

OECD+WoS: 1.06+RQ

[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1\(99\)-24-29](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1(99)-24-29)*Полнотекстовая статья*

**ХАРАКТЕРИСТИКА ГЕОГРАФИЧЕСКИ ОТДАЛЕННЫХ ПОПУЛЯЦИЙ
Pyrenophora tritici-repentis ПО ВИРУЛЕНТНОСТИ
И ГЕНАМ ТОКСИНООБРАЗОВАНИЯ *TOxA* И *TOxB***

Н.В. Мироненко*, Н.М. Коваленко, О.А. Баранова

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург

** ответственный за переписку, e-mail: nina2601mir@mail.ru*

Создана коллекция из 183 моноконидиальных изолятов возбудителя желтой пятнистости пшеницы гриба *Pyrenophora tritici-repentis*, представляющая 7 популяций разного географического происхождения 2017 и 2018 годов: две «южные» популяции из Краснодарского края и Юго-Восточного Казахстана (Алматы), две «северные» – из Финляндии и Северозападного региона РФ, и три западносибирские – из Челябинской и Омской областей и Северного Казахстана. Определен расовый состав популяций и наличие генов *ToxA* и *ToxB* методом ПЦР. В тестируемых изолятах ген *ToxB* не был выявлен. «Южные» популяции на 100% состояли из изолятов, имеющих ген *ToxA* (*ToxA*⁺). В то же время фитопатологический тест на вирулентность не совпал с генетическим: 14% изолятов южно-казахстанской популяции и 61% краснодарской популяции не индуцировали некроз на листьях *Glenlea*, т.е. были *nes*⁻ и не имели некроз индуцирующего токсина *Ptg ToxA* и других токсинов некроза. Противоположную ситуацию наблюдали в «северных» и западносибирских популяциях патогена: в них доля *ToxA*⁺ варьировала от 5.5% до 66%, но при этом доля *nes*⁺ изолятов была существенно выше доли *ToxA*⁺ изолятов. Этот факт свидетельствует о преобладании в этих популяциях изолятов, продуцирующих некроз индуцирующие токсин(ы), отличные от *Ptg ToxA*. Результаты нашей работы позволяют предположить, что, во-первых, патосистема *P. tritici-repentis* – пшеница не ограничена взаимодействиями трех некротрофных эффекторов (*Ptg ToxA*, *Ptg ToxB*, *Ptg ToxC*) и трех генов восприимчивости (*Tsn1*, *Tsc1*, *Tsc2*), а, вероятно, включает иные добавочные эффекторы и гены восприимчивости и, во-вторых, в «южных» популяциях патогена получают преимущество изоляты с нарушенной

экспрессией гена *ToxA*. Сохранение в «южных» популяциях изолятов *ToxA*⁺ нес свидетельствует о существовании дополнительных функций гена *ToxA*, играющих роль в повышении конкурентоспособности изолятов гриба.

Ключевые слова: *Pyrenophora tritici-repentis*, популяция, некротрофный эффект, *ToxA*, *ToxB*, некроз, пшеница

Поступила в редакцию: 05.02.2019

Принята к печати: 27.02.2019

Введение

Желтая пятнистость листьев, вызываемая гембиотрофным грибом *Pyrenophora tritici-repentis* Drechsler – вредоносное заболевание пшеницы, распространившееся практически по всей территории России с момента ее первого обнаружения в Краснодарском крае в 1985 году (Гранин, 1989). Начиная с 2005 года, наблюдается расширение ареала популяции патогена в северном направлении (Михайлова и др., 2014, 2015). К настоящему времени фитопатологическими и молекулярно-генетическими методами в России определены три самостоятельных географических популяции патогена – северокавказская, северозападная и западносибирская (Михайлова и др., 2014; Мироненко и др., 2016).

