

Wheat spot blotch fungus

Population structure and epidemiological impact in the rice - wheat cropping sequence in Nepal

Doctoral Thesis

Author(s):

Ruckstuhl, Markus

Publication date:

1997

Permanent link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-001920925>

Rights / license:

In Copyright - Non-Commercial Use Permitted

**WHEAT SPOT BLOTCH FUNGUS:
POPULATION STRUCTURE AND EPIDEMIOLOGICAL IMPACT
IN THE RICE - WHEAT CROPPING SEQUENCE IN NEPAL**



A dissertation submitted to the
**SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY,
ZÜRICH, SWITZERLAND**

for the degree of
DOCTOR OF NATURAL SCIENCE

presented by

MARKUS RUCKSTUHL

Dipl. Natw. ETH
born July 12, 1962
citizen of Bischofszell, Braunau, Münchwilen (TG)

accepted on the recommendation of
Prof. Dr. M.S. Wolfe, examiner
Prof. Dr. P. Stamp, co-examiner
Prof. Dr. H. Maraïte, co-examiner

1997

ABSTRACT

RICE-WHEAT CROPPING SEQUENCE. South Asia's food supply is mainly met by rice and wheat, which together account for 90% of the total cereal production. The production of the two cereals in close sequence on the same field is one of the most important crop rotation systems practised on the South Asian Subcontinent, both agro-ecologically and socio-economically. The area under continuous rice-wheat (RW) crop rotation has spread rapidly throughout the region in the early days of the Green Revolution, and covers now a total of 12 million hectares. RW production sites expand along the Indo-Gangetic and Brahmaputra flood plains from the Tropic of Cancer in the South to the range of the Himalayan-Hindukusch foothills in the North.

SUSTAINABILITY PROBLEMS. After its geographic expansion, the cropping system was intensified and has now a well-deserved reputation for its potential for high productivity. However, recent studies confirm impressions expressed by farmers who observed strong evidence not only for a creeping reduction in input efficiency, but for an actual yield decline of this multiple-cereal cropping system, particularly in high-input situations.

RESEARCH OBJECTIVES. The study presented here deals with questions on epidemiology and population structure of *Bipolaris sorokiniana* (teleomorph *Cochliobolus sativus*), the fungal organism causing spot blotch, common root rot, and black kernel disease of wheat and barley. In the subtropical Terai belt of Nepal, *B. sorokiniana* was identified as the predominant agent of a foliar pathogen complex of wheat, hereafter referred to as *Helminthosporium* leaf blight (HLB).

EPIDEMIOLOGICAL STUDIES IN NEPAL

FIELD EXPERIMENTS CONDUCTED IN NEPAL. The objectives of the field trials conducted at Bhairahawa, Nepal, were twofold: Firstly, to estimate actual wheat yield losses in the Rupandehi district caused by both the foliar and the root stage of *B. sorokiniana*, and secondly, to check the effect of various crop management tools on both HLB severity and performance of the two cereal crops in the RW rotation.

YIELD LOSSES. Chemical disease control in farmers' fields revealed average grain yield losses of 10.7% or roughly 250 kg ha⁻¹ caused by HLB infection. 15 to 25% of the flagleaf area was blighted at early dough stage. Thousand grain weight was the yield component mainly affected, with a reduction of 4% on average over all sites.

In a rice-wheat system approach, soil solarisation with clear polyethylene sheets was used to determine potential yield gains associated with improved root health and increased growth response. Solarisation employed before rice transplanting in the hot pre-monsoon season, increased rice yield by 32% from 4.2 t ha⁻¹ to 5.5 t ha⁻¹. The effect was further carried over into the wheat season, where an increase in grain yield of 15% in HLB-infected and of 25% in disease-free plots was found. Solarisation enhanced plant stand of the wheat crop, and the boost in plant height expressed an improved overall plant vigour, while root rot infection caused by *B. sorokiniana*, several *Fusarium* spp. and *Pythium* spp. was reduced significantly.

CROP MANAGEMENT TOOLS. An increase of balanced inorganic fertiliser up to 270:135:77.5 N:P₂O₅:K₂O kg ha⁻¹yr⁻¹ resulted in an increase of total rice and wheat grain yield from 5.85 t ha⁻¹ to 9.15 t ha⁻¹ or about 53% compared to crops fertilised with farmers traditional inputs. The improved nutritional status of the wheat crop reduced the HLB infection significantly. The use of farm yard manure and the application of deep tillage did not result in higher net returns. The wheat crop under surface seeding, a zero-tillage technique developed primarily for low lying, poorly drained fields, behaved as well as the conventionally seeded crop under high-input conditions, but experienced a significant crop loss of 15% under low-input management.

