

УДК 575+633.11:632.488

ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГЕНОВ *Tsn1* И *ToxA* В ПАТОСИСТЕМЕ *TRITICUM AESTIVUM* – *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS*

Н.В. Мироненко, Н.М. Коваленко

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург

Желтая пятнистость листьев, вызываемая грибом *Pyrenophora tritici-repentis*, – вредоносное и широко распространенное в Российской Федерации заболевание пшеницы. В последние годы предлагается проводить MAS против доминантной аллели гена восприимчивости к желтой пятнистости *Tsn1* для ускорения селекционного процесса. Однако в этих работах недооценивается фактор популяционного разнообразия патогена по генам эффекторам и конкретно по гену *ToxA*, контролирующему синтез некроз индуцирующего токсина PtrToxA на восприимчивых сортах с комплементарным геном *Tsn1*. В данной работе проведен анализ результатов инокуляции 24 сортов мягкой озимой пшеницы с доминантными и рецессивными аллелями гена *Tsn1* изолятами *P. tritici-repentis*, охарактеризованными по наличию /отсутствию гена эффектора *ToxA* (*ToxA*⁺ и *ToxA*⁻). На примере взаимодействия аллелей гена *Tsn1* и гена-эффектора *P. tritici-repentis ToxA* в конкретных парах генетически охарактеризованных образцов пшеницы и изолятов патогена показано, что один и тот же признак «образование некроза на листьях» в сочетаниях различных генотипов сорт–изолят (*Tsn1Tsn1* – *ToxA*⁺/*ToxA*⁻ и *tsn1tsn1* – *ToxA*⁺/*ToxA*⁻) имеет разную генетическую природу. 41.7% случаев взаимодействия генов не соответствовали схеме ген-на-ген, что объясняется либо наличием в изолятах некроз индуцирующих токсинов, отличных от Ptr ToxA, либо снижением уровня экспрессии гена *ToxA* в различных генотипах сортов.

Ключевые слова: пшеница; *Pyrenophora tritici-repentis*; ген восприимчивости *Tsn1*; ген эффектор *ToxA*; MAS; ПЦР; патосистема; *Tsn1/ToxA* взаимодействие.

Желтая пятнистость листьев – относительно новая болезнь пшеницы. В Северной Америке и в Австралии она проявилась на уровне эпифитотий в 70-е годы XX века; в Европе (включая Россию) – в 80-е. Эпифитотии этой болезни периодически наблюдаются в разных странах мира, потери зерна у восприимчивых сортов достигают 65% [Hirrell et al., 1990]. Возбудитель болезни аскомицетный гриб *Pyrenophora tritici-repentis*. В России желтая пятнистость впервые была зарегистрирована на Северном Кавказе в 1985 г. [Гранин и др., 1989]. Высокую распространенность болезни (до 100%) отмечали в Северо-Кавказском регионе [Кремнева, Волкова, 2007]. В начале XXI века заболевание распространилось на Северо-Западе РФ, где развитие болезни на некоторых сортах пшеницы достигало 70% [Михайлова и др., 2010]. Из сортов пшеницы, выращиваемых в России, доля устойчивых к желтой пятнистости составляет 25%, что не может обеспечить удовлетворительной защиты от болезни.

P. tritici-repentis является некротрофным паразитом, продуцирующим хозяин-специфичные токсины. У патогена идентифицирован ген *ToxA*, детерминирующий образование некроза индуцирующего токсина PtrToxA на сортах пшеницы с геном восприимчивости *Tsn1*. Кроме некроза на листьях пшеницы в результате инокуляции развивается хлороз, вызываемый токсинами PtrToxB и PtrToxC. Однако основным критическим фактором вирулентности считается PtrToxA [Ciuffetti et al., 1997].

