

## Efecto de la temperatura y humedad relativa en la germinación de esporangios de *Bremia lactucae* Regel\*

### Effect of temperature and relative humidity on the germination of *Bremia lactucae* Regel sporangia

Ricardo Yáñez López<sup>1</sup>, Juan Ángel Quijano Carranza<sup>2§</sup>, Carlos Manuel Bucio Villalobos<sup>1</sup>, María Irene Hernández Zul<sup>1</sup>, José Honorato Arreguín Centeno<sup>1</sup> y Jesús Narro Sánchez<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Universidad de Guanajuato, Campus Irapuato-Salamanca División Ciencias de la Vida, Apdo. Postal 311, Irapuato Guanajuato, México C. P. 36500. Tel. 01 461 6115623. Ext. 219. (ranez@itelcel.com), (buciovillalobos@yahoo.com.mx), (irenezul@hotmail.com), (jharrece@hotmail.com). <sup>2</sup>INIFAP-CIR Centro-Campo Experimental Bajío Carretera Celaya-San Miguel de Allende, km 6.5, C. P. 38010, Celaya Guanajuato, México. Tel. 01 461 6115623. Ext. 219. (jnarros@hotmail.com). <sup>§</sup>Autor para correspondencia: juanangelquijano@prodigy.net.mx.

#### Resumen

El propósito de este trabajo realizado en 2009, fue estudiar el efecto de la temperatura, y la humedad relativa, en la germinación de esporangios de *Bremia lactucae* Regel. El efecto de estas variables sobre la germinación de esporangios *in vitro*, se evaluó en cámaras de incubación mediante 21 tratamientos formados por los niveles de temperatura de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 °C en combinación con humedades de 70, 80, 90%. La germinación se evaluó a las 24 h de establecer el tratamiento. Se realizó un análisis estadístico para determinar la importancia de estas variables y su interacción sobre la germinación de esporangios e inferir sobre el rango óptimo de temperatura y humedad. Se encontró que existe efecto significativo de la interacción entre estas variables sobre la germinación, presentándose esta desde los 5 °C hasta los 25 °C. El tratamiento que presentó el mayor porcentaje de germinación fue el de 10 °C en combinación con humedad relativa 90%. Con base en una análisis de superficie de respuesta. Se concluyó que el óptimo de germinación de esporangios se consigue con temperaturas de entre 9.5 y 12.5 °C con una humedad de 90%.

**Palabras clave:** *Bremia lactucae*, *Lactuca sativa*, esporangios, germinación.

#### Abstract

The purpose of this work, performed in 2009, was to study the effect of temperature and relative humidity on the germination of *Bremia lactucae* Regel sporangia. The effect of these variables on the *in vitro* germination of sporangia was evaluated in incubation chambers, with 21 treatments formed by the temperature levels of 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 °C combined with humidities of 70, 80, 90%. Germination was evaluated 24 h after the treatment was established. A statistical analysis was carried out to determine the importance of these variables and their interaction on the germination of sporangia and infer on the optimum temperature and humidity ranges. We found that there is a significant effect of the interaction between these variables on germination, which appears starting at 5 °C until 25 °C. The treatment that presented the highest percentage of germination was 10 °C, in combination with a relative humidity of 90%. Based on an surface response analysis, we concluded that the optimum of sporangia germination can be obtained with with temperatures ranging from 9.5 to 12.5 °C with a relative humidity of 90%.

