

# An improved field screening technique for resistance to rust and late leaf spot diseases in groundnut (1)

## *Une technique améliorée de criblage au champ pour la résistance à la rouille et à la cercosporiose tardive chez l'arachide (1)*

F. WALIYAR<sup>(2)</sup> and D. Mc DONALD<sup>(3)</sup>

**Summary.** — Late leaf spot and rust occur regularly on groundnut at ICRISAT Center, Patancheru, India. Field screening of the groundnut germplasm lines is done under high disease pressure. Problems have been encountered in disease scoring when both, late leaf spot and rust diseases are severe. This paper describes a technique using selective fungicides to screen groundnut genotypes for resistance to each disease individually under these conditions of multiple disease pressure.

**Key words.** — Rust, leaf spot, selection groundnut, fungal, pathogens

At the International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT) Center, Patancheru, India, two foliar fungal diseases; rust caused by *Puccinia arachidis* Speg. and late leaf spot caused by *Phaeoisariopsis personata* (Berk. and Curch) v. Arx commonly cause severe damage to groundnut (*Arachis hypogaea* L.).

Over the past 12 years many germplasm and breeding lines have been screened for resistance to rust and late leaf spot at ICRISAT Center, and a considerable number of genotypes have been found to possess resistance to rust and/or late leaf spot (Subrahmanyam *et al.*, 1982). In recent years there has been considerable variation in the extent and distribution of rainfall, and variation between seasons in the severity of rust and late leaf spot epidemics. Problems have been encountered in scoring for one disease in the presence of the other.

In this paper we describe a technique in which selective fungicides are used to reduce attacks of rust or of leaf spots to simplify screening for resistance of genotypes to the other disease.

**Résumé.** — La cercosporiose tardive et la rouille se manifestent régulièrement chez l'arachide au Centre ICRISAT, Patancheru, Inde. Le criblage au champ des lignées génétiques d'arachide s'effectue dans des conditions d'un fort niveau de maladie. Le classement vis à vis des maladies se révèle délicat lorsque le niveau des deux maladies est élevé. Cet article propose une technique faisant appel à des fongicides sélectifs pour le criblage des génotypes d'arachide sur la résistance à chaque maladie spécifique, dans cette situation où l'arachide subit une pression exercée par plusieurs maladies.

**Mots clés.** — Rouille, cercosporiose, sélection arachide, fongicide, pathogène

Au Centre ICRISAT (International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics) à Patancheru, Inde, deux maladies foliaires fongiques: la rouille, causée par *Puccinia arachidis* Speg. et la cercosporiose tardive, causée par *Phaeoisariopsis personata* (Berk. et Church) v. Arx provoquent des dégâts importants chez l'arachide (*Arachis hypogaea* L.).

Pendant les 12 dernières années, de nombreuses lignées destinées soit à la collection, soit à la reproduction, ont été criblées pour la résistance à la rouille et à la cercosporiose tardive au Centre ICRISAT, et grand nombre de ces génotypes se sont révélés résistants à la rouille et/ou à la cercosporiose tardive (Subrahmanyam *et coll.*, 1982). Plus récemment, le niveau de la pluviométrie et sa répartition, ainsi que l'intensité des épidémies de rouille et de cercosporiose tardive ont varié de façon importante. Le classement vis à vis de l'une des deux maladies se révèle difficile en présence de l'autre.

Cet article propose une technique faisant appel à des fongicides sélectifs pour réduire l'intensité des attaques de rouille ou de cercosporioses afin de faciliter le criblage des génotypes pour la résistance à l'autre maladie.

(1) Submitted as JA N° 1130 by the International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).

(2) Principal Groundnut Pathologist, ICRISAT Sahelian Center, BP 12404, Niamey (Niger).

(3) Program Director (Legumes) ICRISAT Center, Patancheru P.O., Andhra Pradesh, 502 324, India

(1) Article soumis sous la référence JA N° 1130 par l'International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics (ICRISAT).

(2) Pathologiste principal pour l'arachide - Centre ICRISAT du Sahel - BP 12404, Niamey (Niger).

