

СТРУКТУРА И АРЕАЛЫ ПОПУЛЯЦИЙ ФИТОПАТОГЕННЫХ ГРИБОВ¹

М.М. Левитин, Н.В. Мироненко

Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений, Санкт-Петербург, Россия

Эл. почта: mark_levitin@rambler.ru

Статья поступила в редакцию 17.05.2016; принята к печати 17.06.2016

Установление структуры и ареалов популяций фитопатогенных грибов имеет не только научную значимость, но и важное практическое значение для селекции и распределения в агроценозах болезнестойчивых сортов, повышения эффективности защитных мероприятий, улучшения экологической обстановки на посевах сельскохозяйственных культур. В последнее десятилетие разработан ряд новых подходов в методах анализа популяций. В частности, разработаны новые типы молекулярных маркеров, техника скоростного секвенирования, внедрены новые аналитические программы. Это позволило уточнить структуру и степень локализации ряда популяций фитопатогенных грибов. Некоторые виды фитопатогенных грибов имеют широкий ареал распределения. К ним относятся многие виды ржавчинных грибов, как, например, *Puccinia triticina*, *P. graminis*, *P. striiformis* и некоторые виды гемибитрофных грибов – *Cochliobolus sativus*, *Mycosphaerella graminicola* и *Phaeosphaeria nodorum*. В частности, показано, что на территории России существуют по меньшей мере 3 популяции *P. triticina*, различающиеся по вирулентности. Известны виды с узкой локализацией, например, *Pyrenophora teres* и *Fusarium oxysporum*. Узколокальное распределение популяций возбудителей болезней требует иного подхода в использовании генов устойчивости, чем для популяций, имеющих широкий ареал.

Ключевые слова: популяция, ареал, фитопатогенные грибы, молекулярные маркеры.

THE STRUCTURES AND AREALS OF POPULATIONS OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI

M.M. Levitin, N.V. Mironenko

All-Russia Research Institute of Plant Protection, Saint Petersburg, Russia

E-mail: mark_levitin@rambler.ru

Defining the structures and areals of populations of phytopathogenic fungi is important for both, basic science and applications, such as pest-resistant crops selection and spatial distribution and developing of measures for crop and environment protection. In recent years, a number of novel approaches to population analysis have been developed, including novel types of molecular markers, high throughput sequencing, and analytical software. These advances made it possible to ascertain the structures and locations of several populations of phytopathogenic fungi, including rust fungi, such as *Puccinia triticina*, *P. graminis*, and *P. striiformis*, and some hemibiotrophic fungi, such as *Cochliobolus sativus*, *Mycosphaerella graminicola* and *Phaeosphaeria nodorum*. In particular, it has been shown the in Russia at least three populations of *P. triticina*, differing in their virulence are present. Some species, such as *Pyrenophora teres* and *Fusarium oxysporum* are known to feature narrow locations. The approaches to making use of resistance genes must be different in such cases from approaches applicable when areals are vast.

Keywords: population, areal, phytopathogenic fungi, molecular markers.

Введение

Под популяцией грибов следует понимать совокупность клонов, занимающих определенный ареал, объединенных общностью происхождения и сходством реакций на окружающую среду [6, 13]. Генетическое разнообразие популяций создается в основном вследствие мутаций и миграции клонов. Споры служат для массового расселения грибов в природе. Они могут распространяться на небольшие расстояния (например, грибы рода *Colletotrichum*, *Gloeosporium*, так как их споры трудно отделяются от мицелия), переноситься на десятки и сотни метров (например, пероноспорные и некоторые анаморфные виды грибов), переноситься по воздуху на очень большие расстояния (десятки и сотни километров), например, урединиоспоры ржавчинных грибов. По данным К.М. Степанова [16] минимальная скорость ветра, необходимая для рассеивания спор, составляет для *Botrytis cinerea* – 0,36–0,50 м/с, для *Puccinia recondita* и *Bipolaris sorokiniana* – 0,51–0,75, для *Puccinia*

coronata – 0,76–2,0, для *Phytophthora infestans* – более 3 м/с. Горизонтальное перемещение спор по воздуху определяется скоростью и направлением ветра. При средней дневной скорости ветра 20 км/ч ежедневное перемещение спор достигает 500 км. Миграции спор оказывают существенное влияние на состав и изменчивость в структуре популяций. Различная способность к миграции является решающим фактором, определяющим размеры популяций.

Факторы окружающей среды оказывают существенное влияние на соотношение генотипов в популяциях. Поэтому в разных экологических зонах будут формироваться популяции с разными морфолого-культуральными и физиолого-биохимическими признаками. Окружающая среда может влиять на скорость размножения грибов, а следовательно, и на темп мутационного процесса, интенсивность генетических обменов и т. п. Поэтому в благоприятных условиях, обеспечивающих высокую численность популяций, генетическое разнообразие выше, чем в неблагоприятных. Большое влияние оказывает общая гетерогенность условий существования. Чем выше гетерогенность среды, тем выше гетероген-

⇨ Посвящается 85-летию главного редактора журнала «Биосфера» проф. Э.И. Слепяна.

ность популяций. Генетический полиморфизм популяций, увеличение числа редких аллелей являются платой за способность популяции выживать в варьированных условиях внешней среды.

Гетерогенность растений-хозяев является важным фактором окружающей среды. На смеси генотипов хозяина развивается более полиморфная популяция паразита, чем на чистой линии. Поэтому на коллекционных посевах популяция патогена более полиморфна, чем на производственных посевах.

Не менее важны взаимоотношения патогенов с растениями. В агроценозах фитопатогенные грибы встречаются с большим числом одинаковых по восприимчивости растений, что приводит к повышению *г*-отбора. Генетическая рекомбинация становится невыгодной, а отбор, связанный с флуктуацией внешних условий, например с появлением устойчивого сорта, могут обеспечивать мутации, всегда существующие в огромных по численности популяциях грибов. Кроме того, культурные растения по сравнению с дикорастущими находятся в более стабильных условиях. Это повлияло на формирование половой стадии в жизненном цикле грибов. При переходе фитопатогенных грибов в агроценозы происходит не только изменение генотипического состава популяционной структуры, но также изменение роли половой и бесполой генераций вследствие замены ведущей роли *К*-отбора на *г*-отбор.

Современные методы анализа популяций фитопатогенных грибов

В развитии популяционных исследований фитопатогенных грибов в последние 15–20 лет произошел скачок, который связан с разработкой новых типов молекулярных маркеров (однонуклеотидные полиморфизмы = SNP и простые повторяющиеся последовательности в микросателлитной ДНК = SSR), техники скоростного секвенирования, а также внедрения новых аналитических программ, в том числе основанных на коалесцентной теории (coalescent based) [27].

