

# INTERACCIÓN DE COMPONENTES DE RESISTENCIA E INÓCULO EN TRIGO (*Triticum aestivum* L.) CON TIZÓN FOLIAR (*Septoria tritici* Rog. Ex. Desm.)

## INTERACTION OF COMPONENTS OF RESISTENCE AND INOCULE IN BREAD WHEAT (*Triticum aestivum* L.) with FOLIAR BLIGHT (*Septoria tritici*) Rog. Ex. Desm.:

Gerardo Leyva-Mir<sup>1</sup>, Lucy Gilchrist-Saavedra<sup>2</sup>, Emma Zavaleta-Mejía<sup>3</sup> y Mireille Khairallah<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Estado de México. (lsantos@correo.chapingo.mx) <sup>2</sup>Fitopatología CIMMYT. <sup>3</sup>Fitopatología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México.

### RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue determinar el efecto de las inoculaciones de aislamientos de *Septoria tritici* Rob. ex. Desm. en forma individual y en mezclas, en el período de latencia, número de picnidios y severidad de la enfermedad en plántulas el período de latencia y posteriormente en estado masoso en nueve genotipos de trigo (*Triticum aestivum* L.) con diferente grado de resistencia al patógeno en Atizapán, México, durante dos ciclos. Se inoculó en condiciones de campo con tres aislamientos (P8, P9 y B1) individuales y mezclas en nueve genotipos de trigo de diferente comportamiento a *Septoria tritici*. El período de latencia en los cultivares susceptibles fue más corto y hubo mayor número de picnidios por unidad de superficie, y la severidad de la enfermedad fue mayor comparado con los genotipos resistentes. La inoculación de dos aislamientos disminuyó el periodo de latencia y sólo en dos genotipos resistentes se alargó. En contraste, la inoculación con la mezcla de los tres aislamientos siempre retardó la aparición de picnidios en todos los cultivares susceptibles y en cuatro resistentes de los seis inoculados. Respecto a la densidad de picnidios por área foliar, la inoculación con mezclas de dos o tres aislamientos resultaron en reducciones significativas ( $p \leq 0.05$ ) del número de picnidios, comparado con las inoculaciones con aislamientos individuales en los trigos susceptibles, pero no así en los resistentes. Los genotipos susceptibles presentaron la mayor severidad de la enfermedad. Se observó una rápida formación de picnidios y un mayor número de ellos por unidad de superficie. En concordancia con los resultados del período de latencia y densidad de picnidios, la inoculación con mezclas de dos y tres aislamientos disminuyó la severidad en los genotipos susceptibles. Sin embargo, en los materiales resistentes las inoculaciones con mezclas no siempre redujeron significativamente la severidad. En materiales resistentes y susceptibles la inoculación con mezcla de dos aislamientos causó un retardo en el período de latencia. Se puede concluir que *S. tritici* presenta una variación patogénica entre aislamientos y la competencia que se establece entre ellos en inoculaciones con mezclas aumentó el periodo de latencia, como reducción en la densidad de picnidios así como la severidad de la enfermedad en los genotipos susceptibles y en algunos resistentes.

Recibido: Febrero, 2007. Aprobado: Marzo, 2008.  
Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 42: 313-325. 2008.

### ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the effect of the inoculations of isolates of *Septoria tritici* Rob. Ex. Desm. individually and in mixtures, in the latent period, number of pycnidia and severity of the disease in seedlings in the latent period and later in doughy stage in nine genotypes of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) with different degree of resistance to the pathogen in Atizapán, México, during two cycles. Inoculation was made under field conditions with three individual isolates (P8, P9 and B1) and mixtures in nine wheat genotypes with different behavior to *Septoria tritici*. The latent period in the susceptible cultivars was shorter and there was a higher number of pycnidia per surface unit, and the severity of the disease was greater with respect to the resistant genotypes. Inoculation of two genotypes reduced the latent period and was lengthened in only two resistant genotypes. In contrast, the inoculation with the mixture of the three isolates always delayed the appearance of pycnidia in all of the susceptible cultivars and in four resistant ones of the six cultivars inoculated. Regarding to the density of pycnidia per foliar area, the inoculation with two or three isolates resulted in significant reductions ( $p \leq 0.05$ ) of the number of pycnidia, with respect to the inoculations with individual isolates in the susceptible wheat, but not in the resistant wheat. The susceptible genotypes presented the greatest severity of the disease. A rapid formation of pycnidia was observed along with a higher number per surface unit. In concordance with the results of the latent period and density of pycnidia, the inoculation with mixtures of two and three isolates reduced the severity in the susceptible genotypes. However, in the resistant materials, the inoculations with mixtures did not always significantly reduce severity. In resistant and susceptible materials, the inoculation with mixture of two isolates caused a delay in the latent period. It can be concluded that *S. tritici* presents a pathogenic variation among isolates and the competition that is established among them in inoculations with mixtures increased the latent period, such as reduction in the density of pycnidia as well as the severity of the disease in the susceptible genotypes and in some resistant ones.

**Key words:** *Septoria tritici*, *Triticum aestivum*, competition among isolates, density of pycnidia, isolate mixture, latent period, wheat.

**Palabras clave:** *Septoria tritici*, *Triticum aestivum*, competencia entre aislamientos, densidad de picnidios, mezcla de aislamientos, período latente, trigo.

## INTRODUCCIÓN

**S***eptoria tritici* Rob. ex. Desm. causa el tizón de la hoja en trigo, una de las enfermedades fungosas más importantes en zonas con alta precipitación como el Mediterráneo, México (900 mm y zonas de temporal con precipitación superiores), África Central, Europa, EE.UU. y Sudamérica. En México se siembran 230 000 ha de trigo (Leyva, 1998) que pueden ser afectadas por este hongo que requiere alta humedad relativa para penetrar y colonizar los tejidos del trigo (Arama, 1996). En México hay pérdidas de rendimiento (30 a 60%) por esta enfermedad en las zonas de Toluca, Estado de México, y Pátzcuaro, Michoacán (Gómez y González, 1990). La principal alternativa de control para el tizón causado por *S. tritici* es obtener variedades de trigo con resistencia (McKendry, y Henke, 1994). Durante la selección de materiales de trigo de alto rendimiento y resistentes al tizón foliar causado por *Septoria* es importante asegurar las infecciones en campo y así evitar el escape a la enfermedad en los genotipos probados; por tanto, en los programas de mejoramiento los diferentes genotipos de trigo son inoculados con una mezcla de aislamientos (Smirnova *et al.*, 1990; McKendry y Henke, 1994) seleccionados en invernadero individualmente (Arama, 1996). Según Eyal *et al.* (1987), se puede obtener una evaluación adecuada de genotipos de trigo usando aislamientos de virulencia conocida.

En trigo, los componentes de la resistencia a *S. tritici* identificados son: período de incubación (tiempo necesario para la aparición de síntomas desde el momento de la inoculación), período de latencia (tiempo requerido para la formación de picnidios en el tejido vegetal desde el momento de la inoculación), área necrosada (severidad) y número de picnidios por unidad de superficie, los cuales están correlacionados genéticamente, a excepción del área necrosada que es controlada por un gene diferente (Jlibeene y Bouami, 1995).

El período de latencia es más corto en genotipos susceptibles que en resistentes (Zelikovitch y Eyal, 1991; Eyal, 1992) cuando se inocula un solo aislamiento respecto a la inoculación con mezclas de aislamientos (Gilchrist y Velázquez, 1994). Además, la densidad de picnidios es menor cuando se inocula trigo con mezclas de aislamientos que con inoculaciones de aislamientos individuales (Eyal, 1992; Arama, 1996). Según estos autores hay diferentes grados de virulencia del hongo inoculado en diversos genotipos de trigo;

## INTRODUCTION

**S***eptoria tritici* Rob. ex. Desm. causes blight in wheat, one of the most important fungal diseases in high precipitation zones such as the Mediterranean, México (900 mm and rainfall zones with higher precipitation levels), Central Africa, Europe, USA. and South America. In México, 230 000 ha of wheat are sown (Leyva, 1998) that can be affected by this fungus, which requires high relative humidity to penetrate and colonize the wheat tissues (Arama, 1996). In México there is yield loss (30 to 60%) due to this disease in the zones of Toluca, State of México, and Pátzcuaro, Michoacán (Gómez and González, 1990). The principal alternative for the control of the blight caused by *S. tritici* is to obtain resistant varieties of wheat (McKendry and Henke, 1994). During the selection of high yield wheat materials with resistance to foliar blight caused by *Septoria*, it is important to secure the infections in the field and thus avoid the escape of the disease in the tested genotypes; therefore in the breeding programs, the different wheat genotypes are inoculated with a mixture of isolates (Smirnova *et al.*, 1990; McKendry and Henke, 1994) selected individually in the greenhouse (Arama, 1996). According to Eyal *et al.* (1987), an adequate evaluation of wheat genotypes can be obtained using isolates of known virulence.

