

**ХАРАКТЕРИСТИКА ПЕРСПЕКТИВНЫХ СОРТОВ ПШЕНИЦЫ
(*Triticum aestivum* L.), ДОПУЩЕННЫХ К ВОЗДЕЛЫВАНИЮ
В НИЖНЕВОЛЖСКОМ РЕГИОНЕ, ПО УСТОЙЧИВОСТИ
К ВОЗБУДИТЕЛЯМ ПИРЕНОФОРОЗНОЙ И ТЕМНО-БУРОЙ
ПЯТНИСТОСТИ***

Э.А. КОНЬКОВА¹ , С.В. ЛЯЩЕВА¹, Ю.В. ЗЕЛЕНЕВА², Н.М. КОВАЛЕНКО²

Ежегодный мониторинг фитосанитарного состояния посевов пшеницы в Саратовской области показывает активное развитие листовых пятнистостей и накопление их инфекционного потенциала. *Pyrenophora tritici-repentis* — возбудитель пиренофороза, или желтой пятнистости листьев, одной из опасных болезней пшеницы. *Bipolaris sorokiniana* — возбудитель темно-буровой пятнистости, потенциально опасного заболевания пшеницы. В настоящей работе в результате комплексной полевой и лабораторной оценки 20 сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), возделываемых на территории Нижневолжского региона, впервые выявлены образцы, устойчивые к возбудителю пиренофороза, а также среднеустойчивые к возбудителю темно-буровой пятнистости. Результаты идентификации аллелей *Tsn1* и *tsn1* с использованием молекулярного маркера Xfcp623 показали, что среди изучаемых образцов пшеницы ген *Tsn1* преимущественно встречался у озимых сортов. Мы впервые выявили статистически значимые различия между средними значениями показателей, полученных при полевой фитопатологической оценке сортов из разных групп устойчивости (RR, R, MS и S) к *P. tritici-repentis*. Цель работы — определение устойчивости сортов озимой и яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), возделываемых на территории Нижневолжского региона, к возбудителям желтой и темно-буровой пятнистостей и идентификация у растений доминантного (*Tsn1*) и рецессивного (*tsn1*) аллелей. В работе исследовали 13 сортов озимой мягкой пшеницы (Гостианум 237, Лютесценс 230, Саратовская 8, Губерния, Мироновская 808, Донская безостая, Саратовская 90, Жемчужина Поволжья, Саратовская 17, Калач 60, Подруга, Анастасия, Соседка) и 7 — яровой мягкой пшеницы (Фаворит, Прохоровка, Юго-Восточная 2, Саратовская 70, Саратовская 73, Белянка, Лебедушка). Из них 16 были допущены к использованию в 2022 году. Соседка — перспективный сортобразец озимой мягкой пшеницы; Гостианум 237, Лютесценс 230, Саратовская 8 — селекционные сорта озимой мягкой пшеницы саратовской селекции, полученные в первой половине XX века. Полевые испытания проводили в 2020–2022 годах в селекционном питомнике ФГБНУ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока (г. Саратов). Для оценки сортов пшеницы к местной популяции возбудителя пиренофороза на естественном инфекционном фоне использовали модифицированную и дополненную шкалу Саари-Прескотта (Saari and Prescott). В лабораторных условиях листья растений заражали *P. tritici-repentis* и *B. sorokiniana*. Инокулюм включал смесь нескольких изолятов гриба из коллекции Всероссийского НИИ защиты растений, полученных в 2022 году из растительного инфекционного материала из Саратовской (*P. tritici-repentis*, ToxA), Ленинградской (*B. sorokiniana*) областей и Республики Казахстан (*P. tritici-repentis*, ToxB). Для фитопатологической оценки *P. tritici-repentis* использовали балльную шкалу, характеризующую степень развития некрозов и хлорозов. При оценке устойчивости пшеницы к темно-буровой пятнистости, вызываемой *B. sorokiniana*, использовали шкалу, разработанную в ВИЗР. Геномную ДНК из листьев 5-суточных проростков пшеницы выделяли стандартным методом СТАВ/хлороформ. После количественной оценки концентрацию ДНК нормализовали до 30 нг/мкл для последующей ПЦР. Скрининг изолятов на присутствие доминантного или рецессивного аллеля гена (*Tsn1/tns1*) в генотипе сорта проводили методом ПЦР с парами праймеров Xfcp623F/Xfcp623R (ЗАО «ЕвроГен», Россия). Доля сортов, устойчивых к изолятам *P. tritici-repentis*, способным продуцировать токсины, кодируемые генами ToxA и ToxB, составила 40 %, к изоляту с геном ToxA — 55 %, с ToxB — 60 %. Доля сортов, показавших среднюю устойчивость к *Bipolaris sorokiniana*, составила всего 15 %. Наибольший интерес представляют генотипы трех сортов озимой мягкой пшеницы (Гостианум 237, Мироновская 808, Подруга) и пять генотипов яровой мягкой пшеницы (Фаворит, Прохоровка, Саратовская 70, Саратовская 73, Белянка), которые оказались устойчивы к пиренофорозу в лабораторных и трехлетних полевых испытаниях. При молекулярном скрининге этих сортов также подтвердилась невосприимчивость к PtrToxA, поскольку они несли *ttn1*, что указывает на их устойчивость к белку-токсину гриба PtrToxA. Указанные сортобразцы рекомендуются к использованию в селекционных региональных программах по повышению устойчивости пшеницы к возбудителям желтой и темно-буровой пятнистостей листьев.

Ключевые слова: пшеница, *Pyrenophora tritici-repentis*, *Bipolaris sorokiniana*, ToxA, *Tsn1*, ПЦР, желтая пятнистость, пиренофороз, темно-бурая пятнистость.

* Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, проект № 19-76-30005.

Вредоносные заболевания занимают особое место среди факторов, лимитирующих урожай зерновых культур в Саратовской области. Ежегодный мониторинг фитосанитарного состояния посевов пшеницы в регионе показывает активное развитие листовых пятнистостей и накопление их инфекционного потенциала. Одно из широко распространенных по области заболеваний пшеницы — желтая пятнистость листьев, или пиренофороз.

Желтая пятнистость (пиренофороз) листьев — экономически значимое заболевание пшеницы во всем мире (1, 2). Возбудителем болезни служит аскомицетный гриб *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler, известный способностью синтезировать некротрофные эффекторы (necrotrophic effectors, NEs), в том числе специфичные к хозяину токсины (host selective toxins, HSTs), которые функционируют как факторы патогенности. У вида *P. tritici-repentis* описаны три некротрофных эффектора — PtrToxA, PtrToxB и PtrToxC. PtrToxA и PtrToxB — это белки, PtrToxC представляет собой низкомолекулярное соединение небелковой природы (3-5).

