

ЭКСПРЕССИЯ ГЕНОВ *ToxA* И *PtrPf2* ФИТОПАТОГЕННОГО ГРИБА *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS* В НАЧАЛЕ ИНФЕКЦИОННОГО ПРОЦЕССА

© Н.В. Мироненко, А.С. Орина, Н.М. Коваленко

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений», Пушкин, Санкт-Петербург

Для цитирования: Мироненко Н.В., Орина А.С., Коваленко Н.М. Экспрессия генов *ToxA* и *PtrPf2* фитопатогенного гриба *Pyrenophora tritici-repentis* в начале инфекционного процесса // Экологическая генетика. – 2020. – Т. 18. – № 2. – С. 149–155. <https://doi.org/10.17816/ecogen16362>.

Поступила: 07.10.2019

Одобрена: 23.12.2019

Принята: 23.06.2020

✿ Для анализа уровня экспрессии гена *ToxA*, кодирующего синтез белкового некроз-индуцирующего токсина Ptr ToxA, и гена фактора транскрипции *PtrPf2* фитопатогенного гриба *Pyrenophora tritici-repentis in planta* были выбраны два изолята, различающихся способностью вызывать некроз на листьях восприимчивого сорта пшеницы Glenlea (nec^+ и nec^-) и уровнем экспрессии этих генов *in vitro*. Показано, что ген некротрофного эфффектора *ToxA* дифференциально экспрессируется у изолятов *P. tritici-repentis* в разные временные периоды после инокуляции сорта Glenlea, имеющего доминантную аллель гена *Tsn1*, которая контролирует чувствительность к некроз-индуцирующему токсину Ptr ToxA. Уровень экспрессии *ToxA* резко увеличивается в процессе заражения пшеницы изолятами *P. tritici-repentis* $ToxA^+$ по сравнению с результатами, ранее полученными *in vitro*. Причем, у вирулентного (nec^+) изолята наблюдали более сильную экспрессию гена через 48 ч после инокуляции по сравнению с авирулентным (nec^-) изолятом. Уровни экспрессии *ToxA* в образцах существенно различались через 24, 48 и 96 ч после инокуляции, однако динамика изменения признака у обоих изолятов во времени была одинаковой. Другой характер изменчивости экспрессии гена наблюдали для фактора транскрипции *PtrPf2*, регулирующего экспрессию *ToxA*: экспрессия этого гена в растении мало отличалась от экспрессии в культуре, два изолята лишь незначительно различались в точке максимальной экспрессии *ToxA*, то есть через 48 ч. Очевидно, роль грибного фактора транскрипции в регуляции экспрессии гена эфффектора в растении незначительна, и в силу вступают другие механизмы регуляции экспрессии генов патогена на биотрофной стадии развития болезни.

✿ **Ключевые слова:** *Pyrenophora tritici-repentis*; желтая пятнистость пшеницы; ген чувствительности к токсину Ptr ToxA *Tsn1*, ген эфффектор *ToxA*; ген фактора транскрипции *PtrPf2*.

EXPRESSION OF THE *ToxA* AND *PtrPf2* GENES OF THE PHYTOPATHOGENIC FUNGUS *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS* AT THE BEGINNING OF THE INFECTION PROCESS

© N.V. Mironenko, A.S. Orina, N.M. Kovalenko

All-Russian Institute for Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia

Cite this article as: Mironenko NV, Orina AS, Kovalenko NM. Expression of the *ToxA* and *PtrPf2* genes of the phytopathogenic fungus *Pyrenophora tritici-repentis* at the beginning of the infection process. *Ecological genetics*. 2020;18(2):149-155. <https://doi.org/10.17816/ecogen16362>.

