

## Estado Actual de *Peronospora sparsa*, Causante del Mildiu Velloso en Rosa (*Rosa* sp.)

### Current Status of *Peronospora sparsa*, Causal Agent of Downy Mildew on Rose (*Rosa* sp.)

**Pablo Israel Álvarez Romero, Rómulo García Velasco, Martha Elena Mora Herrera, Justino Gerardo González Díaz,** Centro Universitario Tenancingo-Universidad Autónoma del Estado de México, km 1,5 Carretera Tenancingo Villa Guerrero, CP 52400; **Martha Lidya Salgado Siclán,** Facultad de Ciencias Agrícolas-Universidad Autónoma del Estado de México, El Cerrillo Piedras Blancas, Toluca, Edo. de México, CP 50200, México. Correspondencia: pablo\_i\_alvarez\_r@yahoo.com

(Recibido: Junio 05, 2013 Aceptado: Septiembre 25, 2013 )

---

Álvarez Romero PI, García Velasco R, Mora Herrera ME, González Díaz JG y Salgado Siclán ML. 2013. Estado actual de *Peronospora sparsa*, causante del Mildiu Velloso en Rosa (*Rosa* sp.). Revista Mexicana de Fitopatología 31 (2): 113-125.

**Resumen.** La rosa (*Rosa* sp.) es una ornamental de importancia en México. Es afectada por un complejo de enfermedades, destacándose el Mildiu velloso ocasionado por el Chromista *Peronospora sparsa* que incide en la productividad, calidad, comercialización y costos de producción, las pérdidas llegan hasta el 100 % de los tallos florales. Entre los fungicidas empleados para el control del Mildiu velloso se destacan: fosetil-Al, dimetomorph, cymoxanil, metalaxyl. Al momento existen nuevas alternativas para el control de enfermedades como los fosfitos, que en investigaciones recientes, han demostrado el potencial que pueden brindar al controlar e inducir respuestas de defensa a patógenos como *P. sparsa* en cultivos de zarzamora y rosa. Actualmente se carece de un conocimiento profundo de aspectos de la epidemiología de *P. sparsa* y los procesos de infección, los cuales son necesarios para guiar los esfuerzos futuros para el desarrollo de alternativas de un manejo integrado de la enfermedad. En esta revisión se ha compilado y analizado la información de importancia que actualmente se dispone sobre el Mildiu velloso de la rosa.

Palabras clave adicionales: Oomycetes, Peronosporales, Rosaceae, ornamental.

La floricultura es una industria global en los países en vías de desarrollo y desarrollados; el volumen del comercio mundial se estima en un valor de más de 100 billones de dólares por año; los principales mercados consumidores son Alemania (22 %), los EE.UU. (15 %), Francia (10 %), el Reino Unido (10 %), Países Bajos (9 %), Japón (6 %), Suiza (5 %) e Italia (5 %) (African Business Magazine, 2012).

**Abstract.** Rose (*Rosa* sp.) is an important ornamental crop in Mexico. It is affected by a complex of plant diseases. Downy mildew caused by the Chromista *Peronospora sparsa* is one of the most important pathogens that influence the productivity, quality, marketing and production costs. Losses reach up to 100 % of the flowering stems. The main fungicides used to control downy mildew are: fosetil-Al, dimethomorph, cymoxanil and metalaxyl. However, new options for controlling plant diseases such as phosphites, are currently available. Recent trials have shown the potential of these compounds, to control diseases and to induce defense responses to pathogens such as *P. sparsa* in blackberry and rose crops. Currently, we do not have enough knowledge of aspects of the epidemiology of *P. sparsa* and infection processes, but they are needed to guide future efforts to develop integrated management alternatives of the disease. In this review we have examined and analyzed the main information currently available on downy mildew of rose crop.

Additional keywords: Oomycetes, Peronosporales, Rosaceae, ornamental.

Floriculture is a global industry in developing and developed countries; the volume of world trade is estimated to be worth over \$100 billion USD per year; main consumer markets are Germany (22 %), U.S. (15 %), France (10 %), UK (10 %), Netherlands (9 %), Japan (6 %), Switzerland (5 %) and Italy (5 %) (African Business Magazine, 2012).

The rose is one of the most popular flowers, it is regarded as the queen of flowers because of its aesthetic, beauty and high sentimental value; therefore, the flower industry uses it for both, floral arrangements and as pot plants (Bañon *et al*, 1993; Whitaker and Hokanson, 2009); this ornamental plant is of high economic importance in Mexico with 712.20 ha grown annually, the production is 5,559,218.51 gross (a gross refers to a group of 144 items, a dozen dozen), representing an economic contribution to the country of 1,225,457.39 thousand MXN (SIAP, 2012).

La rosa es una de las flores más apreciadas, se le considera como la reina de las flores por su estética, belleza y su alto valor sentimental; por lo que la industria florícola la utiliza tanto para arreglos florales, como en macetería (Bañón *et al.*, 1993; Whitaker y Hokanson, 2009); este cultivo ornamental es de importancia económica en México con 712,20 ha cultivadas anualmente, la producción es de 5.559.218,51 gruesas (una gruesa equivale doce docenas de tallos), representando un aporte económico para el país de 1.225.457,39 miles de pesos (SIAP, 2012).

El cultivo de rosa es influenciado por diferentes tipos de plagas y enfermedades, los cuales afectan la productividad y calidad, entre las enfermedades más importantes están las que atacan la parte aérea, como son: Mildiu vellosa causado por el Chromista *Peronospora sparsa*, la Cenicilla u Oídio pulverulento ocasionada por *Podosphaera pannosa*, la Mancha negra causada por *Diplocarpon rosae*, los agentes causantes de royas entre los que se reportan *Phragmidium rosae*; *Phragmidium mucronatum*, y el Moho gris ocasionado por *Botrytis cinerea* (Aergerter, 2002; Ritz *et al.*, 2005; Blechert y Debener, 2005; Horst y Cloyd, 2007; Lediuk *et al.*, 2010; Macnish *et al.*, 2010).

Los mildius vellosos han causado epidemias catastróficas en diferentes cultivos en el pasado, y algunos de ellos como en el caso de rosa aún siguen causando graves pérdidas; *P. sparsa*, incide en la productividad, calidad, comercialización y costos de producción, las pérdidas en rosa llegan hasta el 100 % de los tallos florales (Arbeláez, 1999; Agrios, 2005; Castillo *et al.*, 2010).

Son varias las hipótesis que plantean los investigadores y productores de rosas como las causas del resurgimiento del Mildiu vellosa en los países productores de rosa; entre otras se destacan la introducción y siembra de nuevas variedades de rosa susceptibles al patógeno, los cambios climáticos asociados con el calentamiento global, la modificación de los sistemas de producción de flores y el uso indiscriminado de fungicidas sistémicos para su control (Arbeláez, 1999; Ayala *et al.*, 2008).

Además de los enormes daños que *P. sparsa* ocasiona en cultivos de rosa, este patógeno también ha sido reportado afectando plantas de diferentes especies de *Rubus* spp. que producen frutos comestibles tales como *Rubus articus* y *Rubus chamaemorus* (Lindqvist-Kreuze *et al.*, 2002; Walter *et al.*, 2004) y recientemente se ha indicado que esta especie es el agente causante del Mildiu vellosa de la zarzamora (*Rubus fruticosos*) en México (Rebollar-Alviter *et al.*, 2009), lo cual incrementa la importancia económica de este patógeno.

Actualmente se carece de un conocimiento detallado de la epidemiología de *P. sparsa* y de sus procesos de infección, pero dicha información es necesaria para guiar los esfuerzos futuros para el desarrollo de alternativas de un manejo integrado afines a una agricultura sustentable. El objetivo de esta revisión es compilar y analizar la información que actualmente se dispone sobre el Mildiu vellosa de la rosa.

**Historia.** La enfermedad fue reportada inicialmente en Inglaterra en 1862 por Berkeley, y al poco tiempo se

The rose crop is influenced by different types of pests and diseases that affect productivity and quality, among the most important diseases are those that attack the aerial parts, such as: downy mildew caused by Chromista *Peronospora sparsa*, the mildew or powdery mildew caused by *Podosphaera pannosa*, the Black spot caused by *Diplocarpon rosae*, the causative agents of rusts including *Phragmidium rosae*, *Phragmidium mucronatum*, and gray mold caused by *Botrytis cinerea* (Aergerter, 2002; Ritz *et al.*, 2005; Blechert y Debener, 2005; Horst y Cloyd, 2007; Lediuk *et al.*, 2010; Macnish *et al.*, 2010).

The downy mildews have caused catastrophic epidemics in different crops in the past, and some of them as in the case of roses still causes serious losses; *P. sparsa* impacts on productivity, quality, marketing and production costs, losses on rose crops can be up to 100 % of the flowering stems (Arbeláez, 1999; Agrios, 2005; Castillo *et al.*, 2010).

There are several hypotheses about the causes of the resurgence of downy mildew in roses producing countries; among others, it might be due to the introduction and planting of new rose varieties susceptible to the pathogen, the climatic changes associated with global warming, the changes in flowers production system and the indiscriminate use of systemic fungicides for their control (Arbeláez, 1999; Ayala *et al.*, 2008).

Besides the enormous damage that *P. sparsa* causes in rose crops, this pathogen has also been reported to affect plants of different *Rubus* spp. species that produce edible fruits such as *Rubus articus* and *Rubus chamaemorus* (Lindqvist-Kreuze *et al.*, 2002; Walter *et al.*, 2004) and it has been reported recently that this species is the causative agent of blackberry downy mildew (*Rubus fruticosos*) in Mexico (Rebollar-Alviter *et al.*, 2009), which increases the economic importance of this pathogen.

There is currently no detailed knowledge of the *P. sparsa* epidemiology and infection processes, and such information is necessary to guide future efforts to develop an integrated treatment alternatives related to sustainable agriculture. The aim of this review is to compile and analyze the information currently available on the downy mildew of the rose.

