

УДК: 632.4.01/.08

DOI 10.18286/1816-4501-2022-3-122-127

## ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *PYRENOPHORA TERES* DRECHSLER

**Волкова Галина Владимировна**<sup>1</sup>, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник, руководитель лаборатории иммунитета растений к болезням, заместитель директора по развитию и координации научно-исследовательской работы

**Яхник Яна Викторовна**<sup>1</sup>, аспирант, младший научный сотрудник лаборатории иммунитета растений к болезням

**Кремнева Оксана Юрьевна**<sup>1</sup>, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, заведующая лабораторией фитосанитарного мониторинга агроэкосистем

**Мерзликина Екатерина Николаевна**<sup>2</sup>, студентка Кубанского государственного университета

<sup>1</sup>ФГБНУ Федеральный научный центр биологической защиты растений

350039, г. Краснодар, п/о 39, ВНИИБЗР

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Кубанский государственный университет»

350040, г. Краснодар, ул. Ставропольская, 149

**Ключевые слова:** условия культивирования *Pyrenophorateres*, овощные питательные среды, агрессивность фитопатогена, искусственный инфекционный фон.

Сетчатая пятнистость (*PyrenophorateresDrechsleri*) является доминантом в патогенном комплексе листовых заболеваний ячменя во всем мире. Исследование различных методов борьбы с гембиотрофным грибом предполагает тщательную подготовку и наработку достаточного количества патогенного инокулюма. Целью нашего исследования являлся подбор оптимальной питательной среды для получения инокулюма *P. teres* с максимальными параметрами агрессивности (скоростью роста колоний, споруляцией, коротким латентным периодом) и эргономичностью в приготовлении. Было использовано три питательные среды: морковно-свекольный агар (МСА), картофельно-глюкозный агар (КГА), среда Чапека при стандартных методах и условиях культивирования. Выборка состояла из 10 изолятов для каждой питательной среды и имела статистически значимые различия между опытными вариантами. Выявлено, что на 6 сутки оптимальное сочетание показателей скорость роста ( $5,3 \pm 0,5$  мм/сут.), диаметр колоний ( $53,4 \pm 1,1$  мм), латентный период (4 сут.), интенсивность споруляции (4100 конидий в 1 мл) наблюдается при культивировании изолятов *P. teres* на морковно-свекольном агаре. При культивировании гриба на картофельно-глюкозном агаре выявлены достаточно высокие показатели по скорости роста ( $5,2 \pm 0,8$  мм/сут.), диаметру колоний ( $52,0 \pm 2,9$  мм), интенсивности споруляции (3700 конидий в 1 мл), латентный период наблюдался наиболее продолжительным среди исследуемых вариантов, первая споруляция была выявлена на 6 сутки. При использовании стандартной среды Чапека были выявлены минимальные показатели агрессивности изолятов *P. Teres* (скорость роста –  $3,2 \pm 0,3$  мм/сут.; диаметр колоний –  $31,6 \pm 1,9$  мм; латентный период – на 4 сутки в 1 чашке выявлены споры; интенсивность споруляции – 500 конидий в 1 мл). Отмечено, что на морковно-свекольном агаре представлен больший диапазон морфологических типов колоний, включая морфотипы изолятов, растущих на других средах. Практически все опытные варианты, культивируемые на среде МСА, обладали четким структурированным мицелием с темным окрасом, что свидетельствует о достаточной доступности питательных веществ в культуральной среде. Для получения инокулюма *P. teres* с максимальными параметрами агрессивности и низкими трудозатратами при стандартных методах культивирования целесообразно применять морковно-свекольный агар.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках научного проекта НАСТАВНИК-21.1/48.

