

Received: 27.05.2016 / Accepted: 27.09.2016

Transfer of the *mlo* resistance gene into to the genome of winter barley

Wprowadzenie genu *mlo* do genomu jęczmienia ozimego

Jerzy H. Czembor^{1*}, Paweł Cz. Czembor², Olga Doraczyńska¹,
Aleksandra Pietrusińska¹, Magdalena Radecka-Janusik²

Summary

The aim of the study was to transfer *mlo* gene, which determines very effective resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* DC. f. sp. *hordei*) from spring barley to winter forms and to determine agronomic value of selected breeding lines under field conditions. The spring barley cultivar Danuta was used as a donor of *mlo* gene. *Mlo* gene was introduced into genome of the two multi-row winter cultivars Carola and Bażant, with good agronomic value but susceptible to powdery mildew. Powdery mildew resistance was evaluated under field conditions and natural infection in several homogenous lines with *Mlo* resistance type, which were selected from generated F₁, F₁BC₁, F₂BC₁ populations. The homogenous line BKH 5735 resistance to *B. graminis* f. sp. *hordei* determined by *mlo* gene was selected as a result of evaluations under controlled conditions, natural infection and using molecular markers. This line showed good economic value comparable to the control varieties and it may be concluded that the line BKH 5735 has *Mlo* resistance and provides high-yielding.

Key words: *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*; *mlo* gene; winter barley; resistance

Streszczenie

Celem podjętych badań było przeniesienie z form jarych do ozimych genu *mlo* warunkującego wysoce efektywną odporność na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (*Blumeria graminis* DC. f. sp. *hordei*). Do wyprowadzenia linii jęczmienia ozimego, wielorzędowego o odporności na mączniaka prawdziwego wykorzystano jako dawcę genu *mlo* odmianę jęczmienia jarego Danuta. Jako biorców genu *mlo* użyto dwie odmiany wielorzędowe ozime: Carola i Bażant o dobrej wartości cech gospodarczych, lecz podatnych na mączniaka. Wytworzono populacje mieszańcowe: F₁, F₁BC₁, F₂BC₁ i po wyselekcjonowaniu linii ozimych i homozygotycznych pod względem odporności na mączniaka typu *Mlo* oceniono ich wartość w doświadczeniach w warunkach naturalnej infekcji. W wyniku przeprowadzonych badań uzyskano linię BKH 5735 odporną na *B. graminis* f. sp. *hordei* uwarunkowaną genem *mlo*. Linia ta, w warunkach naturalnej infekcji doświadczeń polowych charakteryzowała się porównywalną oceną innych cech wartości gospodarczych do odmian wzorcowych.

Słowa kluczowe: *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*; gen *mlo*; jęczmień ozimy; odporność

Institut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowy Instytut Badawczy

¹ Krajowe Centrum Roślinnych Zasobów Genowych

² Zakład Genetyki i Hodowli Roślin

Radzików, 05-870 Błonie

*corresponding author: j.h.czembor@ihar.edu.pl

Wstęp / Introduction

Mączniak prawdziwy zbóż i traw [*Blumeria graminis* DC. f. sp. *hordei* (Marchal)] występujący na jęczmieniu to jedna z ważniejszych chorób w rejonach świata o klimacie morskim, w tym, w Polsce (Rasmusson 1985). Występuje z różnym nasileniem na terenie całego kraju powodując straty w plonach (Gacek i wsp. 1996). W warunkach sprzyjających rozwojowi grzyba straty w plonie ziarna mogą sięgać 25%, natomiast przeciętnie wynoszą około 10% (Kozdój i wsp. 2009). Silniejsze wystąpienie mączniaka na jęczmieniu browarnym prowadzi do pogorszenia wartości technologicznej ziarna, jako surowca dla przemysłu piwowarskiego, głównie z powodu podwyższenia zawartości białka (Pecio i Bichoński 2003). Straty w plonie ziarna można ograniczyć przez stosowanie odpowiednich fungicydów, uprawę odmian odpornych oraz wykorzystanie naturalnych mechanizmów współzależności roślin między sobą i środowiskiem (Czembor i Gacek 1990; Gacek 1990; Nieróbcza i wsp. 2003). Odporność uprawianych odmian na patogeny i możliwie duże jej zróżnicowanie pod względem uwarunkowań genetycznych jest jednym z ważniejszych elementów nowoczesnej proekologicznej produkcji roślinnej.