**Key words:** *Bremia lactucae*, *Lactuca sativa*, sporangium, germination.

\* Recibido: noviembre de 2011  
Aceptado: julio de 2012

## Introducción

El mildiu veloso de la lechuga, causado por el hongo *Bremia lactucae* Regel, es uno de los principales problemas en la producción de lechuga (*Lactuca sativa* L.) a nivel mundial. Brotes severos de la enfermedad se presentan esporádicamente y se asocian a situaciones meteorológicas específicas, por lo cual se han realizado diversos estudios para entender la respuesta de éste organismo a elementos meteorológicos como: luz, temperatura, humedad relativa, rocío, y viento; ya que, éstos han sido reportados como limitantes en la esporulación, dispersión, germinación e infección de *B. lactucae* (Schermer, y van Bruggen, 1994; Scherm, y van Bruggen, 1995; Scherm, y van Bruggen, 1995a; Minchinton, 1998; Wu *et al.* 2000; Wu *et al.* 2002; Su *et al.*, 2004; Nordskog *et al.*, 2007). Aunque *B. lactucae* produce oosporas, su dispersión en campo ocurre principalmente por esporangios, (Verhoeff, 1960). Los esporangios que son liberados, se depositan en las hojas y sólo pueden infectar si se presentan 3 h con presencia de rocío (Powlesland, 1954; Verhoeff, 1960; Scherm, y Van Bruggen, 1993 y 1994). La temperatura es una variable importante en todos los procesos fisiológicos de los patógenos, afectando su crecimiento y el desarrollo (Cohen y Yarwood, 1952), en *B. lactucae* la incubación del hongo y el periodo de latencia; es decir, el tiempo desde la deposición de la espora hasta la aparición de los primeros síntomas, decrecen hiperbólicamente con el incremento de la temperatura, hasta alcanzar el óptimo. Cuando la temperatura está por encima del nivel óptimo, la curva decrece (Populer, 1981; Analystis, 1982; Scherm y Van Bruggen, 1994).

En *B. lactucae* la germinación de los esporangios y la penetración del hongo en el tejido vegetal ocurren de manera óptima a una temperatura de 15 °C y con 3 h. de rocío (Schermer y Van Bruggen, 1993). De acuerdo con Paulus *et al.* (1980), el rango de temperaturas para la germinación es de entre 1.1 y 20 °C, y para que la infección se presente se requiere de agua libre en la hoja. Minchinton (1998), menciona que la espora germina en un rango de temperatura de 0 a 20 °C, y que se requiere de humedad para inducir la germinación ya que la espora contiene inhibidores de la germinación los cuales son solubles en agua.

La humedad, al igual que la temperatura es determinante para el inicio y desarrollo de la enfermedad. La humedad en la parte aérea de las plantas puede ser esencial para algunos patógenos, sobre todo en la etapa de germinación de esporas, en la etapa de formación del tubo germinativo y su posterior penetración. Esta estrecha relación entre los procesos de

## Introduction

Downy mildew in lettuce, caused by the fungus *Bremia lactucae* Regel, is one of the main problems in the production of lettuce (*Lactuca sativa* L.) on a global scale. Severe outbreaks of the disease show up sporadically and are related to specific weather situations, which is why diverse studies have been carried out to understand the response of this organism to weather elements: light, temperature, relative humidity, dew and wind, since these have been reported as limiting in sporulation, dispersion, germination and infection of *B. lactucae* (Schermer, and van Bruggen, 1994; Scherm, and van Bruggen, 1995; Scherm, and van Bruggen, 1995a; Minchinton, 1998; Wu *et al.* 2000; Wu *et al.* 2002; Su *et al.*, 2004; Nordskog *et al.*, 2007). Although *B. lactucae* produces oospores, its dispersion on the field occurs mainly by sporangia, (Verhoeff, 1960). The released sporangia are placed in the leaves and can only be infected under the presence of dew for 3 h (Powlesland, 1954; Verhoeff, 1960; Scherm, and van Bruggen, 1993 and 1994). Temperature is an important variable in all the physiological processes of the pathogens; fungal incubation and latency period affect the growth and development of (Cohen and Yarwood, 1952), of *B. lactucae*, i.e., the time between deposition of the spore and the first symptoms fall hyperbolically as temperature rises, until an optimum is reached. When the temperature is above the optimum level, the curve falls (Populer, 1981; Analystis, 1982; Scherm, 1994).

In *B. lactucae*, germination of the sporangia and the penetration of the fungus in the plant tissue are best at a temperature of 15 °C and with 3 h. dew (Schermer, 1993). According to Paulus *et al.* (1980), the range of temperatures for germination is between 1.1 and 20 °C, and for the infection to appear, free water is required on the leaf. Minchinton (1998) mentions that the spore germinates in a temperature range of 0 to 20 °C, and humidity is required to induce germination, since the spore contains germination inhibitors, which are soluble in water.