Обычные симптомы, индуцируемые грибом на восприимчивых сортах пшеницы, выглядят как некротические повреждения эллипсоидной формы золотисто-желтого, иногда оранжевого, цвета, окруженные желтым ореолом. При благоприятных условиях для развития болезни пятна сливаются и образуют обширную область мертвой ткани листа. Известно, что патоген продуцирует хозяин-специфичные токсины, также называемые некротрофными эффекторами (necrotrophic effectors – NE), которые индуцируют симптомы некроза или хлороза при взаимодействии с соответствующими им генами восприимчивости. У *P. tritici-repentis* идентифицированы три грибных NE: Ptr ToxA, Ptr ToxB и Ptr ToxC, которые взаимодействуют с генами восприимчивости *Tsn1*, *Tsc2* и *Tsc1*, соответственно (Ciuffetti et al., 1997; 2010). В зависимости от способности патогена продуцировать один или комбинацию из 2–3-х NE, различают 8 рас: расы 2, 3 и 5 продуцируют по одному NE – Ptr ToxA, Ptr ToxC и Ptr ToxB, соответственно; расы 1, 6 и 7 продуцируют по два NE (раса 1 – Ptr ToxA+ Ptr ToxC; раса 6 – Ptr ToxB+Ptr ToxC и раса 7 – Ptr ToxA+Ptr ToxB); раса 8 – все три NE; раса 4 не продуцирует известных NE (Lamari et al., 1998). Для двух белковых NE – Ptr ToxA и Ptr ToxB разработаны методы молекулярной идентификации генов, детерминирующих их синтез в мицелии гриба

– *ToxA* и *ToxB*, соответственно (Andrie et al., 2007). Заметим, что один из NE – Ptr ToxA, считается привнесенным в геном *P. tritici-repentis* путем горизонтального переноса от *Parastagonospora nodorum* Quaedvlieg, Verkley & Crous, что повлекло за собой сильное возрастание вирулентности и агрессивности некогда малозаметного патогена пшеницы (Friesen et al., 2006). Наличие генов должно свидетельствовать о возможности изолята синтезировать тот или иной токсин. Однако в последнее время появилось много сообщений об обнаружении изолятов *P. tritici-repentis*, у которых генотип токсинообразования не соответствует фенотипу, определяемому по реакции сортов-дифференциаторов. С одной стороны, это изоляты, продуцирующие некроз и хлороз на листьях пшеницы, но не имеющие в генотипе генов *ToxA* и *ToxB*. Предполагают, что они продуцируют новые дополнительные к известным трем NE (Мироненко и др., 2015; Andrie et al., 2007; See et al., 2018; Moreno et al., 2015; Guo et al., 2018) и поэтому не вписываются в современную классификацию рас патогена. С другой стороны, встречаются изоляты, имеющие ген *ToxA*, но не продуцирующие соответствующих токсинов (Мироненко и др., 2015; Мироненко и др., 2018; Benslimane, 2018; Faris et al., 2012). Такие случаи можно объяснить различными причинами: мутациями в гене или нарушениями его транскрипционной активности.

Изучение изолятов *P. tritici-repentis* из различных географических популяций, имеющих ген *ToxA* (*ToxA*⁺) и не продуцирующих некроз (nec⁻), представляет особый интерес, так как позволяет проследить судьбу чужеродной транслокации гена-эффектора *ToxA* в различных экологических условиях.

Цель настоящего исследования – проанализировать коллекцию изолятов *P. tritici-repentis* из южных, северных и западносибирских регионов (РФ, Финляндия и Казахстан) по расовому составу и наличию в них генов *ToxA* и *ToxB*.

Материалы и методы

Были созданы коллекции моноконидиальных изолятов возбудителя желтой пятнистости пшеницы гриба *P. tritici-repentis*, выделенных из зараженных листьев пшеницы в 2017–2018 годы. Инфекционный материал был прислан из Северного и Юго-Восточного Казахстана (Институт

биологии и биотехнологии растений, Алматы, Казахстан, А.М. Кохметова), и из Краснодарского края (ВНИИБЗР, Кремнева О.Ю.), а также собран нами в Финляндии, Омской, Челябинской, и Ленинградской области РФ (табл. 1).