W ostatnich dziesięcioleciach, hodowcy jęczmienia w całej Europie, w swoich programach hodowlanych powszechnie wykorzystywali genotypy, których odporność na mączniaka prawdziwego uwarunkowana była genami, takimi jak: *Mla6*, *Mla7*, *Mla9*, *Mla12* i *Mla13* w locus *Mla* oraz geny: *MLk*, *MLg*, *ML(La)*, *MLh* i *MLra* (Dreiseitl 1991b, 2011b, c, 2012, 2014a, b; Czembor i Czembor 1998, 1999, 2001; Dreiseitl i Platz 2012). Dla właściwego doboru źródeł odporności w hodowli nowych odmian jęczmienia odpornych na mączniaka potrzebna jest wiedza o strukturze frekwencji genów wirulencji w populacji *B. graminis* f. sp. *hordei*. Jest to patogen, zdolny do wytwarzania ras o nowych zdolnościach chorobotwórczych, które rozprzestrzeniają się na duże odległości w krótkim czasie. Jeżeli odmiana z określonym genem odporności uprawiana była na dużych powierzchniach to już po kilku latach, gen ten stawał się nieefektywny. Badania, które mają na celu monitorowanie genów wirulencji tego patogena prowadzone są na szeroką skalę zarówno w Polsce (Czembor i Czembor 2001, 2004a, b, 2005; Czembor 2003, 2004; Gacek i wsp. 2004), jak i za granicą (Dreiseitl 1991a, 1997, 1998, 2004, 2008, 2011a, d, 2014a; Dreiseitl i Schwarzbach 1994; Limpert i wsp. 1999; Hovmöller i wsp. 2000; Dreiseitl i Kosman 2013). Na podstawie tych badań hodowcy uzyskują informacje, które genotypy wyłączyć z programów hodowlanych, ponieważ nie będą warunkowały odporności na mączniaka prawdziwego. Wyjątkiem jest recesywny gen *mlo* (Czembor i Czembor 2003). Początkowo, negatywne efekty plejotropowe ograniczyły jego wykorzystanie w hodowli jęczmienia (Bjornstad i Aastveit 1990). Jednak dalsze prace hodowlane pozwoliły na ich wyeliminowanie i obecnie wykorzystanie tego typu odporności stało się szczególnie powszechne w jęczmieniu jarym (Szarzyńska 2015). Nadal, pomimo tego, że warunkuje on odporność odmian uprawianych na dużych powierzchniach, nie stwierdzono występowania wirulencji w populacji *B. graminis* f. sp.

hordei w stosunku do tego genu. Opisano ponad 30 alleli genu *mlo*, a w hodowli wykorzystuje się głównie *Mlo9*, *Mlo5* i *Mlo11* (Hovmöller i wsp. 2000).

W dostępnej literaturze brak doniesień o odmianach jęczmienia ozimego z genem *mlo* dobrze przystosowanych do polskich warunków środowiska (Czembor i wsp. 2013; Dreiseitl 2013). Nie ma takich odmian również w doborze odmian jęczmienia ozimego w Niemczech, Wielkiej Brytanii, Danii i Czechach (Listy opisowe wymienionych krajów za 2012 lub 2013 rok).

Celem podjętych badań było przeniesienie z form jarych do ozimych genu *mlo* warunkującego wysoce efektywną odporność na mączniaka (*B. graminis* f. sp. *hordei*) i określenie interakcji genu *mlo* w genomie form ozimych w warunkach naturalnej infekcji.

