



Observación mediante microscopio electrónico de las fases de contaminación y esporulación de

PROTECCIÓN

Resumen

Se inocularon hojas de *Vitis vinifera* L. cv. Albariño (susceptible) y *V. rupestris* (resistente) con *Plasmopara viticola*. A continuación, se observaron mediante microscopía electrónica de barrido a baja temperatura (LT-SEM), las fases de contaminación y esporulación del hongo. A las 24hpi (horas post inoculación), el genotipo resistente (*V. rupestris*), presentaba pocos estomas infectados y a veces se observaban, en algunos de ellos, secreciones que rodeaban a las zoosporas. La formación de esporangióforos era menor y los esporangios eran escasos y más pequeños. Por el contrario, en el genotipo susceptible (Albariño), a las 24hpi ya había un gran número de estomas infectados por entre 2 y 5 zoosporas. La vesícula subestomática era perfectamente visible y no se observaron secreciones alrededor de las zoosporas. A las 72hpi había muchos esporangióforos y esporangios que ya estaban libres. En general el desarrollo del hongo en el genotipo susceptible fue muy superior a que en el genotipo resistente.

Palabras clave: *Vitis* spp., *Plasmopara viticola*, Susceptibilidad, Resistencia, Esporulación, Necrosis, Microscopía.

Abstract

Observation of the *Plasmopara viticola* contamination and sporulation stages by electron microscopy, on a resistant genotype and another susceptible. Leaves of *Vitis vinifera* L. cv. Albariño (susceptible) and *V. rupestris* (resistant) were inoculated with *Plasmopara viticola*. Both contamination and sporulation stages were then examined by low temperature scanning electron microscopy (LT-SEM). Only few infected stomata were observed, twenty-four hours after inoculation, on the resistant genotype (*V. rupestris*), showing in some cases secretions surrounding the zoospores. On the sensitive genotype (cv. Albariño), a high number of infected stomata were detected at the same time after inoculation, with 2 to 5 zoospores per infected stomata. The substomatic vesicle was clearly visible with no secretion around the zoospores. After seventy-two hours there were a lot of sporangiophores and sporangia spread on the leaf surface at the sensitive genotype, while the development of sporangiophores was weaker on the resistant genotype, with fewer and smaller sporangia.

Key words. *Vitis* spp., *Plasmopara viticola*, Susceptibility, Resistance, Sporulation, Necrosis, Microscopy.

Plasmopara viticola, en un genotipo resistente (*Vitis rupestris*) y otro susceptible (*Vitis vinifera* L, cv. Albariño)

S. BOSO¹, V. ALONSO-VILLAVERDE¹, P. GAGO¹, J.L. SANTIAGO¹, M.C. MARTÍNEZ¹ y H-H. KASSEMAYER²

(1) Misión Biológica de Galicia (Consejo Superior de Investigaciones Científicas).

(2) Abt. Biologie / Dept. Biology, Phytopathologie & Pflanzenschutz / Plant Pathology & Plant Protection, Staatliches Weinbauinstitut Merzhauser.

Introducción

El número de enfermedades que atacan a *Vitis vinifera* es elevado y aumenta constantemente con el trasiego de material vegetal entre distintos países y continentes. Además de provocar grandes pérdidas, estas enfermedades contribuyen a deteriorar considerablemente el medio ambiente, ya que obligan a la aplicación de numerosos tratamientos fitosanitarios a lo largo de cada ciclo vegetativo. Una de las enfermedades de mayor incidencia a nivel mundial en las viníferas es el Mildiu (*Plasmopara viticola*). Dicha enfermedad llegó a Europa, procedente de América, hace relativamente poco tiempo (finales siglo XIX, principios XX). *Plasmopara viticola* existía en América donde convi-

vía con otras vitáceas que no se veían muy afectadas por su presencia, ya que eran resistentes a este hongo. Sin embargo, su presencia en Europa, poco tiempo después de la llegada de la filoxera, provocó un auténtico desastre debido a que muchas de las viníferas son altamente susceptibles. A pesar de que pronto se encontró el remedio a la enfermedad con la aplicación de diferentes tratamientos a base de cobre, y que en la actualidad se han desarrollado productos fitosanitarios bastante eficaces, sigue constituyendo un considerable problema en gran parte de las zonas vitícolas europeas, y dentro de España en el Norte y Noroeste de la península. La tendencia en la viticultura actual a desarrollar un cultivo cada vez más sostenible y respetuoso con el medio ambiente agrava el problema, en

