

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 – вредное 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,

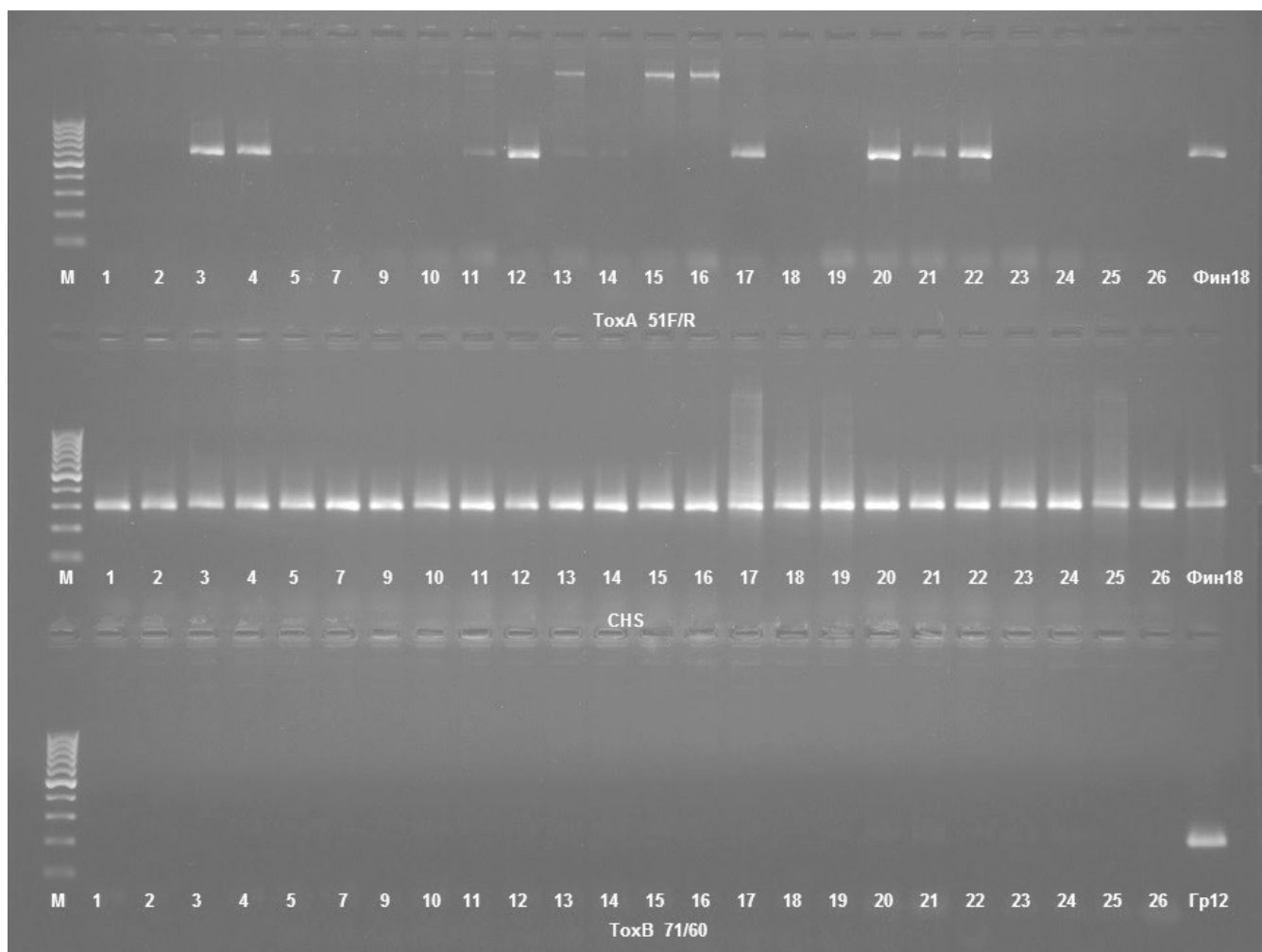


Рисунок. Идентификация генов *ToxA* и *ToxB* в изолятах северо-казахстанской популяции *P. tritici-repentis*

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 добавочные 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, Гультьева 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