Таблица 1. Происхождение популяций *Pyrenophora tritici-repentis*

Географическое происхождение	Число изолятов	Год сбора инфекционного материала	Обозначение популяции
Северо-Запад России, Новгородская область	32	2018	С-З
Северный Кавказ, Краснодарский край	38	2017	Кр
Западная Сибирь, Омская область	20	2018	Ом
Уральский федеральный округ, Челябинская область	17	2017	Чел
Финляндия, г. Турку	21	2017	Ф
Юго-Восточный Казахстан, г. Алматы	30	2018	ЮВКаз
Северный Казахстан, Северо-казахстанская область	25	2017	СКаз

Выделение и размножение культуры гриба *P. tritici-repentis* выполняли по методике Л.А. Михайловой с соавт. (2002). Анализ вирулентности проводили с помощью бензимидазольного метода на отрезках листьев. Расовую принадлежность, выявляемую по способности изолятов *P. tritici-repentis* к образованию токсинов Ptr ToxA, Ptr ToxB и Ptr ToxC, определяли с помощью инокуляции сорта Glenlea, линий 6В662 и 6В365 – по наличию некроза и хлороза на листьях пшеницы (Lamari et al., 1998). ДНК

изолятов выделяли известным методом (Murray, Thompson, 1980). Идентификацию генов *ToxA* и *ToxB* проводили с помощью ПЦР с геноспецифичными праймерами (Andrie et al., 2007). В качестве положительного контроля для редко встречаемого у изолятов гриба гена *ToxB* мы использовали изоляты греческого происхождения из нашей коллекции, дающие четкие продукты амплификации с праймерами на ген *ToxB*.

Результаты

Создана коллекция из 183 моноконидиальных изолятов, выделенных из пораженных листьев мягкой пшеницы, собранных в разных регионах России и Казахстана, а также Финляндии в 2017–2018 годы (табл.1). Коллекция представлена 7-ю географически отдаленными популяциями

патогена. Определен расовый состав популяций с использованием сортов-дифференциаторов. Одновременно создана коллекция образцов ДНК этих изолятов и с помощью ПЦР, определено наличие или отсутствие в них генов *ToxA* и *ToxB* (Andrie et al., 2007) (табл. 2)

Таблица 2. Расовый состав популяций *P. tritici-repentis*

Раса	Фенотип расы, определенный на сортах-дифференциаторах (токсины некроза и хлороза)	Число изолятов (%) в популяциях <i>P. tritici-repentis</i> разного географического происхождения:						
		южные		северные		западносибирские		
		ЮВКаз	Кр	С-3	СКаз	Чел	Ом	Ф
1	Ptr ToxA*, Ptr ToxC**	37	13	34	40	23	20	19
2	Ptr ToxA	3	10	20	30	45	0	19
7	Ptr ToxA, Ptr ToxB**	13	3	0	0	5	5	0
8	Ptr ToxA, Ptr ToxB, ToxC	33	13	14	5	9	9	38
Доля изолятов пес ⁺ (%)		86	39	68	75	82	34	76
3	Ptr ToxC	7	0	27	5	0	33	4
4	Не образует токсины	7	61	5	17	18	33	10
5	Ptr ToxB	0	0	0	3	0	0	0
6	Ptr ToxB, Ptr ToxC	0	0	0	0	0	0	10
Доля изолятов пес ⁻ (%)		14	61	32	25	18	66	24
Доля изолятов, имеющих ген <i>ToxA</i>		100	100	34	44	25	5.5	66

* – токсин Ptr ToxA, индуцирующий некроз на восприимчивом сорте,

** – токсины Ptr ToxB и Ptr ToxC, индуцирующие хлороз на восприимчивом сорте

Пример идентификации генов *ToxA* и *ToxB* методом ПЦР (Andrie et al., 2007) в северо-казахстанской популяции приведен на рисунке. *ToxB* не был обнаружен нами в изученных популяциях. Об отсутствии в изолятах *P. tritici-repentis* из российских популяций гена *ToxB* мы сообщали ранее (Мироненко и др., 2015). В данной работе мы подтвердили сделанный нами ранее вывод. Полученный результат согласуется с известными работами, в которых также не выявлен ген *ToxB* в изолятах *P. tritici-repentis*, индуцирующих хлороз на восприимчивом сорте пшенице (Ali et al., 2010). Например, в 119 изолятах австралийских популяций патогена не был выявлен ген *ToxB* (Antoni et al., 2010); из 57 изолятов из Аргентины только один имел ген *ToxB* (Moreno et al., 2015).