(3) Directeur de Programme (Légumineuses) Centre ICRISAT, Patancheru P.O., Andhra Pradesh, 502 324, India

## MATERIALS AND METHODS

We retained the basic approach (Subrahmanyam *et al.*, 1980) of sowing test genotypes in replicated plots consisting of two 4 m long rows (75 cm wide ridges) with "spreader rows" of a susceptible cultivar (TMV 2) grown between each test plot, and inoculating the spreader rows with the pathogens. However, instead of having one experiment in which spreader rows were inoculated with both rust and late leaf spot, we included each test genotype in each of two separate screening experiments, one for rust resistance and one for late leaf spot resistance.

The procedure was essentially similar in both experiments. Two sets of potted plants of the rust and late leaf spot susceptible cultivar TMV2 were raised in isolation from another. One set was inoculated with rust and the other with late leaf spot. When the field sown experimental material had reached 30-35 days after sowing (DAS) one potted plant with the appropriate disease was placed in the center of each spreader row adjoining each test plot. At 35-40 DAS each spreader row was inoculated with a spore suspension of 50000 spores/ml<sup>-1</sup> water of the appropriate pathogen to enhance the effects of the potted spreader plants. Inoculations were made late in the afternoon. Five days later selective fungicides were applied to the trials. Bavistin<sup>(R)</sup> 50% WP (carbendazim) at 500 g in 500 l of water ha<sup>-1</sup> was applied to the rust resistance screening trial to prevent the establishment of leaf spots, and Calixin<sup>(R)</sup> 80% solution (tridemorph) 150 ml in 500 l of water ha<sup>-1</sup> was applied to the late leaf spot screening trial to prevent the establishment of rust. These fungicides specifically controlled one disease but had apparently no effect upon the other. Further sprays were applied at 15 day intervals until 30 days before harvest (the number of sprays were reduced if weather conditions did not favour disease build up).

During the 1987 and 1988 rainy seasons screening experiments were conducted on 20 genotypes with known levels of resistance or susceptibility to rust and late leaf spot diseases in a split-plot design with 3 replications and 3 treatments: Bavistin<sup>(R)</sup>, Calixin<sup>(R)</sup> and no spray.

During the 1988 rainy season a field screening trial of 100 genotypes for resistance to late leaf spot was sown in a 10 × 10 triple lattice design employing this technique. For rust resistance, a set of 256 genotypes was tested in a 16 × 16 triple lattice design.

A 1-9 disease scale in which 1 = no disease and 9 = 50-100% foliage destroyed (Subrahmanyam *et al.*, 1980) was used to evaluate groundnut genotypes for their reaction to rust and late leaf spot pathogens. Evaluations were made at 85 and 100 DAS.

## RESULTS

In all experiments rust and late leaf spot developed well on the inoculated spreader rows, and the disease spread to the adjoining test genotypes. Very little infection of rust occurred on the late leaf spot inoculated trial and vice versa. Results from the screening technique experiment

## MATERIEL ET METHODE

*Nous avons retenu la méthode de base (Subrahmanyam et coll., 1980), qui consiste à semer les génotypes à tester en parcelles répétées comprenant deux lignes de 4 mètres de long (billons de 75 cm de large) ainsi que des "lignes intercalaires" comportant une variété sensible, et à inoculer les lignes intercalaires avec les agents pathogènes. En revanche, plutôt que de réaliser un seul essai où les lignes intercalaires seraient inoculées avec la rouille et la cercosporiose tardive, nous avons planté chaque génotype dans deux essais de criblage indépendants, l'un pour la résistance à la rouille et l'autre pour la résistance à la cercosporiose tardive.*