Humidity, like temperature, determines the start and the development of the disease. The humidity in the aerial section of the plants may be essential for some pathogens, especially in the stage of germination of spores, in the stage of formation of the germinative tube and its later penetration (Bucio and Martínez, 2005.) This narrow relationship between the processes of germination, infection and development of the disease and weather variables opens the possibility of explaining and predicting the behavior of this type of organisms through the use of simulation models. The aim of this work

germinación, infección y desarrollo de la enfermedad y las variables meteorológicas abre la posibilidad de explicar y predecir el comportamiento de este tipo de organismos a través del uso de modelos de simulación. El objetivo de este trabajo consistió en determinar el umbral de temperatura y humedad relativa, así como el rango óptimo de éstas variables para la germinación de esporas de *Bremia lactucae* Regel.

## Materiales y métodos

El experimento se llevó a cabo en el laboratorio de análisis de bioprocesos para el modelaje de organismos dañinos del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) Campo Experimental Bajío, Celaya, Guanajuato.

El trabajo consistió en evaluar la germinación de esporangios a siete niveles de temperatura (5, 10, 15, 20, 25, 30 y 35 °C) en combinación con 3 niveles de humedad relativa (70, 80 y 90%) en un arreglo factorial (7 x 3) con 4 repeticiones, con lo cual se obtuvo un total de 21 tratamientos, el diseño experimental fue completamente al azar. Se evaluó además un tratamiento extra de 12 °C con 90% de humedad relativa para estimar las condiciones óptimas para la germinación de los esporangios.

El inóculo utilizado en este experimento se obtuvo de parcelas plantadas con lechuga del municipio de Cortázar. Con las esporas colectadas se formó una muestra compuesta la cual se mantuvo a temperaturas de entre 11 y 14 °C. Como criterio para la selección de la muestra, la lechuga debía presentar síntomas claros de la enfermedad y de manera abundante.

La germinación de los esporangios se evaluó de manera directa *in vitro*, para ello, de las muestras provenientes de campo, se transfirieron asépticamente esporangios, con ayuda de un pincel, los cuales fueron depositados sobre una gota de agua destilada estéril contenida en un portaobjetos. Cada porta objetos fue incubado por 24 h a la temperatura y humedad antes indicadas, utilizándose para ello una cámara bioclimática marca Caron modelo 6010, la cual controla temperatura, humedad relativa y fotoperíodo. La cámara tiene un control de temperatura de 5 a 70 °C con una variación de 0.1 °C, un control de humedad relativa de 30 a 100% con una variación de 2%. Para la verificación de la temperatura y humedad en la cámara, se instaló un sensor automático

consistió en determinar la temperatura y humedad relativa de umbrales, así como el rango óptimo de estas variables para la germinación de *Bremia lactucae* Regel esporas.

## Materials and methods

The experiment was carried out in the laboratory for the analysis of bioprocesses for the modeling of harmful organisms of the National Forestry, Agricultural and Cattle Research Institute (INIFAP) Bajío Experimental Field, in Celaya, Guanajuato.

The work consisted in evaluating the germination of de sporangia at seven temperature levels (5, 10, 15, 20, 25, 30 and 35 °C), combined with 3 levels of relative humidity (70, 80 and 90%) in a factorial arrangement (7 x 3) with 4 repetitions, giving a total of 21 treatments; the experimental design was at random. An extra treatment of 12 °C was also evaluated, with a relative humidity of 90% to estimate the optimum conditions for the germination of the sporangia.

The inoculant used in this experiment was taken from fields planted with lettuce in the municipal area of Cortázar. Using the spores collected, we formed a compound sample, which was kept under temperatures of 11 to 14 °C. As a criterion for the selection of the sample, lettuce had to show clear and abundant symptoms of the disease.

The germination of the sporangia was evaluated directly *in vitro*. For this, of the samples taken from the field, sporangia were aseptically transferred, using a brush, and placed on a drop of distilled water on a microscope slide. Each slide was incubated for 24 h at the temperature and humidity indicated earlier, using a Caron 6010 bioclimatic chamber, which controls temperature, relative humidity and photoperiods. The chamber has a temperature control of 5 to 70 °C, with a variation of 0.1 °C, and a relative humidity control of 30 to 100%, with a variation of 2%. To verify temperature and humidity in the chamber, we installed a Spectrum 450 automatic sensor, which registers temperature and relative humidity every 10 min. Based on the sensor, we adjusted the deviation of the chamber in each treatment.

