

# Respuesta de Trigos con la presencia de translocación 2NS/2AS, *Rmg8* y *Rmg7* a *Pyricularia oryzae* patotipo *Triticum* de Paraguay.

Cinthia Carolina Casal-Martínez<sup>1,2</sup> ; Yessica Magaliz Reyes-Caballero<sup>3</sup> ; Man Mohan Kohli<sup>4</sup> 

<sup>1</sup>Centro Multidisciplinario de Investigaciones Tecnológicas (CEMIT) - Universidad Nacional de Asunción (UNA) - San Lorenzo-Paraguay.

<sup>2</sup>Instituto de Estudios de Posgrado- Universidade de Córdoba, PhD student- Córdoba, España. <sup>3</sup>Centro de Investigación Capitan Miranda – Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria (IPTA) – Capitan Miranda, Paraguay. <sup>4</sup>Cámara Paraguaya de Exportadores y Comercializadores de Cereales Oleaginosas (CAPECO) – Asunción, Paraguay.

Autor de correspondencia: Cinthia Carolina Casal-Martínez (ccasal@rec.una.py)

Data de chegada: 12/10/2021. Aceito para publicação em: 13/01/2022

10.1590/0100-5405/257220

## RESUMEN

Casal-Martínez, C. C.; Reyes-Caballero, Y. M.; Kohli, M. M. Respuesta de Trigos con la presencia de translocación 2NS/2AS, *Rmg8* y *Rmg7* a *Pyricularia oryzae* patotipo *Triticum* de Paraguay. *Summa Phytopathologica*, v.48, n.1, p.32-35, 2022.

Se conocen pocas fuentes de resistencia a *Pyricularia oryzae* B.C. Couch and L.M. Kohn en trigo. La mayor respuesta de resistencia esta vinculada a una translocación del segmento 2NS/2AS de *Aegilops ventricosa*, seguido de otros genes como *Rmg8* y *Rmg7* localizados en los cromosomas 2B (trigo hexaploide) y 2A (trigos tetraploide) respectivamente. Es conocido que este patógeno presenta especificidad por hospederos y una amplia variabilidad

genética. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta fenotípica de trigos con presencia de translocación 2NS/2AS o *Rmg8* o *Rmg7* a *Pyricularia oryzae* patotipo *Triticum* prevalente en Paraguay. Las evaluaciones de espigas con aislados autoctonos mostraron una reacción de resistencia en los materiales con la translocación del segmento 2NS/2AS y una reacción de susceptibilidad moderada a susceptibilidad en los materiales con el gen *Rmg8* y *Rmg7* respectivamente.

**Palabras clave:** *Pyricularia* en trigo, respuesta fenotípica, fuentes de resistencia.

## RESUMO

Casal-Martínez, C. C.; Reyes-Caballero, Y. M.; Kohli, M. M. Resposta do trigo com translocação 2NS/2AS, *Rmg8* e *Rmg7* para *Pyricularia oryzae* pathotype *Triticum* do Paraguai. *Summa Phytopathologica*, v.48, n.1, p.32-35, 2022.

Poucas fontes de resistência do trigo à *Pyricularia oryzae* B.C. Couch and L.M. Kohn em trigo são conhecidas, estando a principal ligada a uma translocação do segmento 2NS/2AS de *Aegilops ventricosa*, seguida por outros genes como *Rmg8* e *Rmg7* localizados nos cromossomas 2B (trigo hexaploide) e 2A (trigo tetraploide), respectivamente. É igualmente conhecido que este fungo apresenta especificidade de hospedeiro e uma grande variabilidade genética,

pelo que o objetivo deste trabalho foi avaliar a resposta fenotípica do trigo com translocação 2NS/2AS, *Rmg8* e *Rmg7* para *Pyricularia oryzae* pathotype *Triticum* do Paraguai. Para este fim, as infecções foram avaliadas com isolados autóctonos e foi observada uma reação de resistência nos materiais com a translocação do segmento 2NS/2AS e uma reação de susceptibilidade moderada à suscetível nos materiais com os genes *Rmg8* e *Rmg7*, respectivamente.

**Palavras chave:** Bruzone en trigo, resposta fenotípica, fontes de resistência.

## ABSTRACT

Casal-Martínez, C. C.; Reyes-Caballero, Y. M.; Kohli, M. M. Response of wheat carrying 2NS/2AS, *Rmg8* and *Rmg7* translocation to *Pyricularia oryzae* pathotype *Triticum* from Paraguay. *Summa Phytopathologica*, v.48, n.1, p.32-35, 2022.