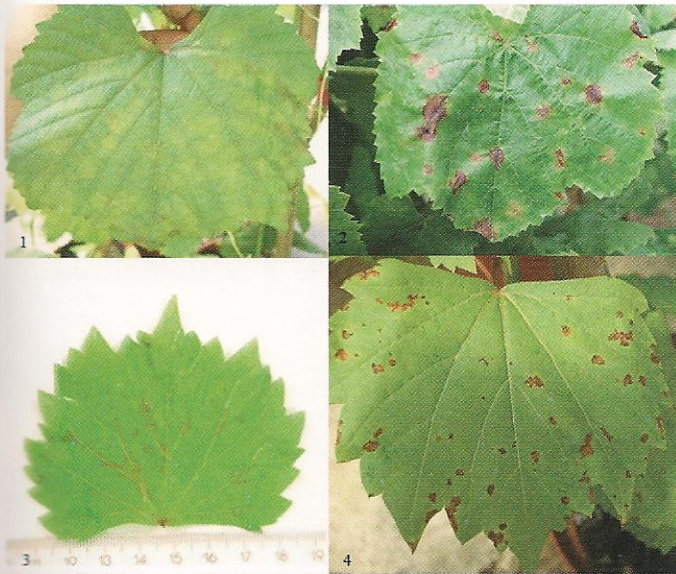


Figura 1 Expresión de los síntomas Macroscópicos de *P. viticola*. Manchas de aceite y mosaico en el genotipo susceptible cv. Albariño (1 y 2). Manchas necróticas en el genotipo resistente *Vitis rupestris* (3 y 4).

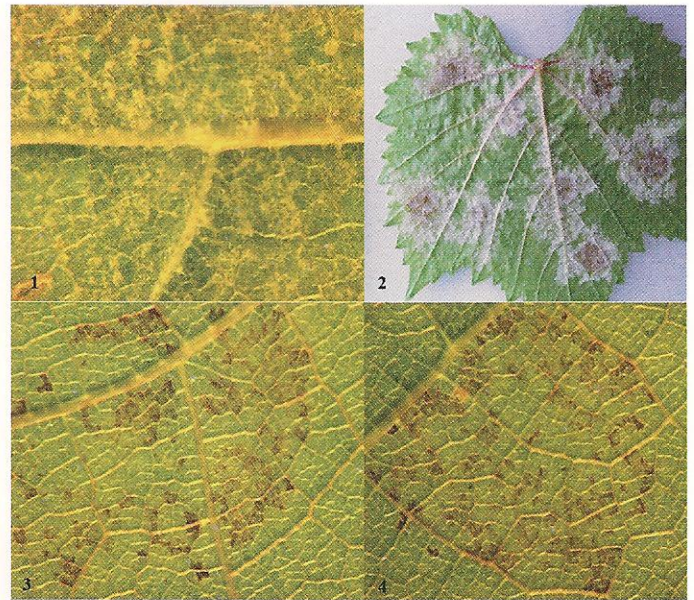


Figura 2. Esporulación en el envés de la hoja en la variedad Albariño (1 y 2). Necrosis en el envés de la hoja en la variedad *Vitis rupestris* (3 y 4).

estas zonas en las que las condiciones para el desarrollo del hongo son especialmente óptimas.

Donde más a menudo y con mayor facilidad ataca el Mildiu a la planta de vid es en las hojas. Dependiendo de la edad de éstas y del período de incubación, las lesiones son diferentes. Los síntomas son fácilmente diferenciables, tanto por el haz como por el envés. Es por lo tanto en este órgano, donde se centran la mayor parte de los estudios sobre el desarrollo de *Plasmopara viticola* o sobre el mayor o menor grado de susceptibilidad de la planta frente a esta enfermedad. Diversos autores, utilizando diferentes técnicas (BOUBALS, 1959, 1961; RIBEREAU-GAYÓN y PEINAUD, 1971; GALET, 1977, 1995; STAUDT y KASSEMAYER, 1995; WANG *et al.*, 1995; YPEMA y GUBLER, 2000), han demostrado la existencia de distintos comportamientos en cuanto al nivel de susceptibilidad a Mildiu dentro de la especie *Vitis vinifera* L. o entre distintas especies del género *Vitis*. Estudios histológicos en hoja, mediante microscopía de fluorescencia, que abarcan la descripción y visualización del desarrollo (proceso de enquistamiento y penetración, la colonización del tejido huésped, el proceso de esporulación, etc.) y mor-

fología del hongo, han sido llevados a cabo en los últimos años (KIEFER *et al.*, 2002; RIEMANN *et al.*, 2002; RUMBOLZ *et al.*, 2002; MUSETTI, 2005; BOSO *et al.*, 2005; BOSO *et al.*, 2006, UNGER *et al.*, 2007). Son también recientes los estudios bioquímicos sobre reacciones de defensa en las plantas tolerantes o en las especies resistentes, tales como la síntesis de fitoalexinas (GINDRO *et al.*, 2003), los procesos de lignificación tales como los inducidos por peroxidasas (DAI *et al.*, 1995; KORTEKAMP y ZYPRIAN, 2003), las necrosis de las células como consecuencia de una respuesta de hipersensibilidad (DENZER *et al.*, 1995 a,b; BROWN *et al.*, 1999; KASSEMAYER, 2003), la formación de calosa en los estomas (GINDRO *et al.*, 2003, KORTEKAMP *et al.*, 1997), la producción de formas activas de oxígeno "ROS" (KORTEKAMP *et al.*, 1998; KORTEKAMP y ZYPRIAN, 2003), o las reacciones de defensa por parte de la planta frente a la presencia de determinadas moléculas inductoras (elicitores) MAUCH-MANI, 2002; HAMIDUZZAMAN *et al.*, 2005), etc. En todos ellos se toma la hoja como material de estudio.

