IVES Technical Reviews
viña & vino

https://doi.org/10.20870/IVES-TR.2020.3985

El mildiu es capaz de realizar su ciclo sexual en variedades de vid resistentes

Información extraída del artículo de investigación "Evidence for sexual reproduction and fertile oospore production by *Plasmopara viticola* on the leaves of partially resistant grapevine varieties" (ACTA Horticulturae, 2019)[1].

>>> Estudios precedentes han demostrado que las nuevas variedades de vid resistentes limitan las epidemias causadas por la reproducción asexuada del mildiu. No obstante, hasta ahora, carecíamos de conocimientos sobre la fase sexuada del agente patógeno. Este estudio demuestra que la resistencia de la vid tiene poco efecto sobre el siclo sexual del mildiu. De esta forma, el agente patógeno puede completar su ciclo de vida (fases asexuada y sexuada) en variedades de vid parcialmente resistentes. La persistencia de las poblaciones de agentes patógenos en las variedades parcialmente resistentes de un año a otro representa un desafío mayor para la durabilidad de la resistencia genética de la vid. <<<

Las variedades de *Vitis vinifera* son muy sensibles al mildiu[2]. Los tratamientos fungicidas son, en la actualidad, el único método disponible para luchar contra este agente patógeno[3]. Aún así, su utilización sistemática acarrea efectos negativos, posiblemente impactos en el medio ambiente, así como la aparición de resistencias a los fungicidas[4] que reducen la eficacia de un número cada vez más grande de productos[3]. La utilización de la resistencia genética de las plantas es una alternativa eficaz a los fungicidas. Esta permite limitar, retardar o prevenir el ciclo de infección del agente patógeno. La selección de la resistencia genética está en el núcleo de varios programas de mejoramiento varietal de la vid en Europa, ya sea en Francia, en Alemania, en Suiza o en Italia.

Variedades resistentes al mildiu y al oídio, con características organolépticas adaptadas a la producción de vinos de calidad, han sido recientemente creadas para la cruza. Estas variedades son portadoras de factores de resistencia derivados de *Vitis* salvajes de origen americano y asiático. Recientemente registradas en Francia, estas variedades presentan una resistencia parcial al mildiu de la parra, lo que limita el crecimiento y la esporulación del micelio, reduciendo así las epidemias provocadas por la fase de multiplicación asexuada del agente patógeno durante la estación. Hasta ahora, no se ha evaluado el efecto de la resistencia del huésped durante la fase sexuada del ciclo del mildiu de la vid (Fig. 1). De hecho, *Plasmopara viticola* posee un sistema de reproducción mixto basado en varios ciclos de reproducción asexuada y una sola generación sexuada que tiene lugar cada año en otoño (Fig. 2)[5]. Para responder a esta interrogante, este estudio ha evaluado durante diez años la producción de huevos de invierno ("oosporas") y el éxito de las infecciones ulteriores ("infecciones primarias") en variedades resistentes, durante la generación sexual. Se estudiaron las variedades resistentes que portan dos tipos de factores (**Rpv1** y **Rpv3**), por sí solos o combinados.

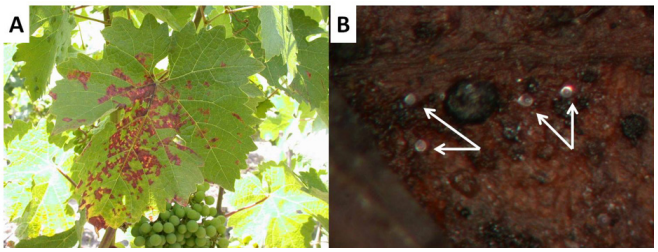


Figura 1. Reproducción sexuada del mildiu en una hoja de parra: A) forma mosaico, B) germinación de macrosporángeos en la primavera (Fotografías: Delbac & Rolle, INRAE).

El enfoque utilizado

El material vegetal estudiado es producto de los descendientes de una cruza entre *Mtp3082-1-42* y *Regent*, así como un Merlot que sirvió de control sensible. El progenitor *Mtp3082-1-42* transmitió el factor de resistencia **Rpv1** y el progenitor *Regent* transmitió el factor **Rpv3**. **Rpv1** y **Rpv3** tienen una resistencia parcial a elevada[6]. Esta cruza es el origen de las primeras variedades resistentes del programa INRAE-ResDur, recientemente comercializadas en Francia.

