

POJAVA PROUZROKOVAČA ŽUTOMRKE PEGAVOSTI LISTA PŠENICE (*Pyrenophora tritici-repentis*) U PROIZVODNOJ 2021/2022. GODINI

Vesna Župunski, Radivoje Jevtić

Institut za ratarstvo i povrtarstvo-Institut od nacionalnog značaja za Republiku Srbiju, Novi Sad

E-mail: vesna.zupunski@ifvcns.ns.ac.rs

Izvod

Pyrenophora tritici-repentis (Died.) Drechs., prouzrokovač žutomrke pegavosti lista pšenice, je ekonomski značajno oboljenje koje dovodi do smanjenja mase i kvaliteta zrna kao i gubitaka prinosa do 53%. *Ptr* je nekrotrofni patogen i produkuje tri vrste nekrotrofnih efektora (NE) (*Ptr ToxA*, *Ptr ToxB* i *Ptr ToxC*) odgovornih za ostvarenje infekcije. Genetička osnova interakcije *Ptr*-domaćin uključuje i gene koji obezbeđuju rasno-nespecifičnu otpornost. U 2022. godini, procentualna zastupljenost genotipova zaraženih sa *Ptr* u kolekcijama "rasadnika bolesti" kretala se od 11,4% do 94,3%. Najmanji broj zaraženih genotipova (11,4%) zabeležen je u programima oplemenjivanja na otpornost prema prevalentim patogenima. Nizak broj zaraženih genotipova sa *Ptr* utvrđen je i u kolekciji divljih srodnika (18,4%) dok je najveća procentualna zastupljenost genotipova osetljivih na *Ptr* utvrđen kod linija i sorti po-reklom iz Kazahstana (94,4%). Intenziteti zaraze pšenice kretali su se od traga do indeksa oboljenja preko 50 %. Dužina konidija *Ptr* kretala se od 73,4 µm do 107,2 µm. Širina konidija obuhvatala je opseg od 15,5 do 22,8 µm. Rezultati ovih ispitivanja mogu biti osnova ne samo za odabir genotipova, nosioca izvora otpornosti, već i kao baza za dalja ispitivanja mehanizama koji obezbeđuju otpornost prema *Ptr*.

Ključne reči: *Pyrenophora tritici-repentis*, pšenica, divlji srodnici, testiranje otpornosti

UVOD

Pyrenophora tritici-repentis (Died.) Drechs., anamorph *Drechslera tritici-repentis* (Died.) Shoemaker (synonym *Helminthosporium tritici-repentis* Died.), (*Ptr*), prouzrokovač žutomrke pegavosti lista pšenice, je ekonomski značajan patogen obične (*Triticum aestivum*) i tvrde (*T. turgidum*) pšenice (Kamel i sar., 2019).

Pored pšenice, *Ptr* je izolovana sa nekoliko vrsta trava: *Elymus junceus augustus*, *E. giganteus*; *Agropyron smithii*, *A. desertorum*, *A. intermedium*, i *Bromus inermis* (Krupinsky, 1982; Ali i Franel, 2003). Raž i ječam su manje napadnuti od ovog parazita, dok se ovas smatra imunim (Jevtić, 2001; McMullen i Hosford, 1987). *Ptr* prezimljava na žetvenim ostacima pseudoperitecijama, ali se može preneti i selenom. Infekcija se ostvaruje askosporama i konidijama. Tokom vegetacije konidije mogu inficirati klas, stablo i list pšenice, a krajem vegetacije samonikle biljke pšenice i trave (Jevtić, 2001).

Prouzrokoč žutomrke pegavosti je prvi put izolovan sa *Agropyron repens* u Nemačkoj (Diedicke, 1902), dok je sa pšenice izolovan 1928. godine (Nisikado, 1928). Ekonomski značaj dobija posle 70-tih godina XX veka (Friesen i sar., 2006). Štete do kojih dovodi uključuju smanjenje mase i kvaliteta zrna kao i gubitke prinosa do 53% (Ali i Franel, 2003). U Srbiji, prve simptome *Ptr* uočio je Jevtić 1993. na lokalitetu Nikinci, dok je prvo saopštenje o pojavi *Ptr* u Srbiji objavljeno 1997. (Jevtić, 1997). Naziv oboljenja “žutomrka pegavost lista pšenice” uveo je Jevtić 1997. godine, mada je autor predlagao i naziv “hlorotično-nekrotična pegavost lista pšenice” imajući u vidu način delovanja tri toksina (Jevtić, 1997; 1998; 2001).