Según algunos autores (GAÜMAN, 1950; RIBEREAU-GAYÓN, 1971; AGRIOS, 1988), dentro de las viníferas se habla de tres tipos de resistencia:

Resistencia de Tipo I, que es la resistencia a la infección por el patógeno, que es nula en el caso de *Vitis vinifera*. **Resistencia Tipo II**: resistencia a la penetración del hongo. La vellosidad de las hojas y capa cerosa de éstas son dos de los factores que podrían intervenir, sobre todo porque impiden que el agua moje el limbo y las zoosporas se desplacen. **Resistencia Tipo III**: resistencia a la expansión del patógeno: aquí parece que es donde residen las posibles diferencias entre las distintas vitáceas.

El objetivo de este trabajo es describir y comparar las fases de contaminación (enquistamiento y penetración) y esporulación de *Plasmopara viticola*, a nivel macroscópico y microscópico (microscopía electrónica, LT-SEM), en dos genotipos: uno perteneciente a la resistencia de tipo II (*Vitis vinifera*, cv. Albariño) y otro a la resistencia Tipo I (*Vitis rupestris*).

Material y métodos

Material vegetal. Se estudiaron dos genotipos de vid, uno altamente susceptible (*Vitis vinifera*, cv. Albariño) y otro considerado como altamente resistente (*Vitis rupestris*). Ambos genotipos se conservaban en invernadero bajo con-

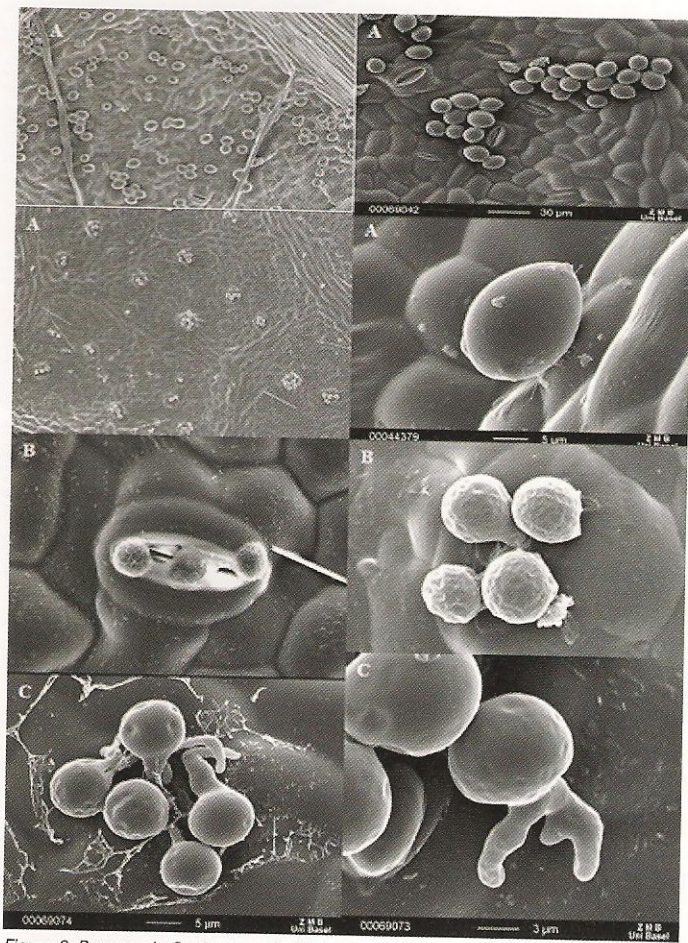


Figura 3. Proceso de Contaminación (24hpi) de *P. viticola* en el genotipo susceptible (cv. Albariño), mediante microscopía electrónica (LT-SEM). Esporangios adheridos a la superficie de la hoja (A), zoosporas penetrando por los estomas (B), zoosporas enquistadas con hifas primarias (C).