Из молекулярных маркеров наиболее подходят для коалесцентного анализа SSR, поскольку они широко представлены в фитопатогенных грибах, отличаются большой вариабельностью и кодоминантны. Считается, что микросателлиты являются наиболее быстро эволюционирующей частью генома грибов [24]. Мутации микросателлитов – это не изменения отдельных нуклеотидов, а добавление или потеря целых повторов, а иногда – двух и более повторов одновременно. Процессом, приводящим к такому изменению длины, является проскальзывание нити ДНК при репликации (replication slippage), он вызван ошибками взаимодействия между нитями ДНК во время мейоза. Обычно в каждом микросателлите происходит 1 проскальзывание на 1000 генераций, хотя скорости мутаций различаются по типам микросателлитов и видам грибов. Преимуществом этой группы маркеров служит высокий уровень регистрируемого полиморфизма, высокая воспроизводимость результатов и техническая простота экспериментов.

В связи с особенностями генома эукариот молекулярные маркеры считаются нейтральными. Большая часть генома грибов представлена некодирующей ДНК, поэтому выявляемые полиморфизмы ДНК с большей вероятностью не связаны с функциональными генами и считаются нейтральными. Очевид-

но, что в случае сцепления таких маркеров с генами, кодирующими признаки, подвергающиеся действию отбора, например, вирулентность, они перестают быть нейтральными. В таком случае возникает опасность неправильной интерпретации выявляемых в популяции ассоциаций локусов.

Достижения в методах секвенирования ДНК и «аналитических подходах» значительно увеличили точность и достоверность параметров, характеризующих генетическую структуру популяции организма. Применение коалесцентного подхода в популяционных исследованиях обеспечивает понимание путей миграции, а также процессов дивергенции, видообразования и рекомбинации.

Важным элементом анализа структуры популяции является показатель генетического разнообразия. Показатели генотипического разнообразия характеризуют относительный вклад в структуру популяции полового и бесполого размножения. Они базируются на количестве генотипов и их частотах в популяциях [9].

Таковыми показателями являются величины неслучайной ассоциации аллелей 2 локусов (D) и индекс мультилокусной ассоциации (I_A).

$I_A = S_k / s_k^2 - 1$, где k – число аллелей, по которым различаются 2 организма; S_k – наблюдаемая дисперсия k ; s_k^2 – ожидаемая дисперсия k для случайной ассоциации аллелей. Для панмиктической популяции $I_A = 0$.

При анализе популяций оцениваются также такие показатели, как клональная фракция, коэффициент генетической дифференциации, генный поток.

Клональная фракция:

$CF = 1 - (n_u/n)$, где n_u – число уникальных фенотипов (не повторяющихся в исследуемой выборке изолятов), n – общее число изолятов.

Коэффициент генетической дифференциации между популяциями G_{ST} :

$G_{ST} = (H_T - H_S) / H_T$, где H_T – общее генное разнообразие во всей популяции, H_S – среднее генное разнообразие внутри субпопуляций.

Генный поток между популяциями оценивают по формуле:

$N_m = (1/G_{ST} - 1) / 2$, где N_m – среднее число мигрантов между популяциями в каждой генерации.

Для анаморфных видов грибов важны результаты молекулярного фингерпринтинга. Они позволяют высказать предположение о существовании половой стадии гриба в природе, что объяснило бы большое генетическое разнообразие и наличие рекомбинантных форм для тех грибов, у которых половая стадия неизвестна. Например, такие данные получены для гриба *Rhynchosporium secalis* – возбудителя ринхоспориоза злаков, гриба *Pyricularia oryzae* – возбудителя пирикулярриоза риса. Половая стадия этого гриба *Magnaportha grisea* была обнаружена относительно недавно. Молекулярным фингерпринтингом доказано наличие скрытой половой стадии в жизненном цикле гриба *Alternaria alternata* [33].

Использование современных методов анализа популяций позволило установить ареалы популяций многих экономически значимых возбудителей болезней, выявить пути их миграции и предложить стратегию размещения генов устойчивости.

Рассмотрим ареалы и структуру популяций видов фитопатогенных грибов, обладающих разными миграционными возможностями.

Структура популяций возбудителей с широким ареалом в пространстве

Бурая ржавчина пшеницы (возбудитель *Puccinia triticina*) распространена по всему миру [21]. В России она встречается повсеместно во всех зонах возделывания озимой и яровой пшеницы, но наиболее вредоносна на Северном Кавказе, Поволжье, ЦЧР, Центральных районах, в Сибири и на Дальнем Востоке (рис. 1).

Урединоспоры гриба легко переносятся ветром на большие расстояния. Создан Международный набор изогенных линий серии Thatcher, позволяющий анализировать и сравнивать фенотипический состав популяций гриба. В 2000 г. в популяционных исследованиях стали широко использоваться молекулярные маркеры. В США для генотипирования изолятов *P. triticina* были подобраны SSR-маркеры [23].

В 1980-е годы в Советском Союзе стали проводиться обширные популяционные исследования возбудителя бурой ржавчины [11]. С использованием линий Thatcher было показано отсутствие сходства между образцами популяций *P. triticina*, собранными на территории Кавказа (Грузия, Азербайджан, Дагестан, Северная Осетия, Чечено-Ингушетия), и образцами, собранными на европейской и азиатской территориях СССР [10, 12]. Различия в основном заключались в высокой частоте встречаемости изолятов, не вирулентных по отношению к носителям генов устойчивости Lr1 и Lr2a в кавказской популяции и низкой их частоте во всех других популяциях. Эти различия, сохранявшиеся в течение восьми лет, позволили высказать предположение, что кавказская популяция изолирована от европейской и азиатской популяций. В период 1988–1993 гг. были исследованы образцы популяций *P. triticina*, собранные в 5 точ-

ках Кавказа, 24 точках европейской части и 8 точках азиатской части СССР-СНГ [11]. Наблюдалось низкое сходство между образцами, собранными в азиатской части, с кавказскими и европейскими образцами, что указывает на существование изоляции между европейской и азиатской, а также между кавказской и азиатской популяциями. Поволжье являлось пограничной зоной, где наблюдалось совмещение азиатской и европейской популяций гриба [10, 12].