Материалы и методы

Материалом исследования служили 24 сорта мягкой озимой пшеницы КНИИСХ и 4 моноконидиальных изолята гриба *P. tritici-repentis* – ПЗ и П7 из павловской популяции (Ленинградская обл.) и Ко9 и Ко11 из краснодарской популяции (табл.2). Грибы выращивали на среде V4. Инокуля-

Взаимоотношения в патосистеме «мягкая пшеница – *P. tritici-repentis*» осуществляются по типу «ген-на-ген» в зеркальном отражении [Strelkov, Lamari, 2003; Ciuffetti et al., 2010]. В последние несколько лет появились работы, в которых предлагается использовать молекулярные маркеры на доминантную аллель *Tsn1* для маркер-вспомогательной селекции (MAS – marker assisted selection) [Faris et al., 2010; 2012; Kokhmetova et al., 2017]. Молекулярные маркеры были разработаны на дистальные области гена *Tsn 1*: SSR-маркеры Xfcp1, Xfcp620, Xfcp394 [Zhang et al., 2009] и на внутреннюю область гена для функциональной аллели – доминантный маркер Xfcp623 [Faris et al., 2010]. На основании ранее полученных нами данных о встречаемости гена *ToxA* в популяциях патогена в трех регионах РФ [Мироненко и др., 2015] и анализа встречаемости доминантной аллели *Tsn1* среди районированных в этих зонах сортов пшеницы был сделан вывод о нецелесообразности MAS пшеницы против гена *Tsn1* на устойчивость к желтой пятнистости [Мироненко и др., 2017].

Цель исследования – тестировать гипотезу взаимоотношений паразита и хозяина по принципу «ген-на ген» в патосистеме «*Triticum aestivum* – *P. tritici-repentis*» с использованием молекулярных маркеров, разработанных на ген восприимчивости пшеницы *Tsn1* и ген возбудителя *ToxA*.

Цию проростков пшеницы суспензией конидий гриба проводили известным методом [Михайлова и др., 2002]. Оценку проростковой устойчивости сортов проводили через 7–9 дней после инокуляции *P. tritici-repentis* по 5-балльной шкале Р.Г. Рис с соавторами [Rees et al., 1987] (табл.1).

Таблица 1. Шкала оценки устойчивости пшеницы к *P. tritici-repentis* [Rees et al., 1987]

| Размеры и тип повреждения | Балл | Фенотип устойчивости пшеницы |
|--|------|------------------------------|
| Симптомы отсутствуют | 0 | высокая устойчивость |
| Мелкие (до 0.5 мм) темно-коричневые пятна, хлорозов нет или они небольшие | 1 | устойчивость |
| Темно-коричневые пятна до 1 мм, могут быть хлорозы. | 2 | средняя устойчивость |
| Маленькие пятна (до 2 мм) от бледных до темно-коричневых, часто в желтом ореоле | 3 | средняя чувствительность |
| Большие (3 мм) бледно-коричневые некротические пятна, обычно с маленьким темно-коричневым центром, в основном, окружены значительными хлорозами | 4 | чувствительность |
| Большие (3–5 мм) бледно-коричневые некрозы с темнокоричневым центром, сильное пожелтение окружающих тканей. Пятна соединяются, что приводит к гибели части или всего листа | 5 | высокая чувствительность |

Изолят считали вирулентным, а сорт восприимчивым, если развитие индуцируемого в результате инокуляции некроза на листьях пшеницы соответствовало баллу 3 и выше.

Из проростков пшеницы и 10-дневной культуры гриба выделяли ДНК известным методом с помощью СТАВ [Murray, Thompson, 1980]. Доминантную аллель гена *Tsn1* идентифицировали в сортах методом ПЦР с праймерами на маркер Xfcp623 (*Tsn1*). Состав праймеров (5' -> 3'): F – СТАТТСГТААТСГТГССТТССГ; R – ССТТСТСТСАССГСТАТСТСАТ [Faris et al., 2010]. Размер диагностического фрагмента – продукта амплификации маркера Xfcp623 составляет 380 п.н. Наличие продукта амплификации свидетельствует о существовании доминантной аллели гена *Tsn1*, отсутствие – о нулевой (рецессивной) аллели *tsn1*. Состав реакционной смеси и условия ПЦР соответствовали протоколу [Roder et al., 1998]. Продукты ам-

плификации разделяли в 1.7% агарозном геле, окрашенном бромистым этидием, при напряжении 100 В в течение 3 часов и фотографировали. В качестве маркеров молекулярных масс использовали GeneRuler™ 50 b.p. DNA Ladder фирмы Fermentas.