Received: 07.10.2019

Revised: 23.12.2019

Accepted: 23.06.2020

✿ **Background.** *Pyrenophora tritici-repentis* causing a tan spot of wheat produces host-specific toxins. **Materials and methods.** Two *P. tritici-repentis* isolates with different ability to cause necrosis on the leaves of wheat cultivar Glenlea (nec^+ and nec^-) and with different expression level of *ToxA* and *PtrPf2* (factor transcription gene) *in vitro* were used for analysis. *ToxA* gene expression in *P. tritici-repentis* isolates *in planta* was characterized using quantitative PCR. **Results.** The expression of the *ToxA* gene in *P. tritici-repentis* $ToxA^+$ isolates significantly increased when infected the wheat leaves compared to *ToxA* expression results obtained *in vitro*. The levels of *ToxA* expression in both isolates differed significantly after 24, 48 and 96 h after inoculation, however, the dynamics of the trait change over time were similar. However, the highest *ToxA* expression in the virulent (nec^+) isolate in contrast with the avirulent (nec^-) isolate was observed at a point of 48 h. Whereas the expression of regulating transcription factor *PtrPf2 in planta* differed imperceptibly from expression *in vitro* throughout the observation period. **Conclusion.** Obviously, the role of the fungal transcription factor in regulating the effector gene expression weakens *in planta*, and other mechanisms regulating the expression of pathogen genes at the biotrophic stage of the disease develop.

✿ **Keywords:** *Pyrenophora tritici-repentis*; tan spot of wheat; gene of sensitivity to Ptr ToxA *Tsn1*, effector gene *ToxA*; gene of transcription factor *PtrPf2*.

ВВЕДЕНИЕ

Желтая пятнистость листьев пшеницы — болезнь, появившаяся в 40-е годы прошлого столетия, и с тех пор охватившая практически всю территорию выращивания пшеницы в мире. Вредность возбудителя болезни гриба *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechsler связывают с его способностью продуцировать хозяин-специфичные токсины, индуцирующие некроз и хлороз листьев на восприимчивых сортах. Известно, что гриб *P. tritici-repentis* продуцирует хозяин-специфичные фитотоксины: Ptr ToxA и Ptr ToxB — белки, индуцирующие некроз и хлороз соответственно на восприимчивых сортах пшеницы, которые считаются основными факторами патогенности, и Ptr ToxC — низкомолекулярное соединение небелковой природы [1, 2]. Токсины Ptr ToxA и Ptr ToxB детерминированы генами *ToxA* и *ToxB* соответственно, для детекции наличия которых в геноме сконструированы геноспецифичные праймеры. До сих пор расовый состав популяций патогена определяют с помощью заражения сортов-дифференциаторов, позволяющих различить 8 рас согласно сочетаниям трех фитотоксинов в изолятах гриба [3, 4]. Однако в последнее время становится очевидным, что число рас может быть больше благодаря обнаружению новых некроз-индуцирующих токсинов [5–9], поэтому фенотипическая оценка изолятов, отнесенных к определенной расе, может не совпадать с их генетической характеристикой. Например, обнаружено, что в российских популяциях встречаются изоляты, несущие ген *ToxA* (*ToxA*⁺), но не индуцирующие некроз на восприимчивых сортах (*пес*⁻). В связи с этим была выдвинута гипотеза, что данный феномен обусловлен отсутствием или низкой экспрессией гена *ToxA* [10].

Известно, что *P. tritici-repentis* продуцирует токсин Ptr ToxA, который индуцирует некроз только на листьях сортов мягкой пшеницы, имеющих в геноме доминантную аллель гена *Tsn1*, контролирующую чувствительность к токсину Ptr ToxA [11]. Ген *Tsn1* схож по структуре с R-генами устойчивости растений к болезням: включает домены S/ТРК (серин/треонин специфическую протеинкиназу) и NBS-LRR (сайт связывания нуклеотидов и обогащенный лейцином повтор) [12].

Данные о связи экспрессии *ToxA* в изолятах *P. tritici-repentis* в культуре с их способностью индуцировать некроз на восприимчивых сортах, а также механизмах регуляции экспрессии этого гена эффектора крайне ограничены. Важно, что ген *ToxA* в геноме гриба *P. tritici-repentis* имеет природу чужеродного элемента, перенесенного из другого вида гриба — *Parastagonospora nodorum* (Berk.) Quaedvl., Verkley & Crous, который вызывает очень распространенное заболевание — септориоз пшеницы [13]. В 2018 г. появилось первое сообщение об обнаружении в изолятах *P. tritici-repentis* гена фактора транскрипции, который кодирует продукт, регулирующий экспрессию гена *ToxA*. Этот ген, обозначенный *PtrPf2*, оказался ортологом гена *PnPf2* — фактора транскрипции для эффекторов *SnToxA* и *SnTox3* *Parastagonospora nodorum* [14].