В 2000 г. Л.А. Михайлова осуществила обширные сборы образцов пшеницы в разных географических точках России, Украины, Германии, Финляндии [35]. Выявлено высокое сходство между большинством российских и европейских образцов популяций (табл. 1). Сходство было низким или отсутствовало между образцами, собранными на юге России (Северный Кавказ, Дагестан) и Украине с образцами, собранными на Северо-Западе (Вологодская и Новгородская обл.). Все европейские образцы проявили низкое или полное отсутствие сходства с образцами из Западной Сибири и Урала (Башкортостан, Омская обл., Челябинская обл.). Вместе с тем, азиатские образцы показали высокое сходство между собой. Образцы, собранные в северной, центральной и в южной частях Германии, были сходны между собой, а также были сходны с образцами, собранными в Центральных регионах России (Тамбовская, Орловская, Вологодская обл.). При этом все немецкие образцы показали низкое сходство или его полное отсутствие с образцами популяций из азиатской части России. Образец популяции из Финляндии отличался от всех европейских и азиатских образцов. Сделан вывод, что на территории Европы существует единая популяция патогена. На западно-азиатской территории (Урал, Западная Сибирь, северный

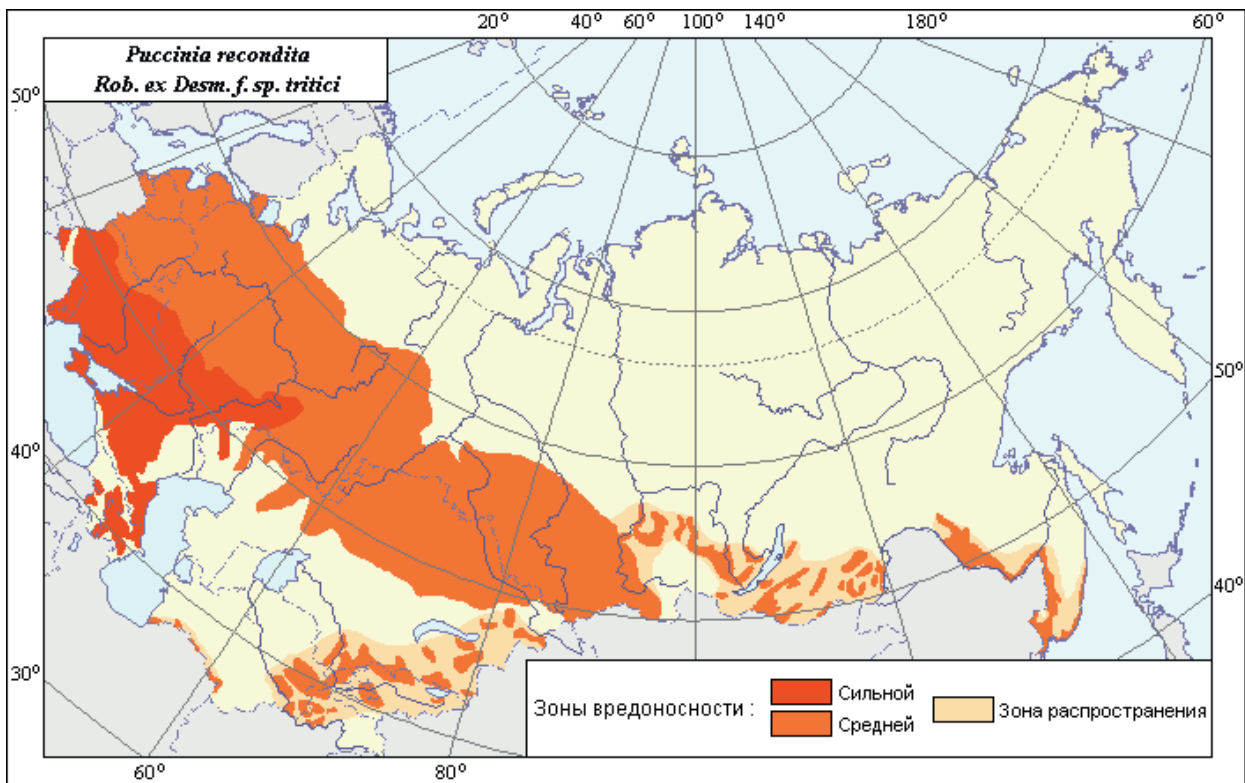


Рис. 1. Распространение и вредоносность возбудителя бурой ржавчины пшеницы в России.

Источник: http://www.agroatlas.ru/ru/content/diseases/Tritici/Tritici_Puccinia_recondita/map/

Казахстан) обитает популяция, независимая от европейской популяции. Кроме того, существуют локальные популяции гриба, обитающие на территориях Дальнего Востока, Средней Азии и Кавказа.

В чем причина формирования локальных популяций возбудителя? Одна из возможных причин – это географический барьер на пути переноса спор из европейской части в азиатскую часть в виде Уральских гор. В качестве другого физического фактора можно рассматривать направление воздушных потоков в период, когда наблюдается спороношение гриба. Известно, что споры возбудителей ржавчины переносятся на большие расстояния воздушными потоками. Однако интенсивное спороношение ржавчины происходит в разных зонах не одновременно: на Северном Кавказе обычно в первой половине июня, в центре и на юге европейской территории – в июне-июле, на азиатской территории – в августе. В июне на европейской территории преобладают северо-западные ветры, то есть они не могут переносить споры гриба на азиатскую территорию. Непосредственно на территорию Краснодарского края споры могут переноситься с Балканского полуострова и с полуострова Малая Азия [15]. Над территорией Северного Кавказа в апреле-мае отмечаются воздушные по-

токи юго-западного, западного и северо-западного направлений.

Начиная с 1995 г. в популяционных исследованиях *P. triticina* стали широко использоваться молекулярные маркеры: RAPD [29, 30], AFLP [28] и SSR [23, 44]. С использованием RAPD-маркеров охарактеризована структура российских популяций *P. triticina* в 2007 г. [26]. Выявлено высокое сходство по вирулентности между уральскими и западносибирскими популяциями, и ближе к ним по сходству были образцы популяций из центрального Черноземья. Северокавказская и центральная популяции отличались от остальных европейских и всех азиатских. Согласно индексам генетических расстояний по RAPD- и УП-ПЦР-маркерам выявлено 2 различающихся кластера изолятов бурой ржавчины. В первый вошли образцы популяций из Центрального, Центрально-Черноземного и Уральского регионов, а во второй – из Западной Сибири, Северного Кавказа и Северо-Запада.

В 2006–2010 гг. полиморфизм популяций *P. triticina*, собранных в европейской и западно-азиатской частях России, был изучен с использованием SSR-маркеров [32]. В этих исследованиях не выявлена дифференциация по вирулентности и микросателлитным локусам. Показано существование двух раз-

Табл. 1

Сходство по составу фенотипов между образцами популяций *P. triticina*, собранными на территории России, Украины, Финляндии и Германии в 2000 г., % (по данным [35])

Место сбора спорового образца	Михайловское	Ростов-на-Дону	Порт-Катон	Одесса	Донецк	Тамбов	Орел	Кинель	Саратов	Казань	Вологда	Волхов	Уфа	Челябинск	Омск	Йокиоинен (Финл.)	Уссурийск	Германия		
																		Север	Центр	Юг
Дербент	78	77	29	0	65	29	12	86	33	0	12	0	7	9	0	8	0	5	5	14
Михайловское	–	60	15	0	60	29	6	87	33	0	12	0	7	17	0	3	0	0	1	5
Ростов-на-Дону		–	34	0	60	33	20	73	37	4	12	6	15	17	8	3	0	4	14	24
Порт-Катон				0	15	15	12	24	15	0	12	6	7	15	0	8	0	5	4	15
Одесса					5	29	50	0	50	0	29	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Донецк					–	29	5	65	33	0	12	5	7	12	0	6	0	5	5	5
Тамбов						–	42	34	70	41	42	41	14	25	5	3	0	20	24	41
Орел							–	17	62	41	42	19	12	17	5	3	0	30	27	30
Кинель								–	38	4	16	10	11	20	4	3	0	9	8	13
Саратов									–	11	52	11	14	25	10	3	0	11	11	11
Казань										–	59	62	7	8	5	0	0	0	24	47
Вологда											–	59	14	19	0	0	0	20	24	47
Волхов												–	7	8	5	0	0	31	37	39
Уфа													–	32	35	17	0	7	19	7
Челябинск														–	43	0	0	8	12	8
Омск															–	3	0	5	18	5
Йокиоинен (Финляндия)																–	0	2	0	0
Уссурийск																	–	0	2	0
Германия	север																	–	54	45
	центр																		–	51

личающихся групп изолятов, распространенных по всей территории России.