Ген *ToxA*, напротив, часто встречался в изолятах, но с разной частотой в разных популяциях. Популяции Кр и ЮВКаз, условно обозначенные как «южные», на 100% состояли из изолятов *ToxA*⁺, тогда как в «северных» и западносибирских (С-3, Ом, Чел, Ф, СКаз) их частота варьировала от 5.5% до 66% (табл. 1). В то же время, фитопатологический тест на вирулентность не совпал с генетическим: 14% изолятов популяции ЮКаз и 61% популяции Кр не индуцировали некроз на листьях Glenlea, т.е. были пес⁻, и, несмотря на присутствие гена *ToxA*, не имели продукта этого гена – некроз индуцирующего токсина Ptr ToxA (табл. 2).

Верхний гель: диагностика гена *ToxA* – диагностический продукт амплификации размером 573 п.н.; №13, 15, 16 – аномальный размер гена *ToxA* более 2000 п.н.; Фин18 – позитивный контроль для гена *ToxA*. Средний гель: продукты амплификации гена «домашнего хозяйства» – хитинсинтазы (CHS). Нижний гель: диагностика гена *ToxB* – диагностический продукт амплификации размером 275 п.н. только у изолята из греческой популяции (Гр12), взятого в качестве позитивного контроля. М – маркеры молекулярных весов 50 п.н.

Можно предположить, что изоляты *ToxA*⁺ пес⁻ характеризуются нарушенной экспрессией гена *ToxA*. Факт сохранения в популяции патогена такого большого числа изолятов с неактивным геном может косвенно свидетельствовать о дополнительной функции гена *ToxA*, кроме детерминации синтеза токсина, увеличивающей конкурентноспособность изолятов. По мнению Н. Benslimane (2018) присутствие в изолятах *P. tritici-repentis* гена *ToxA*, несмотря на отсутствие симптомов, вызываемых продуктом этого гена, можно объяснить существованием в геноме гриба новых еще неизвестных гомологов гена *ToxA*. В работе сообщается о наличии гена *ToxA* в изоляте, неспособном индуцировать некроз на *Glenlea* (Benslimane, 2018). В нашей работе мы обнаружили большое количество таких изолятов в «южных» популяциях патогена. Отсутствие продукта гена *ToxA* также можно объяснить мутацией,

