

УДК 633.11:632.938

## РЕВИЗИЯ ТЕОРИИ ФЛОРА – “ГЕН-НА-ГЕН” – ДЛЯ ФЕНОМЕНОВ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ПРОРОСТКОВ ЗЕРНОВЫХ КУЛЬТУР С ВОЗБУДИТЕЛЯМИ РЖАВЧИН

© 2021 г. М. А. Колесова<sup>1</sup>, А. А. Зуева<sup>2</sup>, Л. Г. Тырышкин<sup>1,2,\*</sup>

Представлено академиком РАН В.А. Драгавцевым

Поступило 14.09.2020 г.

После доработки 18.09.2020 г.

Принято к публикации 18.09.2020 г.

Монопустульными изолятами возбудителей ржавчин пшеницы, овса и ячменя, размноженными в различных условиях среды, заразили экспериментальные образцы этих культур. Различия в типах реакции на заражение одного генотипа растения одним генотипом патогена, размноженным при разных температурах, а также в присутствии хлористого калия, аммиачной селитры и гидразида малеиновой кислоты, указывают на невозможность объяснения феноменов взаимодействия растение-патоген в рамках классической теории Флора “ген-на-ген”. Каждому гену устойчивости хозяина соответствуют несколько комплементарных ему генов вирулентности, либо несколько различных аллелей одного гена вирулентности.

*Ключевые слова:* зерновые культуры, возбудители ржавчин, взаимодействие, ген-на-ген

**DOI:** 10.31857/S2686738921010121

“Flor’s enunciation of his gene-for-gene hypothesis was one of the really important events in the history of plant pathology” (Разработка Флором гипотезы “ген-на-ген” было одним из действительно важных событий в фитопатологии).

*Van der Plank [1].*

Consideration of the gene-for gene relationship that he (Flor) proposed leads to two fundamental rules which parallel the basic rules of genetics formulated by Mendel in the 19<sup>th</sup> century (Обсуждение предложенного Флором взаимодействия “ген-на-ген” привело к 2 фундаментальным законам, аналогичным основным законам генетики, предложенным Менделем в 19 веке).

*McIntosh et al. [2].*

Теория Г. Флора “ген-на-ген” (1956 г.) является фундаментальным представлением о генетиче-

ских основах взаимодействия растений с вредными организмами в случае расоспецифической устойчивости. Согласно классическому варианту этой теории выдвинуты три Положения: 1) для каждого гена устойчивости растения у патогена существует только один строго ему комплементарный ген вирулентности; 2) если в системе взаимодействия генотип растения – генотип патогена хотя бы одному аллелю устойчивости противостоит комплементарный аллель авирулентности, то фенотипически наблюдается устойчивость хозяина (авирулентность патогена); 3) если каждому аллелю устойчивости противостоит комплементарный аллель вирулентности, наблюдается восприимчивость растения (вирулентность паразита) [3, 4]. Данное представление доказано для многих систем взаимодействия путем параллельного изучения наследования устойчивости растений к изолятам возбудителей и вирулентности генотипов грибов к растениям-хозяевам, в том числе и для систем взаимодействия злаки – возбудители ржавчинных болезней [5–7]. Отметим, что иногда в системе взаимодействия пшеницы с возбудителями ржавчин наблюдали случаи несовпадения числа генов, контролирующей устойчивость хозяина и вирулентность патогена [8–10], что, однако, могло быть связано с тесным сцеплением нескольких генов устойчивости (по результатам гибридологического анализа посту-

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Самарский научно-исследовательский институт сельского хозяйства имени Н.М. Тулайкова – филиал Федерального государственного бюджетного учреждения науки Самарского федерального исследовательского центра Российской академии наук Самарская обл., Безенчук, Россия

\*e-mail: tyryshkinlev@rambler.ru

**Таблица 1.** Типы реакции изогенных линий пшеницы с генами устойчивости к листовой ржавчине *Lr* (leaf rust) на заражение клонами *P. triticina* при их размножении в разных условиях