В 2015 г. аналогичные исследования были выполнены во Всероссийском институте защиты растений с использованием коллекции изолятов из 8 регионов России, собранных в 2006–2014 гг. Согласно индексу Космана (KB), западносибирские, уральские и казахстанские изоляты образовали отдельный субкластер, объединенный с другим субкластером, включающим волжские и центрально-европейские изоляты, тогда как северокавказские и северо-западные изоляты образовали самостоятельный кластер (рис. 2). С использованием SSR-маркеров также показано высокое сходство между образцами западносибирских, уральских и казахстанских популяций *P. triticina* [4], с одной стороны, и между образцами популяций из Поволжья, Центрального, Центрально-Черноземного и Северо-Западного регионов [5] – с другой. Однако, в отличие от результатов исследований Kolmer и соавт. [32], выявлена дифференциация российских популяций по географическому происхождению. Азиатские популяции из Западной Сибири, Урала и Казахстана отличалась от всех европейских и кавказской из Дагестана. Кавказская популяция из Дагестана имела более высокие различия со всеми европейскими, чем северокавказская из Краснодарского и Ставропольского краев.

Австралийские ученые провели популяционные исследования бурой ржавчины на территории западной Европы и России [38, 39]. Анализировали материал из Австрии, Бельгии, Франции, Германии, северной Италии, Швейцарии, Великобритании, Эстонии, Финляндии, Венгрии, Марокко, Польши и Сибири. Были определены пятьдесят три патотипа, четыре из которых были широко распространены по всей Западной Европе. Преобладание четырех патотипов по всему региону обследования доказывает существование дальней воздушной миграции этого патогена

в Европе. Один патотип, включающий 35% изолятов с юга Франции, не был обнаружен ни в одном из других регионов, но он не отличался от нескольких изолятов, полученных из Марокко, что предполагает занос его в Европу из северной Африки.

Широкий спектр популяционных исследований возбудителя бурой ржавчины пшеницы проводился и проводится в настоящее время американской лабораторией болезней злаков Университета штата Миннесота. В 2001 г. на основании AFLP-анализа было показано, что расы, вирулентные для носителей генов Lr17, Lr3bg и Lrb, мигрировали в регионы Великих Равнин из Мексики или Тихоокеанского северо-запада [28]. Ранее в Австралии в 1984 г. были обнаружены расы, вирулентные к носителям генов Lr16, Lr27, Lr31. Высказано предположение об интродукции этих рас с другого континента [37]. Проведен также молекулярный анализ Северокавказских, Западносибирских, Волго-Вятских и Средне-Волжских образцов [32]. Между ними не выявлено различий. Показано существование двух различающихся групп изолятов, распространенных по всей территории России. Авторы предположили существование единого источника инфекции для европейской части России и Западной Сибири. Различия по SSR-маркерам наблюдались между российскими популяциями и популяциями Таджикистана, Киргизстана, Узбекистана, Армении, Грузии и Азербайджана.

При изучении популяции бурой ржавчины в Европе [29] была собрана коллекция, содержащая 133 изолята, выделенных из мягкой и твердой пшеницы, выращиваемой в Чехии, Словакии, Франции, Испании, Венгрии, Германии, Турции, Великобритании и Украины. Тестирование проводилось на 20 изогенных линиях пшеницы и с использованием 23 SSR-маркеров. Выявлено высокое разнообразие молекулярных генотипов. Оно было значительно выше, чем в популяциях других континентов. Авторы исследо-

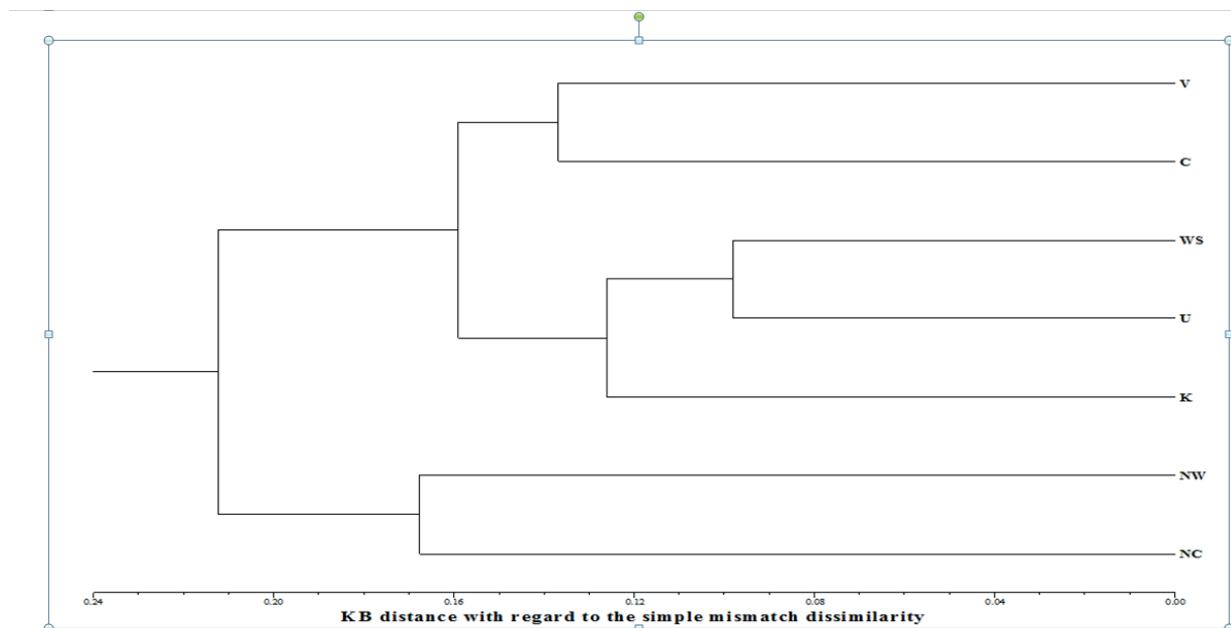


Рис. 2. Построенная методом взвешенного попарного среднего (UPGMA) дендрограмма генетического родства изолятов возбудителя бурой ржавчины *P. triticina* по вирулентности (http://vizr.spb.ru/assets/docs/vesnik/2015/3/vesnik_15-3-1_Gulyaeva.pdf). Регионы: V – Волго-Вятский, Средне-Волжский, Нижневолжский; C – Центральный и Центрально-Черноземный регионы; WS – Западносибирский; U – Уральский; NW – Северо-западный; NC – Северокавказский; K – Казахстан

ваний предполагают, что этому, возможно, способствовала миграция спор из Центральной Азии и Ближнего Востока.

