

YIELD LOSSES IN WHEAT (*Triticum aestivum* L.) GENOTYPE INOCULATED WITH SINGLE AND MIXED ISOLATES OF *Septoria tritici* ROB EX. DESM.

PERDIDAS EN EL RENDIMIENTO DEL GENOTIPO DE TRIGO (*Triticum aestivum* L.) INOCULADO CON AISLAMIENTOS DE *Septoria tritici* ROB EX. DESM. SOLOS Y EN MEZCLA

S. Gerardo Leyva-Mir¹, Lucy Gilchrist-Saavedra², Emma Zavaleta-Mejía³ and Mirelle Khairallah²

¹Departamento de Parasitología. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Texcoco, Estado de México. (lsantos@taurus1.chapingo.mx). ²Plant Pathology CIMMYT. ³Fitopatología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México.

ABSTRACT

This paper reports the effect of inoculations with single and mixed *Septoria tritici* isolates on grain yield and 1000 grain weight of susceptible and resistant wheat genotypes. Nine bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes of different origin and showing different genetic responses to *S. tritici* Rob. ex. Desm. were inoculated under field conditions with three single isolates (P8, P9, and B1) and mixtures of those isolates. Reductions in yield and thousand kernel weight (TKW) were significantly higher in susceptible genotypes than in resistant ones. Single isolate B1 caused the highest yield losses in both susceptible and resistant wheats. The mixture P9×P8 caused significantly higher losses than single P9 or P8 inoculations in susceptible and resistant wheats, while isolate mixture P9×B1 caused significantly lower losses compared to P9 and B1 in both susceptible and resistant genotypes. Isolate P8 caused the highest losses in TKW of susceptible genotypes, while for resistant ones the highest losses were caused by B1 followed by P8. Isolate mixture P8×B1 caused the highest TKW losses in both susceptible and resistant genotypes, while P9×B1 caused fewer losses in resistant genotypes, but not in susceptible ones. The isolate mixtures significantly reduced losses in susceptible genotypes.

Key words: *Triticum aestivum*, leaf blight of wheat, thousand kernel weight (TKW).

INTRODUCTION

S eptoria leaf blotch caused by *Septoria tritici* Rob. ex. Desm. is an important fungal disease of wheat in rainfed areas of the Mexican highlands (States of México, Jalisco and Michoacán). Resistant wheat lines have been reported to lose their resistance two or three years after being selected (Eyal 1992; Castrejón and González, 1993). Disease levels in the field have increased significantly mainly because of the replacement of low-yielding tolerant wheat

RESUMEN

Este estudio reporta el efecto de inoculaciones con aislamientos de *Septoria tritici* solos y en mezcla en el rendimiento del grano y en el peso de 1000 granos de genotipos de trigos susceptibles y resistentes. Nueve genotipos de trigos para pan (harinero) (*Triticum aestivum* L.) de diferente origen y que mostraron diferentes respuestas genéticas al *S. tritici* Rob. Ex. Desm. fueron inoculados en condiciones de campo con tres aislamientos solos (P8, P9 y B1) y la mezcla de estos. Las reducciones en rendimiento y en peso de mil granos (PMG) fueron significativamente más altas en los genotipos susceptibles que en los resistentes. El aislamiento solo causó las pérdidas más altas en rendimiento en los trigos resistentes y en los susceptibles. La mezcla P9×P8 causó pérdidas significativamente más altas que las inoculaciones solas P9 ó P8 en trigos resistentes y susceptibles, mientras que el aislamiento en mezcla P9×B1 causó pérdidas significativamente menores comparado con P9 y B1 en genotipos resistentes y susceptibles. El aislamiento P8 causó las pérdidas más altas en PMG de los genotipos susceptibles, mientras que para los resistentes las pérdidas más altas fueron causadas por B1 seguidas por P8. El aislamiento en la mezcla P8×B1 causó las mayores pérdidas en PMG en genotipos susceptibles y resistentes, mientras que P9×B1 causó pérdidas menores en los genotipos resistentes pero no en los susceptibles. Los aislamientos en mezcla redujeron significativamente las pérdidas en los genotipos susceptibles.

Palabras clave: *Triticum aestivum*, tizón foliar del trigo, peso de mil granos (PMG).

INTRODUCCIÓN

E l tizón foliar causado por *Septoria tritici* Rob ex. Desm. es una enfermedad fúngica importante del trigo en áreas de temporal del Altiplano mexicano (Estados de México, Jalisco y Michoacán). Se ha reportado que líneas de trigo resistente han perdido su resistencia dos o tres años después de ser seleccionadas (Eyal 1992; Castrejón y González, 1993). Los niveles de enfermedad en el campo han aumentado significativamente principalmente debido a la

Recibido: Junio, 2004. Aprobado: Diciembre, 2005.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 40: 315-323. 2006.

varieties with genotypes that are more productive, but susceptible to septoria leaf blotch (Ziv and Eyal, 1978).

Yield losses caused by *S. tritici* in the State of Oregon, USA, range from 10 to 44% under natural infection, and 8% in plots protected with fungicide (Caldwell and Narvaes, 1960). In England, 18% loss in 1000-grain weight have been reported in spring wheats, and 23-24% in winter wheats (Cooke and Jones, 1971). In wheat production areas of Montana with more than 450 mm rainfall, 50% yield loss were recorded in non-protected dwarf and semidwarf wheats compared to fungicide-protected plots (Leath *et al.*, 1993). Those losses were correlated with 40% flag leaf necrosis. Eyal (1992) reported the presence in Israel of different *S. tritici* isolates that attack different wheat genotypes and cause significant yield loss.

Physiological specialization of *S. tritici* is suggested by: 1) the differences in pathogenicity found in isolates from diverse locations around the world; 2) the broad diversity of wheat genotypes they attack; 3) genotype \times isolate interactions resulting from the pathogen's specific virulence to the host's specific resistance genes, which in turn affect grain yield (Eyal, 1992). For example, inoculating the wheat genotype Miriam with single isolates of different origin caused varying yield responses and losses of 5 to 53%. This suggests that a genotype may be affected differently by isolates of the same pathogen (Ziv and Eyal, 1978).