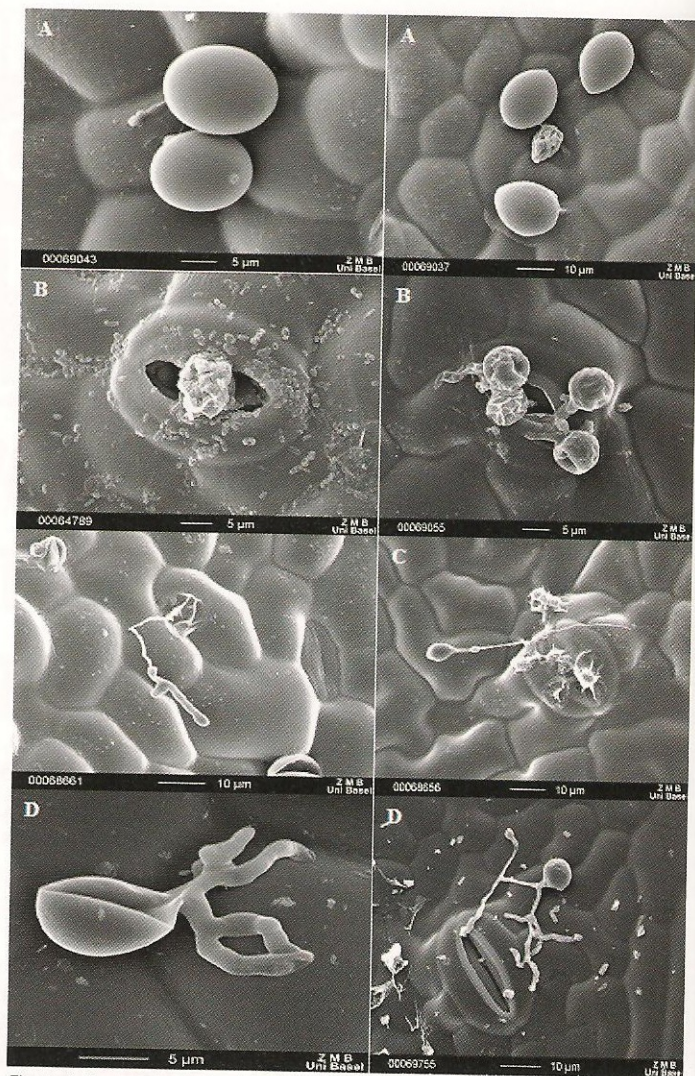


Figura 4. Proceso de Contaminación (24hpi) de *P. viticola* en el genotipo resistente (*Vitis rupestris*), mediante microscopía electrónica de barrido a baja temperatura (LT-SEM). Esporangios adheridos a la superficie de la hoja (A), zoosporas rodeadas de secreciones penetrando por los estomas (B), zoosporas enquistadas y vesícula subestomática con desarrollo anormal (C y D).

diciones controladas de luz (16h de fotoperíodo), temperatura (25°C) y humedad (80-90%).

Extracción, propagación y conservación del inóculo. *P. viticola* se aisló en los meses de octubre-noviembre, a partir de hojas y sarmientos procedentes de infecciones naturales en los viñedos. El cv. Müller-Thurgau, se utilizó como reservorio para la conservación y propagación del hongo en el invernadero. Durante varios meses se indujo la producción de una cantidad apropiada de inóculo en una cámara climática con atomizador, para inducir la esporulación. Para preparar la suspensión de esporangios utilizada en las inoculaciones, se hizo un recuento con una cámara Fuchs-Rousenthal y se prepararon diluciones hasta obtener una concentración final de 25.000 esporangios ml⁻¹.

Metodología para las Inoculaciones: Se utilizó la metodología propuesta por BOSO *et al.* (2006). Cada uno de los genotipos a estudiar (5 plantas por genotipo), se pulverizaron con la suspensión de esporangios de concentración conocida preparada tal y como se acaba de explicar en el anterior párrafo. Posteriormente se cubrieron las plantas con un saco de polietileno húmedo, dejándolo actuar toda la no-

che a 25°C. Al día siguiente, se retiró el saco de plástico y se mantuvieron las plantas en el invernadero durante 5-6 días. Al 5º día se evaluaron macroscópicamente los síntomas. Las plantas inoculadas fueron cultivadas en una cámara climática bajo condiciones de día largo (luz blanca 300µmol m⁻² s⁻¹ 16 h, oscuridad 8 h), a 25°C y humedad relativa superior al 95%. Para hacer el seguimiento del desarrollo del hongo, a las 24 hpi (horas postinoculación) se cogió una primera muestra de hojas de cada genotipo (5 por genotipo, 1 por planta) y en fresco se realizaron las observaciones, a través de un microscopio electrónico de barrido a baja temperatura. A las 48, 72 y 96 hpi, se repitieron los muestreos y las observaciones de la misma forma (siempre en hojas frescas).

Microscopio electrónico de barrido a baja temperatura (LT-SEM): con ayuda de una cuchilla de afeitar, se cortaron en cada una de las hojas, a diferentes intervalos (24, 48, 72 y 96 hpi), pequeñas porciones de limbo (3mm x 10mm). Estas

muestras se fijaron sobre unas placas específicas para SEM, y posteriormente se congelaron, sumergiéndolas en nitrógeno líquido. A continuación, se colocaron en un soporte de muestras Balzer. Mediante un manipulador equipado con una cámara de anticontaminación, el soporte fue transferido (bajo condiciones de flujo de gas nitrógeno) a una unidad de criopreparación Balzer SCU 020, conectada a un microscopio de electrones Jeol JSM 6300 (MÜLLER *et al.* 1991). Para cada uno de los dos genotipos, se tomaron microfotografías de los detalles más relevantes en los distintos intervalos de tiempo.

Resultados y discusión

A nivel macroscópico, se observaron diferencias muy claras en los dos genotipos estudiados (*Figuras 1 y 2*). Albariño presentó en el haz de las hojas, las típicas “manchas de aceite”, circulares y de color amarillento, como consecuencia de la interrupción de la llegada de la clorofila, provocada por el hongo. Posteriormente estas manchas adquirieron colores pardo-rojizos con formas poligonales, más pequeñas y no localizadas (necrosis de las células). En el envés de la hoja se observó, a los pocos días de la infección, la presencia de un polvillo blanquecino (esporulación), constituido por numerosos filamentos ramificados que eran las hifas del hongo. Por el contrario, *Vitis rupestris* no presentó esporulación por el envés de la hoja, pero sí se observaron manchas necróticas,

que eran consecuencia de la respuesta de hipersensibilidad que tiene lugar en las hojas de variedades resistentes, es decir, la muerte de las células para evitar el avance del hongo. Esta respuesta de la planta frente al ataque del hongo, ya ha sido observada por otros autores, en diferentes especies y variedades de vid (DAI *et al.*, 1995; BUSAM *et al.*, 1997; KORTEKAMP *et al.*, 1998; BROWN *et al.*, 1999; DICK, 2002; RUMBOLZ *et al.*, 2002; KORTEKAMP y ZYPRIAN, 2003; BOSO *et al.*; 2006).