Идентификацию гена *ToxA* у изолятов *P. tritici-repentis* проводили с помощью ПЦР с геноспецифичными праймерами (5' -> 3'): TA51F –GCGTTCTATCCTCGTACTTC; TA52R – GCATTCTCCAATTTTCACG (размер диагностического фрагмента составляет 573 п.н.), в качестве внутреннего контроля на присутствие грибной ДНК использовали праймеры на ген «домашнего хозяйства» CHS-1 (chitin synthase) [Andrie et al., 2007]. Для инокуляции были выбраны 4 изолята, показавшие по результатам ПЦР анализа наличие или отсутствие в геноме гриба гена *ToxA* (табл. 2).

Результаты и обсуждение

У 24 сортов пшеницы методом ПЦР было определено аллельное состояние гена восприимчивости *Tsn1*: у 10 сортов выявлена доминантная аллель гена, у 14 – рецессивные (табл. 2). Четыре изолята *P. tritici-repentis* тестировали на наличие/отсутствие гена *ToxA* методом ПЦР. Ген *ToxA* обнаружен у изолятов П3 и П7 ($ToxA^+$) и показано его отсутствие у изолятов Ко9 и Ко11 ($ToxA^-$). Все 24 сорта пшеницы были инокулированы данными 4-мя изолятами патогена. В табл. 2 представлены результаты инокуляции сортов пшеницы изолятами *P. tritici-repentis*.

Исходя из гипотезы взаимодействия по типу «гена-гена», мы ожидали увидеть реакцию совместимости в вариантах взаимодействий генов *Tsn1/ToxA*, в остальных вариантах – реакцию несовместимости. Однако картина оказалась более сложной и неоднозначной. Очевидно, один и тот же признак «образование некроза на листьях» в различных сочетаниях «сорт-изолят», имеет разную генетическую природу, обусловленную наличием в патогене различных токсинов, индуцирующих некроз, которым могут соответствовать различные гены восприимчивости. В табл. 3 подсчитана доля комбинаций «сорт-изолят» с различными сочетаниями генотипов, в которых проявилась реакция совместимости (восприимчивости) и несовместимости (устойчивости).

Из проанализированных 96 патосистем «сорт-изолят» в 20 патосистемах типа *Tsn1/ToxA* взаимодействие генов

Таблица 2. Результаты заражения сортов пшеницы $ToxA^+$ и $ToxA^-$ изолятами *P. tritici-repentis*

| № | Сорта пшеницы | Аллельное состояние гена <i>Tsn1</i> | Баллы поражения изолятами <i>P. tritici-repentis</i> | | | |
|----|---------------|--------------------------------------|--|----|----------|------|
| | | | $ToxA^+$ | | $ToxA^-$ | |
| | | | П7 | П3 | Ко9 | Ко11 |
| 1 | Паллада | <i>Tsn1Tsn1</i> | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 2 | Крошка | <i>Tsn1Tsn1</i> | 3 | 3 | 3 | 2 |
| 3 | Юбилейная 100 | <i>Tsn1Tsn1</i> | 3 | 3 | 2 | 3 |
| 4 | Старшина | <i>Tsn1Tsn1</i> | 3 | 3 | 2 | 2 |
| 5 | Безостая1 | <i>Tsn1Tsn1</i> | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 6 | Палпич | <i>Tsn1Tsn1</i> | 3 | 3 | 1 | 2 |
| 7 | Есаул | <i>Tsn1Tsn1</i> | 2 | 3 | 2 | 1 |
| 8 | Таня | <i>Tsn1Tsn1</i> | 2 | 3 | 1 | 1 |
| 9 | Сила | <i>Tsn1Tsn1</i> | 2 | 3 | 1 | 1 |
| 10 | Афина | <i>Tsn1Tsn1</i> | 3 | 2 | 1 | 2 |
| 11 | Аврора | <i>tsn1tsn1</i> | 3 | 2 | 1 | 1 |
| 12 | Кавказ | <i>tsn1tsn1</i> | 3 | 2 | 1 | 1 |
| 13 | Восторг | <i>tsn1tsn1</i> | 3 | 2 | 1 | 3 |
| 14 | Виза | <i>tsn1tsn1</i> | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 15 | Ласточка | <i>tsn1tsn1</i> | 4 | 3 | 1 | 2 |
| 16 | Юнона | <i>tsn1tsn1</i> | 4 | 4 | 1 | 1 |
| 17 | Иришка | <i>tsn1tsn1</i> | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 18 | Айвина | <i>tsn1tsn1</i> | 2 | 2 | 3 | 4 |
| 19 | Верта | <i>tsn1tsn1</i> | 2 | 3 | 1 | 1 |
| 20 | Утриш | <i>tsn1tsn1</i> | 2 | 3 | 1 | 1 |
| 21 | Золотко | <i>tsn1tsn1</i> | 3 | 3 | 3 | 4 |
| 22 | Красота | <i>tsn1tsn1</i> | 3 | 3 | 1 | 1 |
| 23 | Батько | <i>tsn1tsn1</i> | 3 | 3 | 2 | 3 |
| 24 | Дея | <i>tsn1tsn1</i> | 1 | 2 | 1 | 1 |