**History.** The disease was first reported in England in 1862 by Berkeley, and soon reported in continental Europe, particularly in Scandinavia and the former Soviet Union. In 1880, the presence of the disease was reported in the Midwest of the United States; although scientific reports consider *P. sparsa* as a pathogen specific to the north area of the Tropic of Cancer, currently rose downy mildew cause significant damage in tropical and subtropical countries such as Brazil, Israel, Egypt, New Zealand and Colombia since the 70's (Berkeley, 1862; Wheeler, 1981; Arbeláez, 1999; Walter *et al.*, 2004; Horst y Cloyd, 2007); in Mexico, the first report of *P. sparsa* affecting *R. fruticosos* was in Michoacan state (Rebollar-Alviter *et al.*, 2009).

**Taxonomic Classification.** *Peronospora sparsa* is a biotrophic pathogen or obligate parasite which is part of the Oomycetes, which are mycelial organisms similar to fungi, commonly known as water molds and include

registró en Europa continental, específicamente en los países escandinavos y la antigua Unión Soviética. En 1880 la presencia de esta enfermedad se reportó en el medio oeste de los Estados Unidos; aunque los reportes científicos registran a *P. sparsa* como un patógeno propio del área norte del trópico de Cáncer, en la actualidad el Mildiu vellosa de la rosa causa daños significativos en países tropicales y subtropicales como Brasil, Israel, Egipto, Nueva Zelanda y Colombia desde la década de los 70 (Berkeley, 1862; Wheeler, 1981; Arbeláez, 1999; Walter *et al.*, 2004; Horst y Cloyd, 2007); en México el primer reporte de *P. sparsa* afectando a *R. fruticosos* fue en el estado de Michoacán (Rebollar-Alviter *et al.*, 2009).

**Clasificación Taxonómica.** *Peronospora sparsa* es un patógeno biotrofo o parásito obligado que forma parte de los Oomycetes, los cuales son organismos miceliares semejantes a los hongos, que se conocen comúnmente como mohos acuáticos e incluyen saprófitos y patógenos de plantas, insectos, crustáceos, peces, animales vertebrados y de otros microorganismos (Kamoun, 2003); se le considera miembro del reino Chromista, subreino Heterokonta (Hawksworth *et al.*, 1995; Robert *et al.*, 2005), aunque algunos autores lo ubican en el reino Straminopila (Dick, 2001; Kamoun, 2003), este patógeno pertenece al orden Peronosporales, familia Peronosporaceae; género *Peronospora*; especie *P. sparsa* Berkeley (Robert *et al.*, 2005; NCBI, 2013).

**Relaciones Filogenéticas.** Uno de los aspectos más estudiados en los Oomycetes en los últimos años ha sido sus relaciones filogenéticas intra e intergenéricas; para el caso de *P. sparsa*, los análisis de secuencias basados en la región ITS del ADNr, han ubicado a esta especie en un grupo filogenético que incluye además a *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora palmivora* y *Phytophthora arecae*, especies tropicales que presentan caracteres evolutivos avanzados tales como esporangios caducopapilados y adaptación a hábitats aéreos; la formación de este clúster entre especies de *Phytophthora* y *Peronospora*, confirma la hipótesis de que los mildius vellosos posiblemente evolucionaron a partir de ancestros hemibiotrofos (Cooke *et al.*, 2000). Por otra parte, Riethmuller *et al.* (2002), luego de realizar un análisis filogenético de la familia Peronosporaceae con base en las secuencias de la región 28S del ADNr, determinaron que *P. sparsa* se encontraba relacionado con la especie *Peronospora sanguisorbae* en un clúster aislado del grupo que incluyó a la mayor parte de las especies del género *Peronospora*; y Goker *et al.* (2009), desarrollaron un método de taxonomía molecular que permitió determinar la función de la distancia y configuración de clúster que se tradujeron en una concordancia óptima con los datos de referencia seleccionados; la optimización se basó tanto en información de referencia basada en taxonomía, como en información basada en el hospedante, agrupando a *P. sparsa* en un clúster relacionado con *P. alchemillae*; estos estudios conducen a suponer que todavía se requieren de más estudios tendientes para aclarar la posición taxonómica del agente causante del Mildiu vellosa de la rosa .

**Diversidad Genética de *Peronospora sparsa*.** Para

saprophytes, plant pathogens, insects pathogens, crustaceans pathogens, fish pathogens, vertebrates pathogens and other microorganisms (Kamoun, 2003); it is considered a member of the Chromista kingdom and Heterokonta subkingdom (Hawksworth *et al.*, 1995; Robert *et al.*, 2005), although some authors consider it part of the Straminopila kingdom (Dick, 2001; Kamoun, 2003), this pathogen is part of the Peronosporales order, Peronosporaceae family, *Peronospora* genus, *P. sparsa* Berkeley species (Robert *et al.*, 2005; NCBI, 2013).

**Phylogenetic Relationships.** In recent years, one of the most studied aspects of the Oomycetes is their intra- and intergeneric phylogenetic relationships; in the case of *P. sparsa*, sequence analyzes based on the ITS region of the rDNA, have located this species in a phylogenetic group that also includes *Phytophthora megakarya*, *Phytophthora palmivora* and *Phytophthora arecae*, which are tropical species exhibiting advanced evolutionary characters such as caducous sporangia and adaptation to aerial habitats; the formation of this cluster between *Phytophthora* and *Peronospora* species, confirms the hypothesis that the downy mildews possibly evolved from hemibiotrophs ancestors (Cooke *et al.*, 2000). On the other hand, Riethmuller *et al.* (2002), after conducting a phylogenetic analysis of the Peronosporaceae family based on the sequences of the 28S rDNA region, determined that *P. sparsa* was related to *Peronospora sanguisorbae* species on an isolated cluster group that included most of the *Peronospora* genus; and Goker *et al.* (2009) developed a method of molecular taxonomy that allowed to determine the function of the distance and cluster configuration that resulted in a good agreement with the reference data selected; optimization was based on both reference information based on taxonomy and host -based information, grouping *P. sparsa* on a cluster related to *P. alchemillae*; these studies suggest that still further research is necessary to clarify the taxonomic position of the causal agent of the rose downy mildew.

**Genetic Diversity of *Peronospora sparsa*.** To further understand the *P. sparsa* population structure affecting *R. articus* in Finland, Linqvist-Kreuze *et al.* (2002) carried out studies on the genetic variability; in their study 226 AFLP markers were used and it was determined that this pathogen has a high genetic variability represented in Jaccard distances ranging between 0.53 and 0.88, this is due to the biology of Scandinavian *P. sparsa* which is characterized by oospores mass production that result in genetic recombination of the pathogen gametangium and also serve as resistance structures to the pathogen during the long winter periods of this part of the world.

This situation contrasts sharply with a population study carried out in Colombia, where 34 isolates of the pseudofungi were collected in crops of roses located in Antioquia and Bogota savanna; their DNA was extracted to carry out PCR amplification of the ITS region of the rDNA using the specific primers PS3 (5' ATT TTG TGC TGG CTG GC 3') and PS1 (5' TGC CAC ACG ACC GAA GC 3'); such products were used for both, the direct sequencing and for evaluating the genetic variability by PCR RFLP technique,

profundizar el conocimiento de la estructura poblacional de *P. sparsa* afectando a *R. articus* en Finlandia se desarrolló una investigación por Linqvist-Kreuzer *et al.* (2002) sobre la variabilidad genética, en ese estudio se emplearon 226 marcadores AFLPs y se determinó que este patógeno presenta una alta variabilidad genética representada en distancias de Jaccard que oscilaron entre 0,53 y 0,88, esto debido a que la biología de *P. sparsa* en esta región escandinava se caracteriza por la producción masiva de esporas, que resultan de la recombinación genética de los gametangios del patógeno y sirven además de estructuras de resistencia al patógeno durante los largos periodos invernales que soporta esta zona del mundo.

Esta situación contrasta drásticamente con un trabajo poblacional que se hizo en Colombia, en donde se colectaron 34 aislamientos del pseudohongo en cultivos de rosas ubicados en Antioquia y la sabana de Bogotá, se extrajo su ADN para proceder a la amplificación mediante PCR de la región ITS del ADNr utilizando los primers específicos PS3 (5' ATT TTG TGC TGG CTG GC 3') y PS1 (5' TGC CAC ACG ACC GAA GC 3'); dichos productos se emplearon tanto para su secuenciación directa como para la evaluación de variabilidad genética mediante la técnica PCR RFLP, estos resultados se complementaron con la utilización de los marcadores RAPD y RAMS. La presencia de un amplicón de aproximadamente 700 pb que compartió un porcentaje de identidad del 100 % con secuencias depositadas en el GenBank, permitió confirmar a los aislamientos como pertenecientes a *Peronospora sparsa*, mientras que el análisis de RFLP, RAPD y RAMS indicó un muy bajo nivel de variabilidad entre todos los aislamientos, concluyéndose que la población de *P. sparsa* en Colombia es predominantemente clonal (Ayala *et al.*, 2008).

**Morfología.** *P. sparsa* en el cultivo de rosa se caracteriza por poseer micelio intercelular en el tejido del hospedante; tiene esporangios que son coloreados, lisos, no papilados y de formas subelípticas, con rangos de dimensiones que van de 14-18  $\mu\text{m}$  x 17-22  $\mu\text{m}$ , producidos en los ápices de los esporangióforos erectos y dicotómicamente ramificados en ángulos agudos (Wheeler, 1981; Thines *et al.*, 2006; Horst y Cloyd, 2007); aunque en estudios realizados en rosa por Achar (1997) los esporangios alcanzaron medidas en rangos de 14-18  $\mu\text{m}$  x 20-23  $\mu\text{m}$ ; los esporangióforos alcanzan rangos de 150-350  $\mu\text{m}$  en rosa (Wheeler, 1981; Achar, 1997; Horst y Cloyd, 2007).

