

## Фитопатология, токсикология

УДК 633.11:632.4

doi: 10.15389/agrobiology.2023.5.915rus

### **УСТОЙЧИВОСТЬ К ПИРЕНОФОРОЗУ (*Pyrenophora tritici-repentis*) У СОРТОВ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*Triticum aestivum L.*), ВОЗДЕЛЫВАЕМЫХ НА ТЕРРИТОРИИ ТАМБОВСКОЙ ОБЛАСТИ\***

**Н.М. КОВАЛЕНКО<sup>1</sup>, Ю.В. ЗЕЛЕНЕВА<sup>1</sup>✉, В.П. СУДНИКОВА<sup>2</sup>**

Тамбовская область входит в состав Центрально-Черноземного региона с высокоразвитым зерновым производством. В структуре посевых площадей зерновые составляют 50-55 % пашни. Урожайность, валовые сборы и качество зерна в регионе существенно варьируют и определяются многими факторами, в том числе поражением растений грибными фитопатогенами. Гриб *Pyrenophora tritici-repentis* — возбудитель пиренофороза, или желтой пятнистости, опасной болезни пшеницы, которая быстро прогрессирует в зернопроизводящих странах. Внедрение в сельскохозяйственное производство устойчивых к болезням сортов — экономически выгодный и экологически безопасный метод защиты растений, повышающий эффективность химических и агротехнических мероприятий. В настоящей работе при изучении расового состава популяции *P. tritici-repentis* на территории Тамбовской области впервые идентифицированы пять рас патогена. При этом преобладали расы, продуцирующие *PtrToxC*, реже встречались расы с экзотоксином, кодируемым геном *ToxA*. Кроме того, впервые отобраны восемь сортов пшеницы, которые обладали высокой устойчивостью к фитопатогену в полевых и лабораторных условиях, также подтвердилась их невосприимчивость к *PtrToxA* при молекулярном скрининге. Цель работы — проанализировать коллекцию изолятов *Pyrenophora tritici-repentis* из тамбовской популяции 2022 года по расовому составу, оценить устойчивость сортов озимой мягкой пшеницы к возбудителю желтой пятнистости, а также идентифицировать в генотипе сортов доминантный/рецессивный аллель гена *Tsn1*. Материалом для исследований служили 28 сортов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum L.*). Из них 20 были допущены к использованию в 2022 году: Антонивка, Безенчукская 380, Бирюза, Доминанта, Дон 93, Донэра, Донской Сюрприз, Звонница, Изюминка, Инна, Липецкая звезда, Льговская 4, Мироновская 100, Мироновская 808, Московская 39, Московская 40, Московская 56, Одесская 200, Синтетик, Скипетр. Остальные 8 сортов — Косовица, Круиз, Лагуна, Латыневка, Льговская 167, Престиж, Проза, Спартак — не районированные. Устойчивость сортов пшеницы к *P. tritici-repentis* оценивали в лабораторных условиях в 2022 году по общепринятой методике. Инфекционный материал принадлежал популяции гриба, собранной в Тамбовской области. Выделение моноконидиальных изолятов *P. tritici-repentis* из 19 пораженных образцов озимой мягкой пшеницы в чистую культуру на питательную среду V4 позволило получить 68 изолятов. Реакцию проростков пшеницы на инокуляцию суспензией *P. tritici-repentis* оценивали на 5-6-е сут. Расовый состав популяции *P. tritici-repentis* изучали по международной методике с использованием набора дифференциаторов, состоящего из сорта Glenlea и линий 6B365, 6B662 — идентификаторов токсинов *PtrToxA*, *PtrToxC* и *PtrToxB*, по реакции листьев (некроз/хлороз) на внедрение фитопатогена. Полевая оценка была дана сортам пшеницы на стационарном участке Среднерусского филиала ФНЦ им. И.В. Мичурина (Тамбовская обл., Тамбовский р-н) в 2020-2022 годах. Сорта оценивали на естественном инфекционном фоне. Геномную ДНК из листьев 5-суточных проростков пшеницы выделяли стандартным методом СТАВ/хлороформ. После количественной оценки концентрацию ДНК нормализовали до 30 нг/мкл для проведения ПЦР. Скрининг изолятов на присутствие домinantного или рецессивного аллеля *Tsn1/tsn1* проводили с использованием праймеров Xfcpr623F/Xfcpr623R. Среди изолятов *P. tritici-repentis*, выделенных из образцов озимой мягкой пшеницы на территории Тамбовской области, были распространены три расы, из которых раса 4 не продуцировала токсины *PtrToxA*, *PtrToxB* и *PtrToxC*, раса 3 продуцировала токсин *PtrToxC*, раса 1 — *PtrToxA* и *PtrToxC*. К редким были отнесены расы 8 (*PtrToxA*, *PtrToxB* и *PtrToxC*) и 2 (*PtrToxA*). Расы 5 (*PtrToxB*), 6 (*PtrToxB* и *PtrToxC*) и 7 (*PtrToxA* и *PtrToxB*) в популяции отсутствовали. Раса 3, продуцирующая экзотоксин, кодируемый геном *ToxC*, имела наибольшую представленность в популяции *P. tritici-repentis* на территории Тамбовской области, реже отмечали расы, продуцирующие *PtrToxA*. С практической точки зрения наибольший интерес представляли семь сортов озимой мягкой пшеницы, допущенных согласно Реестру селекционных достижений к возделыванию на территории Тамбовской области, — Липецкая звезда, Московская 56, Московская 40, Безенчукская 380, Бирюза, Инна, Одесская 200, а также сорт Доминанта, допущенный в Северо-Кавказском и Уральском регионах. Эти сорта продемонстрировали самую высокую устойчивость к фитопатогену в полевых и лабораторных условиях и подтвердили невосприимчивость к *PtrToxA* при молекулярном скрининге. Носители идентифицированного рецессивного ал-

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

леля гена *Tsn1*, предопределяющего устойчивость к токсину PtrToxA *P. tritici-repentis*, рекомендуется использовать в селекционных программах по повышению устойчивости к пиренофорозу пшеницы.

**Ключевые слова:** *Pyrenophoratritici-repentis*, *ToxA*, *ToxB*, *ToxC*, *Tsn1*, желтая пятнистость, пиренофороз, ПЦР, пшеница.