Tri vrste nekrotrofnih efektora (NE) koje produkuje *Ptr* su odgovorni za ostvarene infekcije. Među njima *Ptr ToxA* indukuje nekroze, dok *Ptr ToxB* i *Ptr ToxC* indukuju hloroze (Ciuffetti i sar., 2010; Liu i sar., 2017). Razlikujemo tri tipa simptoma koje ovaj patogen formira na lišću: A-male hlorotične pege; B-velike pojedinačne hlorotične pege sa braon centrom i C-velike hlorotične i nekrotične zone koje se spajaju (Jevtić, 2001). U zavisnosti koji tip ili kombinacije efektora produkuju, *Ptr* se dele na 8 rasa (Lamari i sar., 2003; Andersen i sar., 2021; Kaçeps i sar., 2021). Bitno je istaći da za svaki NE postoji dominantan gen osetljivosti (S) kod domaćina. Geni osetljivosti *Tsn1*, *Tsc1* i *Tsc2* odgovaraju *PtrToxA*, *Ptr ToxC* i *Ptr ToxB* nekrotrofnim efektorima, respektivno (Liu i sar., 2017). Genetička osnova interakcije *Ptr*-domaćin ipak ne zavisi samo od odnosa NE-S već je uslovljena i drugim genima koji obezbeđuju rasno-nespecifičnu otpornost, kao i većim brojem kvalitativnih recessivnih gena otpornosti (Liu i sar., 2017; Kariyawasam i sar., 2016).

Praćenje pojave i rasnog sastava *Ptr* je jedan od preduslova za uspešnu kontrolu ovog patogena. Na Rimskim šančevima u tzv „rasadniku bolesti“ koji uključuje preko 3000 genotipova, svake godine se prati pojava obligatnih i nekrotrofnih patogena i ispituje specifičnost reakcije otpornih i osetljivih genotipova na kombinovani efekat abiotičkog i biotičkog stresa. Praćenje pojave *Ptr* je otežano u kasnijem toku vegetacije, jer se propadanje lišća pšenice često pripisuje prouzrokovacima pegavosti lista (septorioze) ili abiotičkim faktorima (suša) (Jevtić, 2001). Proizvodna 2021/2022. godina je bila specifična po učestaloj pojavi *Ptr* koja se jasno izdvajala od ostalih prouzrokoča pegavosti lista, te izdvajamo neke od rezultata koji ukazuju na reakciju sorti pšenice i divljih srodnika na *Ptr* u proizvodnim uslovima 2021/2022. na teritoriji južne Bačke.