*P. sparsa* en *R. fruticosos* en México, desarrolla esporangios coloreados de color café claro, de forma ovoide a elíptica con rangos que van de 14-22  $\mu\text{m}$  x 11-18  $\mu\text{m}$  (Rebollar-Alviter *et al.*, 2009); por otra parte, Hall y Gardner (1982), reportan que las oosporas de *P. sparsa* en *Rubus* spp. son simples de forma esférica a oval, de 18-28  $\mu\text{m}$  de diámetro, contenidas en oogonios de pared delgada, de 26-35  $\mu\text{m}$  de diámetro; la pared celular de las oosporas de *P. sparsa* y otros mildius vellosos tiene tres capas, pared exterior o exosporium, que es de color café dorado claro cuando están maduras, variables en grosor, de 1,5-4  $\mu\text{m}$ , y superficialmente lisa o irregular, pared intermedia o mesosporium, menor a 1  $\mu\text{m}$  de grosor; y la pared interior, o endosporium es de grosor uniforme de 2-3  $\mu\text{m}$  y de color

the results were complemented with the use of RAPD and RAMS markers. The presence of an approximately 700 bp amplicon which shared 100 % identity with sequences deposited in GenBank, confirmed that isolates belonged to *Peronospora sparsa*, while RFLP, RAPD and RAMS analysis indicated a very low level of variability among all isolates, concluding that *P. sparsa* population in Colombia is mainly clonal (Ayala *et al.*, 2008).

**Morphology.** *P. sparsa* in rose crops is characterized by having an intercellular mycelia in the host tissue; it has colored sporangia, smooth, not papillate and with subelliptic forms ranging from 14-18  $\mu\text{m}$  x 17-22  $\mu\text{m}$ , produced in the apices of the erect sporangiophores and dichotomically branched in acute angles (Wheeler, 1981; Thines *et al.*, 2006; Horst y Cloyd, 2007); although in roses studies carried out by Achar (1997), the sporangia reached ranges of 14-18  $\mu\text{m}$  x 20-23  $\mu\text{m}$  and sporangiophores reach ranges of 150-350  $\mu\text{m}$  in rose (Wheeler, 1981; Achar, 1997; Horst and Cloyd, 2007).

In Mexico, *P. sparsa* in *R. fruticosos* develops light brown sporangia, ovoid to elliptical shape with ranges of 14-22  $\mu\text{m}$  x 11-18  $\mu\text{m}$  (Rebollar-Alviter *et al.*, 2009.) On the other hand, Hall and Gardner (1982) reported that oospores of *P. sparsa* in *Rubus* spp. are simple of oval to spherical shape, 18-28  $\mu\text{m}$  in diameter, contained in thin-walled oogonia, 26-35  $\mu\text{m}$  in diameter; the cell wall of oospores of *P. sparsa* and other downy mildews has three layers: outer wall or exosporium, which is light golden brown when ripe, variable in thickness, 1.5-4  $\mu\text{m}$ , and superficially smooth or irregular; intermediate wall or mesosporium, less than 1  $\mu\text{m}$  in thickness; and the inner wall, or endosporium which is uniform in thickness, 2-3  $\mu\text{m}$  and hyaline color (Hall and Gardner, 1982).

**Symptoms and Signs.** Although the infection is usually restricted to young plant tissue, the symptoms of this disease occur on leaves, stems, stalks, calyx and petals of rose plants; on the upper side of leaves some purple reddish-dark brown blotches develop, which are surrounded by a chlorotic halo, while on the underside of the leaves, the signs of the pathogen are produced and they usually are a light brown mycelium occur with abundant production of sporangiophores and sporangia, which creates the appearance of hairiness characteristic of the disease (Wheeler, 1981; Arbeláez, 1999; Hollier *et al.*, 2001; Horst y Cloyd, 2007). These structures only occur under conditions of high humidity, becoming scarce and difficult to detect in unfavorable situations for pathogen development (Wheeler, 1981; Arbeláez, 1999; Hollier *et al.*, 2001; Horst y Cloyd, 2007). The disease can also induce severe defoliation on susceptible rose varieties and is common that foliar symptoms are mistaken with burns or toxicity caused by pesticides. On the stems, calyx and stems, the disease manifests as a black purple spots that vary in size and may even coalesce inducing death of branches and mummification of flower buds (Hollier *et al.*, 2001; Horst y Cloyd, 2007) or promoting secondary invasion of the tissues affected by other pathogens such *Botrytis* spp. (Aegerter *et al.*, 2002).

**Molecular tools.** Molecular tools have been used in

hialino (Hall y Gardner, 1982).

**Síntomas y Signos.** Aunque generalmente la infección es restringida a los tejidos jóvenes de las plantas, los síntomas de esta enfermedad se presentan sobre hojas, tallos, pedúnculos, cáliz y pétalos de las plantas de rosa; en la haz de las hojas se desarrollan manchas irregulares de color rojizo púrpura a pardo-oscuro, las cuales se rodean de un halo clorótico, mientras que por el envés se producen los signos del patógeno, que corresponden a un micelio de color marrón claro con abundante producción de esporangióforos y esporangios, lo cual genera la apariencia de vellosidad característica de la enfermedad (Wheeler, 1981; Arbeláez, 1999; Hollier *et al.*, 2001; Horst y Cloyd, 2007). Estas estructuras solo se producen bajo condiciones de alta humedad, llegando a ser escasas y difíciles de detectar en situaciones desfavorables para el desarrollo del patógeno (Wheeler, 1981; Arbeláez, 1999; Hollier *et al.*, 2001; Horst y Cloyd, 2007). La enfermedad puede inducir además una defoliación severa sobre las variedades de rosa más susceptibles y es común que los síntomas foliares se confundan con quemaduras o toxicidad ocasionada por pesticidas. Sobre los tallos, cáliz y pedúnculos, la enfermedad se manifiesta como manchas púrpuras a negras que varían en tamaño e incluso pueden coalescer induciendo a la muerte de las ramas y a la momificación de los botones florales (Hollier *et al.*, 2001; Horst y Cloyd, 2007) o propiciando la invasión secundaria de los tejidos afectados por parte de otros patógenos, tales como *Botrytis* spp. (Aegerter *et al.*, 2002).

**Herramientas moleculares.** El empleo de las herramientas moleculares se ha empleado en estudios taxonómicos, y además estas técnicas también se han usado para aplicaciones prácticas como por ejemplo en la detección prematura de *P. sparsa* a partir de materiales de propagación y cultivos en desarrollo de *Rosa* spp. y zarzamora (*Rubus fruticosos*) (Aegerter *et al.*, 2002; Ayala *et al.*, 2008; Rebollar-Alviter *et al.*, 2012); con este objetivo, Aegerter *et al.* (2002) diseñaron un par de primers específicos PS3 (5' ATT TTG TGC TGG CTG GC 3') y PSI (5' TGC CAC ACG ACC GAA GC 3'), con base en la región ITS del ADNr, los cuales resultan altamente efectivos para la detección de cantidades tan bajas como 2 pg de ADN del patógeno, además de ser útiles para la amplificación de ADN obtenido a partir de plantas de rosa asintomáticas pero infectadas por el pseudohongo.

**Mecanismos de infección.** *P. sparsa* necesita tejido vivo para sobrevivir y es altamente especializado en las plantas hospedantes que afecta. El pseudohongo penetra al hospedante en forma directa a través de la cutícula y la epidermis, y se alimenta de las células del parénquima por medio de haustorios y una profusa red de micelio intercelular (Michelmore *et al.*, 1988), los esporangios germinan directamente sobre el hospedante y los estados iniciales de la infección se dan de la misma manera en que se presenten condiciones ambientales favorables para su desarrollo y a las características de resistencia o susceptibilidad de la variedad del hospedante; la habilidad de *P. sparsa* de formar infecciones sistémicas en plantas leñosas como rosa, ha sido documentada en trabajos

taxonómicos y en aplicaciones prácticas como en la detección temprana de *P. sparsa* en materiales de propagación y cultivos de *Rosa* spp. y zarzamora (*Rubus fruticosos*) (Aegerter *et al.*, 2002; Ayala *et al.*, 2008; Rebollar-Alviter *et al.*, 2012). Con este propósito, Aegerter *et al.* (2002) diseñó un par de primers específicos, PS3 (5' ATT TTG TGC TGG CTG GC 3') y PSI (5' TGC CAC ACG ACC GAA GC 3'), basados en la región ITS del rDNA, los cuales son altamente efectivos para la detección de cantidades tan bajas como 2 pg de ADN del patógeno, así como también ser útiles para la amplificación de ADN obtenida de plantas de rosa asintomáticas pero infectadas por el pseudohongo.

**Infección mechanisms.** *P. sparsa* necesita tejido vivo para sobrevivir y es altamente especializado en las plantas hospedantes que afecta. El pseudohongo penetra al hospedante directamente a través de la cutícula y la epidermis, y se alimenta de las células del parénquima por medio de haustorios y una profusa red de micelio intercelular (Michelmore *et al.*, 1988), los esporangios germinan directamente sobre el hospedante y los estados iniciales de la infección ocurren solo si las condiciones ambientales son favorables para su desarrollo y si las características de resistencia o susceptibilidad de la variedad del hospedante son adecuadas; la habilidad de *P. sparsa* de formar infecciones sistémicas en plantas leñosas como rosa, ha sido documentada en Aegerter *et al.* (2002); esto es extremadamente importante, especialmente para cultivos propagados vegetativamente como *Rosa* spp. y *Rubus* spp., aunque la dispersión en los tejidos vasculares de *Rubus* spp. ha sido limitada a unos pocos centímetros por debajo de los nodos infectados (Williamson *et al.*, 1995). Estudios epidemiológicos han encontrado que las condiciones favorables para el desarrollo de *P. sparsa* en rosas corresponden a temperaturas entre 15 y 20 °C durante el proceso de infección y 20 a 25 °C para la colonización; la infección es influenciada por la presencia de una capa delgada de agua en la superficie del tejido por al menos dos horas; sin embargo, el proceso infeccioso aumenta significativamente cuando tales condiciones de humedad permanecen por más de 10 h (Aegerter *et al.*, 2003). El período latente del patógeno ha sido estimado de 4-7 días, observándose también que *P. sparsa* es capaz de iniciar su ciclo de infección a temperaturas tan bajas como 5 °C tan pronto como una capa delgada de agua permanece en el tejido por más de 8 hrs (Aegerter *et al.*, 2003); los esporangios germinan formando un tubo germinal que desarrolla un apresoriario; el micelio crece de manera intercelular y se alimenta de las células del parénquima a través del haustorio intracelular (Clark y Spencer, 2004). A medida que avanza la infección, los cambios en los patrones de translocación, los niveles hormonales y la permeabilidad de la membrana celular indican una interacción biotrófica; los azúcares y otros nutrientes se mueven desde las hojas hacia las zonas de infección originadas por lesiones localizadas. Otros cambios incluyen un aumento en la actividad de ciertas enzimas de la planta, incluyendo invertasa,  $\alpha$ -glucosidasas, ribonucleasa,  $\beta$ -1,3-glucanasas y algunas quitinasas isoenzimas (Clark y Spencer, 2004).