Ранее нами были проанализированы две группы изолятов *P. tritici-repentis* из разных популяций патогена по признаку конститутивной экспрессии гена эффектора *ToxA* и гена фактора транскрипции *PtrPf2*. Впервые продемонстрирована внутри- и межпопуляционная изменчивость патогена по признакам экспрессии *ToxA* и *PtrPf2* *in vitro* [15].

Цель данного исследования — определить уровень экспрессии генов *ToxA* и *PtrPf2* у двух изолятов возбудителя болезни *P. tritici-repentis* в тканях восприимчивого сорта пшеницы с доминантной аллелью гена *Tsn1* на ранних стадиях инфицирования грибом.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для анализа экспрессии генов гриба в процессе заражения пшеницы были выбраны моноконидиальные изоляты из южно-казахстанской популяции (г. Алматы) 2018 г., Ptr1 и Ptr10, несущие ген эффектор *ToxA* и различающиеся по уровню экспрессии *in vitro*, которая была оценена ранее [15].

Культивирование штаммов *P. tritici-repentis*, индукцию образования конидий и инокуляцию растений пшеницы проводили по описанным методикам [16]. Вирулентность изолятов оценивали по способности индуцировать некроз на листьях проростков восприимчивого сорта пшеницы Glenlea, имеющего доминантную аллель *Tsn1*, по пятибалльной шкале [17]. Фитопатологический тест проводили в двух повторностях.

Для изучения экспрессии генов *P. tritici-repentis* в тканях растения пшеницы в процессе развития болезни использовали модифицированную методику [18]. Для этого отсеченные листья семидневных проростков пшеницы сорта Glenlea помещали в чашку Петри на поверхность 2 % агаровой среды, содержащей 70 мг/л бензимидазола, фиксируя их с помощью агаровых блоков. На каждый лист наносили каплю 10 мкл суспензии конидий гриба с концентрацией 3500 конидий/мл. Каждый отсеченный лист представлял отдельное растение. Для каждого изолята были подготовлены по 3 чашки Петри с 10 отрезками листьев в каждой, которые заражали суспензией конидий одновременно. Чашки с инокулированными отрезками листьев помещали в светоустановку при температуре 22 °С и освещенности 1500 Лм, фотопериод составлял 12 ч. Биологический материал для последующего анализа транскрипционной активности генов собирали через 24, 48 и 96 ч. Вырезали по 10–15 отрезков растительной ткани из мест инокуляции патогеном размером 3 × 6 мм, помещали их в пробирку и сразу замораживали при –20 °С для последующего выделения РНК.

Выделение РНК проводили с помощью кита RNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Германия). кДНК синтезировали методом ОТ-ПЦР на матрице тотальной РНК (1–2 мкг) с помощью набора реактивов MMLV RT kit (Евроген, Россия).