Клон размножен на	<i>Lr</i> ген				
	1	2a	20	23	26
Клон 1					
Вода	3	3	3	3	3
Хлористый калий/KCl	3	3	3	3	3
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0	3	0	0	0
ГМК	3	3	3	3	3
Вода, 28°C	3	0	3	3	3
Клон 2					
Вода	3	3	3	0	3
Хлористый калий/KCl	3	3	3	0	3
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	3	0	3	0	3
ГМК	3	3	3	3	3
Вода, 28°C	0	3	0	0	0
Клон 3					
Вода	0	0	0	3	0
Хлористый калий/KCl	3	0	3	3	0
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0	0	0	3	0
ГМК	0	3	0	3	0
Вода, 28°C	0	0	0	0	0
Клон 4					
Вода	0	0	0	0	0
Хлористый калий/KCl	0	3	0	3	3
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0	0	0	0	0
ГМК	3	0	3	0	0
Вода, 28°C	0	0	0	0	0

лируется наличие одного гена, а фактически их несколько).

В нашей работе при изучении системы пшеница – изоляты *Puccinia triticina* Erics. показано, что данные по взаимодействию взрослых растений с патогеном не могут быть объяснены классическим взаимоотношением ген-на-ген [11]. В настоящей работе мы представляем экспериментальные данные, доказывающие, что классическая теория Флора не может объяснить во многих случаях и взаимодействие проростков зерновых культур с возбудителями ржавчин и предлагаем ее уточненный вариант.

Монопустульные изоляты (клоны, генотипы) возбудителей листовой ржавчины пшеницы *P. triticina*, карликовой ржавчины ячменя *P. hordei* Otth и корончатой ржавчины овса *P. coronata* Corda размножали на отрезках листьев восприимчивых

сортов, помещенных на вату, смоченную водой при 22°C и 28°C, а также помещенных на вату, смоченную растворами хлористого калия (0.48 г/л), аммиачной селитры (1.29 г/л) и гидразида малеиновой кислоты (ГМК, maleic acid hydrazide МАН) (10 мг/л) при 22°C [12]. Клонами *P. triticina* инокулировали растения 5 линий пшеницы, клонами *P. hordei* – растения 5 сортов ячменя, клонами *P. coronata* – растения 5 сортов овса. Растения до и после заражения выращивали при 22°C и постоянном освещении – 2500 люкс. Типы реакции на заражение учитывали через 8 сут после инокуляции по шкале [13], где 0 (отсутствие симптомов заражения) – устойчивость хозяина, авирулентность патогена, 3 (крупные пустулы без некрозов) – восприимчивость растения, вирулентность изолята патогена.

Результаты экспериментов для 4 клонов каждого патогена приведены в табл. 1–3.

Полученные данные однозначно указывают на невозможность объяснения взаимодействия растение-патоген в рамках классической теории Флора “ген-на-ген”.

Аргументацию данного утверждения приводим для системы взаимодействия пшеница – возбудитель листовой ржавчины; для двух других систем она будет абсолютно аналогичной. Далее рассмотрим противоречия наших экспериментальных данных каждому из трех Положений (2, 3 и 1) теории Флора.

Положение 2. Если в системе взаимодействия хотя бы одному аллелю устойчивости противостоит комплементарный аллель авирулентности, то наблюдается устойчивость хозяина (авирулентность патогена). Фактические данные противоречат данному утверждению. В системе взаимодействия пшеница – *P. triticina* клон 2 был авирулентен на линии с геном *Lr23*, клон 3 – на линии с геном *Lr2a* и клон 4 – на линиях с генами *Lr1* и *Lr20* при размножении их на отрезках листьев в воде. Согласно теории Флора эти клоны имеют аллели авирулентности, соответствующие данным генам устойчивости. Однако эти генотипы гриба проявили реакцию вирулентности после их размножения в присутствии ГМК (см. табл. 1), т.е. они должны иметь аллели вирулентности, комплементарные данным генам устойчивости.

