

УДК 575.22

## ГЕНЕТИЧЕСКАЯ СПЕЦИАЛИЗАЦИЯ *PYRENOPHORA TERES* F. *TERES* К НОВОМУ РАСТЕНИЮ-ХОЗЯИНУ – ПШЕНИЦЕ

Н.В. Мироненко, Н.М. Коваленко, Л.А. Михайлова

Всероссийский НИИ защиты растений, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, nina2601mir@mail.ru.

Охарактеризована генетическая дифференциация популяций *P. teres*, выделенных из пораженных пятнистостями листьев яровой пшеницы и ячменя. Методами RAPD и УП-ПЦР генотипировали 41 изолят *P. teres*, предварительно отнесенных нами к форме *P. teres* f. *teres* с помощью молекулярной диагностики. На дендрограмме, построенной по 29 полиморфным анонимным локусам, были выявлены четкие кластеры для «пшеничных» и «ячменных» изолятов. С помощью программы AMOVA обнаружены различия между популяциями по частотам отдельных аллелей. Коэффициент генетической дифференциации ( $F_{st}$ ) между популяциями с ячменя и яровой пшеницы, произрастающих на близком расстоянии друг от друга, составил 0.26, что свидетельствует о наличии существенных генетических различий между «ячменной» и «пшеничными» популяциями патогена.

**Ключевые слова:** *Pyrenophora teres* f. *teres*, новый патоген пшеницы, генотипирование, RAPD, УП-ПЦР, AMOVA.

Ранее нами при изучении желтой пятнистости пшеницы наряду с основным возбудителем этой болезни – аскомицетным грибом *Pyrenophora tritici-repentis* был выделен родственной вида гриба – *P. teres*. Гриб *P. teres* является обычным патогеном ячменя, распространенным практически во всех районах производства этой культуры. «Пшеничные» изоляты *P. teres* отличались от «ячменных» большей вирулентностью на пшенице и большими размерами конидий [Михайлова и др., 2010; Мироненко и др., 2014]. Цель исследования – изучить генетическую специализацию изолятов *Pyrenophora teres* пшеничного и ячменного происхождения, собранных в Северо-западном регионе РФ, с помощью молекулярных маркеров.

Пораженные листья ячменя и пшеницы (яровой) были собраны в 2013 г на делянках Батецкого ГСУ Новгородской обл. Выделение гриба из пораженных листьев ячменя и пшеницы проводили по методу Л. А. Михайловой и соавторов [2002]. Для молекулярной идентификации вида *P. teres* и его двух форм использовали праймеры, специфичные к *P. teres* f. *teres* и *P. teres* f. *maculata* [Williams et al., 2001]. Диагностический продукт амплификации для *P. teres* f. *teres* составляет 378 п.н., для *P. teres* f. *maculata* – 411 п.н. ДНК выделяли из мицелия 7–10 суточной культуры моноконидиальных изолятов гриба по известному методу [Bulat et al., 1998]. Генотипирование изолятов проводили с помощью методов RAPD и УП-ПЦР. Использовали 5 случайных (OPA-08, OPA-09, OPA-10, OPI-9, OPI-10, Operon Technologies, Inc. (Alameda, CA) и 2 универсальных (AS4, AS15inv) [Bulat et al., 1998] праймера. Коэффициент генетической дивергенции  $F_{ST}$  рассчитывали с помощью пакета программ Arlequin v. 3. Для построения дендрограмм генетического родства изолятов *P. teres* использовали программу Treecon v.3. Из пораженных пятнистостью листьев

ячменя и пшеницы были выделены 41 моноконидиальный изолят вида *P. teres*. С помощью видоспецифичных праймеров показано, что все они относятся к форме *P. teres* f. *teres*. Изолятов *P. teres* f. *maculata* обнаружено не было.