A nivel microscópico, con la ayuda del microscopio electrónico de barrido a baja temperatura, se observaron las fases de contaminación y esporulación de *P. viticola* en los dos genotipos estudiados (susceptible y resistente). En las primeras fases se observó como las zoosporas salían de los esporangios (*Figuras 3A y 4A*). A continuación se podían ver las zoosporas ya enquistadas (*Figuras 3B y 4B*). Posteriormente las zoosporas penetrando por los estomas y la formación de las vesículas subestomáticas (*Figuras 3C, 4C,D*). En estas últimas incluso fue posible ver algunas vesículas subestomáticas con hifas primarias. Por último, se observó el proceso de esporulación, con la presencia de esporangióforos y esporangios (*Figuras 5 y 6*).

Comparando las observaciones realizadas a nivel microscópico entre ambos genotipos (*Figuras 3 y 4*), se pudo comprobar que, a las 24 horas postinoculación (hpi), ya había di-

LEVEL²™ TD

UNA NUEVA DIMENSIÓN EN LA ELABORACIÓN DE VINO

La primera levadura seleccionada no convencional (*Torulaspora delbrueckii*) para la elaboración de vinos diferentes con mayor complejidad, mediante inoculación secuencial con una cepa específica de *Saccharomyces cerevisiae*.

$[1+1] > 2$

TD 291 *Torulaspora delbrueckii*

1^{ER} NIVEL

Saccharomyces cerevisiae

2^º NIVEL

Level2TD[®] incluye TD 291, una cepa específica de levadura *Torulaspora delbrueckii*, seleccionada y producida por Lallemand, y una cepa específica de levadura *Saccharomyces cerevisiae* complementaria y sinérgica. Se inocula en el mosto TD 291 (*Torulaspora delbrueckii* – Level2TD 1^{er} Nivel) y a continuación, tras una bajada de la densidad de 10-15 puntos, se inocula en el mosto Level2TD 2^º Nivel (*Saccharomyces cerevisiae*). $[1+1]>2$

Level2 TD[®] permiten reproducir de forma controlada la sucesión de poblaciones que tiene lugar en fermentaciones espontáneas.

Level2 TD[®] incrementa la calidad, personalidad y longevidad de los vinos blancos y rosados, diferenciándolos de los obtenidos con levaduras tradicionales.

Distribuido por:
Lallemand Bio S.L.

TEL.: 902 884 212
FAX: 902 884 213

Producido por:

www.lallemandwine.com
fb.espana@lallemand.com

LALLEMAND

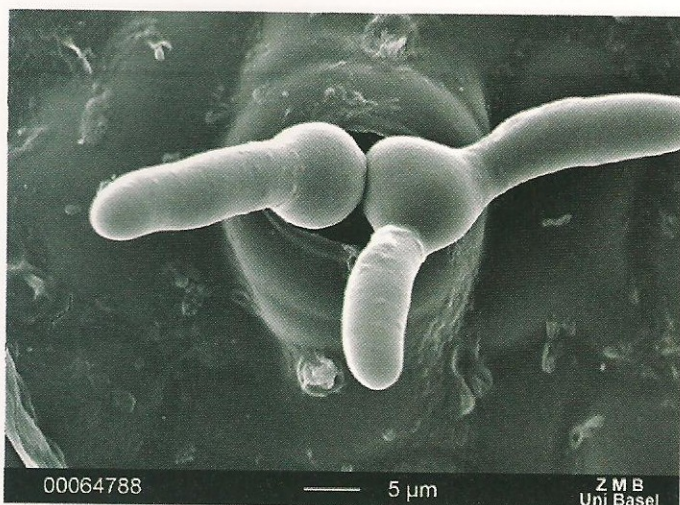


Figura 5. Proceso de Esporulación (48hpi) de *P. viticola* (esporangióforos saliendo del estoma) en el genotipo susceptible (cv. Albariño), mediante microscopía electrónica (LT-SEM).

ferencias significativas entre el genotipo susceptible (*Vitis vinifera*, cv. Albariño) y el resistente (*Vitis rupestris*). En Albariño se observó que estaban infectados un gran número de estomas (80%), y se podía apreciar perfectamente la presencia de 2-5 zoosporas, a veces más, penetrando en un mismo estoma. También se pudo observar la presencia de vesículas subestomáticas y la formación de las primeras hifas primarias. En general, el desarrollo del hongo fue mucho más rápido que en el genotipo resistente.