## Введение

Сетчатая пятнистость, вызываемая аскомицетом *Pyrenophorateres Drechsler* (анаморфная стадия *Drechslerateres* (Sacc.) Shoem), является наиболее распространенным заболеванием во всех регионах производственного возделывания ячменя (*Hordeum vulgare* L.) [1]. Характерный для патогена сетчатый рисунок, а также округлые некрозы, окруженные хлорозами, значительно снижают фотосинтетическую поверхность листьев, индуцируют токсинообразование, что вызывает потери урожая до 40% и снижение качества зерна [2]. Для производственных посевов производится подбор наиболее устойчивых сортов, характеризующихся наименьшими видимыми поражениями листьев, ограниченным ростом гриба на инфицированной ткани листа и повышенной выработкой противогрибковых препаратов листьями ячменя [1]. Иммунологическая оценка сортов относительно патогенного комплекса осуществляется на нескольких уровнях – вегетационный опыт в контролируемых условиях осуществляется для оценки устойчивости на ювенильной стадии растения, в полевом опыте происходит оценка устойчивости к патогену в естественных условиях в стадии взрослого растения. Все этапы исследования предполагают необходимость использования максимально жесткого искусственного инфекционного фона, созданного из популяции патогена определенной агроклиматической зоны.

Подготовка инокулюма является важным этапом проведения иммунологической оценки сортов ячменя. Для подготовки патогенного биоматериала используется спорово-мицелиальная суспензия чистой культуры *P. teres*, которой проводят инокуляцию как в полевых, так и в лабораторно-вегетационных условиях. Одним из основных факторов при размножении и подготовке инокулята является подбор питательной среды. Несмотря на различную интенсивность роста мицелия, практически на всех основных питательных средах для микромицетов для инициации интенсивного спорообразования необходим тщательный подбор состава среды.

Исследователями из Беларуси установлено, что оптимальной средой для культивирования возбудителя сетчатой пятнистости ячменя является модифицированная среда Чапека ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 0,5 г,  $\text{MgSO}_4$  – 0,5 г,  $\text{KCl}$  – 0,5 г, мочевины – 1,2 г, лактоза – 20 г.) и питательная среда на основе 4-х натуральных соков – V4 с началом спороношения на 10-14 сутки [3]. Авторами из

Саудовской Аравии было отмечено отсутствие статистически значимой разницы между ростом колоний на картофельно-декстрозном агаре (далее – PDA), овсяном агаре, агаре с морковной мукой [4]. При работе с чистой культурой *P. teres* зарубежные исследователи часто используют PDA [5], российские исследователи – модифицированную среду Чапека и овощную среду V-8 [6]. При работе с чистой культурой возбудителя желтой пятнистости пшеницы (*Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) Drechs.), относящейся так же, как и *P. teres*, к роду *Helminthosporium*, российские исследователи традиционно используют овощные среды V-8 и V-4, зарубежные исследователи – PDA либо смесь PDA и V-4/V-8 [7, 8, 9]. Стоит отметить, что в исследованиях отсутствует корреляция между скоростью роста колоний и споруляцией на различных питательных средах, в то же время отмечена обратная корреляция между скоростью колоний *P. teres* и интенсивностью споруляции [10, 11]. Таким образом, подбор соответствующей питательной среды для размножения гембиотрофного гриба с максимальными параметрами агрессивности, такими как рост колоний, интенсивность споруляции, короткий латентный период является важным этапом при подготовке инокулюма для создания жесткого искусственного инфекционного фона.

Цель исследования – определение и изучение питательной среды, оптимальной для получения инокулюма *P. teres* с максимальными параметрами агрессивности (скоростью роста колоний, споруляцией, коротким латентным периодом) и эргономичностью в приготовлении.

## Материалы и методы исследований

Инфекционный материал отбирали на естественном инфекционном фоне полевого стационара Федерального научного центра биологической защиты растений (ФГБНУ ФНЦБЗР) г. Краснодара в апреле 2021 года с использованием материально-технической базы УНУ «Фитотрон для выделения, идентификации, изучения и поддержания рас, штаммов, фенотипов патогенов» (<http://ckp-rf.ru/usu/> №671925) и объектов БРК ФГБНУ ФНЦБЗР «Государственная коллекция энтомоакарифагов и микроорганизмов» (регистрационный номер УНУ: 671925). Один изолят был отобран с одного листа. С растения было использовано не более двух листьев. После сушки при 20°C с листьев вырезали пятна (5×10 мм), поверхность дезинфицировали 1%-ным раствором гипохлорита натрия в течение 2 мин, затем 3 раза промывали стерильной водой в течение 2 минут и сушили на стерилизованной