в большинстве случаев (75.0%) осуществлялось по типу ген-на-ген, т.е. приводило к поражению сортов с доминантной аллелью *Tsn1* изолятами *P. tritici-repentis* с геном *ToxA*. Наблюдаемую в 25.0% случаев реакцию устойчивости можно объяснить снижением экспрессии гена *ToxA* в условиях генотипа конкретного сорта. В то же время изоляты $ToxA^+$ поражают сорта с рецессивными аллелями *tsn1* практически с той же частотой – в 67.9% комбинаций, что может свидетельствовать либо об отсутствии взаимоотношений между генами по типу ген-на-ген, либо о наличии других генов эффекторов и генов восприимчивости в патосистеме.

К таким же заключениям можно прийти, анализируя результаты инокуляции сортов пшеницы изолятами *P. tritici-repentis* $ToxA^-$, не имеющими гена *ToxA*. Показано, что они почти в равной степени поражают сорта с доминантными и рецессивными аллелями гена *Tsn1* (30.0% и 35.7% комбинаций).

Изучению роли взаимодействия токсина Ptr *ToxA* и гена восприимчивости пшеницы *Tsn1* в развитии болезни посвящены многие работы. Отмечены отдельные случаи, когда изоляты гриба, имеющие *ToxA*, не вызывали некроз на растениях с геном *Tsn1* [Andrie et al., 2007; Faris et al., 2012]. При анализе обширной коллекции $ToxA^+$ изолятов *P. tritici-repentis* выявлено 10% изолятов, которые показывали нетипичные симптомы [Lepoint et al., 2010]. Секвенирование гена *ToxA* у таких изолятов не выявило нуклеотидной изменчивости в этом гене [Мироненко и др., 2015; Aboukhaddour et al., 2013; Ali et al., 2010; Friesen et al., 2006; Leisova-Svobodova et al., 2010]. Таким образом, изменчивость гена *ToxA* не ответственна за различия в эффектах взаимодействия *Tsn1* - *ToxA*. Выдвинуты гипотезы, что эффект данных взаимоотношений между хозяином и эффектором патогена уменьшается или маскируется благодаря эпистатическим эффектам других генных взаимодействий [Friesen et al., 2006; Phan et al., 2016]. Известно, что у различных изолятов гриба одни и те же эффекторы могут иметь разные уровни экспрессии in planta. Такие факты были описаны в работе [Faris et al., 2011] для двух изолятов *S. nodorum*, имеющих ген *ToxA*. В работе Manning & Ciuffetti [2015] показано, что симптомы, вызываемые Ptr *ToxA*, маскируют симптомы, индуцируемые другими хозяин-специфичными токсинами.

Таблица 3. Сравнение результатов заражения сортов пшеницы с различным аллельным состоянием гена *Tsn1* изолятами *P. tritici-repentis* $ToxA^+$ и $ToxA^-$

| Комбинация генотипов сорт/изолят* (количество) | Комбинации сорт/изолят с реакцией взаимодействия растения-хозяина и патогена по типу, в % | |
|--|---|--------------|
| | восприимчивость | устойчивость |
| <i>Tsn1Tsn1/ToxA^+</i> (20) | 75.0 | 25.0 |
| <i>tsn1tsn1/ToxA^+</i> (28) | 67.9 | 32.1 |
| <i>Tsn1Tsn1/ToxA^-</i> (20) | 30.0 | 70.0 |
| <i>tsn1tsn1/ToxA^-</i> (28) | 35.7 | 64.3 |