*Le protocole de base est largement semblable pour les deux essais. Deux séries de pieds de la variété TMV2, sensible à la rouille et à la cercosporiose tardive, plantés en pots, sont élevées en isolation l'une de l'autre. L'une des séries est inoculée ensuite avec la rouille, et l'autre avec la cercosporiose tardive. 30 à 35 jours après le semis (JAS) du matériel au champ, un pied en pot inoculé avec la maladie en question est placé au centre de chaque ligne intercalaire attendant à chaque parcelle expérimentale. A 35-40 JAS, chaque ligne intercalaire est inoculée avec une suspension de spores de l'agent pathogène concerné à raison de 50 000 spores/ml d'eau, afin d'accentuer l'influence des pieds intercalaires en pot. Les inoculations sont effectuées en fin d'après-midi. Après cinq jours, des fongicides sélectifs sont appliquées dans les essais. Un apport de Bavistin<sup>(R)</sup> PM, 50% (carbendazime), à 500 g dans 500 l d'eau/ha est réalisé dans l'essai de criblage pour la résistance à la rouille afin d'éviter la formation des cercosporioses, et du Calixin<sup>(R)</sup> en solution 80% (tridémorphe), 150 ml dans 500 l d'eau/ha est apporté dans l'essai de criblage pour la résistance à la cercosporiose tardive, afin d'empêcher l'établissement de la rouille. Ces fongicides ont une action spécifique sur une maladie donnée, mais n'ont apparemment aucune action sur l'autre. Les applications sont renouvelées tous les 15 jours jusqu'à 30 jours avant la récolte (la fréquence des applications est réduite si les conditions météorologiques ne favorisent pas une intensification des maladies).*

*Pendant la saison des pluies en 1987 et 1988, des essais de criblage ont été mis en place, comportant 20 génotypes dont le niveau de résistance ou de sensibilité vis à vis de la rouille ou de la cercosporiose tardive est connu. On a retenu un dispositif avec subdivision de parcelles, à trois répétitions et trois objets: Bavistin<sup>(R)</sup>, Calixin<sup>(R)</sup> et sans traitement.*

*Pendant la saison des pluies en 1988, un essai de criblage au champ a été mis en place selon cette technique et selon un dispositif 10 × 10 en lattice triple, pour déterminer la résistance à la cercosporiose tardive. Une série de 256 génotypes a été testée pour la résistance à la rouille dans un dispositif 16 × 16 en lattice triple.*

*Une échelle de maladie où 1 = absence de maladie et 9 = 50 - 100% des feuilles détruites (Subrahmanyam et coll., 1980) a été utilisée pour évaluer les génotypes d'arachide selon leur comportement vis à vis des agents pathogènes de la rouille et de la cercosporiose tardive. Des évaluations ont été effectuées à 85 et à 100 JAS.*

## RESULTATS

*Dans tous les essais, la rouille et la cercosporiose tardive se sont bien développées sur les lignes intercalaires inoculées, et la maladie s'est étendue sur les génotypes à tester avoisinants. Il n'y a eu que très peu de rouille dans l'essai inoculé avec la cercosporiose tardive, et réciproquement.*

(Table I) show that scores could be misleading when both diseases are present on the same plant. For example, TMV 2 was scored as 9.0 against each of the two diseases when the other disease was controlled by the selective fungicide, but it showed a lower rust score 5.3 in the no spray treatment where there was considerable defoliation (90-100%) due to late leaf spot in addition to rust. A similar trend was noticed in genotypes PI 414332, PI 298115, C. No. 45-23, PI 393641 which were scored resistant to rust when evaluated for both diseases in the same trial, but were scored moderately susceptible to rust (5.0-6.3 range) when evaluated in the separate trial for rust resistance. The same effect with late leaf spot was observed in PI 405132 which had a lower score in the usprayed treatment (score 3) while, in the Calixin<sup>(R)</sup> treated plot where only late leaf spot was present, it gave a higher score (5). Genotypes PI 259747 and PI 390595, resistant to both rust and late leaf spot, showed similar reactions in all the three treatments. In other trials with 100 and 256 lines, the majority of lines having a high degree of resistance do not change their reactions to either disease under improved technique. Only a few lines previously reported resistant (NC Ac 17129, NC Ac 17130 and NC Ac 17142) showed a susceptible reaction to rust while, others (PI 215696, 314817, 390593, 407457, 414332 etc.) showed moderately resistant reaction to the same disease. In case of late leaf spot, two genotypes (NC Ac 17090, NC Ac 17130 and PI 390593) were rated susceptible while the reaction of others did not change much (Table II).