**Reproduction.** *P. sparsa* se reproduce sexualmente a través de machos y hembras gametangios conocidos como anteridias y oogonias con la posterior formación de oosporas, las cuales se forman por paredes gruesas que las hacen muy resistentes a las condiciones ambientales adversas (Arbeláez, 1999); además, el ciclo sexual también mejora la capacidad del patógeno de proporcionar un mecanismo para su variación genética.

descritos por Aegerter *et al.* (2002); esto es de suma importancia, en especial para cultivos propagados vegetativamente como *Rosa* sp. y *Rubus* spp., aunque la dispersión en los tejidos vasculares de *Rubus* spp. ha sido limitada a pocos centímetros por debajo de los nudos infectados (Williamson *et al.*, 1995). Estudios epidemiológicos han determinado que las condiciones favorables para el desarrollo de *P. sparsa* en rosa bajo invernadero corresponden a temperaturas que oscilan entre 15 y 20 °C durante el proceso de infección y de 20 a 25 °C para la colonización del patógeno; la infección está influenciada por la presencia de una lámina de agua libre sobre la superficie del tejido por un período mínimo de dos horas; sin embargo, el proceso infectivo se incrementa significativamente cuando dichas condiciones de humedad superan las 10 h (Aegerter *et al.*, 2003). El período de latencia del patógeno se ha estimado entre cuatro y siete días, determinándose además que *P. sparsa* es capaz de iniciar su ciclo de infección a temperaturas tan bajas como 5 °C, siempre y cuando exista una lámina de agua sobre el tejido durante al menos ocho horas (Aegerter *et al.*, 2003); los esporangios germinan formando un tubo germinativo el cual desarrolla un apresorio; el micelio crece de manera intercelular y se alimenta de células del parénquima a través del haustorio (Clark y Spencer, 2004). A medida que la infección progresa, los cambios en los patrones de translocación, los niveles hormonales y la permeabilidad de la célula del hospedante tipifican una interacción biotrófica; sacarosa y otros nutrientes se mueven de las hojas a nuevas zonas de infección originadas por lesiones localizadas. Otros cambios adicionales incluyen incremento en la actividad por parte de la planta de algunas enzimas, incluyendo invertasas,  $\alpha$ -glucosidasas, ribonucleasas,  $\beta$ -1,3-glucanasas y algunas isoenzimas de quitinasas (Clark y Spencer, 2004).

**Reproducción.** *P. sparsa* realiza la reproducción sexual a través de gametangios masculinos y femeninos llamados anteridios y oogonios con la posterior formación de oosporas, las cuales son provistas de paredes gruesas, que las hace muy resistentes a condiciones ambientales desfavorables (Arbeláez, 1999), además el ciclo sexual también mejora la aptitud de este patógeno al proporcionar un mecanismo para su variación genética (Judelson, 2009). La formación de oosporas es característica de las zonas templadas y rara vez ocurren en los trópicos (Arbeláez, 1999); en las zonas templadas la producción de oosporas es profusa en el mesófilo de las hojas, así como también en la corteza de los tallos, raíces y pedúnculos de las plantas sintomáticas de rosa (Aegerter *et al.*, 2002; Walter *et al.*, 2004). La reproducción asexual de *P. sparsa*, se da por medio de esporangiogénesis, que es la formación de esporangios multinucleados en los extremos de esporangióforos ramificados dicotómicamente, estos se comportan como conidios porque germinan directamente a través de un tubo germinativo (Agrios, 2005; Horst y Cloyd, 2007; Hardham, 2009).

**Dispersión y sobrevivencia.** Los esporangios producidos sobre esporangióforos, cuando están maduros son diseminados por el viento al follaje y flores en

(Judelson, 2009). Oospores formation is characteristic of temperate zones and rarely occur in the tropics (Arbeláez, 1999); in temperate areas, oospores production is profuse in the mesophyll of leaves, as well as in the bark of stems, roots and peduncles of the rose symptomatic plants (Aegerter *et al.*, 2002; Walter *et al.*, 2004). Asexual reproduction of *P. sparsa*, occurs through sporangium-genesis, which is the formation of sporangia multinucleated on the ends of dichotomously branched sporangiophores, these behave as conidia because they germinate directly through a germ-tube (Agrios, 2005; Horst and Cloyd, 2007; Hardham, 2009).

**Dispersion and survival.** When sporangia produced on sporangiophores are mature, they spread by the wind to developing foliage and flowers. Symptoms usually develop within 11 days after infection, with sporulation occurring 5-11 days later (Walter *et al.*, 2004), *P. sparsa* can survive the winter as mycelium without formation of oospores in roots, crowns, stems and buds (Walter *et al.*, 2004; Horst and Cloyd, 2007), although oospores are the main source of inoculum during winter besides being a survival structure (Horst and Cloyd, 2007).

Using the microscope, Tate (1981) proved that in the systemic infection of *Rubus loganobaccus* cortex by *P. sparsa*, the pathogen survived the winter on the crown tissues and grew along with the emergence of the woody part and buds till the next season; the same investigation suggested that the practice of spreading patterns of these plants ensures the transmission of the disease to new plants and production areas. In *R. articus* cultivated in Finland, downy mildew caused by *P. sparsa* was observed in growing new tissues of roots collected in commercial fields (Lindqvist-Kreuzer *et al.*, 1998). In roses is possible that the pathogen transmission to growing new tissues of crowns or woody parts of infected plants can also occur (Aegerter *et al.*, 2002).

**Disease Treatment.** Treatment of rose downy mildew has been difficult due to the high susceptibility of most commercial rose varieties grown in the world; there are no reports of materials resistant to *P. sparsa*, for example, in Colombia the pathogen is highly aggressive on Charlotte, Classy, First red, Dolores, Frisco, Konfetti, Livia, Mystique, Osiana, Pavarotti and Ravel varieties (Flórez, 1996; Restrepo, 1996; Gomez and Arbelaez, 2005); besides, the patterns influence with some degree of susceptibility, which was confirmed by Aegerter *et al.* (2002), who reported Manetti as highly susceptible to downy mildew. At commercial level in Bogota savanna, some producers have found that the Natal Briar rootstock increases the susceptibility of rose varieties to downy mildew (Gómez y Arbeláez, 2005).

Control of downy mildew also requires an appropriate cultural treatment; practices such as the removal and destruction of infected material such as stems, leaves and symptomatic flowers, are necessary to reduce the level of inoculum in the crop; it has also been suggested that the treatment of greenhouse environmental conditions is the most appropriate way to handle this type of epidemics by opening and closing ducts and curtains and implementing

desarrollo. Los síntomas generalmente se desarrollan dentro de los 11 días después de la infección, con la esporulación que ocurre 5-11 días más tarde (Walter *et al.*, 2004), *P. sparsa* puede sobrevivir durante el invierno en forma de micelio sin la formación de oosporas en raíces, coronas, brotes y tallos (Walter *et al.*, 2004; Horst y Cloyd, 2007), aunque las oosporas son la principal fuente de inóculo durante el invierno además de ser una estructura de supervivencia (Horst y Cloyd, 2007).

Usando el microscopio, Tate (1981) demostró que en la infección sistémica del córtex de *Rubus loganobaccus* por *P. sparsa*, el patógeno parece pasar el invierno en los tejidos de la corona y crece junto con la emergencia de la parte leñosa y de los brotes en la siguiente estación; el mismo investigador sugiere que la práctica de propagar patrones de estas plantas garantiza la transmisión de la enfermedad hacia nuevas plantas y áreas de producción. En *R. articus* cultivado en Finlandia, el Mildiu vellosa causado por *P. sparsa* fue observado en nuevos tejidos en crecimiento de raíces colectadas de campos comerciales (Lindqvist-Kreuzer *et al.*, 1998). En rosas es posible que la transmisión del patógeno a nuevos tejidos en crecimiento de coronas o parte leñosa de plantas infectadas también puede ocurrir (Aegerter *et al.*, 2002).

**Manejo de la Enfermedad.** El manejo del Mildiu vellosa de la rosa ha sido difícil debido a la alta susceptibilidad de la mayoría de las variedades comerciales de rosa cultivadas en el mundo; no se han documentado materiales resistentes a *P. sparsa*, en Colombia por ejemplo, el patógeno es altamente agresivo sobre las variedades Charlotte, Classy, First red, Dolores, Frisco, Konfetti, Livia, Mystique, Osiana, Pavarotti y Ravel (Flórez, 1996; Restrepo, 1996; Gómez y Arbeláez, 2005); además, los patrones influyen con algún grado de susceptibilidad, lo cual lo confirma Aegerter *et al.* (2002), que reportaron a Manetti como altamente susceptible al Mildiu vellosa. A nivel comercial en la Sabana de Bogotá, algunos productores han observado que el portainjerto Natal Briar aumenta la susceptibilidad de las variedades de rosa al Mildiu vellosa (Gómez y Arbeláez, 2005).

El control del Mildiu vellosa también requiere de un adecuado manejo cultural; prácticas como la remoción y destrucción de material infectado como tallos, hojas y flores sintomáticas, son necesarias para reducir el nivel de inóculo en los cultivos; adicionalmente se ha planteado que el manejo de las condiciones ambientales de los invernaderos es la forma más adecuada para el manejo de este tipo de epidemias mediante la apertura y cierre de ductos y cortinas y la ejecución de prácticas adecuadas de riego, son fundamentales para disminuir la incidencia y severidad de la enfermedad (Quitian, 1995; Restrepo, 1996; Quiroga y Arbeláez, 2004).

Actualmente el manejo de *P. sparsa* está basado principalmente en la aplicación de fungicidas (Quiroga y Arbeláez, 2004), el metalaxyl o mfenoxam es uno de los fungicidas más utilizados para el manejo de enfermedades causadas por Oomycetes (Gisi, 2002); el metalaxyl es un fungicida sistémico que contiene R y S-enantiómeros, mientras que el mfenoxam o metalaxyl-M contiene 98 % de

appropriate irrigation practices are essential to decrease incidence and severity of disease (Quitian, 1995; Restrepo, 1996; Quiroga and Arbeláez, 2004).