There are few known sources of resistance to *Pyricularia oryzae* B.C. Couch and L.M. Kohn in wheat, the major of which is linked to a translocation of the 2NS/2AS segment of *Aegilops ventricosa*, followed by other genes such as *Rmg8* and *Rmg7* located on chromosomes 2B (hexaploid wheat) and 2A (tetraploid wheat), respectively. The pathogen is also known to have host specificity and wide genetic variability; therefore, the objective of this study was to evaluate the

phenotypic response of wheat carrying 2NS/2AS, *Rmg8* and *Rmg7* translocation to *Pyricularia oryzae* pathotype *Triticum* from Paraguay. The infections were evaluated with autochthonous isolates, indicating a resistance reaction for materials carrying translocation of the 2NS/2AS segment and a susceptibility reaction that was moderate to susceptible for materials with *Rmg8* and *Rmg7* genes, respectively.

**Keywords:** wheat blast, phenotypic response, sources of resistance.

*Pyricularia* sp. es un hongo fitopatogeno para mas de 50 especies de Poaceas, entre ellas cereales de importancia agricola a nivel mundial, como el arroz, trigo, cebada y avena etc. En trigo, esta enfermedad conocida como *Pyricularia*/Bruzone/Blast ha causado pérdidas económicas a nivel regional desde su primer reporte en

1985 en Paraná, Brasil (5, 7). El primer caso de la enfermedad fuera de Sudamerica fue reportado en 2016 y ha tomado una velocidad de expansión asombrosa en estos ultimos cinco años siendo reportada en campos del cultivos de trigo en diferentes regiones de Asia y Africa (3, 8, 10). Actualmente existen pocas fuentes de resistencia a este hongo

en trigo, y el de mayor respuesta esta vinculado a una translocación del segmento 2NS/2AS de *Aegilops ventricosa* (Zhuk.) Chennav, seguido de otros genes como *Rmg8* y *Rmg7* localizados en los cromosomas 2B (trigo hexaploide) y 2A (trigos tetraploide) respectivamente (4-2). Atendiendo la variabilidad genética de este patógeno y su habilidad de causar infecciones diferenciales entre sus huéspedes, el objetivo de este trabajo fue evaluar la respuesta fenotípica de trigos conteniendo translocación 2NS/2AS o *Rmg8* o *Rmg7* a *Pyricularia oryzae* patotipo *Triticum* de Paraguay.