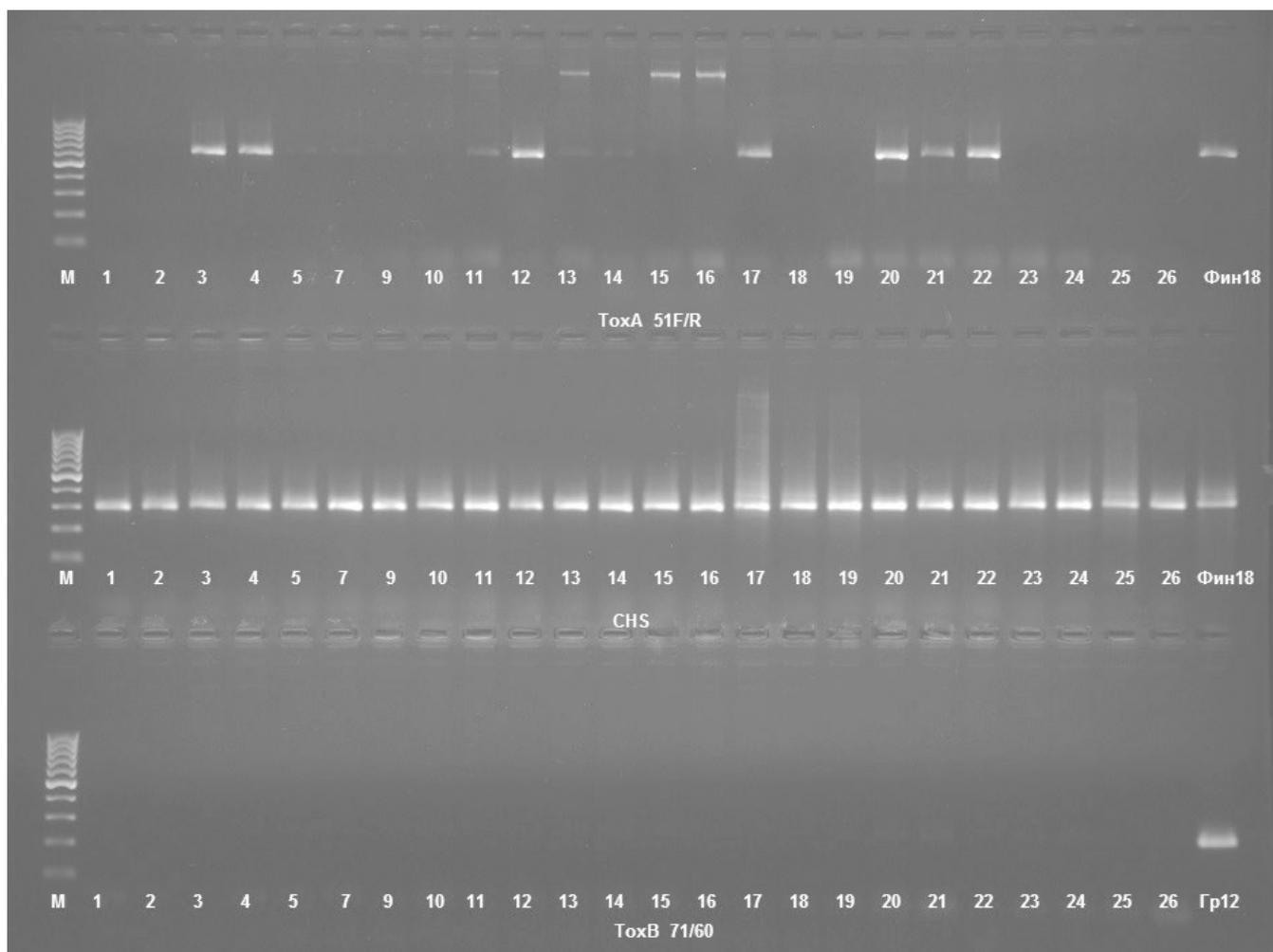


Рисунок. Идентификация генов *ToxA* и *ToxB* в изолятах северо-казахстанской популяции *P. tritici-repentis*

локализованной в начале кодирующей последовательности, не входящей в область участка, амплифицируемого диагностическими для гена праймерами. Также это может быть результатом одной или более мутаций в промоторе гена, которые могут сильно влиять на экспрессию гена.

Противоположную ситуацию мы наблюдали в «северных» и западносибирских популяциях патогена: доля *ToxA*⁺ варьировала от 5.5% до 66% (табл. 1), но при этом доля *nes*⁺ изолятов была существенно выше доли *ToxA*⁺ изолятов – от 34 до 82% (табл. 2). Этот факт свидетельствует о преобладании в «северных» и западносибирских популяциях изолятов, продуцирующих некротрофные токсин(ы), отличные от *Ptr ToxA*. На материале 40 австралийских сортов пшеницы показано, что нет 100% ассоциации между наличием гена *ToxA* и его продукта – некротрофного белкового токсина *Ptr ToxA*, в изоляте патогена и присутствием в сорте гена восприимчивости *Tsn1* (See et al., 2018). Авторы сделали вывод, что *ToxA* не является основным фактором, обуславливающим развитие болезни в некоторых генотипах сортов

пшеницы с геном *Tsn1*, и существуют иные дополнительные эффекторы.

Подобные факты описаны еще в нескольких работах (Moreno et al., 2015; Guo et al., 2018), и они доказывают, что патосистема *P. tritici-repentis* – пшеница не ограничена взаимодействиями трех некротрофных эффекторов (*PtrToxA*, *PtrToxB*, *PtrToxC*) и трех генов восприимчивости (*Tsn1*, *Tsc1*, *Tsc2*), а, вероятно, включает иные дополнительные эффекторы и гены восприимчивости или иные типы взаимоотношений паразита и хозяина.