Примечание: * $ToxA^+$ - наличие гена; $ToxA^-$ - отсутствие гена

Вывод

В нашей работе показано, что в патосистеме *T. aestivum* – *P. tritici-repentis* кроме взаимоотношений генов *Tsn1/ToxA* по типу ген-на ген существуют взаимоотношения между генами других неизвестными еще некроз индуцирующих токсинов гриба и генами восприимчивости растения-хозяина, которые частично маскируют эффект взаимодействия генов *Tsn1/ToxA*. Полученные результаты

могут быть полезны для MAS против доминантных аллелей гена восприимчивости *Tsn1*, учитывая то обстоятельство, что наибольший эффект MAS может быть достигнут при районировании сортов пшеницы с генотипом *tsn1tsn1* в регионах, где наблюдается максимальное распространение изолятов *P. tritici-repentis* с геном *ToxA*.

Работа выполнена при частичной поддержке грантом РФФИ № 18-04-00128а.

Библиографический список (References)

- Гранин Е.Ф. Пиренофороз озимой пшеницы на Северном Кавказе. / Е.Ф. Гранин, Э.М. Монастырская, Г.А. Краева, К.Ю. Кочубей // Защита растений, 1989. N 12. С. 21.
- Кремнева О.Ю. Структура популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на Северном Кавказе по вирулентности и морфолого-культуральным признакам. / О.Ю. Кремнева, Г.В. Волкова // Микология и фитопатология, 2007. Т. 41, N 4. С. 356–361.
- Мироненко Н.В. Селективное влияние сортов пшеницы с геном *Tsn1* на формирование популяции возбудителя желтой пятнистости *Pyrenophora tritici-repentis*. / Н.В. Мироненко, О.А. Баранова, Н.М. Коваленко, О.С. Афанасенко, Л.А. Михайлова // Вестник защиты растений, 2017. Т. 3, N 93. С. 23–27.
- Мироненко Н.В. Частота гена *ToxA* в популяциях *Pyrenophora tritici-repentis* на Северном Кавказе и северо-западе России. / Н.В. Мироненко, О.А. Баранова, Н.М. Коваленко, Л.А. Михайлова // Микология и фитопатология, 2015. Т. 49. N 5. С. 325–329.
- Михайлова Л. А. Лабораторные методы культивирования возбудителя желтой пятнистости пшеницы *Pyrenophora tritici-repentis*. / Л.А. Михайлова, Е.И. Гульятрева, Н.М. Кокорина // Микология и фитопатология, 2002. Т. 36. N 1. С. 63–67.
- Михайлова Л.А. Характеристика популяций *Pyrenophora tritici-repentis* по признаку вирулентности. / Л.А. Михайлова, И.Г. Тернюк, Н.В. Мироненко // Микология и фитопатология, 2010. Т. 44. N 3. С. 263–272.
- Aboukhaddour R. Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* (tan spot of wheat) in Alberta, Canada. / R. Aboukhaddour, T.K. Turkington, S.E. Strelkov // Can. J. Plant Pathol. 2013. V. 35. N 2. P. 256–268.
- Ali S. Identification and characterization of novel isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from Arkansas. / S. Ali, S. Gurung, T.B. Adhikari // Plant Dis., 2010. V. 94. P. 229–235.
- Andrie R. M. A combination of phenotypic and genotypic characterization strengthens *Pyrenophora tritici-repentis* race identification. / R. M. Andrie, I. Pandelova, L.M. Ciuffetti // Phytopathology, 2007. V. 97. P. 694–701.
- Ciuffetti L.M. A single gene encodes a selective toxin causal to the development of tan spot of wheat. / L.M. Ciuffetti, R.P. Tuori, J.M. Gavena // The Plant Cell, 1997. V. 9. P. 135–144.
- Ciuffetti L.M. Host-selective toxins, Ptr ToxA and Ptr ToxB, as necrotrophic effectors in the *Pyrenophora tritici-repentis* – wheat interaction. / L.M. Ciuffetti, V.A. Manning, I. Pandelova, M.F. Betts, J.P. Martinez // New Phytol., 2010. V. 187. P. 911–919.
- Faris J.D. A unique wheat disease resistance-like gene governs effector-triggered susceptibility to necrotrophic pathogens. / J.D. Faris, Z. Zhang, H.J. Lu, S.W. Lu, L. Reddy et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2010. V. 107. P. 13544–13549.
- Faris J.D. Tan spot susceptibility governed by the *Tsn1* locus and race nonspecific resistance quantitative trait loci in a population derived from the wheat lines Salamouni and Katepwa. / J.D. Faris, N.S. Abeysekara, P.E. McClean, S.S. Xu, T.L. Friesen // Mol. Breeding, 2012. V. 30. P. 1669–1678.