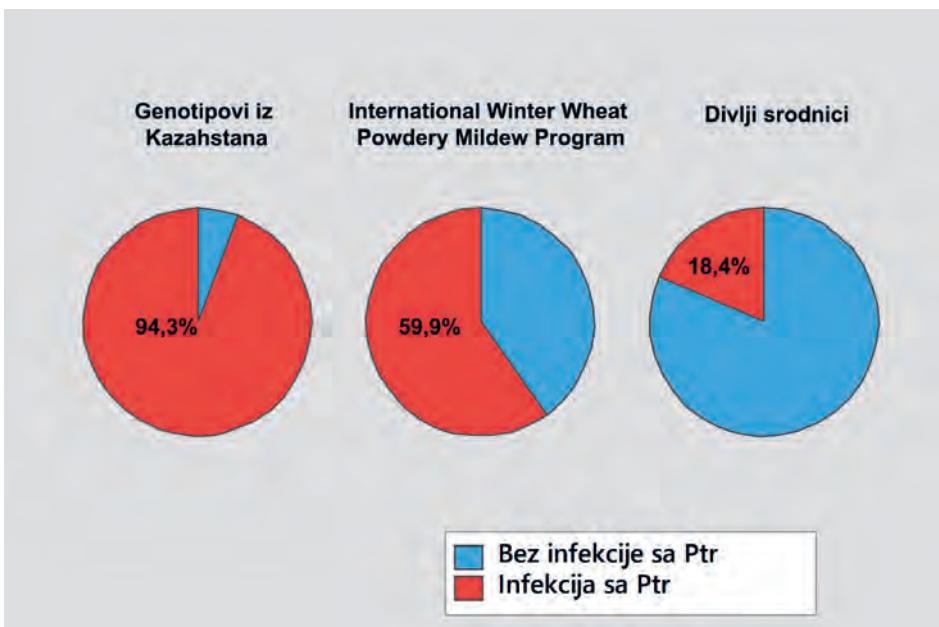
MATERIJAL I METOD RADA

Testiranje genotipova ozime pšenice na prisustvo predominantnih patogena vršeno je u poljskim uslovima na lokalitetu Rimski šančevi. Ispitivani genotipovi posejani su 30.10.2021. godine u tzv. „rasadniku bolesti“ u kome se vrši ispitivanje otpornosti linija i sorti prema obligatnim i nekrotofnim patogenima. „Rasadnik bolesti“ sadrži preko 3000 genotipa strnih žita svrstanih u različite grupe/kategorije prema poreklu ili zajedničkim svojstvima. Svaki genotip sejan je u šest redova dužine 1 m sa međurednim rastojanjem od 20 cm.

Ocenjivanje otpornosti genotipova pšenice vršeno je u fenofazi nalivanja do rane mlečne zrelosti zrna (71-73 BBCH). Skala za ocenu nivoa otpornosti/osetljivosti prema *Ptr* koju su uveli Lamari i Bernier (1989) uključila je sledeće simptome: 1= male, tamno braon pege bez hloroze i nekroze (otporni); 2= male, tamno braon do crne pege sa veoma malo hloroze (umereno otporni); 3= male, tamno braon pege potpuno okružene hlorotičnim prstenom (umereno otporne do umereno osjetljivi); 4= male, tamno braon pege potpuno okružene hlorotičnim prstenom sa pojavom lezija (umereno osjetljivi); 5= velike površine lista zahvaćene nekrotičnim i hlorotičnim lezijama (osjetljivi). Biometrijske vrednosti konidija *Ptr* određene su pri uvećanju x 630 korišćenjem mikroskopa Leica DMLS. Sve statističke analize su urađene primenom softvera Minitab 17 (probna verzija).

REZULTATI I DISKUSIJA

Procentualna zasupljenost genotipova zaraženih sa *Ptr* u kolekcijama “rasadnika bolesti” kretala se od 11,4% do 94,3%. Najmanji broj zaraženih genotipova (11,4%) zabeležen je u programima oplemenjivanja na otpornost prema prevalentim patogenima. Nizak broj zaraženih genotipova sa *Ptr* utvrđen je i u kolekciji divljih srodnika (18,4%) dok je najveća procentualna zastupljenost genotipova osjetljivih na *Ptr* utvrđen kod linija i sorti poreklom iz Kazahstana (94,4%) (Slika 1). U okviru kolekcije koja je sačinjena od genotipova koji nose gene za otpornost prema pepelnici (International Winter Wheat Powdery Mildew Program) 60% genotipova je pokazalo osjetljivost prema *Ptr* (Slika 1).



Slika 1. Procentualna zastupljenost genotipova zaraženih sa *Ptr* u tri kolekcije "rasadnika bolesti" u proizvodnoj 2021/2022. godini

Intenziteti zaraze pšenice kretali su se od traga do jačih napada koji su prelazili indeks oboljenja od 50% (Slika 2). Simptomi oboljenja činile su karakteristične eliptične, romboidne do izduženog oblika pege, sočivastog izgleda. Pege su bile svetlo do tamnobraon boje, oivičene hlorotičnom zonom sa tamnomrkom tačkom u centru (nivo osjetljivosti 3 i 4), mada je kod izrazito osjetljivih genotipova dolazilo i do pojave hlorotičnih i nekrotičnih lezija (nivo osjetljivosti 5) (Slika 2). Dužina konidija se kretala od 73,4 µm do 107,2 µm. Širina konidija je obuhvatala opseg od 15,5 do 22,8 µm. Opsezi dimenzije konidija dobijeni u ovom radu odstupaju od morfometrijskih parametara koje je objavio Jevtić (2001). Prema Jevtić (2001) dužina konidija je obuhvatala raspon od 82,5 do 161,70 µm, dok je širina konidija bila u opsegu od 13,20 do 23,10 µm.

