et al. 2019), circular analysis (Maya-Manzano et al. 2017) and regression models (Cariñanos et al. 2014; Tassan-Mazzocco et al. 2015; Maya-Manzano et al. 2016; Fernández-Rodríguez et al. 2018; Galera et al. 2018).

These different statistical analyses are based on pair relationships (the sum of relationships in models) between pollen and meteorological parameters. Nevertheless, ordination techniques, such as redundancy analysis, provide information on the relationships between several factors affecting airborne particles, like fungal spores (Sadyś et al. 2015; Grimm-Gofroñ et al. 2018) and pollen (Li et al. 2015; Qin et al. 2015).

Most of the previous studies were conducted in urban areas, showing the effect of the sampling location and the influence of ornamental plants (Alcázar et al. 1999; Velasco-Jiménez et al. 2013) and crops around the city (Oteros et al. 2015; Maya-Manzano et al. 2017) on airborne pollen concentrations.

Given the paucity of studies in rural areas, to study the effect of crops on the concentrations of allergenic pollen grains in these zones is of great importance. In this study, the sampler was located in an agricultural area close to a small city. In this location, the effect of ornamental plants can be reduced.

The main aims of this study are (1) to define the pollen spectrum within an agricultural area and the effect of crops on the pollen concentrations, (2) to study the effects of meteorological parameters on different pollen types and (3) to examine whether Spearman's correlation and Redundancy Analysis (RDA) provide similar information.

2 Materials and methods

The study was carried out in the Montilla mountains, in the south of the province of Córdoba, southern Spain. This area has a thermo-Mediterranean climate with hot, dry summers (average temperature 26.26 °C and total rainfall 29.32 mm) and temperate winters (average temperature 9.86 °C and total rainfall 209.13 mm) (data from Campbell-type station, Junta de Andalucía 2009–18).

Aerobiological sampling was conducted using a Hirst-type volumetric spore trap (Hirst 1952) from January 2015 to August 2018 in the 'Los Raigones' winery, the location of which is shown in Fig. 1.

Sampling and data analysis were performed in accordance with the standard protocol drawn up by the Spanish Aerobiology Network (REA) (Galán et al. 2007) and the minimum recommendations of the European Aeroallergen Network (EAN) (Galán et al. 2014). Pollen types accounting for at least 0.5% of the total pollen concentration were analysed, giving a total of nine pollen types. The start and end of the pollen season were taken as the days on which a specific daily pollen concentration (pollen grains/m³) was reached, as a function of flowering intensity and flowering behaviour (Velasco-Jiménez et al. 2013; Cebrino et al. 2016; Martínez-Bracero et al. 2018):

- *Olea* and *Quercus*: Start > 50 pollen grains/m³; end < 50 pollen grains/m³
- Poaceae: Start > 10 pollen grains/m³; end < 10 pollen grains/m³
- Urticaceae and *Urtica membranacea*: Start > 15 pollen grains/m³; end < 15 pollen grains/m³
- *Vitis*: Start = 5 pollen grain/m³ + 5 days with 5 or more pollen grains/m³; end = 5 pollen grain/m³ + 5 days with counts below this level
- Amaranthaceae, *Pinus*, *Plantago*: Start = 1 pollen grain/m³ + 5 days with one or more pollen grains/m³; end = 1 pollen grain/m³ + 5 days with counts below this level

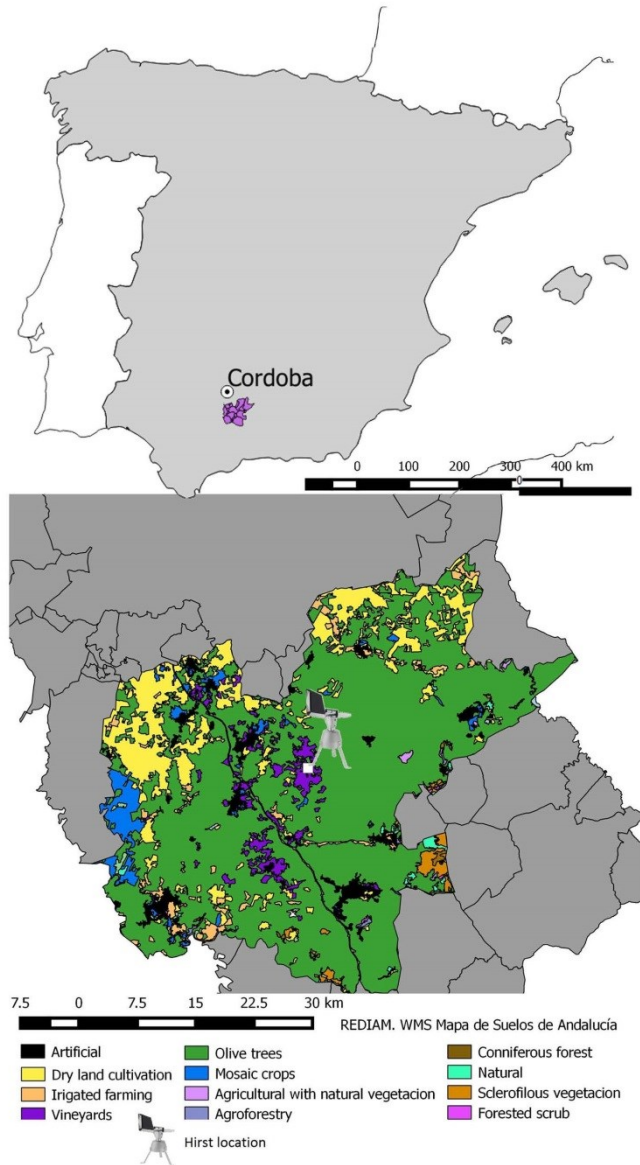
Weather data were obtained from a Campbell-type station located at a distance of 200 m from the Hirst-type volumetric sampler. The following weather-related parameters were measured continuously during the study period: daily maximum (TM), average (T) and minimum (Tm) temperature, rainfall (Rf), relative humidity (RH), solar radiation (SR), accumulated solar radiation (ASR) and dew point (DP). In order to compare different pollen behaviours in relation to weather parameters, the average temperatures and total rainfall of the previous spring and winter were calculated using all available data (2009–18).

Surface areas were calculated using the CORINE Land Cover data (Bossard et al. 2000) obtained from the National Geographic Information Centre, taking into account the area of the Montilla-Moriles Protected Designation of Origin.

Spearman's analyses were applied in order to test correlations between pollen concentration and weather-related variables. Significance was calculated for $p < 0.0001$, $p < 0.001$, $p < 0.01$ and $p < 0.05$.

Aerobiologia

Fig. 1 Montilla-Moriles
PDO land cover and sampler
location



Capítulo 3

Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum

To classify the concentrations of different pollen types and show their relationship with the meteorological parameters, statistical Redundancy Analysis (RDA) was performed using daily data, as recommended by Sadyś et al. (2015) for aerobiological analysis, and followed by other authors (Li et al. 2015; Qin et al. 2015). RDA has been used for obtaining information to explain the complicated relationship between the pollen concentration and meteorological parameters changing year to year. The analysis was carried out using the VEGAN package (Oksanen et al.

2019) in the R program (R Development Core Team 2008). RDA results were expressed graphically on biplots, where arrows represented meteorological parameters. The significance of the correlation between parameters was determined by the length of the arrows, longer arrows indicating stronger correlation (Braak 1986). Vector relationships (directly or inversely proportional) were identified by the position of pollen types in terms of arrow heads. The significance of axes in RDA was calculated using an ANOVA, and the variation explained by each is

Table 1 Annual pollen percentage and 4-year average of annual pollen integral

	2015	2016	2017	2018	APIn
<i>Olea</i>	75	65.75	72.67	74.84	55,981
<i>Quercus</i>	7.08	7.84	13.39	9.27	7211
Poaceae	2.52	7.13	2.45	3.94	2768
Urticaceae	3.9	5.82	1.73	2.5	2524
<i>Urtica membranacea</i>	1.08	2.21	2	0.93	1119
<i>Vitis</i>	1.26	1.53	1.67	1.52	1132
<i>Plantago</i>	0.5	1.61	0.79	1.16	710
<i>Pinus</i>	0.94	0.95	0.77	1.61	824
Amaranthaceae	0.6	0.97	0.84	0.64	577
Brassicaceae	0.37	0.33	0.38	0.31	272
<i>Fraxinus</i>	0.35	0.65	0.43	0.04	258
<i>Platanus</i>	0.28	0.24	0.13	0.08	139
<i>Populus</i>	0.27	0.23	0.11	0.07	129
Compositae	0.24	0.46	0.20	0.34	225
<i>Rumex</i>	0.24	0.55	0.15	0.36	228
Moraceae	0.22	0.32	0.38	0.06	182
Apiaceae	0.16	0.46	0.20	0.45	226
<i>Ulmus</i>	0.15	0.02	0.06	0.00	51
Myrtaceae	0.10	0.12	0.09	0.17	91
Cannabinaceae	0.10	0.10	0.06	0.08	66
<i>Artemisia</i>	0.10	0.08	0.02	0.02	41
<i>Castanea</i>	0.09	0.10	0.04	0.18	79
<i>Mercurialis</i>	0.09	0.32	0.10	0.14	109
Ericaceae	0.08	0.11	0.09	0.05	61
<i>Casuarina</i>	0.05	0.02	0.00	0.00	15
<i>Alnus</i>	0.04	0.07	0.05	0.01	31
Cyperaceae	0.04	0.11	0.03	0.07	43
Palmae	0.01	0.01	0.00	0.01	6
<i>Corylus</i>	0.01	0.00	0.05	0.03	19
<i>Heliantus</i>	0.00	0.04	0.00	0.04	13
Indeterminate	3.83	1.87	1.32	1.03	1650
Total annual integral	99,734	49,008	78,729	79,747	76,805
SUM	82.88	93.80	96.32	96.40	

SUM summation of percentage pollen types into study, APIn annual pollen integral

presented as a percentage of the total. The R software package (R Development Core Team 2008) was used for statistical analysis.

3 Results

The CORINE Land Cover data show that the principal land use in the Montilla-Moriles Protected Designation of Origin zone is agricultural, accounting for more than 98% of the total surface area (Fig. 1). The most important cultivar is olive trees, which occupy more than 77% of the total surface area, followed by nonirrigated cultivars, accounting for more than 15%, and irrigated cultivars, with around 3%; mosaic crops occupy more than 1% of the total surface area, and vineyards are present in 0.75%.

The highest pollen concentrations were found during spring. The average spring temperature is 18.12 °C and the total rainfall is 117.3 mm, while in winter, as already noted, the average temperature is 9.86 °C and the total rainfall 209.13 mm. The years 2015 and 2017 had hotter (19.50 °C and 19.75 °C,

respectively) and drier springs (89.20 and 109.00 mm, respectively), preceded by dry winters (84.00 and 134.00 mm, respectively), compared with the average. On the other hand, in 2017 the previous winter had also been hotter than average (11.76 °C). Moreover, 2016 and 2018 had wetter springs (218.00 mm and 132.00 mm, respectively); 2016 was notable for having the highest total rainfall. While the spring of 2016 had temperatures similar to the average (17.33 °C), in 2018 the spring was cooler (16.45 °C). The winter preceding the spring of 2016 was hotter than average (10.61 °C), while the winter preceding the spring of 2018 was notable for higher rainfall (387.20 mm).

In this study, as mentioned before, only pollen types representing more than 0.5% of the total pollen were considered. They accounted for more than 92% of the total identified pollen (Table 1). The most abundant pollen types, from higher to lower pollen concentrations, relative to the average percentage for all years, were *Olea*, *Quercus*, Poaceae, Urticaceae, *Urtica membranacea*, *Vitis*, *Plantago*, *Pinus* and Amaranthaceae. The pollen season of these pollen types lasted

Table 2 Pollen season characteristic of the main pollen types

	<i>Olea</i>	<i>Quercus</i>	Poaceae	<i>Urtica membranacea</i>	Urticaceae	<i>Vitis</i>	<i>Plantago</i>	<i>Pinus</i>	Amaranthaceae
2015									
Start	24 April	29 March	29 April	27 February	25 January	30 April	25 March	11 March	4 April
End	14 June	31 May	10 June	23 April	10 June	17 June	29 May	19 June	26 September
PD	10 May	2 May	9 May	10 April	4 April	12 May	1 May	2 May	24 April
PC	12,780	634	371	125	273	94	59	127	33
2016									
Start	27 April	30 March	27 April	11 February	21 January	14 May	28 March	23 April	14 April
End	25 June	11 June	9 July	29 April	5-May	9 June	27 June	23 June	8 July
PD	18 May	5 May	11 June	25 March	27 April	18 May	28 April	5 May	10 June
PC	3531	316	324	40	250	50	29	85	17
2017									
Start	15 April	29 March	7 April	21 March	30 January	1 May	19 March	17 March	10 April
End	2 June	18 May	5 June	18 April	11 April	7 June	15 June	22 June	24 September
PD	15 May	15 April	18 May	11 April	6 April	15 May	18 April	19 April	23 May
PC	5488	1331	104	204	72	117	33	77	15
2018									
Start	8 May	22 April	2 May	12 April	23 March	11 May	1 April	1 April	13 April
End	6 July	18 May	13 July	20 June	9 July	24 June	6 July	20 July	27 August
PD	24 May	28 April	2 June	11 May	15 April	2 June	14 May	12 May	11 May
PC	6623	546	217	35	393	47	64	105	20

PD peak day, PC peak concentration

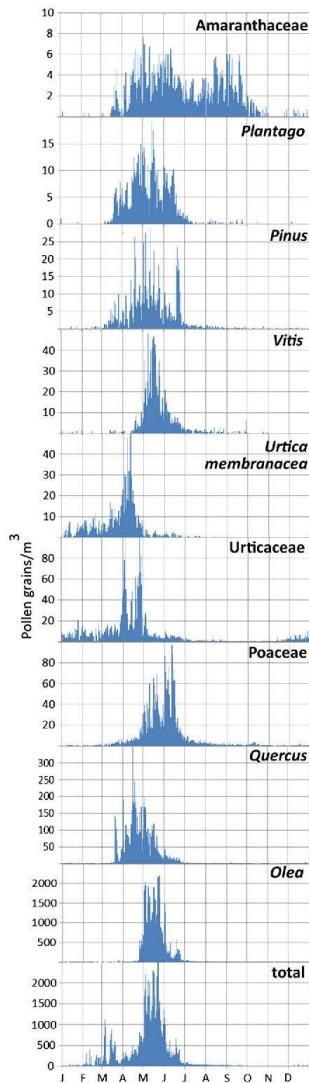


Fig. 2 Four-year daily average pollen concentration

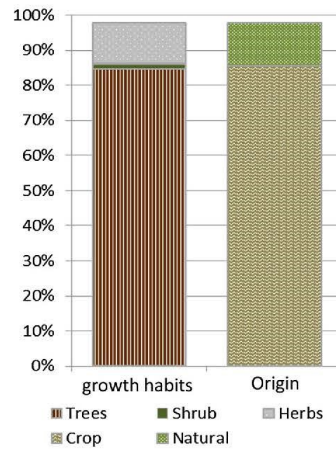


Fig. 3 Pollen classified by growth habits and natural or crop

from the end of January (starting with Urticaceae) until September (finishing with Amaranthaceae), with the highest airborne pollen concentrations occurring between the end of March and the end of May (Table 2, Fig. 2).

The studied pollen types came from plants with different growth habits: the most represented were trees, followed by herbs and shrubs (Fig. 3). On the other hand, in terms of the natural or cultivated origin of pollen grains, crops accounted for a higher percentage of the total concentration.