Взаимоотношения в патосистеме мягкая пшеница — *P. tritici-repentis* осуществляются по типу ген-на-ген в зеркальном отражении, то есть каждый индивидуальный токсин узнается продуктом одного локуса восприимчивого хозяина, что выражается в восприимчивости растения и проявлении болезни (6-8). Уникальность этой патосистемы состоит в том, что ген *ToxA*, детерминирующий основной фактор патогенности (токсин PtrToxA), привнесен в геном *P. tritici-repentis* горизонтальным переносом из другого патогена пшеницы — гриба *Parastagonospora nodorum* (9, 10).

Еще одно потенциально опасное заболевание, зафиксированное в регионе, — темно-бурая пятнистость пшеницы, хотя до настоящего времени Саратовская область не входила в эпифитотийно опасную зону по его распространению. В благоприятные для патогена годы наблюдалось незначительное поражение (не более 10 %) некоторых сортов. Однако в связи с различными факторами (изменение климата, несоблюдение севооборота, перенасыщение монокультурой и т.д.) можно предположить, что массовое распространение этого возбудителя в регионе лишь вопрос времени. Если во время колошения непрерывно в течение 5-6 сут идет дождь с последующим повышением дневной температуры до 20-30 °C, эпифитотия темно-буровой пятнистости на пшенице может развиваться очень быстро (11).

Темно-бурую листовую пятнистость злаков вызывает анаморфный гриб *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorokin) Shoem., в половой стадии — *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur. Заболевание поражает ячмень, пшеницу, рожь, тритикале и несколько дикорастущих трав (12). Значение этого заболевания возрастает в странах Северной и Южной Америки, а также в Европе (13). Оно широко распространено во многих регионах Российской Федерации: в Северно-Западном и Северокавказском регионах, в Татарстане, Приамурье (14-16). Возбудитель — гемибиотроф, то есть, помимо паразитического существования, он способен к сапроптическому обитанию. В семенах, почве и на растительных остатках гриб сохраняет жизнеспособность до 5-7 лет. Потери урожая могут составлять 20-40 %. Вид *B. sorokiniana* полиморфный, он вызывает также гельминтоспориозную корневую гниль и в комплексе с другими патогенами — черный зародыш семян (17).

Устойчивость пшеницы к возбудителю *B. sorokiniana* генетически детерминирована. Известно, что наличие гена *Sb1* в генотипе повышает количественную (неполную) устойчивость к темно-буровой пятнистости. Сегмент хромосомы, в котором находится ген *Sb1*, содержит также ген устойчивости

к бурой ржавчине *Lr34*, широко используемый в создании сортов пшеницы (11).

M. Lillemo с соавт. (18) указывают на наличие гена устойчивости к *B. sorokiniana*, не аллельного *Sb1*, который сцеплен с геном устойчивости к бурой ржавчине *Lr46*. Есть сведения о наличии двух и более генов устойчивости к *B. sorokiniana* и эффективности их пирамидирования. Выявлено, что образцы пшеницы с эректоидными и полупоникающими листьями меньше поражаются темно-бурой пятнистостью, чем образцы с опущенными или поникающими (19).

Наиболее рациональным методом защиты пшеницы от листовых пятнистостей служит возделывание и использование устойчивых сортов. В связи с широким распространением и вредоносностью этих заболеваний, многие научные работы посвящены поиску образцов зерновых культур, устойчивых к указанным патогенам (20-22). Однако в большинстве случаев выявленных устойчивых образцов пшеницы недостаточно.

В настоящей работе в результате комплексной полевой и лабораторной оценки 20 сортов мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), возделываемых на территории Нижневолжского региона, впервые выявлены образцы, устойчивые к возбудителю пиренофороза, а также среднеустойчивые к возбудителю темно-бурой пятнистости. Результаты идентификации аллелей *Tsn1/tsn1* с использованием молекулярного маркера *Xfcp623* показали, что среди изучаемых образцов пшеницы ген *Tsn1* преимущественно встречался в озимых сортах. Впервые выявлены статистически значимые различия между средними значениями показателей полевой фитопатологической оценки сортов, входящих в разные группы устойчивости к *P. tritici-repentis* (RR, R, MS и S).

Цель работы — оценка устойчивости сортов озимой и яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), возделываемых на территории Нижневолжского региона, к возбудителям желтой и темно-бурой пятнистостей и идентификация у растений доминантного/рецессивного аллеля гена *Tsn1*.

Методика. Исследовали 13 сортов озимой мягкой пшеницы (Гостианум 237, Лютесценс 230, Саратовская 8, Губерния, Мироновская 808, Донская безостая, Саратовская 90, Жемчужина Поволжья, Саратовская 17, Калач 60, Подруга, Анастасия, Соседка) и 7 яровой мягкой пшеницы (Фаворит, Прохоровка, Юго-Восточная 2, Саратовская 70, Саратовская 73, Белянка, Лебедушка). Из них 16 были допущены к использованию в 2022 году (23). Соседка — перспективный сортообразец озимой мягкой пшеницы; Гостианум 237, Лютесценс 230, Саратовская 8 — селекционные сорта озимой мягкой пшеницы саратовской селекции, полученные в первой половине XX века.

Полевые испытания проводили в 2020-2022 годах в селекционном питомнике ФГБНУ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока (г. Саратов). Для оценки сортов пшеницы по устойчивости к местной популяции возбудителя пиренофороза в полевых условиях на естественном инфекционном фоне использовали модифицированную и дополненную шкалу Саари-Прескотта (Saari & Prescott) (24). Все сорта, находившиеся в испытании, были разделены на 5 групп: RR — высокоустойчивые (поражаемость < 11 %), R — устойчивые (11-20 %), MS — умеренно восприимчивые (21-40 %), S — восприимчивые (41-70 %) и HS — высоковосприимчивые (71-100 %).

В лабораторных условиях листья растений заражали *P. tritici-repentis* и *B. sorokiniana*. Иноокулум включал смесь нескольких изолятов гриба из

коллекции Всероссийского НИИ защиты растений, полученных в 2022 году из растительного инфекционного материала из Саратовской (*P. tritici-repentis*, *ToxA*), Ленинградской (*B. sorokiniana*) областей и Республики Казахстан (*P. tritici-repentis*, *ToxB*).