*Les résultats de l'essai concernant la technique de criblage (Tableau I) démontrent que les classements peuvent être trompeurs lorsque les deux maladies sont présentes sur le même pied. Le génotype TMV2, par exemple, est classé 9.0 vis à vis des deux maladies lorsque l'autre maladie est contrôlée par un fongicide sélectif, mais il est classé 5.3 dans l'objet sans traitement, où la défoliation due à la cercosporiose tardive et à la rouille est importante (90 - 100%). Une tendance analogue est observée chez les génotypes PI 414332, PI 298115, C. N° 45-23 et PI 393641, qui sont classés résistants à la rouille lorsque les deux maladies sont évaluées dans un même essai, mais sont classés moyennement sensibles à la rouille (entre 5.0 et 6.3) lorsqu'ils sont évalués dans un essai spécifique pour la résistance à la rouille. Le même effet est observé dans le cas de la cercosporiose tardive chez le PI 405132, qui est classé plus bas (3) dans l'objet sans traitement que dans la parcelle traitée au Calixin<sup>(R)</sup>, où la cercosporiose tardive seule est présente (classé 5). Les génotypes PI 259747 et PI 390595, qui sont résistants à la rouille et à la cercosporiose tardive, présentent des comportements analogues dans les trois objets. Dans d'autres essais comprenant 100 et 256 lignées, le comportement de la grande partie des lignes hautement résistantes vis à vis de chaque maladie reste invariable lorsque cette technique améliorée est utilisée. Seules quelques lignées supposées résistantes (NC Ac 17129, NC Ac 17130 et NC Ac 17142) se montrent sensibles à la rouille, tandis que d'autres (PI 215696, 314817, 390593, 407457, 414332, etc...) présentent une réponse modérée à cette même maladie. Dans le cas de la cercosporiose tardive, trois génotypes (NC Ac 17090, NC Ac 17130 et PI 390593) sont classés sensibles, tandis que le comportement des autres génotypes ne varie pas de façon significative (Tableau II).*

TABLE I. — Reaction of some groundnut genotypes to rust and late leaf spot in an improved field screening technique, rainy season 1988. — (Comportement de quelques génotypes d'arachide vis à vis de la rouille et de la cercosporiose tardive selon une technique améliorée du criblage au champ. Saison des pluies, 1988.)

Identity (Identité)	Rust <sup>(1)</sup> (Rouille)		Late leaf spot <sup>(2)</sup> (Cercosporiose tardive)	
	Old <sup>(3)</sup> (Ancienne)	New <sup>(4)</sup> (Nouvelle)	Old <sup>(3)</sup> (Ancienne)	New <sup>(4)</sup> (Nouvelle)
TMV 2	5.3	9.0	9.0	9.0
PI 414332	3.0	5.0	8.3	9.0
C. No. 45-23	4.0	6.3	8.0	8.3
PI 298115	3.0	6.3	8.0	8.3
PI 259747	3.3	4.0	4.0	3.6
PI 390595	3.3	4.0	3.0	3.0
PI 393641	3.6	5.3	7.3	7.0
PI 405132	2.6	2.6	3.0	5.0
SE (ET)	±0.26	±0.27	±0.33	±0.19
CV (%)	12.0	10.4	9.3	5.2

(1) Disease scored on a 1-9 scale where, 1 = no disease; 9 = 50-100% foliage destroyed; late leaf spot was controlled with Bavistin<sup>(R)</sup>. — (Classement vis à vis de la maladie selon une échelle de 1 à 9, où 1 = absence de maladie et 9 = 50-100% des feuilles détruites. La cercosporiose tardive a été contrôlée par le Bavistin<sup>(R)</sup>).

(2) Same scoring. Rust was controlled with Calixin<sup>(R)</sup>. — (Même type de classement. La rouille a été contrôlée par le Calixin<sup>(R)</sup>).

(3) Earlier technique (no selective fungicide used). — (Ancienne technique –sans fongicide sélectif–).

(4) Improved technique using selective fungicide. — (Technique améliorée faisant appel à des fongicides sélectifs).