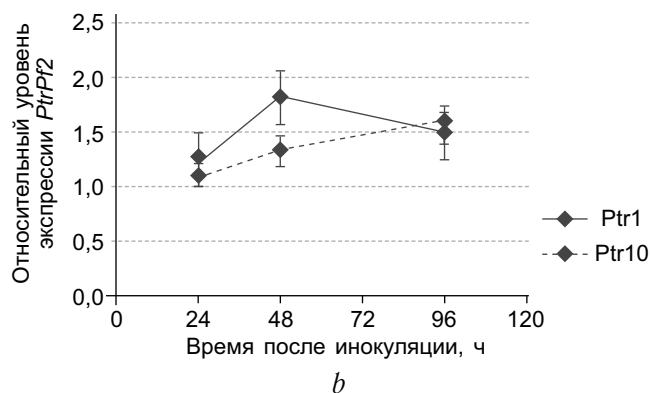
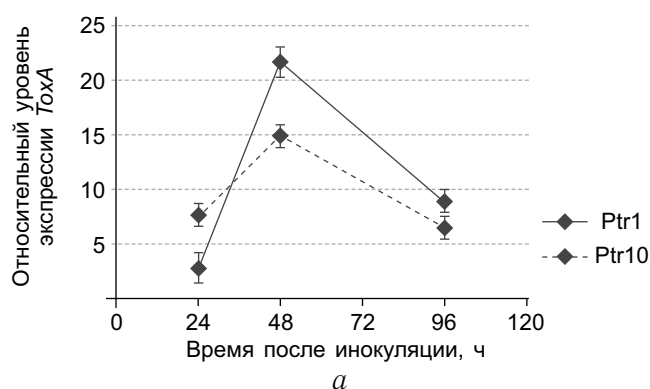
Оценку экспрессии генов *ToxA* и *PtrPf2* у изолятов *P. tritici-repentis* в тканях растения в разные временные интервалы после заражения проводили с помощью количественной ПЦР (кПЦР) с ген-специфичными праймерами [14]. В качестве референтного контроля был использован ген актлина (*Act1*). Реакции кПЦР проводили в объеме 20 мкл, содержащем 4 мкл 5 × qPCRmix-HS SYBR мастер-микса (Евроген, Россия), 500 нМ каждого праймера и 2 мкл раствора кДНК с использованием следующего протокола амплификации: 50° — 2 мин; 95° — 15 мин; [95° — 15 с; 62° — 60 с] · 40 на термоциклере CFX96 Real-Time System (BioRad, США) трехкратно. Обработку первичных данных осуществляли с помощью программного обеспечения Bio-Rad CFX Manager 1.6. Относительную экспрессию генов рассчитывали по формуле $R = 2^{-\Delta\Delta C_t}$ [19].

РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате заражения проростков восприимчивого сорта пшеницы Glenlea двумя изолятами *ToxA*⁺ *P. tritici-repentis* установлено, что изолят Ptr1 вызывал реакцию некроза на 3–4 балла и считается вирулентным (пес⁺), а изолят Ptr10 поражал пшеницу на 1–2 балла и считается слабовирулентным/авирулентным (пес⁻). Согласно нашим данным, уровень экспрессии генов *ToxA* и *PtrPf2* *in vitro* составляет $0,67 \pm 0,01$ и $0,90 \pm 0,03$ для изолята Ptr1 и $0,92 \pm 0,1$ и $1,00 \pm 0,05$ для Ptr10 соответственно [15].

В результате эксперимента, выполненного по описанным ранее методикам на целых растениях в стадии проростков, гены-мишени *ToxA* и *PtrPf2* в общей кДНК из неинокулированных растений не амплифицировались, тогда как в зараженных растениях активность этих генов была детектирована. Графическое выражение экспрессии генов *in planta* в течение 4 сут представлено на рисунке.

Очевидно, что в результате проникновения гриба внутрь растительной ткани происходит резкое увеличение уровня экспрессии гена *ToxA*



Уровни экспрессии генов *ToxA* (a) и *PtrPf2* (b) относительно гена актлина *Act1* у изолятов *Pyrenophora tritici-repentis* Ptr1 и Ptr10 в тканях зараженных листьев пшеницы сорта Glenlea в разные периоды после инокуляции

по сравнению с конституционным — более чем в 4 раза у изолята Ptr1 и в 7 раз у изолята Ptr10 (через 24 ч после инокуляции). Через 48 ч после инокуляции отмечено максимальное значение относительного уровня экспрессии *in planta*, а через 96 ч — снижение экспрессии гена *ToxA* (см. рисунок, *a*). В то же время экспрессия гена фактора транскрипции *PtrPf2* не изменилась через 24 ч после инокуляции и лишь незначительно выросла через 48 ч по сравнению с экспрессией *in vitro* и практически не менялась в течение 4 сут наблюдения *in planta* (см. рисунок, *b*).