Currently *P. sparsa* treatment is mainly based on the application of fungicides (Quiroga and Arbeláez, 2004), metalaxyl or mfenoxam is one of the most commonly used fungicides for treatment of diseases caused by Oomycetes (Gisi, 2002); Metalaxyl is a systemic fungicide containing R and S-enantiomers, while the mfenoxam or metalaxyl-M contain only 98 % of R enantiomers (Nuninger, *et al.*, 1996); this product has been used for preventive, curative, in seed treatment, treatment of the roots and foliar applications (Copping and Hewitt, 1998); it is systemic with a fast acropetal absorption, and with limited activity via symplast (Lyr, 1995; Copping and Hewitt, 1998); it interferes with the synthesis of nucleic acids by inhibiting ribosomal RNA and it has shown good control on rose *P. sparsa* by immersion of Manetti patterns, significantly reducing the disease (Aegerter *et al.*, 2002). Studies carried out in New Zealand with *Rubus hybrid*, showed that the disease can be successfully controlled with the use of metalaxyl and mancozeb (Tate *et al.*, 1981); under low disease pressure two applications of metalaxyl-M, three of phosphorous acid, and three more of azoxystrobin with dichlofluanid applied 21 d before flowering, significantly reduced the losses caused by downy mildew in *R. hybrid* (Walter *et al.*, 2004); however, in other studies in rose producing countries, such as Colombia (Quiroga and Arbeláez, 2004), metalaxyl did not provide an effective control of downy mildew when applied to soil or to the foliage; the possible inefficiency of this fungicide could be the resistance developed by the pathogen or the excessive use of this product, as was the case with this fungicide in other crops in the world and with other Oomycetes (Viranyi, 1988).

Some recommendations of the Fungicide Resistance Action Committee (FRAC) to avoid problems of ineffectiveness such as those reported in cucurbit mildews are: not using metalaxyl in soil applications; in order to control foliar diseases, limit to 2-4 consecutive applications per crop/year and use it only as preventative, not curative or eradicator applications (Brent and Hollomon, 2007). With high pressure of the disease, metalaxyl had no significant effect in the control of *P. sparsa* on *R. hybrid*, only phosphorous acid with three applications showed an acceptable control of this pathogen (Walter *et al.*, 2004). This is an innovative strategy within integrated crop management because the use of biocompatible chemical compounds such as phosphonates (including phosphorous acid or phosphites) promote disease resistance in plants through induced resistance (Daayf *et al.*, 2000; Shibuya y Minami, 2001; Altamiranda *et al.*, 2008). Phosphites, inorganic salts derived from phosphorous acid have particular attention as they are systemic via symplast and apoplast, and they are able to control crop diseases caused by Oomycetes such as *P. sparsa* (McDonald *et al.*, 2001; Jackson *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2009; Deliopoulos *et al.*, 2010; Rebollar-Alviter *et al.*, 2012) through direct effects on pathogens and indirect effects by stimulating host defense responses. Furthermore, phosphites do not require

R enantiómeros (Nuninger *et al.*, 1996), este producto ha sido utilizado tanto en forma preventiva, como curativa, en el tratamiento de semillas, tratamiento de las raíces y para aplicaciones foliares (Copping y Hewitt, 1998); es sistémico con absorción rápida acropétala, y con actividad limitada vía simplasto (Lyr 1995; Copping y Hewitt, 1998); actúa interfiriendo con la síntesis de ácidos nucleicos mediante la inhibición de ARN ribosómico y ha mostrado buen control sobre *P. sparsa* en rosa en inmersiones del patrón Manetti, reduciendo notablemente la enfermedad (Aegerter *et al.*, 2002). Estudios realizados en Nueva Zelanda en *Rubus hybrid* demostraron que la enfermedad puede ser controlada exitosamente con el uso de metalaxyl y mancozeb (Tate *et al.*, 1981); bajo una presión baja de la enfermedad dos aplicaciones de metalaxyl-M, tres de ácido fosforoso y tres de azoxystrobin más diclofluanid aplicados 21 días antes de la floración redujeron significativamente las pérdidas causadas por el Mildiu vellosa en *R. hybrid* (Walter *et al.*, 2004); sin embargo, en otros estudios en países productores de rosa, como los realizadas por Quiroga y Arbeláez (2004) en Colombia, el metalaxyl no presentó un control eficaz del Mildiu vellosa, ni aplicado al suelo ni al follaje; la posible ineficiencia de este fungicida pudo ser por la resistencia que está desarrollando el patógeno, al uso desmedido de este producto, así como ha ocurrido con este fungicida en otros cultivos en el mundo y con otros Oomycetes (Viranyi, 1988).

Algunas recomendaciones del Comité de Acción para la Resistencia a Fungicidas (FRAC) para evitar problemas de no efectividad como los reportados en mildius de cucurbitáceas son: no usar el metalaxyl en aplicaciones al suelo, para controlar enfermedades foliares, limitarse de dos a cuatro aplicaciones seguidas por cultivo, por año y usarlo solamente como preventivo, no como curativo, ni en aplicaciones erradicantes (Brent y Hollomon, 2007). Con altas presiones de la enfermedad el metalaxyl no tuvo efecto considerable para el control de *P. sparsa* en *R. hybrid*, únicamente el ácido fosforoso con tres aplicaciones mostró un control aceptable sobre este patógeno (Walter *et al.*, 2004); esta es una estrategia innovadora, dentro del manejo integrado de cultivos, ya que el uso de compuestos químicos biocompatibles como los fosfonatos (incluyen el ácido fosforoso o fosfitos) promueven la resistencia a enfermedades en plantas a través de resistencia inducida (Daayf *et al.*, 2000; Shibuya y Minami, 2001; Altamiranda *et al.*, 2008). Los fosfitos, sales inorgánicas derivadas del ácido fosforoso tienen particular atención, son sistémicos vía simplasto y apoplasto, son capaces de controlar enfermedades en cultivos causadas por Oomycetes como *P. sparsa* (McDonald *et al.*, 2001; Jackson *et al.*, 2008; Kumar *et al.*, 2009; Deliopoulos *et al.*, 2010; Rebollar-Alviter *et al.*, 2012) a través de efectos directos sobre los patógenos y efectos indirectos mediante la estimulación de respuestas de defensa del hospedante. Además los fosfitos no requieren intervalos de seguridad (Deliopoulos *et al.*, 2010; Rebollar-Alviter *et al.*, 2012). Los efectos directos incluyen la inhibición del crecimiento micelial y la reducción o alteración del metabolismo del patógeno (Grant *et al.*, 1990; Guest y Grant, 1991; Wilkinson *et al.*, 2001; King *et al.*,

confidence intervals (Deliopoulos *et al.*, 2010; Rebollar-Alviter *et al.*, 2012). Direct effects include inhibition of mycelial growth and reduction or alteration of pathogen metabolism (Grant *et al.*, 1990; Guest y Grant, 1991; Wilkinson *et al.*, 2001; King *et al.*, 2010), while the indirect effect involves stimulation of defense mechanisms of plants such as production of phytoalexins and reactive oxygen species (ROS), induction of pathogenicity related (PRs) proteins, strengthening of the cell wall by lignification and callose deposition, and the activation of the systemic acquired resistance (SAR) pathway associated to salicylic acid (Guest y Grant, 1991; Lobato *et al.*, 2008, 2011; Pilbeam *et al.*, 2011; Eshraghi *et al.*, 2011; Machinandiarena *et al.*, 2012). Finnish studies showed that potassium phosphite used in greenhouses for controlling *P. sparsa* in *Rubus arcticus* only had moderate control when compared to other fungicides with different action mechanism (Hukkanen *et al.*, 2008). Another product within the phosphonates group is fosetil-Al, Gisi (2002) reported that this product controlled most Oomycetes; *P. sparsa* in *Rubus fruticosus* and *Rosa* spp. has been controlled with fosetil-Al (O'Neil *et al.*, 2002). Quiroga and Arbeláez (2004) studies in roses showed that the fungicide based on fosetil-Al had the lowest incidence value and severity of *P. sparsa*, applications with this product were every four days for five weeks, with a total of nine applications, the product was superior to other fungicides because is a substance of higher systemicity, which makes its mobility protect other areas of the plant and also, because of its conversion to phosphonic acid this substance reduces the disease, besides its own fungitoxic activity (Cooke and Little, 2001); however, there can be phytotoxicity problems with continuous applications, manifesting symptoms like brown spots on stems, chlorotic leaves and smaller leaves than those untreated (Quiroga and Arbeláez, 2004).

Another fungicide for *P. sparsa* control is dimethomorph, which is a compound derived from cinnamic acid. In experiments with roses, the treatments with this compound showed low incidence values making it an alternative for rotation with other fungicides. The mode of action of dimethomorph is translaminar and its mechanism of action is the inhibition of cell wall formation, causing lysis and cell death, it also shows excellent antispore activity, preventing the formation of oospores and sporangia (Cohen *et al.*, 1995; Fernández-Northcote *et al.* 2000).

The use of biological control for this pathogen is a rarely used, tested and reported alternative with only few scientific reports. Rebollar-Alviter *et al.* (2012) used *Bacillus subtilis* as a rotation in a management program of *P. sparsa* in *R. fruticosus*; however, it is necessary that these studies are carried out and replicated elsewhere, in order to make sure that biological control is a viable alternative.