TABLE II. — A comparison of disease scores<sup>(1)</sup> of some foliar diseases resistant genotypes. — (Comparaison des classements vis à vis de la maladie<sup>(1)</sup> de certains génotypes résistants aux maladies foliaires).

ICG No (N° ICG)	Identity (Identité)	Rust <sup>(1)</sup> (Rouille)		ICG No (N° ICG)	Identity (Identité)	Late leaf spot (Cercosporiose tardive)	
		Old <sup>(2)</sup> (Ancienne)	New <sup>(3)</sup> (Nouvelle)			Old <sup>(2)</sup> (Ancienne)	New <sup>(3)</sup> (Nouvelle)
1697	NC Ac 17090	2.0	5.0	1697	NC Ac 17090	4.8	8.0
1703	NC Ac 17127	3.8	6.6	1705	NC Ac 17130	4.8	7.3
1704	NC Ac 17129	4.0	8.0	3580	C. NO.45-23	5.3	6.6
1705	NC Ac 17130	4.0	8.0	4790	Krap. St. 16	4.3	5.3
1712	NC Ac 17142	5.0	8.0	6322	RMP 12	5.0	6.0
3580	C. NO. 45-23	5.2	9.0	6330	PI 270806	6.3	4.6
4790	Krap. St. 16	5.0	5.6	7886	PI 390593	4.5	8.0
6022	NC Ac 927	3.3	5.6	7888	PI 393616	4.0	5.6
6280	NC Ac 17124	4.0	7.6	ICG	TMV2	5.3	9.0
7881	PI 215696	3.0	5.6				
7882	PI 314817	3.0	6.0				
7886	PI 390593	3.0	5.0				
7888	PI 393616	4.3	6.3				
7889	PI 393517	3.3	5.3				
7898	PI 407454	3.0	6.6				
7900	PI 414332	2.3	5.2				

(1) Disease scored on a 1-9 scale where, 1 = no disease; 9 = 50-100% foliage destroyed. — (Classement vis à vis de la maladie selon une échelle de 1 à 9, où 1 = absence de maladie et 9 = 50-100 % des feuilles détruites).

(2) Earlier technique (no selective fungicide used). — (Ancienne technique -sans fongicide sélectif-).

(3) Sprayed with Bavistin<sup>(R)</sup> to control late leaf spot. — (Traité avec du Bavistin<sup>(R)</sup> pour contrôler la cercosporiose tardive).

(4) Sprayed with Calixin<sup>(R)</sup> to control rust. — (Traité avec du Calixin<sup>(R)</sup> pour contrôler la rouille).

## DISCUSSION

When both rust and late leaf spot are present the disease score may not reflect the real reaction of the genotypes because of the interference between rust and late leaf spot on the same plant. Late leaf spot might be expected to influence the development of rust either by reducing the uninfected leaf area available for rust infection, or by producing compounds in the leaf which might inhibit rust development. Cole (1982) demonstrated similar effects for the interaction between *Cercospora arachidicola* and *Phoma arachidicola* on groundnut. In all our trials when one disease was controlled using chemicals, the other one developed well and the selective fungicides used did not affect the epidemic of the other disease.

The establishment of separate rust and late leaf spot epidemics enables accurate rating of genotypes for resistance to each disease and satisfactory comparisons of specific disease resistance between genotypes with multiple disease resistance. This technique is particularly useful in preliminary screening where the reaction of the genotypes to foliar diseases is unknown. If a genotype is resistant to rust or late leaf spot or to both of them, the host reaction does not change irrespective of the technique used. Screening for resistance under high single disease pressure allows the meaningful selection of genotypes having adequate level of resistance in areas where that particular disease predominates. If screening for resistance has to be done under natural pressure from

## DISCUSSION

Lorsque la rouille et la cercosporiose tardive sont présentes toutes les deux, il se peut que le classement vis à vis de la maladie ne reflète pas le comportement réel des génotypes, à cause de l'interférence entre la rouille et la cercosporiose tardive sur une même plante. L'on pourrait s'attendre à ce que la cercosporiose tardive ait un effet sur le développement de la rouille, soit en diminuant la surface foliaire disponible pour l'établissement de la rouille, soit en produisant des composés dans la feuille susceptibles d'inhiber le développement de la rouille. Cole (1982) a démontré de tels effets en ce qui concerne l'interaction entre *Cercospora arachidicola* et *Phoma arachidicola* chez l'arachide. Dans tous les essais où une maladie était contrôlée grâce à un produit chimique, l'autre s'est bien développé, et les fongicides sélectifs utilisés n'ont pas eu d'action sur les épidémies de l'autre maladie.