Kolmer и Ordoñez [31] анализировали генетическую дифференциацию популяций *P. triticina* Центральной Азии и Северного Кавказа. Показано, что на этих территориях существуют две региональные популяции гриба. Изоляты из Азербайджана, Грузии, Армении, Узбекистана, Таджикистана и Киргизстана имели высокое сходство по вирулентности на линиях Thatcher и по SSR-генотипам. Изоляты из Казахстана имели высоко сходство по фенотипам вирулентности и SSR-генотипам и были генетически изолированы от популяций других стран. Две региональные популяции Центральной Азии и Кавказа отличались от популяций Северной Америки. Существование двух региональных популяций Центральной Азии, вероятно, обусловлено географическими барьерами, ограничивающими движение урединиоспор между двумя регионами. Это горы Тянь-Шаня, протянувшиеся вдоль границы между южным Казахстаном и Киргизстаном и частично вдоль границы между Узбекистаном и южным Казахстаном.

Ordoñez и соавт. [36] сравнили южноамериканские популяции *P. triticina*, собранные в 1990–2008 гг. в Аргентине, Бразилии, Чили, Перу и Уругвае, с североамериканскими популяциями гриба. Изоляты тестировались по вирулентности на 20 изогенных линиях пшеницы и по 23 SSR молекулярным маркерам. По молекулярным маркерам было выделено 5 групп популяций. Высокая степень сходства SSR-генотипов и фенотипов по вирулентности из Южной и Северной Америки предполагает межконтинентальную миграцию изолятов из Мексики в Северную Америку.

На американском континенте было проведено сравнительное изучение популяций *P. triticina* Южной и Северной Америки [36]. В работе использовали 130 изолятов из Аргентины, Бразилии, Чили, Перу и Уругвая, выделенных с сортов яровой пшеницы, хотя в одном из регионов Чили – с озимой пшеницы. Изоляты тестировались на 20 изогенных линиях пшеницы, для молекулярного анализа использовали 23 SSR-маркера. В результате SSR-анализа были установлены 5 различных групп изолятов, различающиеся также по вирулентности. Высокая степень сходства по SSR-генотипам указывает на общность популяций Южной и Северной Америки. Сходство популяций по вирулентности и SRR-генотипам указывает на вероятность межконтинентальной миграции возбудителя из Мексики и к Южной, и к Северной Америке, а также на возможность использовать одни и те же гены устойчивости на обоих континентах. И действительно, гены Lr13, Lr17, Lr16, Lr24, Lr26 и Lr34 присутствуют в сортах пшеницы на обоих континентах. Стратегия использования различных Lr-генов на двух континентах, по мнению авторов, не имеет практического значения.

В последние годы активно изучается Африканский континент. На посевах пшеницы в Зимбабве, Замбии и Малави было собрано 63 изолята *P. triticina* и проведен анализ расового состава [40]. Согласно американской системе описания рас, две расы – MCDS и TCPS – встречались в Зимбабве и Замбии, расы FBPT и SCDS – только в Зимбабве и Малави. Три из этих рас (MCDS, FBPT и SCDS) хорошо известны в Южной Африке. Согласно SSR-анализу, расы MCDS и

FBPT имеют тесные связи с расой CCPS, идентифицированной в Южной Африке в 2009 г. Встречаемость сходных рас в Южной Африке указывает на миграцию изолятов между странами. По мнению авторов исследований, южноафриканские страны могут считаться одной из эпидемиологических зон возбудителя бурой ржавчины пшеницы.

Широким ареалом обладает возбудитель темно-бурой пятнистости злаков – гриб *Cochliobolus sativus*. В частности, при сравнении выборки изолятов, собранных с одного сорта ячменя в разных районах Ленинградской области, достоверные различия по числу вирулентных клонов не выявлены [8]. Можно предположить, что на данной территории существует единая по признаку вирулентности популяция возбудителя болезни. В то же время анализ материала, собранного в районе Пскова, Дотнува (Литва) и Йыгевы (Эстония), выявил достоверные различия по числу вирулентных клонов между всеми тремя популяциями. Таким образом, можно предполагать, что популяции *C. sativus* охватывают значительные по площади территории, и только географически отдаленные популяции могут отличаться по количественному составу вирулентных клонов.

Методом УП-ПЦР были проанализированы популяции *C. sativus*, выделенные с листьев разных хозяев – ячменя и пшеницы, и показана генетическая дифференциация популяций патогена, связанная со специализацией к растению-хозяину [2, 34].

Ряд популяционных исследований проведен с грибом *Mycosphaerella graminicola* (анаморфа *Septoria tritici*). При сравнении популяций из Швейцарии, Израиля, Орегона и Техаса обнаружена высокая генетическая идентичность популяций [25]. Молекулярные исследования были проведены также с 360 изолятами, представляющими 14 популяций *M. graminicola* [20]. Миграцию оценивали по частотам аллелей микросателлитных локусов. Авторы пришли к выводу, что большинство иммигрантов в Новом Свете – это европейские и израильские популяции. Поток генов между континентами, по мнению авторов, является важным фактором в оценке демографической истории этого вида. Среди европейских популяций только 8 из 50 попарных сравнений имели различия. Североамериканские популяции также имели незначительные различия (только 2 из 18 сравниваемых пар). В мексиканских популяциях только 1 пара из 65 сравниваемых имела различия в структуре. Среди европейских и североамериканских популяций наблюдались очень незначительные отличия. Австралийские и мексиканские популяции генетически отличались от всех остальных. Изучение региональных популяций *M. graminicola* методом RFLP показало, что они генетически очень сходны [22].

В широком географическом разрезе изучался другой возбудитель септориоза пшеницы – гриб *Phaeosphaeria nodorum* (анаморфа *Septoria nodorum*). В Швейцарии проведен анализ 693 изолятов *P. nodorum* с использованием 12 микросателлитных локусов [43]. Показано, что структура популяций характеризуется высоким уровнем генетического разнообразия и низкой степенью различий между континентами (табл. 2). Генетическое сходство популяций было результатом дивергенции или обширного генного обмена. Популяционный анализ показал, что им-

мигранты произошли, в основном, из европейских популяций, Китая и Северной Америки. Некоторые различия между популяциями внутри одного континента могут быть связаны с расстоянием между анализируемыми популяциями, особенностями сортового разнообразия, климатическими условиями и др., что показано, например, при сравнении структуры северо-центральной и среднезападной популяций США [17].