Materiały i metody / Materials and methods

Do wyprowadzenia linii jęczmienia ozimego, wielorzędowego o odporności na mączniaka prawdziwego (*B. graminis* f. sp. *hordei*) wykorzystano jako dawcę genu *mlo* niemiecką 2-rzędową odmianę jęczmienia jarego Danuta, której odporność na mączniaka typu *Mlo* uwarunkowana jest recesywnym genem *mlo₁₁* (Schwarzbach 2008). Jako biorców genu *mlo* użyto dwóch odmian wielorzędowych ozimych: Carola i Bażant o dobrej wartości cech gospodarczych, lecz podatnych na mączniaka (Anonymous 2004).

W warunkach kontrolowanych szklarni i fitotronu oceniono odporność wytworzonych populacji mieszańcowych F_1 , F_1BC_1 , F_2BC_1 na zakażenie izolatem 63 *B. graminis* f. sp. *hordei*, wirulentnym w stosunku do rodziców ozimych, a awirulentnym do odmiany Danuta. Na potomstwie roślin F_2BC_1 , metodą rezerw – rozmnożenie roślin bez jarowizacji w warunkach wysokich temperatur – 19°C noc 6 godzin, 25°C dzień 18 godzin, określono ich fenotyp, forma jara *versus* ozima.

W celu potwierdzenia obecności genu *mlo* w roślinach pokolenia F_1BC_1 stosowano również dwa molekularne markery mikrosatelitarne HvMLOH1A i HvMLO3 amplifikowane w reakcji PCR (polymerase chain reaction), które są sprzężone z locus *Mlo* (Ramsay i wsp. 2000; Karakousis i wsp. 2003). Na potrzeby analiz molekularnych izolowano DNA (deoxyribonucleic acid) z kilkutygodniowych pojedynczych roślin reprezentujących 106 linii F_1BC_1 , które utrzymywano w warunkach kontrolowanych komory fitotronowej (16 godzin światła/22°C oraz 8 godzin ciemności/18°C). Do amplifikacji w reakcji PCR markera HvMLOH1A wykorzystywano DNA otrzymane przy użyciu zestawu DNeasy Plant Mini Kit 250 (QIAGEN, Syngen Biotech, Polska) zgodnie z zaleceniami producenta. Natomiast, do amplifikacji w reakcji PCR markera HvMLO3 zastosowano DNA otrzymane za pomocą buforu TPS (Higgins i wsp. 2000). Mieszanina reakcyjna o objętości 8 µl zawierała następujące komponenty: 3 µl DNA (około 100 ng), 1 × bufor (Fermentas, Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA), 2,5 mM $MgCl_2$, 0,2 mM dNTPs, 0,5 µM każdego startera i 1 jednostka polimerazy Taq (Fermentas). W przypadku markera HvMLOH1A użyto pary starterów 5'-CCTCCCC

TCTGATATGATAA-3' i 5'-GTACAGACGGTTTAATT GTCC-3', natomiast dla HvMLO3 użyto 5'-CTT CCATGTCACCTACAGC-3' i 5'-CGAACTGGTATTCC AAGG-3'. Jeden starter z każdej pary starterów był dodatkowo znakowany na końcu 5' barwnikiem fluorescencyjnym TET w formie amidofosforanu (Applied Biosystems, Foster City, Stany Zjednoczone). Reakcję PCR prowadzono w termocyklerze Mastercycler ep (Eppendorf Poland Sp. z o.o., Warszawa, Polska) według programu: 94°C/3 min. wstępna denaturacja, 10 cykli składających się z etapów 94°C/30 s, 55°C/30 s i 72°C/1 min. oraz 30 cykli przy obniżonej temperaturze denaturacji do 90°C, reakcja kończyła się inkubacją 72°C/5 min.

Rozdział i analizę znakowanych produktów PCR prowadzono przy użyciu analizatora DNA ABI377XL (Applied Biosystems) wspomaganego oprogramowaniem GeneScan 3.1 (Applied Biosystems), stosując 4,5% denaturujący żel poliakrylamidowy (Long Ranger, Cambrex Bio Science, USA). Do nanoszenia mieszaniny poreakcyjnej na żel poliakrylamidowy stosowano grzebienie membranowe (100 zębów) zgodnie z zaleceniem producenta (Web Scientific Ltd., Wielka Brytania). Występowanie produktów PCR o długości 176 pz (par zasad) dla markera HvMLO3 i 230 pz dla HvMLOH1A świadczyło o obecności genu *mlo* w danej linii.