En el caso del genotipo resistente (*Vitis rupestris*), el número de estomas infectados fue muy inferior (10%), e incluso en algunas de las muestras no había ningún estoma infectado. El número de zoosporas que penetraban por los estomas fue muy pequeño. Mientras que en el genotipo susceptible se podían observar hasta 5 zoosporas penetrando por un mismo estoma, en el genotipo resistente se observaba una o como mucho dos. Con frecuencia aparecían zoosporas muertas en la entrada de los estomas, rodeadas de secreciones. También se pudo ver que las vesículas subestomáticas, en vez de desarrollarse hacia el interior de la hoja, se desarrollaban hacia el exterior, y que las vesículas subestomáticas parecían pequeñas, atrofiadas, rugosas, con un desarrollo completamente anormal (Figura 4).

A las 48hpi, en el genotipo susceptible (Albariño), ya sólo se observaban esporangios vacíos y ningún estoma infectado. El desarrollo del hongo era tan avanzado que, a veces, ya se podían ver los primeros esporangióforos saliendo por los estomas (Figura 5). Por el contrario, en el genotipo resistente (*Vitis rupestris*) se observaba que todavía el hongo estaba intentando infectar los estomas, y continuaba habiendo hifas externas de formación muy lenta y anormal, incluso a veces también esporangióforos anormales saliendo de los estomas (Figura 6).

A las 96hpi, todas las muestras pertenecientes al genotipo susceptible presentaban esporulación con esporangióforos

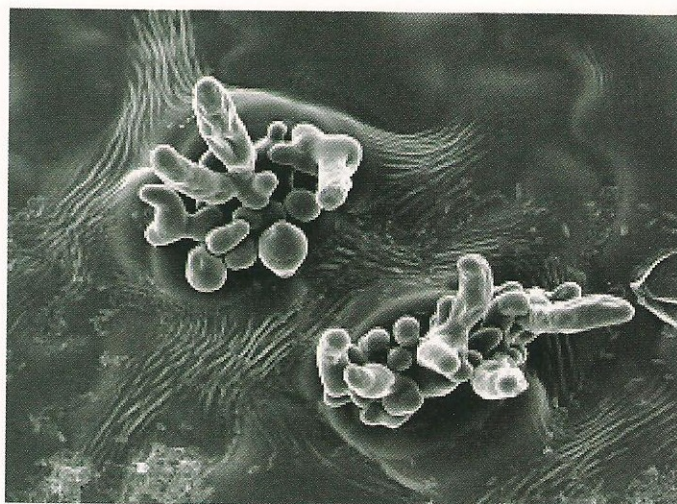


Figura 6. Proceso de esporulación (esporangióforos anormales saliendo de los estomas) por *P. viticola* a las 72hpi, en el genotipo resistente (*V. rupestris*), mediante microscopio electrónico de barrido a baja temperatura (LT-SEM).

y esporangios. En la mayoría de los casos los esporangios ya estaban libres, e incluso se podía apreciar perfectamente el ostiolo (Figura 7). En el genotipo resistente, únicamente se podían encontrar uno o dos esporangióforos, más pequeños y con pocos esporangios (Figura 8).

Estas observaciones confirman que, para el genotipo resistente (*Vitis rupestris*), los mecanismos de defensa se desencadenan ya en el momento en que el hongo intenta penetrar. Esto significa que existe algo que obstaculiza, impide o retrasa directamente la entrada del hongo y el proceso de infección. Un comportamiento similar ha sido observado, a través de microscopía electrónica, por GINDRO *et al* (2003), en el cv. Solaris. BOSO *et al.*, (2006), mediante microscopio de fluorescencia, también observaron este comportamiento en *Vitis riparia*. •

Bibliografía

- AGRIOS, G. (1988). Plant Pathology. 3^o ed. Academic Press. San Diego California. USA 803p.
- BOUBALS, D. (1959). Contribution à l'étude des causes de la résistance de Vitacées au mildiou de la vigne (*Plasmopara viticola* (B. et C.) Berl. et de T.) et de leur mode de transmission héréditaire. Thèse de doctorat des sciences. Ann. Amélior. Plant. 7: 1-236.
- BOUBALS, D. (1961). Etudes des causes de la résistance des Vitacées à l'oïdium de la Vigne *Uncinula necator* (Schw.) Burr. et de leur mode de transmission héréditaire. Ann. Amélior. Plant., 11: 401-500.
- BOSO, S.; SANTIAGO, J. L.; MARTÍNEZ, M. C. (2005). A method to evaluate Downy mildew resistance in grapevine. *Agronomie*, 25: 163-165
- BOSO, S.; MARTÍNEZ, M. C.; UNGER, S. AND KASSEMAYER, H-H. (2006) Evaluation of foliar resistance to Downy mildew in different cv. Albariño clones. *Vitis* 45 (1), 23-27.
- BROWN, M.V.; MOORE, J.N.; FENN, P.; MCNEW, R.W. (1999). Comparison of leaf disk, greenhouse, and field screening procedures for evaluation of grape seedlings for Downy mildew resistance. *Hortscience*, 34: 331-333.
- BUSSAN, G.; KASSEMAYER, H-H.; MATERN, U. (1997). Differential expression of chitinases of *Vitis vinifera* L. Responding to systemic acquired resistance activators or fungal challenge. *Plant Physiol.*, 115:1029-1038.
- DAI, G.H.; ANDARY, C.; MONDOLOT-COSSON, L.; BOUBALS, D.; (1995). Histochemical studies on the interaction between three species of grapevine, *Vitis vinifera*, *V. Rupestris* and *V. Rotundifolia* and the Downy mildew fungus, *Plasmopara viticola*. *Physiol. Mol. Plant*. P. 46, 177-188.