Spearman's correlations reveal the differences between years in plant behaviour affecting airborne pollen concentrations (Table 3). Temperature and dew point were the most significant factors, showing a positive correlation with all pollen types, except Urticaceae, *Urtica membranacea* and, during 2015, also *Vitis*. Relative humidity affected pollen concentrations in the opposite way to temperature. Solar radiation, when significant, was positively correlated with all pollen types; however, this relationship was significantly negative for Urticaceae during 2015 and for *Urtica membranacea* during 2017. Rainfall had a generally negative correlation with pollen concentrations, with higher values in the rainiest years. Rainfall was most significantly correlated with *Olea* and Amaranthaceae; in the case of *Vitis*, this correlation was significant in the rainiest years, and for Urticaceae

Table 3 Spearman's correlations between pollen concentrations and daily meteorological parameters

	<i>Olea</i>	<i>Quercus</i>	Poaceae	<i>U. membranacea</i>	Urticaceae	<i>Vitis</i>	<i>Plantago</i>	<i>Pinus</i>	Amaranthaceae
2016	T	0.578****	0.3603****	-0.2433****	-0.4595****	-0.5115****	-	0.1876***	0.4929****
	Tm	0.579****	0.3633****	-0.2532****	-0.5019****	-0.5155****	-	0.1763**	0.5078****
	Tn	0.533****	0.2973****	-0.2861****	-0.5318****	-0.5318****	-	0.1113*	0.4865****
	Rf	-0.227****	-0.1145*	0.1341*	0.0851	0.0851	-	-	-
	RH	-0.534****	-0.1491**	-0.3496****	0.2314****	0.2373*	-0.1213*	-0.2416****	-0.3756****
	SR	0.503****	0.2594****	0.4933****	-0.1531**	-0.1643*	0.3361****	0.427****	0.5128****
	ASR	0.177**	-0.2017****	-0.2464****	-0.6674****	-0.4407****	-0.4512****	-0.4041****	-0.1886***
	DP	0.186****	-	-	-0.2174****	-0.3308****	-	-	0.3079****
	TM	0.521****	0.1217*	0.4277****	-0.5302****	-0.3127****	0.1942****	0.1673**	0.5693****
	Tn	0.547****	0.1306*	0.4245****	-0.1729**	-0.2381****	0.2913****	0.1553**	0.5691****
2017	tm	0.500****	0.366****	-0.2115****	-0.3808****	0.2427****	0.1287*	0.5194****	0.5194****
	Rf	-0.255****	-0.2314****	-	0.1215*	-0.1678**	-	-	-0.3052****
	RH	-0.508****	-0.1963****	-0.4616****	0.1752**	-0.3134****	-0.2335****	-0.2399****	-0.5683****
	SR	0.581****	0.3336****	0.6015****	0.113*	0.4784****	0.4521****	0.3872****	0.6162****
	ASR	-0.256****	-0.4352****	-0.2226****	-	-0.1912****	-0.3084****	-0.2703****	-
	DP	0.307****	-	0.1838****	-0.56****	-	-	-	0.2782****
	TM	0.571****	0.1669**	0.4171****	-0.2515****	0.2848****	0.2033****	-	0.5834****
	T	0.584****	0.1651**	0.4227****	-0.12*	-0.2796****	0.2004****	-	0.6016****
	Tm	0.565****	0.1185*	0.3692****	-0.1919****	0.2989****	0.2004****	-	0.5907****
	Rf	-0.205****	-	-0.1278*	-	0.2814****	0.1458**	-	0.1746****
2018	RH	-0.426****	-0.127*	-0.3679****	0.1296*	-0.206****	-0.1892****	-	-0.4533****
	SR	0.640****	0.3749****	0.582****	0.1491**	0.49****	0.4757****	0.3592****	0.546****
	ASR	-	-0.2916****	-0.1971****	-0.549****	-	-0.2804****	-	-
	DP	0.469****	0.1121*	0.2586****	-	0.609****	0.1141*	-	0.4433****
	TM	0.275****	-0.2205**	0.067	-0.2182****	-0.1819****	-	-	0.4715****
	T	0.284****	-0.2174****	0.0781	-0.4871****	0.952****	-0.3303****	-0.2324**	0.4795****
	Tm	0.280****	-0.2441**	0.0622	-0.414****	0.9403****	-0.3326****	-0.2347**	0.4983****
	Rf	-0.230**	-0.0495	-0.224**	0.0134	-0.0186	-0.0403	0.0031	-0.3872****
	RH	-0.212**	0.1573*	-0.0931	0.3837****	0.2783****	0.2323**	0.1776*	-0.3338****
	ASR	0.311****	-0.3394****	0.0582	-0.2177**	-0.1339	-0.4205****	-0.0445	0.3202****
DP	0.283****	-	-	-0.6467****	0.7731****	-	-	0.511****	
				-0.3495****	0.4191****	-0.2286**	-	0.4819****	

Maximum temperature (TM), average temperature (T), minimum temperature (Tn), rainfall (Rf), relative humidity (RH), solar radiation (SR), accumulated solar radiation (ASR) and dew point (DP)

Signif. codes: **** < 0.0001 *** 0.001 ** 0.01 * 0.05

Capítulo 3

Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum

and *Urtica membranacea*, the correlation, when significant, was positive. Accumulated solar radiation usually affected pollen concentration negatively, though in spite of this the relationship with *Olea* was significantly positive in 2015 and 2018; during 2018, the correlation was also significantly positive for *Vitis* and *Amaranthaceae*.

The first and second RDA axes explain 68.81% and 22.78% of the total variance, respectively, in 2015, 75.37% and 17.44% in 2016, 76.94% and 21.09% in 2017 and 85.55% and 11.56% in 2018. In all cases, the accumulated proportion of the explained variance gradually increased from 91.59% to 97.11%. The ANOVA test indicated that the first two RDA axes exceeded the threshold of statistical significance with a *p* value < 0.001 in all studied years (Table 4).

The RDA was performed for each year of study individually, and the results are explained below (Fig. 4). According to the length of the arrows, the meteorological parameters can be classified in the following order of importance: accumulated solar radiation, relative humidity, dew point and rainfall (for the years 2015–17). It is remarkable that in 2018 solar radiation appears as an important factor. In order to

better explain the relationship between pollen types and meteorological parameters, pollen types have been grouped in the following categories: late winter (*Urticaceae* and *Urtica membranacea*), early spring (*Quercus*, *Pinus* and *Plantago*), spring (*Olea*, *Poaceae* and *Vitis*) and summer (*Amaranthaceae*).

The late winter pollen types are negatively related to accumulated solar radiation and positively related to relative humidity and rainfall. In 2018, the effect of rainfall on late winter pollen types was negative. Early spring pollen types are negatively related to relative humidity and accumulated solar radiation. Spring pollen types are negative related to relative humidity and positively related to dew point, except in 2018, when the relationship with dew point was negative. And for summer pollen types the most important factor affecting pollen concentration was dew point.

4 Discussion

Most of the important pollen types in the study have been described as allergenic (D’Amato et al. 2007). Some previous studies have shown the importance of the areas surrounding the sampler affecting the airborne pollen concentration (Oteros et al. 2015; Maya-Manzano et al. 2017) and the influence of meteorological parameters (Oduber et al. 2019). There have also been previous studies of the pollen spectrum in other parts of Córdoba province (García-Mozo et al. 2007), showing a higher diversity of pollen types. Urban allergenic ornamental flora are one of the factors causing pollinosis in cities, as previous studies have shown (Cariñanos and Casares-Porcel 2011; Velasco-Jiménez et al. 2014), but in this study ornamental flora have not been found to be important airborne pollen types. The number of pollen types accounting for more than 0.5% is lower than in previous studies with a threshold of 1%, such as the pollen calendar produced for Andalusia (Martínez-Bracero et al. 2015); however, those pollen types represent more than 90% of the pollen spectrum of the studied area. These differences are mainly due to the greater presence of *Olea* pollen, highlighting the importance of the sampling location.

The total annual pollen integral (APIn) was higher than that presented in other studies in other rural areas (Ribeiro et al. 2017; García-Mozo et al. 2007), but some studies have found higher pollen concentrations

Table 4 Results of the ANOVA forward tests for axes

	ANOVA			
	Df	Variance	F	Pr(> F)
2015				
RDA1	1	0.5566	28.3743	<0.001***
RDA2	1	0.1843	9.3943	<0.001***
Residual	360	7.0621		
2016				
RDA1	1	0.6415	29.3813	<0.001***
RDA2	1	0.208	9.5274	<0.001***
Residual	360	7.8824		
2017				
RDA1	1	0.6349	28.5101	<0.001***
RDA2	1	0.2269	10.1905	<0.001***
Residual	360	8.0174		
2018				
RDA1	1	2.1315	35.036	<0.001***
RDA2	1	0.288	4.7335	<0.001***
Residual	124	7.5437		

Signif. codes: 0 ‘***’ 0.001 ‘**’ 0.01 ‘*’ 0.05 ‘.’ 0.1 ‘.’ 1

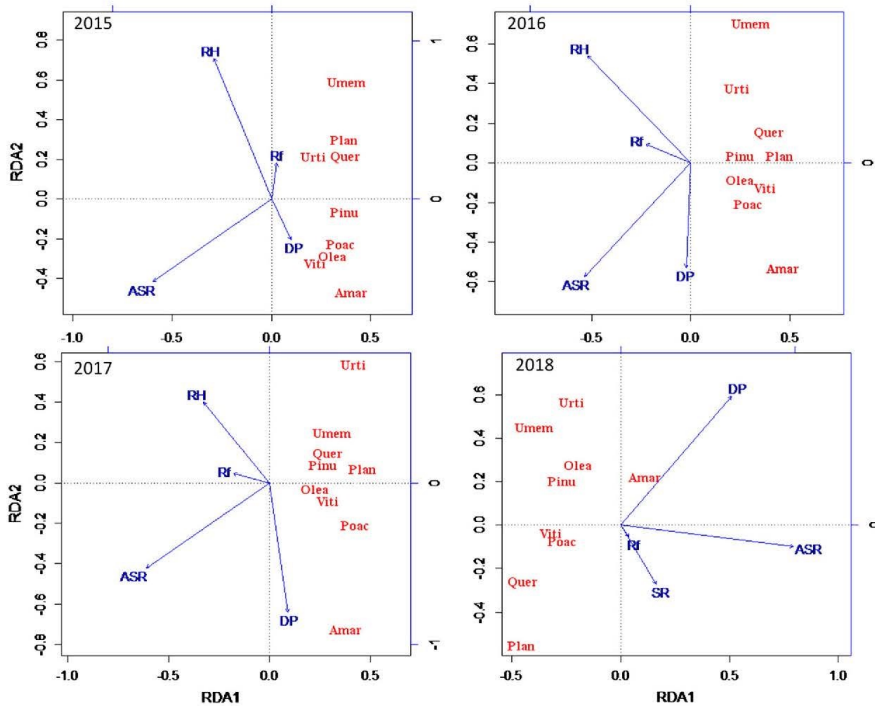


Fig. 4 RDA analysis. RH: relative humidity, Rf: rainfall, SR: solar radiation, ASR: accumulated solar radiation. Amar: Amaranthaceae, Olea: *Olea europaea*, Pinu: *Pinus*, Plan:

Plantago, Poac: Poaceae, Quer: *Quercus*, Urti: Urticaceae, Umem: *Urtica membranacea*, Viti: *Vitis vinifera*

from herbaceous plants (Kruczek et al. 2017). Most of the pollen types presented in this study have been identified as important in previous studies in Córdoba province (García-Mozo et al. 2007; Cariñanos et al. 2000), as well as in other parts of Andalusia (García-Mozo et al. 2007; Ribeiro et al. 2017) and of Spain (Rojo et al. 2016). The presence of the *Vitis* pollen has not usually been shown in previous aerobiological studies, but in Portugal (Ribeiro et al. 2003) it has been presented as an important pollen with a similar percentage of the total airborne pollen, showing the importance of this cultivar in both areas.

These results show that in the driest years, rainfall had less correlation with the pollen concentration,

except with *Olea* and Amaranthaceae pollen, flowering from late spring to summer. In the rainiest years, rainfall causes a ‘washing-off’ effect in the atmosphere, decreasing pollen concentrations (Maya-Manzano et al. 2016; Galán et al. 1991). This effect is not clear for the Urticaceae, *Urtica membranacea* and *Vitis* pollen types, in which this factor had a positive effect, as it was observed in places with similar weather conditions (Galán et al. 2000), but not in wetter and colder locations (Vega-Maray et al. 2003; Fernández-González et al. 2013). Temperature has a positive effect in relation to airborne pollen concentration, as has been shown in previous papers for *Olea* (Vázquez et al. 2003), Poaceae (Fernández-Rodríguez

et al. 2018), *Pinus* (Velasco-Jiménez et al. 2017), *Quercus* (Maya-Manzano et al. 2016; Recio et al. 2018), Amaranthaceae (Cariñanos et al. 2014) and *Vitis* (Fernández-González et al. 2013).

Interannual meteorological changes cause discrepancies in the Spearman's correlations which were not shown in the RDA analysis. Thus, variance in the airborne pollen concentration is related to more than one parameter, revealing the overall influence of meteorological parameters on pollen release and dispersion (Li et al. 2015; Qin et al. 2015). It has also been shown in fungal spore concentration (Sadyś et al. 2015; Grinn-Gofroń et al. 2018). The importance of the meteorological parameters selected for the RDA analysis has been shown in previous studies. Solar radiation has been described as a factor exerting different effects depending on the taxa (Majeed et al. 2018). Rainfall and relative humidity have negative correlation with the pollen concentration, i.e. in *Quercus* (Recio et al. 2018), differing from the RDA results in this study. Differences in the RDA results in 2018 could be explained by the wet and cold spring preceded by a wet and cold winter. The importance of the RDA analysis is that the relationship of all the pollen types with meteorological parameters is shown in a single view, omitting the correlation between related parameters and providing information not only about how the parameters affect the pollen concentration but also defining the most characteristic meteorological parameters during each pollen season.

5 Conclusions

The pollen spectrum in the study zone is caused by the agricultural use of the land, increasing the concentrations of some allergenic pollen types and decreasing the diversity of airborne pollen types. The high concentrations of *Olea* and the presence of *Vitis* as important airborne pollen types are examples of this. The RDA analysis provides a better explanation of the complex relationship between meteorological parameters and airborne pollen release and dispersion compared with the Spearman's correlation.

References

- Alcázar, P., Galán, C., Cariñanos, P., & Domínguez-Vilches, E. (1999). Diurnal variation of airborne pollen at two different heights. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 9, 89–95.
- Bossard M, Feranec J, Otahel J (2000) CORINE land cover technical guide: Addendum 2000.
- Braak, C. J. F. T. (1986). Canonical correspondence analysis: A new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology*, 67, 1167–1179. <https://doi.org/10.2307/1938672>.
- Cariñanos, P., Alcázar, P., Galán, C., & Domínguez, E. (2014). Environmental behaviour of airborne Amaranthaceae pollen in the southern part of the Iberian Peninsula, and its role in future climate scenarios. *Science of the Total Environment*, 470, 480–487.
- Cariñanos, P., & Casares-Porcel, M. (2011). Urban green zones and related pollen allergy: A review. Some guidelines for designing spaces with low allergy impact. *Landscape and Urban Planning*, 101, 205–214.
- Cariñanos, P., Galán, C., Alcázar, P., & Domínguez, E. (2000). Aerobiología en Andalucía: estación de Córdoba (1999). *Rea*, 6, 19–22.
- Cebrino, J., Galán, C., & Domínguez-Vilches, E. (2016). Aerobiological and phenological study of the main Poaceae species in Córdoba City (Spain) and the surrounding hills. *Aerobiología*, 32, 595–606.
- D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., et al. (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62, 976–990.
- Fernández-González, M., Rodríguez-Rajo, F. J., Escuredo, O., & Aira, M. J. (2013). Influence of thermal requirement in the aerobiological and phenological behavior of two grapevine varieties. *Aerobiología*, 29, 523–535. <https://doi.org/10.1007/s10453-013-9302-6>.
- Fernández-Rodríguez, S., Durán-Barroso, P., Silva-Palacios, I., et al. (2018). Environmental assessment of allergenic risk provoked by airborne grass pollen through forecast model in a Mediterranean region. *Journal of Cleaner Production*, 176, 1304–1315.
- Galán, C., Alcázar, P., Cariñanos, P., et al. (2000). Meteorological factors affecting daily Urticaceae pollen counts in southwest Spain. *International Journal of Biometeorology*, 43, 191–195.
- Galán C, González PC, Teno PA, Vilches ED (2007) Spanish Aerobiology Network (REA): Management and quality manual.
- Galán, C., Smith, M., Thibaudon, M., et al. (2014). Pollen monitoring: Minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiología*, 30, 385–395. <https://doi.org/10.1007/s10453-014-9335-5>.
- Galán, C., Tormo, R., Cuevas, J., et al. (1991). Theoretical daily variation patterns of airborne pollen in the southwest of Spain. *Grana*, 30, 201–209.
- Galera, M., Elvira-Rendueles, B., Moreno, J., et al. (2018). Analysis of airborne *Olea* pollen in Cartagena (Spain). *Science of the Total Environment*, 622, 436–445.
- García-Mozo, H., Domínguez-Vilches, E., & Galán, C. (2007). Airborne allergenic pollen in natural areas: Hornachuelos