As for the effect of inoculating wheat with *S. tritici* isolate mixtures, Eyal (1992) observed a significant 20% increase in thousand kernel weight (TKW) of susceptible cultivars, using a mixture of two isolates, compared to single inoculations of the same isolates. The objective of our research was to study the effect of inoculations with single and mixed *S. tritici* isolates on grain yield and TKW susceptible and resistant wheat genotypes.

MATERIALS AND METHODS

Pathogen

Three *S. tritici* isolates were selected based on their virulence and origin: isolate P8, considered the most virulent; P9, considered the least virulent (both collected in Patzcuaro, Michoacán, México); and isolate B1, as virulent as P8, but collected in 1994, in Atizapán, Toluca, México (Leyva, 1998), that differ in their virulence on a set of differential wheat cultivars (Gilchrist and Velázquez, 1994; Leyva, 1998). The isolates were individually increased in a culture medium (4 g yeast extract, 4 g malt extract, 4 g sacarose, 15 g agar in 1 L water) for 7 d at 19 °C. The suspension was adjusted to a concentration of 1×10^6 spores mL^{-1} before inoculation.

substitución de variedades tolerantes de trigo de bajo rendimiento por genotipos más productivos pero susceptibles al tizón foliar *Septoria* (Ziv y Eyal, 1978).

Las pérdidas en el rendimiento causadas por *S. tritici* en el Estado de Oregon, EE.UU. varían de 10 a 44% con una infección natural y 8% en parcelas protegidas con fungicida (Caldwell y Narváez, 1960). En Inglaterra, se ha reportado una pérdida de 18% en el peso de 1000 granos en trigos de primavera y 23-24% en trigos de invierno (Cooke y Jones, 1971). En áreas de producción de trigo de Montana con más de 450 mm de precipitación, se registraron pérdidas de 50% de rendimiento en trigos enanos y semi-enanos no protegidos comparados con parcelas protegidas con fungicidas (Leath *et al.*, 1993). Esas pérdidas se correlacionaron con 40% de necrosis de hoja bandera. Eyal (1992) reportó la presencia en Israel de diferentes aislamientos de *S. tritici* que atacan diversos genotipos de trigo y causan una pérdida importante en el rendimiento.

La especialización fisiológica del *S. tritici* es sugerida por: 1) las diferencias en la patogenicidad encontrada en los aislamientos de diversos lugares alrededor del mundo; 2) la amplia diversidad de genotipos de trigo atacados por esos aislamientos; 3) las interacciones genotipo \times aislamiento que resultan de la virulencia específica del patógeno sobre los genes de resistencia específica del hospedante, que a su vez afectan el rendimiento del grano (Eyal, 1992). Por ejemplo, la inoculación del genotipo de trigo Miriam con aislamientos solos de diferente origen causó variación en las respuestas del rendimiento y pérdidas de 5 a 53%. Esto sugiere que un genotipo puede ser afectado de forma diferente por los aislamientos del mismo patógeno (Ziv y Eyal, 1978).

En cuanto al efecto de inocular el trigo con aislamientos en mezcla de *S. tritici*, Eyal (1992) observó un incremento significativo de 20% en el peso de mil granos (PMG) de cultivos susceptibles usando una mezcla de dos aislamientos, comparados con inoculaciones solas de los mismos aislamientos. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de las inoculaciones con aislamientos solos y en mezcla de *S. tritici* sobre el rendimiento del grano y el PMG de genotipos de trigos resistentes y susceptibles.

MATERIALES Y MÉTODOS

Patógeno

Tres aislamientos de *S. tritici* fueron seleccionados con base en su virulencia y origen: aislamiento P8 considerado el más virulento; P9 considerado el menos virulento (ambos recolectados en Patzcuaro, Michoacán, México); aislamiento B1, tan virulento como el P8 pero

Host

Nine bread wheat genotypes with several levels of resistance to *S. tritici* (Gilchrist and Velázquez, 1994) were selected and sown during two rainfed crop cycles (May-October, 1995 and 1996) in CIMMYT's experiment station in Atizapán, Toluca, México (Table 1). The trials were planted in fields that had not been sown to wheat in the last four years to avoid contamination by primary inoculum surviving in wheat residues. The trial was managed using practices similar to those used by commercial farmers in the region, i.e., a single fertilizer application (150-00-00) before tillering based on soil analysis. No herbicides were applied to avoid confusing the effects of weed competition with septoria leaf blight.

The experimental design was randomized incomplete blocks, with a split-plot arrangement of treatments, in which isolates were the main plots, and the nine wheat genotypes were the subplots. Subplots consisted of three rows of wheat, 3 m long, surrounded by barley which is immune to *S. tritici* to prevent contamination among the inoculated isolates. The trials had four replications, each one containing the nine inoculated wheat genotypes. Two additional replications were not inoculated, and instead received six applications of the fungicide Tebuconazol (Folicur) at the rate of 0.5 L ha⁻¹ of commercial product at intervals of 7 d from tillering to the milk grain stage. These replications were included in the trial so that the test genotypes could produce their highest yield potential and to be able to determine the impact on yield and TKW of inoculations with single isolates and isolate mixtures (expressed as percent loss of total grain yield and TKW).

Field inoculation

Test plots were inoculated with the three single isolates, with all combinations of two, and with a mixture of the three. Isolates were mixed, according to Zelicovitch and Eyal (1991), using a 1:1 ratio 1 h before inoculation (so the conidial suspensions would remain viable). Tween 20 was added to each suspension as a surfactant. At tillering (according to the scale of Totman and Makepeace, 1979), plants were inoculated at dusk with an ultra-low volume sprayer in the presence of rain to ensure at least 18 h with 100% relative humidity.

recolectado en 1994 en Atizapán, Toluca, México (Leyva, 1998), que difiere en su virulencia sobre un conjunto de cultivares de trigo diferenciales (Gilchrist y Velázquez, 1994; Leyva, 1998). Los aislamientos fueron individualmente incrementados en un medio de cultivo (4 g extracto de levadura, 4 g extracto de malta, 4 g sacarosa, 15 g agar en 1L agua) por 7 d a 19 °C. La suspensión se ajustó a una concentración de 1 × 10⁶ esporas mL⁻¹ antes de la inoculación.