фильтровальной бумаге. Дезинфицированные участки растений помещали на морковно-свекольный агар (далее – МСА) и инкубировали в течение 5 дней при температуре 23 °С под ультрафиолетовыми лампами (30 Вт UVB 280-315 нм)[8, 12]. Через 5 дней чашки на 20 часов помещали в холодильную камеру (+4 °С), затем одну конидию из одного пятна стерильной иглой переносили в чашку со средой. Было использовано 3 питательные среды: картофельно-глюкозный агар (отвар 200 г картофеля, 20 г глюкозы, 20 г агара на 1 литр воды), среда Чапека (30 г сахарозы, 3 г натрия азотнокислого, 1 г калия фосфорнокислого однозамещенного, 0,5 г магния сернокислого, 0,5 г калия хлористого, 0,01 г железа сернокислого закисного, 20 г агара на 1 литр воды) и морковно-свекольный агар (120 мл свеклы, 120 мл моркови, 20 г агара на 1 литр воды).

Агрессивность возбудителя определяли с помощью параметров: скорости роста колоний и интенсивности споруляции. Также учитывали латентный период – начало спорообразования. Для эксперимента использовали по 10 изолятов гриба для каждой питательной среды. Скорость роста патогена определяли путем переноса мицелиальных дисков на агар и инкубирования в течение 8 дней под УФ лампами при температуре 23°С [13]. Учет проводили на 4,6,8 сутки. Интенсивность споруляции изолятов изучали путем переноса и последующей инкубацией в чашках Петри с агаром в течение 10 дней под УФ лампами, морфотипы колоний *P. teres* учитывали на 10 сутки [10].

Статистический анализ. Статистическое различие выборок оценивали с помощью критерия Фишера при уровне значимости  $\alpha=0,05$ .

#### Результаты исследований

Радиальная скорость роста колоний и диаметр колоний являются одними из основных маркеров агрессивности, которые учитываются в работе с чистыми культурами микромицетов. Наименьший рост колоний на 4 сутки наблюдался у изолятов, растущих на среде Чапека (рис. 1). Скорость роста колоний на КГА была больше в 1,4 раза, на МСА – в 1,6 раза. На 8 сутки исследования также была выявлена значительная разница между скоростью роста колоний – на КГА изоляты росли в 1,7 раза больше в сравнении со средой Чапека, на МСА – в 1,6 раза. Выявлена статистически значимая разница между ростом изолятов на всех средах (КГА/МСА –  $F_{5,3} < F_{\alpha,14,0}$ ; МСА/Чапек –  $F_{5,3} < F_{\alpha,40,4}$ ; КГА/Чапек –  $F_{5,3} < F_{\alpha,142,2}$ ).

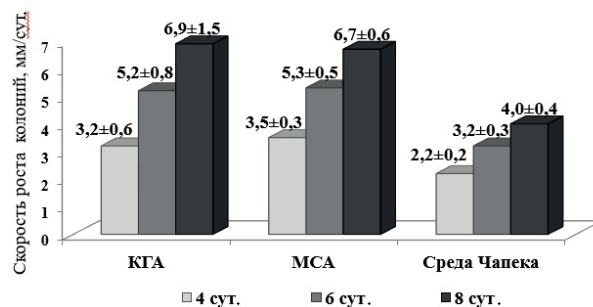


Рис. 1 – Радиальная скорость роста колоний *P. teres* на различных видах питательных сред, мм/сут