Rozmnożenia, reselekcję na wartość cech gospodarczych oraz doświadczenia pojedyncze prowadzono w szkółce polowej Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin – Państwowego Instytutu Badawczego w Radzikowie na mikropoletkach. Jednocześnie doświadczenie „MLO” z 60 rodami jęczmienia ozimego wielorzędowego przeprowadzono w miejscowości Bąków, w sezonie 2008/2009, w celu oznaczenia poziomu plonowania i wyliczenia odchyleń plonowania badanych obiektów od odmian wzorcowych. Zastosowano metodę 1-powtórzeniową z 2 wzorcami: Maybrit i Nickela, wysianymi systematycznie na przemian co dziesiąte poletko. W okresie wegetacji wykonano obserwacje przezimowania, podatności na wyleganie i porażenia chorobami (skala 1–9), po zbiorach oznaczono plon ziarna z poletka (przy 15% wilgotności) przeliczony na dt/ha (tab. 1).

W sezonie 2009/2010 przeprowadzono serię jednoczynnikowych doświadczeń „MLO” z 33 rodami jęczmienia wielorzędowego oraz 3 odmianami wzorcowymi: Maybrit, Nickela i Rosita w 3 miejscowościach: Bąków, Szelejewo i Wiatrowo. Zastosowano metodę bloków niekompletnych. Obiekty wysiano na poletkach o powierzchni 10 m² w 3 powtórzeniach. Rozmieszczenie obiektów w miejscowościach było stałe. Po zbiorach ocenę poddano plon ziarna z poletka (przy wilgotności 15%). Na podstawie wyników plonowania wykonano analizę wariancji dla plonu. Testem *F* badano istotność średnich kwadratów odchyleń dla obiektów względem średniego kwadratu odchyleń dla błędu doświadczalnego. Zestawiono plony obiektów w miejscowościach i średnie plonów (w dt/ha) uszeregowane malejąco, średnie generalne wartości dla miejscowości i obiektów wzorcowych, współczynniki zmienności dla błędu, współczynniki zgodności plonu, ocenę NIR (0,05) oraz NIRP (%) (tab. 2).

Do oceny porażenia przez choroby w warunkach naturalnej infekcji i wylegania zastosowano zalecaną przez

Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych (COBORU) skalę 1–9, gdzie 1 – oznacza porażenie liści do flagowego włącznie, a 9 – brak objawów. W ocenie wylegania: 1 – oznacza całkowite wylegnięcie łanu, a 9 – brak wylegania. Do oceny reakcji roślin w stadium siewki, w warunkach kontrolowanych na zakażenie izolatem 63 *B. graminis* f. sp. *hordei* stosowano pięciostopniową skalę Mainsa i Dietza (1–4, gdzie 0 – brak widocznych objawów porażenia; 1 – niewielkie nekrozy; 2 – nekrozy powiększają się, skąpe zarodnikowanie; 3 – chlorozy, grzybnia rozwinięta, lecz słabo zarodnikująca; 4 – dobrze rozwinięta i zarodnikująca grzybnia). Skala ta została uzupełniona o dodatkowy szósty stopień 0/4 charakteryzujący reakcję odmian z genem *mlo* (Czembor i Czembor 2001).