After the incubation time, we established the proportion of sporangia germinated in a sample of 100 spores. We used a ZEISS optic microscope (Figure 1) to determine the number of spores germinated in all four repetitions. Only spores

marca Spectrum modelo 450, el cual registra temperatura y humedad relativa cada 10 min. Con base en el sensor se ajustó la desviación de la cámara en cada tratamiento.

Concluido el tiempo de incubación se estableció la proporción de esporangios germinados en una muestra de 100 esporas. Se utilizó un microscopio óptico marca ZEISS (Figura 1) para determinar el número de esporas germinadas en las cuatro repeticiones. Se consideró germinada sólo a aquella espора que presentó un tubo germinativo primario al menos igual a la mitad del diámetro de la espора (Denner, 1986; Celio y Hausbeck, 1998; Campbell, 2003).



**Figura 1. Esporas germinadas de *B.***  
**Figure 1. *B.* Germinated spores.**

Con los datos obtenidos se llevó a cabo un análisis de varianza para determinar la significancia estadística de los efectos principales y la interacción. Para inferir sobre las mejores condiciones para la germinación se construyeron gráficos de las interacciones para los efectos por temperatura y humedad. Además se llevó a cabo un análisis de superficie de respuesta para la germinación en función de temperatura y humedad relativa de acuerdo con la metodología propuesta por (Gutiérrez y de la Vara, 2004). Los análisis estadísticos y manejo de la información se llevaron a cabo en el software Statgraphics plus para Windows en su versión 5.1.

## Resultados y discusión

Para la inducción de la germinación se probaron varios métodos antes de definir la técnica a utilizar y se observó que sólo los tratamientos donde los esporangios estaban

showing a primary germinative tube, equal to at least half of the diameter of the spore, were considered germinated (Denner, 1986; Celio and Hausbeck, 1998; Campbell, 2003).

Using the data obtained, a variance analysis was carried out to determine the statistical significance of the main effects and the interaction. To infer on the best conditions for germination, graphs were made on the interactions for the effects under temperature and humidity. Likewise, a response surface analysis was carried out for the germination based on temperature and relative humidity, according to the methodology proposed by (Gutiérrez and de la Vara, 2004). The statistical analyses and information management were performed in the software Statgraphics plus for Windows, version 5.1.

## Results and discussion

To induce germination, several methods were tested before defining the technique to be used, and we observed that only in the treatments in which the sporangia were in direct contact with water, did they germinate. Table 1 shows the average data for the germination percentages obtained in the different treatments.

### Cuadro 1. Promedios de germinación de los niveles en los diferentes niveles de humedad y temperatura.

**Table 1. Averages of Germination of the levels in the Different Levels of Humidity and Temperature.**

Tem.	Humedad	Germinación promedio
5	90	43.75
5	80	14
5	70	0
10	90	95
10	80	43.9
10	70	0
15	90	58.25
15	80	44.75
15	70	26
20	90	12.25
20	80	11.5
20	70	1.25
25	90	0
25	80	1
25	70	0.5
30	90	0
30	80	0
30	70	0
35	90	0
35	80	0
35	70	0
12*	90	96

\* tratamiento adicional para determinar el óptimo de germinación.

en contacto directo con agua germinaban. En el Cuadro 1 se muestran los datos promedio para el porcentaje de germinación obtenidos en los diferentes tratamientos.

La temperatura y la humedad relativa mostraron un efecto altamente significativo sobre la germinación de esporas de *B. lactucae* (Cuadro 2).

Temperature and relative humidity showed a highly significant effect on the germination of *B. lactucae* spores (Table 2).

The greatest germination percentage was found in a temperature of 10 °C (Figure 1), along with a relative humidity of 90%.