Учёт диаметра колоний на 4 сутки исследования выявил, что наименьшее значение наблюдалось у изолятов, растущих на среде Чапека (рис.2). Диаметр колоний на среде МСА превысил диаметр колоний на среде Чапека в 1,6 раза, диаметр колоний на среде КГА – в 1,4 раза. На 8 сутки был выявлен максимальный радиальный рост колоний среди исследуемых вариантов на среде КГА (в 1,7 раза в сравнении с колониями, растущими на среде Чапека), диаметр колоний МСА превысил минимальное значение в 1,6 раза. При учете диаметра колоний на 8 сутки не выявлена статистически достоверная разница между КГА и МСА ( $F_{5,3} > F_{\alpha,3,6}$ ), при попарном сравнительном анализе остальных данных разница выявлена (МСА/Чапек –  $F_{5,3} < F_{\alpha,73,2}$ ; КГА/Чапек –  $F_{5,3} < F_{\alpha,9,8}$ ).

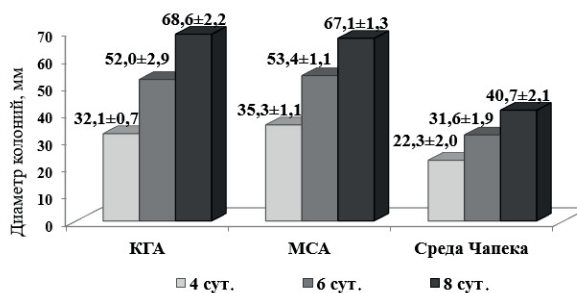


Рис. 2 – Диаметр колоний *P. teres* на различных видах питательных сред, мм

Образование конидионосцев у *P. tritici-repentis*, стимулирует ультрафиолет, а образование конидий – понижение температуры[11]. Аналогичные условия культивирования описаны практически во всех стандартных методиках для стимуляции спорообразования микромицетов рода *Helminthosporium* перед проведением искусственной инокуляции. Отличием спорообразования *P. teres* является продуцирование конидий без понижения температуры. Таким

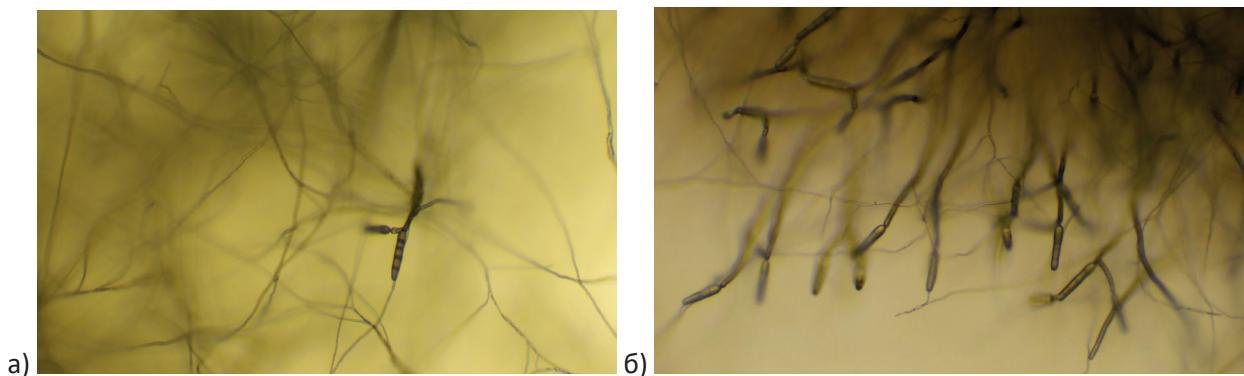


Рис. 3 – Начало спорообразования на концах конидиеносцев в чистой культуре *Pyrenophora teres*, ФГБНУ ФНЦБЗР, 2022 г. (ориг.)

образом, на 4 сутки было выявлено начало спорообразования на агаровой среде Чапека в одной из 10 чашек и в 4 чашках с МСА (рис.3). Первые споры на среде КГА выявлены в одной чашке на 6 сутки. При учете на 10 сутки культивирования было выявлено, что максимальное спорообразование наблюдается на среде МСА –  $4,1 \pm 1,0 \cdot 10^3$  конидий/мл. На среде КГА этот показатель составил  $3,7 \pm 0,8 \cdot 10^3$  конидий/мл, минимальное значение было выявлено на среде Чапека – из 10 чашек конидии были обнаружены на 6 опытных вариантах, в среднем выявлено  $0,5 \pm 0,3 \cdot 10^3$  конидий/мл.