Environmental conditions are important in the processes of downy mildew infection and the construction of downy mildew forecasting model that use weather patterns from data provided by weather stations would provide high flexibility for implementing a warning system in areas where data are not available. Kwang *et al.*



2010), mientras que el efecto indirecto involucra la estimulación de mecanismos de defensa de las plantas como la producción de fitoalexinas y especies reactivas de oxígeno (ROS), la inducción de proteínas relacionadas con la patogenicidad (PRs), el reforzamiento de la pared celular mediante la lignificación y deposición de calosa, y la activación de la vía de la Resistencia Sistémica Adquirida (SAR), asociada al ácido salicílico (Guest y Grant, 1991; Lobato *et al.*, 2008, 2011; Pilbeam *et al.*, 2011; Eshraghi *et al.*, 2011; Machinandiarena *et al.*, 2012). Estudios en Finlandia mostraron que el fosfito de potasio utilizado en invernadero para el control de *P. sparsa* en *Rubus articus* solamente tuvo un control moderado, comparado con otros fungicidas con distintos mecanismo de acción (Hukkanen *et al.*, 2008). Otro producto que está dentro del grupo de los fosfonatos es el fosetil aluminio, Gisi (2002), reporta que este producto controla la mayoría de Oomycetos; en *Rubus fruticosus* y *Rosa* spp.; *P. sparsa* ha sido controlado con fosetil aluminio (O'Neil *et al.*, 2002); y en trabajos realizados para rosa por Quiroga y Arbéláez (2004), el fungicida a base de fosetil aluminio fue el que presentó el valor más bajo de incidencia y severidad de *P. sparsa*, las aplicaciones con este producto fueron cada cuatro días durante cinco semanas, para un total de nueve aplicaciones, este producto fue superior a los demás fungicidas, por ser una sustancia de mayor sistemicidad, lo cual hace que su movilidad proteja otras áreas de la planta; además, por la conversión a ácido fosfónico, esta sustancia reduce la enfermedad, sumado a su actividad fungitóxica propia (Cooke y Little, 2001); sin embargo, se pueden presentar problemas de fitotoxicidad con aplicaciones continuas, manifestándose síntomas como manchas de color café en tallos, hojas cloróticas y hojas más pequeñas que las no tratadas (Quiroga y Arbéláez, 2004).

Otro fungicida para el control de *P. sparsa* es el dimetomorph, un compuesto derivado del ácido cinámico. En experimentos realizados en rosa, los tratamientos con este compuesto mostraron valores de incidencia bajos, que lo posicionan como una alternativa para rotación con otros fungicidas. El modo de acción del dimetomorph es translaminar y su mecanismo de acción es la inhibición de la formación de la pared celular, provocando lisis y muerte de la célula, además exhibe excelente actividad antiesporulante, evitando la formación de oosporas y esporangios (Cohen *et al.*, 1995; Fernández-Northcote *et al.* 2000).

El uso de control biológico para este patógeno es una alternativa que poco se ha utilizado, probado, y reportado, existiendo pocos registros, como los de Rebollar-Alviter *et al.* (2012) que utilizaron *Bacillus subtilis* como rotación en un programa de manejo de *P. sparsa* en *R. fruticosus*, sin embargo, es necesario que estos trabajos se repliquen y se realicen en otros lugares, para poder aseverar que el uso biológicos es una alternativa viable de control.

Las condiciones ambientales son importantes en los procesos de infección del Mildiu vellosa y la construcción de un modelo de pronóstico de Mildiu vellosa que use datos patrones de clima de estaciones climáticas proveería gran flexibilidad para la implementación de un sistema de alerta

(2013) designed a study with the aim to investigate the relationship between monthly climate conditions and the risk of downy mildew in boysenberry, besides developing a risk model disease which quantified the risk of downy mildew in relation to future climate conditions supporting farmers' decisions about fungicide application. This model gave as a result the high risk seasons with a downy mildew incidence higher than 10 % that coincided with those months where the number of hours per day was between 15-20 °C, and the number of days with precipitation over 38.7 %. This model (FPS) was developed using fuzzy sets which were defined as the ratio between high-risk events, temperature, and precipitation conditions. A validation study was done where this FPS model gave a correct identification of seasons with high risk of downy mildew for boysenberry, blackberry and rose, and low risk in seasons when the disease was not observed. The FPS model had a concordance with a significance level of agreement between prediction and observation for these crops ( $p = 0.002$ ). This study showed that favorable seasons for downy mildew outbreak of boysenberry had distinctive patterns of climate, and the FPS model was able to identify seasons of high incidence of the disease. Aegerter *et al.* (2003) developed a regression model to predict the risk of disease caused by *P. sparsa*, which was focused on detection of new infections, in contrast to the FPS model that was designed to predict the risk of disease developed at monthly intervals (Kwang *et al.*, 2013).

Crop nutrition is key for treatment of pathogens like *P. sparsa* in rose cultivars. According to the literature, some nutritional elements such as nitrogen (N), potassium (K), calcium (Ca), boron (B), Silicon (Si) and nutrients ratios such as nitrogen (N): potassium (K) ratio are important in increasing resistance to obligate parasites (Ivancovich, 1996; Krauss, 2001); Castillo *et al.* (2010) reported that the addition of 100 to 200 ppm of silicon (Si) to the standard solution in the Charlotte rose variety, significantly reduced symptoms and downy mildew disease progression, this meant an area under the curve of progress of the disease (ABCPE) of 81.71 versus 100.11 of the normal solution; low nutritional ratios (nitrogen (N)/potassium (K) : 1/3, nitrogen (N)/copper (Cu) : 3090/1, calcium (Ca)/Potassium (K) : 11/25, calcium (Ca)/Magnesium (Mg) : 38/1, calcium (Ca)/Boron (B): 262 /1, maintained low incidence and severity levels of *P. sparsa*; additionally, the nitrogen increment to 150 % of its content in the standard nutrient solution, increased the incidence and severity of the disease mainly in susceptible varieties with ABCPE values of 146.88, versus the standard solution with values of 104.79; manganese increment to 150 % of its content in the standard nutrient solution, reduced the disease with ABCPE values of 75.69; potassium increment to 150 % in the nutrient solution reduced the disease in Malibu (ABCPE of 80.83) and Classy varieties (24.81 ABCPE), but disease increased in the Charlotte variety with ABCPE values of 178.5 (Castillo *et al.*, 2010).

## CONCLUSIONS AND PERSPECTIVES

The occurrence of rose downy mildew in growing

en áreas en donde los datos no estén disponibles, es así que Kwang *et al.* (2013) diseñaron un estudio que tenía como objetivos investigar la relación entre las condiciones de clima mensuales y el riesgo del Mildiu vellosa en *R. ursinus* × *idaeus*, además de desarrollar un modelo de riesgo de la enfermedad, el cual cuantificaba el riesgo de Mildiu vellosa en relación a condiciones de clima soportando futuras decisiones de agricultores acerca de la aplicación de fungicidas, este modelo dió como resultado altas estaciones de riesgo con una incidencia de Mildiu vellosa mayor al 10 % que coincidieron con los meses en donde el número de horas por día era de temperaturas entre 15-20 °C, y número de días con precipitación de más 38.7 %. Este modelo (FPS), se desarrolló usando juegos difusos, que se definieron como la relación entre los eventos de alto riesgo, la temperatura, y las condiciones de precipitación. Se hizo un estudio de validación en donde este modelo FPS tuvo una identificación correcta de estaciones con alto riesgo de Mildiu vellosa para *R. ursinus* × *idaeus*, zarzamora y rosa, y bajo riesgo en estaciones cuando la enfermedad no fue observada. El modelo FPS tuvo una concordancia con un grado de significancia de acuerdo entre la predicción y observación para estos cultivos ( $p = 0.002$ ). En este estudio se demostró que las estaciones favorables para estallido del Mildiu vellosa de *R. ursinus* × *idaeus* tuvo patrones de clima distintivos, y que el modelo FPS fue capaz de identificar estaciones de alta incidencia probable de la enfermedad. Aegerter *et al.* (2003) desarrolló un modelo de regresión para predecir el riesgo de la enfermedad causado por *P. sparsa*, el cual se centró en detección de nueva infección, en contraste el FPS modelo fue diseñado para predecir el riesgo de la enfermedad desarrollado en intervalos mensuales (Kwang *et al.*, 2013).

La nutrición de los cultivos es un factor determinante para el manejo de patógenos como *P. sparsa* en el cultivo de rosa. De acuerdo a la literatura, algunos elementos nutricionales como Nitrógeno (N), Potasio (K), Calcio (Ca), Boro(Bo), Silicio(Si) y relaciones entre nutrientes como la relación Nitrógeno (N): Potasio (K) son importantes en el aumento de resistencia a parásitos obligados (Ivancovich, 1996; Krauss, 2001); Castillo y colaboradores (2010), manifiestan que la incorporación de 100 a 200 ppm de Silicio (Si) a la solución estándar en rosa variedad Charlotte, redujeron considerablemente los síntomas y el avance de la enfermedad del Mildiu vellosa, esto significó un área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) de 81,71 versus la solución normal de 100,11; relaciones nutricionales bajas (Nitrógeno (N)/Potasio (K): 1/3, Nitrógeno (N)/Cobre (Cu): 3090/1, Calcio (Ca)/Potasio (K): 11/25, Calcio (Ca)/Magnesio (Mg):38/1, Calcio (Ca)/Boro (Bo): 262/1, mantuvieron bajos niveles de incidencia y severidad de *P. sparsa*; además, el incremento de nitrógeno a 150 % de su contenido en la solución nutritiva estándar, incrementó la incidencia y severidad de la enfermedad con valores de ABCPE de 146,88, versus la solución estándar con valores de 104,79, principalmente en las variedades susceptibles; el incremento de Manganeso a 150 % de su contenido en la solución nutritiva estándar, redujo la enfermedad con valores de ABCPE de 75,69; el

roses countries such as Colombia, Ecuador and Mexico, represent a significant threat to global production of this ornamental plant. Although disease management is viable under a scheme of Integrated Crop Management (ICM), it is necessary to investigate changes in pathogen populations, environmental factors and pathogen-host interaction to adjust strategies to be used in each producing region.

Further research is needed to clarify taxonomic aspects especially the molecular ones, as well as to explore other genome regions different than ribosomal, in order to determine the characteristics of the *P. sparsa* population structure, variations in virulence and pathogenicity between physiological races, as well as the determinants of pathogenicity of the pseudofungus.

The pressure caused by both national and international markets on a more friendly crop management with the environment, that is cleaner and less dangerous to human health, has allowed small and large scale modern agriculture a major shift to search alternatives that minimize the use of pesticides; the latter, without losing productivity or product quality, and above all without increasing production costs.

An integrated research approach that includes all factors of the disease, knowing the time of product application, critical points in phenological development and that shows the relationship between pathogen, host and environment are essential to sustainably manage and make predictive models for downy mildew of the rose.

