

# Chemical treatment to wheat seed to reduce the incidence of bacteria

## Tratamiento químico en la semilla de trigo para disminuir la incidencia de bacterias

María Florencia Rodríguez-García\*, Julio Huerta-Espino, Héctor Eduardo Villaseñor-Mir, Patricia Rivas-Valencia, Miguel González-González, René Hortelano-Santa Rosa, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental Valle de México, Carretera Los Reyes-Texcoco Km 13.5 Coatlinchán, Texcoco, Estado de México, CP 56250, México; Leticia Robles-Yerena, Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Carretera Federal México-Pachuca Km 37.5 Tecámac, Estado de México, CP 55740, México. Sergio Aranda-Ocampo, Instituto de Fitosanidad, Colegio de Posgraduados, Km 36.5 Carretera México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Estado de México, CP 56230, México. \*Autor para correspondencia: rodriguez.maria@inifap.gob.mx

Recibido: 24 de Enero, 2020.

Aceptado: 23 de Febrero, 2020.

Rodríguez-García MF, Huerta-Espino J, Villaseñor-Mir HE, Rivas-Valencia P, González-González M, Hortelano-Santa Rosa R, Robles-Yerena L and Aranda-Ocampo S. 2020. Chemical treatment to wheat seed to reduce the incidence of bacteria. Mexican Journal of Phytopathology 38(2): 239-249.

DOI: 10.18781/R.MEX.FIT.2001-5

Primera publicación DOI: 13 de Marzo, 2020.

First DOI publication: March 13, 2020.

**Resumen.** Actualmente la presencia de enfermedades en trigo causadas por bacterias ha incrementado hasta un 15%, debido probablemente a factores como: baja resistencia, cambio climático y contaminación de semilla. El objetivo fue evaluar tratamientos químicos para control de bacterias en semilla de trigo. Se utilizó semilla de tres variedades (Gálvez M87, Tlaxcala F2000 y Nana F2007)

**Abstract.** Currently the presence of diseases in wheat caused by bacteria has increased up to 15%, probably due to factors such as: low resistance, climate change and seed contamination. The objective was to evaluate chemical treatments for bacterial control in wheat seed. Seed of three varieties (Gálvez M87, Tlaxcala F2000 and Nana F2007) from four locations were used. Treatments were: hydrogen peroxide, sodium hypochlorite (2% and 5%) at three-time intervals (1, 2 and 3 min), Metacaptan (80, 90 and 100 g/100 kg seed), Cupravit Hydro (200, 300 and 400 g/100 kg seed) and untreated check. The treated seed was sown in Petri plates with nutritious Agar. The infected seed percentage (PSI) and the germination percentage (PG) were evaluated. The variance analysis showed high significance for PSI and PG. The product with the highest control of bacteria (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) was sodium hypochlorite at 5% at 2 and 3 min which reduced the PSI by 80% compared to the check,

y cuatro localidades. Los tratamientos fueron: peróxido de hidrógeno, hipoclorito de sodio (2% y 5%) en tres intervalos de tiempo (1, 2 y 3 min), Metacaptan (80, 90 y 100 g/100 kg de semilla), Cupravit Hidro (200, 300 y 400 g/100 kg de semilla) y testigo sin tratamiento. La semilla tratada fue sembrada en cajas Petri con Agar nutritivo. Se evaluó porcentaje de semilla infectada (PSI) y porcentaje de germinación (PG). El análisis de varianza mostró alta significancia para PSI y PG. El producto con mayor control de bacterias (Tukey,  $p \leq 0.05$ ) fue hipoclorito de sodio al 5% a 2 y 3 min que redujo 80% el PSI en comparación con el testigo, seguido de hipoclorito de sodio al 2% 2 min y Metacaptan a 90 g, el menos efectivo fue peróxido de hidrogeno a 2 min. Ninguno de los productos evaluados fue efectivo al 100%.

**Palabras clave:** control, germinación, variedades.

El trigo harinero (*Triticum aestivum*), es el cereal con mayor producción en el mundo (FAO, 2018). En México, durante el 2018 destacó como el tercer cereal en importancia en cuanto a superficie sembrada (541,789 ha) (SIAP, 2019). Se prevé que para el 2050, la demanda de trigo aumentará un 70% debido al crecimiento de la población y los cambios en sus hábitos alimentarios; sin embargo, la producción de trigo en los últimos años se ha visto afectada por factores bióticos (plagas y enfermedades) y en gran parte por factores abióticos (suelo y clima) (Beddow *et al.*, 2015). Dentro de los factores bióticos, las enfermedades causadas principalmente por hongos, destacan aquellas causadas por el género *Puccinia* por ser considerada la más destructiva del trigo y con mayores pérdidas que ha generado en el mundo (Singh *et al.*, 2016). Sin embargo, en la actualidad las bacterias fitopatógenas han ocasionado considerables pérdidas en el

followed by sodium hypochlorite at 2% at 2 min and Metacaptan at 90 g, and the least effective was hydrogen peroxide at 2 min. None of the products evaluated were 100% effective.