In wheat, the identified components of resistance to *S. tritici* are as follows: incubation period (time necessary for the appearance of symptoms from the moment of inoculation), latent period (time required for the formation of pycnidia in the plant tissue from the moment of inoculation), necrotic area (severity) and number of pycnidia per surface unit, which are genetically correlated, except for the necrotic area which is controlled by a different gene (Jlibeene and Bouami, 1995).

The latent period is shorter in susceptible genotypes than in resistant ones (Zelikovitch and Eyal, 1991; Eyal, 1992) when a single isolate is inoculated with respect to inoculation with mixtures of isolates (Gilchrist and Velázquez, 1994). Also, the density of pycnidia is lower when wheat is inoculated with mixtures of isolates than with inoculations of individual isolates (Eyal, 1992; Arama, 1996). According to these authors there are different levels of virulence of the fungus inoculated in different wheat genotypes; also, when monosporic isolates are inoculated individually, more damage resulted with respect to mixtures of the same individual isolates. Furthermore, inoculation with mixtures of isolates of *S. tritici* caused a noticeable reduction in the percentage of pycnidia formed in the leaves of wheat, compared with individual inoculations of these same isolates (Zelikovitch *et al.*, 1992; Gilchrist and

también, al inocular individualmente aislamientos monospóricos hubo mayor daño en comparación con mezclas de los mismos aislamientos individuales. Además, la inoculación con mezclas de aislamientos de *S. tritici* causa una marcada reducción en el porcentaje de picnidios formados en las hojas de trigo, en comparación con inoculaciones individuales de estos mismos aislamientos (Zelikovitch *et al.* 1992; Gilchrist y Velázquez, 1994). Así el uso de una mezcla de aislamientos puede reducir en el porcentaje de picnidios presentes en el tejido foliar.

Es fundamental conocer el comportamiento del hongo de materiales de trigo susceptibles y resistentes cuando las inoculaciones se hacen con aislamientos individuales y mezclados (Gilchrist, y Velázquez, 1994). Por tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar el efecto de las inoculaciones de aislamientos de *S. tritici* individuales y mezclados en el período de latencia, densidad de picnidios y severidad de la enfermedad en genotipos de trigo, con diferentes niveles de resistencia al hongo en condiciones de campo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Patógeno

Se obtuvieron tres aislamientos de *S. tritici* seleccionados con base en su virulencia y origen. Del aislamiento P8, considerado el más virulento, con mayor espectro de virulencia, se conocen sus genes de virulencia y hay relación gen-gen; P9 es el menos virulento (ambos recolectados en Pátzcuaro, Michoacán, México); el aislamiento B1 es tan virulento como el P8 recolectado en 1994 en Atizapán, Toluca, México (Leyva, 1988), pero difiere en su espectro de virulencia al ser evaluado sobre un conjunto de cultivares de trigo diferenciales (Gilchrist y Velázquez, 1994). Los aislamientos fueron incrementados individualmente en un medio de cultivo (4 g extracto de levadura, 4 g extracto de malta, 4 g sacarosa, 15 g agar en 1 L agua) por 7 d a 19 °C. La suspensión se ajustó a una concentración de  $1 \times 10^6$  esporas  $\text{mL}^{-1}$  antes de la inoculación (Gilchrist y Velázquez, 1994).

### Hospedante

Se seleccionaron nueve genotipos de trigo harinero con varios niveles de resistencia a *S. tritici* (Gilchrist y Velázquez, 1994) y se sembraron durante dos ciclos de cultivo de temporal (mayo-octubre, 1995 y 1996) en la estación experimental de CIMMYT en Atizapán (Cuadro 1), en campos no sembrados en los últimos cuatro años para evitar la contaminación por el inóculo primario que sobrevive en los residuos de trigo y el manejo fue similar al usado por los agricultores de la región. Se hizo 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 debido al quemado por herbicida.

Velázquez, 1994). Thus, the use of an isolate mixture can reduce in the percentage of pycnidia present in the foliar tissue.

It is fundamental to know the behavior of the fungus of susceptible and resistant wheat materials when the inoculations are made with individual and mixed isolates (Gilchrist and Velázquez, 1994). Therefore, the objective of the present study was to determine the effect of the inoculations of individual and mixed isolates of *S. tritici* in the latent period, pycnidia density and severity of the disease in wheat genotypes, with different levels of resistance to the fungus under field conditions.

## MATERIALS AND METHODS

### Pathogen

Three isolates of *S. tritici* were obtained, whose selection was based on their virulence and origin. Of the isolate P8, considered the most virulent, with a wider spectrum of virulence, its virulence genes are known and there is a gene-gene relationship; P9 is the least virulent (both collected in Pátzcuaro, Michoacán, México); the B1 isolate is as virulent as the P8 collected in 1994 in Atizapán, Toluca, México (Leyva, 1988), which differs in its virulence spectrum when evaluated on a set of differential wheat cultivars (Gilchrist and Velázquez, 1994). The isolates were increased individually in a culture medium (4 g yeast extract, 4 g malt extract, 4 g saccharose, 15 g agar in 1 L water) for 7 d at 19 °C. The suspension was fit to a concentration of  $1 \times 10^6$  spores  $\text{mL}^{-1}$  prior to the inoculation (Gilchrist and Velázquez, 1994).

### Host

Nine genotypes of bread wheat were selected with various levels of resistance to *S. tritici* (Gilchrist and Velázquez, 1994) and were sown during two seasons of rainfall (May-October, 1995 and 1996) in the experimental station of CIMMYT in Atizapán (Table 1), in fields that had been fallow in the last four years in order to avoid contamination by the primary inocula that survive in wheat litter, and the management was similar to that used by the growers of the region. A single application of fertilizer was used (150-00-00) prior to shoot formation based on soil analysis. Herbicide was not applied to avoid confusion of the effects of the competition of the weeds and the foliar rust due to burning by herbicide.

The experimental design was incomplete randomized blocks with a split-plot arrangement of treatments. The individual or mixed isolates were main plots and the nine wheat genotypes were the sub-plots, which 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 treatments had four replicates.

### Field inoculation

The test plots were inoculated with individual isolates and with the combinations of two and three isolates. The isolates were mixed

**Cuadro 1. Genotipos de trigo sembrados e inoculados con tres aislamientos de *Septoria tritici* solos y combinados en Atizapán, Toluca, México, en 1995 y 1996.****Table 1. Wheat genotypes sown and inoculated with three isolates of *Septoria tritici*, individual and combined in Atizapán, Toluca, México, 1995 and 1996.**

Genotipos	Pedigree y progenitores	Tipo de reacción <sup>†</sup>	No. acceso al banco de germoplasma <sup>‡</sup>
KAUZ	CM67458-4Y-2M-1Y-1M-3Y-OB-12M-OY-4Y	S	BW19528
DON ERNESTO INTA	CM33203-K-9M-33Y-1M-500Y-OM-1J-0J-OARG	S	CM3203
THB//IAS20/H567.71	CM81770-1Y-06PZ-2Y-6M-OY	MS	CM1770
BAGULA	CM59123-3M-1Y-3M-2Y-3M-OY	S	BW 27550
TRAP#1/BOW	CM84548-34Y-OM-OY-1M-OY	MS	CM 8458
LFN/II58.57//PRL/3/HAHN	CM77224-G-1Y-O2M-OY-3B-2Y-OB-OSJ	S	CM7414
MAYOOR	CIGM84.295-1M-1PR-4M-3Y-OM-OY-1Y	R	CW150813
KVZ/K4500.L.6.A.4	SWO176-3M-1Y-10Y-1M-OY-OPTZ-1R	R	CM9604
SUZ6//ALD/PVN	CM91128-2Y-OM-OY-3M-OY	R	CM91128

<sup>†</sup> S:susceptible; MS:moderadamente susceptible; R:resistente.

<sup>‡</sup> Banco germoplasma CIMMYT, México.