Hospedante

Se seleccionaron nueve genotipos de trigo harinero con varios niveles de resistencia al *S. Tritici* (Gilchrist y Velázquez, 1994) y se sembraron durante dos ciclos de cultivos de temporal (mayo-octubre, 1995 y 1996) en la estación experimental del CIMMYT en Atizapán, Toluca, México (Cuadro 1). Los experimentos fueron plantados en campos no sembrados en los últimos cuatro años para evitar la contaminación por el inóculo primario que sobrevive en los residuos de trigos. El experimento se manejó usando prácticas similares a las usadas por los agricultores comerciales de la región: una sola aplicación de fertilizante (150-00-00) antes del amacollamiento basada en un análisis de suelo. No se aplicó herbicida para evitar confundir los efectos de la competencia de la maleza con el tizón foliar.

Se utilizó un diseño experimental de bloques incompletos al azar, con un arreglo de tratamientos en parcelas divididas. Los aislamientos fueron las parcelas principales y los nueve genotipos de trigo fueron las sub-parcelas. Las sub-parcelas consistían de tres hileras de trigo (3m largo), rodeadas de cebada la cual es inmune al *S. tritici* para prevenir la contaminación entre los aislamientos inoculados. Los experimentos tuvieron cuatro repeticiones, conteniendo cada una los nueve genotipos de trigo inoculado. Dos repeticiones adicionales no se inocularon pero, recibieron seis aplicaciones del fungicida Tebuconazol (Folicur) en una proporción de 0.5 L ha⁻¹ de producto comercial en intervalos de 7 d desde el amacollamiento hasta la etapa de grano lechoso. Estas repeticiones se incluyeron en el experimento para que los genotipos de prueba pudieran producir su potencial más alto de rendimiento y poder determinar el impacto en producción y PMG de las inoculaciones con aislamientos solos y en mezcla (expresados como pérdidas porcentuales del rendimiento total de grano y el PMG).

Table 1. Bread wheat genotypes sown and inoculated with *Septoria tritici* in Atizapán, Toluca, México, in 1995-1996.
Cuadro 1. Genotipos de trigo harinero sembrado e inoculado con *Septoria tritici* en Atizapán, Toluca, México, en 1995-1996.

Genotype	Pedigree	Level of susceptibility
KAUZ	CM67458-4Y-2M-1Y-1M-3Y-OB-12M-OY-4Y	Susceptible
DON ERNESTO INIA	CM33203-K-9M-33Y-1M-500Y-OM-1J-OJ-OARG	Susceptible
THB//IAS20/H567.71	CM81770-1Y-06PZ-2Y-6M-OY	Moderately susceptible
TRAP#1/BOW	CM84548-34Y-OM-OY-1M-OY	Resistant
LFN/II58.57//PRL/3/HAHN	CM77224-G-1Y-O2M-OY-3B-2Y-OB-OSJ	Resistant
MAYOOR	CIGM84.295-1M-1PR-4M-3Y-OM-OY-1Y	Resistant
KVZ/K4500.L.6.A.4	SWO176-3M-1Y-10Y-1M-OY-OPTZ-1R	Resistant
SUZ6//ALD/PVN	CM91128-2Y-OM-OY-3M-OY	Resistant
BAGULA	CM59123-3M-1Y-3M-2Y-3M-OY	Moderately susceptible

To determine the effect of *S. tritici* on grain yield and TKW of the test genotypes, the grain was harvested from all plants in the middle rows of the inoculated, non-inoculated and fungicide-protected plots. The grain yield and TKW for each plot were determined, and the percent yield loss for each plot was calculated based on yields of the inoculated and fungicide-treated plots.

An analysis of variance was performed on each year's data. Since no significant differences were observed between data from 1995 and 1996, a combined statistical analysis was conducted. Treatment means were compared using Tukey's test (Martínez, 1988).

RESULTS AND DISCUSSION

Results of the analysis of variance for yield indicated that the genotype, isolate× isolate interactions, and isolate× genotype interactions had a significant effect on the percent yield loss during the two-year trial (Table 2).

Susceptible genotypes showed higher yield losses than the resistant one (13% average difference) (Table 3). Based on the overall average (for both susceptible and resistant wheats), B1 caused the greatest yield reduction (33%) of the three single isolates; among isolate mixtures, only P9× P8 caused losses similar to B1 (33%).

Isolate B1 caused the greatest losses in susceptible genotypes (Table 3). Isolate mixture P9× P8 caused significantly greater losses than single isolates P9 and P8. When B1 was combined with P8 (P8× B1) and P9 (P9× B1), there was a significant lower reduction in the losses compared with yield losses caused by B1, and yield reduction was lower with isolate mixture P9× B1. When a mixture of the three isolates (P9× P8× B1) was used, yield loss increased or decreased significantly compared to inoculation with B1, depending on the inoculated genotype (Table 3).

Table 2. Analysis of variance of percent yield loss for nine bread wheat genotypes inoculated with single isolates and isolate mixtures of *Septoria tritici*, in Atizapán, México, during 1995-1996.

Cuadro 2. Análisis de varianza del porcentaje de pérdida de rendimiento de nueve genotipos de trigo harinero inoculado con aislamientos solos y aislamientos en mezcla de *Septoria tritici*, en Atizapán, México, durante 1995-1996.

Sources of variation	1995		1996	
	DF	MS	DF	MS
Replication	3	879.50	3	713.20
Isolate	6	2259.50**	6	306.20**
Genotype	8	1361.60**	8	7808.50**
Isolate× genotype	48	273.01**	48	139.13**
Error	168	2.83	168	3.21
		CV = 1.09		CV = 0.65

**Significance 0.01.

Inoculación de campo

Las parcelas de prueba se inocularon con los tres aislamientos solos, con todas las combinaciones de dos, y con una mezcla de los tres. Los aislamientos se mezclaron, según Zelicovitch y Eyal (1991), usando una proporción 1:1 1h antes de la inoculación (para que las suspensiones conidiales permanecieran viables). Se agregó Tween 20 a cada suspensión como un surfactante. Durante el amacollamiento (según la escala de Tottman y Makepeace, 1979), las plantas se inocularon al anochecer con un rociador de ultrabajo volumen en presencia de lluvia para asegurar por lo menos 18 h con 100% humedad relativa.