**Key words:** control, germination, varieties.

Bread wheat (*Triticum aestivum*) is the most grown cereal in the world (FAO, 2018). In Mexico, in 2018, bread wheat was the third most important cereal produced in terms of area sown (541,789 ha) (SIAP, 2019). Demand for wheat by 2050 is predicted to increase by 70% due to population growth and changes in people's diet. However, in recent years, wheat production has been affected by biotic factors (pests and diseases) and mostly by abiotic factors (soil and weather) (Beddow *et al.*, 2015). Among the biotic factors, diseases mainly caused by fungi, the most important are those caused by *Puccinia*, which is considered the most devastating genus causing the greatest crop losses in the world (Singh *et al.*, 2016). Currently, phytopathogenic bacteria are responsible for considerable wheat yield losses (Adhikari *et al.*, 2011; Kandel *et al.*, 2012). Nowadays, bacterial stripe caused by *Xanthomonas translucens* is the most common wheat disease (Adhikari *et al.*, 2011). On the other hand, *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* (Syn. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*) and *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* have re-emerged as a potential threat to bread wheat production in the United States and other countries in the world (Kandel *et al.*, 2012). There has been speculation that the re-emergence of diseases has to do with the low level of wheat varieties resistance, changes in the environment, especially temperature increases during the crop cycle, cultural practices and, probably, the evolution of pathogenic populations, which has turned them more virulent

cultivo (Adhikari *et al.*, 2011; Kandel *et al.*, 2012). En la actualidad el rayado bacteriano causado por *Xanthomonas translucens* es la enfermedad bacteriana más común de trigo (Adhikari *et al.*, 2011). Por otra parte, *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* (Syn. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*) y *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* han resurgido como una amenaza potencial en el trigo harinero en los Estados Unidos y otros países del mundo (Kandel *et al.*, 2012). Se ha especulado que la causa de la reaparición de las enfermedades es debido a un bajo nivel de resistencia de las variedades, los cambios del medio ambiente principalmente el aumento de la temperatura durante el ciclo del cultivo, las prácticas culturales y probablemente la evolución de las poblaciones patógenas a más virulentas (Kandel *et al.*, 2012; Ávila-Quezada *et al.*, 2018). Diversos estudios mencionan que el problema también podría deberse a la contaminación de semilla siendo una restricción para el intercambio de germoplasma (Adhikari *et al.*, 2011; Mezzalama, 2013). De acuerdo con Gitaitis y Walcott (2007) y Navarrete-Maya *et al.* (2014), el movimiento de estas semillas son fuente de inóculo de patógenos no solo para nuevas áreas sino además entre países. Estos mismos autores mencionan que las medidas de exclusión y evasión mediante el uso de cuarentenas y la producción de semillas en regiones semiáridas son eficaces hasta cierto punto ya que hasta el momento estas prácticas no han controlado al 100% las enfermedades bacterianas transmitidas por semilla. Las principales medidas de control de enfermedades causadas por fitobacterias han sido a través de los años las rotaciones con cultivos no hospedantes, la aplicación de bacterias antagonistas fluorescentes del género *Pseudomonas*, la producción de semilla en regiones libres de enfermedad y el mejoramiento genético para obtener resistencia (Sapkota *et al.*, 2020; Valencia-Botín *et al.*, 2012). La eliminación del patógeno de la semilla

(Kandel *et al.*, 2012; Ávila-Quezada *et al.*, 2018). Diverse studies mention that this could be a problem caused by seed contamination, a factor that restricts germplasm exchange (Adhikari *et al.*, 2011; Mezzalama, 2013). According to Gitaitis and Walcott (2007) and Navarrete-Maya *et al.* (2014), seed movement is the source of pathogen's inoculum not only in new areas but also among countries. The same authors mention that exclusion and evasion measures such as quarantine and seed production in semiarid regions are effective up to a certain level, since these practices have not totally controlled bacterial diseases transmitted by seed. Over the years, the main measures for controlling diseases caused by phyto-bacteria have been non-host crop rotations, use of fluorescent antagonistic bacteria of *Pseudomonas* genus, seed production in disease-free regions and genetic improvement to obtain resistant varieties (Sapkota *et al.*, 2020; Valencia-Botín *et al.*, 2012). The elimination of the pathogen from the seed could help to control bacterial diseases, but the methods developed so far are not effective. In recent years, the use of seed chemicals treatments has quickly accelerated and evolved due to the integration of diverse factors that have contributed to the development of strategies for controlling the disease (Munkvold, 2009). For this reason, the objective of this study was to try different chemical treatments for controlling bacteria in wheat seed that was produced under rainfed conditions and to determine the effect of these products on germination.