ОБСУЖДЕНИЕ

Уровни экспрессии генов *ToxA* и *PtrPf2* в отдельных изолятах фитопатогенных грибов при взаимодействии с растением-хозяином являются важной характеристикой патогенных свойств и могут быть использованы для анализа взаимодействия генов в патосистемах. Наличие или отсутствие экспрессии гена *ToxA*, отвечающего за синтез некроз-индуцирующего белкового токсина Ptr *ToxA*, можно заметить по фенотипическому проявлению реакции растений мягкой пшеницы, имеющих доминантную аллель гена восприимчивости *Tsn1*, в ответ на заражение изолятами *P. tritici-repentis* *ToxA*⁺. Однако многие исследователи наблюдали случаи отсутствия индуцирования некроза *ToxA*⁺ изолятами [5, 6, 13, 20–23]. Были сделаны попытки объяснить данный факт мутациями в гене, но нуклеотидная последовательность *ToxA* у многих *ToxA*⁺пес⁻-изолятов *P. tritici-repentis* оказалась на редкость консервативной, что характерно для чужеродного генетического элемента, недавно попавшего в геном гриба [13]. Структура гена *ToxA*, недавно обнаруженного в геномах других патогенов пшеницы и ячменя *Cochliobolus sativus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur и *P. teres* Drechsler, также отличается малой изменчивостью [22, 24, 25].

Известно, что экспрессия генов эффекторов фитопатогенных грибов определяется сетью сигнальных генов, включая факторы транскрипции, которая эволюционно сложилась в конкретных экологических условиях. Знаний о регуляции генов некротрофных эффекторов еще недостаточно. Из известных для всех организмов 37 суперсемейств ДНК-связывающих доменов у грибов об-

наружено 12 [26, 27]. Среди них три типа белков оказались специфичными для царства грибов, из которых фактор транскрипции «zinc finger transcription factor», кодируемый геном *PnPf2*, обнаружен у *Parastagonospora nodorum*, а его ортолог ген *PtrPf2* — у *P. tritici-repentis*. Это факторы транскрипции *PnPf2* и *PtrPf2* генов эффекторов *SnToxA* и *PtrToxA* двух грибных патогенов *Parastagonospora nodorum* и *P. tritici-repentis* соответственно [14].

Показано, что экспрессия *ToxA* в изолятах *P. tritici-repentis* значительно возрастает в процессе заражения растения на начальных этапах, и находится под контролем гена фактора транскрипции *PtrPf2* [14]. Авторы отмечали максимальную экспрессию *ToxA* на третий день после заражения восприимчивого сорта, тогда как *PtrPf2* экспрессировался равномерно в течение всего периода наблюдений (с 3-го по 10-й день) [14]. Наши результаты показали сходную картину: максимальную экспрессию гена *ToxA* через 48 ч после заражения растения и равномерную экспрессию *PtrPf2* в течение 4 сут наблюдения. Причем *in planta* экспрессия *ToxA* у вирулентного изолята была выше, чем у слабовирулентного во всех точках измерения, тогда как уровень экспрессии *PtrPf2* у обоих изолятов в растении не имел достоверных различий. Таким образом, два изолята *P. tritici-repentis* существенно отличались друг от друга по уровню относительной экспрессии гена *ToxA* в тканях восприимчивого сорта пшеницы в разных временных точках, хотя динамика изменчивости этого признака у них была одинакова. Межштаммовые различия по экспрессии гена эффектора, ассоциированные с проявлением болезни, обнаружены и у других фитопатогенных грибов. Например, у двух изолятов *Stagonospora nodorum* (Berk.) E. Castell. & Germano были выявлены различия в уровне экспрессии гена *SnToxA* через 26 ч после инокуляции восприимчивого сорта пшеницы более чем в два раза, причем более высокие уровни экспрессии ассоциируются с усилением болезни в патосистеме «пшеница — *S. nodorum*» [28]. Влияние уровня экспрессии некротрофных эффекторов на проявление болезни показано также в других работах [28, 29]. В патосистеме «пшеница — *Parastagonospora nodorum*» хорошо изучены три некротрофных эффектора *SnToxA*, *SnTox1*

и *SnTox3*, которые могут влиять друг на друга посредством эпистаза, подавляющего экспрессию. Например, экспрессия гена *SnTox3* может быть супрессирована геном *SnTox1* [29]. Эффекты взаимодействия *Tsn1* – *ToxA* на проявление болезни могут сильно варьировать в зависимости от генотипа сорта пшеницы, имеющего ген *Tsn1*. В частности, на сортах твердой пшеницы не выявлена значимая роль токсина Ptr *ToxA* и, наоборот, отмечается сильное влияние некротрофного эффектора *Parastagonospora nodorum SnToxA* при инокуляции сортов *Tsn1*⁺ [30].