На питательных средах всех опытных вариантов всего выделено 6 морфотипов колоний (рис. 4). Наибольшим разнообразием морфологических типов мицелия обладали изоляты, культивируемые на МСА: WgT (30,0%), BG (20,0%), DgBT (20,0%), BgT (20,0%), BT (10,0%). Изоляты, культивируемые на среде КГА, отличались меньшим разнообразием, было отмечено всего два морфотипа: BgT(60,0%), WgT(40,0%). Для изолятов, культивируемых на среде Чапека, был характерен смешанный морфологический тип BG/DgBT.

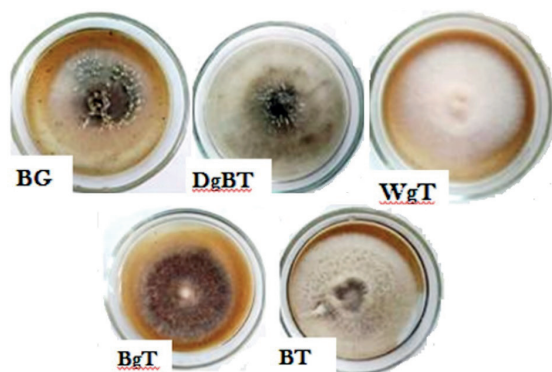


Рис. 4 – Колонии изолятов *P. teres* с различными морфологическими типами (оригинал), ФГБНУ ФНЦБЗР, 2022 г

### Обсуждение

Критериями агрессивности, т.е. количественными признаками патогенности, являются скорость распространения патологического процесса по тканям растений, число инфекционных единиц и интенсивность спороношения. Используя для культивирования синтетическую среду Чапека, была выявлена наименьшая скорость роста колоний патогена –  $2,2 \pm 0,2 / 4,0 \pm 0,4$  (4/8 сутки). Большой скоростью роста обладали изоляты, растущие на овощных агарах, – от  $3,2 \pm 0,6 / 6,9 \pm 1,5$  (4/8 сутки)(КГА) до  $3,5 \pm 0,3 / 6,7 \pm 0,6$  (4/8 сутки)(МСА). На 8 сутки скорость роста на МСА замедлилась, на КГА изоляты росли быстрее. Высокий рост колоний на среде КГА и отсутствие споруляции были отмечены в исследованиях белорусских ученых, изучающих условия культивирования *P. tritici-repentis* [11]. В наших исследованиях у изолятов *P. Teres* выявлены высокие темпы роста и споруляции на КГА и на МСА. Латентный период до первой споруляции составил 4 суток на средах Чапека (1 чашка) и МСА (4 чашки), на среде КГА споруляция началась на 6 сутки. Исследователи из Казахстана отметили, что при культивировании на модифицированной среде Чапека изоляты с меньшим диаметром колоний обильнее спорулируют в сравнении с изолятами, обладающими высокими темпами роста [10]. Таким образом, было определено, что оптимальное сочетание показателей латентный период/темпы роста/интенсивность споруляции наблюдается при культивировании изолятов *P. teres* на среде МСА.

Выявлено, что на МСА представлено большее разнообразие морфологических типов колоний среди опытных вариантов, так как морфотипы колоний КГА и среды Чапека выявлены среди колоний, растущих на МСА. Согласно ис-

следованиям Backes и соавторов, формирование перистых белых структур гриба свидетельствует о нехватке питательных ресурсов [14]. Также данная структура характеризуется отсутствием спор вследствие недоступности питательных веществ в культуральной среде. Колонии, растущие на среде Чапека, характеризуются наличием белого пушистого мицелия, на КГА колонии более структурированы и приобретают более темный оттенок ввиду наличия достаточного количества конидий. Практически все опытные варианты, культивируемые на среде МСА, обладали четким структурированным мицелием с темным окрасом.

#### Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что для создания искусственного инфекционного фона возбудителя сетчатой пятнистости ячменя оптимальным является использование МСА для культивирования чистой культуры *P. teres* по показателям агрессивности (скорость роста –  $5,3 \pm 0,5$  мм/сут.; диаметр колоний –  $53,4 \pm 1,1$  мм; латентный период – споруляция на 4 сутки; интенсивность споруляции –  $4,1 \cdot 10^3$  конидий в 1 мл) и по морфолого-культурным показателям (представлен большой диапазон морфологических типов колоний, включая морфотипы изолятов, растущих на других средах).

#### Библиографический список

1. Backes, A. *Pyrenophorateres*: taxonomy, morphology, interaction with barley, and mode of control / A.Backes, G. Guerriero, E. AitBarka, C. Jacquard //Frontiers in Plant Science. – 2021. – № 12. – С. 614951.
2. Abebe, W. Barley Net Blotch Disease Management: A Review / W. Abebe // International Journal of Environmental and Agriculture Research. – 2021. – № 7(9). –Р. 69-81.
3. Суцевич, Ю. А. Изучение биологического разнообразия и особенностей культивирования возбудителя сетчатой пятнистости ячменя *Pyrenophorateres f. teres* Drechsler в Республике Беларусь /Ю.А. Суцевич, Ю.К. Шашко//Земледелие и растениеводство. – 2022. – №. 2. – С. 28–30.
4. Ben Alaya, A. *Pyrenophorateres* growth and severity of net blotch on barley under salt stress / A.Ben Alaya, F.Rabhi, K.Hessini, N.Djebali// European Journal of Plant Pathology. – 2021. –№161(3). – P. 709–722.
5. AhmedLhadj, W. Geneticdiversityof *Pyrenophorateres*inAlgeria / W.Ahmed Lhadj, K.Boungab, F.RighiAssia, A.CelikOguz,A.Karakaya, F.Olmez//JPlantPathology. – 2022. – № 104. – P. 305–315.
6. Rozanova, I.V.SNPs associated with barley resistance to isolates of *Pyrenophorateres f. teres* / I. V.Rozanova, N. M.Lashina, Z. S.Mustafin, S. A.Gorobets, V. M.Efimov, O. S.Afanasenko, E. K. Khlestkina// BMC Genomics 20. – 2019. – P. 292.
7. Мироненко, Н. В.Характеристика географически отдаленных популяций *Pyrenophoratrifici-repentis* по вирулентности и генам токсинообразованияToxA и ToxB / Н. В.Мироненко, Н. М.Коваленко, О. А.Баранова // Вестник защиты растений. – 2019. – №. 1 (99). – С. 24-29.
8. Kremneva, O. Y. The dynamics of the race structure of *Pyrenophoratrifici-repentis* in the North Caucasus region / O. Y.Kremneva, G. V.Volkova, N. M.Kovalenko // Mikologiya I Fitopatologiya. – 2019. – № 53(4). –С. 246–253.
9. See, P. T.Evaluation of *Pyrenophoratrifici-repentis* Infection of Wheat Heads / P. T.See, N. Schultz, C. S.Moffat//Agriculture. – 2020. – Т. 10. – №. 9. – P. 417.
10. Пахратдинова, Ж.У. Морфолого-культуральные признаки изолятов *Pyrenophorateres*, выделенных из казахстанской и Омской популяций гриба / Ж.У. Пахратдинова, Н.Т. Амирханова, А.С. Рсалиев // ВестникКрасГАУ. – 2017. – №12. – С.150-158.
11. Подорский, М. В. Желтая пятнистость пшеницы *Pyrenophoratrifici-repentis* в Беларуси: идентификация, выделение, культивирование на искусственных питательных средах / М. В. Подорский, Ю. К. Шашко, М. Н. Шашко // Земледелие и селекция в Беларуси. – 2022. – №. 52. – С. 119–124.
12. Novakazi, F. Genetic analysis of a worldwide barley collection for resistance to net form of net blotch disease (*Pyrenophorateres f. teres*) / F. Novakazi, O. Afanasenko, A. Anisimova, G. J. Platz, R. Snowdon, O. Kovaleva, F. Ordon // TheorAppl Genet. – 2019. –№ 132. – С. 2633–2650.
13. Asaturova, A. Efficacy of New Local Bacterial Agents against *Pyrenophoratrifici-repentis* in Kuban Region, Russia / A.Asaturova, N.Zhevnova, N.Tomashevich, M.Pavlova, O.Kremneva, G.Volkova, N.Sidorov//Agronomy. – 2022. – № 12(2). –С. 373.
14. Backes, A.Expression Analysis of Cell Wall-Related Genes in the Plant Pathogenic Fungus *Drechslerateres* / A. Backes, J. Hausman, J. Renaut, E. AitBarka, C. Jacquard, G. Guerriero // Genes. – 2020. – № 11. – P. 300.