U 2022. godini, prosečne temperature u martu ($5,7^{\circ}\text{C}$) i aprilu ($11,1^{\circ}\text{C}$) bile su niže od višegodišnjih proseka za $0,7^{\circ}\text{C}$ i $0,6^{\circ}\text{C}$, respektivno. Mart je bio izrazito sušan sa sumom padavina od 1mm i odstupanjem od višegodišnjeg proseka za -40 mm. Maj je bio toplij, sa prosečnom temperaturom od $19,7^{\circ}\text{C}$ i sa manje padavina nego što je uobičajeno. Razlika padavina u maju od višegodišnjeg proseka bila je -42,1 mm. Ovakvi uslovi doprineli su pojavi *Ptr* i diferencijaciji genotipova prema reakciji osjetljivosti i otpornosti. Takva pojava bila je u 2005., a naročito u 2006. godini kada je došlo do jače pojave žutomrke pegavosti lista pšenice u Srbiji. Pored *Ptr*, u kolekciji je bila zastupljena i pepelnica, ali nije utvrđeno da je pojava ova dva

patogena bila korelisana. Najviši nivo osetljivosti prema pepelnici imali su takodje genotipovi poreklom iz Kazahstana kod kojih je indeks oboljenja pepelnicom imao raspon od 10 do 50% sa prosekom od 24%.



Slika 2. Simptomi oboljenja žutomrke pegavosti lista pšenice i nivoi osetljivosti pšenice (Foto: Jevtić, R.)

Prouzrokovala žutomrka pegavosti lista pšenice se odlikuje velikom adaptabilnošću na različite agroekološke uslove (Kaňeps i sar., 2021). Takođe je utvrđeno da struktura populacije *Ptr* varira zavisno od geografskog porekla i raznovrsnosti domaćina. U Kanadi dominiraju *Ptr* rase 1 i 2 (Aboukhaddour i sar., 2013); u Argentini 4 i 8 (Moreno i sar., 2015); u Brazilu 2 (Bertagnolli i sar., 2019); u Alžиру 1 i 7 (Benslimane i sar., 2011); i u Maroku 5 i 6 (Gamba i sar., 2017). Na severu Rusije predominantna rasa je 1, na jugu Rusije rasa 4, dok je su na zapadu Rusije prisutne rase 1, 2, 3 i 4 (Kaňeps i sar., 2021). U Kazahstanu, predominantne rase su 1 i 8 (Молдажанова, Маялебай & Рсалиев, 2020). Imajući u vidu da *Ptr* produkuje NE koji prepoznaju receptore osetljivih domaćina (po inverznoj teoriji "gen-za-gen") (Kamel i sar., 2019), visok procenat osetljivih genotipova poreklom iz Kazahstana dobijen u ovoj studiji može biti baza za dalja proučavanja i karakterizaciju *Ptr* populacije u Srbiji. Pri proučavanju strukture populacije *Ptr*, treba imati

u vidu da rase 2, 3, i 5 produkuju projedinačne efektore Ptr ToxA, Ptr ToxC i Ptr ToxB, respektivno. Kombinacije efektora produkuju sledeće rase: 1 (Ptr ToxA + Ptr ToxC), 6 (Ptr ToxB + Ptr ToxC), 7 (Ptr ToxA + Ptr ToxB) i 8 (Ptr ToxA + Ptr ToxB + Ptr ToxC). Rasa 4 ne produkuje ova tri efektora i smatrano je da nema patogena svojstva (Kamel i sar., 2019), međutim pojavljuju se istraživanja koja ukazuju da i ova rasa stvara *Ptr* simptome te da se trenutna klasifikacija rasa treba revidirati (Guo i sar., 2020).

ZAKLJUČAK

U proizvodnoj 2021/2022. godini, u uslovima prirodne zaraze, ispitana je reakcija genotipova pšenice i divljih srodnika na otpornost prema *Ptr*. Dobijeni rezultati potvrđuju kompleksnost delovanja mehanizama otpornosti kao i da oni nisu uslovljeni samo delovanjem pojedinačnih gena. Predstavnici divljih srodnika pšenice su identifikovani kao bitni nosioci mehanizama otpornosti prema *Ptr*. Andersen i sar. (2021) su ukazali da se kao reakcija na *Ptr* kod domaćina aktiviraju geni za sintezu hitinaza i drugi mehanizami odbrane koji nisu direktno posledica odsustva dominantnih gena osetljivosti prema *Ptr*. Imajući u vidu da su aktuelne metode fenotipizacije pšenice u oplemenjivačkim programima bazirane isključivo na proceni otpornosti genotipova na pojedinačne (abiotičke i biotičke) faktore stresa, kao i da se metodama genotipizacije ne mogu identifikovati oblici interakcija lokusa kvantitativnih svojstava (QTL), rezultati ovih ispitivanja daju osnovu ne samo za odabir nosioca izvora otpornosti, već su i baza za dalja ispitivanja mehanizama koji obezbeđuju otpornost prema *Ptr*.