Для фитопатологической оценки *P. tritici-repentis* использовали балльную шкалу, характеризующую степень развития некрозов и хлорозов (25): 1/0 (хлороз/некроз), 1/1 — устойчивость (R), 1/2, 2/1, 2/2 — умеренная устойчивость (MR), 2/3, 2/4 — умеренная восприимчивость (MS), 3/2, 3/3, 3/4 — восприимчивость (S), 4/3, 4/4, 4/5, 5/4, 5/5 — высокая восприимчивость (HS). При оценке устойчивости пшеницы к темно-буровой пятнистости, вызываемой *B. sorokiniana*, использовали шкалу, разработанную в ВИЗР: 1 — листья зеленые, с точечными пятнами темно-бурового цвета (устойчивые образцы, R); 2 — листья зеленые, пятна размером до 1 мм (средне устойчивые, MR); 3 — темно-бурые пятна до 2 мм, сливающиеся (умеренно восприимчивые, MS); 4 — листья хлоротичные, темно-бурые пятна достигают 3 мм (восприимчивые, S); 5 — листья хлоротичные, пятна более 3 мм, макерация тканей (высоковосприимчивые, HS) (26).

Геномную ДНК из листьев 5-суточных проростков пшеницы выделяли стандартным методом СТАВ/хлороформ (27). Качество проб ДНК проверяли в 1 % агарозном геле. Вторичный контроль на чистоту и качество выполняли на спектрофотометре SmartSpecTMPlus («Bio-Rad», США). После количественной оценки концентрацию ДНК нормализовали до 30 нг/мкл для последующей ПЦР. Количество ДНК соответствовало протоколу ПЦР для идентификации гена *Tsn1* (28-30).

Реакционная смесь для амплификации геномной ДНК (финальный объем 25 мкл) содержала 2,5 мкл 10× ПЦР-буфера («Биолабмикс», Россия), 0,5 мкл смеси dNTP (10 мМ) («TransGen Biotech Co., Ltd.», Китай), 0,5 мкл каждого праймера (25 мКМ) (ЗАО «Евроген», Россия), 0,15 мкл Таq ДНК-полимеразы (5 ед/мкл, «Диалат ЛТД», Россия), 1 мкл геномной ДНК и 19,85 мкл diH₂O. ПЦР проводили в амплификаторе C1000 Touch Thermal Cycler («Bio-Rad», США).

Амплифицированные фрагменты разделяли электрофорезом в 1,5 % агарозном геле в 1× ТВЕ буфере (рН 8,2), гель окрашивали бромистым этидием («Биоламбикс», Россия). Для приготовления агарозного геля к 3 г агарозы («Helicon», США) добавляли 200 мл 1× ТВЕ буфера и нагревали до полного растворения агарозы, затем охлаждали и добавляли 1,8 мкл бромистого этидия. Для приготовления 1 л 10× ТВЕ буфера использовали 108 г Трис-HCl («Helicon», США), 55 г борной кислоты («Helicon», США), 9,3 г EDTA («Helicon», США) и diH₂O. Для получения 1× ТВЕ буфера 100 мл 10× ТВЕ буфера доводили до 1 л diH₂O. Размер фрагментов оценивали с использованием ДНК маркера Step100 plus («Биолабмикс», Россия).

Скрининг изолятов на присутствие доминантного или рецессивного аллелей гена *Tsn1/tsn1* проводили методом ПЦР с парами праймеров Xfcp623F/Xfcp623R (ЗАО «Евроген», Россия). Условия ПЦР: 3 мин при 94 °C; 30 с при 94 °C, 30 с при 60 °C, 1 мин при 72 °C (45 циклов); 5 мин при 72 °C. Праймер Xfcp623F имел нуклеотидную последовательность 5'-CTATTCGTAATCGTGCCTCCG-3', праймер Xfcp623R — 5'-CCTTCTCT-CTCACCGCTATCTCATC-3'. Размер ампликона составлял 380 п.н. (28-30).

Присутствие продукта амплификации маркера указывало на наличие доминантного аллеля *Tsn1* (восприимчивость к белку-токсину гриба *Ptr ToxA*), отсутствие — на наличие рецессивного аллеля *tsn1* (устойчивость к

Статистическую обработку данных проводили с использованием компьютерной программы Statistica 12 («StatSoft, Inc.», США). Рассчитывали среднее поражение листовой пластины пиренофорозом при полевой оценке (M) и стандартное отклонение ($\pm SD$). Для разделения изученных сортов пшеницы по устойчивости/восприимчивости к пиренофорозу использовали t -критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони. Этот критерий применяли для проверки значимости различия между фитопатологическими оценками сортов пшеницы (31).

Результаты. Как известно, климатические условия существенно влияют на развитие биологических систем. Повышение температуры и проявление засухи из-за изменения климата приводят к быстрому старению листьев, увеличивается распространение листовых пятнистостей (32). Метеоусловия вегетационных периодов 2020–2022 годов в регионе оказали благоприятное влияние на развитие возбудителя желтой пятнистости листьев пшеницы. Наибольшая степень поражения пшеницы пиренофорозом наблюдалась в 2022 году (более 40 % на восприимчивых сортах).

1. Характеристика сортов пшеницы (*Triticum aestivum L.*), возделываемых на территории Нижневолжского региона, по устойчивости к возбудителям желтой и темно-буровой пятнистостей

| Сорт (аллель) | Полевая оценка (<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>), % | | Лабораторная оценка, балл (фенотип) | |
|---------------------------------------|---|-------------------------|-------------------------------------|----------|
| | $M \pm SD$ (n = 90) | Фенотип устойчивости | <i>P. tritici-repentis</i> | |
| | | | ToxA | ToxB |
| П ш е н и ц а м я г к а я о з и м а я | | | | |
| Гостианум 237 (<i>tsn1</i>) | 4,3±1,15 | RR | 2/1 (MR) | 2/2 (MR) |
| Лютесценс 230 (<i>tsn1</i>) | 23,3±5,77 | MS | 1/2 (MR) | 1/1 (R) |
| Саратовская 8 (<i>tsn1</i>) | 18,3±2,89 | R | 1/1 (R) | 1/1 (R) |
| Губерния* (<i>tsn1</i>) | 6,7±2,89 | RR | 3/2 (S) | 3/2 (S) |
| Мироновская 808* (<i>tsn1</i>) | 8,3±5,77 | RR | 3/2 (S) | 1/1 (R) |
| Донская безостая* (<i>tsn1</i>) | 8,3±2,89 | RR | 3/2 (S) | 1/1 (R) |
| Саратовская 90* (<i>tsn1</i>) | 48,3±2,89 | S | 1/1 (R) | 3/3 (S) |
| Жемчужина Поволжья* (<i>tsn1</i>) | 41,7±5,77 | S | 3/3 (S) | 3/3 (S) |
| Саратовская 17* (<i>tsn1</i>) | 41,7±5,77 | S | 1/1 (R) | 3/3 (S) |
| Калач 60* (<i>tsn1</i>) | 21,7±7,64 | MS | 1/1 (R) | 1/1 (R) |
| Подруга* (<i>tsn1</i>) | 3,3±2,89 | RR | 3/3 (S) | 3/3 (S) |
| Анастасия* (<i>tsn1</i>) | 28,3±2,89 | MS | 1/1 (R) | 3/3 (S) |
| Соседка (<i>tsn1</i>) | 8,3±5,77 | RR | 1/0 (R) | 1/1 (R) |
| П ш е н и ц а м я г к а я я р о в а я | | | | |
| Фаворит* (<i>tsn1</i>) | 6,7±2,89 | RR | 1/1 (R) | 1/1 (R) |
| Прохоровка* (<i>tsn1</i>) | 10,0±5,00 | RR | 3/3 (S) | 1/1 (R) |
| Юго-Восточная 2* (<i>tsn1</i>) | 23,33±5,77 | MS | 3/3 (S) | 3/3 (S) |
| Саратовская 70* (<i>tsn1</i>) | 11,7±2,89 | R | 3/3 (S) | 2/2 (MR) |
| Саратовская 73* (<i>tsn1</i>) | 8,3±2,89 | RR | 1/1 (R) | 2/2 (MR) |
| Белянка* (<i>tsn1</i>) | 16,7±5,77 | R | 1/1 (R) | 1/1 (R) |
| Лебедушка* (<i>tsn1</i>) | 26,7±2,89 | MS | 3/3 (S) | 3/3 (S) |