El procedimiento de manipulación y evaluación de la presencia de oosporas y del control de su germinación fue adaptado de un método publicado anteriormente por el INRAE[7]. Se estudiaron cuatro combinaciones posibles de factores de resistencia: **Rpv1, Rpv3, Rpv1/Rpv3** y ausencia de resistencia. Para cada genotipo estudiado, el plan experimental fue el siguiente:

(**A**) colecta de hojas que presenten síntomas de "mosaico" en otoño (Fig. 1A). Evaluamos la presencia de oosporas en la parte necrótica del limbo de la hoja, luego recolectamos discos foliares que guardamos en tubos de

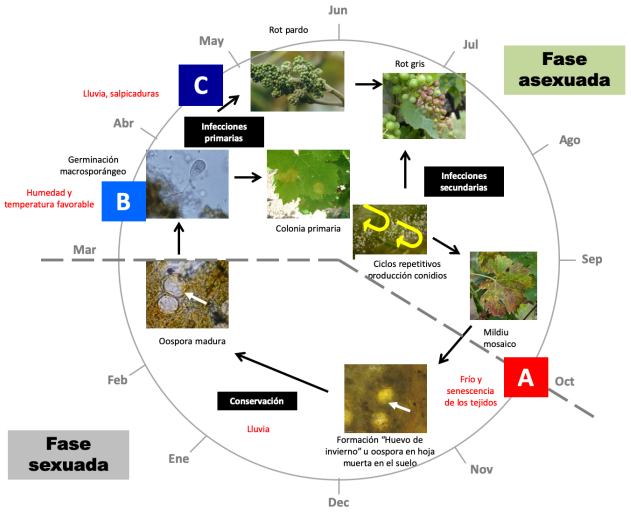


Figura 2. Ciclo del mildiu de la parra y ubicación de las etapas experimentales efectuadas (Fotografías: Blancard, Bugaret, Delbac & Mazet, INRAE).

El establecimiento y el lanzamiento de IVES Technical Reviews están respaldados por LabEx COTE mediante la convocatoria de proyectos «Transfer and valorization».

yeso de moldear enterrados en condiciones climáticas naturales de octubre (año n-1) a abril (año n).
(**B**) evaluación del número de macrosporángeos formados en primavera, en abril (año n) (Fig. 1B).
(**C**) inoculación de hojas de Cabernet Sauvignon (variedad sensible) con los macrosporángeos formados con el fin de causar infecciones primarias del agente patógeno.
Estos protocolos se detallan en las figuras 2 y 3.

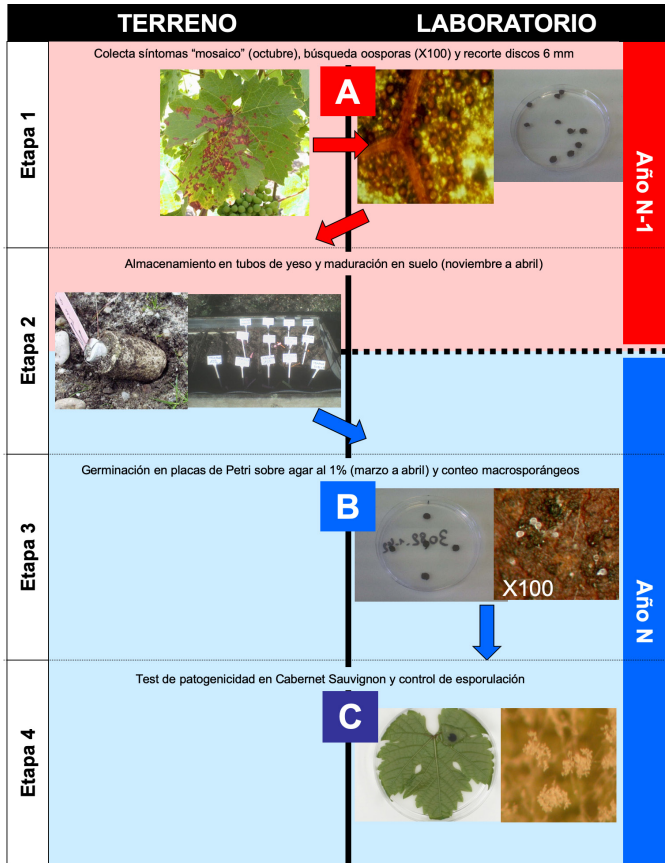


Figura 3. Etapas experimentales para el seguimiento de la fase sexuada del mildiu de la vid (Fotografías: Delbac, Rolle & Tran Mahn Sung, INRAE).

■ Oosporas del ciclo sexuado en las variedades resistentes

El mildiu de la vid produce huevos de invierno en las variedades resistentes durante el otoño. La producción de oosporas es más elevada en las variedades sensibles que en las variedades resistentes. **Rpv1** y **Rpv3** reducen la producción de oosporas del agente patógeno, pero no la impiden. Las oosporas germinan a la primavera siguiente. Las variedades que portan el factor **Rpv1** han mostrado una tasa de producción elevada de macrosporángeos. Para todos los genotipos, hemos constatado una gran variabilidad en la producción de macrosporángeos en función de la fecha de observación, es decir que los macrosporángeos son producidos principalmente al inicio de la primavera. Los macrosporángeos producen infecciones primarias que se observan para todas las combinaciones de factores de resistencias. No obstante, se observan diferencias significativas entre las variedades; uno de los genotipos que porta la combinación **Rpv1/ Rpv3** tiene una tasa de éxito elevada frente a las infecciones primarias, contrariamente a **Rpv3**.