**Cuadro 2. Análisis de varianza de la germinación de esporas de *B. lactucae*.**

**Table 2. variance analysis of the germination of *B. lactucae* spores.**

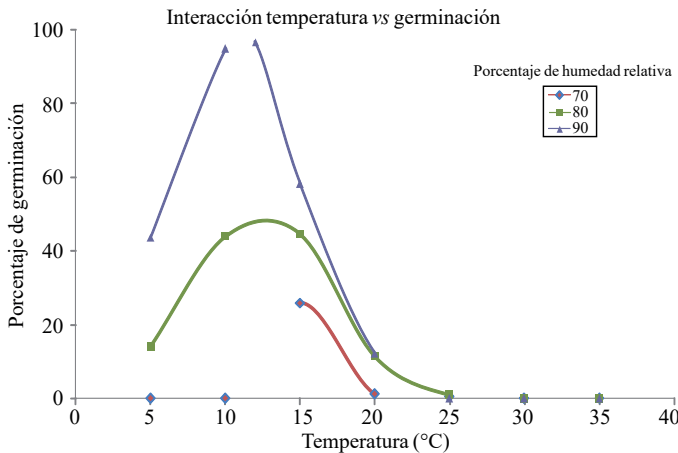
Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
Efectos principales					
A: Temperatura	29 589.6	6	4 931.61	2 331.64	0.0000
B: Humedad relativa	9 412.67	2	4 706.33	2 225.13	0.0000
Interacciones					
AB	14 990.0	12	1 249.17	590.6	0.0000
Residuos	133.25	63	2.11508		
Total	54 125.6	83			

\*Tratamiento adicional para determinar el óptimo de germinación.

El mayor porcentaje de germinación se presentó con la temperatura de 10 °C (Figura 1), en combinación con 90% de humedad relativa.

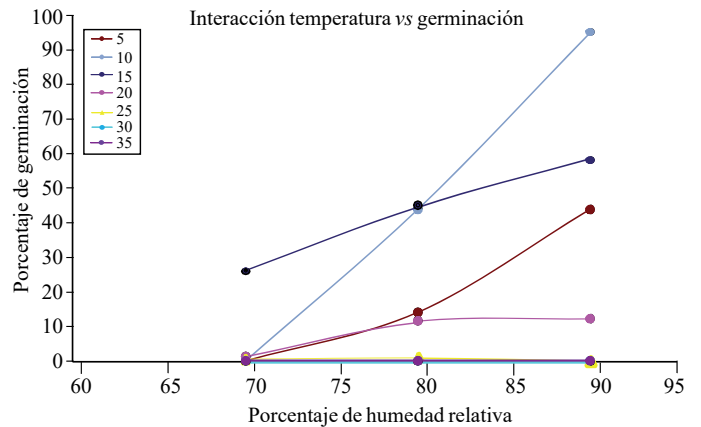
La germinación ocurrió a partir de los 5 °C y aumentó con la temperatura hasta alcanzar los valores más altos (96%) al nivel de los de 12 °C; por encima de este nivel de temperatura, la germinación decreció hasta llegar a un valor 1% a 25 °C (Figuras 2 y 3).

Germination took place starting at 5 °C and increased with the temperature, until it reached the highest values (96%) around 12 °C. Above this temperature, germination fell until it reached 1% at 25 °C (Figures 2 and 3).



**Figura 2. Curva de respuesta de la germinación de esporangios de *Bremia lactucae* en tres humedades relativas en función de la temperatura.** Los valores son promedios de las observaciones realizadas.

**Figure 2. Response Curve for the Germination of *Bremia lactucae* Sporangia in Three Relative Humidities Based on Temperature.** The values are averages of the observations performed.



**Figura 3. Curva de respuesta de la germinación de esporangios de *Bremia lactucae* de siete temperaturas en función de la humedad.** Los valores son promedios de la germinación.

**Figure 3. Response Curve for the Germination of *Bremia lactucae* Sporangia in Seven Temperatures Based on Humidity.** The values are averages of the germination.

As relative humidity fell, germination also fell drastically, hence, for the treatments corresponding to 70% of relative humidity, only the treatment with a temperature of 15 °C presented germination, which was, on average, 26%. At higher or lower levels at this temperature, and with 70% relative humidity, germination was low to null.

Al reducirse la humedad relativa la germinación disminuyó drásticamente, así, para los tratamientos correspondientes a 70% de humedad relativa, sólo el tratamiento con temperatura de 15 °C presentó germinación, la cual en promedio fue 26%. A niveles superiores o inferiores a esta temperatura y con 70% de humedad relativa, la germinación fue de baja a nula.

En general, la germinación de los esporangios se ve favorecida por condiciones de alta humedad relativa y temperaturas frescas; de acuerdo con Minchinton (1998), la germinación de esporas de *B. lactucae* ocurre entre 0 y 20 °C; por su parte, Paulus *et al.* (1980), citan que ésta ocurre entre 1.1 y 20 °C. Los resultados obtenidos mediante este trabajo investigación indican que a 20 °C de temperatura se puede tener en promedio hasta 12.25 % de germinación de esporas, con una humedad relativa mínima 90%. Por otro lado, a niveles de temperatura de 25 °C, la germinación es apenas 1%. En el nivel más bajo de temperatura que se evaluó (5 °C), la germinación alcanzó 43.75%.