- Natural Park, Cordoba, southern Spain. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14, 63.
- Grinn-Gofroń, A., Bosiacka, B., Bednarz, A., & Wolski, T. (2018). A comparative study of hourly and daily relationships between selected meteorological parameters and airborne fungal spore composition. *Aerobiologia*, 34, 45–54.
- Hirst, J. M. (1952). An Automatic Volumetric Spore Trap. *Annals of Applied Biology*, 39, 257–265. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1952.tb00904.x>.
- Kruczek, A., Puc, M., & Wolski, T. (2017). Airborne pollen from allergenic herbaceous plants in urban and rural areas of Western Pomerania, NW Poland. *Grana*, 56, 71–80.
- Li, Y., Ge, Y., Xu, Q., et al. (2015). Airborne pollen assemblages and weather regime in the central-eastern Loess Plateau, China. *Atmospheric Environment*, 106, 92–99.
- Majeed, H. T., Periago, C., Alarcón, M., & Belmonte, J. (2018). Airborne pollen parameters and their relationship with meteorological variables in NE Iberian Peninsula. *Aerobiologia*, 34, 375–388.
- Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., de la Guardia, C. D., et al. (2015). Pollen calendars: A guide to common airborne pollen in Andalusia. *Aerobiologia*, 31, 549–557. <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9385-3>.
- Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., Velasco-Jiménez, M. J., et al. (2018). Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain. *The Journal of Agricultural Science*. <https://doi.org/10.1017/S0021859618000783>.
- Maya-Manzano, J. M., Fernández-Rodríguez, S., Smith, M., et al. (2016). Airborne Quercus pollen in SW Spain: Identifying favourable conditions for atmospheric transport and potential source areas. *Science of the Total Environment*, 571, 1037–1047.
- Maya-Manzano, J., Sadyś, M., Tormo-Molina, R., et al. (2017). Relationships between airborne pollen grains, wind direction and land cover using GIS and circular statistics. *Science of the Total Environment*, 584, 603–613.
- Oduber, F., Calvo, A., Blanco-Alegre, C., et al. (2019). Links between recent trends in airborne pollen concentration, meteorological parameters and air pollutants. *Agricultural and Forest Meteorology*, 264, 16–26.
- Oksanen J, Blanchet FG, Friendly M, et al (2019) Package ‘vegan’.
- Oteros, J., García-Mozo, H., Alcázar, P., et al. (2015). A new method for determining the sources of airborne particles. *Journal of Environmental Management*, 155, 212–218.
- Qin, F., Wang, Y.-F., Ferguson, D. K., et al. (2015). Utility of surface pollen assemblages to delimit eastern Eurasian steppe types. *PLoS ONE*, 10, e0119412.
- R Development Core Team (2008) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. <http://www.r-project.org/>.
- Recio, M., Picornell, A., Trigo, M., et al. (2018). Intensity and temporality of airborne Quercus pollen in the southwest Mediterranean area: Correlation with meteorological and phenoclimatic variables, trends and possible adaptation to climate change. *Agricultural and Forest Meteorology*, 250, 308–318.
- Ribeiro, H., Abreu, I., & Cunha, M. (2017). Olive crop-yield forecasting based on airborne pollen in a region where the olive groves acreage and crop system changed drastically. *Aerobiologia*, 33, 473–480.
- Ribeiro, H., Cunha, M., & Abreu, I. (2003). Airborne pollen concentration in the region of Braga, Portugal, and its relationship with meteorological parameters. *Aerobiologia*, 19, 21–27.
- Rojo, J., Rapp, A., Lara, B., et al. (2016). Characterisation of the airborne pollen spectrum in Guadalajara (central Spain) and estimation of the potential allergy risk. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188, 130.
- Sadyś, M., Strzelczak, A., Grinn-Gofroń, A., & Kennedy, R. (2015). Application of redundancy analysis for aerobiological data. *International Journal of Biometeorology*, 59, 25–36. <https://doi.org/10.1007/s00484-014-0818-4>.
- Tassan-Mazzocco, F., Felluga, A., & Verardo, P. (2015). Prediction of wind-carried Gramineae and Urticaceae pollen occurrence in the Friuli Venezia Giulia region (Italy). *Aerobiologia*, 31, 559–574.
- Vázquez, L., Galán, C., & Domínguez-Vilches, E. (2003). Influence of meteorological parameters on olea pollen concentrations in Córdoba (South-western Spain). *International Journal of Biometeorology*, 48, 83–90.
- Vega-Maray, A. M., Valencia-Barrera, R. M., Fernandez-Gonzalez, D., & Fraile, R. (2003). Urticaceae pollen concentration in the atmosphere of north-western Spain. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 10, 249–256.
- Velasco-Jiménez, M., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E., & Galán, C. (2013). Comparative study of airborne pollen counts located in different areas of the city of Córdoba (south-western Spain). *Aerobiologia*, 29, 113–120.
- Velasco-Jiménez, M. J., Alcázar, P., Valenzuela, L. R., et al. (2017). Pinus pollen season trend in South Spain. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1311962>.
- Velasco-Jiménez, M., Alcázar, P., Valle, A., et al. (2014). Aerobiological and ecological study of the potentially allergenic ornamental plants in south Spain. *Aerobiologia*, 30, 91–101.

Capítulo 3

Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum



8. Discusión

8. Discusión General

Esta tesis se ha centrado en el estudio del comportamiento fenológico de *Vitis vinifera* subsp. *vinifera*, así como de las concentraciones de granos de polen y esporas de hongos presentes en el aire teniendo en cuenta los principales hongos causantes de enfermedad en la vid (*Uncinula necator*, *Botrytis cinerea* y *Plasmopara viticola*). Aunque en la provincia de Córdoba se han realizado diversos estudios aerobiológicos y fenológicos, en distintas especies, tanto silvestres como cultivadas (Cebrino et al., 2016; García-Mozo et al., 2008; Oteros et al., 2014), hasta ahora estos estudios no se habían enfocado en la vid en el sur de España. Investigaciones fenológicas sobre la vid se han realizado con anterioridad tanto en el noroeste de la península ibérica como en el centro de Europa, Italia y Grecia (Fernández-González et al., 2013a; Parker et al., 2013). Se han comparado diversas variedades de vid a nivel Europeo (Parker et al., 2013, 2011), no llegándose a incluir la península ibérica. De las cuatro variedades estudiadas en la presente tesis, sólo dos han sido estudiadas previamente (Fernández-González et al., 2013b; Gris et al., 2010; Jones and Davis, 2000; Sato et al., 2011).

En cuanto a la fenología (capítulos I y II), durante el periodo de estudio (2015-2017), los ciclos fenológicos se han visto acortado en años con condiciones climáticas más cálidas y alargados en años más fríos, coincidiendo con estudios anteriores (Fernández-González et al., 2013a; Pedro Júnior and Sentelhas, 2003). La variedad con un ciclo más corto fue Moscatel de grano menudo, con una media de entre 125 y 147 días, teniendo un ciclo de vida promedio similar a los encontrados en regiones subtropicales para Cabernet Sauvignon (130 días) y Tannat (131 días) (Sato et al., 2011). La siguiente variedad en base a la longitud de ciclo de vida fue Chardonnay con entre 137 y 167 días, seguida por Verdejo con entre 133 y 172 y, por último, Pedro Ximénez con entre 146 y 170 días. Estos ciclos, pese a ser superiores a los encontrados en el sur de Brasil (Sato et al. 2011), son inferiores a los que se encontraron para Cabernet Frank, Merlot Sanginovense y Sirah (191 días) en las montañas de Brasil (Gris et al., 2010) y para

Discusión

Treixadura y Godello (193 días) en Galicia (Fernández-González et al., 2013a).

Los estadios fenológicos con mayor duración fueron la formación del fruto, con duración entre los 30 y 49 días, y la maduración de frutos, con duración de entre 27 y 49 días. Estas amplitudes fenológicas son más prolongadas que las de estudios anteriores en Galicia (Fernández-González et al., 2012; Fernández-González et al., 2013a). El estadio más corto fue la floración, con entre 4 y 14 días. Estos datos coinciden con los encontrados en estudios en Galicia (Fernández-González et al., 2012; Fernández-González et al., 2013b).

Teniendo en cuenta el periodo de floración, la variedad más temprana fue Chardonnay, seguida por Verdejo, Moscatel de Grano Menudo y, por último, Pedro Ximénez. Estos resultados difieren de los encontrados en otras zonas de Europa, ya que en su clasificación de diversas variedades vitícolas por su floración mostró que Moscatel de Grano Menudo florecía con anterioridad a Chardonnay (Parker et al., 2013). Esta discrepancia puede ser debida a las diferencias climáticas entre la campiña cordobesa y los distintos puntos de muestreo utilizados en otros lugares de Europa, con datos de Chardonnay y Moscatel de Grano Menudo de Francia (Parker et al., 2013, 2011), siendo estos clasificados como de “floración temprana”. Estas variedades, junto con Verdejo y Pedro Ximénez, florecieron en torno al 15 de mayo; siendo anteriores a las de Galicia (Fernández-González et al., 2013b), que ocurrieron a finales de mayo y principios de junio y fueron clasificadas como “variedades tardías”. Teniendo en cuenta estas clasificaciones, las variedades del presente estudio pueden ser clasificadas como “variedades tempranas”.

En el capítulo II se muestra como las distintas esporas de hongos estudiados estudio presentaron un porcentaje similar durante distintos años de estudio (2015-2017). *U. necator* fue la que presentaba un mayor porcentaje en la concentración de esporas total, seguida por *B. cinerea* y *P. viticola*. Esta abundancia difiere de estudios anteriores en los que *B. cinerea* ha sido la espora predominante en viñedos de Ourense (Díaz et al., 1998; Fernández-González et al., 2009). Así mismo, las concentraciones detectadas de *B. cinerea* fueron inferiores a

las encontradas anteriormente en Galicia (Fernández-Gonzalez et al., 2009; Fernández-González et al., 2013a; Fernández-González, M. et al., 2012; Rodríguez-Rajo et al., 2010), posiblemente debido a la menor humedad ambiental y precipitación de la DOP Montilla-Moriles, contando ésta con una mayor superficie de cultivo de vid (6001Ha) que la DOP Ribeiro (Galicia, 2646 Ha).

Para *U. necator*, las concentraciones de conidios totales anuales fueron similares a las encontradas en otras partes de España, aunque las concentraciones diarias fueron inferiores (Fernández-González et al., 2013a; Holb and Füzi, 2016). Las máximas concentraciones de estas esporas se registraron en el presente estudio entre la brotación y la floración de la vid, esto confirma los resultados obtenidos previamente en viñedos de Italia (Rossi et al., 2010). En cuanto a las conidiosporas, varios autores han destacado la sincronización de su dispersión y ciertas etapas fenológicas en diversas áreas bioclimáticas (Cortesi et al., 1997; Gee et al., 2000; Grove, 2007; Fernández-González et al., 2013), tal y como se ha observado en la presente tesis. Los estudios sobre la dispersión de ascosporas de cleistotecios hibernados antes de la ruptura de la yema (Moyer et al., 2014) indican que el período crítico ocurre entre la brotación y la formación del fruto (estadios principales 0 a 7) (Campbell et al., 2007, Fernández-González et al., 2013, Gadoury et al., 2007). Aunque la temperatura y la precipitación se han identificado como las variables que más se correlacionan con las concentraciones de esporas de *U. necator* (Fernández-González et al., 2013; Holb y Füzi, 2016), en el presente estudio, las correlaciones con estos parámetros siempre fueron negativas aunque no significativas estadísticamente.

Tanto la concentración total anual de esporas de *B. cinerea* como las concentraciones máximas diarias fueron inferiores a las registradas en otros lugares como el norte de Portugal y Galicia (Oliveira et al., 2009; Rodríguez-Rajo et al., 2010; Fernandez-Gonzalez et al., 2012). Cabe destacar que las concentraciones máximas de esporas fueron más altas que las registradas en Madeira donde no se encontraban asociadas con el viñedo (Sousa et al., 2016). Los parámetros meteorológicos que más afectaron a las concentraciones de esporas de *B. cinerea* fueron el punto de rocío y la temperatura promedio; estos hallazgos no coinciden con

Discusión

los resultados obtenidos en el norte de España (Rodríguez-Rajo et al., 2010), donde la humedad fue la variable que más se correlacionó con las concentraciones de esporas. La sincronización entre la fenología de la vid con la dispersión de esporas de *B. cinerea* se ha destacado en varias regiones, incluida Galicia (Rodríguez-Rajo et al., 2010; Fernandez-Gonzalez et al., 2012). En el presente estudio se observaron mayores concentraciones de esporas de hongos durante los estadios de desarrollo de hojas, aparición del órgano floral, y floración (estadios 1, 5 y 6); otros autores también registraron concentraciones máximas en su mayoría durante la aparición del órgano floral (Fernández-González et al., 2009, 2012; Rodríguez-Rajo et al., 2010).

La concentración total anual de esporangios de *P. viticola* y las concentraciones máximas diarias de esporas también fueron más bajas que las detectadas en otros lugares, como Galicia (Fernández-Gonzalez et al., 2009). La mayor correlación entre *P. viticola* y los parámetros meteorológicos refleja los requisitos de temperatura y precipitación para la esporulación (Goidanich et al., 1957). En la DOP Montilla-Moriles, debido a la sensibilidad a la sequedad de los esporangios de *P. viticola*, la humedad y el punto de rocío fueron los factores que más influyeron en la esporulación ya de que la precipitación fue escasa durante el ciclo de vida de la vid. Las temperaturas críticas fueron similares a las encontradas en un estudio realizado en viñedos de Italia (Rossi et al., 2013).

Para estudiar la posible relación de los estadios fenológicos con la concentración de esporas de los hongos estudiados se realizaron árboles de decisión, incluyendo los distintos estadios como factores. Estos árboles de decisión mostraron una alta correlación con la fenología, este hallazgo fue observado también en otras áreas geográficas, como Chile e Italia (Ortega-Farías et al., 2002; Mariani et al., 2007). Las concentraciones más altas se registraron durante las etapas previas a la floración (estadios generales 1 a 5), un resultado no observado en el norte de España (Fernández-González et al., 2009). *P. viticola* es sensible a la sequedad, muriendo rápidamente al reducirse la disponibilidad de agua; estas esporas también se ven afectadas por las temperaturas después de la floración (Kiefer et al., 2002).

Debido a la menor precipitación y las temperaturas más altas en la DOP Montilla-Moriles, los árboles de decisión muestran que las concentraciones de esporas generalmente se correlacionaron principalmente con la fenología, siendo la lluvia el parámetro meteorológico con una correlación significativa más alta, superando el 95% de significancia.

El espectro polínico de Montilla-Moriles se ha presentado en los capítulos I y III. La mayoría de los tipos polínicos que superan el 0,5% de la concentración anual de granos de polen en este estudio han sido descritos como alergénicos con anterioridad (D'Amato et al., 2007). Estudios previos han demostrado la importancia de las áreas circundantes a la localización del captador, y como afectan a la concentración de polen en el aire (Oteros et al., 2015; Maya-Manzano et al., 2017), así como la influencia de los parámetros meteorológicos (Oduber et al., 2019). Otros estudios previos sobre el contenido de polen en el aire se realizaron en zonas con vegetación natural de la provincia de Córdoba, como Hornachuelos (García-Mozo et al., 2007), mostrando una mayor diversidad de tipos polínicos. La flora ornamental con polen alergénico en la ciudad es una de las causas de polinosis como han demostrado estudios anteriores (Cariñanos y Casares-Porcel, 2011; Velasco-Jiménez et al., 2014). Sin embargo, en este estudio no se ha registrado concentraciones elevadas de granos de polen procedente de plantas ornamentales, ya que en la zona de estudio la agricultura ocupa un alto porcentaje de la superficie (más del 98%, capítulo III). El número de tipos polínicos que representan más del 0,5% de la concentración polínica anual es menor que en estudios anteriores, con un umbral del 1%, como el calendario de polen realizado para Andalucía (Martínez-Bracero et al., 2015); sin embargo, esos tipos polínicos representan más del 90% del espectro de polen del área estudiada, al igual que en el estudio anteriormente citado. Estas diferencias se deben a que se detectaron mayores concentraciones especies agrícolas y una menor diversidad. Específicamente se observa una mayor presencia de polen de Olivo, cuyo cultivo representa el 77% de la superficie total de la zona. El cultivo de la vid supone un 0.75% de la superficie de la DOP Montilla-Moriles, pese a esto las

Discusión

concentraciones polínicas suponen más del 1.5% del total de polen detectado anualmente, destacando su presencia en la zona de muestreo.