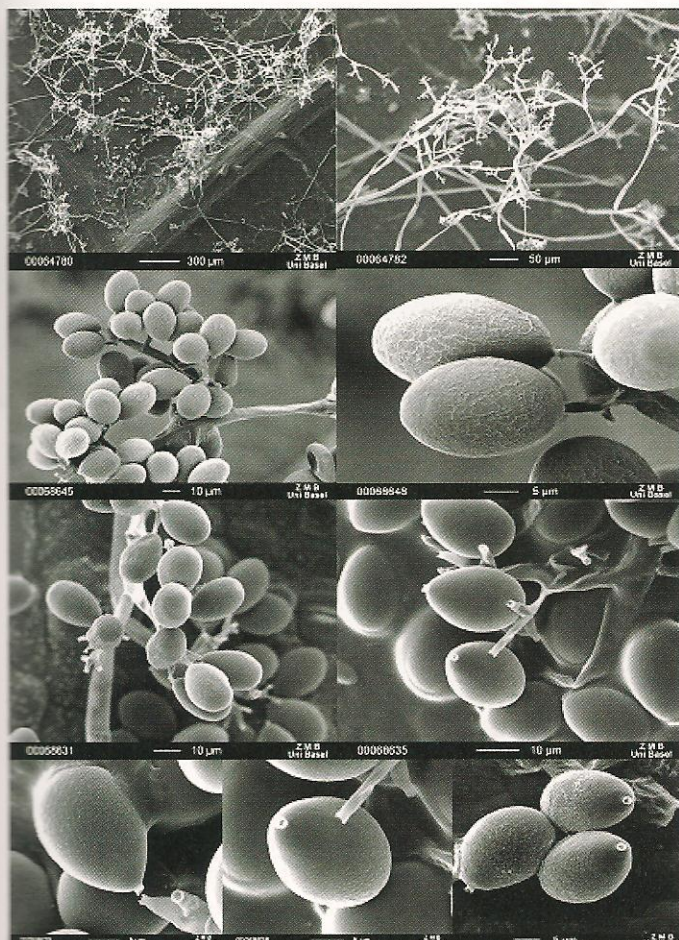


Figura 7. Proceso de esporulación (esporangióforos con esporangios y esporangios libres) por *P. viticola* a las 72hpi y 96hpi en el genotipo susceptible (cv. Albariño), mediante microscopio electrónico de barrido a baja temperatura (LT-SEM).

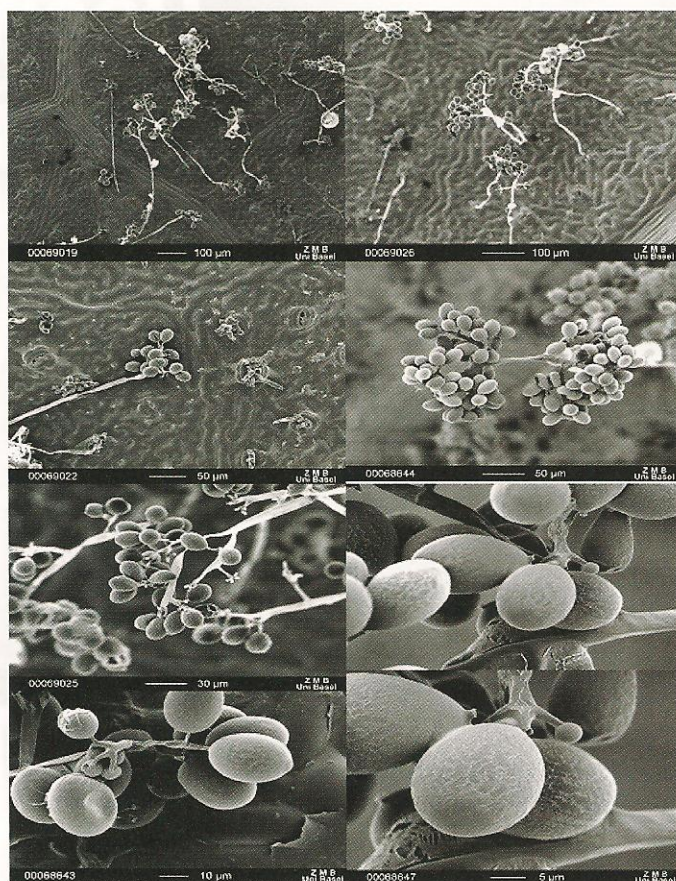


Figura 8. Proceso de esporulación (esporangióforos y esporangios) por *P. viticola* a las 72hpi y 96hpi, en *Vitis rupestris*. Observaciones mediante microscopio electrónico de barrido a baja temperatura (LT-SEM).

DENZER, H.; STAUDT, G.; SCHLOSSER, E. (1995 a). Host settlement of *Plasmopara viticola* on different susceptible hosts. *Vitis*, 34(2): 45-49.