Тамбовская область входит в состав Центрально-Черноземного региона Российской Федерации и принадлежит к полосе развитого земледелия, что определяет повышенную роль аграрного сектора в экономике. В структуре посевых площадей Тамбовской области наибольшую долю занимают зерновые культуры: озимая и яровая пшеница (в среднем 31 % от общего размера площадей в регионе), озимый и яровой ячмень (20 %), кукуруза на зерно (7 %) (1, 2). По данным ФГБУ Россельхозцентр по Тамбовской области (2), в 2020 и 2021 годах самыми популярными были сорта озимой мягкой пшеницы Московская 56, Московская 40, Скипетр, в 2022 году — Московская 56 и два сорта краснодарской селекции (Алексеич и Гром).

В настоящее время среди вредоносных грибных болезней пшеницы, распространенных на территории области, особую экономическую значимость приобретает желтая пятнистость, или пиренофороз. Возбудитель болезни — гриб *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler. Это одна из наиболее вредоносных болезней пшеницы, которая встречается во всех районах возделывания культуры (3-5). *P. tritici-repentis* способен поражать вегетативную надземную часть растений и зерновки, но обычно наиболее заметен на листьях. Некрозы и хлорозы на тканях растений приводят к нарушению метаболизма хозяина, снижению качественных и количественных показателей урожайности. В годы эпифитотий потери урожая могут превышать 50 % (6).

Гриб *P. tritici-repentis* известен своей 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. При этом существует большее количество NEs (7-9). PtrToxA и PtrToxB представляют собой белки, PtrToxC — низкомолекулярное соединение белковой природы (10-12).

В зависимости от производства NEs штаммы *P. tritici-repentis* разделяют на восемь рас. PtrToxA выделяется расами 1, 2, 7 и 8, PtrToxB — расами 5, 6, 7 и 8, PtrToxC — расами 1, 3, 6 и 8 (13). Рана 4 не секретирует ни одного из трех известных токсинов, специфичных к хозяину, и считается авирулентной согласно существующей расовой модели (14, 15).

В настоящей работе при изучении расового состава популяции *P. tritici-repentis* на территории Тамбовской области впервые идентифицированы пять рас патогена. При этом преобладали расы, продуцирующие PtrToxC, реже встречались расы с экзотоксином, кодируемого геном *ToxA*. Кроме того, впервые отобраны восемь сортов пшеницы, которые обладали высокой устойчивостью к фитопатогену в полевых и лабораторных условиях, также подтвердилась их невосприимчивость к PtrToxA при молекулярном скрининге.

Цель работы — проанализировать коллекцию изолятов *Pyrenophora tritici-repentis* из тамбовской популяции 2022 года по расовому составу, оценить устойчивости сортов озимой мягкой пшеницы к возбудителю желтой пятнистости, а также идентифицировать в генотипе сортов доминантный/рецессивный аллель гена *Tsn1*.

*Методика.* Образцы пораженных листьев пшеницы собирали в 2022

году на опытных и производственных полях ФНЦ им. И.В. Мичурина (Тамбовская обл., Тамбовский р-н). Метеоусловия года способствовали развитию желтой пятнистости. Все образцы были собраны в фазу созревания, в стадию молочно-восковой спелости растений (75-85 по шкале Zadoks). Собирали листья с типичными внешними признаками болезни и гербариизировали. Всего было собрано 19 инфекционных образцов с сортов пшеницы (*Triticum aestivum* L.): Безенчукская 380, Бирюза, Звонница, Изюминка, Инна, Косовица, Лагуна, Латыневка, Липецкая звезда, Льговская 167, Льговская 4, Мироновская 100, Мироновская 808, Московская 39, Московская 40, Престиж, Проза, Синтетик, Спартак. Под инфекционным образом понимали листья с хорошо выраженным симптомами пиренофороза, собранные на одном поле по его диагонали через равные расстояния в одно время (16).

В дальнейшем образцы анализировали в лабораторных условиях, выделяли чистую культуру гриба на питательную среду V4, которая состояла из 150 мл смеси соков четырех овощей, 850 мл воды и 1,5 г CaCO<sub>3</sub> (17). Конидальные изоляты использовали для оценки сортов пшеницы на устойчивость к пиренофорозу в условиях лаборатории и изучения расового состава популяции гриба.

При оценке на устойчивость к пиренофорозу в лабораторных условиях (2022 год) материалом служили 28 сортов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Из них 20 были допущены к использованию в 2022 году: Антонивка, Безенчукская 380, Бирюза, Доминанта, Дон 93, Донэра, Донской Сюрприз, Звонница, Изюминка, Инна, Липецкая звезда, Льговская 4, Мироновская 100, Мироновская 808, Московская 39, Московская 40, Московская 56, Одесская 200, Синтетик, Скипетр. Остальные 8 сортов (Косовица, Круз, Лагуна, Латыневка, Льговская 167, Престиж, Проза, Спартак) не районированы (16).

Отрезки листьев 10-суточных проростков длиной 3-4 см раскладывали в кюветах на стекло, обернутое фильтровальной бумагой, смоченной 0,004 % водным раствором бензимидазола. Концы отрезков укрывали ватными валиками, пропитанными тем же раствором. Подготовленные таким образом листья (по 10 для каждого сорта) располагали рядами и инокулировали суспензией конидий ( $2-3 \times 10^3$  ед.) методом опрыскивания с помощью пульверизатора.

Кювету накрывали стеклом и выдерживали в течение 1 сут в темноте при комнатной температуре. Затем ее помещали в светоустановку с флуоресцентными лампами ЛБ-40 (модель MIR-154, «Sanyo Incubator», Япония) при температуре 22 °C. Реакцию проростков на инокуляцию суспензией *P. tritici-repentis* оценивали на 5-6-е сут по разработанной в ВИЗР шкале (17): 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).

Расовый состав популяции *P. tritici-repentis* изучали по международной методике с использованием набора дифференциаторов, состоящего из сорта Glenlea и линий 6B365, 6B662 — идентификаторов токсинов PtrToxA, PtrToxC и PtrToxB, по реакции листьев (некроз/хлороз) на внедрение фитопатогена (14, 18). Всего было протестировано 68 изолятов гриба.

Полевая оценка была дана сортам пшеницы на стационарном участке Среднерусского филиала ФНЦ им. И.В. Мичурина, расположенному в северо-восточной части Центрально-Черноземного региона (Тамбовская обл.,

Тамбовский р-н), в 2020-2022 годах. Сорта оценивали на естественном инфекционном фоне. Учетная площадь делянки составляла 10 м<sup>2</sup>, повторность четырехкратная. Посев проводили сеялкой СФК («Lemken», Германия), норма высева — 5 млн всхожих семян на 1 га. Агротехника выращивания культуры была общепринятой для Тамбовской области. Предшественник — чистый пар (19).