The experiment was established in May 2018 under controlled conditions in the National Laboratory for Rusts and Other Cereal Diseases (LANAREC), at the Experiment Station Valle de México of the National Institute of Forestry, Agricultural and Livestock Research (INIFAP). The experiment was conducted using a completely randomized design under a factorial

puede ayudar al control de las enfermedades bacterianas, pero los métodos desarrollados hasta el momento no son eficaces. Durante los últimos años el uso de tratamientos químicos a la semilla se ha acelerado y evolucionado rápidamente ya que diversos factores se han unido para impulsar estrategias de control (Munkvold, 2009). Por lo cual, el objetivo de la investigación fue probar diferentes tratamientos químicos para el control de bacterias en semilla de trigo producida bajo condiciones de temporal y determinar el efecto de los productos en la germinación.

El experimento fue establecido durante el mes de mayo del 2018 bajo condiciones controladas en el Laboratorio Nacional de Royas y Otras Enfermedades de Cereales (LANAREC), ubicado en el Campo Experimental Valle de México, perteneciente al Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias. Se utilizó un diseño completamente al azar bajo un arreglo factorial con tres repeticiones (3x16x4x3; variedades, tratamientos químicos, localidades y repeticiones). Se evaluaron lotes de semilla de tres variedades de trigo harinero recomendadas para siembras de temporal: Gálvez M87, Tlaxcala F2000 y Nana F2007; dichas variedades representan diferentes épocas de liberación comercial. Los lotes de semilla (100 g) de los tres genotipos fue semilla proveniente de cuatro localidades: Terrenate y Nanacamilpa, Tlaxcala; Chapingo, Edo. de México y, Cuyoaco, Puebla; las cuales en evaluación previa se determinó que eran portadoras de bacterias saprofitas y fitopatógenas principalmente del género *Pseudomonas* (datos sin publicar). Los 16 tratamientos químicos (incluyendo el testigo) a la semilla fueron: peróxido de hidrógeno (agua oxigenada al 3%) a 1, 2 y 3 min; hipoclorito de sodio (Cloralex) al 2% y 5% a 1, 2 y 3 min, Metoxicloro+Captan (Metacaptan) a 80, 90 y 100 g/100 kg de semilla e Hidróxido cúprico (Cupravit Hidro) a 200, 300 y 400 g/100 kg de

arrangement with three replications (3x16x4x3): varieties, chemical treatments, locations and replications. Seed lots of three bread wheat varieties recommended for rainfed conditions were evaluated: Gálvez M87, Tlaxcala F2000 and Nana F2007. These varieties are representative of different commercial release cycles. The seed lots (100 g) of the three seed genotypes came from four locations: Terrenate and Nanacamilpa, Tlaxcala; Chapingo, State of Mexico; and Cuyoaco, Puebla. Previous evaluations showed that these genotypes were saprophytic and phytopathogenic bacteria carriers, mainly of *Pseudomonas* genus (data not published). The 16 treatments used (including the check) were hydrogen peroxide (3% oxygenated water) for 1, 2 and 3 min; 2% and 5% sodium hypochlorite (Cloralex) for 1, 2 and 3 min, Methoxychlor+Captan (Metacaptan) to 80, 90 and 100 g/100 kg of seed, and copper hydroxide (Cupravit Hidro) to 200, 300 and 400 g/100 kg of seed; and seed with no chemical treatment. Hydrogen peroxide was applied to seed by immersion. In the case of Metacaptan and Cupravit Hidro, the products were first mixed with water and then applied to the seed. Once the chemical treatment was applied, the seed of each of the 576 treatments, which resulted from the combination of all the factors involved in the experiment design, were sown in plates containing nutritive agar. The experiment unit consisted of 10 seeds taken at random per plate (Warham *et al.*, 1997). They were then incubated at 25 to 28 °C for six days. The evaluated variables were infected seed percentage (PSI; seeds with bacterial exudate) and germination percentage (PG), which were obtained by visually counting each variable in relation to the total number of seeds in each plate. Two evaluations were carried out. The first was made three days after sowing, and the second, six days after sowing. The obtained data were subjected to statistical analysis

semilla; y semilla sin ningún tratamiento químico. Para peróxido de hidrógeno e hipoclorito de sodio el tratamiento fue por inmersión; mientras que para Metacapatan y Cupravit Hidro el producto se mezcló con agua y se impregno a la semilla. Después de recibir el tratamiento químico, las semillas de cada uno de los 576 tratamientos, originados por la combinación de todos los factores involucrados en el diseño experimental, fueron sembradas en placa con medio Agar nutritivo. La unidad experimental consistió de 10 semillas tomadas al azar por placa (Warham *et al.*, 1997). Posteriormente se incubaron en un rango de temperatura de 25 a 28 °C durante tres a seis días. Las variables evaluadas fueron porcentaje de semillas infectadas (PSI; semillas con presencia de exudado bacteriano) y porcentaje de germinación (PG), obtenidas mediante un conteo visual para cada variable en relación al número total de semillas contenidas en cada placa. Se registraron dos evaluaciones, la primera a los tres días después de la siembra y la segunda a los seis días. Los datos fueron analizados estadísticamente con el programa SAS 9.1.3 (SAS Institute®, EUA) y se realizaron comparaciones de medias para las variables en estudio mediante la prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

El análisis de varianza para las variables evaluadas mostró diferencias estadísticas altamente significativas para el origen de la semilla (localidades), variedades y el tratamiento químico en sus respectivas dosis y/o tiempos de exposición. Para la interacción variedad\*producto únicamente para la variable PSI fue estadísticamente significativa; mientras que en PG no se observaron diferencias estadísticas significativas, aunque si mostró tendencias negativas al aumentar el tiempo de exposición.