El diseño experimental fue bloques incompletos al azar con un arreglo de tratamientos en parcelas divididas. Los aislamientos solos o mezclados fueron las parcelas principales y los nueve genotipos de trigo fueron las sub-parcelas que consistían de tres hileras de trigo (3 m largo), rodeadas de cebada (la cual es inmune a *S. tritici*) para prevenir la contaminación entre los aislamientos inoculados. Los tratamientos tuvieron cuatro repeticiones.

#### Inoculación de campo

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

#### Evaluación

Para determinar el período de latencia se tomaron cuatro hojas al azar en la parte media de cuatro plantas para su revisión en laboratorio cada tercer día. Después de la inoculación se registró el número de días requerido para la formación de picnidios inmaduros y maduros. Se determinó la densidad de picnidios contando en un microscopio estereoscópico por número de picnidios en 0.5 cm<sup>2</sup> en la parte media de las cuatro hojas por repetición.

La evaluación de la severidad se realizó mediante la escala de doble dígito (Eyal *et al.*, 1987) para lo cual, en el surco central de cada repetición, se marcaron al azar seis plantas y en ellas se evaluó la severidad cada 7 d desde la inoculación hasta el estado de grano masoso. También se registró el estado fenológico de la planta según Tottman y Makepeace (1979) al realizar cada lectura. Con los datos de porcentaje de severidad de los diferentes genotipos se calculó el

according to Zelicovitch and Eyal (1991), using a ratio of 1:1:1 h prior to inoculation (so the conidial suspensions remained viable). Tween 20 was added to each suspension as surfactant. During shoot formation (Tottman and Makepeace, 1979), the plants were inoculated at dusk with an ultralow volume in the presence of rain to insure at least 18 h with 100% relative humidity.

#### Evaluation

To determine the lactation period, four leaves were taken randomly from the middle part of four plants for inspection in the laboratory every three days. After inoculation, the number of days were recorded required for the formation of immature and mature pycnidia. Density of pycnidia was determined in a stereoscopic microscope in 0.5 cm<sup>2</sup> in the middle part of the four leaves by replicate.

The evaluation of severity was carried out by means of the double digit scale (Eyal *et al.*, 1987) for which, in the central row of each replicate, six plants were randomly marked, and in these plants severity was evaluated every 7 d from inoculation to the doughy grain stage. Each phenological stage of the plant was also registered according to Tottman and Makepeace (1979) when each reading was made. With the data of percentage of severity of the different genotypes, calculation was made of the area below the disease progress curve (ABCPE) according to Pandey *et al.* (1989).

An analysis of variance was made per year, but given that there were no significant differences between the data of 1995 and 1996, a combined statistical analysis was made. The means of treatments were compared with the Tukey test ( $p \leq 0.05$ ) (Martínez, 1988).

## RESULTS AND DISCUSSION

### Latent period

The first symptoms were observed 10 d after inoculation in the susceptible varieties, which agrees

área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) de acuerdo con Pandey *et al.* (1989).

Se hizo un análisis de varianza por año, pero dado que no hubo diferencias significativas entre los datos de 1995 y 1996, se hizo un análisis estadístico combinado. Las medias de tratamientos se compararon con la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) (Martínez, 1988).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Período de latencia

Los primeros síntomas se observaron 10 d después de la inoculación en las variedades susceptibles, lo que concuerda con observaciones anteriores. Después de la aparición de los síntomas de tizón en las hojas, en el haz y envés se presentaron pequeñas estructuras de color café que eran picnidios inmaduros y cambiaron a negro, esto es, los picnidios maduros. Los aislamientos individuales y en mezclas, cultivares y la interacción aislamiento-cultivar tuvieron un efecto altamente significativo en el período de latencia para la formación de picnidios inmaduros y maduros, así como para la densidad de picnidios.

La formación de picnidios inmaduros ocurrió más rápido en los materiales susceptibles (10.84 d) que en los resistentes (12.59 d). En promedio hubo una diferencia de casi 2 d (Cuadro 3). Considerando el promedio general de las reacciones de las variedades (susceptibles y resistentes), el aislamiento B1 indujo el periodo de latencia más corto (10.08 d), seguido de P8 (10.84 d) y P9 (11.34 d). La combinación de dos aislamientos no afectó significativamente el periodo de latencia para la formación de picnidios inmaduros (0.064 d), el cual fue significativo cuando se combinaron los tres aislamientos (Cuadro 3).

Respecto al comportamiento de los genotipos susceptibles (Cuadro 3), cuando se inocularon con aislamientos

with prior observations. After the appearance of the symptoms of blight in the leaves, small brown colored structures appeared in the fascicle and underside which were immature pycnidia that changed to black, corresponding to the mature pycnidia. The individual and mixed isolates, cultivars and the isolate-cultivar interaction had a highly significant effect on the latent period for the formation of immature and mature pycnidia, as well as for density of pycnidia.

The formation of immature pycnidia occurred more rapidly in the susceptible materials (10.84 d) than in the resistant ones (12.59 d). On the average there was a difference of nearly 2 d (Table 3). Considering the general average of the reactions of the varieties (susceptible and resistant), the B1 isolate induced the shortest latent period (10.08 d), followed by P8 (10.84 d) and P9 (11.34 d). The combination of two isolates did not significantly affect the latent period for the formation of immature pycnidia (0.064 d), which was significant when the three isolates were combined (Table 3).

With respect to the behavior of the susceptible genotypes (Table 3), when they were inoculated with individual isolates the latent period was 10 d; when they were inoculated with mixtures, two of them had no effect on the latent period of the genotypes Don Ernesto INTA and Kauz, but in the line THB//IAS20/H567.71 (moderately susceptible), there was a significant delay ( $p \leq 0.05$ ) of 2.18 d. When the three genotypes were inoculated with the mixture of the three isolates, in all cases there was a significant delay in the formation of immature pycnidia, which on the average, was 2 d in the most susceptible materials (Kauz and Don Ernesto INIA) and 8 d in the moderately susceptible line THB//IAS20/H567.71.

In the resistant wheat genotypes inoculated with individual isolates and mixtures of two, the start of pycnidia formation required 12 d, with the exception

**Cuadro 2.** Análisis de varianza del período de latencia para la formación de picnidios inmaduros y maduros y densidad de picnidios en nueve genotipos de trigo inoculados con tres aislamientos de *Septoria tritici* individual y en mezclas. Atizapán, Toluca, México, en 1995 y 1996.

**Table 2.** Analysis of variance of the latent period for the formation of immature and mature pycnidia and pycnidia density in nine wheat genotypes inoculated with three isolates of *Septoria tritici*, individual and combined. Atizapán, Toluca, México, 1995 and 1996.

Fuente de variación	Grados de libertad	Formación de picnidios inmaduros (d)	Formación de picnidios maduros (d)	Densidad de picnidios
Repetición	3	2.41	12.1	2.71
Aislamiento	6	5.11 <sup>†</sup>	26.1 <sup>†</sup>	1.70 <sup>‡</sup>
Cultivar	8			
Aisl. X cultivar	48	5.93 <sup>†</sup>	76.2 <sup>†</sup>	6.80 <sup>‡</sup>
Error	168	2.26 <sup>†</sup>	5.2 <sup>†</sup>	2.00 <sup>‡</sup>
		2.72	7.7	4.20

<sup>†</sup>  $p \leq 0.01$ ; <sup>‡</sup>  $p \leq 0.05$ .

<sup>‡</sup> El análisis de varianza se hizo combinado para 1995 y 1996.