LITERATURA

- Ali, S., Franch, L.J. (2003): Population race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* prevalent on wheat and non-wheat grasses in the great plains. Plant Disease, 87, 418–422. doi: 10.1094/pdis.2003.87.4.418
- Aboukhaddour, R., Turkington, T.K., Strelkov, S.E. (2013): Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* (tan spot of wheat) in Alberta, Canada. Canadian Journal of Plant Pathology, 35 (2), 256–268. doi: 10.1080/07060661.2013.782470.
- Andersen, E.J., Nepal, M.P., Ali, S. (2021): Necrotrophic fungus *Pyrenophora tritici-repentis* triggers expression of multiple resistance components in resistant and susceptible wheat cultivars. Plant Pathology Journal, 37(2):99-114. doi: 10.5423/PPJ.OA.06.2020.0109.
- Bertagnolli, V.V., Ferreira, J.R., Liu, Z., Rosa, A.C., Deuner, C.C. (2019): Phenotypical and genotypical characterization of *Pyrenophora tritici-repentis* races in

- Brazil. European Journal of Plant Pathology, 154(4): 995–1007. doi: 10.1007/s10658-019-01720-3.
- Benslimane, H., Lamari, L., Benbelkacem, A., Sayoud, R., Bouznad, Z. (2011): Distribution of races of *Pyrenophora tritici-repentis* in Algeria and identification of a new virulence type. Phytopathologia mediterranea, 50(2): 203–211.
- Ciuffetti, L. M., Tuori, R. P., Gaventa, J. M. (1997): A single gene encodes a selective toxin causal to the development of tan spot of wheat. Plant Cell, 9: 135–144. doi: 10.1105/tpc.9.2.135
- Diedicke, H. (1902): Über den Zusammenhang zwischen *Pleospora* und *Helminthosporium* Arten. Centrablatt für Bakteriologie und Parasitenkunde Jena, Abt. 11, 52–59.
- Friesen, T. L., Stukenbrock, E. H., Liu, Z., Meinhardt, S., Ling, H., Faris, J. D., et al. (2006): Emergence of a new disease as a result of interspecific virulence gene transfer. Nature Genetics, 38: 953–956. doi: 10.1038/ng1839
- Gamba, F., Bassi, F., Finckh, M. (2017): Race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* in Morocco. Phytopathologia mediterranea, 56(1): 119–126.
- Guo, J., Shi, G., Kalil, A., Friskop, A., Elias, E., Xu, S.S., Faris, J.D., Liu, Z. (2020): *Pyrenophora tritici-repentis* Race 4 Isolates cause disease on tetraploid wheat. Phytopathology, 110:11, 1781-1790
- Jevtić, R. (1997): Pojava i značaj žutomrke pegavosti lista pšenice (*Pyrenophora tritici-repentis*). Biljni lekar, 5: 520-524
- Jevtić, R. (1998): Žutomrka pegavost lista pšenice (*Pyrenophora tritici-repentis*), pojava i značaj u Srbiji. u: IV jugoslovenski kongres o zaštiti bilja i Međunarodni simpozijum o integralnoj zaštiti ratarskih biljaka, Vrnjačka Banja, 21-26 septembar, zbornik rezimea, Zbornik rezimea: str. 34
- Jevtić, R. (2001): Pojava i značaj *Pyrenophora tritici - repentis* u Srbiji. Zaštita bilja, 52(2), 75-84.
- Kamel, S., Cherif, M., Hafez, M., Despins, T., Aboukhaddour, R. (2019): *Pyrenophora tritici-repentis* in Tunisia: Race structure and effector genes. Frontiers in Plant Science, 10:1562. doi: 10.3389/fpls.2019.01562
- Kaňeps, J., Bankina, B., Moročko-Bičevska, I. (2021): Virulence of *Pyrenophora tritici-repentis*: a minireview. Agricultural sciences, 36: 21-28.
- Kariyawasam, G.K., Carter, A.H., Rasmussen, J.B., Faris, J.D., Xu, S.S., Mergoum, M., Liu, Z.H. (2016): Genetic relationships between race-nonspecific and race-specific interactions in the wheat- *Pyrenophora tritici-repentis* pathosystem. Theoretical and Applied Genetics, 129:897–908.
- Krupinsky, J. M. (1982): Observations on the host range of isolates of *Pyrenophora trichostoma*. Canadian Journal of Plant Pathology, 4: 42–46. doi: 10.1080/07060668209501335
- Liu, Z., Zurn, J. D., Kariyawasam, G., Faris, J. D., Shi, G., Hansen, J., Rasmussen, J. B., Acevedo, M. (2017): Inverse gene-for-gene interactions contribute addi-