## SELECTION OF APPROPRIATE NUTRIENT MEDIUM FOR CULTIVATION OF PYRENOPHORA TERES DRECHSLER

Volkova G. V.<sup>1</sup>, Yakhnik Ya. V.<sup>1</sup>, Kremneva O. Yu.<sup>1</sup>, Merzlikina E. N.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> FSBSI Federal Scientific Center of Biological Plant Protection

350039, Krasnodar, p/o 39, VNIIBZR

<sup>2</sup> Kuban State University

350040, Krasnodar, Stavropolskaya st., 149

**Key words:** *Pyrenophora teres* cultivation conditions, vegetable nutrient media, phytopathogen aggressiveness, artificial infectious background.

Net blotch (*Pyrenophora teres* Drechsler) is the dominant pathogenic complex of barley leaf diseases worldwide. The study of various methods of controlling hemibiotrophic fungus requires careful preparation and development of a sufficient amount of pathogenic inoculum. The aim of our research was to select appropriate nutrient medium for obtaining *P. teres* inoculum with maximum aggressiveness parameters (colony growth rate, sporulation, short latency period) and ergonomics in preparation. Three nutrient media were used: carrot-beet agar (CBA), potato-glucose agar (PGA), Czapek's medium for standard methods and cultivation conditions. The selection consisted of 10 isolates for each nutrient medium and had statistically significant differences among the experimental variants. It was found that appropriate combination of parameters such as growth rate ( $5.3 \pm 0.5$  mm/day), colony diameter ( $53.4 \pm 1.1$  mm), latent period (4 days), sporulation intensity (4100 conidia in 1 ml) was observed in case of cultivation of *P. teres* isolates on carrot-beet agar on the 6th day. When cultivating the fungus on potato-glucose agar, rather high growth rates ( $5.2 \pm 0.8$  mm/day), colony diameter ( $52.0 \pm 2.9$  mm), sporulation intensity (3700 conidia per 1 ml) were revealed, the latent period was the longest among the studied variants, the first sporulation was detected on the 6th day. In case of usage of the standard Czapek medium, the minimum aggressiveness of *P. teres* isolates was revealed (growth rate -  $3.2 \pm 0.3$  mm/day; colony diameter -  $31.6 \pm 1.9$  mm; latent period - spores were revealed on the 4th day in 1 cup; the intensity of sporulation was 500 conidia per 1 ml). It was noted that there is a larger range of morphological types of colonies on carrot-beet agar, including morphotypes of isolates which grow on other media. Almost all experimental variants cultivated on CBA medium had a clear structured mycelium with a dark color, which indicates a sufficient availability of nutrients in the culture medium. Thus, it is reasonable to use carrot-beet agar in order to obtain *P. teres* inoculum with maximum aggressiveness parameters and low labor costs when using standard cultivation methods.