**Cuadro 3. Días requeridos para la formación de picnidios inmaduros en nueve genotipos de trigo inoculados con tres aislamientos de *Septoria tritici* individuales y en mezclas. Atizapán, Toluca, México, en 1995 y 1996.**  
**Table 3. Days required for the formation of immature pycnidia in nine wheat genotypes inoculated with three isolates of *Septoria tritici*, individual and combined. Atizapán, Toluca, México, 1995 and 1996.**

Genotipos	Formación de picnidios inmaduros después de la inoculación							
	Aislamientos							
	P9	P8	B1	P9XP8	P8XB1	P9XB1	P9XP8XB1	MEDIA <sup>†</sup>
THB/IAS20/H567.71 (SM)	10.00 a	10.00 a	10.00 a	12.25 b	12.30 b	12.10 b	18.10 c	12.10 b
DON ERNESTO INTA (S)	10.00 a	10.00 a	9.59 a	10.00 a	10.10 a	10.00 a	12.00 b	10.00 a
KAUZ (S)	10.00 a	10.00 a	10.00 a	10.00 a	10.00 a	10.00 a	12.00 b	10.20 a
Media	10.00 a	10.00 a	9.80 a	10.75 a	10.80 a	10.70 a	14.03 b	10.84 aa
TRAP#1/BOW (R)	12.00 b	10.00 a	12.00 b	12.00 b	12.00 b	12.10 b	18.00 c	12.58 b
LFN (R)	12.01 a	12.00 a	11.95 a	12.10 a	12.00 a	12.10 a	12.00 a	12.02 b
Mayoor(R)	12.03 a	12.00 a	12.00 a	12.00 a	12.00 a	12.00 a	15.00 b	12.43 b
KVZ/K4500 (R)	12.10 a	12.10 a	12.00 a	12.00 a	12.15 a	12.00 a	18.00 b	13.05 b
SUZ6//A/P (R)	18.00 b	12.00 a	12.00 a	12.00 a	12.10 a	12.00 a	18.00 c	13.72 c
Bagula (RM)	10.00 a	12.00 b	12.00 b	12.10 b	12.00 b	12.10 b	12.00 a	11.74 a
Media	12.69 b	11.68 a	11.93 a	12.03 b	12.04 b	12.05 b	13.80 c	12.59 c
Media de R y S	11.34 c	10.84 b	10.08 a	11.39 c	11.42 c	11.37 c	13.90 d	11.71 b
D.E. <sup>‡</sup>	0.87	0.86	0.88	0.81	0.82	0.83	0.81	
C.V. <sup>§</sup>	0.1	0.2	0.1	0.1	0.9	0.7	1.3	

<sup>†</sup> Medias de genotipos (incluyendo susceptibles y resistentes) con diferente letra son diferentes estadísticamente ( $p \leq 0.05$ ). Cada dato representa el promedio de dos experimentos con tres repeticiones por aislamiento en cada uno.

a, b, c Medias de cada aislamiento o mezcla de aislamientos en una hilera con diferente letra son diferentes significativamente ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>‡</sup> Desviación estándar correspondiente a aislamientos.

<sup>§</sup> Coeficiente de variación correspondiente a aislamientos

SM=moderadamente tolerante; S=susceptible; R=resistente; MR=moderadamente resistentes.

individuales el periodo de latencia fue 10 d; cuando se inocularon con mezclas dos de ellas no tuvieron efecto en el periodo de latencia de los genotipos Don Ernesto INTA y Kauz, pero en la línea THB//IAS20/H567.71 (moderadamente susceptible) hubo un retardo significativo ( $p \leq 0.05$ ) de 2.18 d. Cuando los tres genotipos se inocularon con la mezcla de los tres aislamientos, en todos los casos hubo un retardo significativo en la formación de picnidios inmaduros que, en promedio, fue 2 d en los materiales más susceptibles (Kauz y Don Ernesto INTA) y 8 d en la línea moderadamente susceptible THB//IAS20/H567.71.

En los trigos resistentes inoculados con aislamientos individuales y mezclas de dos, el inicio de la formación de picnidios requirió 12 d, con la excepción de BAGULA (S) y TRAP#1/BOW (MS) que se comportaron como trigos susceptibles y presentaron picnidios inmaduros a los 10 d cuando se inocularon con los aislamientos individuales P9 y P8. Otra excepción fue SUZ6//ALONDRA/PAVON cuyos picnidios inmaduros se observaron a los 18 d. De manera similar a lo ocurrido con los genotipos susceptibles, la inoculación con la mezcla de los tres aislamientos indujo un retraso en la formación de picnidios de 3 a 6 d, excepto en los trigos resistentes LFN//II58.57//PRL/3/HAHN y

of BAGULA (S) and TRAP#1/BOW (MS), which behaved like susceptible wheat and presented immature pycnidia at 10 d when they were inoculated with the individual isolates P9 and P8. Another exception was SUZ6//ALONDRA/PAVON, whose immature pycnidia were observed at 18 d. Similar to what had occurred with the susceptible genotypes, the inoculation with the mixture of the three isolates induced a delay in pycnidia formation of 3 to 6 d, except in the resistant wheat LFN//II58.57//PRL/3/HAHN and MAYOR, where they formed more rapidly, from 12 to 15 d (Table 3).

The formation of immature pycnidia (structures that indicate the finalization of the latent period) was observed rapidly in the susceptible materials (13.91 d) with respect to the resistant materials (18.05 d) (Table 4). Considering the general average (susceptible and resistant), the latent period was 16 d, independently of the individually inoculated isolate when the inoculations were done with the mixture of two isolates a significant delay of 1 d was observed in the formation of pycnidia and of 4 d when the three isolates were combined (Table 4). The latent period was 12 d in the three susceptible genotypes inoculated with individual isolates. The inoculations with mixtures of two isolates did not have a significant effect on the latent period in the varieties

MAYOR, donde se formaron más rápidamente, de 12 a 15 d (Cuadro 3).

La formación de picnidios maduros (estructuras que indican la finalización del periodo latente) se observó rápidamente en los materiales susceptibles (13.91 d) comparado con los materiales resistentes (18.05 d) (Cuadro 4). Considerando el promedio general (susceptibles y resistentes) el período de latencia fue 16 d independientemente del aislamiento inoculado en forma individual; cuando las inoculaciones se realizaron con mezcla de dos aislamientos se observó un retraso significativo de 1 d en la formación de picnidios y de 4 d cuando se combinaron los tres aislamientos (Cuadro 4). El período de latencia fue 12 d en los tres genotipos susceptibles inoculados con aislamientos individuales. Las inoculaciones con mezclas de dos aislamientos no afectaron significativamente el período de latencia en la variedades Don Ernesto Inta y Kauz, pero en la línea THB//IAS20/H567.71 (moderadamente susceptible) hubo un retardo significativo de 6 d. Cuando los genotipos se inocularon con la mezcla de los tres aislamientos el período de latencia se prolongó 6 d en Don Ernesto Inta y Kauz y 8 d en THB//IAS20/H567.71.

En la gran mayoría de las interacciones hospedero-patógeno hubo diferencias significativas en el periodo

Don Ernesto Inta and Kauz, but in the line THB//IAS20/H567.71 (moderately susceptible) there was a significant delay of 6 d. When the genotypes were inoculated with the mixture of the three isolates, the latent period was prolonged by 6 d in Don Ernesto Inta and Kauz and 8 d in THB//IAS20/H567.71.

In the great majority of the host/pathogen interactions, there were significant differences in the latent period: 18 d with individual inoculations and in mixtures of two isolates. The exceptions were the genotypes SUZ6//ALONDRA/PAVON and BAGULA (moderately susceptible) with latency of 22 and 12 d when they were inoculated with P9; and TRAP#1BOW and LFN//II58.57//PRL/3HAHN with 12 and 20.5 d inoculated with P8 (Table 4). Similar to what occurred in the susceptible genotypes, inoculation with the mixture of the three isolates induced a delay of 2 to 6 d, except in LFN//II58.57//PRL/3HAHN and SUZ6//ALONDRA/PAVON where the period of pycnidia formation was significantly shortened (Table 4).