En cuanto al total de polen detectado en la DOP Montilla-Moriles, la concentración de granos de polen total anual fue mayor que la presentada en otras áreas rurales (Ribeiro et al., 2017; Garcia-Mozo et al., 2007), aunque algunos de estos estudios han detectado mayores concentraciones de polen de plantas herbáceas (Kruczek et al., al. 2017). La mayoría de los tipos polínicos presentados en este estudio han sido previamente identificados como de importantes en la provincia de Córdoba (Garcia-Mozo et al., 2007; Cariñanos et al., 2000), así como en otras partes de Andalucía (Garcia-Mozo et al., 2007; Ribeiro et al., 2017) y de España (Rojo et al., 2016). La presencia del polen de Vid no se ha presentado en estudios aerobiológicos previos en la provincia de Córdoba, ni en Andalucía, pero sí en Portugal (Ribeiro et al., 2003) donde se ha presentado como un polen importante con un porcentaje similar respecto al presente estudio, lo que demuestra la importancia de este cultivar en ambas áreas.

Los resultados obtenidos muestran que en los años más secos, la precipitación tuvo menos correlación con la concentración de polen, excepto en el caso de *Olea* y *Amaranthaceae*, de floración en primavera tardía y verano. En los años más lluviosos, las precipitaciones causan un efecto de "lavado" en la atmósfera, disminuyendo las concentraciones de polen (Maya-Manzano et al., 2016; Galán et al., 1991). Este efecto no está claro para los tipos de polen *Urticaceae*, *Urtica membranacea* y *Vitis*, en los que este factor tuvo un efecto positivo, como se observó en lugares con condiciones climáticas similares (Galán et al., 2000), pero no en lugares más fríos y húmedos (Vega-Maray et al., 2003; Fernández-González et al., 2013). La temperatura presenta una correlación positiva con la concentración de polen en el aire, como se ha demostrado en artículos anteriores de *Olea* (Vázquez et al., 2003), *Poaceae* (Fernández-Rodríguez et al., 2018), *Pinus* (Velasco-Jiménez et al., 2017), *Quercus* (Maya-Manzano et al., 2016; Recio et al., 2018), *Amaranthaceae* (Cariñanos et al., 2014) y *Vitis* (Fernández-González et al., 2013).

A la hora de realizar un estudio comparativo entre el uso de análisis de correlación de Spearman y el análisis de redundancia (RDA) se han observado diferencias en los resultados. Las diferencias en la meteorología afectan de forma diferente a las correlaciones de Spearman, resultados que no se evidenciaron en el análisis de RDA. Por esta razón, se puede llegar a la conclusión de que la variación en la concentración de polen en el aire se relaciona con más de un parámetro. Esto revela la influencia general de los parámetros meteorológicos sobre la liberación y dispersión del polen (Li et al., 2015; Qin et al., 2015), así como en el caso de esporas de hongos (Sadyś et al., 2015; Grinn-Gofroń et al., 2018). Los parámetros meteorológicos que se han seleccionado, mediante análisis canónico de correspondencia (CCA) y con el análisis de correspondencia de tendencia (DCA), para el análisis de RDA, presentan su importancia en el modelo como ya se ha demostrado en estudios anteriores. La radiación solar ha sido descrita como un factor que ejerce diferentes efectos en distintos taxones (Majeed et al., 2018). Las precipitaciones y la humedad relativa tienen una correlación negativa con la concentración de polen, difiriendo de los resultados de RDA en este estudio que dan una correlación positiva con la lluvia en los años más secos. Las diferencias en los resultados de RDA en 2018 podrían explicarse por un invierno y primavera húmedos y fríos. La importancia del análisis de RDA es que la relación de todos los tipos de polen con los parámetros meteorológicos se muestra en una sola vista, omitiendo la correlación particular entre los parámetros relacionados, y proporcionando información, no solo sobre cómo los parámetros afectan a la concentración del polen, sino también definiendo los más influyentes.

Puesto que la vid es la planta a estudio en la presente tesis se procede a discutir sus concentraciones polínicas y su relación con los parámetros meteorológicos por separado. En 2015 y 2017 las concentraciones pico de *Vitis* fueron superiores a las de los años 2016 y 2018 que presentaron mayor precipitación (Capítulos I y III). La temperatura afecta positiva y significativamente a las concentraciones de polen de *Vitis*, excepto en el año 2015 (Capítulos I y III), estos resultados no coinciden con los publicados anteriormente en Galicia durante otro periodo de estudio (Fernández-González et al., 2013b, 2011). Por otro

Discusión

lado, se observa también una correlación significativa y positiva durante el período del prepico polínico. Las bajas correlaciones entre la concentración de granos de polen y la lluvia, humedad relativa y punto de rocío en 2015 y 2017 pueden ser atribuidas a la falta de lluvia durante ese año detectándose polen en resuspensión en el postpico. Tanto la concentración polínica anual como las concentraciones de los días pico fueron mayores en el presente estudio que en estudios previos en Portugal y Galicia (Fernández-González et al., 2013b; Ribeiro et al., 2003). Estas mayores concentraciones pueden deberse a que la DOP Montilla-Moriles presenta una mayor superficie y el clima es más seco que en la zona atlántica de los estudios anteriores, propiciando así la caída del capuchón floral por deshidratación y liberándose a la atmósfera mayor cantidad de granos de polen.

Debido a la presencia de granos de polen en temporadas previas a la floración se realizaron análisis de retrotrayectorias para conocer la procedencia de dichos granos de polen (Capítulo I). Estos análisis se realizaron durante los años 2015 y 2016, mostrando que el polen de *Vitis* detectado antes de la floración del viñedo localizado en el área de la DOP procede de otras zonas de Andalucía como Huelva o Málaga, donde la floración tiene lugar generalmente antes debido al clima templado costero, como muestran anteriores estudios en esas áreas (Alcázar et al., 2011; Martínez-Bracero et al., 2015; Velasco-Jiménez et al., 2017).

Por último, ya que se han descrito las relaciones de los granos de polen y las esporas de hongos con los parámetros meteorológicos y la fenología, finaliza con la comparativa de ambas partículas en los dos tipos de captadores utilizados en la presente tesis, captadores de tipo pasivo (PTS) y captador volumétrico tipo Hirst. Dicha comparativa se utiliza para determinar si los datos obtenidos a nivel local son representativos de la DOP Montilla-Moriles (Kelly et al., 2015). Los captadores PTS se colocaron a 1,5 metros al ser la altura recomendada para el análisis de esporas de hongos, asegurando un registro de las concentraciones en el aire de fuentes locales y permitiendo determinar los gradientes de dispersión (West and Kimber, 2015). Estos captadores presentaron concentraciones semanales de granos de polen superiores a

las encontradas durante el estadio de floración en otros estudios (Fernández-González et al., 2011), mientras que las concentraciones de esporas de hongos fueron inferiores (Fernández-González et al., 2011). Así mismo, tormentas locales causaron puntualmente el lavado de las muestras en algunos captadores pasivos, disminuyendo los datos obtenidos. Pese a estas diferencias en las concentraciones, tanto los granos de polen como las esporas de hongos, presentan una alta correlación al comparar los captadores de tipo pasivo con el captador volumétrico tipo Hirst. En la gran mayoría de los casos la mayor correlación se obtenía con la suma de todos los captadores PTS. La semejanza entre los resultados obtenidos a partir de aparatos que tienen un método diferente se asemeja a los resultados de estudios anteriores de captadores con distinto método de muestreo entre Hirst y Cour (Belmonte et al., 2000). La comparación entre ambos tipos de captadores es valiosa para determinar cómo los datos locales son representativos de la región en su conjunto (Kelly et al., 2015), mostrándose en este caso como los datos obtenidos de un único captador tipo Hirst son representativos de la DOP Montilla- Moriles en su conjunto.

Discusión



9. Conclusiones

9.1. Conclusiones

En el presente estudio se ha mostrado como las condiciones meteorológicas de la Denominación de Origen Protegida Montilla-Moriles afectan al crecimiento de las variedades de *Vitis vinifera* a estudio, afectando por tanto a las concentraciones de granos de polen aerovagantes y de esporas de hongos causantes de enfermedad. Las conclusiones por capítulos son las siguientes:

Capítulo I

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

- I. Los granos de polen aerovagantes de *Vitis* en la DOP se detectaron principalmente durante el periodo de aparición de inflorescencias y floración.
- II. Debido a las condiciones bioclimáticas locales en el área de la DOP de Montilla-Moriles, los ciclos de vida de la vid fueron más cortos que en viñedos de climas templados, pero más prolongados que en los de climas tropicales.
- III. En términos del periodo de floración de las variedades de vid estudiadas, estas pueden clasificarse como "variedades tempranas".
- IV. Los datos obtenidos utilizando captadores pasivos locales ubicados directamente en el viñedo confirmaron que las concentraciones de polen en el aire registradas con el captador volumétrico eran representativas del área de estudio.

Capítulo II

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

- I. Las concentraciones de esporas de hongos en Montilla-Moriles fueron más bajas que las registradas en viñedos en zonas de clima templado, pero más altas que las registradas en áreas sin viñedos, probablemente debido a las condiciones climáticas durante el período fenológico de *Vitis vinifera*.
- II. Las esporas de *U. necator* y *B. cinerea* presentaron concentraciones altas durante el período estudiado, mientras que

Conclusiones

- las concentraciones de *P. viticola* fueron bajas y sólo se detectaron en días esporádicos.
- III. La fenología de *Vitis vinifera* es el factor que más afecta a las concentraciones de esporas de hongos en el aire.
 - IV. Debido al clima característico en Montilla-Moriles, la temperatura y el punto de rocío son los parámetros más importantes relacionados con la concentración de esporas de *Botrytis cinerea*; la humedad y el punto de rocío para *Plasmopara viticola*. Para *Uncinula necator* la relación con los parámetros meteorológicos no ha sido clara.
 - V. Las concentraciones de esporas de hongos obtenidas con el captador volumétrico tipo Hirst son representativas de toda el área de estudio, siendo el tipo de captador más recomendado para áreas amplias. Sin embargo, es notable que los PST podrían usarse para estudios locales en un área más restrictiva.
 - VI. El conocimiento de los factores que influyen en las concentraciones de esporas de hongos detectadas en el aire ayudará a planificar mejor los calendarios de tratamiento pudiendo reducir los efectos económicos y ambientales del tratamiento.

Capítulo III

Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum

- I. El espectro polínico en la zona de estudio pone en evidencia el uso agrícola del suelo, con altas concentraciones de algunos tipos polínicos alergénicos y una menor diversidad en comparación con estudios en otras zonas. Las altas concentraciones de *Olea* y la presencia de *Vitis* como tipos polínicos importantes en el aire son ejemplos de esto.
- II. El estudio comparativo entre las correlaciones de Spearman y el análisis estadístico de redundancia muestra que éste proporciona una mejor explicación de la compleja relación entre los parámetros meteorológicos y la liberación y dispersión de polen en el aire en comparación con la correlación de Spearman.

9.2. Conclusions

In the present study it has been shown how the meteorological characteristics of the Protected Denomination of Origin Montilla-Moriles affected the growth of *Vitis vinifera* varieties under study, thus affecting the concentrations of pollen grains and fungal spores causing diseases. The conclusions by chapter are the follows.

Chapter I

Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain

- I. Airborne *Vitis* pollen grains in the PDO were detected mainly during inflorescence emergence and flowering.
- II. Due to local bioclimatic conditions in the Montilla-Moriles PDO area, grapevine life-cycles were shorter than in temperate climates but longer than in tropical climates.
- III. In terms of flowering period, the grapevine cultivars in the current study may be classed as ‘early cultivars’.
- IV. Data obtained using local passive samplers located directly in the vineyard confirmed that the airborne pollen concentrations recorded by the volumetric sampler were representative of the study area.

Chapter II

Fungal spores affecting vineyards in Montilla-Moriles Southern Spain

- I. The concentrations of fungal spores in Montilla-Moriles were lower than those recorded in vineyards in temperate climate zones, but higher than those recorded in areas without vineyards, probably due to weather conditions during the phenological period of *Vitis vinifera*.
- II. Spores of *U. necator* and *B. cinerea* had high concentrations during the studied period, meanwhile for *P. viticola* concentrations were low and only collected in sporadic days.
- III. *Vitis vinifera* phenology is the most important factor affecting fungal spore concentrations.
- IV. Due to the characteristic weather in Montilla-Moriles, temperature and dew point are the most important parameters

Conclusiones

related with *B. cirenea* concentration; and for *P. viticola* they are humidity and dew point. For *U. necator* relationship with meteorological parameters are not clear.

- V. The Hirst-type sampler spore data are representative of the whole study area, being the most recommended sampler for extensive areas. Nevertheless, it is remarkable that PST's could be used for local studies in a more restrictive area.
- VI. The knowledge of the factors that influence the concentrations of fungal spores detected in the air will help to better plan the treatment schedules and can reduce the economic and environmental effects of the treatment.

Chapter III

Effect of the Mediterranean crops in the airborne pollen spectrum

- I. The pollen spectrum in the study area highlights agricultural land use, with high concentrations of some allergenic pollen types and less diversity compared to studies in other areas. The high concentrations of *Olea* and the presence of *Vitis* as important pollen types in the air are examples of this.
- II. The comparative study between Spearman's correlations and the statistical redundancy analysis shows that, the last one provides a better explanation of the complex relationship between meteorological parameters and the release and dispersion of pollen in the air compared to Spearman's correlation



10. Bibliografía

Bibliografía

- Agrios**, G.N., Lopes, C., Duval, A., Reis, A., Salcedo, D., Hinojosa, R., Mora, G., Covarrubias, I., DePaolis, F., Cíntora, C., (2004). Plant pathology. *Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuaria*, Brasília, DF (Brasil).
- Ainsworth**, G.C., (2008). *Ainsworth and Bisby's dictionary of the fungi*. Cabi.
- Alcázar**, P., Galán, C., Carñanos, P., and Domínguez-Vilches, E. (1999). Diurnal variation of airborne pollen at two different heights. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 9, 89–95.
- Alcázar**, P., García-Mozo, H., Trigo, M. del M., Ruiz, L., González-Minero, F.J., Hidalgo, P., Guardia, C.D. de la, Galán, C., (2011). Platanus pollen season in Andalusia (southern Spain): trends and modeling. *Journal of Environmental Monitoring*. 13 (2), 2502–2510. <https://doi.org/10.1039/C1EM10355E>
- Alcázar**, P., Velasco-Jiménez, M.J., Domínguez-Vilches, E., Galán, C., (2016). A contribution to the study of airborne Citrus pollen in Córdoba, southern Spain. *Urban Forestry and Urban Greening* 16, 9–12. <https://doi.org/10.1016/j.ufug.2016.01.009>
- Álvarez**, M., Moreno, I.M., Jos, Á.M., Cameán, A.M., González, A.G., (2007). Study of mineral profile of Montilla-Moriles “fino” wines using inductively coupled plasma atomic emission spectrometry methods. *Journal of Food Composition and Analysis* 20, 391–395. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2006.07.010>
- Ash**, G., (2005). Downy mildew of grape. *Downy mildew of grape*.
- Beever**, R.E., Weeds, P.L., (2007). Taxonomy and genetic variation of Botrytis and Botryotinia. *Botrytis: Biology, Pathology and Control*. Springer, pp. 29–52.
- Belmonte**, J., Canela, M., Guàrdia, R.-A., (2000). Comparison between categorical pollen data obtained by Hirst and Cour sampling methods. *Aerobiologia* 16, 177–185. <https://doi.org/10.1023/A:1007628214350>
- Billard**, A., Fillinger, S., Leroux, P., Bach, J., Lanen, C., Lachaise, H., Beffa, R., Debieu, D., (2011). Fenhexamid resistance in the Botrytis species complex, responsible for grey mould disease. *Fungicides-Beneficial and Harmful Aspects*. InTech.
- Bossard** M, Feranec J, Otahel J (2000) CORINE land cover technical guide: Addendum 2000.