Важно понять, является ли продукт гена *ToxA* фактором патогенности гриба на юге РФ? Если в краснодарской популяции 61% изолятов отнесены к расе 4, несмотря на то, что они имеют ген *ToxA*, то нет доказательства, что остальные 39% *ToxA*⁺ изолятов проявляют свойства патогенности именно за счет токсина *Ptr ToxA*. Разобраться в этом вопросе помогут будущие исследования экспрессии гена *ToxA* в изолятах патогена *in vitro* и *in planta* при заражении грибом восприимчивых сортов пшеницы.

Обсуждение

Экологические условия, в которых существует популяция фитопатогена, оказывают существенное влияние на механизмы патогенеза: изменяют роль основных факторов патогенности и конкурентоспособность изолятов с различными эффекторами. За период 2017–2018 гг наблюдается тенденция увеличения доли *nes*⁺ изолятов *P. tritici-repentis*

с одновременным возрастанием доли *ToxA*⁺ изолятов до 100% в «южных» популяциях по сравнению с «северными» и западносибирскими. Это означает, что часть изолятов *ToxA*⁺ *nes*⁺, которая, например, в краснодарской популяции 2017 года составила 61%, несет ген эффектора с нарушенной экспрессией. Этот факт заслуживает

внимания и является предметом наших дальнейших исследований. В «северных» популяциях преобладают изоляты, продуцирующие некротизирующие токсин(ы), отличные от Ptr ToxA. Сохранение в «южных» популяциях

изолятов ToxA⁺ нес свидетельствует о существовании дополнительных функций гена *ToxA*, играющих роль в повышении конкурентоспособности изолятов гриба.

Благодарности. Выражаем благодарность Кохметовой А.М. (Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы, Казахстан) и Кремневой О.Ю. (Всероссийский научно-исследовательский институт биологической защиты растений, г. Краснодар) за присланный инфекционный материал.

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

Библиографический список (References)