### Density of pycnidia

The number of pycnidia formed in the susceptible and resistant genotypes was always significantly different

**Cuadro 4. Días requeridos para la formación de picnidios maduros en nueve genotipos de trigo inoculados con aislamientos de *Septoria tritici* individuales y en mezclas. Atizapán, Toluca, México en 1995 y 1996.**

**Table 4. Days required for the formation of mature pycnidia in nine wheat genotypes inoculated with individual and combined isolates of *Septoria tritici*. Atizapán, Toluca, México, 1995 and 1996.**

Genotipos	Formación de picnidios inmaduros después de la inoculación							
	Aislamientos							
	P9	P8	B1	P9XP8	P8XB1	P9XB1	P9XP8XB1	MEDIA <sup>†</sup>
THB/IAS20/H567.71 (MS)	12.00 a	12.31 a	11.95 a	17.91 b	18.21 b	18.01 b	20.10 c	15.78 b
DON ERNESTO INTA (S)	12.00 a	12.00 a	12.00 a	12.10 a	12.00 a	12.10 a	18.00 b	12.90 a
KAUZ (S)	12.00 a	12.00 a	12.00 a	13.50 a	12.00 a	12.10 a	18.10 b	13.10 a
Media	12.00 a	12.10 a	11.98 a	14.50 b	14.07 b	14.07 b	18.73 c	13.91 a
TRAP#1/BOW (R)	18.00 b	12.00 a	18.00 b	18.00 b	18.00 b	18.00 b	20.00 c	17.42 c
LFN (R)	18.00 a	20.50 c	18.00 a	18.10 a	18.00 a	18.02 a	18.00 a	18.37 d
Mayoor (R)	18.01 a	18.00 a	18.00 a	18.01 a	18.00 a	18.03 a	20.00 b	18.16 d
KVZ/K4500 (R)	18.10 a	18.00 a	18.00 a	18.15 a	18.10 a	18.00 a	20.00 b	18.33 d
SUZ6//A/P (R)	22.00 c	18.00 a	18.00 a	18.10 a	18.00 a	18.15 a	20.00 b	18.89 d
BAU (MS)	12.00 a	18.00 b	18.00 b	18.00 b	18.00 b	18.00 b	18.00 b	17.14 c
Media	17.68 a	17.41 a	18.00 a	18.06 b	18.01 a	18.03 b	19.33 c	18.05 c
Media de R.Y S.	14.84 a	14.75 a	14.99 a	16.28 b	16.04 b	16.05 b	19.03 c	15.98 a
D.E. <sup>‡</sup>	0.92	0.81	1.80	0.83	0.89	0.89	1.13	
C.V. <sup>§</sup>	0.3	0.2	10.2	3.8	0.3	2.1	1.7	

<sup>†</sup> Medias de genotipos (incluyendo susceptibles y resistentes) con diferente letra son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). Cada dato representa el promedio de dos experimentos con cuatro repeticiones por aislamiento en cada uno.

a, b, c Medias de cada aislamiento o mezcla de aislamientos con diferente letra en una hilera son significativamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>‡</sup> Desviación estándar correspondiente a aislamientos.

<sup>§</sup> Coeficiente de variación correspondiente a aislamientos.

SM=moderadamente tolerante; S=susceptible; R=resistente; MR=moderadamente resistentes.

de latencia: 18 d con inoculaciones individuales y en mezclas de dos aislamientos. Las excepciones fueron los genotipos SUZ6//ALONDRA/PAVON y BAGULA (moderadamente susceptible) con latencia de 22 y 12 d cuando se inocularon con P9; y TRAP#1/BOW y LFN/II58.57//PRL/3/HAHN con 12 y 20.5 d inoculados con P8 (Cuadro 4). Similarmente a lo ocurrido en los genotipos susceptibles, la inoculación con la mezcla de los tres aislamientos indujo un retraso de 2 a 6 d, excepto en LFN/II58.57//PRL/3/HAHN y SUZ6//ALONDRA/PAVON donde se acortó significativamente el período de formación de picnidios (Cuadro 4).

### Densidad de picnidios

El número de picnidios formados en los genotipos susceptibles y resistentes fue siempre significativamente diferente ( $p \leq 0.05$ ) dependiendo del aislamiento individual o mezcla de aislamientos de la inoculación (Cuadro 5). El número de picnidios se redujo 46% en los genotipos resistentes con respecto a los susceptibles; de éstos la línea KAUZ fue la que en promedio presentó la mayor densidad, seguido por DON ERNESTO INTA y THB/IAS20/H567.71. Los materiales resistentes presentaron las menores densidades de picnidios, sin diferencias significativas entre los genotipos KVZ/K4500 y SUZ6//ALONDRA/PAVON con 16.10 y 14.94 picnidios  $0.5 \text{ cm}^{-2}$ ; lo siguieron los cultivares MAYOOR con 20.70 y LFN/1158.57//PRL/3/HAHN y TRAP#1BOW con 27 y 30 picnidios  $0.5 \text{ cm}^{-2}$  de área foliar (Cuadro 5). El promedio de picnidios  $0.5 \text{ cm}^{-2}$  en los materiales susceptibles fue mayor con las inoculaciones hechas con el aislamiento P8 (70.10), seguido de B1 (43.41) y de P9 (27.90). En las inoculaciones con mezclas de dos y tres aislamientos hubo una reducción significativa en el número de picnidios con respecto a las inoculaciones individuales, excepto con el aislamiento P9. En las variedades resistentes el promedio de picnidios  $0.5 \text{ cm}^{-2}$  fue significativamente diferente dependiendo del aislamiento inoculado: más alto con la inoculación del aislamiento B1 (24.57), seguido de P8 (20.10) y de P9 (12.47). Las inoculaciones con mezclas de dos y tres aislamientos no redujeron significativamente el número de picnidios; las únicas dos reducciones significativas en las mezclas ocurrieron al comparar con la inoculación con el aislamiento B1 individual (Cuadro 5).

En concordancia con reportes de Zelicovitch y Eyal (1991) y Eyal (1992), la formación de picnidios inmaduros y maduros ocurrió más rápidamente en los trigos susceptibles en comparación con los resistentes. En materiales resistentes y susceptibles, la inoculación con mezclas de dos aislamientos (independientemente de su combinación) pocas veces retrasó el período de

( $p \leq 0.05$ ) depending on the individual isolate or mixture of isolates of the inoculation (Table 5). The number of pycnidia was reduced by 46% in the resistant genotypes with respect to the susceptible ones; of these, the KAUZ line was the one which on the average presented the highest density, followed by DON ERNESTO INTA and THB/IAS20/H567.71. The resistant materials presented the lowest density of pycnidia, without significant differences between the genotypes KVZ/K4500 and SUZ6//ALONDRA/PAVON with 16.10 and 14.94 pycnidia  $0.5 \text{ cm}^{-2}$ ; followed by the MAYOOR cultivars with 20.70 and LFN/1158.57//PRL/3/HAHN and TRAP#1BOW with 27 and 30 pycnidia  $0.5 \text{ cm}^{-2}$  of foliar area (Table 5). The average of pycnidia  $0.5 \text{ cm}^{-2}$  in the susceptible materials was higher with the inoculations made with the isolate P8 (70.10), followed by B1 (43.41) and P9 (27.90). In the inoculations with mixtures of two and three isolates, there was a significant reduction in the number of pycnidia with respect to the individual inoculations, except with the isolate P9. In the resistant varieties, the average of pycnidia  $0.5 \text{ cm}^{-2}$  was significantly different, depending on the isolate that was inoculated: higher with the inoculation of isolate B1 (24.57), followed by P8 (20.10) and P9 (12.47). The inoculations with mixtures of two and three isolates did not significantly reduce the number of pycnidia; the only two significant reductions in the mixtures occurred when comparing with the inoculation with the individual B1 isolate (Table 5).

Coinciding with reports of Zelicovitch and Eyal (1991) and Eyal (1992), the formation of immature and mature pycnidia occurred more rapidly in the susceptible wheat with respect to the resistant varieties. In resistant and susceptible materials, inoculation with mixtures of two isolates (independently of their combination) rarely delayed the latent period, whereas in two resistant materials SUZ6//ALONDRA/PAVON and LFN/II58.57//PRL/3/HAHN it increased. In contrast, inoculation with the mixture of the three isolates always delayed the appearance of pycnidia in all of the susceptible genotypes and in four resistant genotypes of the six inoculated. These results differ from those reported by Eyal (1992), who always found a reduction of pycnidia density in susceptible and resistant genotypes inoculated in mixtures.

Pycnidia density was also higher in the susceptible genotypes with respect to the resistant ones and the inoculations of mixtures of two or three isolates generally resulted in significant reductions of pycnidia, with respect to the inoculations with individual isolates in the susceptible wheat but not in the resistant varieties. These differences could be explained by competition among isolates (Leyva, 1998).