Примечание. RR — высокая устойчивость, R — устойчивость, MR — умеренная устойчивость, MS — умеренная восприимчивость, S — восприимчивость. Полевые испытания проводили в 2020–2022 годах в селекционном питомнике ФГБНУ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока (г. Саратов). Звездочкой отмечены сорта, допущенные к возделыванию на территории Нижневолжского региона РФ (8-й регион) (13).

По данным, полученным в 2020–2022 годах в селекционном питомнике ФГБНУ ФАНЦ Юго-Востока, изученные сортообразцы мягкой озимой и яровой пшеницы характеризовались разной устойчивостью к местной популяции возбудителя *P. tritici-repentis* (табл. 1). Степень поражения сортов Гостианум 237, Губерния, Мироновская 808, Донская безостая, Подруга, Соседка, Фаворит, Прохоровка и Саратовская 73 не превышала 8 %, поэтому они вошли в группу высокоустойчивых (RR). Сорта Саратовская 8, Саратовская 70 и Белянка оказались устойчивыми (R) со средней степенью поражения не более 18 %.

2. Результаты дисперсионного анализа апостериорных сравнений сортов пшеницы (*Triticum aestivum* L.) в зависимости от поражения *Pyrenophora tritici-repentis* в полевых условиях, полученные с использованием *t*-критерия Стьюдента с поправкой Бонферрони (селекционный питомник ФГБНУ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока, г. Саратов, 2020–2022 годы)

| Сорт | Лютесценс 230 | Саратовская 8 | Губерния | Мироновская 808 | Донская безостая | Саратовская 90 | Жемчужина Поволжья | Саратовская 17 | Калач 60 | Подруга | Анастасия | Соседка | Фаворит | Прохоровка | Юго-Восточная 2 | Саратовская 70 | Саратовская 73 | Белянка | Лебедушка |
|--------------------|---------------|---------------|----------|-----------------|------------------|----------------|--------------------|----------------|----------|---------|-----------|---------|---------|------------|-----------------|----------------|----------------|---------|-----------|
| Гостианум 237 | 0* | 0* | 0,52 | 0,28 | 0,28 | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,79 | 0* | 0,28 | 0,53 | 0,13 | 0* | 0,04* | 0,28 | 0* | 0* |
| Лютесценс 230 | 0,18 | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,65 | 0* | 0,18 | 0* | 0* | 0* | 1 | 0* | 0* | 0,04* | 0,37 |
| Саратовская 8 | 0* | 0* | 0,01* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,04* | 0* | 0,01* | 0,01* | 0* | 0,03* | 0,04* | 0,08 | 0,01* | 0,65 | 0,65 | 0,03* |
| Губерния | 0,65 | 0,65 | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,37 | 0* | 0,65 | 1 | 0,37 | 0* | 0,04* | 0,65 | 0,01* | 0* | 0* |
| Мироновская 808 | 1 | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,18 | 0* | 1 | 0,65 | 0,65 | 0* | 0,37 | 1 | 0,03* | 0* | 0* |
| Донская безостая | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,18 | 0* | 1 | 0,65 | 0,65 | 0* | 0,04* | 1 | 0,03* | 0* | 0* |
| Саратовская 90 | 0,08 | 0,08 | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* |
| Жемчужина Поволжья | | | 1 | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* |
| Саратовская 17 | | | | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* |
| Калач 60 | | | | | 0* | 0,08 | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,65 | 0,01* | 0* | 0* | 0* | 0,04* | 0,18 | |
| Подруга | | | | | | 0* | 0,18 | 0,37 | 0,08 | 0* | 0* | 0,03* | 0,18 | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* |
| Анастасия | | | | | | | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,18 | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,65 |
| Соседка | | | | | | | | 0,65 | 0,65 | 0* | 0,04* | 1 | 0,03* | 0* | 0* | 0* | 0,03* | 0* | |
| Фаворит | | | | | | | | | 0,37 | 0* | 0,04* | 0,65 | 0,65 | 0,01* | 0* | 0* | 0,01* | 0* | |
| Прохоровка | | | | | | | | | | 0* | 0,04* | 0,65 | 0,04* | 0* | 0* | 0* | 0,04* | 0* | |
| Юго-Восточная 2 | | | | | | | | | | | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,37 | |
| Саратовская 70 | | | | | | | | | | | | 0* | 0* | 0* | 0* | 0* | 0,18 | 0* | |
| Саратовская 73 | | | | | | | | | | | | | 0,04* | 0,04* | 0,04* | 0,04* | 0,03* | 0* | |
| Белянка | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,03* | 0* | |
| | | | | | | | | | | | | | | | | | | 0,01* | |

* Отмечены разности, значимые на уровне $p \leq 0,05$.

Умеренную восприимчивость (MS) показали Лютесценс 230, Калач 60, Анастасия, Юго-Восточная 2 и Лебедушка. Остальные сорта оказались восприимчивыми к поражению пиренофорозом в полевых условиях (см. табл. 1).

Для установления достоверности различий между сортами пшеницы, ранжированными по группам устойчивости (RR, R, MS, S) к пиренофорозу, мы использовали *t*-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони (табл. 2). Были обнаружены статистически значимые различия между средними значениями показателей полевой фитопатологической оценки сортов по устойчивости к *P. tritici-repentis* у образцов, входящих в разные группы — RR, R, MS и S (см. табл. 2). При этом различий между сортами, входящими в одну группу, не выявили. Исключением были сорта Лютесценс 230 (MS) и Саратовская 8 (R) (средняя степень поражения пиренофорозом соответственно 23 и 18 %), а также сорта Мироновская 808 (RR) и Саратовская 70 (R) (8 и 12 %). Между этими парами сортов не удалось выявить статистически значимых различий ($p > 0,05$).