La comparación de los valores promedio de porcentaje de semilla infectada obtenidos por localidad (Cuadro 1) muestran que, para la semilla de

using SAS 9.1.3 (SAS Institute®, United States) and the means of the variables were compared by applying Tukey's test ( $p \leq 0.05$ ).

The analysis of variance of the evaluated variables showed highly significant statistical differences for seed origin (locations), varieties and chemical treatments at the corresponding doses and/or time exposure. For the variety\*product interaction, only the PSI variable was statistically significant, and though no significant statistical differences were found in PG, it showed negative tendencies by increasing the exposure time.

The comparison of the average values of the infected seed percentage per location (Table 1) showed that the seed of the different varieties harvested in Terrenate, Tlaxcala, had a higher level of bacteria incidence with 62% of infected seed. Seed collected in Nanacamilpa, Tlaxcala, showed a lower level of bacteria incidence (27% of infected seeds). These results may be attributed to the environmental conditions prevailing in each location, and that, according to Villaseñor and Espitia (2000), the first location is considered as an intermediate production environment where rainfall ranges from 400 to 600 mm during the crop growth stage and the main problems are poorly distributed rainfall, high temperatures and foliar diseases. On the other hand, Nanacamilpa is considered a location with favorable production conditions with amounts of rainfall greater than 600 mm, usually well distributed, and mild temperature.

Regarding PG, the greatest problems were found in Terrenate, which only reached 55% germination, a fact that could indicate that there is a relation between seed infection and seed germination. The best average value of PG (80.6%) was observed in Chapingo, followed by Nanacamilpa (73.0%) (Table 1), whose response is probably influenced by the prevailing conditions in this region, which are ideal for other diseases but limited for bacteria.

**Cuadro 1. Comparación de medias para las variables porcentaje de semilla infectada con bacteria (PSI) y porcentaje de germinación (PG) de cuatro localidades y tres variedades de trigo.**

**Table 1. Comparison of means of the percentage of seed infected (PSI) by bacteria and germination percentage (PG) of four locations and three wheat varieties.**

	PSI (%)	PG (%)
Localidades		
Terrenate, Tlaxcala	62.0 a	55.0 c
Cuyoaco, Puebla	49.0 b	68.4 b
Chapingo, Edo. de México	43.4 c	80.6 a
Nanacamilpa, Tlaxcala	27.7 d	73.0 b
DHS	0.46	0.51
Variedades		
Tlaxcala F2000	48.9 a	78.8 a
Nana F2007	45.8 a	70.9 b
Gálvez M87	41.7 b	58.1 c
DHS	0.36	0.4

PSI: porcentaje de semillas infectadas; PG: porcentaje de germinación. DHS: diferencia honesta significativa. Valores con letra similares dentro de columnas son estadísticamente iguales (Tukey  $p \leq 0.05$ ) / PSI: infected seed percentage; PG: germination percentage. SHD = significant honest difference. Values with similar letters in the columns are statistically equal (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

las diferentes variedades cosechadas en Terrenate, Tlax., existen mayores problemas de incidencia de bacterias con 62% de semillas infectadas. La semilla obtenida en la localidad con menor incidencia de bacterias fue Nanacamilpa, Tlax. (27% semillas infectadas). Estos resultados probablemente se deban a las condiciones ambientales que prevalecen en cada localidad evaluada y que de acuerdo a Villaseñor y Espitia (2000) la primera localidad es considerada como un ambiente de producción intermedio donde la precipitación oscila entre los 400 a 600 mm durante la estación de crecimiento del cultivo y las principales problemáticas son precipitación mal distribuida, temperaturas altas y presencia de enfermedades foliares. Por otra parte, Nanacamilpa es considerada una localidad de producción favorable con precipitaciones mayores a los 600 mm, generalmente bien distribuidas y temperaturas medias.

The varieties mean indicates that there is a higher level of variation and that, for this reason, their performance varies under the environmental conditions in the evaluated sites. The differences identified in PSI were not statistically significant between varieties Tlaxcala F2000 and Nana F2007, but they were in Gálvez M87 (Table 1). This result could indicate that of the three evaluated varieties, Gálvez M87 probably has genes that confer resistance to bacteria, and/or because it is an early cycle variety (45 days to heading), this trait helps it escape the disease, as mentioned by Hortelano-Santa Rosa *et al.* (2016). On the other hand, when the PG results were compared, each variety also showed different performance. Tlaxcala F2000 had the highest PG, whose value was statistically higher than the value of Nana F2007 and Gálvez M87, as shown in Table 1.