**Cuadro 5. Densidad de picnidios en nueve genotipos de trigo inoculados con aislamientos de *Septoria tritici* individuales y en mezclas. Atizapán, Toluca, México en 1995 y 1996.**  
**Table 5. Density of pycnidia in nine wheat genotypes inoculated with individual and combined isolates of *Septoria tritici*. Atizapán, Toluca, México, 1995 and 1996.**

Genotipos	Núm. de picnidios 0.5 cm <sup>-2</sup> área foliar							
	Aislamientos							
	P9	P8	B1	P9XP8	P8XB1	P9XB1	P9XP8XB1	MEDIA <sup>†</sup>
THB/IAS20/H567.71 (MS)	24.25 d	58.00 f	10.00 a	12.00 b	12.00 b	29.25 e	16.00 c	23.07 cd
DON ERNESTO INTA (S)	30.20 c	93.00 f	58.25 e	17.50 a	38.75 d	19.25 b	18.50 ab	39.35 f
KAUZ (S)	29.50 b	59.50 e	62.00 g	66.50 f	54.50 d	16.25 a	49.00 c	48.10 g
Media	27.90 b	70.10 e	43.41 d	32.00 c	35.00 c	21.60 a	27.80 b	36.84 c
TRAP#1/BOW (R)	15.50 b	35.50 d	41.52 e	8.20 a	41.50 e	41.51 e	26.00 c	29.96 e
LFN (R)	15.00 b	21.50 c	35.25 d	40.70 e	11.50 a	20.50 c	45.00 f	27.00 d
Mayoor(R)	8.20 a	35.00 e	18.75 c	10.00 b	25.71 d	40.00 f	7.50 a	20.70 c
KVZ/K4500 (R)	10.20 ab	9.75 a	15.00 c	39.25 e	16.20 c	8.25 a	14.50 c	16.16 b
SUZ6//A/P (R)	9.20 a	9.50 a	25.25 e	20.70 d	14.20 c	14.25 c	11.50 b	14.94 b
Bagula (S)	16.75 e	9.75 c	11.70 d	4.25 a	6.75 b	15.75 e	9.50 c	10.60 a
Media	12.47 a	20.10 b	24.57 c	20.50 b	19.31 b	23.30 c	19.00 b	19.80 b
Media de R.Y S.	20.20 a	45.10 e	33.99 d	26.25 c	27.19 c	22.45 b	23.41 b	28.32 c
D.E. <sup>¶</sup>	1.30	1.90	1.02	0.85	2.30	2.25	1.13	
C.V. <sup>§</sup>	5.0	8.4	3.8	4.1	5.8	8.6	13.7	

<sup>†</sup> Medias de genotipos (incluyendo susceptibles y resistentes) con diferente letra son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ). Cada dato representa el promedio de dos experimentos con cuatro repeticiones por aislamiento en cada uno.

a, b, c, d, e, f Medias de cada aislamiento o mezcla de aislamientos con diferente letra en una hilera son estadísticamente diferentes ( $p \leq 0.05$ ).

<sup>¶</sup> Desviación estándar correspondiente a aislamientos.

<sup>§</sup> Coeficiente de variación correspondiente a aislamientos.

SM=moderadamente tolerante; S=susceptible; R=resistente; MR=moderadamente resistentes.

latencia, mientras que en dos materiales resistentes SUZ6//ALONDRA/PAVON y LFN/II58.57//PRL/3/HAHN se incrementó. En contraste, la inoculación con la mezcla de los tres aislamientos siempre retardó la aparición de picnidios en todos los genotipos susceptibles y en cuatro genotipos resistentes de los seis inoculados. Estos resultados difieren de los reportados por Eyal (1992) quien encontró siempre una reducción de densidad de picnidios en genotipos susceptibles y resistentes inoculados en mezclas.

La densidad de picnidios también fue más alta en los genotipos susceptibles en comparación con los resistentes y las inoculaciones de mezclas de dos o tres aislamientos generalmente resultaron en reducciones significativas de picnidios, con respecto a las inoculaciones con aislamientos individuales en los trigos susceptibles pero no en los resistentes. Tales diferencias podrían explicarse por competencia entre aislamientos (Leyva, 1998).

### Severidad de la enfermedad

Los síntomas en las variedades susceptibles fueron lesiones cloróticas que cambiaron a necróticas, con picnidios dispersos en toda la lesión. En los genotipos

### Severity of the disease

The symptoms in the susceptible varieties were chlorotic lesions that became necrotic, with pycnidia dispersed throughout the lesion. In the resistant genotypes, the type and size of the lesion was different, manifesting light brown rectangular lesions that changes to yellowish brown. In the susceptible genotypes KAUZ and DON ERNESTO INTA, 100% necrosis was produced, which represented damage in the flag leaf and in the spike. In the resistant genotypes TRAP#1/BOW and SUZ6//ALONDRA/PAVON, the degrees of severity were significantly lower compared with the susceptible varieties.

The susceptible genotypes presented the highest severity in the disease (ABCPE), because there was a more rapid formation of pycnidia and with a higher density. In concordance with the results of latent period and pycnidia density, the inoculation with mixtures of two or three isolates reduced severity in the susceptible genotypes. However, in the resistant materials the inoculations with mixtures did not always cause significant reductions. The exception was SUZ6//ALONDRA/PAVON, where inoculation with mixtures did not delay the formation of pycnidia, or the delay

resistentes el tipo y tamaño de la lesión fue diferente manifestando lesiones rectangulares café claro que cambiaron a café amarillento. En los genotipos susceptibles KAUZ y DON ERNESTO INTA se produjo 100% de necrosis lo que significó daño en hoja bandera y en espiga. En los genotipos resistentes TRAP#1/BOW y SUZ6//ALONDRA/PAVON los grados de severidad fueron significativamente más bajos en comparación con las variedades susceptibles.

Los genotipos susceptibles presentaron la mayor severidad en la enfermedad (ABCPE), porque hubo una formación más rápida de picnidios y con una densidad más alta. En concordancia con los resultados de período de latencia y densidad de picnidios la inoculación con mezclas de dos y tres aislamientos redujo la severidad en los genotipos susceptibles. Sin embargo, en los materiales resistentes las inoculaciones con mezclas no siempre causaron reducciones significativas. La excepción fue SUZ6//ALONDRA/PAVON, donde la inoculación con mezclas no retrasó la formación de picnidios o el retraso fue mínimo (sólo 2 d; en los materiales susceptibles fue 6 y 8 d). Más aún, las inoculaciones con mezclas en estos genotipos generalmente no redujeron significativamente la densidad de picnidios. Estos resultados sugieren que la competencia entre aislamientos, en inoculaciones con mezcla de ellos, no fue tan fuerte como la observada en genotipos susceptibles. Zelicovitch y Eyal (1991) consideran que en materiales susceptibles inoculados con mezclas de aislamientos, la producción de sustancias que inhiben la formación de picnidios es mayor que en los resistentes también inoculados con la mezcla de estos aislamientos. La sustancia responsable de esta inhibición, producida por el mismo hongo, se identificó como metil-3-indol carboxilato (Zelicovitch *et al.*, 1992).

Los análisis de varianza en los dos experimentos (1995 y 1996) indicaron que el aislamiento, el cultivar y la interacción aislamiento-cultivar tuvieron un efecto altamente significativo (Cuadro 6). En los genotipos susceptibles y en los resistentes el grado de daño (ABCPE) fue siempre diferente dependiendo del aislamiento individual o mezcla con que fueron inoculados (Cuadro 7). El ABCPE fue mayor en los genotipos susceptibles (303.10) comparados con los resistentes (235.90) donde la reducción fue 22%. En los materiales susceptibles el daño inducido (ABCPE) por los aislamientos individuales P8 y B1 fue significativamente más alto que el inducido por las inoculaciones con la mezcla P8xB1; lo mismo se observó en el genotipo resistente SUZ6//ALONDRA/PAVON.

El ABCPE promedio en los materiales susceptibles no fue mayor al inoculado con el aislamiento B1 (329.16), seguido de P8 (320.80) y de P9 (317.46), con diferencias significativas entre ellos. El daño se

was minimal (only 2 d; in the susceptible materials it was 6 and 8 d). In addition, the inoculations with mixtures in these genotypes generally did not significantly reduce pycnidia density. These results suggest that the competition among isolates, in inoculations with mixture of them, was not as strong as what was observed in susceptible genotypes. Zelicovitch and Eyal (1991) consider that in susceptible materials inoculated with mixtures of isolates, the production of substances that inhibit the formation of pycnidia is higher than in the resistant varieties also inoculated with the mixture of these isolates. The substance responsible for this inhibition, produced by the same fungus, was identified as methyl-3-indol carboxylate (Zelicovitch *et al.*, 1992).