POPULATION STUDIES WITH *B. SOROKINIANA*

To study the population structure of *B. sorokiniana*, genetic marker systems were employed. It was expected that basic information on the amount and distribution of genetic variability in the pathogen collection would be of practical use for the design of resistance breeding schemes. Genetic data were further analysed in order to detect population sub-structuring, gene flow among regional populations, and evidence for the prevalent mode of recombination.

799 *B. sorokiniana* isolates were collected from four major wheat producing areas located in Bolivia, Canada, Nepal, and Switzerland, and compared to a population originating from a cereal breeding site in Poza Rica, Mexico, where wheat is not grown commercially in the surrounding area. Individual isolates were characterised for the presence of neutral polymorphic DNA markers, that were obtained by randomly amplifying the fungal genome with the polymerase chain reaction technique (RAPD-PCR).

GENE DIVERSITY. Allelic variation in populations was expressed by the measure of total gene diversity, that can further be partitioned among its contributors from different hierarchical sampling levels. The mean total gene diversity H_T for seventeen loci tested across eleven field populations was relatively high (0.39). Hierarchical analysis revealed that across all loci, 14% of the total gene diversity was allocated to variation among regions, 3% to variation among fields within regions, and 83% to variation within fields.

GENETIC DISTANCES. Field populations clustered strictly according to their geographic origin based on a multi-dimensional rescaling procedure (MDS), to which Nei's measure of genetic distance D were subjected. However, estimates of gene flow suggest a limited genetic exchange even among populations of different continents which prevents a stronger subdivision of the pathogen population. Although these latter findings exclude the complete isolation and therefore genetic separation of the populations, it is strongly suggested that selection procedures are applied that include early exposure of breeding material to a broad range of fungal diversity in order to recognise locally effective resistance sources.

MODE OF REPRODUCTION. Statistical methods indicated that most field populations were characterised by a majority of marker pairs in gametic equilibrium, and a genotypic diversity G not different from a mean estimate of genotypic diversity of 1000 simulated populations bootstrapped under the assumption of random sexual recombination. These findings are obviously contradictory to the apparent absence of the perfect stage of *B. sorokiniana* in the field, and may be one of several interesting topics that evolved from the presented results.

CHALLENGE FOR AGRICULTURE PRODUCTION

The regions' farming society is challenged by a continuous growth in food demand, which has to be satisfied by production increases obtained from land already under cultivation, because arable land reserves are almost completely exhausted.

Experiments presented here detected a yield potential of the RW cropping sequence of 9.7 t ha⁻¹ with and of 9.2 t ha⁻¹ without fungicide protection of the wheat crop. In the Terai belt of Nepal, these yield levels could be achieved with little changes to the traditional crop management practices if the current modest fertiliser inputs in the system were just doubled, but an input-based system intensification is not likely to be sustainable. A partial diversification of the cropping system, regular input of farm yard manure, and the employment of germplasm selected to cope with specific system requirements, seem to be important prerequisites to ensure long-term sustainability of the RW sequence. Obviously, there is scope for increasing production, but progress is only to be expected if agriculture research bodies intensify their innovations in terms of system- rather than commodity-orientated solutions.

ZUSAMMENFASSUNG

REIS-WEIZEN FRUCHTFOLGE. Die Nahrungsmittelversorgung in Südasien stützt sich vor allem auf Reis und Weizen, welche zusammen über 90% der örtlichen Getreideproduktion ausmachen. Sowohl aus agro-ökologischer wie auch aus sozio-ökonomischer Sicht ist der Anbau der beiden Getreidearten innerhalb einer engen Fruchtfolge eines der wichtigsten Produktionssysteme auf dem südasiatischen Subkontinent. Die Anbaufläche unter kontinuierlicher Reis-Weizen (RW) Fruchtfolge dehnte sich in den ersten Jahren der Grünen Revolution sehr schnell aus und erstreckt sich heute über insgesamt 12 Mio Hektaren. Die RW Anbauggebiete befinden sich in den Flussebenen des Indus, Ganges und Brahmaputra und erstrecken sich in Süd-Nord Ausrichtung vom nördlichen Wendekreis bis in die Hügelzone des Himalaya-Hindukusch Massivs.