Для оценки сортов пшеницы по устойчивости к пиренофорозу в полевых условиях использовали модифицированную шкалу Саари-Прескотта (Saari and Prescott) (20). Сорта делили на пять групп: RR — высокоустойчивые (интенсивность поражения < 11 %), R — устойчивые (11-20 %), MS — умеренно восприимчивые (21-40 %), S — восприимчивые (41-70 %), HS — высоковосприимчивые (71-100 %). На каждой опытной делянке просматривали листья главного стебля в 30 повторностях (по 10 стеблей в трех местах). Учитывали от 1 до 3 листьев на стебле. Учеты проводили каждые 7-10 сут и заканчивали в фазу молочно-восковой спелости. Вычисляли среднюю степень поражения сорта болезнью (%), а также определяли стадии развития озимой пшеницы по шкале Zadoks, фиксируя следующие стадии: конец колошения—начало цветения (59-61 по шкале), конец цветения—образование зерна (69-71 по шкале), молочно-восковая спелость (75-85 по шкале).

Геномную ДНК из листьев 5-суточных проростков пшеницы выделяли стандартным методом СТАВ/хлороформ (21). Качество проб ДНК проверяли в 1 % агарозном геле. Вторичный контроль на чистоту и качество выполняли на спектрофотометре Smart Spec TMPlus («Bio-Rad», США).

После количественной оценки концентрацию ДНК нормализовали до 30 нг/мкл для проведения ПЦР. Количество ДНК соответствовало протоколу ПЦР для идентификации гена *Tsn1* (22-24).

Амплификацию геномной ДНК проводили в 25 мкл реакционной смеси: 2 мкл геномной ДНК (25 нг, допустимо от 2 до 50 нг), 1 мкл каждого праймера (10 пМ/мкл) (ЗАО «Евроген», Россия), 0,5 мкл смеси dNTPs mix (10 мМ, водный раствор dCTP, dGTP, dTTP и dATP) («TransGen», Китай), 0,55 мкл MgCl<sub>2</sub> (100 мМ), 0,5 мкл Bio Таq ДНК-полимераза (5U, 5 ед/мкл) («Диалат Лтд.», Россия), 2,5 мкл 10× ПЦР-буфера («Биолабмикс», Россия), 17 мкл ddH<sub>2</sub>O. ПЦР проводили в амплификаторе C1000 Touch Thermal Cycler («Bio-Rad», США).

Скрининг изолятов на присутствие доминантного/рецессивного аллеля гена *Tsn1/tsn1* выполняли с праймерами Xfcpr623F/Xfcpr623R. Условия ПЦР были следующими: 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 Xfcpr623F имел нуклеотидную последовательность 5'-CTATTCTCGTAATCGTGCGCTTCG-3'; праймер Xfcpr623R — 5'-CCTTCTCTCACCGCTATCTCATC-3'. Размер ампликона составлял 380 п.н. (22-24).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы STATISTICA 12 («StatSoft, Inc., США). Рассчитывали среднее поражение листовой пластины пиренофорозом в 2020-2022 годах (*M*) и стандартные отклонения ( $\pm SD$ ). С использованием критерия Ньюмена-Кеулса (Newman-Keuls test) (при *p* < 0,05) проводили попарное (множественное) сравнение средних значений для показателей фитопатологической оценки устойчивости сортов пшеницы за трехлетний период к возбудителю желтой пятнистости в полевых условиях.

**Результаты.** Генотипирование образцов пшеницы с использованием молекулярного маркера было направлено на идентификацию носителей

генов, контролирующих чувствительность и устойчивость к токсину PtrToxA. У сортов Латынека, Дон 93, Синтетик и Лагуна (14,3 % от числа изученных) и контроля Glenlea — носителя *Tsn1* для маркера Xfcpr623 амплифицировался фрагмент 380 п.н., ассоциированный с геном *Tsn1*, чувствительным к токсину PtrToxA, (табл. 1, рис.). Генотипы остальных 24 сортов (85,7 % от числа изученных) содержали рецессивный аллель *tsn1*. Ген *ToxA* широко представлен в генотипах российских популяций гриба *P. tritici-repentis* (25). Мы можем отметить тот факт, что 22 сорта озимой мягкой пшеницы, представленные в таблице 1, в том числе допущенные к возделыванию в 5-й зоне, куда входит Тамбовская область, защищены от PtrToxA на генетическом уровне благодаря наличию рецессивного аллеля *tsn1*. Токсин PtrToxA характерен не только для *P. tritici-repentis*, но и для *Parastagonospora nodorum* и *Parastagonospora avenae* f. sp. *triticea*, вызывающих септориоз листа и колоса пшеницы на посевах в Тамбовской области (26, 27). То есть наши результаты позволяют предположить наличие генетической защиты у районированных сортов от токсина PtrToxA, синтезируемого тремя опасными фитопатогенами.

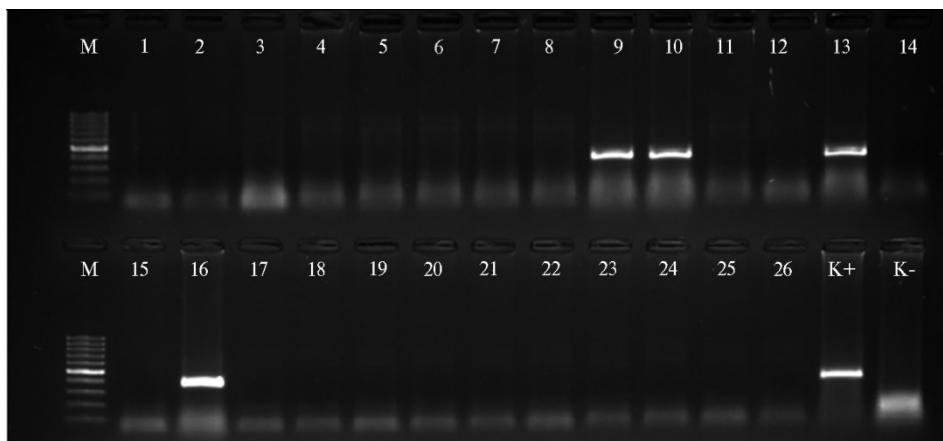
### 1. Характеристика сортов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), возделываемых на территории Тамбовской области, по устойчивости к возбудителю желтой пятнистости *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler

| Сорт             | <i>Tsn1/tsn1</i> | Полевая фитопатологическая оценка ( <i>n</i> = 90, 2020–2022 годы) |                      | Лабораторная оценка ( <i>N</i> = 10, 2022 год) |                      |
|------------------|------------------|--|----------------------|--|----------------------|
|                  |                  | поражение листовой пластины, % ( <i>M±SD</i> )                     | фенотип устойчивости | тип реакции                                    | фенотип устойчивости |
| Липецкая звезда  | <i>tsn1</i>      | 13,3±5,77  | R                    | 1/1  | R                    |
| Московская 56    | <i>tsn1</i>      | 13,3±5,77  | R                    | 2/2  | MR                   |
| Доминанта        | <i>tsn1</i>      | 16,7±5,77  | R                    | 2/2  | MR                   |
| Московская 40    | <i>tsn1</i>      | 16,7±5,77  | R                    | 2/2  | MR                   |
| Безенчукская 380 | <i>tsn1</i>      | 20,0±0,00  | R                    | 1/2  | MR                   |
| Бирюза           | <i>tsn1</i>      | 20,0±0,00  | R                    | 1/2  | MR                   |
| Инна             | <i>tsn1</i>      | 20,0±0,00  | R                    | 2/2  | MR                   |
| Одесская 200     | <i>tsn1</i>      | 20,0±0,00  | R                    | 2/2  | MR                   |
| Латынека         | <i>Tsn1</i>      | 23,3±5,77  | MS                   | 2/2  | MR                   |
| Проза            | -                | 23,3±5,77  | MS                   | 2/2  | MR                   |
| Спартак          | -                | 26,7±11,55   | MS                   | 2/2  | MR                   |
| Дон 93           | <i>Tsn1</i>      | 26,7±11,55   | MS                   | 2/2  | MR                   |
| Льговская 167    | <i>tsn1</i>      | 30,0±0,00  | MS                   | 3/3  | S                    |
| Пrestиж          | <i>tsn1</i>      | 30,0±0,00  | MS                   | 3/3  | S                    |
| Синтетик         | <i>Tsn1</i>      | 30,0±10,00   | MS                   | 3/3  | S                    |
| Антонивка        | <i>tsn1</i>      | 33,3±5,77  | MS                   | 3/3  | S                    |
| Донской Сюрприз  | <i>tsn1</i>      | 33,3±5,77  | MS                   | 3/3  | S                    |
| Лагуна           | <i>Tsn1</i>      | 33,3±5,77  | MS                   | 3/2  | S                    |
| Льговская 4      | <i>tsn1</i>      | 33,3±5,77  | MS                   | 3/4  | S                    |
| Скипетр          | <i>tsn1</i>      | 33,3±20,82   | MS                   | 3/3  | S                    |
| Донэра           | <i>tsn1</i>      | 36,7±5,77  | MS                   | 3/3  | S                    |
| Косовица         | <i>tsn1</i>      | 36,7±11,55   | MS                   | 3/3  | S                    |
| Мироновская 100  | <i>tsn1</i>      | 36,7±5,77  | MS                   | 3/3  | S                    |
| Изюминка         | <i>tsn1</i>      | 40,0±0,00  | MS                   | 3/3  | S                    |
| Круз             | <i>tsn1</i>      | 40,0±0,00  | MS                   | 3/3  | S                    |
| Московская 39    | <i>tsn1</i>      | 40,0±10,00   | MS                   | 3/3  | S                    |
| Звонница         | <i>tsn1</i>      | 43,3±5,77  | S                    | 3/3  | S                    |
| Мироновская 808  | <i>tsn1</i>      | 50,0±0,00  | S                    | 3/3  | S                    |

П р и м е ч а н и е. R — устойчивость, MR — умеренная устойчивость, MS — умеренная восприимчивость, S — восприимчивость. Полевые испытания проводили на участке Среднерусского филиала ФНЦ им. И. В. Мицуринова (Тамбовская обл., Тамбовский р-н). Присутствие доминантного или рецессивного аллеля гена *Tsn1/tsn1* определяли по наличию диагностического фрагмента маркера Xfcpr623. Прочерки означают, что молекулярный анализ сортов не проводили.

Маркер Xfcpr623 эффективен благодаря расположению внутри гена *Tsn1*, в инtronе 5 этого локуса в позиции 4901–5280 (24). В базе данных Komugi (Wheat Genetic Resources DataBase, <https://shigen.nig.ac.jp/wheat/komugi/>) *Tsn1*, зарегистрированный как ген чувствительности к HST ToxA, имеет 8 экзонов и структуру S/TPK-NBS-LRR. Для нормального функционирования гена *Tsn1* необходимы все три домена, при этом продукт гена непосредственно

не взаимодействует с токсином ToxA (24).



**Электрофорограмма продуктов ПЦР-амплификации маркера Xfcp623 у сортов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.), возделываемых на территории Тамбовской области: 1 — Липецкая звезда, 2 — Московская 56, 3 — Доминанта, 4 — Московская 40, 5 — Безенчукская 380, 6 — Бирюза, 7 — Инна, 8 — Одесская 200, 9 — Латыневка, 10 — Дон 93, 11 — Льговская 167, 12 — Престиж, 13 — Синтетик, 14 — Антонивка, 15 — Донской Сюрприз, 16 — Лагуна, 17 — Льговская 4, 18 — Скипетр, 19 — Донэра, 20 — Косовица, 21 — Мироновская 100, 22 — Изюминка, 23 — Круиз, 24 — Московская 39, 25 — Звонница, 26 — Мироновская 808. М — ДНК маркер Step100 plus («Биолабмикс», Россия). Положительный контроль (K+) — сорт Glenlea, отрицательный контроль (K-) — линия 6B365. Размер диагностического фрагмента 380 п.н**