- Гранин ЕФ, Монастырская ЭМ, Краева ГА, Кочубей КЮ (1989) Пиренофороз озимой пшеницы на Северном Кавказе. *Защита растений* 12. 21
- Мироненко НВ, Баранова ОА, Коваленко НМ, Михайлова ЛА (2015) Частота гена *ToxA* в популяциях *Pyrenophora tritici-repentis* на Северном Кавказе и северо-западе России. *Микология и фитопатология* 49(5):325–329
- Мироненко НВ, Баранова ОА, Коваленко НМ, Михайлова ЛА и др (2016) Генетическая структура популяций *Pyrenophora tritici-repentis*, существующих на территории России, по микросателлитным маркерам. *Генетика* 52(8):885–894. <http://www.doi.org/10.7868/S0016675816080099>
- Мироненко НВ, Баранова ОА, Коваленко НМ, Афанасенко ОС и др (2017) Селективное влияние сортов пшеницы с геном *Tsn1* на формирование популяции возбудителя желтой пятнистости *Pyrenophora tritici-repentis*. *Вестник защиты растений* 3(93):23–27
- Мироненко НВ, Коваленко НМ (2018) Особенности взаимодействия генов *Tsn1* и *ToxA* в патосистеме *Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis*. *Вестник защиты растений* 2(96):12–16. [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-2\(96\)-12-16](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-2(96)-12-16)
- Михайлова ЛА, Гульятеева ЕИ, Кокорина НМ (2002) Лабораторные методы культивирования возбудителя желтой пятнистости пшеницы *Pyrenophora tritici-repentis*. *Микология и фитопатология* 36(1):63–67
- Михайлова ЛА, Мироненко НВ, Коваленко НМ (2014) Популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на северном кавказе и северо-западе России: расовый состав и динамика вирулентности. *Микология и фитопатология* 48(6):393–400
- Михайлова ЛА, Коваленко НМ, Мироненко НВ, Россеева ЛП (2015) Популяции *Pyrenophora tritici-repentis* на территории России. *Микология и фитопатология* 49(4):257–261
- Ali S, Gurung S, Adhikari TB (2010) Identification and characterization of novel isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from Arkansas. *Plant Disease* 94(2):229–235. <https://www.doi.org/10.1094/PDIS-94-2-0229>
- Andrie RM, Pandelova I, Ciuffetti LM (2007) A combination of phenotypic and genotypic characterization strengthens *Pyrenophora tritici-repentis* race identification. *Phytopathology* 97(6):694–701. <https://www.doi.org/10.1094/PHYTO-97-6-0694>
- Antoni EA, Rybak K, Tucker MP Hane JK et al (2010) Ubiquity of *ToxA* and absence of *ToxB* in Australian populations of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Australasian Plant Pathol* 39:63–68
- Benslimane H (2018) Virulence phenotyping and molecular characterization of a new virulence type of *Pyrenophora tritici-repentis* the causal agent of tan spot. *Plant Pathol* 34(2):139–142. <https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.07.2017.0150>
- Ciuffetti LM, Tuuori RP, Gaventa JM (1997) A single gene encodes a selective toxin causal to the development of tan spot of wheat. *The Plant Cell* 9:135–144. <http://www.doi.org/10.1105/tpc.9.2.135>
- Ciuffetti LM, Manning VA, Pandelova I, Betts MF (2010) Host-selective toxins, Ptr ToxA and Ptr ToxB, as necrotrophic effectors in the *Pyrenophora tritici-repentis* – wheat interaction. *New Phytologist* 187(4):911–919. <https://www.doi.org/10.1111/j.1469-8137.1986.tb00629.x>
- Faris JD, Abeyssekara NS, McClean PE, Xu SS et al (2012) 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. *Mol Breed* 30:1669–1678. <http://www.doi.org/10.1007%2Fs11032-012-9750-7>
- Friesen TL, Stukenbrock EH, Liu Z, Meinhardt S et al (2006) Emergence of a new disease as a result of interspecific virulence gene transfer. *Nat Genet* 38(8):953–956. <https://www.doi.org/10.1038/ng1839>
- Guo J, Shi G, Liu Z (2018) Characterizing virulence of the *Pyrenophora tritici-repentis* isolates lacking both *ToxA* and *ToxB* genes. *Pathogens* 7(3):74. <http://www.doi.org/10.3390/pathogens7030074>
- Lamari L, Gilbert J, Tekauz A (1998) Race differentiation in *Pyrenophora tritici-repentis* and survey of physiologic variation in western Canada. *Can J Plant Pathol* 20:396–400
- Moreno MV, Stenglein S, Perello AE (2015) Distribution of races and Tox genes in *Pyrenophora tritici-repentis* isolates from wheat in Argentina. *Trop Plant Pathol* 40(2):141–146. <http://www.doi.org/10.1007%2Fs40858-015-0011-2>
- Murray HG, Thompson WF (1980) Rapid isolation of high molecular weight DNA. *Nucleic Acids Research* 8:4321–4325
- See PT, Marathamuthu KA, Iagallo EM, Oliver RP et al (2018) Evaluating the importance of the tan spot *ToxA-Tsn1* interaction in Australian wheat varieties. *Plant Pathol* 67. 1066–1075. <http://www.doi.org/10.1111/ppa.12835>