PROBLEM DER NACHHALTIGKEIT. Mit einiger Verzögerung wurde die Bewirtschaftung dieses Anbausystems derart intensiviert, dass es heute als eine der produktivsten Fruchtfolgen gilt. Verschiedene neuere Studien erbringen nun aber die wissenschaftliche Bestätigung für einen schleichenden Verlust der Effizienz von Einträgen in die Landwirtschaft oder gar für einen Rückgang der Ertragslage.

FORSCHUNGSZIELE. Die hier vorliegende Arbeit präsentiert Ergebnisse von epidemiologischen und populationsgenetischen Untersuchungen an *Bipolaris sorokiniana* (Teleomorph *Cochliobolus sativus*). Dieser Pathogen wurde im subtropischen Terai Gürtel von Nepal als der wichtigste Organismus einer Gruppe von Krankheitserreger identifiziert, die nicht zu unterscheidende Blattflecken auf Weizen hervorrufen. Diese Symptome werden nachstehend unter *Helminthosporium* Blattflecken (HLB) zusammengefasst. Im weiteren verursacht *B. sorokiniana* Fusskrankheiten von Weizen und schwarze Verfärbungen auf dem Korn.

EPIDEMIOLOGISCHE UNTERSUCHUNGEN IN NEPAL

VERSUCHSFRAGEN. Feldversuche in Bhairahawa, Nepal, wurden zur Beantwortung von zwei Fragenkomplexen geplant. Zum einen sollten Ertragsverluste geschätzt werden, die im kommerziellen Weizenanbau durch die HLB Blattflecken und diverse Erreger von Wurzelverbräunungen verursacht werden. Zweitens sollte der Effekt von verschiedenen Techniken der Bewirtschaftung im RW Anbau auf die Entwicklung der HLB Infektion und auf die Ertragslage von Reis und Weizen untersucht werden.

ERTRAGSEINBUSSEN. Krankheitskontrolle in Praxisversuchen durch Fungizideinsatz ergab einen durchschnittlichen Körnerertragsverlust von 10.7% oder ungefähr 250 kg ha⁻¹, verursacht durch eine Infektion des Fahnenblattes von 15-25% zur Zeit der frühen Teigreife. Die Ertragseinbusse war hauptsächlich auf eine durchschnittlichen Verminderung des Tausend-Korn-Gewichtes von 4% zurückzuführen.

Durch das Legen von Plastikmulch mit durchsichtigen Polyethylen Folien (Solarisierung) vor der Reissaat wurden Ertragsgewinne dank eines verbesserten Gesundheitszustand des Wurzelsystems erzielt und eine allgemeine Wachstumsförderung der Pflanzen erreicht. Solarisierung in den heissen Monaten vor dem Start der Monsun Regenfälle erhöhte die Reiserträge um 32% von 4.2 t ha⁻¹ auf 5.5 t ha⁻¹. Ein Langzeiteffekt der Solarisierung auf die anschließende Weizenkultur und entsprechende Ertragssteigerungen von 15% in HLB-infizierten und von 25% in HLB-freien Beständen konnte gemessen werden.

ANBAUMETHODEN. Eine Erhöhung des Eintrags von anorganischem Dünger auf 270:135:77.5 N:P₂O₅:K₂O kg ha⁻¹ im Vergleich zu Parzellen, die mit herkömmlichen Aufwandmengen gedüngt worden sind, führte zu einer Steigerung des Totalertrags von Reis und Weizen um 53% von 5.85 t ha⁻¹ auf 9.15 t ha⁻¹. Eine verbesserte Nährstoffversorgung des Weizens reduzierte insbesondere den HLB Befall massiv. Die Verwendung von Hofdünger und Tiefenpflug beeinflusste die Ertragslage nur unwesentlich. Weiter konnte gezeigt werden, dass Weizen bei ausreichender Nährstoffversorgung in bodenschonender Weise ohne zeitraubenden Pflugeinsatz auf die gesättigte Bodenoberfläche gesät werden kann, ohne dass dabei signifikante Ertragseinbussen zu gewärtigen sind.

POPULATIONSTUDIEN AN *B. SOROKINIANA*

Zur Untersuchung der Populationsstruktur von *B. sorokiniana* wurde ein genetisches Markersystem aufgebaut, mit dessen Hilfe grundlegende Informationen über die Verteilung der genetischen Variabilität in der Pathogenpopulation erhoben wurden, die zu Empfehlungen für ein Konzept zur Resistenzzüchtung verwendet werden könnten. 799 Isolate von *B. sorokiniana* wurden aus vier Weizenanbaugebieten in Bolivien, Canada, Nepal und der Schweiz gesammelt und mit einer Population verglichen, die aus einer Forschungsstation in Poza Rica, Mexico, stammt, wo Weizen im grösseren Umkreis kommerziell nicht angebaut wird. Isolate wurden durch die Präsenz von neutralen DNA Markern charakterisiert, die nach der Amplifikation des Pilzgenoms durch die Polymerase Kettenreaktion angefärbt worden sind (RAPD-PCR).