## 2. Происхождение моноконидиальных изолятов *Pyrenophora tritici-repentis* и частота встречаемости различных рас в популяции (лабораторный опыт, 2022 год)

| Сорт-хозяин                             | Число изолятов | Частота встречаемости рас <i>Pyrenophora tritici-repentis</i> , % |         |           |           |          |
|---|----------------|---|---------|-----------|-----------|----------|
|   |                | 1<br>AC   | 2<br>A  | 3<br>C    | 4         | 8<br>ABC |
| Безенчукская 380                        | 2              | 0   | 0       | 50,0      | 50,0      | 0        |
| Бирюза                                  | 4              | 0   | 0       | 100       | 0         | 0        |
| Звонница                                | 6              | 16,7  | 0       | 83,3      | 0         | 0        |
| Изюминка                                | 4              | 0   | 0       | 100       | 0         | 0        |
| Инна                                    | 4              | 25,0  | 0       | 75,0      | 0         | 0        |
| Косовица                                | 4              | 0   | 0       | 100       | 0         | 0        |
| Лагуна                                  | 4              | 33,3  | 0       | 66,7      | 0         | 0        |
| Латыневка                               | 2              | 0   | 0       | 0         | 100       | 0        |
| Липецкая звезда                         | 4              | 0   | 0       | 33,3      | 66,7      | 0        |
| Льговская 167                           | 2              | 0   | 0       | 0         | 100       | 0        |
| Льговская 4                             | 4              | 100   | 0       | 0         | 0         | 0        |
| Мироновская 100                         | 4              | 50,0  | 0       | 0         | 50,0      | 0        |
| Мироновская 808                         | 6              | 0   | 0       | 0         | 100       | 0        |
| Московская 39                           | 2              | 50,0  | 0       | 0         | 0         | 50,0     |
| Московская 40                           | 2              | 0   | 0       | 50,0      | 50,0      | 0        |
| Престиж                                 | 4              | 0   | 25,0    | 0         | 0         | 75,0     |
| Проза                                   | 2              | 50  | 0       | 0         | 50,0      | 0        |
| Синтетик                                | 4              | 0   | 0       | 50,0      | 0         | 50,0     |
| Спартак                                 | 4              | 50,0  | 0       | 0         | 50,0      | 0        |
| Встречаемость рас в популяции, % (M±SD) | 68             | 19,7±28,5   | 1,3±5,7 | 37,3±40,3 | 32,5±38,7 | 9,2±22,4 |

П р и м е ч а н и е. А, В, С — наличие соответственно токсинов PtrToxA, PtrToxB и PtrToxC, продуцируемых изолятами патогена. Раса 4 указанные токсины не продуцирует.

Выделение моноконидиальных изолятов *P. tritici-repentis* из 19 пораженных образцов озимой мягкой пшеницы в чистую культуру на питательной среде V-4 позволило получить 68 изолятов и изучить их по расовому составу на наборе сортов и линий-дифференциаторов пшеницы. На основании результатов учета некрозов и хлорозов на листьях набора в популяции гриба 2022 года были идентифицированы 5 рас (табл. 2).

В популяции *P. tritici-repentis* были распространены расы 4 (не производит токсины PtrToxA, PtrToxB и PtrToxC), 3 (производит PtrToxC) и 1 (PtrToxA и PtrToxC). Редкими оказались расы 8 (PtrToxA, PtrToxB и PtrToxC) и 2 (PtrToxA). В популяции не были выявлены расы 5 (PtrToxB), 6 (PtrToxBиPtrToxC) и 7 (PtrToxA и PtrToxB). То есть в популяции *P. tritici-repentis*, сформировавшейся на территории Тамбовской области в 2022 году, были наиболее распространены расы, производящие PtrToxC, реже — экзотоксин, кодируемый геном *ToxA*. Рас, способных производить PtrToxB, мы не обнаружили.

Полученные нами результаты согласуются с публикациями, в которых сообщается об отсутствии гена *ToxB* и широкой представленности гена *ToxA* в генотипах изолятов *P. tritici-repentis* из популяций гриба на территории Российской Федерации (25, 28, 29).

Н.В. Мироненко с соавт. (25) провели анализ коллекции изолятов *P. tritici-repentis*, собранных в 2017–2018 годах в южных, северных и западносибирских регионах России, Финляндии и Казахстана. Был изучен их расовый состав и наличие генов *ToxA* и *ToxB*. По результатам работы ген *ToxB* обнаружен не был. Отсутствие или редкую встречаемость изолятов, синтезирующих этот токсин, также отмечали в других странах (30, 31). Представленность гена *ToxA* варьировала в популяциях *P. tritici-repentis*. Так, в северокавказской популяции в России и юго-восточной популяции в Казахстане частота изолятов с геном *ToxA* составляла 100 %, в то время как в других популяциях встречаемость варьировала от 5,5 % (западносибирская омская популяция) до 66 % (финская популяция) (25).

Проведенное ранее сравнительное исследование расового состава *P. tritici-repentis* показало, что в России были идентифицированы расы 1, 2, 4 и 8, а в Казахстане — 1, 3, 4, 6 и 8. На территории Северного Кавказа РФ преобладали расы 1 и 2, в то время как в Казахстане — расы 1 и 8 (29). Расы 6 и 8 обладают способностью производить токсин PtrToxB, который отсутствует в популяциях гриба, представленных на территории России. Е.И. Гультиева с соавт. (28) обнаружили высокую генетическую схожесть между омской, североказахстанской и челябинской популяциями *P. tritici-repentis*, что свидетельствует о существовании единой эпидемиологической зоны и возможности генного потока между изученными популяциями.

В работе Н.М. Коваленко с соавт. (32) приведены результаты идентификации аллелей *Tsn1* и *tsn1* с использованием молекулярного маркера Xfcp623 у 35 сортов озимой и 31 сорта яровой пшеницы, впервые включенных в Государственный реестр селекционных достижений в 2018–2020 годах. Из них только 9 сортов озимой и 4 сорта яровой пшеницы несли *Tsn1*, что указывает на восприимчивость к PtrToxA, тогда как остальные сорта защищены от токсина на генетическом уровне.

В настоящей работе сравнение результатов, полученных в лабораторных (тип реакции) и полевых испытаниях (интенсивность поражения), выявило сходство по характеру устойчивости сортов озимой мягкой пшеницы (см. табл. 1). Наибольший интерес представляли восемь сортов (Липецкая звезда, Московская 56, Доминанта, Московская 40, Безенчукская 380, Бирюза, Инна, Одесская 200), которые характеризовались высокой устойчивостью к патогену как в лабораторных, так и в полевых условиях на протяжении трехлетних испытаний.

Сорта Латыневка (*Tsn1*), Проза, Спартак, Дон 93 (*Tsn1*) в лабораторных испытаниях проявили умеренно устойчивую реакцию, а в полевых условиях по интенсивности поражения растений вошли в группу умеренно восприимчивых.