Currently there are new options for controlling diseases such as phosphites: potassium phosphite, calcium phosphite, phosphite plus micronutrients and phosphite plus amino acids; elicitors such as chitosan, products such as silicon, and antioxidant compounds such as ascorbic acid, which in recent studies it has shown their potential by controlling and inducing defense responses to pathogens in important crops such as potato, grape, blackberry, chrysanthemum and rose (Walter *et al.*, 2004; Aziz *et al.*, 2006; Mora-Herrera *et al.*, 2011; Machinandiarena *et al.*, 2012; García *et al.*, 2012; Shetty *et al.*, 2012; Rebollar-Alviter *et al.*, 2012).

Lastly, the research efforts that contribute to the development of sustainable management strategies are a priority to ensure the long term viability of the rose's production industry.

**Acknowledgements.** The main author thanks to the Secretaria Nacional de Ciencia y Tecnología del Ecuador SENESCYT for the postgraduate scholarship, to the Universidad Autonoma del Estado de Mexico and to the Escuela Superior Politecnica de Chimborazo.

#### LITERATURA CITADA

- Achar PN. 1997. First report of downy mildew of rose caused by *Peronospora sparsa* in KwaZulu Natal, Southern Africa. Plant Disease. Disease note 81: 695.
- Aegerter BJ, Nuñez JJ and Davis RM. 2002. Detection and management of downy mildew in rose rootstock. Plant Disease 86:1363-1368.
- Aegerter BJ, Nuñez JJ and Davis RM. 2003. Environmental

enriquecimiento de Potasio a 150 % en la solución nutritiva, redujo la enfermedad en las variedades Malibú (ABCPE de 80,83) y Classy (ABCPE de 24,81), pero incrementó la enfermedad en la variedad Charlotte con valores de ABCPE de 178,5 (Castillo *et al.*, 2010).

## CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

La ocurrencia del Mildiú veloso de la rosa en países cultivadores de rosas como Colombia, Ecuador y México, representa una amenaza significativa para la producción mundial de esta planta ornamental. Aunque el manejo de la enfermedad es viable bajo un esquema de manejo integrado del cultivo (MIC), es necesario investigar los cambios en las poblaciones del patógeno, factores ambientales y la interacción patógeno-hospedante, para ajustar las estrategias a emplear en cada región productora.

Se necesitan investigaciones adicionales para aclarar aún más aspectos taxonómicos especialmente moleculares, siendo inminente la necesidad de explorar otras regiones del genoma diferentes de las ribosomales, para determinar las características de la estructura de poblaciones de *P. sparsa*., las variaciones en la virulencia y patogenicidad entre razas fisiológicas, y los determinantes de la patogenicidad del pseudohongo.

La presión ocasionada por los mercados tanto nacionales como internacionales sobre un manejo de los cultivos más amigable con el medio, es decir menos contaminante y menos peligroso para la salud humana, ha permitido que la agricultura moderna pequeña y gran escala de un giro importante para buscar otras alternativas que minimicen el uso de pesticidas; esto último, sin perder la productividad, ni la calidad de los productos, y sobre todo sin elevar los costos de producción.

Un enfoque integrado de investigación que incluya todos los factores de la enfermedad, conociendo los tiempos de aplicación de los productos, puntos críticos en desarrollo fenológico y que reúne las relaciones entre patógeno, hospedante y medio ambiente, son esenciales para manejar de manera sostenible y hacer modelos de predicción o aviso para el Mildiú veloso de la rosa.

Al momento existen nuevas alternativas para el control de enfermedades como son fosfitos: fosfitos de potasio, de calcio, fosfitos más micronutrientes y fosfitos más aminoácidos; elicitores como el quitosán, productos como el silicio, y compuestos antioxidantes como el ácido ascórbico, que en investigaciones recientes, han demostrado el potencial que pueden brindar al controlar e inducir respuestas de defensa a patógenos en cultivos de importancia como papa, uva, zarzamora, crisantemo y rosa (Walter *et al.*, 2004; Aziz *et al.*, 2006; Mora-Herrera *et al.*, 2011; Machinandiarena *et al.*, 2012; García *et al.*, 2012; Shetty *et al.*, 2012; Rebollar-Alviter *et al.*, 2012).

Finalmente los esfuerzos de investigación que contribuyan al desarrollo de las estrategias de manejo sostenible, son una prioridad para asegurar la viabilidad a largo plazo de la industria de la producción de rosas.

**Agradecimientos.** El autor principal agradece a la Secretaría Nacional de Ciencia y Tecnología del Ecuador

factors affecting rose downy mildew and development of a forecasting model for a nursery production system. *Plant Disease* 87: 732-738.

Altamiranda EAG, Andreu AB, Daleo GR and Olivieri FP. 2008. Effect of B-aminobutyric acid (BABA) on protection against *Phytophthora infestans* throughout the potato crop cycle. *Australasian Plant Pathology* 37: 421-427.

African Business Magazine. 2012. The global flower trade. Disponible en línea: <http://africanbusinessmagazine.com/special-reports/sector-reports/floriculture/the-global-flower-trade>. (consulta, marzo 2013).

Agrios GN. 2005. *Plant pathology*. Fifth. Ed. Academic Press Inc. New York. USA. 922 p.

Arbeláez G. 1999. El mildiú veloso del rosal ocasionado por *Peronospora sparsa* Berkeley. *Acopaflore* 6: 37-39.

Ayala VM, Argel RL, Jaramillo VS y Marín MM. 2008. Diversidad genética de *Peronospora sparsa* (Peronosporaceae) en cultivos de rosa de Colombia. *Acta Biol. Colomb.* 13: 79-94.

Aziz A, Trostel AP, Dhuicq LJ, Couderchet PM and Vernet G. 2006. Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew disease control and pest management. *Plant Pathology* 61: 120-131.

Bañón AS, González BGA, Fernández HJA y Cifuentes RD. 1993. *Gerbera, liliun, tulipán y rosa*. Mundi-Prensa. Madrid. España. 250 p.

Berkeley JM. 1862. Fungi on rose leaves. *Gardener's Chronicle*: 307-308.

Blechert O and Debener T. 2005. Morphological characterization of the interaction between *Diplocarpon rosae* and varios rose species. *Plant Pathology* 54: 82-90.

Brent K and Hollomon D. 2007. *Fungicide resistance in crop pathogens*. 2ed. Published by Fungicide Resistance Action Committee. Brussels. Belgium. 58 p.

Castillo CF, Álvarez E, Gómez E, Llano GA y Castaño J. 2010. Mejoramiento nutricional de la rosa para el manejo de *Peronospora sparsa* Berkeley, causante del mildiú veloso. *Rev. Acad. Colomb. Ciencias Exactas, Físicas y Naturales* 34: 137-142.

Clark JSC and Spencer PPTN. 2004. The compatible interaction in downy mildew infections. In: Spencer, D.M. (ed.). *Advances in Downy Mildews Research*. Kluwer Academics Publishers 2: 1-34.

Cohen Y, Baider A and Cohen B. 1995. Dimethomorph activity against oomycete fungal plant pathogens. *Phytopathology* 85: 1500-1506.

Cooke DE, Drenth A, Duncan JM, Wagels G and Brasier CM. 2000. A molecular phylogeny of *Phytophthora* and related Oomycetes. *Fungal Genet Biol.* 30: 17-32.

Cooke L and Little G. 2001. The effect of foliar application of phosphonate formulations on the susceptibility of potato tubers to late blight. *Pest Management Science* 58: 17-25.

Copping LG and Hewitt HG. 1998. *Chemistry and mode of action of crop protection agents*. Cambridge: Royal Soc. Chemistry. 145p.

SENECYT por la beca para estudios de posgrado, a la Universidad Autónoma del Estado de México y a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