The analysis of variance in the two experiments (1995 and 1996) indicated that the isolate, the cultivar and the interaction isolate-cultivar had a highly significant effect (Table 6). In the susceptible genotypes and in the resistant ones, the degree of damage (ABCPE) was always different depending on the individual isolate or mixture with which they were inoculated (Table 7). The ABCPE was higher in the susceptible genotypes (303.10) with respect to the resistant ones (235.90) where the reduction was 22%. In the susceptible materials the damage induced (ABCPE) by the individual isolates P8 and P9 was significantly higher than that induced by the inoculations with the mixture P8xB1; the same was observed in the resistant genotype SUZ6//ALONDRA/PAVON.

The average ABCPE in the susceptible materials was not higher than that inoculated with isolate B1 (329.16), followed by P8 (320.80) and P9 (317.46), showing significant differences among them. The damage was significantly reduced in genotypes inoculated with mixtures of the two isolates and the reduction was higher when inoculated with the mixture of the three isolates in the susceptible materials. Among the resistant wheat varieties, there were significant differences in the ABCPE; the highest average of severity was induced by the isolate B1 (235.40), followed by P8 (223.93) and P9 (208.91). In most of the inoculations with mixtures of two and three isolates, there was a significant reduction of severity; however, in cultivars SUZ6//ALONDRA/PAVON and BAGULA, these reductions were more frequent (Table 7).

In the genotypes TRAP#1BOW, MAYOOR and KVZ/K4500, the severity caused by the mixture P9xB1 was moderate, compared with the individual components that form the inoculated mixture. In the cultivar LFN/II58.57//PRL/3/HAHN, the severity of the disease was not reduced, but rather increased significantly when inoculated with the mixture P9xB1.

**Cuadro 6. Análisis de varianza de la severidad (expresada como área bajo la curva del progreso de la enfermedad, ABCPE) en nueve genotipos de trigo inoculados con aislamientos de *Septoria tritici* individuales y en mezclas. Atizapán, Toluca, México en 1995 y 1996.**

**Table 6. Analysis of variance of the severity (expressed as area below the progress curve, ABCPE) of the disease in nine wheat genotypes inoculated with individual and combined isolates of *Septoria tritici*. Atizapán, Toluca, México, 1995 and 1996.**

Fuentes de variación	1995		1996	
	GL	CM	GL	CM
Repetición	3	1591.66	3	748.54
Aislamiento	6	6357.14 <sup>†</sup>	6	4538.52 <sup>†</sup>
Cultivar	8	59170.3 <sup>†</sup>	8	75678.2 <sup>†</sup>
Aislamiento x Cultivar	48	728.23 <sup>†</sup>	48	989.56 <sup>†</sup>
Error	168	2559.92	168	2525.70
	CV = 6.8		CV = 7.5	

<sup>†</sup> p ≤ 0.01.

Para demostrar que el coeficiente de variación no fue diferente, se presentaron los datos separados de 1995 y 1996.

**Cuadro 7. Severidad de la enfermedad (expresada como área bajo la curva del progreso de la enfermedad, ABCPE) en nueve genotipos de trigo inoculados con aislamientos de *Septoria tritici* individuales y en mezclas. Atizapán, Toluca, México en 1995 y 1996.**

**Table 7. Severity of the disease (expressed as area below the disease progress curve, ABCPE) in nine wheat genotypes inoculated with individual and combined isolates of *Septoria tritici*. Atizapán, Toluca, México, 1995 and 1996.**

Genotipos	A B C P E							
	Aislamientos							
	P9	P8	B1	P9XP8	P8XB1	P9XB1	P9XP8XB1	MEDIA <sup>†</sup>
THB/IAS20/H567.71 (MS)	323.70 c	338.7 e	332.50 d	322.50 c	303.70 b	302.50 b	286.20 a	315.68 e
DON ERNESTO INTA (S)	305.00 e	308.70 f	325.00 g	271.20 b	293.70 d	275.00 c	250.00 a	289.80 d
KAUZ (S)	323.70 e	315.00 d	330.00 f	302.50 c	302.50 c	280.00 b	273.70 a	303.91 e
Media	317.46 c	320.80 c	329.16 d	298.73 b	299.96 b	285.83 b	269.96 a	303.10 b
TRAP#1/BOW (R)	176.20 b	187.50 e	207.50 f	181.20 c	171.20 a	180.00 c	183.70 cd	183.90 a
LFN (R)	176.20 a	213.70 c	222.50 e	196.20 b	235.00 g	217.50 d	227.50 f	212.65 b
Mayoor (R)	226.20 b	232.50 c	218.70 a	238.70 d	236.20 d	227.50 b	232.50 c	230.32 c
KVZ/K4500 (R)	200.00 a	221.20 ab	256.20 e	218.70 a	232.50 c	236.20 d	235.00 d	228.54 b
SUZ6//A/P (R)	191.20 d	191.20 d	207.50 e	190.00 d	170.00 c	156.20 b	140.00 a	178.01 a
Bagula (S)	283.70 c	297.50 e	300.00 f	268.70 a	285.00 cd	285.00 cd	261.20 a	283.01 d
Media	208.91 a	223.93 c	235.40 d	215.58 b	221.65 c	217.06 b	213.31 b	235.90 d
Media de R.Y S.	263.10 d	272.40 e	272.28 e	257.10 c	260.80 c	251.40 b	241.50 a	269.54 e
D.E. <sup>‡</sup>	16.00	28.20	18.90	22.1	13.90	12.44	13.96	
C.V. <sup>§</sup>	6.5	11.5	7.1	9.1	5.6	5.1	6.0	

<sup>†</sup> Medias de genotipos (incluyendo susceptibles y resistentes) con diferente letra son significativamente diferentes (p ≤ 0.05). Cada dato representa el promedio de dos experimentos con cuatro repeticiones por aislamiento en cada uno.

a, b, c, d, e Medias de cada aislamiento o mezcla de aislamientos con diferente letra en una hilera son significativamente diferentes (p ≤ 0.05).

<sup>‡</sup> Desviación estándar correspondiente a aislamientos.

<sup>§</sup> Coeficiente de variación correspondiente a aislamientos.

SM = moderadamente tolerante; S = susceptible; R = resistente; MR = moderadamente resistentes.

redujo significativamente en genotipos inoculados con mezclas de los dos aislamientos y la reducción fue mayor al inocular con la mezcla de los tres aislamientos en los materiales susceptibles. Entre las variedades de trigo resistentes hubo diferencias significativas en el ABCPE; el mayor promedio de severidad fue inducido por el aislamiento B1 (235.40), seguido de P8 (223.93) y P9 (208.91). En la mayoría de las

When inoculating with the mixture of the three isolates, the tendency varied according to the genotype inoculated; in the susceptible material KAUZ, the severity was significantly lower compared to the individual inoculations. In contrast, in the genotype LFN/II58.57//PRL/3/HAHN, the damage was more severe with the mixture of the three isolates with respect to the isolates inoculated individually. In TRAP#1/

inoculaciones con mezclas de dos y tres aislamientos hubo una reducción significativa de la severidad; sin embargo, en los cultivares SUZ6//ALONDRA/PAVON y BAGULA estas reducciones fueron más frecuentes (Cuadro 7).

En los genotipos TRAP#1/BOW, MAYOOR y KVZ/K4500 la severidad ocasionada por la mezcla P9xB1 fue intermedia, comparada con los componentes individuales que forman la mezcla inoculada. En el cultivar LFN/II58.57//PRL/3/HAHN la severidad de la enfermedad no disminuyó sino que aumentó significativamente al inocularse con la mezcla P9xB1.

Al inocular con la mezcla de los tres aislamientos la tendencia varió según el genotipo inoculado; en el material susceptible KAUZ la severidad fue significativamente menor comparada con las inoculaciones individuales. Por el contrario, en el genotipo LFN/II58.57//PRL/3/HAHN el daño fue más severo con la mezcla de los tres aislamientos comparado con los aislamientos inoculados individualmente. En TRAP#1/BOW el ABCPE fue significativamente más baja al inocular la mezcla de los tres aislamientos que las inoculaciones individuales P8 y B1, pero significativamente más alta al inocular el aislamiento individual P9.

Los cambios inducidos en la severidad de la enfermedad con la inoculación con mezclas de aislamientos indican cambios en los patrones de agresividad de los aislamientos, sobretodo en los genotipos susceptibles. Tales cambios han sido señalados por Eyal (1992), Gilchrist y Velázquez. (1994) y Arama (1996). El aislamiento P8 estimuló la formación de la mayor densidad de picnidios en los materiales susceptibles mientras que en los resistentes fue el B1; además en los materiales susceptibles y en los resistentes la mayor severidad la indujo B1 seguido de P8. Según Leyva (1998), estos aislamientos se encontraron en mayor proporción.