- tively to tan spot susceptibility in wheat. *TAG. Theoretical and applied genetics*, 130(6): 1267–1276. <https://doi.org/10.1007/s00122-017-2886-4>
- Lamari, L., Strelkov, S. E., Yahyaoui, A., Orabi, J., Smith, R. B. (2003): 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*, 93: 391–396. doi: 10.1094/phyto.2003.93.4.391
- Lamari, L., Bernier, C.C. (1989): Virulence of isolates of *Pyrenophora tritici-repentis* on 11 wheat cultivars and cytology of the differential host reactions. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 11: 284-290. ISSN: 0706-0661.
- McMullen, P. Marcia, Hosford, M.R. Jr. (1987): Tan Spot of Wheat. EXT NDSU Extension Service, pp. 19-22. North Dakota State University, Fargo.
- Moreno, M.V., Stenglein, S., Perelló, A.E. (2015): Distribution of races and Tox genes in *Pyrenophora tritici-repentis* isolates from wheat in Argentina. *Tropical plant pathology*, 40(2): 141–146. DOI: 10.1007/s40858-015-0011-2.
- Молдажанова, Р.А., Мауленбай, А.Д., & Рсалиев, А.С. (2020). Расовый состав возбудителя *Pyrenophora tritici-repentis* в южных регионах Казахстана в 2018 год. (Racial composition of the pathogen *Pyrenophora tritici-repentis* in the southern regions of Kazakhstan in 2018). *Вестник КазНУ. Серия биологическая*, 84(3), 98–106. (on Russian).
- Nisikado, Y. (1928) Preliminary notes on yellow leaf spot disease of wheat caused by *Helminthosporium tritici-vulgaris* Nisikado. *Institute of Agricultural Biology* 4, 103–109.

Abstract

OCCURRENCE OF TAN SPOT (*Pyrenophora tritici-repentis*) IN 2021/2022 GROWING SEASON

Vesna Župunski, Radivoje Jevtić

Institut za ratarstvo i povrtarstvo, Novi Sad

E-mail: vesna.zupunski@ifvcns.ns.ac.rs

Pyrenophora tritici-repentis (Died.) Drechs, the agent of tan spot, is an economically important pathogen of wheat. It causes grain quality distortion and yield losses up to 53%. *Ptr* is a necrotrophic pathogen and produces three types of necrotrophic effectors (NEs) (*Ptr ToxA*, *Ptr ToxB* and *Ptr ToxC*) that induce necrosis and chlorosis. The genetic basis of the *Ptr*-host interaction also includes genes that provide race-nonspecific resistance. In 2022, the percentage of genotypes infected with *Ptr* in the collections of “disease nurseries” ranged from 11.4% to 94.3%. The lowest number of infected genotypes (11.4%) was recorded in breeding programs for resistance to prevalent pathogens. A low number of genotypes infected with *Ptr* was also found in the collection of wild relatives (18.4%), while the highest percentage of genotypes susceptible to *Ptr* was found in varieties originating from Kazakhstan (94.4%). Disease index of *Ptr* ranged from a trace level up to 50% or more. The length of the *Ptr* conidia ranged from 73.4 µm to 107.2 µm. Conidia width ranged from 15.5 to 22.8 µm. The results of this study indicated on genotypes that could be used as sources of resistance to *Ptr*, and also could be introduce in further studies of the mechanisms that provide resistance for *Ptr*.

Key words: *Pyrenophora tritici-repentis*, wheat, wild relatives, resistance testing