### Bibliography:

1. Backes, A. *Pyrenophora teres*: taxonomy, morphology, interaction with barley, and mode of control / A. Backes, G. Guerriero, E. Ait Barka, C. Jacquard // *Frontiers in Plant Science*. - 2021. - № 12. - P. 614951.
2. Abebe, W. Barley Net Blotch Disease Management: A Review / W. Abebe // *International Journal of Environmental and Agriculture Research*. - 2021. - № 7(9). - P. 69-81.
3. Sushchevich, Yu. A. Study of biological diversity and cultivation characteristics of *Pyrenophora teres* f. *teres* Drechsler barley net blotch pathogen in the Republic of Belarus / Yu. A. Sushchevich, Yu. K. Shashko // *Agriculture and crop production*. - 2022. - № 2. - P. 28-30.
4. Ben Alaya, A. *Pyrenophora teres* growth and severity of net blotch on barley under salt stress / A. Ben Alaya, F. Rabhi, K. Hessini, N. Djebali // *European Journal of Plant Pathology*. - 2021. - № 161(3). - P. 709-722.
5. Ahmed Lhadj, W. Genetic diversity of *Pyrenophora teres* in Algeria / W. Ahmed Lhadj, K. Boungab, F. Righi Assia, A. Celik Oguz, A. Karakaya, F. Olmez // *J Plant Pathology*. - 2022. - № 104. - P. 305-315.
6. Rozanova, I.V. SNPs associated with barley resistance to isolates of *Pyrenophora teres* f. *teres* / I. V. Rozanova, N. M. Lashina, Z. S. Mustafin, S. A. Gorobets, V. M. Efimov, O. S. Afanasenko, E. K. Khlestkina // *BMC Genomics* 20. - 2019. - P. 292.
7. Mironenko, N. V. Characteristics of geographically distant populations of *Pyrenophora tritici-repentis* by virulence and toxin-producing genes *ToxA* and *ToxB* / N. V. Mironenko, N. M. Kovalenko, O. A. Baranova // *Vestnik of Plant Protection*. - 2019. - № 1 (99). - P. 24-29.
8. Kremneva, O. Y. The dynamics of the race structure of *Pyrenophora tritici-repentis* in the North Caucasus region / O. Y. Kremneva, G. V. Volkova, N. M. Kovalenko // *Mikologiya i Fitopatologiya*. - 2019. - № 53(4). - P. 246-253.
9. See, P. T. Evaluation of *Pyrenophora tritici-repentis* Infection of Wheat Heads / P. T. See, N. Schultz, C. S. Moffat // *Agriculture*. - 2020. - V. 10. - № 9. - P. 417.
10. Pakhratdinova, Zh. U. Morphological and cultural features of *Pyrenophora teres* isolates isolated from Kazakhstan and Omsk populations of the fungus / Zh. U. Pakhratdinova, N. T. Amirhanova, A. S. Rsaliev // *Vestnik of KrasSAU*. - 2017. - № 12. - P. 150-158.
11. Podorskiy, M. V. Yellow spot of wheat *Pyrenophora tritici-repentis* in Belarus: identification, isolation, cultivation on artificial nutrient media / M. V. Podorskiy, Yu. K. Shashko, M. N. Shashko // *Agriculture and selection in Belarus*. - 2022. - № 52. - P. 119-124.
12. Novakazi, F. Genetic analysis of a worldwide barley collection for resistance to net form of net blotch disease (*Pyrenophora teres* f. *teres*) / F. Novakazi, O. Afanasenko, A. Anisimova, G. J. Platz, R. Snowdon, O. Kovaleva, F. Ordon // *Theor Appl Genet*. - 2019. - № 132. - P. 2633-2650.
13. Asaturova, A. Efficacy of New Local Bacterial Agents against *Pyrenophora tritici-repentis* in Kuban Region, Russia / A. Asaturova, N. Zhevnova, N. Tomashevich, M. Pavlova, O. Kremneva, G. Volkova, N. Sidorov // *Agronomy*. - 2022. - № 12(2). - P. 373.
14. Backes, A. Expression Analysis of Cell Wall-Related Genes in the Plant Pathogenic Fungus *Drechslera teres* / A. Backes, J. Hausman, J. Renaut, E. Ait Barka, C. Jacquard, G. Guerriero // *Genes*. - 2020. - № 11. - P. 300.