En el caso de PG se observó que los mayores problemas se tuvieron nuevamente en Terrenate, alcanzando solo 55% de germinación lo cual indicaría una relación entre la presencia de infección por bacterias y germinación de la semilla. En la localidad de Chapingo, se observó el mejor valor promedio para esta variable (80.6%), seguido de Nanacamilpa (73.0%) (Cuadro 1), cuya respuesta es probablemente influenciada por las condiciones que prevalecen en estas regiones las cuales resultan idóneas para otras enfermedades, mientras que para bacterias es limitada.

El promedio de las variedades indica que existe mayor variación, por lo que las variedades se comportan de manera diferente a las condiciones ambientales de los sitios de evaluación. Las diferencias identificadas en PSI no fueron significativas estadísticamente entre las variedades Tlaxcala F2000 y Nana F2007, pero si en Gálvez M87 (Cuadro 1). Lo que podría indicar que, de las tres variedades evaluadas, Gálvez M87 probablemente posea genes que le confieren resistencia a bacterias y/o debido a que es una variedad de ciclo precoz (45 días a espigamiento), esta característica le permita tener escape a la enfermedad como lo mencionan Hortelano-Santa Rosa *et al.* (2016). Por otra parte, al comparar los resultados obtenidos en PG, se observó también un comportamiento diferente de cada variedad. El mayor porcentaje de germinación se registró en Tlaxcala F2000 cuyo valor fue estadísticamente superior a Nana F2007 y Gálvez M87 como se indica en el Cuadro 1.

Los resultados de la comparación de medias para los diferentes productos y tiempo de exposición (tratamientos químicos) en el Cuadro 2, muestran diferencias estadísticas contrastantes entre los valores observados para cada tratamiento aplicado a las variedades evaluadas. El hipoclorito de sodio al 5% a 2 y 3 min, fue el tratamiento más efectivo en la reducción del PSI cuyos valores fueron es-

The results of means comparison of the different products and exposure time (chemical treatments) in Table 2, show statistically contrasting differences among the values observed in each treatment applied to the evaluated varieties. The most effective treatment to reduce PSI was 5% sodium hypochlorite at 2 and 3 min, whose values were statistically like the values obtained when using 2% sodium hypochlorite. Although the values do not show statistical differences, there is a numerical superiority in the case of 5% sodium hypochlorite at different exposure times. For the seed treated with Metacaptan, the values were statistically similar to those obtained using 2% sodium hypochlorite, except at a 90 g dose, where the mean value was statistically similar that obtained using 5% sodium hypochlorite (Table 2). The treatments with copper hydroxide were more effective at low doses (200 g). However, our results are not satisfactory due to the high percentage of infected seeds (55% of infected seed). In the case of seed treated with hydrogen peroxide, the infection values were very high and the three-time intervals for the treatment were statistically similar. The check treatment had the highest percentage of infected seeds (93.9%), and as expected, the control of bacterial infection was statistically null. However, the PG was more than 10% higher compared to the PG of the treatment with copper hydroxide (300 g/100 kg of seed) (Table 2).

In the PG variable, the performance was very similar to the control in PSI. The highest germination percentage was obtained with 5% sodium hypochlorite at 1 min, with an average value of 82%. This value is statistically similar to that obtained with sodium hypochlorite at 2 min, which, when compared to the PSI values, showed the best bacterial control. Although the variations in the average response to the PG treatments are more contrasting between and among the groups

**Cuadro 2. Comportamiento promedio de incidencia de bacterias en semilla y porcentaje de germinación para tratamientos químicos aplicados en tres variedades de trigo harinero y cuatro localidades.**

**Table 2. Average performance of the level of incidence of bacteria in seed and germination percentage of the chemical treatments applied to three bread wheat varieties and four locations.**

Tratamiento	PSI	PG
Testigo sin tratar	93.9 a	68.6 abcd
Peróxido de hidrógeno 1 min	70.6 cb	79.2 ab
Peróxido de hidrógeno 2 min	76.1 b	65.0 cd
Peróxido de hidrógeno 3 min	68.6 cb	59.2 d
Hidróxido cúprico 200 g/100 kg semilla	55.1 d	69.2 abcd
Hidróxido cúprico 300 g/100 kg semilla	63.1 cd	56.6 d
Hidróxido cúprico 400 g/100 kg semilla	64.7 cbd	57.5 d
Metoxicloro+Captan 80 g/100 kg semilla	33.3 e	74.2 abc
Metoxicloro+Captan 90g/100 kg semilla	29.4 fe	65.0 cd
Metoxicloro+Captan 100 g/100 kg semilla	34.4 e	68.1 bcd
Hipoclorito de sodio al 2 % 1 min	26.9 fe	79.4 ab
Hipoclorito de sodio al 2 % 2 min	23.9 fe	76.1 abc
Hipoclorito de sodio al 2 % 3 min	27.2 fe	67.8 bcd
Hipoclorito de sodio (CLORALEX 5%) 1 min	22.2 fe	81.9 a
Hipoclorito de sodio (CLORALEX 5%) 2 min	18.9 f	76.3 abc
Hipoclorito de sodio (CLORALEX 5%) 3 min	18.6 f	64.3 cd
DHS	1.23	1.36