Авирулентные при размножении на воде клоны 3 на линии с геном *Lr20* и 4 – на линиях с генами *Lr2a*, *23*, *26* после их размножения в присутствии хлористого калия были вирулентны к этим линиям, что указывает на наличие у них в первом эксперименте аллелей авирулентности, а во втором – аллелей вирулентности. Эти очевидные противоречия могут теоретически быть объяснены влиянием ГМК и соли калия на изменение экспрессии конкретных аллелей авирулентности,

чему явно противоречит отсутствие таких изменений у других клонов патогена.

Положение 3. Если каждому аллелю устойчивости противостоит комплементарный аллель вирулентности, наблюдается восприимчивость растения (вирулентность паразита).

Полученные данные противоречат и этому утверждению. Клон 1 *P. triticina*, размноженный на воде при 22°C, вирулентен к линиям с генами *Lr1*, 20, 23, 26 (см. табл. 1) и, соответственно, согласно классической теории “ген-на-ген” имеет аллели вирулентности, комплементарные данным генам устойчивости; клон 2 вирулентен на линии с геном *Lr2a* и согласно теории Флора имеет комплементарный аллель вирулентности. Эти клоны, размноженные в присутствии соли азота, были авирулентны к данным линиям, следовательно, согласно теории Флора должны иметь соответствующие аллели авирулентности.

Аналогично, после размножения при 22°C клон 1 был вирулентен на линии с геном *Lr2a*, клон 2 – на линиях с генами *Lr1*, 20 и 26, клон 3 – на линии с геном *Lr23*, т.е. они имеют аллели вирулентности к данным генам устойчивости. При их размножении при повышенной температуре они были авирулентны на данных линиях и, следовательно, имеют аллели авирулентности. Данное противоречие можно было бы объяснить влиянием соли азота и повышенной температуры на экспрессию этих аллелей вирулентности по типу модификационной изменчивости, и они начинают функционировать как аллели авирулентности. Этому, однако, очевидно противоречит отсутствие таких изменений для других комбинаций взаимодействия линия-клон патогена (например, линии с геном *Lr1* и клоном 2 при его размножении в присутствии аммиачной селитры, линии с геном *Lr1* и клоном 1 при его размножении при высокой температуре).

Положение 1. Для каждого гена устойчивости растения-хозяина у патогена существует только один строго ему комплементарный ген вирулентности. Полученные экспериментальные результаты противоречат и данному положению. Так, под действием аммиачной селитры у некоторых генотипов патогенов изменяется экспрессия гена (ов), комплементарных генам резистентности, но не зависящих от гена, обуславливающего вирулентность в отсутствие этого вещества. При размножении клонов при повышенной температуре также изменяется экспрессия дополнительных генов вирулентности, комплементарных генам устойчивости, и не связанных с генами, детерминирующими вирулентность в “нормальных” условиях. Таким образом, только для одного гена устойчивости патоген должен иметь не менее 3 (вероятно больше) комплементарных ему аллелей авирулентности, экспрессирующихся в раз-

**Таблица 2.** Типы реакций растений овса на заражение монопустульными изолятами возбудителя корончатой ржавчины после их размножения в разных условиях среды

Клон размножен на	Сорт				
	Иртыш	Талисман	Эффектив	Гаврош	Озон
Клон 1					
Вода	0	3	0	3	3
Хлористый калий/KCl	3	3	0	3	3
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0	3	0	0	3
ГМК	0	3	3	3	3
Вода, 28°C	0	0	0	3	0
Клон 2					
Вода	0	3	3	3	0
Хлористый калий/KCl	0	3	3	3	3
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0	0	3	3	0
ГМК	3	3	3	3	0
Вода, 28°C	0	3	0	0	0
Клон 3					
Вода	3	0	0	0	3
Хлористый калий/KCl	3	3	3	0	3
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0	0	0	0	0
ГМК	3	0	0	3	3
Вода, 28°C	0	0	0	0	3
Клон 4					
Вода	3	0	3	0	0
Хлористый калий/KCl	3	3	3	3	0
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	3	0	0	0	0
ГМК	3	0	3	0	3
Вода, 28°C	3	0	3	0	0