Para determinar el efecto de *S. tritici* en rendimiento del grano y en PMG de los genotipos de prueba, el grano se cosechó de todas las plantas de las hileras de en medio de las parcelas inoculadas, no inoculadas y protegidas con fungicidas. Se determinó el rendimiento del grano y el PMG para cada parcela y se calculó el porcentaje de pérdida de rendimiento para cada parcela con base en los rendimientos de las parcelas inoculadas y tratadas con fungicidas.

Se realizó un análisis de varianza con los datos de cada año. Dado que no se observaron diferencias significativas entre los datos de 1995 y 1996, se realizó un análisis estadístico combinado. Las medias de tratamientos se compararon con la prueba de Tukey (Martínez, 1988).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados del análisis de varianza para el rendimiento indicaron que el genotipo, las interacciones aislamiento× aislamiento, y las interacciones aislamiento× genotipo tuvieron un efecto significativo en el porcentaje de pérdida del rendimiento durante el experimento de dos años (Cuadro 2).

Los genotipos susceptibles mostraron pérdidas de rendimientos mayores que el resistente (13% diferencia promedio) (Cuadro 3). Con base en el promedio general (para los trigos resistentes y para los susceptibles), B1 causó la reducción más grande en rendimiento (33%) de los tres aislamientos solos; entre los aislamientos en mezcla, sólo P9× P8 causó pérdidas similares con B1 (33%).

El aislamiento B1 causó las mayores pérdidas en los genotipos susceptibles (Cuadro 3). El aislamiento en mezcla P9× P8 causó pérdidas significativamente mayores que los aislamientos solos P9 y P8. Cuando se combinó B1 con P8 (P8× B1) y P9 (P9× B1), hubo una reducción significativamente menor en las pérdidas comparado con las pérdidas de rendimiento causadas por B1, y la reducción en rendimiento fue menor con el aislamiento en mezcla P9× B1. Cuando se usó una mezcla de los tres aislamientos (P9× P8× B1), la pérdida en rendimiento aumentó o disminuyó significativamente comparado con la inoculación con B1, dependiendo del genotipo inoculado (Cuadro 3).

Table 3. Percent yield loss for nine bread wheat genotypes inoculated with single isolates and isolate mixtures of *Septoria tritici*, in Atizapán, Toluca, México, during 1995-1996.
Cuadro 3. Porcentaje de pérdida de rendimiento de nueve trigos harineros inoculados con aislamientos solos y aislamientos en mezcla con *Septoria tritici*, en Atizapán, Toluca, México, durante 1995-1996.

Genotypes	Percent loss Isolates							Average [†]
	P9	P8	B1	P9×P8	P8×B1	P9×B1	P9×P8×B1	
THB/IAS20 (MS) [‡]	22.00 C	25.00 D	36.00 F	37.00 G	31.00 E	15.00 A	18.00 B	26.00 F
DON ERNESTO (S)	10.00 A	18.00 B	32.00 E	31.00 E	17.00 B	19.00 BC	22.00 D	21.30 E
KAUZ (S)	38.00 C	27.00 B	50.00 D	59.00 E	36.00 C	4.00 A	27.00 B	34.4 G
Average [‡]	23.30 B	23.30 B	39.30 D	42.30 D	28.00 C	12.60 A	22.30 B	27.20 C
TRAP#1/BOW (R)	9.00 B	1.00 A	13.00 C	13.00 C	14.00 C	1.00 A	17.00 D	9.7 A
LFN (R)	15.00 DE	8.00 B	14.00 D	15.00 DE	13.00 D	11.00 C	0.90 A	9.5 A
MAYOOR (R)	19.00 B	22.00 C	45.00 E	37.00 D	22.00 C	0.22 A	0.30 A	17.30 D
KVZ/K4500 (R)	0.50 A	14.00 B	27.00 D	26.00 D	22.00 C	0.13 A	27.00 D	16.6 C
SUZ6//A/P (R)	4.00 B	1.00 A	18.00 D	19.00 D	19.00 D	1.00 A	15.00 C	11.00 B
BAGULA (MR)	15.00 C	11.00 B	44.00 C	33.00 D	39.00 E	3.00 A	14.00 C	22.7 E
Average [‡]	10.41 C	9.50 B	26.80 E	23.80 D	21.50 D	2.72 A	12.30 C	14.40 C
Average of R. and S. [‡]	16.80 B	16.40 B	33.00 D	33.00 D	24.50 C	7.66 A	17.30 B	20.80 C
Standard deviation [§]	1.50	0.46	4.20	2.60	1.38	0.96	0.80	
Coefficient of variation (%) [¶]	1.3	1.4	0.6	0.7	26.5	41.7	1.9	

[†] Means of genotypes (both susceptible and resistant) with different letter are significantly different ($p \leq 0.05$). Each number is the average of two trials each having four replications per isolate ♦ Medias de genotipos (susceptibles y resistentes) con letra diferente son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$). Cada número es el promedio de dos experimentos teniendo cuatro repeticiones por aislamiento.

[‡] In each row, means of single isolates or isolate mixtures with different letter are significantly different ($p \leq 0.05$) ♦ En cada hilera, las medias de aislamientos solos o aislamientos en mezcla con diferente letra son significativamente diferentes ($p \leq 0.05$).

[§] Standard deviation for isolates ♦ Desviación estándar para los aislamientos.

[¶] Coefficient of variation for isolates ♦ Coeficiente de variación para los aislamientos.

MS = moderately susceptible; S = susceptible; R = resistant; MR = moderately resistant ♦ MS = moderadamente susceptible; S = susceptible; R = resistentes; MR = moderadamente resistente.

Of single isolates, B1 caused the highest yield losses in both resistant and susceptible wheats, except for LFN/II58.57//PRL/3/HAHN (Table 3). Inoculation with isolate mixture P9×P8 also increased the losses (compared to P8 and P9 individually), except in genotype LFN/II58.57//PRL/3/HAHN. When B1 was mixed with P8 (P8×B1), the loss did not always decrease (except in susceptible genotypes), but when B1 was combined with P9 (P9×B1), yield losses always decreased. Inoculation with a mixture of the three isolates (P9×P8×B1) significantly reduced losses in LFN/II58.57//PRL/3/HAHN and MAYOOR, compared with the three single isolates, but the losses in the other resistant wheats increased or decreased depending on the single isolate with which the comparison was made (Table 3).