Л.А. Михайлова с соавт. (25) в результате анализа свыше 1000 образцов из коллекции ВИР определили, что частота устойчивых форм среди образцов озимой пшеницы выше, чем среди яровых. Скрининг по устойчивости к желтой пятнистости 209 сортов озимой и 136 сортов яровой пшеницы, включенных в Государственный реестр селекционных достижений РФ до 2010 года, показал, что около 40 % сортов озимой пшеницы и 16 % яровой характеризовались разной степенью устойчивости к *P. tritici-repentis*, остальные сортообразцы оказались восприимчивыми (25).

В связи с незначительным проявлением темно-буровой пятнистости в естественных условиях Нижневолжского региона сделать объективную полевую оценку на устойчивость сортообразцов пшеницы не удалось. Однако в условиях изменения климата, последствия которого наблюдаются в регионе ежегодно, вопрос о создании перспективного устойчивого селекционного материала, в том числе к темно-буровой пятнистости, несомненно, актуален. Особую значимость эта проблема приобретает сейчас, когда патоген под влиянием различных факторов (биологические особенности, антропогенное воздействие и т.п.) расширяет ареал распространения.

Несмотря на внушительное число сортов пшеницы, допущенных к использованию в различных регионах России, высокоустойчивых к темно-буровой пятнистости сортообразцов, вероятно, недостаточно. Например, в Республике Татарстан при сильном развитии темно-буровой пятнистости большинство сортов яровой пшеницы оказались восприимчивы к поражению (11). В Приамурье в условиях эпифитотии темно-буровой пятнистости выявлены образцы пшеницы с разной степенью устойчивости, а устойчивых к *B. sorokiniana* сортов ячменя обнаружено не было (16). В исследованиях А.В. Сидорова с соавт. (14) среди изученных образцов яровой мягкой пшеницы из мировой коллекции Всероссийского НИИ растениеводства им. Н.И. Вавилова не было идентифицировано высокоустойчивых к темно-буровой листовой пятнистости.

В результате проведенных нами лабораторных испытаний была дана оценка устойчивости сортов к возбудителям пиренофорозной и темно-буровой пятнистостей. При инокуляции образцов высокую устойчивость к обоим изолятам *P. tritici-repentis* (*ToxA* и *ToxB*) отмечали у сортов Саратовская 8, Калач 60, Соседка, Фаворит, Белянка. К изоляту, несущему ген *ToxA*, высокую устойчивость показали сортообразцы Саратовская 90, Саратовская 17, Анастасия, Саратовская 73, к изоляту с геном *ToxB* — Лю-

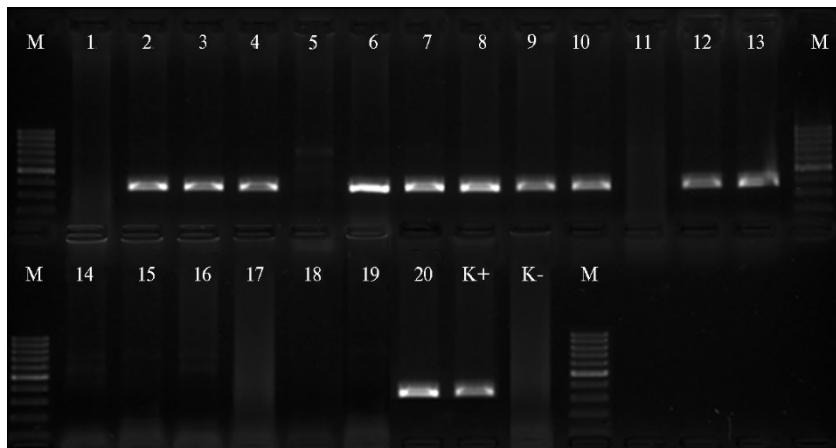
тесценс 230, Мироновская 808, Донская безостая, Прохоровка. Умеренную устойчивость к обоим изолятам *P. tritici-repentis* показали Гостианум 237, Лютесценс 230, к изоляту с геном *ToxB* — Саратовская 70, Саратовская 73. Общая доля сортов, устойчивых к изолятам *P. tritici-repentis*, продуцирующим токсины *ToxA* и *ToxB*, составила 40 %, к изоляту с геном *ToxA* — 55 %, с *ToxB* — 60 %. Восприимчивыми к обоим изолятам оказались образцы Губерния, Жемчужина Поволжья, Подруга, Юго-Восточная 2 и Лебедушка.

Н.М. Коваленко с соавт. (1) при скрининге 70 сортов мягкой пшеницы, впервые включенных в Государственный реестр селекционных достижений РФ в 2018-2020 годах, выявили, что доля сортов, устойчивых в фазу проростков к изолятам, продуцирующим токсины *ToxA* и *ToxB*, составила 13 %, к изоляту, образующему *ToxA*, — 21 %, *ToxB* — 43 %.

Наличие доноров устойчивости среди российских сортов пшеницы создает возможность для успешной селекции на иммунитет к желтой пятнистости. Это особенно актуально в современных условиях, когда распространение заболеваний по зернопроизводящим регионам России стало практически повсеместным, а потери урожая зерна могут составлять более 50 %.

В наших исследованиях при искусственном заражении сортообразцов пшеницы возбудителем *B. sorokiniana* высоустойчивых образцов выявлено не было. Однако среднюю устойчивость (MR) продемонстрировали три сорта — Лютесценс 230, Губерния и Белянка. Остальные образцы оказались восприимчивыми. Общая доля сортов, устойчивых к *B. sorokiniana*, составила 15 %.

Кроме полевой и лабораторной оценки на устойчивость сортов к возбудителю *P. tritici-repentis* был проведен скрининг сортообразцов на присутствие доминантного (*TsnI*) или рецессивного (*tsnI*) аллеля в генотипе (рис.).



Электрофорограмма продуктов амплификации маркера Xfcp623 у сортов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.): 1 — Гостианум 237, 2 — Лютесценс 230, 3 — Саратовская 8, 4 — Губерния, 5 — Мироновская 808, 6 — Донская безостая, 7 — Саратовская 90, 8 — Жемчужина Поволжья, 9 — Саратовская 17, 10 — Калач 60, 11 — Подруга, 12 — Анастасия, 13 — Соседка, 14 — Фаворит, 15 — Прохоровка, 16 — Юго-Восточная 2, 17 — Саратовская 70, 18 — Саратовская 73, 19 — Белянка, 20 — Лебедушка. М — ДНК маркер Step100 plus («Биолабмикс», Россия). Положительный контроль (K+) — сорт Glenlea, отрицательный контроль (K-) — линия 6B365. Размер диагностического фрагмента 380 п.н.