личных условиях. Также клон-специфичное изменение авирулентности генотипов патогенов в сторону вирулентности к конкретному гену резистентности хозяина под действием ГМК и соли калия указывает на наличие не менее 3 аллелей вирулентности, комплементарных конкретному гену устойчивости растения. Таким образом, одному гену устойчивости хозяина комплементарны несколько генов вирулентности возбудителей ржавчин зерновых культур, дифференциальная экспрессия которых наблюдается при изменении условий размножения генотипов возбудителей. Альтернативным объяснением может быть наличие у патогенов одного гена вирулентности, комплементарного одному гену устойчивости хозяи-

**Таблица 3.** Типы реакций листьев растений ячменя на заражение монопустьевыми изолятами возбудителя карликовой ржавчины после их размножения в разных условиях среды

Клон размножен на	Сорт				
	Эльф	Золотник	Ленинградский	Саша	Олимпик
Клон 1					
Вода	3	0	3	0	3
Хлористый калий/KCl	3	3	3	3	3
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0	0	0	0	3
ГМК	3	0	3	0	3
Вода, 28°C	3	0	3	3	0
Клон 2					
Вода	3	0	0	0	3
Хлористый калий/KCl	3	0	3	0	3
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	3	0	0	0	0
ГМК	3	3	0	3	3
Вода, 28°C	0	0	0	0	3
Клон 3					
Вода	0	0	0	0	3
Хлористый калий/KCl	3	3	0	3	3
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0	0	0	0	0
ГМК	0	0	3	0	3
Вода, 28°C	0	0	0	0	3
Клон 4					
Вода	0	0	3	0	0
Хлористый калий/KCl	0	3	3	0	0
Аммиачная селитра/NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	0	0	3	0	0
ГМК	3	0	3	3	3
Вода, 28°C	0	0	0	0	0

на, но имеющего несколько (очевидно более 5) аллелей вирулентности и авирулентности, каждый из которых специфически изменяет экспрессию под действием абиотических факторов внешней среды.

Таким образом, по результатам проведенной работы взаимодействие хозяин-патоген в варьирующих условиях развития возбудителей ржавчин зерновых культур не может быть описано в рамках классической теории Флора “ген-на-ген”. В уточненном виде данные взаимоотношения могут быть описаны как “ген-на-гены” либо “аллель-на-аллели”. Предлагаемая ревизия теории “ген-на-ген” расширяет представления о генетических основах взаимодействия хозяин-патоген и

теоретически может привести к ряду практических следствий в изучении устойчивости зерновых культур, популяционных исследований фитопатогенов и защиты растений.

#### ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Финансирование исследования за счет государственного задания согласно тематическому плану ВИР по теме № 0662-2019-0006 “Поиск, поддержание жизнеспособности и раскрытие потенциала наследственной изменчивости мировой коллекции зерновых и крупяных культур ВИР для развития оптимизированного генбанка и рационального использования в селекции и растениеводстве”.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Van der Plank J.E.* Plant Diseases: Epidemics and Control. New York, USA: Academic Press. 1963. <https://doi.org/10.1097/00010694-196410000-00018>
2. *McIntosh R.A., Wellings C.R., Park R.F.* Wheat Rusts: An Atlas of Resistance Genes. CSIRO Press. Melbourne. 1995. <https://doi.org/10.1071/9780643101463>
3. *Flor H.H.* The complementary genetic system in flax and flax rusts // *Advanced Genetics*. 1956. V. 8. P. 29–54. [https://doi.org/10.1016/S0065-2660\(08\)60498-8](https://doi.org/10.1016/S0065-2660(08)60498-8)
4. *Flor H.H.* Current status of the gene-for-gene concept // *Ann. Rev. Phytopathol.* 1971. V. 9. P. 275–296. <https://doi.org/10.1146/annurev.py.09.090171.001423>
5. *Martens J.W., McKenzie R.H., Green G.W.* Gene-for-gene relationships in the *Avena: Puccinia graminis* host-parasite system in Canada // *Can. J. Bot.* 1970. V. 48. P. 969–975.
6. *Samborski D.J., Dyck P.L.* Inheritance of virulence in wheat leaf rust on the standard differential wheat varieties // *Can. J. Genet. Cytol.* 1968. V. 10. P. 24–32.
7. *Samborski D.J., Dyck P.L.* Inheritance of virulence in *Puccinia recondita* on six backcross lines with single genes for resistance to leaf rust // *Can. J. Bot.* 1976. V. 54. P. 1666–1671.
8. *Statler G.D.* Inheritance of virulence of culture 73-47 *Puccinia recondita* // *Phytopathology*. 1977. V. 67. P. 906–908. <https://doi.org/10.1094/Phyto-67-906>
9. *Statler G.D.* Inheritance of virulence of *Puccinia triticina* culture X47, the F1 of the cross 71-112 x 70-1 // *Can. J. Plant Pathol.* 2000. V. 22. P. 276–279. <https://doi.org/10.1080/07060660009500475>
10. *Wang L., Zheng D., Zuo S., et al.* Inheritance and linkage of virulence genes in Chinese predominant race CYR32 of the wheat stripe rust pathogen *Puccinia striiformis* f. sp.

- tritici* // Front. Plant Sci. 2018. V. 9. P. 1–12.  
<https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00120>
11. Тырышкин Л.Г., Захаров В.Г., Сюков В.В., Шевченко С.Н. Генетическое взаимодействие взрослых растений пшеницы и возбудителя листовой ржавчины: “ген-на-ген” или “ген-на-гены”? // Известия Самарского НЦ РАН. 2014. Т. 16. № 5 (3). С. 1177–1180.
12. Тырышкин Л.Г. Модификационная изменчивость вирулентности и агрессивности фитопатогенов зерновых культур: выводы, следствия, возможности практического применения: монография. СПб., 2016.
13. Mains E.B., Jackson H.S. Physiological specialization in leaf rust of wheat, *Puccinia triticina* Erikss // Phytopathology. 1926. V. 16. № 1. P. 89.

## REVISION OF THE “GENE-FOR-GENE” FLOR’S THEORY FOR THE PHENOMENONS OF INTERACTION OF SEREALS SEEDLINGS WITH RUST PATHOGENS

M. A. Kolesova<sup>a</sup>, A. A. Zueva<sup>b</sup>, and L. G. Tyryshkin<sup>a,b,#</sup>

<sup>a</sup> N.I. Vavilov All-Russian Institute of plant genetic resources St. Petersburg, Russian Federation

<sup>b</sup> Samara Scientific Research Agriculture Institute named after N.M. Tulaykov – Branch of the Federal State Budgetary Institution of Science Samara Federal Research Scientific Center of Russian Academy of Sciences Samara region, Besenchuk, Russian Federation

<sup>#</sup>e-mail: tyryshkinlev@rambler.ru

Presented by academician of the RAS V.A. Dragavtsev

Monopustule isolates of wheat, oats and barley rust pathogens reproduced under different environmental conditions were used to infect experimental samples of these crops. Differences in the types of reactions after infection of one plant genotype with one pathogen genotype multiplied at different temperatures, as well as in the presence of potassium chloride, ammonium nitrate and maleic acid hydrazide indicate the impossibility of explaining the phenomena of plant – pathogen interaction within the framework of the classical Flor’s theory “gene-for-gene”. Each gene of the host resistance corresponds to several complementary virulence genes, or to several different alleles of one same gene for virulence.

*Keywords:* cereals, rust pathogens, interaction, gene-for-gene