GENDIVERSITÄT. Die Variabilität von Frequenzen einzelner Marker in Populationen kann durch das Mass der Gendiversität ("*gene diversity*") ausgedrückt werden. Die totale Gendiversität H_t der Isolatesammlung von 11 Feldpopulationen, gemessen mit 17 Markern war mit 78% der maximal erreichbaren Diversität recht hoch und setzte sich wie folgt aus den Diversitäten verschiedener hierarchischer Stufen zusammen: 14% der totalen Variabilität konnten genetischen Unterschieden zwischen den Regionen zugewiesen werden, aber nur rund 3% Unterschieden zwischen Populationen in der gleichen Region. Damit verblieben 83% der Gendiversität einer weltweiten Sammlung von *B. sorokiniana* Isolaten in der kleinsten Einheit von Feldpopulationen.

GENETISCHE DISTANZEN ZWISCHEN POPULATIONEN. Mit Hilfe einer multidimensionalen Restrukturierungsanalyse ("*MDS*") konnten Nei's genetische Distanzen zwischen Feldpopulationen graphisch dargestellt werden, wobei sich Populationen gleichen geografischen Ursprungs auch bei Anwendung eines genetischen Massstab zusammenscharten. Schätzungen über die Häufigkeit genetischen Austausches ergaben einen begrenzten Genfluss ("*gene flow*") selbst zwischen Populationen verschiedener Kontinente. Auch wenn diese Beobachtung die vollständige Isolation und genetische Differenzierung von Populationen ausschliesst, wird hier ein Selektionsverfahren vorgeschlagen, das früh im Züchtungsprozedere Schritte einplant, bei denen das selektierte Material einer möglichst diversen Pilzpopulation ausgesetzt wird, um lokal wirksame Resistenzen zu erkennen.

GENETISCHE REKOMBINATION. Die statistische Auswertung von Markerkombinationen ("*multilocus genotypes*") ergab genotypische Diversitäten G ("*genotypic diversity*") für eine Mehrheit von Feldpopulationen, die sich nicht signifikant vom Durchschnittswert von 1000 simulierten Populationen unterscheiden, die unter der Voraussetzung von sexueller Rekombination geschaffen wurden. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die meisten Populationen dadurch charakterisiert sind, dass sich eine Mehrheit der Markerpaaire im gametischen Gleichgewicht befindet ("*gametic equilibrium*"). Diese Erkenntnisse stehen im offensichtlichen Widerspruch zur Situation im Feld, wo die sexuelle Rekombinationsform lediglich in Sambia gefunden worden ist, und könnte eine der Fragestellungen sein, die sich aus der vorliegenden Arbeit ergeben haben.

AGRARTECHNISCHE HERAUSFORDERUNG

Der Bauernstand in Südasien sieht sich mit einem ständig wachsenden Nahrungsmittelbedarf konfrontiert, den es mit einer Produktionssteigerung zu decken gilt, die auf bereits kultiviertem Land erzielt werden muss, da Landreserven beinahe vollständig aufgebraucht sind.

Die hier vorgestellten Versuche deckten ein Ertragspotential der RW Fruchtfolge von ungefähr 9.7 t ha^{-1} Körnerertrag mit und 9.2 t ha^{-1} ohne Fungizideinsatz im Weizen auf. Dieses deutlich höhere Ertragsniveau könnte im Terai Gürtel Nepals bei gleichbleibender Bewirtschaftung wohl bereits bei einer Verdoppelung der derzeit sehr bescheidenen Düngergaben erreicht werden, doch ist eine derartige Intensivierung wohl langfristig nicht nachhaltig. Zur Sicherung der Nachhaltigkeit der RW Fruchtfolge sind zumindest eine minimale Diversifizierung des Anbaus und ein regelmässiger Eintrag von Hofdünger wichtige Voraussetzungen. Spielraum für die notwendigen Ertragssteigerungen ist demnach vorhanden, doch kann er nur ausgeschöpft werden, wenn die landwirtschaftliche Forschung sich auf Problemlösungen für Anbausysteme und nicht für einzelne Kulturen besinnt.