Среди 20 изучаемых сортообразцов только 3 сорта озимой (Гостианум 237, Мироновская 808, Подруга) и 6 сортов яровой мягкой пшеницы (Фаворит, Прохоровка, Юго-Восточная 2, Саратовская 70, Саратовская 73, Белянка) несли аллель *tsnI*, что указывает на их устойчивость к изолятам,

продуцирующим PtrToxA, на генетическом уровне.

Результаты идентификации аллелей *Tsn1* и *tsn1* с использованием молекулярного маркера Xfcpr623 показали преимущественное присутствие *Tsn1* у озимых сортов пшеницы (рис.).

Согласно данным литературы, одним из факторов сохранения и распространения изолятов с геном *ToxA* в популяции становится их отбор на сортах с геном восприимчивости *Tsn1* (33). Предполагается, что половая стадия *P. tritici-repentis* преимущественно наблюдается на озимых сортах и приводит к сохранению гена *ToxA* (34).

Из 20 проанализированных патосистем сорт—изолят *Tsn1—ToxA* взаимодействие генов почти в половине случаев (45,5 %) осуществлялось по типу ген-на-ген, то есть приводило к поражению сортов с доминантным аллелем *Tsn1* изолятами *P. tritici-repentis* с геном *ToxA*. В остальных 54,5 % случаях наблюдалась реакция устойчивости. Сорта с рецессивными аллелями *tsn1* изолятами *ToxA* поражались в 54,5 % комбинаций, остальные оставались устойчивыми. По-видимому, это происходило потому, что мы использовали не чистый токсин, а споровый материал гриба, несущего ген *ToxA* и способного продуцировать кроме PtrToxA пока не идентифицированные токсины (3, 5, 8).

Н.В. Мироненко с соавт. (34) объясняют устойчивость сортов с доминантным аллелем *Tsn1* к изолятам *P. tritici-repentis* с геном *ToxA* возможным снижением экспрессии гена *ToxA* под влиянием генетического фона конкретного сорта. Поражение сортов с рецессивными аллелями *tsn1* может свидетельствовать либо об отсутствии взаимоотношений между генами по типу ген-на-ген, либо о наличии других генов-эффекторов и генов восприимчивости в патосистеме.

В целом, из 20 исследованных нами сортообразцов озимой и яровой мягкой пшеницы только сорт Белянка характеризовался устойчивостью сразу к двум возбудителям. В полевых условиях он показал устойчивость к *P. tritici-repentis*, в лабораторных — к изолятам *P. tritici-repentis* с *ToxA* и *ToxB*, а также обладал средней устойчивостью к *B. sorokiniana*. Кроме того, сорт Белянка несет ген *tsn1*, что свидетельствует об устойчивости к *P. tritici-repentis* с *ToxA*.