Структура и ареал узколокальных популяций возбудителей болезней растений

Одним из представителей узколокального распределения популяций в пространстве является возбудитель сетчатой пятнистости ячменя – гриб *Pyrenophora teres* (анаморфа *Drechslera teres*). Заболевание распространено повсеместно, где выращивается ячмень. Вредоносность болезни проявляется в уменьшении числа колосьев, снижении массы зерен. Потери урожая в обычные годы – в пределах 20%, а в эпифитотийные достигают 45%. Распространение и вредоносность болезни в России представлены на карте (рис. 3).

В течение вегетационного сезона распространение болезни происходит конидиями. Подвижность конидий слабая. С использованием маркированных по цвету конидий нами было показано, что они распространяются не далее, чем на 15–20 м [7, 18]. Отсюда и слабый поток генов между популяциями. С использованием молекулярных маркеров показано, что в пределах 20 км уровень генетической дифференциации популяций был низким, в то время как между популяциями разных континентов уровень генетической дифференциации был значительно выше [41]. Естественно, слабая подвижность конидий ограничивает размеры популяции. Популяции *P. teres* де-

монстрируют хорошо выраженную узколокальную изоляцию [7].

В 1990-е гг. в Ленинградской области и в Финляндии выращивался сорт ячменя Инари. Представилась возможность провести сравнительный анализ выборки клонов из двух географических популяций *P. teres*, паразитирующих на одном и том же сорте в России и Финляндии. Сравнение проводилось по вирулентности на международном наборе сортодифференциаторов и молекулярным маркерам [1, 19]. Популяции достоверно различались по признаку вирулентности. В финской популяции отсутствовали клоны, вирулентные к образцу ячменя к-8755, тогда как в ленинградской популяции (Выборг, Луга, Рожdestveno) их численность достигала 35,5%. В каждой из анализируемых популяций была выявлена группа рас, отсутствующая в других. Так, раса 0540 встречалась только в финской популяции, а расы 0560, 0561, 1734 выявлены только в ленинградской популяции. По мнению авторов этих исследований, существующие отличия в структуре отдаленных и близкорасположенных популяций связаны с отсутствием или незначительной долей мигрантов. Этот вывод был подтвержден молекулярными исследованиями. Изменчивость по AFLP-маркерам составила 35,1% внутри популяций и 64,8% между популяциями. Коэффициент генетической дифференциации (F_{st}) между популяциями составил 0,649, что указывает на значительную генетическую дивергенцию между популяциями [42].

Финские исследователи провели анализ 278 изолятов, собранных в Северной Европе, Северной Америке, России и Австралии [41]. Генетическая дифференциация между популяциями была достаточно высокой ($F_{st} = 0,238$, $P = 0,002$).

Узкой локальностью характеризуются популяции почвенных видов *Fusarium*. Примером может слу-

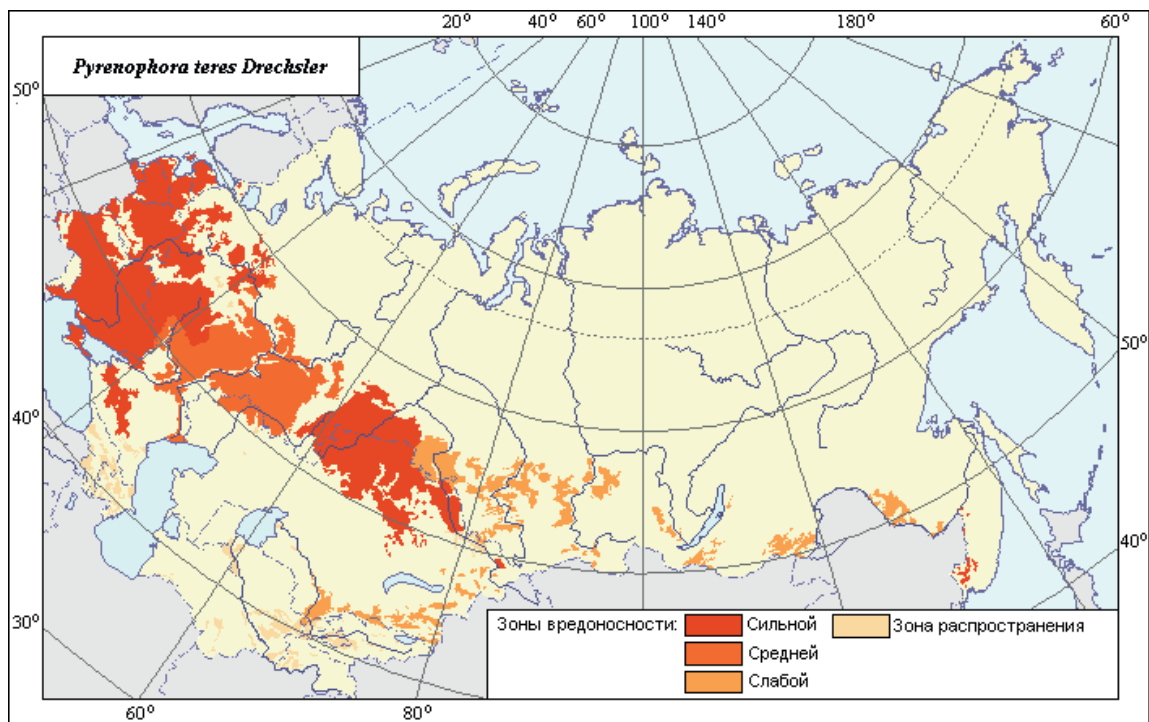


Рис. 3. Распространение и вредоносность возбудителя сетчатой пятнистости ячменя.

Источник: http://www.agroatlas.ru/ru/content/diseases/Hordei/Hordei_Pyrenophora_teres/map/

жить возбудитель фузариоза льна – гриб *Fusarium oxysporum* f. *lini*. Границы популяций этого гриба определяли, сравнивая по морфологическим и биохимическим признакам выборки клонов из точек, расположенных на расстояниях 100–200 м, 10–20 и 100–200 км [14]. По изоферментному составу все выборки отличались друг от друга. Различия имелись даже между выборками, взятыми из очагов на одном и том же поле. Генетическое сходство между выборками, взятыми в очагах на одном и том же поле, было низким, между взятыми на расстоянии около 10 км сходство было выше. Наблюдаемое сходство между географически отдаленными выборками, возможно, связано с генным дрейфом или параллельной гомологической изменчивостью в разных частях ареала. При сравнении по морфологическим признакам оказалось, что выборки клонов, взятых с различных полей в одном и том же хозяйстве, различались между собой, в то время как на одном поле популяции были схожи. Морфофены более подвержены влия-

нию внешней среды, и, возможно, поэтому выборки клонов с одного поля более схожи между собой, чем собранные с разных полей. Тем не менее, в условиях орошаемого земледелия почвенные виды *Fusarium* могут с поливной с водой перемещаться на значительные расстояния.