**3. Результаты дисперсионного анализа для сравнения средних значений фитопатологической оценки возделываемых в Тамбовской области сортов озимой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.) по устойчивости к *Pyrenophora tritici-repentis* с использованием критерия Ньюмена-Кеулса (Среднерусский филиал ФНЦ им. И.В. Мичурина, Тамбовская обл., Тамбовский р-н., 2020-2022 годы)**

| Сорт            | Липецкая звезда | Московская 56 | Доминанта | Московская 40 | Безенчукская 380 | Бирюза | Инна   | Одесская 200 | Латынека | Проза | Спартак | Дон 93 |
|-----------------|-----------------|---------------|-----------|---------------|------------------|--------|--------|--------------|----------|-------|---------|--------|
| Донэра          | 0,03*           | 0,03*         | 0,13      | 0,12          | 0,31             | 0,35   | 0,33   | 0,29         | 0,59     | 0,62  | 0,86    | 0,89   |
| Косовица        | 0,03*           | 0,03*         | 0,12      | 0,11          | 0,29             | 0,33   | 0,31   | 0,27         | 0,56     | 0,59  | 0,83    | 0,86   |
| Мироновская 100 | 0,03*           | 0,03*         | 0,11      | 0,10          | 0,27             | 0,31   | 0,29   | 0,24         | 0,52     | 0,56  | 0,80    | 0,83   |
| Изюминка        | 0,01*           | 0,01*         | 0,04*     | 0,03*         | 0,12             | 0,13   | 0,13   | 0,11         | 0,31     | 0,33  | 0,63    | 0,66   |
| Круз            | 0,01*           | 0,01*         | 0,03*     | 0,03*         | 0,11             | 0,13   | 0,12   | 0,10         | 0,29     | 0,31  | 0,59    | 0,63   |
| Московская 39   | 0,01*           | 0,01*         | 0,03*     | 0,029*        | 0,10             | 0,12   | 0,11   | 0,09         | 0,27     | 0,29  | 0,56    | 0,59   |
| Звонница        | 0,001*          | 0,001*        | 0,01*     | 0,007*        | 0,03*            | 0,03*  | 0,03*  | 0,03*        | 0,10     | 0,11  | 0,29    | 0,31   |
| Мироновская 808 | 0,0002*         | 0,0002*       | 0,0003*   | 0,0003*       | 0,001*           | 0,001* | 0,001* | 0,001*       | 0,004*   | 0,01* | 0,02*   | 0,02*  |

\* Различия статистически значимы на уровне  $p < 0,05$ .

Некоторые различия по типу устойчивости сорта, отмеченные в полевых условиях в годы испытаний, можно объяснить сложившимися погодными условиями, более благоприятными для развития патогена в 2020 году, чем в 2021 и 2022 годах.

В полевых испытаниях 16 сортов пшеницы из 28, или 57,1 %, проявили восприимчивость к пиренофорозу. В связи с этим при возделывании в Тамбовской области восприимчивых к болезни сортов пшеницы предлагаются отслеживать порог вредоносности гриба для принятия превентивных мер защиты, а также расширять селекционные мероприятия по отбору и созданию доноров и источников устойчивости к *P. tritici-repentis*.

С использованием критерия Ньюмена-Кеулса мы провели множественное сравнение между показателями степени поражения пиренофорозом у сортов озимой мягкой пшеницы в полевых условиях (табл. 3). Результаты проведенного дисперсионного анализа с использованием критерия Ньюмена-Кеулса выявили статистически значимые различия между сортами по степени поражения пиренофорозом. Так, между восприимчивым сортом Мироновская 808 (S) и группой сортов Липецкая звезда, Московская 56, Доминанта, Московская 40, Бузенчукская 380, Бирюза, Инна, Одесская 200, Латынека, Проза, Спартак и Дон 93, обладающих устойчивостью к фитопатогену (R и MR), были установлены значимые различия по реакции на заражение пиренофорозом (см. табл. 1, 3). Отмечены различия между сортами Липецкая звезда, Московская 56, Доминанта, Московская 40, Бузенчукская 380, Бирюза, Инна, Одесская 200, обладающими полевой устойчивостью (R), и восприимчивым сортом Звонница (S). Кроме того, статистически значимые различия были зафиксированы между восприимчивыми сортами (MS) Изюминка, Круиз, Московская 39 и устойчивыми сортами (R) Липецкая звезда, Московская 56, Доминанта, Московская 40; между восприимчивыми сортами (MS) Донэра, Косовица, Мироновская 100 и устойчивыми сортами (R) Липецкая звезда, Московская 56.

Чувствительностью к NEs не всегда определяется чувствительность к *P. tritici-repentis*, а влияние взаимодействия *Tsn1*—*PtrToxA* на развитие болезни зависит от генетического фона хозяина, то есть от конкретного генотипа пшеницы (33). Эффекты взаимодействия *Tsn1*—*ToxA* в отношении пиренофороза у мягкой пшеницы могут варьировать от слабых до очень значительных (34). Некоторые генотипы пшеницы обладают факторами, которые приводят к изменению экспрессии гена *ToxA* через эпистаз или каким-то образом ингибируют распознавание продукта гена *ToxA* геном *Tsn1* в растениях, зараженных спорами гриба (34).

Таким образом, среди изолятов *Pyrenophora tritici-repentis*, выделенных из образцов озимой мягкой пшеницы на территории Тамбовской области, были распространены три расы, из которых раса 4 не продуцировала токсины *PtrToxA*, *PtrToxB* и *PtrToxC*, раса 3 продуцировала токсин *PtrToxC*, раса 1 — *PtrToxA* и *PtrToxC*. К редким были отнесены расы 8 (*PtrToxA*, *PtrToxB* и *PtrToxC*) и 2 (*PtrToxA*). Расы 5 (*PtrToxB*), 6 (*PtrToxB* и *PtrToxC*) и 7 (*PtrToxA* и *PtrToxB*) в популяции отсутствовали. Раса 3 геном экзотоксина гена *ToxC* имела наибольшую представленность в популяции *P. tritici-repentis* на территории Тамбовской области, реже отмечали расы, продуцирующие *PtrToxA*. С практической точки зрения наибольший интерес представляют семь сортов озимой мягкой пшеницы, допущенных согласно Регистру селекционных достижений к возделыванию на территории Тамбовской области, — Липецкая звезда, Московская 56, Московская 40, Бузенчукская 380, Бирюза, Инна, Одесская 200, а также сорт Доминанта, допущенный к выращиванию в Северо-Кавказском и Уральском регионах. Эти

сорта продемонстрировали самую высокую устойчивость к *P. tritici-repentis* в полевых и лабораторных условиях, молекулярный скрининг также подтвердил их невосприимчивость к PtrToxA. Полученные данные позволяют составить научно обоснованный набор сортов-дифференциаторов для определения патогенности возбудителя *P. tritici-repentis*.

*Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.*

## ЛИТЕРАТУРА

1. Обзор фитосанитарного состояния посевов сельскохозяйственных культур в Тамбовской области в 2021 году и прогноз развития вредных объектов в 2022 году. Тамбов, 2022: 134.
2. Обзор фитосанитарного состояния посевов сельскохозяйственных культур в Тамбовской области в 2022 году и прогноз развития вредных объектов в 2023 году. Тамбов, 2023: 155.
3. Ciuffetti L.M., Manning V.A., Pandelova I., Faris J.D., Friesen T.L., Strelkov S.E., Weber G.L., Goodwin S.B., Wolpert T.J., Figueroa M. *Pyrenophora tritici-repentis*: a plant pathogenic fungus with global impact. In: Genomics of plant-associated fungi: monocot pathogens /R.A. Dean, A. Lichens-Park, C. Kole (eds.). Springer, Berlin, 2014: 1-39 (doi: 10.1007/978-3-662-44053-7\_1).
4. 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).
5. Ким Ю.С., Волкова Г.В. Желтая пятнистость листьев пшеницы: распространение, вредоносность, расовый состав (обзор). *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*, 2020, 2(50): 105-116 (doi: 10.18286/1816-4501-2020-2-105-116).
6. Wegulo S.N. Tan spot of cereals. *The Plant Health Instructor*, 2011. Режим доступа: <https://www.apsnet.org/edcenter/disandpath/fungalasco/pdlessons/Pages/TanSpot.aspx>. Дата обращения: 18.04.2023.
7. Román Ramos A.E., Kutcher R., Dallagnol J. *Pyrenophora tritici-repentis*: A worldwide threat to wheat. In: *Wheat [Working title]*. IntechOpen, 2023 (doi: 10.5772/intechopen.110306).
8. 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).
9. 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): 1-21 (doi: 10.1186/s12915-022-01433-w).
10. 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: 1-16 (doi: 10.1007/s00122-019-03517-8).
11. Bertagnoli 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).
12. 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).
13. Lamari L., Strelkov S.E. The wheat/*Pyrenophora tritici-repentis* interaction: progress towards an understanding of tan spot disease. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2010, 32(1): 4-10 (doi: 10.1080/07060661003594117).
14. Lamari L., Sayoud R., Boulif M., Bernier C.C. Identification of a new race in *Pyrenophora tritici-repentis*: implications for the current pathotype classification system. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 1995, 17(4): 312-318 (doi: 10.1080/07060669509500668).
15. Strelkov S.E., Lamari L., Sayoud R., Smith R.B. Comparative virulence of chlorosis-inducing races of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2002, 24(1): 29-35 (doi: 10.1080/07060660109506967).
16. Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию. Т. 1. Сорта растений (официальное издание). М., 2022: 646.
17. 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.
18. Strelkov S.E., Lamari L. Host-parasite interaction in tan spot [*Pyrenophora tritici-repentis*] of wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 2003, 25(4): 339-349 (doi: 10.1080/07060660309507089).
19. Методика государственного сортиспытания сельскохозяйственных культур. Выпуск первый. М., 2019: 329.

20. Коломиц Т.М., Пахолкова Е.В., Дубовая Л.П. *Отбор исходного материала для создания сортов пшеницы с длительной устойчивостью к септориозу*. М., 2017: 56.
21. Doyle J.J., Doyle J.L. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 1990, 12: 13-15.
22. 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).
23. 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).
24. 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).
25. Мироненко Н.В., Коваленко Н.М., Баранова О.А. Характеристика географически отдаленных популяций *Pyrenophora tritici-repentis* по вирулентности и генам токсинообразования *ToxA* и *ToxB*. *Вестник защиты растений*, 2019, 1(99): 24-29 (doi: 10.31993/2308-6459-2019-1(99)-24-29).
26. Зеленева Ю.В., Аблова И.Б., Судникова В.П., Мохова Л.М., Конькова Э.А. Видовой состав возбудителей септориозов пшеницы в европейской части России и идентификация генов-эффекторов *SnToxA*, *SnTox1* и *SnTox3*. *Микология и фитопатология*, 2022, 56(6): 442-448 (doi: 10.31857/S0026364822060113).
27. Коваленко Н.М., Зеленева Ю.В., Судникова В.П. Характеристика популяций *Pyrenophora tritici-repentis*, *Parastagonospora nodorum* и *Parastagonospora pseudonodorum* на территории Тамбовской области по наличию генов-эффекторов. *Российская сельскохозяйственная наука*, 2023, 2: 20-25.
28. Гультьяева Е.И., Коваленко Н.М., Шаманин В.П., Тюнин В.А., Шрейдер Е.Р., Шайдаюк Е.Л., Моргунов А.И. Структура популяций листовых патогенов яровой пшеницы в западноазиатских регионах России и Северном Казахстане в 2017 г. *Вавиловский журнал генетики и селекции*, 2018, 22(3): 363-369 (doi: 10.18699/VJ18.372).
29. Kokhmetova A., Kremneva O., Volkova G., Atishova M., Sapakhova Z. Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot. *Journal of Plant Pathology*, 2017, 99: 161-167.
30. Moreno M.V., Stenglein S., Perello A.E. Distribution of races and Tox genes in *Pyrenophora tritici-repentis* isolates from wheat in Argentina. *Tropical Plant Pathology*, 2015, 40(2): 141-146 (doi: 10.1007/s40858-015-0011-2).
31. See P.T., Marathamuthu K.A., Iagallo E.M., Oliver R.P., Moffat C.S. Evaluating the importance of the tan spot ToxA-*Tsn1* interaction in Australian wheat varieties. *Plant Pathology*, 2018, 67(5): 1066-1075 (doi: 10.1111/ppa.12835).
32. Коваленко Н.М., Шайдаюк Е.Л., Гультьяева 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-o3).
33. Kariyawasam G.K., Carter A.H., Rasmussen J.B., Faris J.D., Xu S.S., Mergoum M., Liu Z. Genetic relationships between race-nonspecific and race specific interactions in the wheat-*Pyrenophora tritici-repentis* pathosystem. *Theor. Appl. Genet.*, 2016, 129: 897-908 (doi: 10.1007/s00122-016-2670-x).
34. Virdi S.K., Liu Z., Overlander M.E., Zhang Z., Xu S.S., Friesen T.L., Faris J.D. New insights into the roles of host gene-necrotrophic effector interactions in governing susceptibility of durum wheat to tan spot and *Septoria nodorum* Blotch. *G3 Genes|Genomes|Genetics*, 2016, 6(12): 4139-4150 (doi: 10.1534/G3.116.036525).