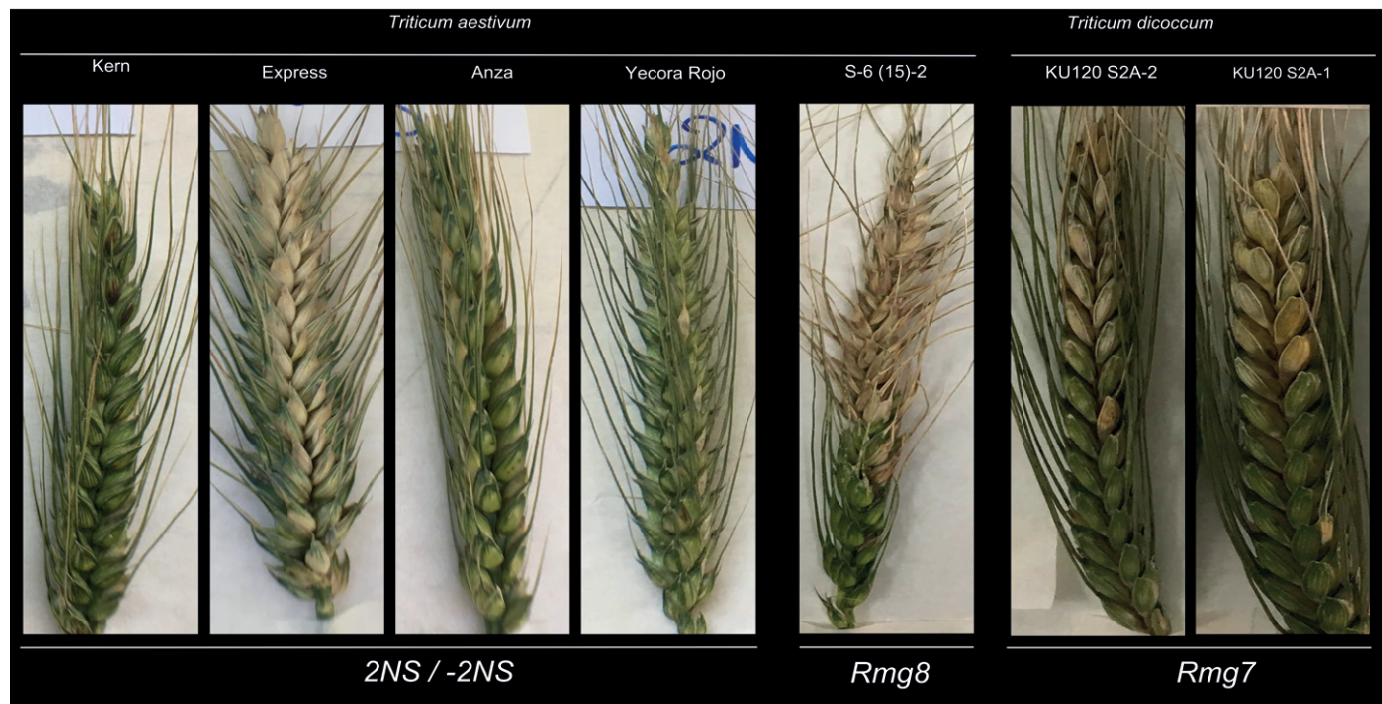
Se utilizaron tres aislados (ATae039, CTae009, YTae031) de *P. oryzae* patotipo *Triticum*, pertenecientes a la Colección de Pyricularia del Instituto Paraguayo de Tecnología Agraria (IPTA) y conservadas en la Colección de cultivos microbianos de la UNA (Universidad Nacional de Asunción) (FELACC SI-70). Los aislados fueron identificados por sus características morfológicas y moleculares, siguiendo la clave propuesta por Klaubauf et al. (6). Las secuencias parciales de las regiones del Espaciador transcrito interno (ITS) y subunidad mayor de la enzima ARN polimerasa II (RPB1) fueron depositadas en GenBank bajo los ID: ITS (MN947534.1; MN947529) RPB1 (MN984725; MN984718). Se evaluaron siete materiales en total, siendo cinco de *Triticum aestivum* L. y dos de *Triticum durum* L.. Del grupo de *T. aestivum*, cuatro materiales genéticos (Kern, Express, Anza y Yecora Rojo) cuentan con la translocación 2NS/2AS de *Aegilops ventricosa* (Zhuk.) Chennav y que fueron proveídos por el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA), y uno (S615) con el gen *Rmg8* proveído por la Dra. Y. Tosa, de la Universidad de Kobe, Japón. Los dos materiales de *T. durum* (KU-120 A-1 y A-2) fueron recibidos de la Dra. Y. Tosa de la Universidad de Kobe, Japón.

Para las inoculaciones se utilizó un equipo aspersor con compresor de aire de 1/5 HP y 58 PSI, con una concentración de  $5 \cdot 10^4$  conidias. mL<sup>-1</sup> durante los años 2017-2018 en un invernadero del Centro de Investigación Hernando Bertoni del IPTA, Caacupe-Paraguay. Las plantas inoculadas se mantuvieron bajo condiciones controladas de temperatura (28±2 °C) y humedad relativa del aire (85±5 %) durante un

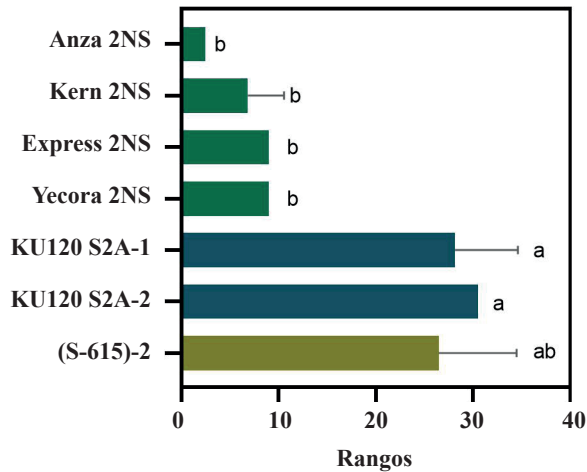
periodo de 72 horas. Se tomaron las evaluaciones a los 22 días después de la inoculación, utilizando la escala de Anh et al., (1) con siguientes modificaciones, 0 = Sin infección visible, 1 = lesiones del tamaño de la cabeza de un alfiler, 2= desde pequeñas lesiones (<1,5 mm) hasta lesiones dispersas de tamaño intermedio (< 3mm), 3 = mezcla de tejidos verdes y blancos sin pardeamiento aparente causada por una reacción de hipersensibilidad, y 4 = la necrosis o estrangulamiento completo de la espiga. Los tipos de infección 0 a 1 se consideran resistentes, 2-3 moderadamente resistentes o susceptible y 4 susceptibles. Se realizaron pruebas de normalidad basadas en el Test de Shapiro-Wilk para el análisis de los datos. Considerando la falta de cumplimiento del supuesto de normalidad, se utilizó el Test de Kruskal-Wallis y las pruebas de comparación múltiple por Dunn's, utilizando el programa estadístico de GraphPad Prism V 8.0.0.