- Daayf F, Ongena M, Boulanger RN, El Hadrami I and Bélanger RR. 2000. Induction of phenolic compounds in two cultivars of cucumber by treatment of healthy and powdery mildew-infected plants with extracts of *Reynoutria sachalinensis*. J Chem. Ecol. 26: 1579-1593.
- Delipoulos T, Kettlewell PS and Hare MC. 2010. Fungal disease suppression by inorganic salts: A Review. Crop Prot. 29: 1059-1075.
- Dick MW. 2001. Straminipilous fungi. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht. The Netherlands. 670 p.
- Eshraghi L, Anderson J, Aryamanesh N, Shearer B, McComb J, Hardy GESTJ and O'Brien PA. 2011. Phosphite primed defence responses and enhanced expression of defence genes in *Arabidopsis thaliana* infected with *Phytophthora cinnamomi*. Plant Pathol. 60:1086-1095.
- Fernández NEN, Navia O and Gandarillas A. 2000. Basis of strategies for chemical control of potato late blight developed by PROINPA in Bolivia. Fitopatologia 35: 137-149.
- Flórez RV. 1996. El papel de las fenilamidas en el manejo del mildew veloso en ornamentales. Acopaflor 3: 30-31.
- Guest D and Grant B. 1991. The complex action of phosphonates as antifungal agents. Biol. Rev. 66: 159-187.
- Gisi U. 2002. Chemical control of downy mildews. pp. 119-159. In: Spencer-Philips, P.N.T., U. Gisi and A. Lebeda (eds). Advances in downy mildew research. Kluwer Academic Publisher, Amsterdam. Holand.
- Göker M, Voglmayr H, Riethmüller A, Weib M and Oberwinkler F. 2003. Taxonomic aspects of Peronosporaceae inferred from Bayesian molecular phylogenetics. Can J. Bot. 81: 672-683.
- Göker M, García BG, Voglmayr H, Tellería MT, Martín MP. 2009. Molecular taxonomy of phytopathogenic fungi: A case study in *Peronospora*. PLoS ONE 4: e6319. doi:10.1371/journal.pone.0006319
- Gómez SM y Arbeláez G. 2005. Caracterización de la respuesta de tres variedades de rosa a la infección de *Peronospora sparsa* Berkeley, bajo condiciones de invernadero. Agronomía Colombiana 23: 246-255.
- Grant BR, Dunstan RH, Griffith JM, Niere JO and Smillie RH. 1990. The mechanism of phosphonic (phosphorous) acid action in *Phytophthora*. Australas Plant. Pathol. 19:115-121.
- Hall HK and Gardner CS. 1982. Oospores of *Peronospora sparsa* Berk. on *Rubus* species, New Zealand Journal of Experimental Agriculture 10: 429-432.
- Hardham A. 2009. The asexual life cycle. Oomycetes Genetics and Genomics: Diversity, Interactions, and Research Tools. Edited by Kurt Lamour and Sophien Kamoun. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. US. 93-94.
- Hawksworth DL, Kirk PM, Sutton BC and Pegler DN. 1995. Ainsworth & Bisby's. Dictionary of the Fungi. 8 ed. CAB Internacional. Egham. UK. 616p.
- Hollier CA, Overstreet C and Holcomb GE 2001. Rose diseases. Louisiana State University, Agricultural Center. Louisiana, USA. 2613 p.
- Horst RK and Cloyd RA 2007. Compendium of rose diseases. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. Pp. 16-18.
- Hukkanen A, Kostamo K, Karelampi S and Kokko H. 2008. Impact of agrochemicals on *Peronospora sparsa* and phenolic profiles in three *Rubus arcticus* cultivars. J. Agric. Food Chem. 56: 1008-1016.
- Ivancovich A. 1996. Manejo de enfermedades. In: Bota, G., A. Ivancovich, L.D. Ploper y I. Laguna (Eds.) Enfermedades de Soja. Manual de Diagnóstico y Manejo, INTA CRBAN EEA Pergamino. 15-32 pp.
- Jackson TJ, Burgess T, Colquhoun I and Hardy GE. 2008. Action of the fungicide Phosphite on *Eucalyptus marginata* inoculated with *Phytophthora cinnamomi*. Plant Pathol. 49: 147-154.
- Judelson H. 2009. Sexual reproduction in Oomycetes: Biology, diversity, and contributions to fitness. Oomycete Genetics and Genomics: Diversity, Interactions, and Research Tools. Edited by Kurt Lamour and Sophien Kamoun. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey. USA 121-122 pp.
- Kamoun S. 2003. Molecular genetics of pathogenic Oomycetes. Eukaryotic Cell. 2:191-199.
- King M, Reeve W, Van der Hoek MB, Williams N, McComb J, O'Brien PA and Hardy GE. 2010. Defining the phosphite-regulated transcriptome of the plant pathogen *Phytophthora cinnamomi*. Mol. Genet. Genomics 284: 425-435.
- Krauss A. 2001. Potassium and biotic stress. Presented at the 1<sup>st</sup> FAUBA-FERTILIZAR-IPI Workshop on Potassium in Argentina's Agricultural Systems. 20-21 November 2001, Buenos Aires, Argentina. International Potash Institute (IPI).
- Kumar RA, Vasu K, Velayudhan KT, Ramachandran V, Suseela Bhai R and Unnikrishnan G. 2009. Translocations and distribution of 32 P. labeled potassium phosphonate in black pepper (*Piper nigrum* L.). Crop Prot. 28: 878-881.
- Kwang SK, Beresford RM and Walter M. 2013. Development of a disease risk prediction model for downy mildew (*Peronospora sparsa*) in boysenberry. Phytopathology. 58: 1-30.
- Lediuk KD, Lorenzo L y Damascos MA. 2010. Primer registro de *Podosphaera pannosa* (Ascomycota) sobre *Rosa canina* en Argentina. Bol. Soc. Argent. Bot. 45: 231-233.
- Lindqvist KH, Koponen H, and Valkonen J. 1998. *Peronospora sparsa* on cultivated *Rubus arcticus* and its detection by PCR based on ITS sequences. Plant Dis. 82:1304-1311.
- Lindqvist KH, Koponen H and Valkonen J. 2002. Variability of *Peronospora sparsa* (syn. *P. rubi*) in Finland as measured by amplified fragment length polymorphism. Eur. J. Plant Pathol. 108: 327-335.

- Lobato MC, Olivieri FP, González AEA, Wolski EA, Daleo GR, Caldiz DO and Andreu AB. 2008. Phosphite compounds reduce disease severity in potato seed tubers and foliage. *Eur. J. Plant Pathol.* 122: 349-58.
- Lobato MC, Machinandiarena MF, Tambascio C, Dosio GAA, Caldiz DO and Daleo GR. 2011. Effect of foliar applications of phosphite on post-harvest potato tubers. *Eur. J. Plant Pathol.* 130: 155-63.
- Lyr H. 1995. Modern selective fungicides-properties, applications, mechanisms of action. New York: Gustav Fischer Verlag. 595 p.
- Macnish AJ, Morris KL, Theije MGJ, Boerrigter HAM, Reid MS, Jiang CZ and Woltering EJ. 2010. Sodium hypochlorite: A promising agent for reducing *Botrytis cinerea* infection on rose flowers. *Postharvest Biology and Technology* 58: 262-267.
- McDonald AE, Grant BR and Plaxton WC. 2001. Phosphite (phosphorous acid): Its relevance in the environment and agriculture and influence on plant phosphate starvation response. *J. Plant Nutr.* 24: 1505-1519.
- Machinandiarena M, Lobato M, Feldman M, Daleo G and Andreu A. 2012. Potassium phosphite primes defense responses in potato against *Phytophthora infestans*. *Journal of Plant Physiology* 169: 1417-1424.
- Michelmore RW, Ilott T, Hulbert SH and Farrara B. 1988. The downy mildews. *Advances in Plant Pathology* 6: 55-76.
- Mora HME, Peralta VJ, López DHA, García VR, González DJG. 2011. Efecto del ácido ascórbico sobre crecimiento, pigmentos fotosintéticos y actividad peroxidasa en plantas de crisantemo. *Revista Chapingo Serie Horticultura.* 17: 73-81.
- NCBI. 2013. Taxonomy browser. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Info&id=169388&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlocked>. (consulta, febrero 2013).
- Nuninger C, Watson G, Leadbitter N, and Ellgehausen H. 1996. CGA329341: Introduction of the enantiometric form of the fungicide metalaxyl. Brighton Crop Protection Conference. Pests and Diseases 1: 263-268.
- O'Neil TM, Pye D and Locke T. 2002. The effect of fungicides, irrigation and plant density on the development of *Peronospora sparsa*, the cause of downy mildew in rose and blackberry. *Ann. Appl. Biol.* 140: 2007-2214.
- Pilbeam RA, Howard K, Shearer BL and Hardy GESJ. 2011. Phosphite stimulated histological responses of *Eucalyptus marginata* to infection by *Phytophthora cinnamomi*. *Trees Struct Funct.* 25: 1121-1131.
- Quiroga N y Arbeláez G. 2004. Evaluación de la eficacia de fungicidas aplicados al suelo y al follaje para el control de mildew vellosa, ocasionado por *Peronospora sparsa* en un cultivo comercial de rosa. *Agronomía Colombiana* 22: 110-118.
- Quitian A. 1995. Algunos aspectos sobre mildew vellosa y su manejo. *Acopaflor* 2: 25-26.
- Restrepo L F. 1996. Susceptibilidad de las rosas a los mildews. *Acopaflor* 3: 3-6.
- Rebollar AA, Silva RHV and Ellis MA. 2009. First report of *Peronospora sparsa* causing downy mildew (dryberry) of *Rubus fruticosus* in Mexico. *Plant Disease. Disease note* 93: 674.
- Rebollar AA, Silva RHV, López CI, Boyzo MJ and Ellis MA. 2012. Fungicide sprays programs to manage downy mildew (dryberry) of blackberry caused by *Peronospora sparsa*. *Crop Protection* 42: 49-55.
- Riethmüller A, Voglmayr H, Göker M, Weiß M and Oberwinkler F. 2002. Phylogenetic relationships of the downy mildews (Peronosporales) and related groups based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 94: 834-849.
- Ritz CM, Maier WF, Oberwinkler F and Wissemann V. 2005. Different evolutionary histories of two *Phragmidium* species infecting the same dog rose host. *Mycol. Res.* 109: 603-609.
- Robert V, Stegehuis G and Stalpers J. 2005. The MycoBank engine and related databases. <http://www.mycobank.org> (consulta, febrero 2013).
- Shetty R, Jensen B, Shetty P, Hansen M, Hansen CW, Starbey, KR and Jorgensen, HJL. 2012. Silicon induced resistance against powdery mildew of roses caused by *Podosphaera pannosa*. *Plant Pathology* 61: 120-131.
- Shibuya N and Minami E. 2001. Oligosaccharide signalling for defence responses in plant. *Physiol. Mol. Plant. Pathol.* 59: 223-33.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2012. Cierre de la producción agrícola. Disponible en línea: [http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com\\_wrapper&view=wrapper&Itemid=350](http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350) (consulta, octubre de 2013).
- Tate KG. 1981. Etiology of dryberry disease of boysenberry in New Zealand. *N. Z. J. Crop Exp. Agric.* 9: 371-376.
- Thines M. 2006. Evaluation of characters available from herbarium vouchers for the phylogeny of the downy mildew genera (Peronosporaceae) *Fungal Genet. Biol.* 44: 199-207.
- Virany F. 1988. Changes in pigment constitution of downy mildew sunflower after metalaxyl treatment. *Acta Fitopatológica y Entomológica Húngara* 23: 21-25.
- Walter M, Harris VP, Thomas W, Tate G, Waipara NW and Langford G. 2004. Agrochemicals suitable for downy mildew control in New Zealand boysenberry production. *Crop Prot.* 23: 327-333.
- Wilkinson CJ, Shearer BL., Jackson TJ and Hardy GESJ. 2001. Variation in sensitivity of western Australian isolates of *Phytophthora cinnamomi* to phosphite *in vitro*. *Plant. Pathol.* 50: 9-83.
- Williamson B, Breese WA and Shattock RC. 1995. A histological study on downy mildew (*Peronospora rubi*) infection of leaves, flowers and developing fruits of tummelberry and other *Rubus* spp. *Mycological Research* 99: 1311-1316.
- Wheeler B. 1981. Downy mildew of ornamentals. Chapter 22 *In: Spencer, D.M. (ed.). The Downy Mildews.* Academic Press, London. England. 476-477.
- Whitaker VM and Hokanson SC. 2009. Breeding Roses for disease resistance. *Plant Breeding Reviews.* Edited by Jules Janick. St. Paul MN USA 31: 277-329.