The analysis of variance performed on the TKW losses during the two-year trial, revealed significant differences among isolates, genotypes, and isolate×genotype interactions (Table 4).

Susceptible genotypes showed higher losses in TKW (24.4%) than resistant ones (9.7%; a 15% difference).

De los aislamientos solos, B1 causó las pérdidas más altas en rendimiento en los trigos susceptibles y en los resistentes, excepto para LFN/1158.57//PRL/3/HAHN (Cuadro 3). La inoculación con aislamiento en mezcla P9×P8 también aumentó las pérdidas (comparado con P8 y P9 individualmente), excepto en el genotipo LFN/II56.57//PRL/3/HAHN. Cuando B1 se mezcló con P8 (P8×B1), la pérdida no siempre disminuyó (excepto en los genotipos susceptibles), pero cuando B1 se combinó con P9 (P9×B1), las pérdidas en rendimiento siempre disminuyeron. La inoculación con una mezcla de los tres aislamientos (P9×P8×B1) redujo significativamente las pérdidas en LFN/II58.57//PRL/3/HAHN y MAYOOR, comparado con los tres aislamientos solos, pero las pérdidas en los otros trigos resistentes aumentaron o disminuyeron dependiendo del aislamiento solo con el cual se hizo la comparación (Cuadro 3).

El análisis de varianza realizado en las pérdidas del PMG durante el experimento de dos años, mostró diferencias significativas entre los aislamientos, genotipos e interacciones aislamiento×genotipo (Cuadro 4).

However, the effect of inoculations with single isolates and isolate mixtures on this variable was not as consistent as it was for percent yield loss (Tables 3 and 5). Thus, the effect of a single isolate or isolate mixture on most genotypes, especially resistant ones, did not become a generalized trend.

In susceptible genotypes, isolate P8 caused the highest losses of TKW in KAUZ (49.4%) and DON ERNESTO INTA (31.4%), but in THB//IAS20/H567.71 (11.9%) B1 caused the greatest losses (Table 5). Losses increased with isolate mixture P9×P8 compared to losses with isolates P9 and P8 by themselves in genotypes THB//IAS20/H567.71 and DON ERNESTO INTA, but decreased in KAUZ. The P9×B1 mixture caused greater losses than P9 and B1 individually only in DON ERNESTO INTA. A mixture of the three isolates caused TKW losses similar to those caused by at least one of the individually inoculated isolates (Table 5).

Unlike results obtained in susceptible genotypes, isolate P8 caused the greatest percent TKW losses only

Table 4. Analysis of variance of percent thousand kernel weight loss for nine bread wheat genotypes inoculated with single isolates and isolate mixtures of *Septoria tritici*, in Atizapán, Toluca, México, during 1995-1996.

Cuadro 4. Análisis de varianza del porcentaje de pérdida del peso de mil granos en nueve genotipos de pan harinero inoculados con aislamientos solos y aislamientos en mezcla de *Septoria tritici*, en Atizapán, Toluca, México, durante 1995-1996.

Sources of variation	1995		1996	
	DF	SM	DF	SM
Replications	3	301.25	3	121.71
Isolate	6	108.50**	6	513.10*
Genotype	8	1589.53**	8	517.01**
Isolate× genotype	48	58.96**	48	38.25**
Error	168	2.07	168	2.38
	CV = 1.92		CV = 2.82	

Significance *0.05, **0.01.

Los genotipos susceptibles mostraron pérdidas mayores en PMG (24.4%) que los resistentes (9.7%; una

Table 5. Percent a thousand kernel weight loss for nine bread wheat genotypes inoculated with single isolates and isolate mixtures of *Septoria tritici*, in Atizapán, Toluca, México, during 1995-1996.

Cuadro 5. Porcentaje de pérdida de peso de mil granos para nueve genotipos de trigo harinero inoculado con aislamientos solos y en mezcla de *Septoria tritici*, en Atizapán, Toluca, México, durante 1995-1996.

Genotypes	Percent loss Isolates							
	P9	P8	B1	P9×P8	P8×B1	P9×B1	P9×P8×B1	Average [†]
THB/IAS20 (MS) [‡]	1.10 A	4.70 B	11.90 C	12.00 CD	17.70 F	10.70 C	13.50 D	10.20 C
DON ERNESTO (S)	17.70 B	31.40 CD	14.30 A	32.40 D	42.60 F	37.50 E	29.40 C	29.10 E
KAUZ (S)	33.00 BC	49.40 E	31.10 B	22.80 A	39.30 D	30.00 B	38.70 D	34.10 F
Average [‡]	17.20 A	28.50 D	19.10 B	22.40 C	33.20 F	26.00 D	27.20 E	24.40 DC
TRAP#1/BOW (R)	1.80 A	8.60 C	9.10 CD	3.00 AB	3.10 AB	6.90 C	7.10 C	5.90 A
LFN (R)	8.50 BC	7.30 B	6.50 B	9.80 BC	6.50 B	3.80 A	9.40 C	7.20 B
MAYOOR (R)	7.40 B	15.30 D	7.90 B	8.80 B	11.30 C	7.40 B	4.30 A	8.90 B
KVZ/K4500 (R)	4.40 A	12.90 B	14.60 C	19.50 D	20.70 DE	11.50 B	23.70 EF	15.30 D
SUZ6//A/P (R)	10.90 C	3.00 AB	4.40 B	8.40 C	4.80 B	3.40 AB	1.90 A	5.20 A
BAGULA (MR)	16.30 BC	14.60 B	17.40 CD	13.40 AB	21.30 E	11.80 A	16.70 CD	15.90 D
Average [‡]	8.20 A	10.20 B	9.90 B	10.30 B	11.20 C	7.40 A	10.50 B	9.70 B
Average of resistant and susceptible [‡]	12.70 A	19.30 E	14.50 B	16.30 C	22.20 F	16.70 C	18.85 D	17.00 C
Standard deviation [§]	0.19	0.17	0.90	0.85	0.75	0.36	0.91	
Coefficient of variation (%) [¶]	1.1	1.1	5.6	1.6	0.8	0.9	1.2	

[†] Means of genotypes (susceptible and resistant) with different letter are significantly different (p≤0.05). Each number is the average of two trials each having four replications per isolate ♦ Medias de genotipos (susceptible y resistente) con diferente letra son significativamente diferentes (p≤0.05). Cada número es el promedio de dos experimentos teniendo cada uno cuatro repeticiones por aislamiento.