Los resultados obtenidos se observan en la Figura 1, donde se muestran los síntomas en espigas infectadas por *P. oryzae* patotipo *Triticum*. Se pudieron observar síntomas leves (Reacción 1-2) en los materiales con el segmento 2NS. Sin embargo, los materiales basados en la resistencia de *Rmg8* y *Rmg7* tuvieron síntomas severos de susceptibilidad (Reacción 3-4).

Las diferencias significativas entre los materiales según la prueba de Kruskal-Wallis fueron sometidas al Test de Dunn's para identificar las reacciones entre los materiales con resistencia mediada por la translocación 2NS y los genotipos con el gen *Rmg7*, siendo los primeros en presentar mayor efectividad para controlar la infección. En cuanto a el genotipo con el gen de resistencia *Rmg8*, no se observó diferencias significativas comparados con los genotipos con la translocación 2NS y con el gen *Rmg7* mencionados. Tagle et al., (9) menciona que el gen de resistencia *Rmg7* pierde efectividad a temperaturas mayores a 24 °C. Considerando el ambiente de infección de los aislados locales que es de 28 a 32 °C (condición que se da en el campo en épocas de espigamiento), este pudo ser un factor para la respuesta de susceptibilidad de estos materiales en Paraguay. Lo mismo explican Anh et al., (2) para el gen *Rmg8* donde su efectividad fue validada hasta los 26 °C.



**Figura 1.** Reacciones fenotípicas de los 6 cultivares de trigo, con las 3 fuentes de resistencia conocidas.



**Figura 2.** Rangos de infección en materiales obtenidas a partir de la prueba de Kruskal-Wallis de los datos del ANOVA ( $p < 0.0001$ ) y el Test de comparación múltiple Dunn's ( $\alpha; 0,05$ ). Rangos con misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas.

**Tabla 1.** Estadística descriptiva y resultado de Test Kruskal-Wallis con respecto a las reacciones en espiga de los materiales infectados por aislados autoctonos de *P. oryzae* patotipo *Triticum*.

Genotipos	(S-615)-2	KU120 S2A-1	KU120 S2A-2	Yecora 2NS	Express 2NS	Anza 2NS	Kern 2NS
<b>N</b>	4	16	13	3	3	3	3
<b>Reaccion</b>	MS	S	S	MR	MR	R	MR
<b>Minimo</b>	3	2	4	2	2	1	1
<b>25% Percentil</b>	3,25	4	4	2	2	1	1
<b>Mediana</b>	4	4	4	2	2	1	2
<b>75% Percentil</b>	4	4	4	2	2	1	2
<b>Maximo</b>	4	4	4	2	2	1	2
<b>Media</b>	3,75	3,81	4,00	2,00	2,00	1,00	1,67
<b>Devio estandar</b>	0,50	0,54	0,00	0,00	0,00	0,00	0,58
<b>Media-Desvio estandar</b>	0,25	0,14	0,00	0,00	0,00	0,00	0,33
<b>IC Inferir 95%</b>	2,95	3,52	4,00	2,00	2,00	1,00	0,23
<b>IC Superior 95%</b>	4,55	4,10	4,00	2,00	2,00	1,00	3,10

Abreviaturas: S: susceptible, MS: moderadamente susceptible, MR: moderadamente resistente, R: Resistente. IC: intervalo de confianza. Análisis del Test Kruskal-Wallis ( $P < 0,0001$ ), KW statistic: 36,91.

Los cuatro genotipos de trigo hexaploide con resistencia mediada por el segmento 2NS se presentaron con resistencia a moderada resistencia, en cuanto a S-615-2, presento moderada susceptibilidad. Mientras que, los trigos tetraploides Ku120 S2A-1 y 2 fueron susceptibles.

Se puede decir basados en nuestras evaluaciones que la fuente de resistencia en trigos hexaploides presentan un mejor comportamiento teniendo en cuenta la baja severidad causada por nuestros aislados, lo que no se ha observado en los trigos tetraploides. El efecto de la translocación 2NS/2AS y el gen *Rmg8* como resistentes y

moderadamente susceptible fue efectiva. Sin embargo, teniendo en cuantas las condiciones ambientales de temperaturas medias superiores a 26 °C y alta humedad en epocas de espigamiento del trigo, las resistencias mediadas por los genes *Rmg7* y *Rmg8* no son efectivas para Paraguay.

#### AGRADECIMIENTOS

Por los materiales de trigo evaluados:

-Dr. Gary Peterson, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA).