En la Figura 4, se muestra el gráfico del modelo de superficie de respuesta, el valor del coeficiente de determinación de este modelo ( $r^2$ ) fue de 78.88, lo cual indica que el modelo explica 78.88% de la variación observada en el porcentaje de germinación de esporangios a través de la temperatura y la humedad relativa. La ecuación de este modelo es la siguiente:

$$\text{Germinación} = -1052.8 + 38.8594 * \text{temperatura} + 18.5417 * \text{HR} - 0.457421 * \text{temperatura}^2 - 0.332893 * \text{temperatura} * \text{HR} - 0.0727299 * \text{HR}^2$$

Donde:

HR= humedad relativa.

## Conclusiones

Las esporangios de *Bremia lactucae* germinan solamente en presencia de agua libre y su germinación está determinada por las condiciones de temperatura y humedad. La respuesta de la germinación a la temperatura y humedad sigue una tendencia no lineal.

Las condiciones de temperatura y humedad relativa afectan de manera significativa a la germinación de esporangios, el rango de temperaturas favorables para la germinación va de

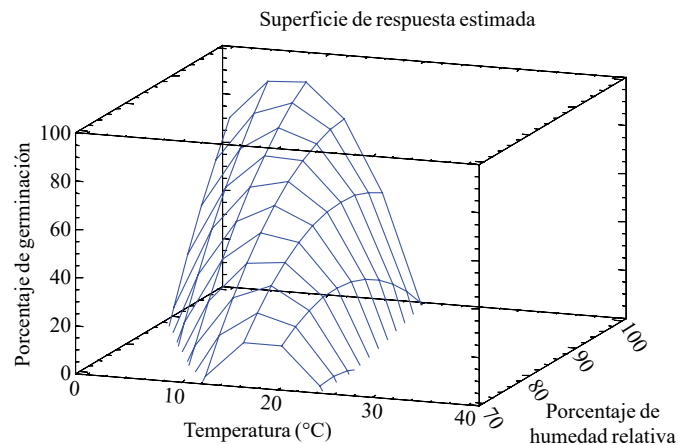
In general, the germination of the sporangia was enhanced by conditions of high relative humidity and cool temperatures; according to Minchinton (1998), the germination of *B. lactucae* spores takes place between 0 and 20 °C. Likewise, Paulus *et al.* (1980), quote that it takes place between 1.1 and 20 °C. Results obtained with this research indicate that at a temperature of 20 °C, an average of up to 12.25 % of germination spores can be obtained, with a minimum relative humidity of 90%. On the other hand, at temperatures of 25°C, germination is only 1%. At the lowest temperature evaluated (5 °C), germination reached 43.75%.

Figure 4 shows the graph of the response surface model, the value of the coefficient to determine this model ( $r^2$ ) was 78.88, which indicates that the model explains 78.88% of the variation observed in the percentage of germination of sporangia through temperature and relative humidity. The equation of this model is as follows:

$$\text{Germination} = -1052.8 + 38.8594 * \text{temperature} + 18.5417 * \text{HR} - 0.457421 * \text{temperature}^2 - 0.332893 * \text{temperature} * \text{HR} - 0.0727299 * \text{HR}^2$$

Where:

HR= relative humidity.



**Figura 4. Modelo de superficie de respuesta que describe el comportamiento de la germinación, sobre la región experimental, que es la cara inferior del cubo. El modelo propuesto muestra como la germinación es afectada por la interacción de humedad y temperatura.**

**Figure 4. Response Surface model that describes the behavior of the germination, on the experimental region, which is the bottom face of the cube. The model proposed shows how germination is affected by the humidity-temperature interaction.**

1 a 25 °C, con un óptimo entre 9.5 y 12.5 °C. Las condiciones favorables de humedad relativa para la germinación de esporangios de *B. lactucae*, se ubica en el rango 70 a 90% de humedad.