[‡] In each row, means of single isolates or isolate mixtures with different letter are significantly different (p≤0.05) ♦ En cada hilera, las medias de aislamientos solos o en mezcla con diferente letra son significativamente diferentes (p≤0.05).

[§] Standard deviation for isolates ♦ Desviación estándar para los aislamientos.

[¶] Coefficient of variation for isolates ♦ Coeficiente de variación para los aislamientos.

MS = moderately susceptible; S = susceptible; R = resistant; MR = moderately resistant ♦ MS = moderadamente susceptible; S = susceptible; R = resistentes; MR = moderadamente resistente.

in one out of six resistant genotypes (MAYOOR). Isolate B1 caused the biggest losses in TRAP#1/BOW, KVZ/K4500 and BAGULA, and isolate P9 in LNF/II58.57//PRL/3/HAHN and SUZ6//ALONDRA/PAVON (Table 5). Inoculation with isolate mixture P9×P8 caused greater losses than single isolates P8 or P9 in KVZ/K4500, while P8×B1 caused greater losses than P8 or B1 only in KVZ/K4500 and BAGULA.

For isolate mixture P9×B1, with the exception of genotypes TRAP#1/BOW, MAYOOR, and KVZ/K4500, the losses in the other resistant genotypes decreased compared to the losses caused by single isolates P9 or B1. In inoculations with a mixture of the three isolates (P9×P8×B1), losses were similar to those caused by at least one of the isolates of the mixture by itself (single inoculations) in TRAP#1/BOW, LFN and BAGULA. In KVZ/K4500 losses increased compared with the three single isolates, while in SUZ6//ALONDRA/PAVON and MAYOOR, losses decreased.

For the average loss of TKW caused by single isolates and isolate mixtures in susceptible wheats, KAUZ had the highest loss (34.1%), and THB//IAS20/H567.71 the lowest (10.2%). BAGULA and KVZ/K4500 had the highest loss (15.9 and 15.3%) of the resistant wheats, while TRAP#1/BOW (5.9%) and SUZ6//ALONDRA/PAVON (5.2%) showed the lowest. In both susceptible and resistant genotypes, only in a few cases, there was a close correlation between losses in TKW and yield losses. Among susceptible genotypes, KAUZ showed the greatest yield loss (Table 3); among resistant ones, BAGULA showed the greatest yield loss, while LFN/II58.57///PRL/3/HAHN and TRAP#/BOW the lowest.

Eyal (1992) and Gilchrist and Velázquez (1994) found that yield and TKW loss in susceptible genotypes were more pronounced than in resistant ones. Of the susceptible genotypes, KAUZ presented the greatest losses both in grain weight and yield, while BAGULA showed the greatest loss in both variables among resistant wheat. Results in Tables 2 and 4 indicate that in most cases there was no close correlation between TKW and yield loss; this implies that isolate×genotype interactions and isolate (in isolate mixtures)×genotype interactions affect these yield components differently. It should be emphasized that for TKW, the performance of each genotype was much more heterogeneous, depending on the particular single isolate or isolate mixture with which it interacted. Besides, it appears that lower grain weight (smaller grain size) can be compensated for by higher grain production (more grains per spike); thus, the impact of the disease on grain weight may not necessarily translate into significant yield reduction.

diferencia de 15%). Sin embargo, el efecto de las inoculaciones con aislamientos solos y aislamientos en mezcla en esta variable no fue tan consistente como para la pérdida en el porcentaje del rendimiento (Cuadros 3 y 5). Así, el efecto de un aislamiento solo o un aislamiento en mezcla sobre la mayoría de los genotipos, especialmente en los resistentes, no llegó a tener una tendencia generalizada.

En los genotipos susceptibles, el aislamiento P8 causó las mayores pérdidas de PMG en KAUZ (49.4% y DON ERNESTO INTA (31.4%), pero en el THB//IAS20/H567.71 (11.9%) el B1 causó las mayores pérdidas (Cuadro 5). Las pérdidas aumentaron con el aislamiento en mezcla P9×P8 comparado con las pérdidas con los aislamientos P9 y P8 solos en los genotipos THB//IAS20/H567.71 y DON ERNESTO INTA, pero disminuyó en KAUZ. La mezcla P9×B1 causó pérdidas mayores que P8 y B1 individualmente sólo en DON ERNESTO INTA. Una mezcla de los tres aislamientos causó pérdidas en el PMG similares a las causadas por al menos uno de los aislamientos inoculados individualmente (Cuadro 5).

A diferencia de los resultados obtenidos en genotipos susceptibles, el aislamiento P8 causó las pérdidas porcentuales más grandes de PGM sólo en uno de los seis genotipos resistentes (MAYOOR). El aislamiento B1 causó mayores las pérdidas en los genotipos TRAP#1/BOW, KVZ/K4500 y BAGULA, y el aislamiento P9 en los genotipos LNF/II58.57//PRL/3/HAHN y el SUZ6//ALONDRA/PAVON (Cuadro 5). La inoculación con el aislamiento en mezcla P9×P8 causó pérdidas más grandes que los aislamientos solos P8 o P9 en el genotipo KVZ/K4500, mientras que P8×B1 causó pérdidas más grandes que P8 o B1 sólo en los genotipos KVZ/K4500 y BAGULA.

Para el aislamiento en mezcla P9×B1, con la excepción de los genotipos TRAP#1/BOW, MAYOOR, y KVZ/K4500, las pérdidas en los otros genotipos resistentes disminuyeron comparadas con las pérdidas causadas por los aislamientos solos P9 ó B1. En inoculaciones con una mezcla de los tres aislamientos (P9×P8×B1), las pérdidas fueron similares a las causadas por al menos uno de los aislamientos de la mezcla por sí mismo (inoculaciones solas) en TRAP#1/BOW, LFN y BAGULA. En KVZ/K4500 las pérdidas aumentaron comparadas con los tres aislamientos solos, mientras que en SUZ6//ALONDRA/PAVON y MAYOOR, las pérdidas disminuyeron.