Translation of Russian References

- Granin EF, Monastyrskaya EM, Kraeva GA, Kochubey KYu (1989) Pyrenophorosis of winter wheat in the North Caucasus. *Zashchita rasteniy* 12. 21 (In Russian)
- Mikhailova LA, Gulyaeva EI, Kokorina NM (2002) [Laboratory methods of cultivation of wheat tan spot causal agent *Pyrenophora tritici-repentis*]. *Mikologiya i fitopatologiya* 36(1):63–67 (In Russian)
- Mikhailova LA, Mironenko NV, Kovalenko NM (2014) [Populations of *Pyrenophora tritici-repentis* in the North Caucasus and Northwestern Russia: racial composition and dynamics of virulence]. *Mikologiya i fitopatologiya* 48(6):393–400 (In Russian)
- Mikhailova LA, Kovalenko NM, Mironenko NV, Rosseeva LP (2015) [Populations of *Pyrenophora tritici-repentis* in Russia]. *Mikologiya i fitopatologiya* 49(4):257–261 (In Russian)
- Mironenko NV, Baranova OA, Kovalenko NM, Mikhailova LA (2015) [Frequency of ToxA gene in North Caucasian and Plant Protection News, 2019, 1(99), p. 24–29
- Northwestern Russian populations of *Pyrenophora tritici-repentis*]. *Mikologiya i fitopatologiya* 49(5):325–329 (In Russian)
- Mironenko NV, Baranova OA, Kovalenko NM, Mikhailova LA et al (2016) Genetic structure of the Russian populations of *Pyrenophora tritici-repentis*, determined with microsatellite markers. *Rus J Genet* 52(8):771–779. <http://www.doi.org/10.1134%2FS1022795416080093>
- Mironenko NV, Baranova OA, Kovalenko NM, Afanasenko OS et al (2017) Selective influence of wheat cultivars with Tsn1 gene on the formation of tan spot causative agent *Pyrenophora tritici-repentis* population. *Vestnik zashity rasteniy* 3(93):23–27 (In Russian)
- Mironenko NV, Kovalenko NM (2018) [Peculiarities of interaction of Tsn1 and ToxA genes in *Triticum aestivum* – *Pyrenophora tritici-repentis* pathosystem]. *Vestnik zashity rasteniy* 2(96):12–16 (In Russian) [http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-2\(96\)-12-16](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2018-2(96)-12-16)

OECD+WoS: 1.06+RQ

[http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1\(99\)-24-29](http://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1(99)-24-29)

Full-text article

CHARACTERISTICS OF THE GEOGRAPHICALLY DISTANT POPULATIONS
OF *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS* IN TERMS OF VIRULENCE
AND *TOXA* AND *TOXB* TOXIN-FORMING GENES

N.V. Mironenko*, N.M. Kovalenko, O.A. Baranova
All-Russian Institute of Plant Protection, St. Petersburg, Russia

* corresponding author; e-mail: nina2601mir@mail.ru

A collection of 183 monoconidial isolates of the causal agent of wheat tan spot *Pyrenophora tritici-repentis* was created. It is represented by 7 populations of different geographical origins isolated in 2017 and 2018: two “southern” populations from Krasnodar and South Kazakhstan (Almaty), two “northern” populations – from Finland and the Northwest and West Siberian (Northern Kazakhstan, Chelyabinsk and Omsk) regions of Russian Federation. The composition of races in populations and the presence of the *ToxA* and *ToxB* genes in the pathogen isolates were determined by PCR. *ToxB* gene was not detected in the isolates tested. All southern population isolates possessed ToxA gene (ToxA⁺). However, the results of virulence assays and genetic tests did not coincide: 14% of the isolates from the South Kazakhstan population and 61% of the Krasnodar population did not induce necrosis on the leaves of Glenlea, i.e. they were nec⁻, and did not possess the necrosis inducing toxin Ptr ToxA and other necrosis toxins. The opposite situation was observed in the “northern” and Western Siberian populations of the pathogen with the ToxA⁺ fraction varying from 5.5% to 66%, but the quote of nec⁺ isolates was significantly higher than that of ToxA⁺ isolates. This finding indicates the dominance of isolates producing necrosis-inducing toxin(s) other than Ptr ToxA in these populations. Our work shows that the *P. tritici-repentis*-wheat pathosystem is not restricted to the interactions of three necrotrophic effectors (*ToxA*, *ToxC*, *ToxB*) and three susceptibility genes (*Tsn1*, *Tsc1*, *Tsc2*) and probably involves other additional effectors and susceptibility genes or other types of parasite-host relationships. Additionally, the isolates with impaired *ToxA* gene expression prevail in the southern populations of the pathogen. The maintenance of ToxA⁺ nec⁻ isolates in the southern populations indicates the existence of additional functions of the *ToxA* gene, important for the competitiveness of the fungal isolates.

Key words: *Pyrenophora tritici-repentis*, population, necrotrophic effector, *ToxA*, *ToxB*, necrosis, wheat

Received: 05.02.2019

Accepted: 27.02.2019