PSI: porcentaje de semilla infectada; PG: porcentaje de germinación. DHS: diferencia honesta significativa. Valores con letra similares dentro de columnas son estadísticamente iguales (Tukey  $p \leq 0.05$ ) / PSI: infected seed percentage; PG: germination percentage. SHD = significant honest difference. Values with similar letters in the columns are statistically equal (Tukey  $p \leq 0.05$ ).

tadísticamente similares a los observados con los tratamientos de hipoclorito de sodio al 2%. Aunque los valores obtenidos no muestran diferencias estadísticas, numéricamente se observa una superioridad para hipoclorito de sodio al 5% en sus distintos tiempos de exposición. Para los tratamientos con Metacaptan, los valores observados fueron estadísticamente similares a los obtenidos para hipoclorito de sodio al 2%, con excepción de la dosis a 90 g cuyo valor promedio fue similar estadísticamente a los valores obtenidos con hipoclorito de sodio al 5% (Cuadro 2). Los tratamientos de hidróxido cúprico mostraron un mayor control cuando se utilizan dosis bajas (200 g); sin embargo, los resultados obtenidos no son satisfactorios debido al alto porcentaje de semillas infectadas (55% de semilla

of products, it can be generally observed that treatments with hydrogen peroxide and copper hydroxide have the lowest germination percentages and are directly related to the control of the incidence; they are also the treatments with the lowest control in this study.

In the case of the control, the mean germination percentage is statistically similar to that of all the chemical treatments, when all the treatments were conjunctly analyzed; showed that the time interval or the product dose has a significant influence in the response of seed germination. The germination value of the check is not affected as it happens in the treatments to which some chemical product is applied though there is no control of bacteria incidence in the check. These results agree with the



infectada). En el caso del tratamiento con peróxido de hidrógeno, se observaron valores de infección muy altos siendo estadísticamente similares los tres tiempos utilizados para este tratamiento. El tratamiento testigo mostró el mayor porcentaje de semillas infectadas (93.9 %) como se esperaría, el control de la infección por bacterias fue estadísticamente nulo. Sin embargo, en el PG fue superior en más del 10% con respecto al PG obtenido por el tratamiento del Hidróxido cúprico 300 g/100 kg de semilla (Cuadro 2).

Para la variable PG, se observó un comportamiento similar al control observado en PSI. El mayor porcentaje de germinación se tuvo con hipoclorito de sodio al 5% a 1 min siendo su valor promedio de 82%; este valor es similar estadísticamente al obtenido con hipoclorito de sodio a 2 min lo cual, al compararlos con los valores de PSI, se tienen los mejores controles de bacteria. No obstante, que la variación en la respuesta promedio de los tratamientos para PG son más contrastantes entre y dentro de grupos de productos, es posible observar de manera general que, en los tratamientos con peróxido de hidrógeno e Hidróxido cúprico se tienen los menores porcentajes de germinación cuya relación directa en el control de la incidencia, también son los que menor control tienen en este estudio. En el caso del testigo, el porcentaje promedio de germinación muestra similitud estadística con todos los tratamientos químicos, lo cual, al analizar a todos los tratamientos en su conjunto, se observa que el tiempo o dosis de producto influye significativamente en la respuesta a la germinación de las semillas, y dado que, en el testigo, aunque no se tiene control de la incidencia de bacterias, su valor de germinación no se ve afectado, como ocurre en los tratamientos donde se aplica algún producto químico. Dichos resultados concuerdan con lo reportado por Lozano-Ramírez *et al.* (2006), quienes indican que al aplicar a la semilla de trigo la mezcla

results reported by Lozano-Ramírez *et al.* (2006), who indicated that when a mixture of four active ingredients (carboxine+captan+thiram+tebuconazole) was used to control *Fusarium graminearum*, the germination percentage was affected and reduced to 85.5% compared to that of the control (97%).

Currently, with the re-emergence of phytopathological problems caused by bacteria, as pointed out by Adhikari *et al.* (2011) and Kandel *et al.* (2012); considering that one of the main means of bacterial diseases dispersal is seed, germplasm exchange and seed movement from one site to another, as indicated by Navarrete-Maya *et al.* (2014), Gitaitis and Walcott (2007); and, because of the short availability of genetically resistant wheat germplasm (Sapkota *et al.*, 2020), chemical treatments can be one of the most viable measures for seed treatment, as indicated by Munkvold (2009), which entails the decrease of the level of incidence and dispersal of bacterial and phytopathogenic fungi in wheat crops, since these factors limit the yield potential of the genotype.