Para la pérdida promedio de PMG causado por aislamientos solos y aislamientos en mezcla en trigos susceptibles, KAUZ tuvo la mayor pérdida (34.1%), y THB//IAS20/H567.71 la más baja (10.2%). BAGULA y KVZ/K4500 tuvieron la pérdida más alta (15.9 y 15.3%) de los trigos resistentes, mientras que

When yield results were compared with disease severity readings (expressed as area under the disease progress curve, AUDPC) caused by the same isolates (singly or in mixtures), there was no close correlation between disease severity and percent TKW loss nor with yield (Leyva, 1988). For example, susceptible genotypes THB//IAS20/H567.71, KAUZ, and DON ERNESTO INTA showed mean AUDPC values of 315, 313, and 289; their TKW loss was 10, 34, and 21%, and their yield loss was 26, 34, and 21%. Resistant genotypes BAGULA and MAYOOR showed mean AUDPC values of 283 and 230 their TKW losses were 15 and 8%, and their yield loss 22 and 16%.

This lack of correlation may in part be explained by the fact that *S. tritici* produces a toxin called septorina, which inhibits growth in susceptible genotypes without necessarily causing severe necrosis in the crop canopy (Bousquet *et al.*, 1980; Harrabi *et al.*, 1993). Therefore, crop yield seems to be more representative of the disease impact on crop production than TKW. Furthermore, farmers are interested in genotypes that produce the highest grain yield per unit of area, regardless of grain size. However, grain size could be an important quality variable in some markets where producers are rewarded for that trait.

As mentioned, isolates B1 and P8 were more aggressive (ability of the fungus to persist in nature) and pathogenic (ability of the fungus to cause a disease) than P9. They showed the greatest disease severity and the shortest latency periods (Leyva, 1998), and also competed more successfully and predominated in wheat genotypes inoculated with isolate mixtures. Isolate P9 was only recovered after single inoculations, but not when inoculated in mixtures (Leyva, 1998).

The B1 × P9 combination caused a lower yield loss in most wheats tested than B1 by itself. Also, the B1 × P9 combination caused lower disease severity in both susceptible and resistant wheats (Leyva, 1998). This is consistent with the findings of Eyal (1992), who mentioned that a not very aggressive isolate inhibits a highly pathogenic one, i.e., it reduces its pathogenicity, but it does not necessarily eliminate it.

Breeders evaluating septoria resistance should be aware that inoculations with *S. tritici* isolate mixtures can significantly reduce the percent yield loss in wheat, so as not to overestimate the responses of selected materials.

CONCLUSIONS

The results of our study support the physiological variation of *S. tritici* (Arama, 1996; Kema *et al.*, 1996; Ahmed *et al.*, 1995), as well as the competition that occurs among isolates present in inoculated mixtures

TRAP#1BOW (5.9%) y el SUZ6//ALONDRA/PAVON (5.2%) mostraron la más baja. En los genotipos resistentes y en los susceptibles, sólo en unos pocos casos, hubo una correlación estrecha entre las pérdidas de PMG y pérdidas en el rendimiento. Entre los genotipos susceptibles, KAUZ mostró la mayor pérdida en rendimiento (Cuadro 3); entre los resistentes, BAGULA mostró la pérdida más grande en rendimiento, mientras que LFN/II58.57///PRL/3/HAHN y TRAP#/BOW el más bajo.

Eyal (1992) y Gilchrist y Velásquez (1994) encontraron que la pérdida en rendimiento y en PMG en los genotipos susceptibles fue más pronunciada que en los resistentes. De los genotipos susceptibles, KAUZ presentó las mayores pérdidas tanto en peso del grano como en rendimiento, mientras que BAGULA mostró la pérdida más grande en ambas variables entre los trigos resistentes. Los resultados de los Cuadros 2 y 4 indican que en la mayoría de los casos no hubo una estrecha relación entre PMG y la pérdida en rendimiento; esto implica que las interacciones aislamiento × genotipo y las interacciones aislamiento (en mezclas de aislamientos) × genotipo afectan diferencialmente estos componentes del rendimiento. Debería enfatizarse que para el PMG, el comportamiento de cada genotipo fue mucho más heterogéneo, dependiendo del aislamiento particular solo ó el aislamiento en mezcla con el que interactúa. Además, parece que el peso más bajo del grano (tamaño más pequeño del grano) puede ser compensado por una mayor producción de grano (más granos por espiga); así, el impacto de la enfermedad sobre el peso del grano no necesariamente puede traducirse en una importante reducción de rendimiento.

Cuando los resultados del rendimiento se compararon con las lecturas sobre la severidad (expresados como área bajo la curva del progreso de la enfermedad, AUDPC) causados por los mismos aislamientos (solos o en mezcla) no hubo una correlación estrecha entre la severidad de la enfermedad y la pérdida en el porcentaje de PMG ni rendimiento (Leyva, 1998). Por ejemplo los genotipos susceptibles THB//IAS20/H567.71, KAUZ, y DON ERNESTO INTA mostraron valores de la media AUDPC de 315, 313 y 289; su pérdida de PMG fue 10, 34 y 21%, y su pérdida de rendimiento fue 26, 34 y 21%. Los genotipos resistentes BAGULA y MAYOOR mostraron valores de la media AUDPC de 283 y 230; sus pérdidas de PMG fueron 15 y 8% y su pérdida de rendimiento 22 y 16%.

La ausencia de correlación (Leyva, 1998) en parte puede explicarse por el hecho de que *S. tritici* produce la toxina septorina, la cual inhibe el crecimiento en los genotipos susceptibles sin causar necesariamente una

(Gilchrist and Velázquez, 1994; Eyal, 1992). Also, that inoculations with isolate mixtures can greatly modify the impact of the disease on grain yield and TKW, especially in susceptible genotypes. This points out the need for breeding programs to know the type of inoculum to use in selecting wheat for *S. tritici* resistance.