L'établissement d'épidémies de rouille et de cercosporiose tardive de manière indépendante permet le classement précis des génotypes en fonction de leur résistance à chaque maladie ainsi qu'une comparaison satisfaisante de la résistance spécifique entre des génotypes résistants à plusieurs maladies. Cette technique est particulièrement importante pour le criblage préliminaire, où le comportement des génotypes vis à vis des maladies foliaires n'est pas connu. Si un génotype est résistant à la rouille, à la cercosporiose tardive ou aux deux, le comportement de la plante hôte est invariable, quelle que soit la technique utilisée. Le criblage pour la résistance sous haute pression d'une seule maladie permet une sélection valable de génotypes possédant un niveau suffisant de résistance dans les zones où la maladie en question est prédominante. Si le criblage pour la résistance est effec-

more than one disease, this technique using selective fungicides can be recommended. The following points should be considered:

- High levels of a single disease should be ensured for meaningful scoring.
- Disease scoring should be carried out at three stages during the crop growth i.e., 75, 95 and 115 DAS.
- Scores should be compared only within groups of genotypes having similar maturity levels.
- During scoring, "reaction types" should be taken into consideration while judging the score of two genotypes having similar disease levels.
- Use of fungicides delays crop maturity and hence final scoring dates should be adjusted accordingly.

*tué dans des conditions naturelles d'intensité de deux maladies ou plus, la technique des fongicides sélectifs peut être préconisée. Les points suivants sont à prendre en compte:*

- *Une intensité élevée d'une seule maladie doit être assurée afin de garantir un classement valable.*
- *Le classement vis à vis des maladies doit être effectué en trois étapes au cours du cycle de croissance, soit à 75, 95 et 115 JAS.*
- *Une comparaison des classements ne doit être effectuée qu'entre génotypes présentant un niveau de maturité comparable.*
- *Pendant le classement, les "types de comportement" doivent être pris en compte pour juger le classement de deux génotypes présentant un niveau de maladie analogue.*
- *L'utilisation des fongicides retarde la maturation des cultures, et la dernière date de classement doit être ajustée en conséquence.*

#### REFERENCES

- [1] COLE D. L. (1982). —Interactions between *Cercospora arachidola* and *Phoma arachidola*. *Plant Pathology*, 31, 355-362.
- [2] SUBRAHMANYAM P., GIBBONS R. W., NIGAMS S. N. and RAO V. R. (1980). —Screening method and further sources of resistance to peanut rust. *Peanut Science*, 7, 10-12.
- [3] SUBRAHMANYAM P., Mc DONALD D., GIBBONS R. W., NIGAM S. N. and NEVILL D. J. (1982). —Resistance to rust and late spot diseases in some genotypes of *Arachis hypogea*. *Peanut Science*, 9, 6-10.

#### RESUMEN

**Una técnica mejorada de cribado en el campo para la resistencia a la roya y a la cercosporiosis tardía en el maní**

F. WALIYAR y D. McDONALD, *Oléagineux*, 1991, 46, N° 7, p. 287–291.

La cercosporiosis tardía y la roya se manifiestan con regularidad en el maní en el Centro ICRISAT, Patancheru, India. El cribado en el campo de las familias genéticas del maní se desarrolla bajo condiciones de alto nivel de enfermedad. La clasificación frente a las enfermedades aparece difícil cuando el nivel de las enfermedades es alto. Este artículo propone una técnica recurriendo a fungicidas selectivos para el cribado de los genotipos de maní y su resistencia a cada enfermedad específica, en situaciones semejantes cuando el maní sufre una presión desempeñada por varias enfermedades.