La interacción genotipo-aislamientos fue evidenciada por los resultados obtenidos en el período de latencia y densidad de picnidios. La magnitud y tipo de modificación en el período latente (retraso o acortamiento) y la magnitud de la reducción en la densidad de picnidios, está en gran medida determinada por la interacción entre cada genotipo de trigo con cada aislamiento individual, así como por la interacción entre aislamientos en mezclas. De ahí las diferencias del comportamiento de los genotipos susceptibles y resistentes a las inoculaciones con aislamientos individuales y en mezclas. Pero hay controversia en los resultados respecto al efecto de mezclas de aislamientos de *S. tritici* en diferente germoplasma (Arama, 1996; Gilchrist y Velázquez, 1994; Eyal, 1992).

Los resultados de nuestro estudio evidenciaron la variación patogénica entre aislamientos de *S. tritici* y

BOW, the ABCPE was significantly lower when inoculated with the mixture of the three isolates than with individual inoculations P8 and B1, but significantly higher when inoculated with the individual isolate P9.

The changes induced in the severity of the disease with the inoculation of mixtures of isolates indicate changes in the patterns of aggressiveness of the isolates, especially in the susceptible genotypes. These changes have been pointed out by Eyal (1992). Gilchrist and Velázquez (1994) and Arama (1996). The isolate P8 stimulated the formation of the highest density of pycnidia in the susceptible materials, whereas in the resistant materials it was B1; and in the susceptible materials and in the resistant ones the highest severity was induced by B1 followed by P8. According to Leyva (1998), these isolates were found in higher proportion.

The interaction genotype-isolates was made evident by the results obtained in the latent period and pycnidia density. The magnitude and type of modification in the latent period (delay or shortening) and the magnitude of the reduction in pycnidia density, is largely determined by the interaction between each wheat genotype with each individual isolate, as well as by the interaction among isolates in mixtures. Thus, there are differences of behavior of the susceptible and resistant genotypes to the inoculations with individual and mixed isolates. However, there is controversy in the results with respect to the effect of mixtures of isolates of *S. tritici* in different germplasm (Arama, 1996; Gilchrist and Velázquez, 1994; Eyal, 1992).

Results of our research showed the pathogenic variation among isolates of *S. tritici* and the competition among them in inoculations with mixtures of isolates. Furthermore, they indicated that the inoculation with mixtures, especially of the three isolates, increased the latent period, and reduced the density of pycnidia along with the severity of the disease in the susceptible genotypes and in some of the resistant ones. In the resistant genotype LFN/II58.57//PRL/3/HAHN, the severity of the disease increased with respect to some of the individual isolates, coinciding with the results mentioned by Gilchrist and Velázquez (1994).

The knowledge that inoculations with determined mixtures of isolates of *S. tritici* result in a significant reduction of the severity of the disease, could be used as a strategy of biological control in susceptible materials that are highly valued for their yield or grain quality. First it would be necessary to select the least virulent isolates and their most effective combinations in order to reduce the disease in these genotypes.



la competencia entre ellos en inoculaciones con mezclas de aislamientos. Además, que la inoculación con mezclas, sobre todo de los tres aislamientos, aumentó el período de latencia, y redujo la densidad de picnidios como la severidad de la enfermedad en los genotipos susceptibles y en algunos resistentes. En el genotipo resistente LFN/II58.57//PRL/3/HAHN aumentó la severidad de la enfermedad con respecto a alguno de los aislamientos individuales, coincidiendo con los resultados mencionados por Gilchrist y Velázquez (1994).

Conocer que las inoculaciones con determinadas mezclas de aislamientos de *S. tritici* resultan en una reducción significativa de la severidad de la enfermedad, podría usarse como una estrategia de control biológico en materiales de trigo susceptibles altamente apreciados por su rendimiento o calidad de grano. Primero habría que seleccionar los aislamientos menos virulentos y sus combinaciones más efectivas para reducir la enfermedad en esos genotipos.

### CONCLUSIONES

*S. tritici* evidenció la presencia de variación patogénica en aislamientos, además de una competencia entre ellos en inoculaciones con mezclas de aislamientos.

Al realizar inoculaciones en mezclas sobre todo de los tres aislamientos aumentó el periodo de latencia, se redujo la densidad de picnidios así como la severidad de la enfermedad en los genotipos susceptibles y en algunos resistentes.

En los programas de mejoramiento se debe reconsiderar el uso de inoculaciones con mezclas de aislamientos.

### LITERATURA CITADA

- Arama, F. P. 1996. Effects of cultivar isolates and environment on resistance of wheat to *Septoria tritici* in Kenya. Philosopher Doctor Thesis. Wageningen Agricultural University Holanda. 115 p.
- Eyal, Z. 1992. The response of field-inoculated wheat cultivars to mixtures of *Septoria tritici* isolates. *Euphytica* 61: 25-32.
- Eyal, Z., and M.B. Brown. 1976. A quantitative method for estimating density of *Septoria tritici* pycnidia on wheat leaves. *Phytopathology* 66:11-14.
- Eyal, Z., A.L. Scharen, J.M. Prescott, and M. Van Ginkel. 1987. The *Septoria* Diseases of Wheat: Concepts and Methods of Disease Management. International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT), Mexico, D.F. 52 p.
- Gilchrist, S.L., and C. Velazquez. 1994. Interaction *Septoria tritici* isolate-wheat as adult plant under field condition. *In: Arseniuk E., T. Goral, and P. Czembor* (eds). Proceedings of the 4th

### CONCLUSIONS

*S. tritici* evinced the presence of pathogenic variation in isolates, along with a competition among these isolates in inoculations with isolate mixtures.

When inoculations were made in mixtures, especially of the three isolates, the latent period was increased, the density of pycnidia was reduced, as well as the severity of the disease in susceptible genotypes and in some resistant ones.

The use of inoculations with isolate mixtures should be reconsidered in breeding programs.

End of the English version—



- International Workshop on: *Septoria* of Cereals. July 4-7, 1994, IHAR Radzikow, Poland. pp: 111-114.
- Gómez, B.L., y R. M. González. 1990. Mejoramiento genético de trigos harineros para resistencia a *Septoria tritici* en el área de temporal húmedo en México. *In: Kohll, M. M. y. L. T. Van Beuningen.* (eds) 1990. Conferencia regional sobre septoriosis de trigo. México, D.F. CIMMYT. pp: 42-58.
- Jlibeene M., and F. E. Bouami 1995. inheritance of partial resistance to *Septoria tritici* hexaploid wheat (*Triticum aestivum*). *In: Gilchrist S., L., M. van Ginkel, A. McNab, and G.H.J. Kema.* (eds). Proceedings of a *Septoria tritici* Workshop. CIMMYT, México, D.F. pp: 117-126.
- Leyva, M.G. 1998. Determinación de la competencia entre aislamientos solos y en mezclas de *Septoria tritici* Rob. ex. Desm. inoculados en diferentes genotipos de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) mediante fragmentos de restricción del ADN. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Méx. pp: 14-37
- Martínez, G. A. 1988. Diseños Experimentales. Editorial Trillas. México, D.F. 180 p.
- Mckendry, A. L., and G. E. Henke. 1994. Evaluation of wheat wild relatives for resistance to *Septoria tritici* blotch. *Crop Sci.* 34: 1080-1084.
- Pandey, H., T.C. Menon., and M.R. Rao. 1989. A simple formula for calculating area under a disease progress curve. *Rachis* 8:2:38-39.
- Smirnova, L. A., G. V. Pyzhikova, and L. N. Nazarova. 1990. Epiphytotic aspects of selecting forms of wheat with different types of resistance to rust and *Septoria*. *Selektsiya Semenovodstvo Moskva* 2: 9. (Abstract).
- Tottman, D.R., and R. J. Makepeace. 1979. An explanation of the decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *Ann. Appl. Biol.* 93:221-234.
- Zelikovithc, 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.
- Zelikovithc, N., F. Levy, and Z. Eyal, 1986. The effects of mixtures of *Mycosphaerella graminicola* isolates on the expression of symptoms on wheat seedling leaves. *Phytopathology* 76:1061.
- Zelikovithc, N., Z. Eyal, and Y. Kashmany. 1992. Isolation purification and biological activity of an inhibitor from *Septoria tritici*. *Phytopathology* 82:375-378.