DENZER, H.; STAUDT, G.; SCHLOSSER, E. (1995 b). The behaviour of *Plasmopara viticola* on resistant and susceptible grapevine varieties. *Vitis*, 34 (2): 113-117.

DICK, M.W. (1995). Sexual reproduction in the Peronosporomycetes (Chromitan fungi). *Can. J. Bot.*, Supplement 1, Sections E-H 73: S712-S724.

GALET, P. (1977). Les maladies et les parasites de la vigne. Tome I: Les maladies dues à des végétaux. Imp. Le Paysan du Midi, Montpellier.

GALET, P. (1995). Précis de pathologie viticole, 2^e ed. Imp. JF, Montpellier.

GINDRO, K.; PEZET, R.; O. VIRET, O. (2003). Histological study of the responses of two *Vitis vinifera* cultivars (resistant and susceptible) to *Plasmopara viticola* infections. *Plant Physiol. Bioch.* 41, 846-853.

GUGGENHEIM, M.; DÜGGELIN, M.; SCHEIDEGGER, C. H.; (1991). Freeze-fracturing for conventional and field emission low-temperature scanning electron microscopy: the scanning cryo unit SCU 020. *J. Microsc.* 161, 73-83.

HAMIDUZZAMAN, M.M., JAKAB, G., BARNAVON, L., NEUHAUS, J.M., AND KASSEMAYER, H.-H. (2003). Cytological and molecular approach to the host pathogen interaction in the pathosystem *Plasmopara viticola*-*Vitis*. 1st International Symposium on Grapevine. Growing, Commerce and Research. Lisboa, 30 junio-2 julio 2003.

KORTEKAMP, A.; WIND, R.; ZYPRIAN E. (1997). The role of callose deposits during infection of two Downy mildew-tolerant and two-susceptible *Vitis* cultivars. *Vitis*, 36 (2): 103-104

KORTEKAMP, A.; WIND, R.; ZYPRIAN, E. (1998). Investigation of the interaction of *Plasmopara viticola* with susceptible and resistant grapevine varieties. *J. Plant Dis. Protec.*, 105: 475-488.

KORTEKAMP, A. AND ZYPRIAN, E. (2003). Characterization of *Plasmopara*-resistance in grapevine using in vitro plants. *J. Plant. Physiol.*, 160(11):1393-1400

LI, H.; DOAZAN, J.P. (1986). Évaluation de différences de sensibilité au mildiou (*Plasmopara viticola*) entre cépages de *Vitis vinifera*. Analyse préliminaire de deux

descendants. *Vignevine*, 13(12): 160-163.

MAUCH-MANI, B. (2002). Host resistance to Downy Mildew diseases. *Advances in Downy Mildew Research*. Ed P.T.N. Spencer-Phillips, U. Gisi and A. Lebeda. Kluwer Academic Publishers: 59-83

MAUCH-MANI, B. (2005). β -amino butyric acid-induced resistance against downy mildew in grapevine acts through the potentiation of callose formation and jasmonic acid signaling. *Mol. Plant-Microbe Interact* 18 (8) (2005), pp. 819-829

MUSETTI, R.; STRINGHER, L.; BORSELLI, S.; VECCHIONE, A.; ZULINI, L.; PERTOT, I. (2005). Ultrastructural analysis of *Vitis vinifera* leaf tissues showing atypical symptoms of *Plasmopara viticola*. *Micron* 36, 73-80.

RIBEREAU-GAYON, J.; PEYNAUD, E. (1971). *Traité d'ampélogie*. Sciences et Techniques de la vigne. (Tome 1: Biologie de la vigne, sols de vignobles; Tome 2: Culture, pathologie, défense sanitaire de la vigne). Ed Dunod, Paris

RIEMANN, M.; BÜCHE, C.; KASSEMAYER, H.-H. (2002). Cytoskeletal responses during early development of the Downy mildew of grapevine (*Plasmopara viticola*). *Protoplasma*, 219(1-2): 13-22.

RUMBOLZ, J.; WIRTZ, S.; KASSEMAYER, H.-H.; GUGGENHEIM, R.; SCHÄFER, E.; BÜCHE, C. (2002). Sporulation of *Plasmopara viticola*: Differentiation and Light Regulation. *Plant Biology*, 4 (2002): 413-422.

STAUDT, G.; KASSEMAYER, H.-H. (1995). Evaluation of Downy mildew (*Plasmopara viticola*) resistance in various accessions of wild *Vitis* species. *Vitis*, 34: 225-228.

UNGER, S.; BÜCHE, C.; BOSO, S. AND KASSEMAYER, H.-H. (2007). The course of colonization of two different *Vitis* genotypes by *Plasmopara viticola* indicates compatible and incompatible host-pathogen-interactions. *Phytopathology*, 97(7):780-786.

WANG, H.; LI, H. (2004). Studies on the relationship between genetic resistance to powdery mildew in grapevine. XXVIII Congreso Mundial de la Viña y el Vino. 2^a Asamblea General de la O.I.V. Viena (Austria), 4-9 julio 2004.

YPEMA, H. L.; GUBLER, W.D. (2000). The distribution of early season grapevine shoots infected by *Uncinula necator* from year to year: A case study in two California vineyards. *Am. J. Enol. Viticult.*, 51: 1-6.