Конечная цель популяционных исследований в фитопатологии – управление популяциями фитопатогенных микроорганизмов в агроценозах для эффективной защиты растений с наименьшей опасностью для окружающей среды и здоровья человека. При этом узколокальное распределение в пространстве популяций возбудителей болезней требует иного подхода к использованию генов устойчивости, чем когда популяции охватывают широкий ареал.

Исследования выполнялись при частичной поддержке Российского научного фонда (проект № 14-26-00067) и гранта РФФИ (№ 14-04-00399_a).

Литература

Список русскоязычной литературы

1. Афанасенко ОС, Мироненко НВ, Филатова ОА, Серениус М. Структура популяций *Pyrenophora teres* f. *teres* из Ленинградской области и Финляндии по признаку вирулентности. Микол фитопатол. 2007;41:261-8.
2. Булат СА, Мироненко НВ. Генетическая дифференциация фитопатогенного гриба *Cochliobolus sativus* (Ito and Kurib.) Drechsl. ex Dastur (*Bipolaris sorokiniana*) Shoem., выявляемая методом полимеразной цепной реакции с универсальными праймерами (УП-ПЦР): корреляция с хозяин-специфичностью. Генетика. 1993;29:1295-301.
3. Гульятеева ЕИ, Шайдаюк ЕЛ, Казарцев ИА, Аристова МК. Структура российских популяций *Puccinia triticina* Erikss. Вестник защиты растений. 2015;3:5-10.
4. Гульятеева ЕИ, Шайдаюк ЕЛ, Аристова МК, Казарцев ИА. Структура популяций *Puccinia triticina* в европейских регионах России. Вестник защиты растений. 2016;89(3):56-7.
5. Гульятеева ЕИ, Аристова МК, Шайдаюк ЕЛ, Казарцев ИА. Структура азиатских популяций *Puccinia triticina* по вирулентности и микросателлитным маркерам. Микол фитопатол. (в печати)
6. Квитко КВ. Относительная роль мутаций и отбора в микробных популяциях. Усп совр генет. 1974;5:101-3.
7. Левитин ММ, Афанасенко ОС. Структура популяций возбудителя сетчатой пятнистости ячменя по признаку вирулентности. III. Локальность популяций. Микол фитопатол. 1980;14:130-2.
8. Левитин ММ, Петрова АН, Афанасенко ОС. Сравнительное изучение популяций *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. по признаку вирулентности. Микол фитопатол. 1985;19:154-7.

9. Мироненко НВ. Современные достижения в изучении генетической структуры популяций фитопатогенных грибов. Усп совр биол. 2004;124:234-45.

10. Михайлова ЛА. Структура популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы. III. Оценка степени сходства популяций на территории СНГ в 1988-1990 гг. Микол фитопатол. 1995;29(3):45-51.

11. Михайлова ЛА. Структура популяций возбудителя бурой ржавчины пшеницы на территории СНГ V. Ареалы популяций и направления миграции спор. Микол фитопатол. 1996;30(4):84-90.

12. Михайлова ЛА, Васильев СВ. Ареалы популяций возбудителя листовой ржавчины пшеницы. Микол фитопатол. 1985;19:158-63.

13. Печуркин НС. Популяционная микробиология. Новосибирск: Наука; 1978.

14. Портянкин ДЕ, Терехова ВА, Левитин ММ. Изучение популяционной изменчивости возбудителя фузариозного увядания льна в Белоруссии. Микол фитопатол. 1988;22:362-8.

15. Санин СС. Эпифитотии болезней зерновых культур: теория и практика. М.: ВНИИФ; 2012.

16. Степанов КМ. Распространение инфекционных болезней растений воздушными течениями. В кн.: Труды по защите растений. Л.-М.; 1935. с. 7-67.

Общий список литературы/Reference List

1. Afanasenko OS, Mironenko NV, Filatova OA, Serenius M. [The structure of *Pyrenophora teres* f. *teres* populations from Leningrad region and Finland defined by their virulence]. Mykologiya i Fitopatologiya. 2007;41:261-8. (In Russ.)
2. Bulat SA, Mironenko NV. [Genetic differentiation of phytopathogenic fungus *Cochliobolus*