Роль генной экспрессии как главной причины изменчивости вирулентности в дополнение к различиям в нуклеотидной последовательности генов показана для изолятов *Zymoseptoria tritici* (Roberge ex Desm.) Quaedvl. & Crous [31].

Наши результаты и приведенные выше примеры из работ, посвященных анализу экспрессии генов эффекторов грибов в растении, подтверждают предлагаемую многими авторами идею, что, возможно, основным механизмом, влияющим на динамику расового состава в популяциях фитопатогенных грибов, является не изменение частот аллелей генов (а)вирулентности, а изменчивость регуляции экспрессии генов эффекторов, зависящая как от генотипа растения-хозяина, так и различных экологических условий.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Экспрессия гена *ToxA* резко увеличивается в процессе заражения восприимчивого сорта пшеницы Glenlea изолятами *P. tritici-repentis ToxA*⁺ по сравнению с экспрессией *in vitro*. Изоляты *P. tritici-repentis* характеризуются дифференциальной экспрессией *ToxA* в растении: уровни экспрессии *ToxA* у обоих изолятов существенно различались через 24, 48 и 96 ч после инокуляции, однако динамика изменения признака во времени была одинаковой. У вирулентного изолята наблюдали более сильную экспрессию *ToxA* через 48 ч после инокуляции по сравнению с авирулентным изолятом.

Другой характер изменчивости экспрессии гена наблюдали для фактора транскрипции *PtrPf2*, регулирующего экспрессию *ToxA*: экспрессия этого гена в растении мало отличалась от экспрессии в культуре, два изолята лишь незначительно раз-

личались в точке максимальной экспрессии *ToxA*, то есть через 48 ч после инокуляции. Таким образом, предположение о существовании связи между уровнем экспрессии *PtrPf2 in vitro* и способностью изолятов индуцировать некроз на листьях восприимчивого сорта [15] не оправдалось. Очевидно, что роль грибного фактора транскрипции в регуляции экспрессии гена эффектора *in planta* незначительна, и в силу вступают другие механизмы регуляции экспрессии генов патогена на биотрофной стадии развития болезни.

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Ciuffetti LM, Tuori RP, Gaventa JM. A single gene encodes a selective toxin causal to the development of tan spot of wheat. *Plant Cell*. 1997;9(2):135-144. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.2.135>.
2. Martinez JP, Ottum SA, Ali S, et al. Characterization of the *ToxB* gene from *Pyrenophora tritici-repentis*. *Mol Plant Microbe Interact*. 2001;14(5):675-677. <https://doi.org/10.1094/MPMI.2001.14.5.675>.
3. Lamari L, Gilbert J, Tekauz A. Race differentiation in *Pyrenophora tritici-repentis* and survey of physiologic variation in western Canada. *Can J Plant Pathol*. 1998;20(4):396-400. <https://doi.org/10.1080/07060669809500410>.
4. Lamari L, Strelkov SE, Yahyaoui A, et al. The identification of two new races of *Pyrenophora tritici-repentis* from the host center of diversity confirms a one-to-one relationship in tan spot of wheat. *Phytopathology*. 2003;93(4):391-396. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2003.93.4.391>.
5. Andrie RM, Pandelova I, Ciuffetti LM. A combination of phenotypic and genotypic characterization strengthens *Pyrenophora tritici-repentis* race identification. *Phytopathology*. 2007;97(6):694-701. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-6-0694>.
6. Мироненко Н.В., Баранова О.А., Коваленко Н.М., Михайлова Л.А. Частота гена *ToxA* в популяциях *Pyrenophora tritici-repentis* на Северном Кавказе и северо-западе России // Микология и фитопатология. – 2015. – Т. 49. – № 5. – С. 325–329. [Mironenko NV,