Нами охарактеризована генетическая дифференциация образцов изучаемых популяций *P. teres*. В результате генотипирования 22 «ячменных» и 19 «пшеничных» изолятов *P. teres* f. *teres* была составлена бинарная матрица различий по 29 полиморфным анонимным локусам (продуктов амплификации). На дендрограмме «пшеничные» (W) и «ячменные» (H) изоляты сгруппировались в отдельные кластеры. Значения бутстрепов в основных узлах дерева были незначительны (менее 50), тем не менее, на уровне 20–30% по шкале различий изоляты объединяются в группы строго по происхождению (растению-хозяину) с высокими показателями достоверности (бутстрепы более 50). Среднее генное разнообразие (H) было одинаковым для обеих популяций: для «ячменной»  $H=0.26\pm 0.14$ , для «пшеничной»  $H=0.23\pm 0.13$ . Клональная фракция гаплотипов по 29 локусам составила 14% в «ячменной» популяции и 26% – в «пшеничной». Различия между популяциями были обнаружены по частотам отдельных аллелей с помощью программы AMOVA (пакет программ Arlequin). Коэффициент генетической дифференциации ( $F_{st}$ ) между популяциями с ячменя и яровой пшеницы составил 0.26, что свидетельствует о наличии существенных генетических различий между «ячменной» и «пшеничными» популяциями. Мы считаем, что полученные результаты свидетельствуют о начале процесса генетической специализации гриба *P. teres* в качестве нового патогена пшеницы.

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 14-04-00399а.

### Библиографический список (References)

- Михайлова Л.А., Гуляева Е.А., Кокорина Н.М. Лабораторные методы культивирования возбудителя желтой пятнистости пшеницы *Pyrenophora tritici-repentis* // Микол. и фитопатол., 2002, 36, 1, с. 63–67.
- Михайлова Л.А., Тернюк И.Г., Мироненко Н.В. *Pyrenophora teres* – возбудитель пятнистости листьев пшеницы // Микол. и фитопатол., 2010. Т. 44 N 1. С. 63–68.
- Bulat S.A., Lubeck M., Mironenko N., Jensen D.F., Lubeck P.S. UP-PCR analysis and ITS1 ribotyping of strains of *Trichoderma* and *Gliocladium* // Mycol. Res., 1998. V. 102. P. 933–943.
- Williams K. J., Smyl C., Lichon A., Wong K. Y., Wallwork H. Development and use of an assay based on the polymerase chain reaction that differentiates the pathogen causing spot form and net form of net blotch of barley // Austral. Plant Pathol., 2001. V. 30. P. 37–40.
- Мироненко Н.В., Коваленко Н.М., Михайлова Л.А. Морфологическая и генетическая характеристика изолятов *Pyrenophora teres* f. *teres*, поражающих пшеницу // III всероссийская и международная конференция «Современные проблемы иммунитета растений к вредным организмам», посвященная 125-летию со дня рождения Н. И. Вавилова, Санкт-Петербург, 23–26 октября 2012 г. с. 149–152.

GENETIC SPECIALIZATION OF *PYRENOPHORA TERES* F. *TERES*  
TO THE NEW PLANT-HOST – WHEAT

N.V. Mironenko, N.M. Kovalenko, L.A. Mikhailova

*All-Russian Institute of Plant Protection, nina2601mir@mail.ru*

Genetic differentiation of *Pyrenophora teres* populations, isolated from diseased leaf spot of spring wheat and barley is characterized. 41 isolates of *P. teres* were assigned to *P. teres f. teres* using molecular diagnostics. Further genotyping using RAPD and UP-PCR techniques showed clear differentiation of “wheat” and “barley” isolates as two clusters in dendrogram constructed on the 29 polymorphic anonymous loci (amplification products). Using AMOVA program differences between the populations in individual allele frequencies were detected. The coefficient of genetic differentiation ( $F_{st}$ ) between populations from barley and spring wheat was 0.26, suggesting significant genetic differences between the “barley” and “wheat” populations. We consider these data as an evidence of the beginning of *P. teres* genetic specialization as a new pathogen of wheat.