-Dra. Y. Tosa, Universidad de Kobe, Japón.

Por los aislados de *Pyricularia*.

-MSc. Alice Chávez, Cámara Paraguaya de Exportadores y Comercializadores de Cereales y Oleaginosas, Paraguay.

## REFERENCIAS

1. Anh, V.L.; Anh, N.T.; Tagle, A.G.; Thi, T.; Vy, P.; Inoue, Y.; Takumi, S.; Chuma, I.; Tosa, Y. *Rmg8*, a New Gene for Resistance to *Triticum* Isolates of *Pyricularia oryzae* in Hexaploid Wheat. **Phytopathology**, United States-Minnesota, v.105, n.12, p.1568–1572, 2015. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1094/PHYTO-02-15-0034-R>.
2. Anh, V.L.; Anh, N.T.; Tagle, A.G.; Thi, T.; Vy, P.; Inoue, Y.; Takumi, S.; Chuma, I.; Tosa, Y.; Asuke, S.; Vy, T.T.P.; Anh, N.T.; Wang, S.; Chuma, I.; Tosa, Y. *Rmg8* and *Rmg7*, wheat genes for resistance to the wheat blast fungus, recognize the same avirulence gene *AVR-Rmg8*. **Molecular Plant Pathology**, United Kingdom Cidade, v.19, n.5, p.1252–1256, 2018. DOI: <https://doi.org/https://doi.org/10.1111/mpp.12609>
3. Callaway, E. Devastating wheat fungus appears in Asia for first time. **Nature**, United Kingdom Cidade, v.532, p.421–422, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1038/532421a>
4. Cruz, C.D.; Peterson, G.L.; Bockus, W.W.; Kankanala, P.; Dubcovsky, J.; Jordan, K.W.; Akhunov, E.; Chumley, F.; Baldelomar, F.D.; Valent, B. The 2NS Translocation from *Aegilops ventricosa* Confers Resistance to the *Triticum* Pathotype of *Magnaporthe oryzae*. **Crop Science**, United States, Cidade, v.56, n.3, p.990–1000, 2016. DOI: <https://doi.org/10.2135/cropsci2015.07.0410>
5. Igarashi, S.; Utiamada, C.M.; Kasuma, A.H.; López, R.S. *Pyricularia* sp em trigo. 1. Ocurrencia de *Pyricularia* sp no Estado do Paraná. **Fitopatología Brasileira**, Brasília, v.11, p.351–352, 1986.
6. Klaubauf, S.; Tharreau, D.; Fournier, E.; Groenewald, J.Z.; Crous, P.W.; de Vries, R.P.; Lebrun, M.-H. Resolving the polyphyletic nature of *Pyricularia* (Pyriculariaceae). **Studies in Mycology**, Netherlands Cidade, v.79, p.85–120, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.004>
7. Kohli, M.; Mehta, Y.R.; Guzman, E.; Viedma, L.; Cubilla, L.E. *Pyricularia* blast—a threat to wheat cultivation. **Czech Journal of Genetics and Plant Breeding**, Czech Republic Cidade, v.47, n.1, 130–134, 2011. DOI: <https://doi.org/DOI: 10.17221/3267-CJGPB>
8. Malaker, P.K.; Barma, N.C.D.; Tiwari, T.P.; Collis, W.J.; Duveiller, E.; Singh, P.K.; Joshi, A.K.; Singh, R.P.; Braun, H.-J.; Peterson, G.L.; Pedley, K.F.; Farman, M.L.; Valent, B. First Report of Wheat Blast Caused by *Magnaporthe oryzae* Pathotype *triticum* in Bangladesh. **Plant Disease**, United States Cidade, v.100, n.11, 2330, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-16-0666-PDN>
9. Tagle, A.G.; Chuma, I.; Tosa, Y. *Rmg7*, a New Gene for Resistance to *Triticum* Isolates of *Pyricularia oryzae* Identified in Tetraploid Wheat. **Phytopathology**, United States Cidade, v.105, n.4, p.495–499, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.49.1259.174>
10. Tembo, B.; Mulenga, R.M.; Sichilima, S.; M’siska, K.K.; Mwale, M.; Chikoti, P.C.; Singh, P.K.; He, X.; Pedley, K.F.; Peterson, G.L.; Singh, R.P.; Braun, H.J. Detection and characterization of fungus (*Magnaporthe oryzae* pathotype *Triticum*) causing wheat blast disease on rain-fed grown wheat (*Triticum aestivum* L.) in Zambia. **PLoS ONE**, United States Cidade, v.15, p.1–10, Sept. 2020. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0238724>