- Braak**, C. J. F. T. (1986). Canonical Correspondence Analysis: A New Eigenvector Technique for Multivariate Direct Gradient Analysis. *Ecology*, 67, 1167–1179. <https://doi.org/10.2307/1938672>.
- Buckler**, E.S., Gaut, B.S., McMullen, M.D., (2006). Molecular and functional diversity of maize. *Current opinion in plant biology* 9, 172–176.
- Bugiani**, R., Govoni, P., Bottazzi, R., Giannico, P., Montini, B., and Pozza, M. (1995). Monitoring airborne concentrations of sporangia of *Phytophthora infestans* in relation to tomato late blight in Emilia Romagna, Italy. *Aerobiologia*, 11, 41–46. <https://doi.org/10.1007/BF02136143>
- Buters**, J., Antunes, C., Galveias, A., Bergmann, K.C., Thibaudon, M., Galán, C., Schmidt-Weber, C., Oteros, J., (2018). Pollen and spore monitoring in the world. *Clinical and translational allergy* 8, 9.
- Campbell**, P., Bendek, C., and Latorre, B. A. (2007). Risk of powdery mildew (*Erysiphe necator*) outbreaks on grapevines in relation to cluster development. *Ciencia e Investigacion Agraria.*, 34, 5-11.
- Cariñanos**, P., Alcázar, P., Galán, C., and Domínguez, E. (2014). Environmental behaviour of airborne Amaranthaceae pollen in the southern part of the Iberian Peninsula, and its role in future climate scenarios. *Science of the Total Environment*, 470, 480–487. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.10.024>
- Cariñanos**, P., & Casares-Porcel, M. (2011). Urban green zones and related pollen allergy: A review. Some guidelines for designing spaces with low allergy impact. *Landscape and Urban Planning*, 101, 205–214. <https://doi.org/10.1016/j.landurbplan.2011.03.006>
- Cariñanos**, P., Galán, C., Alcázar, P., & Domínguez, E. (2000). Aerobiología en Andalucía: estación de Córdoba (1999). *Rea*, 6, 19–22.
- Carisse**, O., Savary, S., and Willocquet, L. (2008). Spatiotemporal relationships between disease development and airborne inoculum in unmanaged and managed *Botrytis* leaf blight epidemics. *Phytopathology*, 98, 38-44. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-98-1-0038>
- Cebrino**, J., Galán, C., Domínguez-Vilches, E., (2016). Aerobiological and phenological study of the main Poaceae species in Córdoba

- City (Spain) and the surrounding hills. *Aerobiologia* 32, 595–606. <https://doi.org/10.1007/s00484-017-1461-7>
- Chuine, I., Yiou, P., Viovy, N., Seguin, B., Daux, V., Ladurie, E.L.R.,** (2004). Historical phenology: grape ripening as a past climate indicator. *Nature* 432, 289. <https://doi.org/10.1038/432289a>
- Coombe, B. G.** (1995). Growth Stages of the Grapevine: Adoption of a system for identifying grapevine growth stages. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 1, 104–110. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.1995.tb00086.x>.
- Cortesi, P., Bisiach, M., Ricciolini, M., and Gadoury, D. M.** (1997). Cleistothecia of *Uncinula necator* an additional source of inoculum in Italian vineyards. *Plant Disease*, 81, 922–926. <https://doi.org/10.1094/PDIS.1997.81.8.922>.
- Cunha, M., Abreu, I., Pinto, P. and de Castro, R.** (2003) Airborne pollen samples for early-season estimates of wine production in a Mediterranean climate area of northern Portugal. *American Journal of Enology and Viticulture* 54, 189–194.
- Cunha, M., Ribeiro, H., Abreu, I.,** (2016). Pollen-based predictive modelling of wine production: application to an arid region. *European Journal of Agronomy* 73, 42–54. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2015.10.008>
- D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Nunes, C., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., Liccardi, G., Popov, T., Van Cauwenberge, P.,** (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy* 62, 976–990. <https://doi.org/10.1111/j.1398-9995.2007.01393.x>
- De'ath, G., Fabricius, K.E.,** (2000). Classification and regression trees: a powerful yet simple technique for ecological data analysis. *Ecology* 81, 3178–3192. [https://doi.org/10.1890/0012-9658\(2000\)081\[3178:CARTAP\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1890/0012-9658(2000)081[3178:CARTAP]2.0.CO;2)
- Di Vora, A., Castelletti, L.,** (1995). Indagine preliminare sull'archeologia della vite (*Vitis vinifera* L.) in base ai caratteri diagnostici del vinacciolo. *Rivista archeologica dell'antica provincia e diocesi di Como* 176, 333–358.
- Diaz, M.R., Iglesias, I., Jato, V.,** (1998). Seasonal variation of airborne fungal spore concentrations in a vineyard of North-West Spain. *Aerobiologia* 14, 221. <https://doi.org/10.1007/BF02694210>
- Dixon, P.** (2003). VEGAN, a package of R functions for community ecology. *Journal of Vegetation Science*, 14, 927–930. <https://doi.org/10.1111/j.1654-1103.2003.tb02228.x>.

- España. Ministerio de agricultura, pesca y alimentación**, (1998). *Los parásitos de la vid: estrategias de protección razonada*. Mundi-Prensa.
- Fernández-Gonzalez**, M., Rodríguez-Rajo, F.J., Jato, V., Aira, M.J., (2009). Incidence of fungals in a vineyard of the denomination of origin ribeiro [Ourense-North-Western Spain]. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 16, 263–271.
- Fernández-González**, M., Escuredo, O., Rodríguez-Rajo, F.J., Aira, M.J., Jato, V., (2011). Prediction of grape production by grapevine cultivar Godello in north-west Spain. *The Journal of Agricultural Science* 149, 725–736. <https://doi.org/10.1017/S0021859611000244>
- Fernández-González**, M., Rodríguez-Rajo, F.J., Jato, V., Aira M., J., Ribeiro, H., Oliveira, M., Abreu, I., (2012). Forecasting ARIMA models for atmospheric vineyard pathogens in Galicia and Northern Portugal: Botrytis cinerea spores. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 19, 255–262.
- Fernández-González**, M., Rodríguez-Rajo, F.J., Escuredo, O., Aira, M.J., (2013a). Optimization of integrated pest management for powdery mildew (*Uncinula necator*) control in a vineyard based on a combination of phenological, meteorological and aerobiological data. *The Journal of Agricultural Science*. <https://doi.org/10.1017/S0021859612000743>
- Fernández-González**, M., Rodríguez-Rajo, F.J., Escuredo, O., Aira, M.J., (2013b). Influence of thermal requirement in the aerobiological and phenological behavior of two grapevine varieties. *Aerobiologia* 29, 523–535. <https://doi.org/10.1007/s10453-013-9302-6>
- Fernández-Rodríguez**, S., Durán-Barroso, P., Silva-Palacios, I., Tormo-Molina, R., Maya-Manzano, J. M., Gonzalo-Garijo, Á., & Monroy-Colin, A. (2018). Environmental assessment of allergenic risk provoked by airborne grass pollen through forecast model in a Mediterranean region. *Journal of Cleaner Production*, 176, 1304–1315. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2017.11.226>
- Forni**, G., (2006). Dall'origine della viticoltura alla sua introduzione in Italia. *La vite e l'uomo*.
- Gadoury**, D.M., Seem, R.C., Pearson, R.C., Wilcox, W.F., Dunst, R.M. (2007). Effects of Powdery Mildew on Vine Growth, yield, and Quality of Concord Grapes. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2001.85.2.137>

- Galán, C., Tormo, R., Cuevas, J., et al. (1991).** Theoretical daily variation patterns of airborne pollen in the southwest of Spain. *Grana*, 30, 201–209. <https://doi.org/10.1080/00173139109427800>
- Galán, C., Alcázar, P., Cariñanos, P., et al. (2000).** Meteorological factors affecting daily Urticaceae pollen counts in southwest Spain. *International Journal of Biometeorology*, 43, 191–195. <https://doi.org/10.1007/s004840050008>
- Galán, C., García-Mozo, H., Vázquez, L., Ruiz, L., De La Guardia, C.D., Trigo, M., (2005).** Heat requirement for the onset of the *Olea europaea* L. pollen season in several sites in Andalusia and the effect of the expected future climate change. *International Journal of Biometeorology* 49, 184–188. <https://doi.org/10.1007/s00484-004-0223-5>
- Galan, C., Vazquez, L., Garcia-Mozo, H., Dominguez, E., (2004).** Forecasting olive (*Olea europaea*) crop yield based on pollen emission. *Field crops research* 86, 43–51. [https://doi.org/10.1016/S0378-4290\(03\)00170-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4290(03)00170-9)
- Galán, C., González, P.C., Teno, P.A., Vilches, E.D., (2007).** *Spanish Aerobiology Network (REA): management and quality manual.*
- Galán, C., Smith, M., Thibaudon, M., Frenguelli, G., Oteros, J., Gehrig, R., Berger, U., Clot, B., Brandao, R., Group, E.Q.W., (2014).** Pollen monitoring: minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiologia* 30, 385–395. <https://doi.org/10.1007/s10453-014-9335-5>
- Galán, C., Ariatti, A., Bonini, M., Clot, B., Crouzy, B., Dahl, A., Fernandez-González, D., Frenguelli, G., Gehrig, R., Isard, S., Levetin, E., Li, D.W., Mandrioli, P., Rogers, C.A., Thibaudon, M., Sauliene, I., Skjøth, C., Smith, M. and Sofiev, M. (2017)** Recommended terminology for aerobiological studies. *Aerobiologia* 33, 293–295. <https://doi.org/10.1007/s10453-017-9496-0>
- Galera, M. D., Elvira-Rendueles, B., Moreno, J. M., Negral, L., Ruiz-Abellón, M. C., García-Sánchez, A., and Moreno-Grau, S. (2018).** Analysis of airborne *Olea* pollen in Cartagena (Spain). *Science of the Total Environment*, 622, 436–445. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.11.349>
- García-Mozo, H., Galán, C., Jato, V., Belmonte, J., De La Guardia, C.D., Fernández, D., Gutiérrez, M., Aira, M.J., Roure, J.M., Ruiz, L., (2006).** *Quercus* pollen season dynamics in the Iberian Peninsula: response to meteorological parameters and possible

- consequences of climate change. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 13, 209.
- García-Mozo, H., Dominguez-Vilches, E., and Galan, C. (2007).** Airborne allergenic pollen in natural areas: Hornachuelos Natural Park, Cordoba, southern Spain. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 14, 63.
- García-Mozo, H., Chuine, I., Aira, M., Belmonte, J., Bermejo, D., de la Guardia, C.D., Elvira, B., Gutiérrez, M., Rodríguez-Rajo, J., Ruiz, L., (2008).** Regional phenological models for forecasting the start and peak of the Quercus pollen season in Spain. *Agricultural and forest meteorology* 148, 372–380. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2007.09.013>
- Gee, L. M., Stummer, B. E., Gadoury, D. M., Biggins, L. T., and Scott, E. S. (2000).** Maturation of cleistothecia of *Uncinula necator* (powdery mildew) and release of ascospores in southern Australia. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 6, 13–20. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2000.tb00157.x>
- Goidanich, G., Casarini, B., and Foschi, S. (1957).** Lotta antiperonosporica e calendario d'incubazione. *Giornale di Agricoltura*, 13, 11–14.
- Grinn-Gofroń, A., Bosiacka, B., Bednarz, A., and Wolski, T. (2018).** A comparative study of hourly and daily relationships between selected meteorological parameters and airborne fungal spore composition. *Aerobiologia*, 34, 45–54. <https://doi.org/10.1007/s10453-017-9493-3>
- Gris, E.F., Burin, V.M., Brighenti, E., Vieira, H., Bordignon-Luiz, M.T., (2010).** Phenology and ripening of *Vitis vinifera* L. grape varieties in São Joaquim, southern Brazil: a new South American wine growing region. *Ciencia e Investigación Agraria* 37, 61–75. <https://doi.org/10.7764/rcia.v37i2.171>
- Grove, G.G. (2007).** Perennation of *Uncinula necator* in Vineyards of Eastern Washington. *Plant disease*, 88(3), 242–247. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2004.88.3.242>
- Hidalgo, L., (2002).** *Tratado de viticultura general*. Mundi-Prensa,.
- Hirst, J.M., (1952).** An Automatic Volumetric Spore Trap. *Annals of Applied Biology* 39, 257–265. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.1952.tb00904.x>

- Holb**, I.J. and Fűzi, I., (2016). Monitoring of ascospore density of *Erysiphe necator* in the air in relation to weather factors and powdery mildew development. *European Journal of Plant Pathology* 144, 751–762. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0823-4>
- Hothorn**, T., Hornik, K., and Zeileis, A. (2012). Unbiased Recursive Partitioning: A Conditional Inference Framework. *Journal of Computational and Graphical Statistics*. <https://doi.org/10.1198/106186006X133933>.
- Humble**, B.C. and Metz, G.M. (2017) Clearing the air: a retrospective observational study of rainfall and pollen count data in Oklahoma City, OK (abstract). *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 139, Supplement, AB122. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.12.395>
- Jäger**, S., (1988). EANS-European Aeroallergen Network Server. *Aerobiologia* 4, 16–19. <https://doi.org/10.1007/BF02450027>
- Jones**, G.V. and Davis, R.E., (2000). Climate Influences on Grapevine Phenology, Grape Composition, and Wine Production and Quality for Bordeaux, France. *American Journal of Enology and Viticulture*. 51, 249–261.
- Kamel**, A. (1959) *Estudio Sobre la Sexualidad de las Uvas de Mesa en España*. Madrid, Spain: Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas.
- Kelly**, H.Y., Dufault, N.S., Walker, D.R., Isard, S.A., Schneider, R.W., Giesler, L.J., Wright, D.L., Marois, J.J., Hartman, G.L., (2015). From select agent to an established pathogen: The response to *Phakopsora pachyrhizi* (soybean rust) in North America. *Phytopathology* 105, 905–916. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-15-0054-FI>
- Kiefer**, B., Riemann, M., Büche, C., Kassemeyer, H.-H., and Nick, P. (2002). The host guides morphogenesis and stomatal targeting in the grapevine pathogen *Plasmopara viticola*. *Planta*, 215, 387–393. <https://doi.org/10.1007/s00425-002-0760-2>
- Kishino**, A.Y. and Marur, I.P.H. (2007) Factores climáticos e o desenvolvimento da videira. In Kishino AY, de Carvalho SC and Roberto SR (eds), *Viticultura Tropical: o Sistema de Producao do Parana*. Londrina, Brazil: IAPAR, pp. 59–86.
- Kozma**, P., (2003). Exploration of flower types in grapes. *Floral Biology, Pollination and Fertilisation in Temperate Zone Fruit Species and Grape*. Akadémiai Kiadó.

- Kruczek, A., Puc, M., & Wolski, T.** (2017). Airborne pollen from allergenic herbaceous plants in urban and rural areas of Western Pomerania, NW Poland. *Grana*, 56, 71–80. <https://doi.org/10.1080/00173134.2016.1145251>
- Levadoux, L.**, (1946). *Etude de la fleur et de la sexualité chez la vigne*, Ch. Déhan.
- Li, Y., Ge, Y., Xu, Q., Bunting, J. M., Lv, S., Wang, J., and Li, Z.** (2015). Airborne pollen assemblages and weather regime in the central-eastern Loess Plateau, China. *Atmospheric Environment*, 106, 92-99. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2015.01.066>
- Lijavetzky, D., Cabezas, J.A., Ibáñez, A., Rodríguez, V., Martínez-Zapater, J.M.,** (2007). High throughput SNP discovery and genotyping in grapevine (*Vitis vinifera* L.) by combining a re-sequencing approach and SNPlex technology. *BMC genomics* 8, 424. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-8-424>
- Lorenz, D.H., Eichhorn, K.W., Bleiholder, H., Klose, R., Meier, U., Weber, E.,** (1994). Phänologische Entwicklungsstadien der Weinrebe (*Vitis vinifera* L. ssp. *vinifera*). Codierung und Beschreibung nach der erweiterten BBCH-Skala. *Wein-Wissenschaft* 49, 66–70.
- Majeed, H. T., Periago, C., Alarco'n, M., and Belmonte, J.** (2018). Airborne pollen parameters and their relationship with meteorological variables in NE Iberian Peninsula. *Aerobiologia*, 34, 375–388. <https://doi.org/10.1007/s10453-018-9520-z>
- Mandelli, F., Tonietto, J., Camargo, U.A. and Czermainski, A.B.C.** (2004) Fenologia e necessidades térmicas da videira na Serra Gaúcha. In *XVIII Congresso Brasileiro de Fruticultura*. Florianópolis, Brazil: Sociedade Brasileira de Fruticultura. CD-ROM.
- Mariani, L., Failla, O., Monte, G., Facchinetti, D.** (2007). IPHEN: a model for real time production of grapevine phenological maps, *Climate and Viticulture*. Consejero de Agricultura y Alimentation de Gobierno del Aragona, pp. 272–278.
- Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., de la Guardia, C.D., González-Minero, F.J., Ruiz, L., Pérez, M.T., Galán, C.,** (2015). Pollen calendars: a guide to common airborne pollen in Andalusia. *Aerobiologia* 31, 549–557. <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9385-3>
- Martínez-Bracero, M., Alcázar, P., Velasco-Jiménez, M. J., Galán, C.** (2018). Phenological and aerobiological study of vineyards in the Montilla-Moriles PDO area, Cordoba, southern Spain. *The Journal of Agricultural Science*. <https://doi.org/10.1017/S0021859618000783>.