■ ¿Qué debemos recordar?

Las variedades resistentes limitan la capacidad del mildiu de la vid para multiplicarse durante los ciclos asexuados, lo que permite controlar parcialmente la enfermedad durante la estación de cultivo.

Los datos del observatorio nacional OSCAR muestran que el cultivo de variedades resistentes puede reducir la utilización de fungicidas en las parcelas en más de un 80 %[8].
Desde el punto de vista evolutivo, existe un riesgo de aparición de cepas de mildiu capaces de evadir la resistencia de la parra. Este es un fenómeno clásico cuando los genes de resistencia son desplegados a gran escala. Normalmente, a pesar de que el número de esporas del mildiu de la vid que llegan a la cepa sea importante, se supone que al principio del despliegue de estas variedades resistentes en el viñedo se reducen las posibilidades de fijar una mutación favorable a lo largo de los ciclos de multiplicación asexuada del agente patógeno. Sin embargo, los resultados de este estudio muestran que la resistencia de la vid no bloquea la fase de reproducción sexuada del agente patógeno. El logro exitoso del ciclo sexual ofrece al patógeno la posibilidad de recombinar mutaciones favorables, que podrían eventualmente permitirle evadir la resistencia de forma más rápida.
Estrategias complementarias para la gestión de las epidemias podrían ser puestas en marcha con el fin de limitar la emergencia de cepas virulentas del mildiu de la vid. Estas estrategias pueden incluir la vigilancia a largo plazo de la virulencia del agente patógeno (por ejemplo, el observatorio nacional OSCAR)[8], la aplicación de un número limitado de tratamientos fungicidas (por ejemplo, 1 o 2 aplicaciones de fungicidas en torno a la floración, lo que permite al mismo tiempo controlar los ataques de otros agentes patógenos que no son blanco de los genes de resistencia tales como la antracnosis o la podredumbre negra[8]), la utilización de estimuladores de defensa de las plantas o la puesta en obra de medidas profilácticas (por ejemplo, quitar las hojas senescentes en otoño)[1]. En todo caso, es la diversidad de los métodos de lucha la que permitirá crear sistemas vitícolas más resilientes a las enfermedades. De esta forma, la utilización de la resistencia varietal contra el mildiu de la vid debe ser considerada como una herramienta suplementaria para construir sistemas vitícolas más eficientes en productos fitosanitarios. ■

Lionel Delbac[1], Laurent Delière[1, 2], Christophe Schneider[3], François Delmotte[1]
1 SAVE, INRAE, Bordeaux Sciences Agro, ISVV, Villenave d'Ornon, France
2 UE Vigne Bordeaux Grande-Ferrade, INRAE, ISVV, Villenave d'Ornon, France
3 SVQV, INRAE, Université de Strasbourg, Colmar, France

1 Delbac, L., Delière, L., Schneider, C. & Delmotte, F. Evidence for sexual reproduction and fertile oospore production by *Plasmopara viticola* on the leaves of partially resistant grapevine varieties. *Acta Hortic.* 1248, 607–619 (2019).
2 Yin, L. et al. Genome sequence of *Plasmopara viticola* and insight into the pathogenic mechanism. *Sci. Rep.* 7, (2017).
3 Gessler, C., Pertot, I. & Perazzolli, M. *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathol. Mediterr.* 50, 3–44 (2011).
4 Delmas, C. E., Dussert, Y., Delière, L., Couture, C., Mazet, I. D., Richart Cervera, S., & Delmotte, F. (2017). Soft selective sweeps in fungicide resistance evolution: recurrent mutations without fitness costs in grapevine downy mildew. *Molecular ecology*, 26(7), 1936–1951. https://doi.org/10.1111/mec.14006
5 Dubos, B. Maladies cryptogamiques de la vigne. Champignons parasites des organes herbacés et du bois de la vigne. *Edts Féret* (1999).
6 Merdinoglu, D., Schneider, C., Prado, E., Wiedemann-Merdinoglu, S., & Mestre, P. (2018). Breeding for durable resistance to downy and powdery mildew in grapevine. *OENO One*, 52(3), 203-209. https://doi.org/10.20870/oeno-one.2018.52.3.2116
7 Ronzon-Tran Manh Sung, C. & Clerjeau, M. Techniques for formation, maturation and germination of Plasmopara viticola oospores under control conditions. *Plant Dis.* 72, 938–941 (1988).
8 Guimier, S. et al. OSCAR, a national observatory to support the durable deployment of disease-resistant grapevine varieties. *Acta Hortic.* 1248, (21-33), (2019).