## Literatura citada

- Analystis, S. 1982. Obtaining of sub-models for modeling the entire life cycle of pathogen. Z. Pflanzenkr. Pflanzenschutz. 87:371-382.
- Campbell, M. P. A. 2003. Tesis sobre efecto de factores ambientales y métodos de control, sobre la germinación y desarrollo de *Uncinula necator* en *Vitis vinifera*. Pontificia Universidad Católica de Chile Facultad de Agronomía e Ingeniería. Santiago-Chile. 141 p.
- Celio, G. J. and Hausbeck, M. K. 1998. Conidial germination, infection structure formation, and early colony development of powdery mildew on poinsettia. Phytopathology. 88:105-113.
- Cohen, M. and Yarwood, C. E. 1952. Temperature response of fungi as a straight line transformation. Plant Physiol. 27:634-638.
- Denner, F. D. N. Kotze, J. M. and Putterill, J. F. 1986. The effect of temperature on spore germination, growth and Appressorium formation of *Colletotrichum gloeosporioides* and *Dothiorella aromatica*. South African Avocado Growers' Association Yearbook 1986. 9:19-22.
- Gutiérrez, P. H. y de la Vara, S. R. 2004. Análisis y diseño de experimentos. México. Ed. Mc Graw Hill. 571 p.
- Mínchinton, E. 1998. Review of downy mildews on nursery plants. Victoria Australia. Agriculture Victoria. Institute for Horticultural Development. 31 p.
- Nordskog, B.; Gadoury, D. M.; Seem, R. M. and Hermansen, A. 2007. Impact of diurnal periodicity, temperature, and light on sporulation of *Bremia lactucae*. Phytopathology. 97:979-986.
- Paulus, O. A. Hall, D. and Teviotdale, B. 1980. Leaflet 21177 downy mildew. A fungus disease of lettuce. Division of Agricultural Sciences. 53 p.
- Populer, C. 1981. Epidemiology of downy mildews. Pages 57-105 in: the downy mildews. Spencer, D. M. (Ed.) Academic Press, New York. 76 p.
- Powlesland, R. 1954. On the biology of *Bremia lactucae*. Trans. Br. Mycol. Soc. 37:362-371.

## Conclusions

The *Bremia lactucae* sporangia germinate in the presence of free water and its germination is determined by temperature and humidity conditions. The response of germination to temperature and humidity follows a non-linear trend.

The temperature and relative humidity conditions significantly affect the germination of sporangia, the range of favorable temperatures for germination goes from 1 to 25 °C, with the optimum between 9.5 and 12.5 °C. The favorable conditions of relative humidity for the germination of *B. lactucae* sporangia are located in the range of 70 to 90% humidity.

*End of the English version*



- Scherm, H. and Van Bruggen, A. H. C. 1993. Response surface models for germination and infection of *Bremia lactucae*, the fungus causing downy mildew of lettuce. Ecol. Model. 65:281-296.
- Scherm, H. and Van Bruggen, A. H. C. 1994. Effects of fluctuating temperature on the latent period of lettuce Downy Mildew (*Bremia lactucae*). Ecol. Phytopathol. 84:853-859.
- Scherm, H. and Van Bruggen, A. H. C. 1995. Concurrent spore release and infection of lettuce by *Bremia lactucae* during mornings with prolonged leaf wetness. Phytopathology. 85(5):552-555.
- Scherm, H. and Van Bruggen, A. H. C. 1995a. Comparative study of microclimate and downy mildew development in subsurface drip- and furrow-irrigated lettuce fields in California. Plant Dis. 79(6):620-625.
- Su, H.; Van Bruggen, A. H. C.; Subbarao, K. V. and Scherm, H. 2004. Sporulation by *Bremia lactucae* is affected by temperature, relative humidity and wind in controlled conditions. Phytopathology. 94:396-401.
- Verhoeff, K. 1960. On the parasitism of *Bremia lactucae* Regel on lettuce. Tijdschr. Plantenziekten 66:133-203.
- Wu, B. M.; Subbarao, K. V. and Van Bruggen, A. H. C. 2000. Factors affecting the survival of *Bremia lactucae* sporangia deposited on lettuce leaves. Phytopathology. 90:827-833.
- Wu, B. M.; Van Bruggen, A. H. C.; Subbarao, K. V. and Scherm, H. 2002. Incorporation of temperature and solar radiation thresholds to modify a lettuce downy mildew warning system. Phytopathology. 92:631-636.