- Baranova OA, Kovalenko NM, Mikhailova LA. Frequency of ToxA gene in North Caucasian and North-West Russian populations of *Pyrenophora tritici-repentis*. *Mikologiya i fitopatologiya*. 2015;49(5):325-329. (In Russ.)]
7. Moreno MV, Stenglein S, Perello AE. Distribution of races and Tox genes in *Pyrenophora tritici-repentis* isolates from wheat in Argentina. *Trop Plant Pathol*. 2015;40(2):141-146. <https://doi.org/10.1007/s40858-015-0011-2>.
 8. See PT, Marathamuthu KA, Iagallo EM, et al. Evaluating the importance of the tan spot ToxA-Tsn1 interaction in Australian wheat varieties. *Plant Pathol*. 2018;67(5):1066-1075. <https://doi.org/10.1111/ppa.12835>.
 9. Guo J, Shi G, Liu Z. Characterizing virulence of the *Pyrenophora tritici-repentis* isolates lacking both ToxA and ToxB genes. *Pathogens*. 2018;7(3):74. <https://doi.org/10.3390/pathogens7030074>.
 10. 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. — С. 24–29. [Mironenko NV, Kovalenko NM, Baranova OA. Characteristics of the geographically distant populations of *Pyrenophora tritici-repentis* in terms of virulence and ToxA and ToxB toxin-forming gene. *Plant Protection News*. 2019;(1):24-29 (In Russ.)]. [https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1\(99\)-24-29](https://doi.org/10.31993/2308-6459-2019-1(99)-24-29).
 11. Strelkov SE, Lamari L. Host-parasite interactions in tan spot (*Pyrenophora tritici-repentis*) of wheat. *Can J Plant Pathol*. 2003;25(4):339-449. <https://doi.org/10.1080/07060660309507089>.
 12. Faris JD, Zhang Z, Lu H, et al. A unique wheat disease resistance-like gene governs effector-triggered susceptibility to necrotrophic pathogens. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010;107(30):13544-13549. <https://doi.org/10.1073/pnas.1004090107>.
 13. Friesen TL, Stukenbrock EH, Liu Z, et al. Emergence of a new disease as a result of interspecific virulence gene transfer. *Nat Genet*. 2006;38(8):953-956. <https://doi.org/10.1038/ng1839>.
 14. Rybak K, See PT, Phan HT, et al. A functionally conserved Zn2Cys6 binuclear cluster transcription factor class regulates necrotrophic effector gene expression and host specific virulence of two major Pleosporales fungal pathogens of wheat. *Mol Plant Pathol*. 2017;18(3):420-434. <https://doi.org/10.1111/mp.12511>.
 15. Мироненко Н.В., Орина А.С., Коваленко Н.М. Межштаммовые различия *Pyrenophora tritici-repentis* по экспрессии генов ToxA и PtrPf2 в культуре // Генетика. — 2020. — Т. 56. — № 4. — С. 488–492. [Mironenko NV, Orina AS, Kovalenko NM. Differences among *Pyrenophora tritici-repentis* isolates in the expression of ToxA and PtrPf2 genes in culture (*in vitro*). *Genetika*. 2020;56(4):488-492. (In Russ.)]. <https://doi.org/10.31857/S0016675820040086>.
 16. Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. Желтая пятнистость пшеницы. — СПб.: ВИЗР, 2012. — 56 с. [Mikhailova LA, Mironenko NV, Kovalenko NM. Zheltaya pyatnistost' pshenicy. Saint Petersburg: VIZR; 2012. 56 p. (In Russ.)]
 17. Rees RG, Platz GJ, Mayer RJ. Susceptibility of Australian wheats to *Pyrenophora tritici-repentis*. *Aust J Agric Res*. 1988;39(2):141-151. <https://doi.org/10.1071/AR9880141>.
 18. Moolhuijzen PM, See PT, Oliver R, Moffat CS. Genomic distribution of a novel *Pyrenophora tritici-repentis* ToxA insertion element. *PLoS One*. 2018;13(10): e0206586. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206586>.
 19. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) method. *Methods*. 2001;25(4):402-408. <https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>.
 20. Aboukhaddour R, Turkington TK, Strelkov SE. Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* (tan spot of wheat) in Alberta, Canada. *Can J Plant Pathol*. 2013;35(2):256-268. <https://doi.org/10.1080/07060661.2013.782470>.
 21. Ali S, Gurung S, Adhikari TB. Identification and characterization of novel isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* from arkansas. *Plant Dis*. 2010;94(2):229-235. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-2-0229>.