- Maya-Manzano, J. M.,** Fernández-Rodríguez, S., Smith, M., et al. (2016). Airborne Quercus pollen in SW Spain: Identifying favourable conditions for atmospheric transport and potential source areas. *Science of the Total Environment*, 571, 1037–1047. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.094>
- Maya-Manzano, J.,** M. Sadyś, R. Tormo-Molina, S. Fernández-Rodríguez, J. Oteros, I. Silva-Palacios, and A. Gonzalo-Garijo. (2017). Relationships between airborne pollen grains, wind direction and land cover using GIS and circular statistics. *Science of the Total Environment*, 584, 603–613. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.01.085>
- Meier, U.,** (2001). Estadios de las plantas mono y dicotiledóneas. *B BCH Monografía*. Centro Federal de Investigaciones Biológicas para Agricultura y Silvicultura.
- Meier, U.,** (1997). Growth stages of mono-and dicotyledonous plants. *B BCH Monograph*. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry.
- Moyer, M.M.,** Gadoury, D.M., Wilcox, W.F., Seem, R.C., (2014). Release of Erysiphe necator Ascospores and Impact of Early Season Disease Pressure on Vitis vinifera Fruit Infection. *American Journal of Enology and Viticulture*. 65(3), 315-32. <https://doi.org/10.5344/ajev.2014.13111>
- Myles, S.,** Boyko, A.R., Owens, C.L., Brown, P.J., Grassi, F., Aradhya, M.K., Prins, B., Reynolds, A., Chia, J.-M., Ware, D., (2011). Genetic structure and domestication history of the grape. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108, 3530–3535. <https://doi.org/10.1073/pnas.1009363108>
- Ocete, R.,** Cantos, M., López-Gallardo, A., Pérez-Troncoso, A., Lara, M., Failla, O., Ferragut, F.J. and Liñán, J. (2007) Caracterización y conservación del recurso fitogenético vid silvestre en Andalucía. *Consejería de Medio Ambiente Junta Andalucía*. Sevilla, Spain: Falcor.
- Oduber, F.,** Calvo, A., Blanco-Alegre, C., et al. (2019). Links between recent trends in airborne pollen concentration, meteorological parameters and air pollutants. *Agricultural and Forest Meteorology*, 264, 16–26. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2018.09.023>
- OIV,** 2015. *Compendio de métodos internacionales de análisis de los vinos y mostos*, OIV. ed. Paris.
- Oksanen J,** Blanchet FG, Friendly M, Kindt R, Legendre P, McGlenn D, Minchin PR, O'Hara RB, Simpson GL, Solymos P, Stevens MHH, Szoecs E, Wagner H (2019) vegan: Community Ecology

- Package. R package version 2.5-4. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Oliveira, M., Cunha, M., (2015).** Study of the portuguese populations of powdery mildew fungus from diverse grapevine cultivars (*Vitis vinifera*). *Journal International des Sciences de la Vigne et du Vin* 49, 173–182. <https://doi.org/10.20870/oeno-one.2015.49.3.83>
- Orden del 20 de octubre de 1945 por la que se aprueba el Reglamento del Consejo Regulador para la aplicación, inspección y vigilancia de las denominaciones de origen «Montilla» y «Mo-riles», (1945). *BOE*. pp. 2.591-2.594.
- Orden fijando definitivamente las zonas de producción, de crianza y exportación que figuran en el Reglamento, que se publica, del Consejo Regulado de la denominación de origen “Jerez-Xerez-Sherry”. (1935). *BOE*. pp. 655–659.
- Orden prorrogando en otros quince días, igual plazo señalado para la constitución de los Consejos Reguladores de las denominaciones de origen “Jerez-Xerez-Cherry” y “Manzanilla Sanlúcar de Barrameda,” (1933). *BOE*. p. 326.
- Orden.-Estableciendo las normas definitivas para el uso de la denominación de origen “Málaga” y reglamentando el funcionamiento de su Consejo Regulador., (1937). *BOE*. pp. 3.978-3.981.
- Ortega-Farías, S. O., Lozano, P., Moreno, Y., and León, L. (2002).** Desarrollo de modelos predictivos de fenología y evolución de madurez en vid para vino cv. Cabernet Sauvignon y Chardonnay. *Agricultura Técnica.*, 62, 27–37. <http://dx.doi.org/10.4067/S0365-28072002000100003>
- Oteros, J., Orlandi, F., García-Mozo, H., Aguilera, F., Dhiab, A.B., Bonofiglio, T., Abichou, M., Ruiz-Valenzuela, L., Trigo, M.M. del, Guardia, C.D. de la, Domínguez-Vilches, E., Msallem, M., Fornaciari, M., Galán, C., (2014).** Better prediction of Mediterranean olive production using pollen-based models. *Agronomy for Sustainable Development.* 34, 685–694. <https://doi.org/10.1007/s13593-013-0198-x>
- Oteros J, García-Mozo H, Alcázar P, Belmonte J, Bermejo D, Boi M, Cariñanos P, de la Guardia CD, Fernández-González D, González-Minero F, Gutiérrez-Bustillo AM (2015).** A new method for determining the sources of airborne particles. *Journal of Environmental Management*, 155, 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2015.03.037>

- Parker, A.**, de Cortázar-Atauri, I.G., Chuine, I., Barbeau, G., Bois, B., Boursiquot, J.-M., Cahurel, J.-Y., Claverie, M., Dufourcq, T., Génys, L., Guimberteau, G., Hofmann, R.W., Jacquet, O., Lacombe, T., Monamy, C., Ojeda, H., Panigai, L., Payan, J.-C., Lovelle, B.R., Rouchaud, E., Schneider, C., Spring, J.-L., Storchi, P., Tomasi, D., Trambouze, W., Trought, M., van Leeuwen, C., (2013). Classification of varieties for their timing of flowering and veraison using a modelling approach: A case study for the grapevine species *Vitis vinifera* L. *Agricultural and Forest Meteorology* 180, 249–264. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2013.06.005>
- Parker, A. k.**, De Cortázar-Atauri, I. g., Van Leeuwen, C., Chuine, I., (2011). General phenological model to characterise the timing of flowering and veraison of *Vitis vinifera* L. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 17, 206–216. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0238.2011.00140.x>
- Pearson, R.C.**, Goheen, A.C., (1988). *Compendium of grape diseases*. Aps Press.
- Pedro Júnior, M.J.**, Sentelhas, P.C., (2003). Clima e produção. Uva: tecnologia de produção, pós-colheita, mercado. *Porto Alegre: Cinco Continentes* 63–107.
- Piña, S.** and Bautista, D. (2004) Ciclo fenológico de cultivares de vid (*Vitis vinifera* L.) para mesa en condiciones tropicales. *Bioagro* 16, 9–15.
- Piqueras Haba, J.**, (2005). La filoxera en España y su difusión espacial: 1878-1926. *Cuadernos de Geografía de la Universitat de València*.
- Qin, F.**, Wang, Y.F., Ferguson, D.K., Chen, W.L., Li, Y.M., Cai, Z., Wang, Q., Ma, H.Z. and Li, C.S., 2015. Utility of surface pollen assemblages to delimit eastern Eurasian steppe types. *PloS one*, 10(3), p.e0119412. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119412>
- R Core Team** (2014) R: a Language and Environment for Statistical Computing. Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Rasmussen, A.**, (2002). The effects of climate change on the birch pollen season in Denmark. *Aerobiologia* 18, 253–265. <https://doi.org/10.1023/A:1021321615254>
- Recio, M.**, Picornell, A., Trigo, M.M., Gharbi, D., García-Sánchez, J. and Cabezudo, B., (2018). Intensity and temporality of airborne *Quercus* pollen in the southwest Mediterranean area:

Correlation with meteorological and phenoclimatic variables, trends and possible adaptation to climate change. *Agricultural and forest meteorology*, 250, pp.308-318. <https://doi.org/10.1016/j.agrformet.2017.11.028>

- Ribeiro**, H., Cunha, M., Abreu, I., (2003). Airborne pollen concentration in the region of Braga, Portugal, and its relationship with meteorological parameters. *Aerobiologia* 19, 21–27. <https://doi.org/10.1023/A:1022620431167>
- Ribeiro**, H., Abreu, I., & Cunha, M. (2017). Olive crop-yield forecasting based on airborne pollen in a region where the olive groves acreage and crop system changed drastically. *Aerobiologia*, 33, 473–480. <https://doi.org/10.1007/s10453-017-9483-5>
- Rodríguez-Rajo**, F.J., Jato, V., Fernández-González, M., Aira, M.J., (2010). The use of aerobiological methods for forecasting Botrytis spore concentrations in a vineyard. *Grana*. <https://doi.org/10.1080/00173130903472393>
- Rojo**, J., Rapp, A., Lara, B., et al. (2016). Characterisation of the airborne pollen spectrum in Guadalajara (central Spain) and estimation of the potential allergy risk. *Environmental Monitoring and Assessment*, 188, 130. <https://doi.org/10.1007/s10661-016-5129-2>
- Rossi**, V., Caffi, T., Legler, S.E., (2010). Dynamics of Ascospore Maturation and Discharge in *Erysiphe necator*, the Causal Agent of Grape Powdery Mildew. *Phytopathology*, 100(12), pp.1321-1329 <http://dx.doi.org/10.1094/PHYTO-05-10-0149>.
- Rossi**, V., Caffi, T., Gobbin, D., 2013. Contribution of molecular studies to botanical epidemiology and disease modelling: grapevine downy mildew as a case-study. *European journal of plant pathology* 135, 641–654. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0114-2>.
- Sadyś**, M., Strzelczak, A., Grinn-Gofroń, A., Kennedy, R., (2015). Application of redundancy analysis for aerobiological data. *International Journal of Biometeorology* 59, 25–36. <https://doi.org/10.1007/s00484-014-0818-4>
- Sato**, A.J., Jubileu, B.D.S., Assis, A.M.D., Roberto, S.R., (2011). Phenology, production and must compounds of “Cabernet Sauvignon” and “Tannat” grapevines in subtropical climate. *Revista Brasileira de Fruticultura* 33, 491–499. <https://doi.org/10.1590/S0100-29452011005000079>
- Schwartz**, M.D., (2013). *Phenology: An Integrative Environmental Science*. Springer Science and Business Media.

- Smith**, E.G., (1984). *Sampling and identifying allergenic pollens and molds. An illustrated manual for physicians and lab technicians*. Blewstone Press.
- Smith**, E., (1986). Sampling and identifying allergenic pollens and molds. Volume II. An illustrated identification manual for air samplers. *Sampling and identifying allergenic pollens and molds. Volume II. An illustrated identification manual for air samplers*.
- Sousa**, L., Camacho, I. C., Grinn-Gofroń, A., and Camacho, R. (2016). Monitoring of anamorphic fungal spores in Madeira region (Portugal), 2003–2008. *Aerobiologia*, 32, 303–315. <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9400-8>.
- Stein**, A., Draxler, R.R., Rolph, G.D., Stunder, B.J., Cohen, M., Ngan, F., (2015). NOAA's HYSPLIT atmospheric transport and dispersion modeling system. *Bulletin of the American Meteorological Society* 96, 2059–2077. <https://doi.org/10.1175/BAMS-D-14-00110.1>
- Sulmont**, G., (2011). *The pollen content of the air: identification key*. Studios Bouquet.
- Tassan-Mazzocco**, F., Felluga, A., & Verardo, P. (2015). Prediction of wind-carried Gramineae and Urticaceae pollen occurrence in the Friuli Venezia Giulia region (Italy). *Aerobiologia*, 31, 559–574. <https://doi.org/10.1007/s10453-015-9386-2>
- Terral**, J.-F., Tabard, E., Bouby, L., Ivorra, S., Pastor, T., Figueiral, I., Picq, S., Chevance, J.-B., Jung, C., Fabre, L., (2009). Evolution and history of grapevine (*Vitis vinifera*) under domestication: new morphometric perspectives to understand seed domestication syndrome and reveal origins of ancient European cultivars. *Annals of botany* 105, 443–455. <https://doi.org/10.1093/aob/mcp298>
- Valamoti**, S.M., Mangafa, M., Koukouli-Chrysanthaki, C., Malamidou, D., (2007). Grape-pressings from northern Greece: the earliest wine in the Aegean? *Antiquity* 81, 54–61. <https://doi.org/10.1017/S0003598X00094837>
- Vázquez**, L., Galán, C., and Domínguez-Vilches, E. (2003). Influence of meteorological parameters on olea pollen concentrations in Córdoba (South-western Spain). *International Journal of Biometeorology*, 48, 83–90. <https://doi.org/10.1007/s00484-003-0187-x>
- Vega-Maray**, A. M., Valencia-Barrera, R. M., Fernandez-Gonzalez, D., & Fraile, R. (2003). Urticaceae pollen concentration in the

- atmosphere of north-western Spain. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 10, 249–256.
- Velasco-Jiménez**, M., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E., and Galán, C. (2013). Comparative study of airborne pollen counts located in different areas of the city of Córdoba (south-western Spain). *Aerobiologia*, 29, 113–120. <https://doi.org/10.1007/s10453-012-9267-x>
- Velasco-Jiménez** MJ, Alcázar P, Valle A, Trigo MM, Minero F, Domínguez-Vilches E, Galán C. (2014). Aerobiological and ecological study of the potentially allergenic ornamental plants in south Spain. *Aerobiologia*, 30, 91–101. <https://doi.org/10.1007/s10453-013-9311-5>
- Velasco-Jiménez**, M.J., Alcázar, P., Valenzuela, L.R., Gharbi, D., Guardia, C.D. de la, Galán, C., (2017). Pinus pollen season trend in South Spain. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 152(4), 657–665. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1311962>
- Velasco-Jiménez**, M.J., Alcázar, P., Valenzuela, L.R., Gharbi, D., de la Guardia, C.D. and Galán, C. (2018). Pinus pollen season trend in South Spain. *Plant Biosystems – An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 152, 657–665. <https://doi.org/10.1080/11263504.2017.1311962>.
- West**, J.S. and Kimber, R.B.E., (2015). Innovations in air sampling to detect plant pathogens. *Annals of Applied Biology* 166, 4–17. <https://doi.org/10.1111/aab.12191>
- Williamson**, B., Tudzynski, B., Tudzynski, P., van Kan, J.A., (2007). Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease. *Molecular plant pathology* 8, 561–580. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2007.00417.x>
- Zecca**, G., Abbott, J.R., Sun, W.-B., Spada, A., Sala, F., Grassi, F., (2012). The timing and the mode of evolution of wild grapes (*Vitis*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62, 736–747. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.11.015>
- Zohary**, D., Spiegel-Roy, P., (1975). Beginnings of fruit growing in the Old World. *Science* 187, 319–327. <https://doi.org/10.1126/science.187.4174.319>

Anexo 1

Pollen calendars: a guide to common airborne pollen in Andalusia

M. Martínez-Bracero · P. Alcázar · C. Díaz de la Guardia · F. J. González-Minero · L. Ruiz · M. M. Trigo Pérez · C. Galán

Received: 16 February 2015 / Accepted: 4 May 2015 / Published online: 9 May 2015
© Springer Science+Business Media Dordrecht 2015

Abstract This paper presents pollen calendars for the capital cities of the eight provinces of Andalusia (south of Spain) based on the airborne pollen counts recorded in a 10-year historical database. Pollen calendars are useful in the prevention and diagnosis of hay fever, in that they enable the timing and severity of the pollen season to be clearly defined. The differences encountered—in terms of both pollen spectra and the length and timing of the pollen season (start date, peak date, peak concentration and end date)—highlight not only the considerable diversity of urban landscapes in the eight Andalusian cities, but also the effect of urban green areas and periurban landscapes on airborne pollen levels. Green areas should be designed with a view to promoting benefits for the local population and avoiding the

problems associated with the massive use of allergenic plants.

Keywords Pollen calendar · Andalusia · Airborne pollen

1 Introduction

Pollinosis transcending all boundaries has a marked clinical impact worldwide (D'Amato et al. 2007). Aerobiological research is essential in order to chart the behaviour of airborne allergens over the year; the data obtained are valuable both to allergists for planning treatments and to allergy sufferers for planning their work and recreational activities.

Pollen calendars, defined as graphs summarising the annual dynamics of major airborne pollen types in a given location (Belmonte and Roure 2002), are of particular interest since they provide readily accessible visual information on the various airborne pollen types occurring in the course of the year.