<sup>1</sup>ФГБНУ Всероссийский НИИ защиты растений,  
196608 Россия, г. Санкт-Петербург—Пушкин, ш. Подбелского, 3,  
e-mail: nadyakov@mail.ru, zelenewa@mail.ru ☐;

Поступила в редакцию  
21 апреля 2023 года

<sup>2</sup>ФНЦ им. И.В. Мицурина, Среднерусский филиал,  
392553 Россия, Тамбовская обл., Тамбовский р-н,  
пос. Новая Жизнь, ул. Молодежная, 1А,  
e-mail: sudnikova47@mail.ru

*Sel'skokhozyaistvennaya biologiya [Agricultural Biology]*, 2023, V. 58, № 5, pp. 915-926

## RESISTANCE OF SOFT WINTER WHEAT (*Triticum aestivum* L.) VARIETIES CULTIVATED IN THE TAMBOV REGION TO TAN SPOT (*Pyrenophora tritici-repentis*)

*N.M. Kovalenko<sup>1</sup>, Yu.V. Zeleneva<sup>1</sup> ☐, V.P. Sudnikova<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>All-Russian Research Institute of Plant Protection, 3, sh. Podbel'skogo, St. Petersburg, 196608 Russia, e-mail nadyakov@mail.ru, zelenewa@mail.ru (✉ corresponding author);

<sup>2</sup>Michurin Federal Science Center, Middle-Russian Branch, 1A, ul. Molodezhnaya, pos. Novaya Zhizn', Tambov District, Tambov Province, pos. Novaya Zhizn', 392553 Russia, e-mail sudnikova47@mail.ru

ORCID:

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

Sudnikova V.P. orcid.org/0000-0001-5367-1340

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

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 April 21, 2023

doi: 10.15389/agrobiology.2023.5.915eng

Accepted May 24, 2023

## Abstract

The Tambov region is part of the Central Black Earth region with highly developed grain production. In the structure of cultivated area, grains make up to 50-55 % of arable land. Productivity, gross yield and quality of grain in the region vary significantly and are determined by many factors, including damage to plants by fungal pathogens. The fungus *Pyrenophora tritici-repentis* is the causative agent of tan spot, or yellow spot, a dangerous disease of wheat that progresses rapidly in grain-producing countries. The introduction of disease-resistant varieties into grain production is an economically beneficial and environmentally friendly method of plant protection that increases the efficiency of chemical and agrotechnical measures. In this work, when studying the *P. tritici-repentis* population racial composition in the Tambov region, five races of the pathogen were identified for the first time. Races producing PtrToxC predominated, and races with the *ToxA* gene encoding exotoxin were less common. For the first time, eight wheat varieties were revealed that were highly resistant to the phytopathogen in field and laboratory conditions, molecular screening also confirmed resistance to PtrToxA. The purpose of the work was to investigate the race composition of *Pyrenophora tritici-repentis* isolates from the Tambov population of 2022, to assess the resistance of winter common wheat varieties cultivated in the Tambov region to the yellow spot pathogen, and to identify their dominant/recessive allele of the *Tsn1* gene. A set of 28 varieties of winter common wheat (*Triticum aestivum* L.) comprised 20 varieties approved for use since 2022 (Antonivka, Bezenchukskaya 380, Biryuza, Dominanta, Don 93, Donera, Donskoy Surpriz, Zvonnitsa, Izyuminka, Inna, Lipetskaya Zvezda, Lgovskaya 4, Mironovskaya 100, Mironovskaya 808, Moskovskaya 39, Moskovskaya 40, Moskovskaya 56, Odesskaya 200, Sintetik, Skipetr), the remaining 8 varieties (Kosovitsa, Kruiz, Laguna, Latynevka, L'govskaya 167, Prestizh, Proza, Spartak) are not approved for zonal use. The resistance of wheat varieties to *P. tritici-repentis* was assessed in lab tests in 2022 using common methods. The infectious material was collected in 2022 in the Tambov region. From 19 affected samples of winter bread wheat, 68 monocolonial isolates of *P. tritici-repentis* were purified on the V4 nutrient medium. The response of wheat seedlings to inoculation with a suspension of *P. tritici-repentis* was assessed on days 5-6. With a set of differentiators, the Glenlea variety and the lines 6B365, 6B662 as identifiers of the toxins PtrToxA, PtrToxC and PtrToxB, the racial composition of the *P. tritici-repentis* population was identified based on the response of the leaves (necrosis/chlorosis) to the pathogen invasion. In 2020-2022, field assessments of wheat variety resistance were performed at the stationary site (the Central Russian branch of Michurin Federal Scientific Center, Tambov District, Tambov Province) under natural infection. Genomic DNA was extracted from leaves of 5-day-old wheat seedlings using the standard CTAB/chloroform procedure. DNA concentration was normalized to 30 ng/μl for PCR. Isolates were screened for the dominant *Tsn1* or recessive *tsn1* alleles using primers Xfcp623F/Xfcp623R. Among the *Pyrenophora tritici-repentis* isolates from winter bread wheat of the Tambov Province, three races were common, of which race 4 did not produce the toxins PtrToxA, PtrToxB and PtrToxC, race 3 produced the toxin PtrToxC, and race 1 did not produce PtrToxA and PtrToxC. Races 8 (PtrToxA, PtrToxB and PtrToxC) and 2 (PtrToxA) were classified as rare. We did not find races 5 (PtrToxB), 6 (PtrToxB and PtrToxC) and 7 (PtrToxA and PtrToxB) in the population. Race 3, producing the *ToxC* gene encoded exotoxin, was the most abundant in the *P. tritici-repentis* population of the Tambov Province; races producing PtrToxA were less frequent. Practically, seven varieties, the Lipetskaya Zvezda, Moskovskaya 56, Moskovskaya 40, Bezenchukskaya 380, Biryuza, Inna, Odesskaya 200 approved for the Tambov Province by the State Register of Breeding Achievements, and the Dominanta variety approved for the North Caucasus and Ural regions are of the greatest interest. These varieties demonstrated the highest resistance to *P. tritici-repentis* in field and laboratory tests. Molecular screening also confirmed their resistance to PtrToxA. Carriers of the identified recessive allele of the *tsn1* gene which determines resistance to the PtrToxA toxin of *P. tritici-repentis* are recommended for breeding programs to increase resistance to tan spot of wheat.

Keywords: *Pyrenophoratritici-repentis*, *ToxA*, *ToxB*, *ToxC*, *Tsn1*, tan spot, yellow spot disease, PCR, wheat.