Таким образом, в результате скрининга 20 сортов мягкой пшеницы, перспективных и допущенных к возделыванию в Нижневолжском регионе Российской Федерации, выявлены образцы, устойчивые к возбудителю пиренофорозной пятнистости, а также среднеустойчивые к возбудителю темно-буровой пятнистости. Доля сортов, устойчивых к изолятам *Pyrenophora tritici-repentis*, продуцирующим токсины PtrToxA и PtrToxB, составила 40 %, к продуcentам PtrToxA — 55 %, PtrToxB — 60 %. Доля сортов, показавших среднюю устойчивость к возбудителю *Bipolaris sorokiniana*, составила всего 15 %. Наибольший интерес представляют генотипы трех сортов озимой мягкой пшеницы (Гостианум 237, Мироновская 808, Подруга) и 5 генотипов яровой мягкой пшеницы (Фаворит, Прохоровка, Саратовская 70, Саратовская 73, Белянка), которые оказались устойчивы к пиренофорозу в лабораторных и трехлетних полевых испытаниях. При молекулярном скрининге у этих сортов также подтвердилась невосприимчивость к продуцентам PtrToxA, поскольку указанные сорта несли аллель *tsn1*, что свидетельствует об их устойчивости к белку-токсину гриба PtrToxA. Указанные сортообразцы рекомендуются к использованию в селекционных программах региона по повышению устойчивости пшеницы к возбудителям желтой и темно-буровой пятнистостей листьев.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Коваленко Н.М., Шайдаюк Е.Л., Гультяева Е.И. Характеристика устойчивости районированных сортов мягкой пшеницы к возбудителю желтой пятнистости. *Биотехнология и селекция растений*, 2022, 5(2): 15-24 (doi: 10.30901/2658-6266-2022-2-03).
2. Bankina B., Bimšteine G., Arhipova I., Kaneps J., Darguža M. Impact of crop rotation and soil tillage on the severity of winter wheat leaf blotches. *Rural Sustainability Research*, 2021, 45(340): 21-27 (doi: 10.2478/plua-2021-0004).
3. Effertz R.J., Meinhardt S.W., Anderson J., Jordahl J.G., Franci L.J. Identification of a chlorosis-inducing toxin from *Pyrenophora tritici-repentis* and the chromosomal location of an insensitivity locus in wheat. *Phytopathology*, 2002, 92(5): 527-533 (doi: 10.1094/PHYTO.2002.92.5.527).
4. Ramos E.R., Kutcher R., Dallagnol J. *Pyrenophora tritici-repentis*: a worldwide threat to wheat. In: *Wheat* [Working Title]. IntechOpen, 2023 (doi: 10.5772/intechopen.110306).
5. Corsi B., Percival-Alwyn L., Downie R.C., Venturini L., Iagallo E.M., Mantello C.C., McCormick-Barnes Ch., Theen See P., Oliver R.P., Moffat C.S., Cockram J. Genetic analysis of wheat sensitivity to the ToxB fungal effector from *Pyrenophora tritici-repentis*, the causal agent of tan spot. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133: 935-950 (doi: 10.1007/s00122-019-03517-8).
6. Strelkov S., Lamari L. Host parasite interactions in tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] of wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2003, 25(4): 339-349 (doi: 10.1080/07060660309507089).
7. Faris J.D., Overlander M.E., Kariyawasam G.K., Carter A., Xu S.S., Liu Z. Identification of a major dominant gene for race-nonspecific tan spot resistance in wild emmer wheat. *Theoretical and Applied Genetics*, 2020, 133(3): 829-841 (doi: 10.1007/s00122-019-03509-8).
8. Gourlie R., McDonald M., Hafez M., Ortega-Polo R., Low K.E., Abbott D.W., Strelkov S. E., Daayf F., Aboukhaddou R. The pangenome of the wheat pathogen *Pyrenophora tritici-repentis* reveals novel transposons associated with necrotrophic effectors ToxA and ToxB. *BMC Biology*, 2022, 20(1): 239 (doi: 10.1186/s12915-022-01433-w).
9. Friesen T.L., Holmes D.J., Bowden R.L., Faris J.D. *ToxA* is present in the u.s. *Bipolaris sorokiniana* population and is a significant virulence factor on wheat harboring *Tsn1*. *Plant Disease*. 2018, 102(12): 2446-2452 (doi: 10.1094/PDIS-03-18-0521-RE).
10. Bertagnolli V.V., Ferreira J.R., Liu Z., Rosa A.C., Deuner C.C. Phenotypical and genotypical characterization of *Pyrenophora tritici-repentis* races in Brazil. *European Journal of Plant Pathology*, 2019, 154(4): 995-1007 (doi: 10.1007/s10658-019-01720-3).
11. Асхадуллин Дан.Ф., Асхадуллин Дам.Ф., Василова Н.З., Жарехина Т.В., Гайфуллина Г.Р., Хусаинова И.И., Багавиева Э.З., Тазутдинова М.Р. Темно-бурая листовая пятнистость на яровой мягкой пшенице в Татарстане. *Защита и карантин растений*, 2018, 9: 17-19.
12. Novakazi F., Afanaseenko O., Lashina N., Platz G. J., Snowdon R., Loskutov I., Ordon F. Genome-wide association studies in a barley (*Hordeum vulgare*) diversity set reveal a limited number of loci for resistance to spot blotch (*Bipolaris sorokiniana*). *Plant Breeding*, 2020, 139(3): 521-535 (doi: 10.1111/pbr.12792).
13. Gupta P.K., Chand R., Vasistha N.K., Pandey S.P., Kumar U., Mishra V.K., Joshi A.K. Spot blotch disease of wheat: the current status of research on genetics and breeding. *Plant Pathology*, 2018, 67(3): 508-531 (doi: 10.1111/ppa.12781).
14. Сидоров А.В., Захаров В.Г., Тырышкин Л.Г. Полевая устойчивость образцов овса и ячменя к грибным листовым болезням. *Известия Санкт-Петербургского государственного аграрного университета*, 2018, 53: 76-79 (doi: 10.24411/2078-1318-2018-14076).
15. Кремнева О.Ю., Костенко И.А., Пачкин А.А., Данилов Р.Ю., Пономарев А.В., Ким Ю.С. Картирование распространения и развития фитопатогенов на пшенице и ячмене с использованием NextGIS. *Зерновое хозяйство России*, 2020, 3(69): 61-66 (doi: 10.31367/2079-8725-2020-69-3-61-66).
16. Макарова М.А., Каракеева Г.С., Ломакина И.В. Источники устойчивости яровых пшеницы и ячменя к грибным болезням в Приамурье. *Защита и карантин растений*, 2018, 8: 41-43.
17. Акулов А.Ю. Биологические особенности *Bipolaris sorokiniana* (Sacc. in Sorokin) Shoem и дифференцированная диагностика возбудителей корневой гнили и черного зародыша ячменя. Канд. дис. Харьков, 2006: 232.
18. Lillemo M., Joshi A.K., Prasad R., Chand R., Singh R. QTL for spot blotch resistance in bread wheat line Saar co-locate to the biotrophic disease resistance loci Lr34 and Lr46. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126(3): 711-719 (doi: 10.1007/s00122-012-2012-6).
19. Joshil A.K., Chand R. Variation and inheritance of leaf angle, and its association with spot blotch (*Bipolaris sorokiniana*) severity in wheat (*Triticum aestivum*). *Euphytica*, 2002, 124: 283-291 (doi: 10.1023/A:1015773404694).
20. Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. Особенности взаимодействия генов *Tsn1* и *ToxA* в патосистеме *Triticum aestivum* — *Pyrenophora tritici-repentis*. *Вестник защиты растений*, 2018, 2(96): 12-16.
21. Конькова Э.А., Ляшева С.В. Желтая пятнистость листьев озимой мягкой пшеницы в Саратовской области. *Зерновое хозяйство России*, 2020, 3(69): 67-71 (doi: 10.31367/2079-8725-2020-69-3-67-71).

22. Kumarbayeva M., Kokmetova A., Kovalenko N.M., Atishova M., Keishilov Z., Aitymbetova K. Characterization of *Pyrenophora tritici-repentis* (tan spot of wheat) races in Kazakhstan. *Phytopathologia Mediterranea*, 2022, 61(2): 243-257 (doi: 10.36253/phyto-13178).
23. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т.1. «Сорта растений» (официальное издание). М., 2022: 646.
24. Коломиц Т.М., Пахолкова Е.В., Дубовая Л.П. Отбор исходного материала для создания сортов пшеницы с длительной устойчивостью к септориозу. М., 2017: 56.
25. Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. Желтая пятнистость пшеницы. Методические указания по изучению возбудителя желтой пятнистости *Pyrenophora tritici-repentis* и устойчивости сортов. СПб, 2012: 64.
26. Смуррова С.Г. Новые источники и доноры устойчивости пшеницы к *Cochliobolus sativus* Drechs. ex Dastur. Канд. дис. СПб, 2008: 236.
27. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 1990, 12(1): 13-15.
28. Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy Ph., Ganap M.W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*, 1998, 149(4): 2007-2023 (doi: 10.1093/genetics/149.4.2007).
29. Zhang Z., Friesen T.L., Simons K.J., Xu S.S., Faris J.D. Development, identification, and validation of markers for marker-assisted selection against the *Stagonospora nodorum* toxin sensitivity genes *Tsn1* and *Snn2* in wheat. *Molecular Breeding*, 2009, 23: 35-49 (doi: 10.1007/s11032-008-9211-5).
30. Faris J.D., Zhang Z., Lu H.J., Lu S.W., Reddy L., Cloutier S., Fellers J.P., Meinhardt S.W., Rasmussen J.B., Xu S.S., Oliver R.P., Simons K.J., Friesen T.L. A unique wheat disease resistance-like gene governs effector-triggered susceptibility to necrotrophic pathogens. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2010, 107(30): 13544-13549 (doi: 10.1073/pnas.1004090107).
31. Трухачева Н.В. Медицинская статистика: уч. пос. Ростов-на-Дону, 2017.
32. Кохметова А.М., Али С., Сапахова З., Атишова М.Н. Идентификация генотипов-носителей устойчивости к токсинам пиренофороза *PtrToxA* и *PtrToxB* *Pyrenophora tritici-repentis* в коллекции мягкой пшеницы. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2018, 22(8): 978-986 (doi: 10.18699/VJ18.440).
33. Мироненко Н.В., Баранова О.А., Коваленко Н.М., Афанасенко О.С., Михайлова Л.А. Селективное влияние сортов пшеницы с геном *Tsn1* на формирование популяции возбудителя желтой пятнистости *Pyrenophora tritici-repentis*. Вестник защиты растений, 2017, 3 (93): 23-27.
34. Мироненко Н.В., Баранова О.А., Коваленко Н.М. Роль полового процесса в сохранении чужеродной транслокации гена *ToxA* в геноме *Pyrenophora tritici-repentis*. Микология и фитопатология, 2019, 53(2): 115-123 (doi: 10.1134/S0026364819020077).