Gardens and public parks ensure a range of benefits for local residents in urban areas. The aesthetic appeal of these spaces is very important, and they usually contain a variety of exotic ornamental species, some of which are regarded as having high allergenic potential, e.g. *Casuarina*, Cupressaceae, *Morus*, *Myrtaceae*, *Palmae* (Fernández 1992) and *Platanus* (Alcázar et al. 2011). The design of green spaces and the choice of plant species used as well as the sexual selection of female

M. Martínez-Bracero (✉) · P. Alcázar ·
C. Díaz de la Guardia · F. J. González-Minero ·
L. Ruiz · M. M. Trigo Pérez · C. Galán
Universidad de Córdoba, Córdoba, Spain
e-mail: b52mabrm@uco.es

C. Díaz de la Guardia
Universidad de Granada, Granada, Spain

F. J. González-Minero
Universidad de Sevilla, Sevilla, Spain

L. Ruiz
Universidad de Jaén, Jaén, Spain

M. M. Trigo Pérez
Universidad de Málaga, Málaga, Spain

plants in dioecious species have a critical influence on the incidence of allergic conditions in the local population (Cariñanos and Casares-Porcel 2011; Cariñanos et al. 2014). Major species cause increased allergenicity in cities including the lack of biodiversity in urban green spaces and the use of exotic species and/or species producing large amounts of pollen (Cariñanos et al. 2001); the pollen of some abundant species is known to be highly allergenic. Although lack of biodiversity is not a particularly characteristic feature of urban green spaces in the Mediterranean area, the allergenic potential of intended species should be taken into account before they are introduced into urban spaces as shown in Velasco-Jiménez et al. (2014). This information could be obtained by consulting papers where the pollen allergenic character of the species has been proved or databases about allergens (www.allergome.org).

Pollen calendars have already been published in Andalucía, e.g. for Málaga (Recio et al. 1998), Estepona (Recio et al. 2006), Nerja (Docampo et al. 2007) and Vélez Málaga (Trigo Pérez et al. 2007). Elsewhere in Spain, calendars have been produced for the cities of Cáceres (Tavira-Muñoz et al. 1998),

Cartagena (Moreno-Grau et al. 1998), Murcia (Munera 2002), Madrid (Gutiérrez et al. 2006) and Toledo (Pérez-Baldía et al. 2010).

The main goal of this study was to present a pollen calendar for each of the eight Andalusian provincial capitals with a view to charting the seasonal behaviour of different pollen types.

2 Materials and methods

Air sampling was carried out in eight Andalusian cities of which locations are shown in Fig. 1; their main biogeographical characteristics are listed in Table 1.

A Hirst-type volumetric spore trap (Hirst 1952) was used for aerobiological sampling over a 10-year period (2000–2009). Sampling and data analysis were performed in accordance with the standard protocol drawn up by the Spanish Aerobiology Network (REA, Galán et al. 2007), and the minimum recommendations of the European Aeroallergen Network (EAN, Galán et al. 2014). All pollen types accounting for at least 1 % of the total pollen count in the study cities

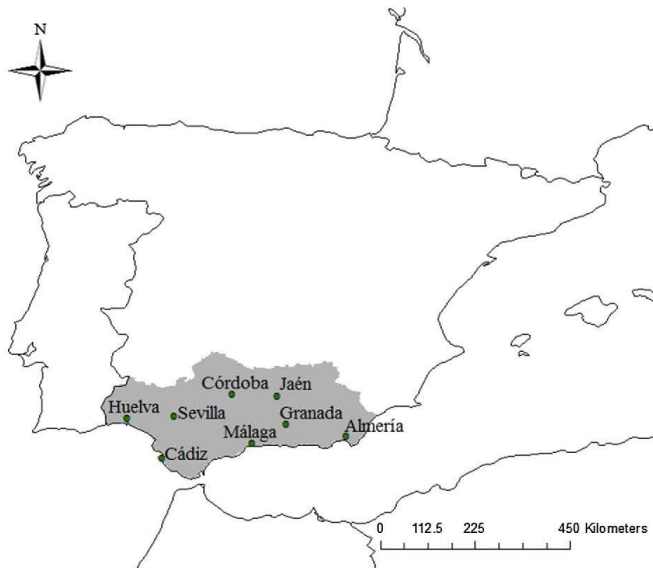


Fig. 1 Location of study cities in southern Spain

Table 1 Biogeographical data for study cities

City	Geographical coordinates	Surface area (km ²) ^a	Density (inhab/km ²) ^a	Average temperature (°C)	Maximum ^b	Minimum ^c	Rainfall (mm)	Altitude (m.s.l.) ^d	Mediterranean bioclimatic belts ^e
Almería	30°50'0"N 2°28'3"W	296.21	646.30	19.4	23.9	16.2	145	23	Thermomediterranean
Cádiz	36°32'0"N 6°17'0"W	12.3	10,077.07	18.5	21.3	15.7	603	7	Thermomediterranean
Córdoba	37°53'5"N 4°46'44"W	1255.24	261.97	17.7	24.6	10.7	536	123	Thermomediterranean
Granada	37°10'27"N 3°35'55"W	88.02	2715.49	15.1	22.7	7.5	357	685	Mesomediterranean
Huelva	37°15'50"N 6°57'47"W	151.33	981.75	18.1	23.5	12.7	490	20	Thermomediterranean
Jaén	37°46'0"N 3°46'0"W	424.3	275.11	17.3	22.1	11.8	593	550	Mesomediterranean
Málaga	36°43'10"N 4°25'12"W	395.13	1436.07	18	22.9	13.1	426	5	Thermomediterranean
Seville	37°22'59"N 5°59'47"W	141.31	4970.31	18.6	24.9	12.2	533	10	Thermomediterranean

^a Data obtained of I.N.E. Censo 2012

^b Average temperature of the daily maximum °C (1971–2000)

^c Average temperature of the daily minimum °C (1971–2000)

^d Alcazar et al. (2011)

^e Rivas-Martínez (1987)

were analysed (Velasco-Jiménez et al. 2014), giving a total of 18 pollen types.

The 10-day average daily pollen count (Julian calendar) was taken as a single value corresponding to the arithmetic mean for a period of ten consecutive days; for 31-day months, the last group contained 11 days, as recommended by Gutierrez et al. (2006), while February was taken as a 29-day month, the last group comprising 9 days.

The pollen count classification recommended by Stix and Ferratti (1974) was used: 1–2 pollen grains/m³ of air; then 3–5, 6–11, 12–24, 25–49, 50–99, 100–199, 200–399, 400–799, 800–1600 and finally over 1600 pollen grains/m³ of air.

3 Results

Percentages of each pollen type exceeding 1 % of the total airborne pollen count in each city are shown in Table 2. These data provide a clear indication of inter-city differences. In all eight cities, the pollen types analysed accounted for over 90 % of the total local pollen index.

The cities displaying the greatest diversity of pollen types are Huelva and Seville, while the smallest number of pollen types is recorded for Jaén, where a larger proportion of the surface area is given over to olive groves and thus *Olea* pollen tends to predominate.

Pollen calendars for the study cities (in alphabetical order) are shown in Figs. 2 and 3; pollen types are ordered by the timing of their appearance.

3.1 Pollen types

Cupressaceae exceed 1 % of the total pollen count in all eight cities; recorded from early autumn to spring. The longest pollen season is recorded in Granada (292 days) and the shortest in Jaén (190 days). Two characteristic peaks are recorded over the pollen season: one in autumn and other in late winter/early spring. In both cases, peaks are highest in Granada (400 and 799 pollen grains/m³ of air in February and March, respectively). The highest daily peak was recorded in Granada on 8 March, 2000, with a daily average of 3717 pollen grains/m³ of air.

Table 2 Contribution of each pollen type to total pollen counts (only pollen types accounting for over 1 % of the total in each city)

Pollen type	Almería	Cádiz	Córdoba	Granada	Huelva	Jaén	Málaga	Seville
<i>Acer</i>				1				
<i>Amaranthaceae</i>	9	3			5		4	2
<i>Artemisia</i>	4							
<i>Casuarina</i>	5				1		1	
<i>Cupressaceae</i>	8	16	11	31	5	6	13	11
<i>Mercurialis</i>	2							
<i>Morus</i>			3					2
<i>Myrtaceae</i>		2			2		1	2
<i>Olea</i>	25	17	34	35	16	73	34	18
<i>Palmae</i>	8	4			3			1
<i>Pinus</i>	8	6	1	2	2	2	2	1
<i>Plantago</i>	1	2	1		2		4	2
<i>Platanus</i>			13	5	3	4	1	17
<i>Poaceae</i>	6	10	9	4	20	4	9	12
<i>Populus</i>			1	2				
<i>Quercus</i>	8	9	15	6	18	5	15	15
<i>Rumex</i>		1			3		2	1
<i>Urticaceae</i>	9	21	6	7	11	1	5	9
% of total	94	92	94	94	91	96	91	92

Urticaceae exceed 1 % of the total pollen count in all eight cities; recorded from early or mid-autumn to summer. The longest pollen season occurs in Granada (326 days) and the shortest in Jaén (158 days). The highest counts are recorded in Cádiz from mid- to late March (100–199 pollen grains/m³ of air). The highest daily peak was observed in Seville on 12 March, 2001 (daily average 373 pollen grains/m³ of air).

Populus exceed 1 % of the total pollen count in Córdoba and Granada; recorded from mid-winter to early spring. Highest counts range between 24 and 49 grains/m³ in mid-February in Córdoba and between 50 and 99 grains/m³ in mid-March in Granada. The highest daily peak was recorded in Córdoba on 17 February, 2008 (daily average 502 pollen grains/m³ of air).

Acer exceed 1 % of the total pollen count in Granada; recorded since late winter to early spring. The highest counts are recorded in mid-March (25–49 pollen grains/m³ of air). The highest daily peak was observed on 15 March, 2009 (daily average 295 pollen grains/m³ of air).

Platanus exceed 1 % of the total pollen count in Córdoba, Granada, Huelva, Jaén, Málaga and Seville. The pollen season is the shortest of all the pollen types studied, ranging from 47 days in Jaén to 66 days in

Seville. The season starts in late winter in Córdoba and Seville and in early spring elsewhere; it finished in mid-spring in all cities. The highest count is recorded in Seville in mid-March (400–799 pollen grains/m³ of air). The highest daily peak was noted in Córdoba on 16 March, 2003 (daily average 4650 pollen grains/m³ of air).

Morus exceed 1 % of the total pollen count in Córdoba and Seville. The pollen season lasts from late winter to mid-spring; it starts and finishes earlier in Seville. The highest counts range between 50 and 99 pollen grains/m³ of air in late April in Córdoba. The highest peak was observed on 24 March, 2002, in Córdoba (daily average 883 pollen grains/m³ of air).

Pinus exceed 1 % of the total pollen count in all cities. The pollen season starts between mid- and late winter and finishes between late spring and early summer. Two peaks are recorded over the pollen season—one in early spring and the other in late spring—since this pollen type includes various species. The highest counts are recorded in Córdoba in early and mid-May (400–799 pollen grains/m³ of air). The highest daily mean count was observed in Córdoba on 14 April, 2006 (daily average 636 pollen grains/m³ of air).

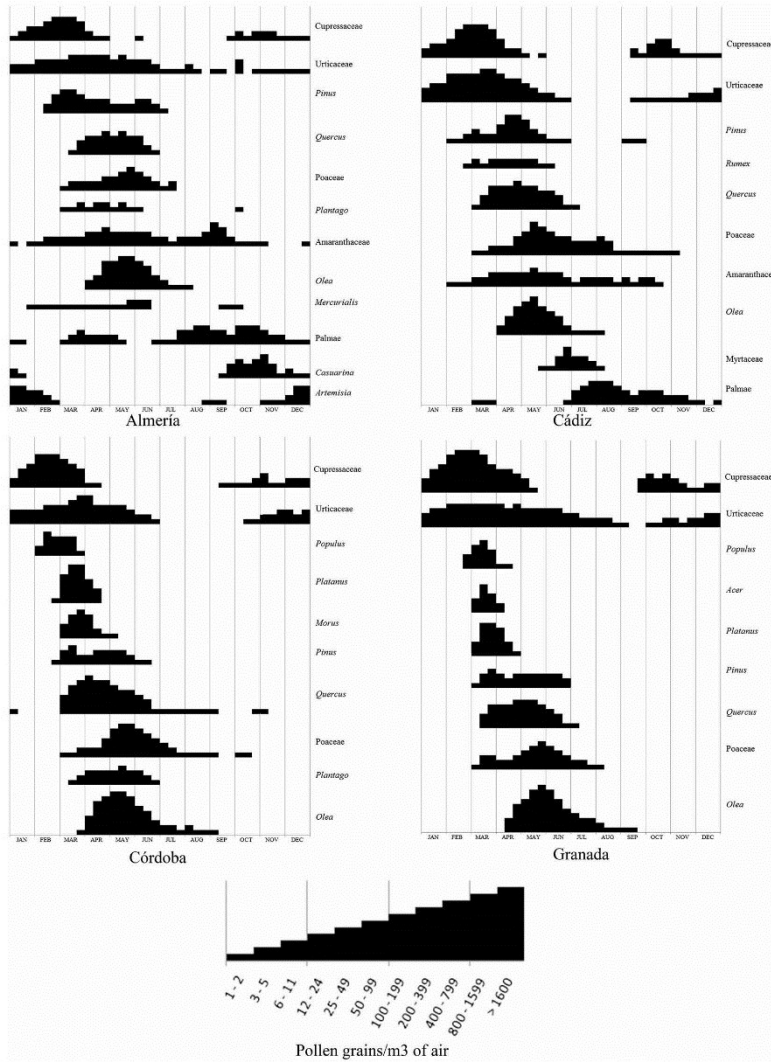


Fig. 2 Pollen calendar of Almería, Cádiz, Córdoba and Granada

Rumex exceed 1 % of the total pollen count in Cádiz, Huelva, Málaga and Seville. The pollen season starts in late winter and finishes in late spring. The

highest counts range between 6 and 11 pollen grains/ m^3 of air, recorded in Huelva in mid-February and from mid-March to early May; in Seville from mid- to late

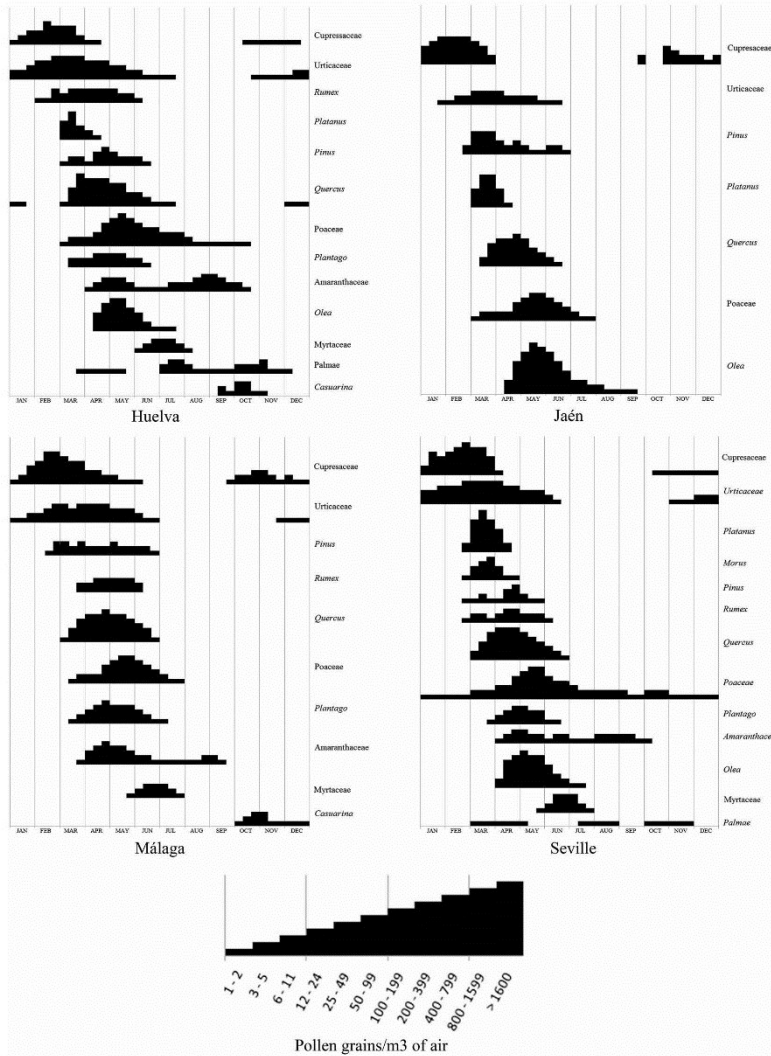


Fig. 3 Pollen calendar of Huelva, Jaén, Málaga and Seville

April and in Málaga from mid-April to late May. The highest daily peak was noted in Seville on 12 March, 2001 (daily average 112 pollen grains/m³ of air).