22. Leišova-Svobodova L, Hanzalova A, Kucer L. Expansion and variability of the *Ptr Tox A* gene in populations of *Pyrenophora tritici-repentis* and *Pyrenophora teres*. *J Plant Pathol*. 2010;92(3): 729-735. <http://dx.doi.org/10.4454/jpp.v92i3.319>.
23. Benslimane H. Virulence phenotyping and molecular characterization of a new virulence type of *Pyrenophora tritici-repentis* the causal agent of tan spot. *Plant Pathol J*. 2018;34(2):139-142. <https://doi.org/10.5423/PPJ.NT.07.2017.0150>.
24. Friesen TL, Holmes DJ, Bowden RL, Faris JD. *ToxA* is present in the U.S. *Bipolaris sorokiniana* population and is a significant virulence factor on wheat harboring *Tsn1*. *Plant Dis*. 2018;102(12):2446-2452. <https://doi.org/10.1094/pdis-03-18-0521-re>.
25. McDonald MC, Ahren D, Simpfendorfer S, et al. The discovery of the virulence gene *ToxA* in the wheat and barley pathogen *Bipolaris sorokiniana*. *Mol Plant Pathol*. 2018;19(2):432-439. <https://doi.org/10.1111/mpp.12535>.
26. Shelest E. Transcription factors in fungi. *FEMS Microbiol Lett*. 2008;286(2):145-151. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01293.x>.
27. Todd RB, Zhou M, Ohm RA, et al. Prevalence of transcription factors in ascomycete and basidiomycete fungi. *BMC Genomics*. 2014;15:214. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-15-214>.
28. Faris JD, Zhang Z, Rasmussen JB, Friesen TL. Variable expression of the *Stagonospora nodorum* effector SnToxA among isolates is correlated with levels of disease in wheat. *Mol Plant Microbe Interact*. 2011;24(12): 1419-1426. <https://doi.org/10.1094/MPMI-04-11-0094>.
29. Phan HT, Rybak K, Furuki E, et al. Differential effector gene expression underpins epistasis in a plant fungal disease. *Plant J*. 2016;87(4): 343-354. <https://doi.org/10.1111/tpj.13203>.
30. Viridi SK, Liu Z, Overlander ME, et al. 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 (Bethesda)*. 2016;6(12):4139-4150. <https://doi.org/10.1534/g3.116.036525>.
31. Palma-Guerrero J, Ma X, Torriani SF, et al. Comparative transcriptome analyses in *Zymoseptoria tritici* reveal significant differences in gene expression among strains during plant infection. *Mol Plant Microbe Interact*. 2017;30(3): 231-244. <https://doi.org/10.1094/MPMI-07-16-0146-R>.

✿ Информация об авторах

Нина Васильевна Мироненко — д-р биол. наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория иммунитета растений к болезням. ФГБНУ ВИЗР, Пушкин, Санкт-Петербург. SPIN: 2047-7349. E-mail: nina2601mir@mail.ru.

Александра Станиславовна Орина — канд. биол. наук, научный сотрудник, лаборатория микологии и фитопатологии. ФГБНУ ВИЗР, Пушкин, Санкт-Петербург. SPIN: 8590-0092. E-mail: orina-alex@yandex.ru.

Надежда Михайловна Коваленко — канд. биол. наук, старший научный сотрудник, лаборатория иммунитета растений к болезням. ФГБНУ ВИЗР, Пушкин, Санкт-Петербург. SPIN: 9610-4614. E-mail: nadyakov@mail.ru.

✿ Authors and affiliations

Nina V. Mironenko — Doctor of Science, Leading Researcher, Laboratory of Plant Resistance to Diseases. All-Russian Institute for Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. SPIN: 2047-7349. E-mail: nina2601mir@mail.ru.

Aleksandra S. Orina — PhD, Researcher, Laboratory of Mycology and Phytopathology. All-Russian Institute for Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. SPIN: 8590-0092. E-mail: orina-alex@yandex.ru.

Nadezhda M. Kovalenko — PhD, Senior Researcher, Laboratory of Plant Resistance to Diseases. All-Russian Institute for Plant Protection, Pushkin, Saint Petersburg, Russia. SPIN: 9610-4614. E-mail: nadyakov@mail.ru.