- sativus* (Ito and Kurib.) Drechsl. Ex Dastur (*Bipolaris sorokiniana* (Sacc.: Sorok.) Shoem.) detected by universally primed polymerase chain reaction UP-PCR technique: correlation with host-specificity]. *Genetika*. 1993;29:1295-301. (In Russ.)
3. Gulyaeva EI, Shaidayuk EL, Kazartsev IA, Aristova M. [The structure of Russian populations of *Puccinia triticina* Eriks]. *Vestnik Zashchity Rasteniy* 2015;3:5-10. (In Russ.)
4. Gulyaeva EI, Shaydayuk EL, Aristova MK, Kazartsev IA. [The structure of *Puccinia triticina* populations in the European regions of Russia]. *Vestnik Zashchity Rasteniy*. 2016;89(3):56-7. (In Russ.)
5. Gulyaeva EI, Aristova MK, Shaydayuk EL, Kazartsev IA. [Structure of Asian populations of *Puccinia triticina* for virulence and microsatellite markers]. *Mikologiya i Fitopatologiya* (in press). (In Russ.)
6. Kvitko KV. [Relative role of mutations and selection in microbial populations]. *Uspekhi Sovremennoy Genetiki* 1974;5:101-3. (In Russ.)
7. Levitin MM, Afanasenko OS. [The structure of populations of the causal agent on net blotch in barley defined by their virulence. III. The locality of populations]. *Mykologiya i Fitopatologiya*. 1980;14:130-2. (In Russ.)
8. Levitin MM, Petrova AN, Afanasenko OS. [Comparative studying of *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem. populations by their virulence]. *Mykologiya i Fitopatologiya*. 1985;19:154-7. (In Russ.)
9. Mironenko NV. [Advances in studying the genetic structure of phytopathogenic fungi populations]. *Uspekhi Sovremennoy Biologii*. 2004;124:234-45. (In Russ.)
10. Mikhailova LA. [The structure of populations of the causal agent of wheat brown rust. III. An assessment of the similarity between populations in CIS territory in 1988-1990]. *Mykologiya i Fitopatologiya*. 1995;29(3):45-51. (In Russ.)
11. Mikhailova LA. [The structure of populations of the causal agent of wheat brown rust in CIS territories V. Population areas and the direction of conidia migration]. *Mykologiya i Fitopatologiya*. 1996;30(4):84-90. (In Russ.)
12. Mikhailova LA, Vasiliev SV. [Populations areas of the causal agent of wheat brown rust]. *Mykologiya i Fitopatologiya*. 1985;19:158-63. (In Russ.)
13. Pechurkin NS. *Populatsionnaya Mikrobiologiya*. [Population Microbiology]. Novosibirsk: Nauka; 1978. (In Russ.)
14. Portyankin DE, Terekhova VA, Levitin MM. [Studying of population variability of the causal agent of flax fusariosis in Belarus]. *Mykologiya i Fitopatologiya*. 1988;22:362-8. (In Russ.)
15. Sanin SS. *Epifitotii Bolezney Zernovykh Kultur: Teoriya i Praktika*. Moscow: VNIIF; 2012. (In Russ.)
15. Stepanov KM. [Distribution of infectious diseases of plants by air currents]. In: *Trudy po Zashchite Rasteniy*. Leningrad-Moscow; 1935. p. 7-67. (In Russ.)
17. Adhikari TB, Ali S, Burlakoti RR, Singh PK, Mergoum M, Goodwin SB. Genetic structure of *Phaeosphaeria nodorum* populations in the North-Central and Midwestern United States. *Populat Biol*. 2008;98:101-7.
18. Afanasenko O. Investigations on populations of *Pyrenophora teres* f. *teres*, the cause of net blotch of barley. *J Russ Phytopathol Soc*. 2001;2:9-18.
19. Afanasenko OS, Hartleb H, Guseva NN, Minarikova V, Janosheva MA. A set of differential to characterize populations of *Pyrenophora teres* Drechs. for international use. *J Phytopathol*. 1995;143:501-7.
20. Banke S, McDonald BA. Migration patterns among global populations of the pathogenic fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Molec Ecol*. 2005;14:1881-96.
21. Bolton MD, Kolmer JA, Garvin DF. Wheat leaf rust caused by *Puccinia triticina*. *Molec Plant Pathol*. 2008;9:563-75.
22. Chen RS, McDonald BA. Sexual reproduction plays a major role in the genetic structure of populations of the fungus *Mycosphaerella graminicola*. *Genetics*. 1996;142:1119-27.
23. Duan X, Enjalbert J, Vautrin D, Solignac C, Giraut T. Isolation of 12 microsatellite loci, using an enrichment protocol, in the phytopathogenic fungus *Puccinia triticina*. *Mol Ecol Notes*. 2003;3:65-7.
24. Ellegren H. Microsatellites: simple sequences with complex evolution. *Nat Rev Genets*. 2004; 5:435-45.
25. Ellegren C, Zhan J, McDonald BA. Population structure of *Mycosphaerella graminicola* from lesions to continents. *Phytopathology*. 2002;92:946-55.
26. Gulyaeva EI, Dmitriev AP, Kosman E. Regional diversity of Russian populations of *Puccinia triticina* in 2007. *Can J Plant Pathol*. 2012;34:213-24.
27. Kingman JFC. *The coalescent. Stochastic Processes and Their Applications*. 1982;13:235-46.
28. Kolmer JA. Molecular polymorphism and virulence phenotypes of the wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina* in Canada. *Can J Bot*. 2001;79:917-26.
29. Kolmer JA, Liu JQ. Virulence and molecular polymorphism in international collections of the wheat leaf rust fungus *Puccinia triticina*. *Phytopathology*. 2000;90:427-36.
30. Kolmer JA, Liu JQ, Siem M. Virulence and molecular polymorphism in *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* in Canada. *Phytopathology*. 1995;85:276-85.
31. Kolmer JA, Ordoñez ME. Genetic differentiation of *Puccinia triticina* populations in Central Asia and the Caucasus. *Phytopathology*. 2007;97:1141-9.
32. Kolmer J, Ordoñez M, Kun X, Fox A, Acevedo M. Genetic Differentiation and Migration in Worldwide Populations of the Wheat Leaf Rust Fungus, *Puccinia triticina*. 14th International Cereal Rusts and Powdery Mildews Conference 2015, p. 21 (www.emcrf.au.dk/icrPMC2015).
33. Meng J-W, Zhu W, He M-H, E-J Wu, G-H Duan, Y-K Xie, Y-J Jin, L-N Yang, L-P Shang, J Zhan. Population genetic analysis reveals cryptic sex in the phytopathogenic fungus *Alternaria alternata*. *Sci Rep*. 2015. DOI: 10.1038/srep18250.

34. Mironenko NV, Bulat SA. Genetic structure of *Cochliobolus sativus* (*Bipolaris sorokiniana*) populations isolated from different hosts as revealed by UP-PCR (RAPD-like) technique. J Russ Phytopathol Soc. 2001;2:25-30.

35. Mikhailova LA, Gulyaeva EI, Walter U, Kophanke D. An attempt to review *Puccinia recondita* f. sp. *tritici* populations in Western and Eastern Europe together with the Asian part of Russia. J Russ Phytopathol Soc. 2002;3:1-6.

36. Ordoñez ME, German SE, Kolmer JA. Genetic differentiation within the *Puccinia triticina* population in South America and comparison with the north American population suggest common ancestry and intercontinental migration. Phytopathology. 2010;100:376-83.

37. Park RF, Burdon JJ, McIntosh RA. Studies of the origin, spread, and evolution of an important group of *Puccinia recondita* f.sp.*tritici* pathotypes in Australia. Eur Plant Pathol. 1995;101:613-22.

38. Park RF, Felsenstein FG. Physiological specialization and pathotype distribution of *Puccinia recondita* in Western Europe, 1995. Plant Pathol. 1998;47:157-64.

39. Park RF, Jahoor A, Felsenstein FG. Population structure of *Puccinia recondita* in western Europe during 1995, as assessed by variability in pathogenicity and molecular markers. J Phytopathol. 2000;148:169-79.

40. Pretorius ZA, Visser B, Terefe T, Herselman L, Prins R, Soko T, Siwale J, Mutari B, Selinga TI, Hodson DP. Races of *Puccinia triticina* detected on wheat in Zimbabwe, Zambia and Malawi and regional germplasm responses. Australian Plant Pathol. 2015;44:217-34.

41. Serenius M, Manninen O, Wallwork H, Williams K. Genetic differentiation in *Pyrenophora teres* populations measured with AFLP markers. Mycol Res. 2007;111: 213-23.

42. Serenius M, Mironenko N, Manninen O. Genetic variation, occurrence of mating types and different forms of *Pyrenophora teres* causing net blotch of barley in Finland. Mycol Res. 2005;109:809-17.

43. Stukenbrock EH, Banke S, McDonald BA. Global migration patterns in the fungal wheat pathogen *Phaeosphaeria nodorum*. Molec Ecol. 2006;15:2895-904.

44. Szabo LS, Kolmer JA. Development of simple sequence repeat markers for the plant pathogenic rust fungus *Puccinia triticina*. Mol Ecol Notes. 2007;7: 708-10.