- Faris J.D. Variable expression of the *Stagonospora nodorum* effector SnToxA among isolates is correlated with levels of disease in wheat. / J.D. Faris, Z. Zhang, J.B. Rasmussen, T.L. Friesen // Mol. Plant Microbe Interact., 2011. V. 24. P. 1419–1426.
- Friesen T.L. Emergence of a new disease as a result of interspecific virulence gene transfer. / T.L. Friesen, E.H. Stukenbrock, Z. Liu, S. Meinhardt, H. Ling, J.D. Faris, J.B. Rasmussen, P.S. Solomon, B.A. McDonald, R.P. Oliver // Nature Genet., 2006. V. 38. P. 953–956.
- Hirrell M.C. First report of tan spot caused by *Drechslera tritici-repentis* on winter wheat in Arkansas. / M.C. Hirrell, J.P. Spradley, J.K. Mitchell, E.W. Wilson // Plant Disease, 1990. V. 74, N 3. P. 252.
- Kokhmetova A. Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot. / A. Kokhmetova, J. Kremneva, G. Volkova, M. Atishova, Z. Sapakhova // Journal of Plant Pathology, 2017. V. 99, N 1. P. 161–167.
- Leišova-Svobodova L. Expansion and variability of the Ptr ToxA gene in populations of *Pyrenophora tritici-repentis* and *Pyrenophora teres*. / L. Leišova-Svobodova, A. Hanzalova, L. Kucer // J. Plant Pathol., 2010. V. 92, N 3. P. 729–735.
- Lepoint P. Genetic diversity of the mating type and toxin production genes in *Pyrenophora tritici-repentis*. / P. Lepoint, M.-E. Legreve, E. Duveiller, H. Maraitte // Phytopathology, 2010. V. 100. P. 474–483.
- Manning V.A. Necrotrophic Effector Epistasis in the *Pyrenophora tritici-repentis*-Wheat Interaction. / V.A. Manning, L.M. Ciuffetti // PLoS ONE, 2015. V. 10, N 4. e0123548.
- Murray H.G. Rapid isolation of high molecular weight DNA. / H.G. Murray, W.F. Thompson // Nucleic Acids Res., 1980. V. 8. P. 4321–4325.
- Phan H.T.T. Differential effector gene expression underpins epistasis in a plant fungal disease. / H.T.T. Phan, K. Rybak, E. Furuki et al. // The Plant Journal., 2016. V. 87. P. 343–354.
- Rees R.G. Susceptibility of Australian wheats to *Pyrenophora tritici-repentis*. / R.G. Rees, G.J. Platz, R.J. Mayer // Aust. J. Agric. Res., 1987. V. 39. P. 141–151.
- Roder M.S. A Microsatellite Map of Wheat. / M.S. Roder, V. Korzun, K. Wendehake, J. Plaschke, M.-H. Tixier, Ph. Leroy, M.W. Ganal // Genetics, 1998. V. 149. P. 2007–2023.
- Strelkov S. Host parasite interactions in tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] of wheat. / S. Strelkov, L. Lamari // Can. J. Plant Pathol., 2003. V. 25. P. 339–349.
- Zhang Z. Development, identification, and validation of markers for marker-assisted selection against the *Stagonospora nodorum* toxin sensitivity genes *Tsn1* and *Snn2* in wheat. / Z. Zhang, T.L. Friesen, K.J. Simons, S.S. Xu, J.D. Faris // Mol. Breeding, 2009. V. 23. P. 35–49.
- Granin E.F., Monastyrskaya E.M., Kraeva G.A., Kochubey K.Yu. Pyrenophorosis of winter wheat in the North Caucasian. Zashchita rasteniy, 1989. N 12. P. 21. (In Russian).
- Kremneva O.Yu., Volkova G.V. Population structure of *Pyrenophora tritici-repentis* in the North Caucasus on virulence and morphological traits // Mikologiya i fitopatologiya. 2007. V. 41. N 4. С. 356–361. (In Russian).
- Mikhailova L.A., Gulyaeva E.I., Kokorina N.M. Laboratory methods of cultivation of wheat tan spot causal agent *Pyrenophora tritici-repentis*. Mikologiya i fitopatologiya, 2002. V. 36. N 1. P. 63–67. (In Russian).
- Mikhailova L.A., Ternyuk I.G., Mironenko N.V. Characteristic of *Pyrenophora tritici-repentis* populations by their virulence. Mikologiya i fitopatologiya, 2010. V. 44, N 3. P. 263–272. (In Russian).
- Mironenko N.V., Baranova O.A., Kovalenko N.M., Mikhailova L.A. Frequency of *ToxA* gene in North Caucasian and North-West Russian populations of *Pyrenophora tritici-repentis*. Mikologiya i fitopatologiya, 2015. V. 49. N 5. P. 325–329. (In Russian).
- Mironenko N.V., Baranova O.A., Kovalenko N.M., Aфанасенко O.S., Mikhailova L.A. Selective influence of wheat cultivars with *Tsn1* gene on the formation of tan spot causative agent *Pyrenophora tritici-repentis* population // Vestnik zashchity rasteniy, 2017. N 3(93). P. 23–27. (In Russian).