LITERATURE CITED

- Ahmed, U. H., C. C. Munot, and S. M. Coakley. 1995. Host-pathogen relationship of geographically diverse isolates of *Septoria tritici* and wheat genotypes. *Plant Pathol.* 44: 838-847.
- Arama, F. P. 1996. Effects of genotype, isolates and environment on resistance of wheat to *Septoria tritici* in Kenya. Doctoral thesis. Wageningen Agricultural University, The Netherlands. 115 p.
- Bousquet, J. F., H. Belhomme, A. Kollmann, and R. Fritz. 1980. Action de la septorine, phytotoxine synthétisée par *Septoria nodorum*, sur la phosphorylation oxydative dans les mitochondries isolées de coleoptiles de blé. *Can. J. Bot.* 58: 2575-2580.
- Caldwell, R. M., and I. Narvaes. 1960. Losses of winter wheat from infection by *Septoria tritici*. *Phytopathology* 50: 630 (Abstract).
- Castrejón, S. A., y R. M. González. 1993. Control químico reductible de *Septoria tritici* para el área de temporal húmedo en México. *In: Gilchrist, L., M. van Ginkel, A. McNab, and G. H. V. Kema (eds). Proc. Septoria tritici Workshop. México, D.F. CIMMYT.* pp: 135-147.
- Cooke, B. M., and D. G. Jones. 1971. The epidemiology of *Septoria tritici* and *S. nodorum*. *Br. Mycol. Soc.* 56: 121-135.
- Eyal, Z. 1992. The response of field inoculated wheat genotypes to mixtures of *Septoria tritici* isolates. *Euphytica* 61: 25-35.
- Gilchrist, L., and C. Velázquez. 1994. Interaction of *Septoria tritici* isolates-wheat as adult plant under field conditions. *In: Arseniuk, E., T. Goral, and P. Zembor (eds). Proc. 4th International Workshop on Septoria of Cereals. Ihar Radzikow, Poland.* pp: 111-114.
- Harrabi, M., M. Cherif, H. Amara, Z. Ennaiffer, and A. Daaloul. 1993. *In vitro* selection for resistance to *Septoria tritici* in wheat. *In: Gilchrist, L., M. van Ginkel, A. McNab, and G. H. V. Kema (eds). Proc. Septoria tritici Workshop. México, D.F. CIMMYT.* pp: 109-116.
- Kema, G. H. V., J. G. Annone, R., Sayoud, C. H. Van Silfhout, M. van Ginkel, and J. Debree. 1996. Genetic variation for virulence and resistance in the wheat-*Mycosphaerella graminicola* pathosystem. I. Interactions between pathogen isolates and host genotypes. *Phytopathology* 86: 200-212.
- Leath, S., A. L. Scharen, R. E. Lund, and M. E. Dietz-Holmes. 1993. Factors associated with global occurrences of *Septoria nodorum* blotch and *Septoria tritici* blotch of wheat. *Plant Dis.* 77: 1266-1270.
- Leyva, M. G. 1998. Comportamiento de aislamientos de *Septoria tritici* solos y en mezcla, inoculados en diferentes genotipos de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) Disertación doctoral. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 85 p.
- Martínez, G. A. 1988. Diseños Experimentales. Editorial Trillas. México, D.F. pp: 130.
- Tottman, D. R., and R. J. Makepeace. 1979. An explanation of the decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *An. App. Biol.* 93: 221-234.
- Zelicovitch, N., and Z. Eyal. 1991 Reduction in pycnidial coverage after inoculation of wheat with mixtures of isolates of *Septoria tritici*. *Plant Dis.* 75: 907-910.
- Ziv, O., and Z. Eyal. 1978. Assessment of yield component losses caused in plants of spring wheat genotypes by selected isolates of *Septoria tritici*. *Phytopathology* 68: 791-796.
- necrosis severa en el follaje del cultivo (Bousquet *et al.*, 1980; Harrabi *et al.*, 1993). Por tanto, el rendimiento del cultivo parece ser más representativo del impacto de la enfermedad sobre la producción del cultivo que el PMG. Es más, los agricultores están interesados en genotipos que produzcan el rendimiento más alto de grano por unidad de área, cualquiera que sea el tamaño del grano. Sin embargo, el tamaño del grano pudiera ser una variable importante de calidad en algunos mercados donde los productores son recompensados por esa característica.
- Como se mencionó, los aislamientos B1 y P8 fueron más agresivos (capacidad del hongo para persistir en la naturaleza) y patogénicos (capacidad del hongo para causar una enfermedad) que el P9. Ellos mostraron la mayor severidad y los periodos más cortos de estado latente (Leyva, 1998), y también compitieron más exitosamente y predominaron en los genotipos de trigo inoculado con aislamientos en mezcla. El aislamiento P9 fue recuperado sólo después de las inoculaciones solas, pero no cuando se inoculó en mezclas (Leyva, 1998).
- La combinación B1×P9 causó una pérdida menor en el rendimiento en la mayoría de los trigos probados que el B1 solo. También, la combinación B1×P9 causó menor severidad de la enfermedad en los trigos susceptibles y los resistentes (Leyva, 1998). Esto es consistente con los descubrimientos de Eyal (1992), quien mencionó que un aislamiento no muy agresivo inhibe uno altamente patogénico, i.e., reduce su patogenicidad, pero no necesariamente lo elimina.
- Los fitomejoradores que evalúan la resistencia del septoria deberían estar conscientes de que las inoculaciones con aislamientos en mezcla de *S. tritici* pueden reducir significativamente el porcentaje de pérdida de rendimiento en trigo, para no sobreestimar las respuestas de los materiales seleccionados.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio apoyan la variación fisiológica del *S. tritici* (Aram, 1996; Kema *et al.*, 1996; Ahmed *et al.*, 1995), y también la competencia que ocurre entre los aislamientos presentes en mezclas inoculadas (Gilchrist y Velásquez, 1994, Eyal, 1992). También, que las inoculaciones con mezclas de aislamientos pueden modificar grandemente el impacto de la enfermedad en el rendimiento de grano y PMG, especialmente en genotipos susceptibles. Esto señala la necesidad de programas de mejoramiento para saber que tipo de inóculo usar en la selección de trigo resistente a *S. tritici*.