¹ФГБНУ Федеральный аграрный научный центр Юго-Востока,

410010 Россия, г. Саратов, ул. Тулаикова, 7,
e-mail: baukenowaea@mail.ru , lyaschevasveta@yandex.ru;

²ФГБНУ Всероссийский НИИ защиты растений,
196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбелского, 3,
e-mail: zelenewa@mail.ru, nadyakov@mail.ru

Поступила в редакцию
7 августа 2023 года

Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology], 2023, V. 58, № 5, pp. 852-863

CHARACTERISTICS OF PERSPECTIVE WHEAT CULTIVARS, ADMITTED TO CULTIVATION IN THE LOWER VOLGA REGION OF THE RUSSIAN FEDERATION, BASED ON RESISTANCE TO PERYNOPHOROSIS AND TAN SPOT PATHOGENS

E.A. Konkova¹ , S.V. Lyascheva¹, Yu.V. Zeleneva², N.M. Kovalenko²

¹*Federal Center of Agriculture Research of the South-East Region*, 7, ul. Tulaikova, Saratov, 410010 Russia, e-mail baukenowaea@mail.ru () corresponding author, lyaschevasveta@yandex.ru;

²*All-Russian Research Institute of Plant Protection*, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail nadyakov@mail.ru, zelenewa@mail.ru

ORCID:

Konkova E.A. orcid.org/0000-0001-8607-2301

Lyashcheva S.V. orcid.org/0000-0002-6790-0770

Zeleneva Yu.V. orcid.org/0000-0001-9716-288X

Kovalenko N.M. orcid.org/0000-0001-9577-8816

The authors declare no conflict of interests

Acknowledgements:

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

Supported financially by the Russian Science Foundation, Project No. 19-76-30005

Final revision received August 07, 2023

doi: 10.15389/agrobiology.2023.5.852eng

Accepted October 03, 2023

Abstract

Annual monitoring of the phytosanitary condition of wheat crops in the Saratov region evidences the active development of leaf spots and the accumulation of their infectious potential. *Pyrenophora tritici-repentis* is the causative agent of pyrenophora, or tan spot, and one of the dangerous wheat diseases. *Bipolaris sorokiniana* is the causative agent of spot blotch, a potentially dangerous wheat disease. In this work, as a result of field and laboratory assessment of 20 varieties of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivated in the Lower Volga region, samples resistant to the pathogen of tan spot, as well as moderately resistant to the pathogen of spot blotch, were identified for the first time. The results of identification of the *Tsn1/tsn1* gene allele using the molecular marker Xfcp623 showed that among the studied wheat samples, the *Tsn1* gene was predominant in winter wheat varieties. For the first time, statistically significant differences were revealed between the average values of field phytopathological estimates of resistance to *P. tritici-repentis* among varieties from different resistance groups (RR, R, MS and S). The purpose of the study is to assess the resistance of winter and spring bread wheat varieties (*Triticum aestivum* L.) cultivated in the Lower Volga region to tan spot and spot blotch pathogens and to identify the dominant/recessive allele of the *Tsn1* gene in plants. The work examined 13 varieties of winter bread wheat (Gostianum 237, Lutescens 230, Saratovskaya 8, Guberniya, Mironovskaya 808, Donskaya bezostaya, Saratovskaya 90, Zhemchuzhina Povolzhya, Saratovskaya 17, Kalach 60, Podruga, Anastasia, Sosedka) and 7 varieties of spring bread wheat (Favorit, Prokhorovka, Yugo-Vostochnaya 2, Saratovskaya 70, Saratovskaya 73, Belyanka, Lebedushka). Of these, 16 varieties were approved for use in 2022. Sosedka is a promising variety of winter bread wheat; Gostianum 237, Lutescens 230, Saratovskaya 8 are the Saratov selection varieties of winter bread wheat produced in the first half of the 20th century. Field trials were carried out in 2020-2022 in the breeding nursery of the Federal Center of Agriculture Research of the South- East Region (Saratov). The response of wheat varieties to natural infection by a local population of the yellow spot pathogen was assessed under field conditions using a modified and extended Saari-Prescott scale. In lab tests, plant leaves were infected with *P. tritici-repentis* and *B. sorokiniana*. The inoculum consisted of a mixture of several fungal isolates from plant infectious material 2022 from the Saratov (*P. tritici-repentis*, *ToxA*), and Leningrad (*B. sorokiniana*) regions and the Republic of Kazakhstan (*P. tritici-repentis*, *ToxB*) obtained from the collection of the All-Russian Research Institute of Plant Protection. For phytopathological assessment of *P. tritici-repentis*, a scoring scale was used that characterizes the development degree of necrosis and chlorosis. When assessing the resistance of wheat to spot blotch caused by *B. sorokiniana*, we used a scale developed at the All-Russian Research Institute of Plant Protection. Genomic DNA was isolated from leaves of 5-day-old wheat seedlings using the standard CTAB/chloroform method. After quantification, the DNA concentration was normalized to 30 ng/ μ l for subsequent PCR. Screening for the presence of a dominant or recessive gene allele (*Tsn1* or *tsn1*) in the varieties was carried out using PCR with primer pairs Xfcp623F/Xfcp623R (ZAO Evrogen, Russia). The proportion of varieties resistant to *P. tritici-repentis* isolates capable of producing toxins encoded by the *ToxA* and *ToxB* genes was 40 %, to the isolate with *ToxA* — 55 %, with *ToxB* — 60 %. The proportion of varieties with moderate resistance to *Bipolaris sorokiniana* was only 15 %. The genotypes of three winter bread wheat varieties (Gostianum 237, Mironovskaya 808, Podruga) and 5 genotypes of spring bread wheat (Favorit, Prokhorovka, Saratovskaya 70, Saratovskaya 73, Belyanka) which turned out to be resistant to tan spot in laboratory and three-year field trials are of the greatest interest. Molecular screening of these varieties also confirmed resistance to the PtrToxA producer, since they had *tsn1*, which indicates their resistance to the fungal toxin protein PtrToxA. These varieties should be involved into breeding programs in the region to improve the resistance of wheat to brown spot and blight pathogens.

Keywords: wheat, *Pyrenophora tritici-repentis*, *Bipolaris sorokiniana*, *ToxA*, *Tsn1*, PCR, yellow leaf spot, tan spot, spot blotch.