PECULIARITIES OF INTERACTION OF *TSN1* AND *TOXA* GENES
IN *TRITICUM AESTIVUM* – *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS* PATHOSYSTEM

N.V. Mironenko, N.M. Kovalenko

All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

The tan spot caused by the *Pyrenophora tritici-repentis* is a harmful and widespread disease in the Russian Federation. Last years, it has been proposed to carry out marker assisted selection (MAS) against the dominant allele of the gene *Tsn1* determining the susceptibility to tan spot to speed up the breeding process. However, in these studies, the factor of the population diversity of the pathogen on the effector genes is underestimated, especially on the *ToxA* gene controlling the synthesis of necrosis inducing toxin Ptr ToxA in susceptible cultivars with the complementary gene *Tsn1*. In this paper, the results are analysed of inoculation of 24 soft winter wheat cultivars with dominant and recessive *Tsn1* alleles by *P. tritici-repentis* isolates, characterized by the presence or absence of the *ToxA* (*ToxA*⁺ and *ToxA*⁻) effector gene. Using the example of the interaction between *Tsn1* alleles and *P. tritici-repentis* *ToxA* effector gene in specific pairs of genetically characterized wheat samples and pathogen isolates, it was shown that the same sign of “formation of necrosis on leaves” in combinations of different genotypes of variety–isolate (*Tsn1Tsn1*–*ToxA*⁺/*ToxA*⁻ and *tsn1tsn1* – *ToxA*⁺/*ToxA*⁻) had a different genetic nature. 41.7% of the cases of gene interactions did not correspond to the gene-to-gene scheme. This result is explained by either the presence of necrosis inducing toxins in isolates other than Ptr ToxA, or decrease in the level of *ToxA* gene expression in different wheat genotypes.

Keywords: wheat; *Pyrenophora tritici-repentis*; tan spot; *Tsn1* susceptibility gene; *ToxA* effector gene; MAS; PCR; pathosystem; *Tsn1/ToxA* interaction.

Сведения об авторах

Всероссийский НИИ защиты растений, шоссе Подбельского, 3, 196608
Санкт-Петербург, Пушкин, Российская Федерация
*Мироненко Нина Васильевна. Ведущий научный сотрудник, доктор
биологических наук, e-mail: nina2601mir@mail.ru
Коваленко Надежда Михайловна. Старший научный сотрудник, кандидат
биологических наук, e-mail: nadyakov@mail.ru

* Ответственный за переписку

Information about the authors

All-Russian Institute of Plant Protection, Podbelskogo Shosse, 3, 196608,
St. Petersburg, Pushkin, Russian Federation
* Mironenko Nina Vasilyevna. Leading Researcher, DSc in Biology,
e-mail: nina2601mir@mail.ru
Kovalenko Nadezhda Mikhailovna. Senior Researcher, PhD in Biology,
e-mail: nadyakov@mail.ru

* Corresponding author