Although the best bacterial control was achieved with 5% sodium hypochlorite (Cloralex commercial product), when the seed is exposed for long periods, the percentage germination is affected. Maeso and Walasek (2012) reported an effective control (99%) using sodium hypochlorite 1% of active chlorine in a treatment applied to tomato seed to protect it against bacterial canker caused by *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, without affecting germination. Currently, the main objective of seed treatments is to control fungi. Yet, it is also important to consider bacteria, and, for this reason, a treatment with Metacaptan (Metoxicloro+Captan) at a higher dose (90 g/100 kg/seed) than the recommended (80 g/100 kg/ of seed) is a viable option. Regarding copper hydroxide, Forster and Schaad (1988) reported an effective control in *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*

de cuatro ingredientes activos (carboxina+captan+thiram+tebuconazole) para el control de *Fusarium graminearum*, el porcentaje de germinación fue afectada disminuyendo en un 84.5% en comparación con el testigo que fue de un 97%.

En la actualidad con el resurgimiento de los problemas fitopatológicos causados por bacterias como lo indican Adhikari *et al.* (2011) y Kandel *et al.* (2012) considerando que uno de los principales medios de propagación de las enfermedades causadas por bacterias es por medio de la semilla, por el intercambio de germoplasma y por el movimiento de esta de un sitio a otro como lo indican Navarrete-Maya *et al.* (2014) y Gitaitis y Walcott (2007) y, debido a la limitada disponibilidad de germoplasma de trigo con resistencia genética (Sapkota *et al.*, 2020), el tratamiento químico puede ser una de las medidas más viables para el tratamiento de semilla como lo indica Munkvold (2009) y que conlleva a disminuir la incidencia y diseminación de bacterias y hongos fitopatógenos en el cultivo de trigo, que afectan la calidad fisiológica de la semilla y que limitan explotar el potencial de rendimiento del genotipo.

El mejor control de bacterias se obtuvo con hipoclorito de sodio al 5% (producto comercial Cloralex), aunque a tiempos prolongados de exposición de la semilla, el porcentaje de germinación se ve afectado. Maeso y Walasek (2012) reportaron un control efectivo (99%) con hipoclorito de sodio 1% de cloro activo, para el tratamiento de semilla de tomate contra cancro bacteriano causado por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, sin efecto en la germinación. En la actualidad el principal objetivo de tratar la semilla es para el control de hongos; pero es importante considerar también a las bacterias, por lo que el tratamiento con Metacaptan (Metoxicloro+Captan) a una dosis más alta (90 g/100 kg/semilla) de la recomendada (80 g/ 100 kg/ semilla) es una opción viable. Para el Hidróxido

(Syn. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*) in seed treatments at a dose of 260 mL/100 kg of seed. However, in this study, the obtained results were not satisfactory because other products were more effective (5% sodium hypochlorite). It is important to consider the combination of chemotherapy and thermotherapy studies in further research since these could provide a more effective control.