Quercus exceed 1 % of the total pollen count in all cities. The pollen season starts in late winter and lasts until early summer. Córdoba has the longest pollen

season (232 days). The highest counts are recorded in Córdoba in early April (200–399 pollen grains/m³ of air). The highest daily peak was observed in Córdoba on 2 April, 2006 (daily average 400 pollen grains/m³ of air).

Poaceae exceed 1 % of the total pollen count in all cities. In Seville, this pollen type is presented throughout the year. The pollen season starts in late winter in all cities, the latest start date being observed for Málaga; it finishes first in eastern Andalusia in mid-summer, and later in western Andalusia in early autumn. The highest counts are recorded in Cádiz and Huelva in mid-May and in Córdoba and Seville from mid- to late May (100–199 pollen grains/m³ of air). The highest daily peak was recorded in Seville on 25 May, 2001 (daily average 881 pollen grains/m³ of air).

Plantago exceed 1 % of the total pollen count in Almería, Cádiz, Córdoba, Huelva, Málaga and Seville. The pollen season starts first in Cádiz in mid-winter and then in other cities in early spring and finishes in early summer in all cities. The highest counts are recorded in Cádiz between mid- and early April (50–99 pollen grains/m³ of air). However, the highest daily peak was observed in Málaga on 29 April, 2002 (daily average 153 pollen grains/m³ of air).

Amaranthaceae exceed 1 % of the total pollen count in Almería, Cádiz, Huelva, Málaga and Seville; recorded from mid-winter in Cádiz and Almería and from spring elsewhere, to autumn in all cities. The highest concentrations are detected in Málaga in spring and in Almería in late summer (25–49 pollen grains/m³ of air). The highest daily peak was observed in Málaga on 25 April, 2005 (daily average 120 pollen grains/m³ of air).

Olea exceed 1 % of the total pollen count in all cities. The pollen season starts first in Córdoba and Málaga in early spring and later in the other cities in mid-spring; it finishes first in Huelva and Seville, second in Málaga in mid-summer, later in Almería and Cádiz—though also in mid-summer—and finally in Córdoba, Granada and Jaén in late summer. The highest pollen counts are recorded in mid-May in Jaén (over 1600 pollen grains/m³ of air). The highest daily peak was detected in Jaén on 15 May, 2003 (daily average 12,079 pollen grains/m³ of air).

Mercurialis exceed 1 % of the total pollen count in Almería. The pollen season starts in early winter and ends in late spring. The highest counts are recorded from late May to mid-June (3–5 pollen grains/m³ of air). The highest daily peak was observed on 17 July, 2005 (daily average 88 pollen grains/m³ of air).

Myrtaceae exceed 1 % of the total pollen count in Cádiz, Huelva, Málaga and Seville. The pollen season starts in late spring and finishes in mid-summer. The highest counts are recorded in Cádiz in late June (25–49 pollen grains/m³ of air). The highest daily peak was observed in Cádiz on 28 June, 2008 (daily average 382 pollen grains/m³ of air).

Palmae exceed 1 % of the total pollen count in Almería, Cádiz, Huelva and Seville. The pollen season displays two peaks: one in early spring and the other from summer to early winter, when most of the family's species are in bloom. The first peak covers from late winter to early spring in Cádiz, and to mid-spring elsewhere, while the second covers from early summer to late autumn in all cities except Almería where it finishes in early winter; in this second peak, counts are higher in all cities, particularly in Cádiz from late July to mid-August (25–49 pollen grains/m³ of air). The maximum daily peak was observed in Cádiz on 20 July, 2003 (daily average 260 pollen grains/m³ of air).

Artemisia exceed 1 % of the total pollen count in Almería. The pollen season starts in mid-autumn and ends in late winter. The highest counts are recorded from mid-December to mid-January (12–24 pollen grains/m³ of air). The daily peak value was observed on 5 January, 2007 (daily average 147 pollen grains/m³ of air).

4 Discussion

The value of the pollen calendar lies in the fact that it provides a highly illustrative representation of airborne pollen dynamics throughout the year (Belmonte and Roure 2002). Here, pollen calendars obtained for the provincial capitals of Andalusia yielded new information, enabling the seasonal behaviour of various pollen types to be charted over a wider area. While earlier calendars used a smaller number of years, the 10-year historical database used here provided more reliable results, reducing annual fluctuations due to environmental variations mainly prompted by changing weather patterns. Moreover, by focusing only on pollen types accounting for over 1 % of total airborne pollen counts in each city, a clearer view of pollen was obtained to which local residents are exposed. The 18 pollen types studied here accounted for over 90 % of the total pollen count in all cities and were thus representative for the pollen spectrum in Andalusia.

The number of pollen types recorded varied from seven in Jaén to 13 in Almería; both figures are lower than those reported in other pollen calendars, e.g. 20 in Madrid (Gutierrez et al. 2006), 29 in Málaga (Recio et al. 1998) and Nerja (Docampo et al. 2007) and 35 in Estepona (Recio et al. 2006).

In Andalusia, the pollen types exceeding 1 % of the total count at all locations were Cupressaceae, *Olea*, *Pinus*, Poaceae, *Quercus* and Urticaceae. Research on airborne pollen counts elsewhere in Spain suggests that these are also the most abundant taxa in Toledo (Pérez-Baldía et al. 2010), Madrid (Gutierrez et al. 2006) and Cáceres (Tavira-Muñoz et al. 1998). These findings also coincide with the results reported in other aerobiological studies carried out in Córdoba (Cariñanos et al. 2000), Granada (Alba and de la Guardia 1999), Seville (Candau et al. 2002) and Huelva (González-Minero et al. 2002).

Olea and Poaceae are regarded as the most allergenic pollen types in the Mediterranean region. The prevalence of positive skin prick tests among pollinosis patients in Spain is 87 % for Poaceae and 36.3 % for *Olea* (D'Amato et al. 1998). Studies about the clinical symptoms in patients suffering from allergy showed that *Olea* (Brito et al. 2011) and Poaceae (Walker et al. 2001) caused rhinitis and asthma as prevalent symptoms. The highest *Olea* pollen counts for Andalusia were recorded in Jaén, the province with the largest surface area of olive groves. The longest Poaceae pollen season was observed in Seville, probably due to the inner-city location of the sampler. According to the data of the Counselling for Environment, Seville is the city of Andalusia with the highest number of days with an unacceptable air quality, being CO₂ one of the measured parameters (<http://www.juntadeandalucia.es/medioambiente/site/portalweb/>). It has been demonstrated that high CO₂ concentrations increase the plant growing (Poorter 1993) as well as the pollen production (Rogers et al. 2006; García-Mozo et al. 2010). Temperature, CO₂ concentration and many areas of wasteland on which grass grows could generate a longer pollen season in Seville.

The use of a range of ornamental species in the design of urban green spaces has undoubtedly influenced the pollen spectrum in the study cities. The highest Cupressaceae concentrations in Andalusia were recorded in Granada followed by Córdoba, due to the greater abundance of this tree there (Cariñanos et al. 2014). *Platanus* pollen exceeded 1 % of the total

in all locations, but only in Córdoba and Seville did it exceed 10 %, reflecting the predominant use of this species as a shade tree (Alcázar et al. 2004, 2011; Velasco-Jiménez et al. 2013). *Morus* pollen exceeded 1 % in Córdoba and Seville, where it is used as an ornamental (Velasco-Jiménez et al. 2013). *Palmae* pollen exceeds 1 % of the total in Almería, Cádiz, Huelva and Seville, where palms are widely planted to line streets and avenues. The massive use of allergenic plants in the urban landscape could lead to health problems for the population. For that reason, when planning urban green areas, attention should be paid to the allergenicity of the species planted, avoiding the massive use of male individuals in dioecious species and increasing plant biodiversity in green areas, among other things (Cariñanos and Casares-Portel 2011). Careful planning in this respect could improve the quality of life of local residents.

5 Conclusions

Pollen calendars for Andalusia revealed considerable inter-city diversity, with variations in both the pollen spectrum and the seasonal behaviour of the pollen types studied. This is due in part to the variety of urban landscapes, and also to the influence of periurban landscapes, which contain natural vegetation as well as crops. Pollen calendars are a valuable tool for studying the effect of air quality on the well-being of local residents, providing key information both to allergists for planning treatments and to allergy sufferers for planning their work and recreational activities. This study evidence the important role that authorities can play when designing healthy urban green areas.

Acknowledgments The authors are grateful to the following project for funding this work: P10-RNM-5958: Análisis de la dinámica del polen atmosférico en Andalucía. Research Project of Excellence, Andalusia Regional Government.

References

- Alba, F., & de la Guardia, C. D. (1999). Aerobiología en Andalucía, Estación de Granada. *REA*, 5, 35–38.
- Alcázar, P., Cariñanos, P., de Castro, C., Guerra, F., Moreno, C., Domínguez-Vilches, E., & Galán, C. (2004). Airborne plane-tree (*Platanus hispanica*) pollen distribution in the city of Córdoba, South-western Spain, and possible

- implications on pollen allergy. *Journal of Investigational Allergology and Clinical Immunology*, 14(3), 238–243.
- Alcázar, P., García-Mozo, H., Trigo, M. M., Ruiz, L., González-Minero, F. J., Hidalgo, P., et al. (2011). Platanus pollen season in Andalusia (southern Spain), trends and modeling. *Journal of Environmental Monitoring*, 13, 2502–2510.
- Belmonte, J., & Roure, J. M. (2002). Introducción. En, A. L. Valero & A. Cadahía (Eds.), *Polinosis. Polen y alergia*. pp. 7–16.
- Bríto, F. F., Gimeno, P. M., Carnés, J., Martín, R., Fernández-Caldas, E., Lara, P., et al. (2011). Olea europaea pollen counts and aeroallergen levels predict clinical symptoms in patients allergic to olive pollen. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*, 106(2), 146–152.
- Candau, P., Carrasco, M., Pérez Tello, A. M., González-Minero, F. J., & Morales, J. (2002). Aerobiología en Andalucía, Estación de Cádiz. *REA*, 7, 43–48.
- Cariñanos, P., & Casares-Porcel, M. (2011). Urban green zones and related pollen allergy: A review. Some guidelines for designing spaces with low allergy impact. *Landscape and Urban Planning*, 101, 205–214.
- Cariñanos, P., Casares-Porcel, M., & Quesada-Rubio, J. M. (2014). Estimating the allergenic potential of urban green spaces: A case-study in Granada, Spain. *Landscape and Urban Planning*, 123, 34–144.
- Cariñanos, P., Galán, C., Alcázar, P., & Domínguez, E. (2000). Aerobiología en Andalucía: Estación de Córdoba (1999). *REA*, 6, 19–22.
- Cariñanos, P., Prieto, J. C., Galán, C., & Domínguez, E. (2001). Solid suspended particles affecting the quality of air in urban environments. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 67(3), 385–391.
- D'Amato, G., Cecchi, L., Bonini, S., Nune, C., Annesi-Maesano, I., Behrendt, H., et al. (2007). Allergenic pollen and pollen allergy in Europe. *Allergy*, 62, 976–990.
- D'Amato, G., Spiekma, F. Th M., Licadi, G., Jäger, S., Russo, M., Kontou-Fili, K., et al. (1998). Pollen-related allergy in Europe. *Allergy*, 53, 567–578.
- Docampo, S., Recio, M., Trigo, M. M., Melgar, M., & Cabezudo, B. (2007). Risk of pollen allergy in Nerja (southern Spain), a pollen calendar. *Aerobiologia*, 23, 189–199.
- Fernández, J. (1992). Allergenic activity of date palm (*Phoenix dactylifera*) pollen. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 89, 148.
- Galán, C., Cariñanos, P., Alcázar, P., & Domínguez, E. (2007). Manual de Calidad y Gestión de la Red Española de Aerobiología. Servicio de publicaciones universidad de Córdoba.
- Galán, C., Smith, M., Thibaudon, M., Frenguelli, G., Oteros, J., Gehrig, R., et al. (2014). Pollen monitoring: Minimum requirements and reproducibility of analysis. *Aerobiologia*, 30, 385–395.
- García-Mozo, H., Galán, C., Alcázar, P., de la Guardia, C. D., Nieto-Lugilde, D., Recio, M., & Domínguez-Vilches, E. (2010). Trends in grass pollen season in southern Spain. *Aerobiologia*, 26(2), 157–169.
- González-Minero, F. J., Candau, P., Pérez, A. M., & Carrasco, M. (2002). Aerobiología en Andalucía, Estación de Huelva. *REA*, 7, 71–76.
- Gutiérrez, M., Sabariego, S., & Cervigón, P. (2006). Calendario polínico de Madrid (Ciudad Universitaria). Período 1994–2004. *Lazaroa*, 27, 21–27.
- Hirst, J. M. (1952). An automatic volumetric spore trap. *Annals of Applied Biology*, 39, 257–265.
- Moreno-Grau, S., Bayo, J., Elvira-Rendueles, B., Angosto, J. M., Moreno, J. M., & Moreno-Clavel, J. (1998). Statistical evaluation of three years of pollen sampling in Cartagena, Spain. *Grana*, 37, 41–47.
- Munera, M. (2002). Interés de los registros aerobiológicos regionales. Originalidades aerobiológicas de la ciudad de Murcia. *Anales de biología*, 24, 185–194.
- Pérez-Badía, R., Rapp, A., Morales, C., Sardinero, S., Galán, C., & García-Mozo, H. (2010). Pollen spectrum and risk of pollen allergy in central Spain. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 17, 139–151.
- Poorter, H. (1993). Interspecific variation in the growth response of plants to an elevated ambient CO₂ concentration. *Vegetatio*, 104(1), 77–97.
- Recio, M., Cabezudo, B., Trigo, M. M., & Toro, F. J. (1998). Pollen calendar of Málaga (Southern Spain), 1991–1995. *Aerobiologia*, 14, 101–107.
- Recio, M., Trigo, M. M., Toro, F. J., Docampo, S., García-González, J. J., & Cabezudo, B. (2006). A three-year aeropalynological study in Estepona (southern Spain). *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 13, 201–213.
- Rivas-Martínez, S. (1987). *Memoria del mapa de series de vegetación de España* 1:400.000. Madrid. ICONA.
- Rogers, C. A., Wayne, P. M., Macklin, E. A., Muilenberg, M. L., Wagner, C. J., Epstein, P. R., & Bazzaz, F. A. (2006). Interaction of the onset of spring and elevated atmospheric CO₂ on ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L.) pollen production. *Environmental Health Perspectives*, 114, 865–869.
- Stix, E., & Ferretti, M. L. (1974). Pollen calendars of three locations in Western Germany. *Atlas European des Pollens Allergisants*, pp. 85–94.
- Tavira-Muñoz, J., Tormo Molina, R., Muñoz, Rodríguez F., Silva Palacios, I., & Gonzalo Garijo, M. A. (1998). Calendario Polínico de la ciudad de Cáceres. *Alergología e inmunología clínica*, 13(5), 288–293.
- Trigo Pérez, M. M., Melgar Caballero, M., García Sánchez, J., Recio Criado, M., Docampo Fernández, S., & Cabezudo Artero, B. (2007). El polen en la atmósfera de Vélez-Málaga. Concejalía de Medio Ambiente. Ayuntamiento de Vélez-Málaga. ISBN:978-84-88430-14-4.
- Velasco-Jiménez, M. J., Alcázar, P., Domínguez-Vilches, E., & Galán, C. (2014). Comparative study of airborne pollen counts located in different areas of the city of Córdoba (south-western Spain). *Aerobiologia*, 29(1), 113–120.
- Velasco-Jiménez, M. J., Alcázar, P., Valle, A., Trigo, M. M., Minero, F., Domínguez-Vilches, E., & Galán, C. (2013). Aerobiological and ecological study of the potentially allergenic ornamental plants in south Spain. *Aerobiologia*, 27, 239–246.
- Walker, S. M., Pajno, G. B., Lima, M. T., Wilson, D. R., & Durham, S. R. (2001). Grass pollen immunotherapy for seasonal rhinitis and asthma: A randomized, controlled trial. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 107(1), 87–93.



Universidad de Córdoba
Departamento de Botánica Ecología y Fisiología Vegetal