Based on the results of this study, the best product (effective and low-cost) for controlling bacteria was 5% sodium hypochlorite at 2 and 3 min, followed by 2% sodium hypochlorite at 2 min, and Metacaptan at 90 g. However, when using 5% sodium hypochlorite at 3 min, germination was reduced by 17%. The least effective product was hydrogen peroxide at 2 min, but none of the products used was 100% effective for controlling bacteria. Currently, it is important to highlight that the genetic improvement programs should take into consideration the diseases caused by bacteria given that the crop yield and economic losses are significant and there is no genetic resistance to address this problem.

~~~~~ End of the English version ~~~~~

cúprico Forster y Schaad (1988), reportaron un control efectivo para *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* (Syn. *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*), tratando la semilla de trigo a una dosis de 260 mL/100 kg de semilla, no obstante, en el presente estudio los resultados no fueron satisfactorios ya que otros productos tuvieron mayor efectividad (hipoclorito de sodio al 5%). Es importante considerar para futuros estudios conjuntar quimioterapia y termoterapia lo que podría llegar a un control más eficiente.

Con el presente estudio, se determinó que el mejor producto (eficiente y de bajo costo) para el control de bacterias fue hipoclorito de sodio al 5% a 2 y 3 min, seguido de hipoclorito de sodio al 2% por 2 min y Metacaptan a 90 g; sin embargo, hipoclorito de sodio al 5% durante 3 min afectó la germinación en un 17%. El producto menos efectivo fue peróxido de hidrógeno a 2 min; no obstante, ningún producto aplicado funcionó al 100% en el control de bacterias. En la actualidad es importante considerar en los programas de mejoramiento genético a las enfermedades causadas por bacterias, ya que las pérdidas del rendimiento y económicas están siendo significativas y no existe resistencia genética para esta problemática.

## LITERATURA CITADA

- Adhikari TB, Hansen JM, Gurung S and Bonman JM. 2011. Identification of new sources of resistance in winter wheat to multiple strains of *Xanthomonas translucens* pv. *undulosa*. Plant Disease. 95:582-588. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-10-0760>
- Avila-Quezada GD, Esquivel JF, Silva-Rojas HV, Leyva-Mir SG, Garcia-Avila C de J, Noriega-Orozco L, Rivas-Valencia P, Ojeda-Barrios D and Castillo AM. 2018. "Emerging Plant Diseases under a Changing Climate Scenario: Threats to Our Global Food Supply". Emirates Journal of Food and Agriculture. 30 (6):443-450. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2018.v30.i6.1715>
- Beddow JM, Pardey PG, Chai Y, Hurley TM, Kriticos DJ, Braun HJ, Park RF, William SC and Yonow T. 2015. Research investment implications of shifts in the global geography of wheat stripe rust. Nature Plants. 1:15132. <https://doi.org/10.1038/NPLANTS.2015.132>
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2018. Crops. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> (Diciembre 2018).
- Forster RL and Schaad NW. 1988. Control of black chaff of wheat with seed treatment and a foundation seed health program. Plant Disease 72:935-938. <https://doi.org/10.1094/PD-72-0935>
- Gitaitis R and Walcott R. 2007. The epidemiology and management of seedborne bacterial diseases. Annual Review of Phytopathology. 45:371-397. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-45.062806.094321>
- Hortelano- Santa Rosa R, Espitia-Rangel E, Martínez-Cruz E, Villaseñor-Mir HE, Huerta-Espino J y Mariscal-Amaro L. 2016. Productividad y calidad industrial de trigos harineros en relación a enfermedades. Agrociencia. 50:1027-1039. <https://www.colpos.mx/agrocien/Bimestral/2016/nov-dic/art-7.pdf>
- Kandel YR, Glover KD, Tande CA and Osborne LE. 2012. Evaluation of spring wheat germplasm for resistance to bacterial leaf streak caused by *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*. Plant Disease. 96:1743-1748. <https://doi.org/10.1094/PDIS-03-12-0303-RE>
- Lozano-Ramírez N, Mezzalama M, Carballo-Carballo A y Hernandez-Livera A. 2006. Efectos de fungicidas en la calidad fisiológica de la semilla de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) y su eficacia en el control de *Fusarium graminearum* Schwabe [*Gibberella zeae* (Schwein.) Petch.] y *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker [*Cochliobolus sativus* S. Ito y Kurib.] Revista Mexicana de Fitopatología. 24: 115-121. <http://www.redalyc.org/html/612/61224205/>
- Maeso D y Walasek W. 2012. Evaluación de métodos para desinfectar semillas de tomate contra cancro bacteriano (*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*). Agrociencia Uruguay 16:134-141. [http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2301-15482012000100016](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2301-15482012000100016)
- Mezzalama, M. 2013. Sanidad de semilla: Promover la distribución segura de semilla de maíz y de trigo: Lineamientos generales. Tercera edición. México, D. F: CIMMYT. 50 pp.
- Munkvold PG. 2009. Seed pathology progress in academia and industry. Annual Review of Phytopathology. 47:285-311. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080508-081916>
- Navarrete-Maya R, Aranda-Ocampo S, Rodríguez-Mejía ML, Moya-Hernández SL y González-Ochoa MG. Bacterias Fitopatógenas en Semillas: Su Detección y Regulación. 2014. Revista Mexicana de Fitopatología. 32: 75-88. [http://rmf.smf.org.mx/Vol3222014/AR/32-2\\_01.pdf](http://rmf.smf.org.mx/Vol3222014/AR/32-2_01.pdf)
- Sapkota S, Mergoum M, Liu Z. 2020. The translucens group of *Xanthomonas translucens*: Complicated and important pathogens causing bacterial leaf streak on cereals. Molecular Plant Pathology. 00:1-12. <https://doi.org/10.1111/mpp.12909>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2019. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). México. <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>
- Singh RP, Singh PK, Rutkoski J, Hodson DP, Lee X, Jorgensen LN, Hovmoller MS and Huerta-Espino J. 2016. Disease impact on wheat yield potential and prospects of genetic control. Annual Review of Phytopathology. 54:303-322. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-080615-095835>
- Valencia-Botín AJ and Cisneros-López ME. 2012. A review of the studies and interactions of *Pseudomonas syringae* pathovars on wheat. International Journal of Agronomy 4:5. <https://doi.org/10.1155/2012/692350>
- Villaseñor MHE, y Espitia RE. 2000. Características de las áreas productoras de trigo de temporal: Problemática y condiciones de producción. In: El trigo de temporal en México. Villaseñor MHE, y Espitia RE, (eds.). Chapingo, Edo. de Méx., México, SAGAR, INIFAP, CEVAMEX. Libro Técnico No. 1. pp 85-97. <http://biblioteca.inifap.gob.mx:8080/jspui/handle/123456789/1821>
- Warham EJ, Butler LD y Sutton RC. 1997. Ensayo para la semilla de maíz y de trigo: Manual de laboratorio. CIMMYT, México. 84p. <https://repository.cimmyt.org/bitstream/handle/10883/579/67049.pdf?sequence=1&isAllowed=y>