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

Badania, których celem było przeniesienie z form jarych do ozimych genu *mlo* warunkującego wysoce efektywną odporność na mączniaka (*B. graminis* f. sp. *hordei*) i określenie interakcji genu *mlo* w genomie form ozimych w warunkach naturalnej infekcji, prowadzono metodami tradycyjnymi, w oparciu o wyniki testów fitopatologicznych, jak i metodami molekularnymi, co zwiększyło skuteczność trafnego wyboru homozygotycznych roślin o odporności typu Mlo. Wykonano krzyżowania: proste odmian Carola × Danuta oraz wypierające z odmianą Bażant w warunkach fitotronowych i szklarniowych w roku 2005. Uzyskane populacje mieszańcowe F₁BC₁ poddano ocenie fenotypowej pod względem reakcji na zakażenie izolatem *B. graminis* f. sp. *hordei* wirulentnym w stosunku do odmian: Carola i Maybrit oraz molekularnej na obecność genu *mlo* pochodzącego z odmiany Danuta. Do analiz molekularnych wybrano 106 roślin pokolenia F₁BC₁, które w testach fitopatologicznych wykazywały reakcję odporności świadczącą o obecności genu *mlo*. Spośród tych roślin, 96 wykazywało jednocześnie obecność dwóch markerów związanych z występowaniem genu *mlo*. Analizy molekularne mające na celu wykazanie obecności genu *mlo* prowadzono z wykorzystaniem dwóch markerów HvMLOH1A oraz HvMLO3. Następnie wyodrębniono 21 roślin homozygotycznych i 25 heterozygotycznych dla genu *mlo*. Wybrane rośliny z genem *mlo* po jarowizacji rozmnożono w fitotronie. Uzyskane populacje mieszańcowe F₂BC₁ metodą rezerw podano selekcji na wyróżnienie form ozimych. Potomstwa roślin o fenotypie jarych usunięto z dalszych prac. Po jarowizowaniu reszt pojedynczych roślin fenotypowo ozimych, wiosną 2006 roku wysadzono je w szkółce polowej. Na rozmnażanych liniach przeprowadzono ocenę wizualną pod względem cech wartości gospodarczej w porównaniu do odmian wzorcowych: wielorzędowej Rosita i dwurzędowej Nickela. Z dalszych badań usunięto przede wszystkim linie z typowymi objawami plamistości plejotropowego efektu obecności genu *mlo* i wydzielono dwie grupy linii: grupę 2-rzędowych i 6-rzędowych, każda licząca odpowiednio po 20 roślin.

Jesienią 2006 roku w szkółce polowej wysiano na mikropoletkach, w siewie punktowym, do oceny wartości

gospodarczej w naturalnych warunkach, 650 linii z odmianami wzorcowymi co dziesiąte poletko: odmiany Carola i Nickela.

W sezonie wegetacyjnym 2007 roku spośród 650 linii po ocenie do reselekcji wybrano 40 linii odpornych na mączniaka i o korzystnych innych cechach wartości gospodarczej. Z każdej linii zebrano po 20 roślin jako sublinie do rozmnożenia i oceny w sezonie 2007/2008.

W szkółce polowej, w sezonie 2007/2008 wysiano 400 sublinii na 2-rzędkowych mikropoletkach. Na wydzielonej próbie 20–25 nasion z każdej sublinii w fazie siewki przeprowadzono ocenę reakcji na zakażenie izolatami

63 *B. graminis* f. sp. *hordei*. Wśród ocenianych 400 sublinii, 319 charakteryzowało się homozygotyczną odpornością typu *Mlo*. W 99,4% ocenianych linii potwierdzono związek specyficznych markerów z genem *mlo*. Uzyskane wyniki wykorzystano w ocenie sublinii w szkółce polowej w roku 2008. Po ocenie wizualnej potencjału wartości cech gospodarczych do dalszych badań wybrano 59 linii.

Z wybranymi liniami w sezonie 2008/2009 przeprowadzono 1-powtórzeniowe doświadczenie w Bąkowie. Na podstawie uzyskanych wyników do dalszych badań wybrano 18 linii o porównywalnym plonie do odmian wzorcowych i odpornych na mączniaka (tab. 1).

Tabela 1. Plon ziarna, zimotrwałość, odporność na mączniaka i wyleganie oraz wysokość roślin linii jęczmienia ozimego – Bąków, 2009
Table 1. Yield, winter hardiness, resistance to powdery mildew, lodging and plant height of selected lines of winter barley – Bąków, 2009

Lp. No.	Linia Breeding line	Plon Yield [dt/ha]	Przezimowanie* Winter hardiness	Mączniak prawdziwy Powdery mildew	Wyleganie Lodging	Wysokość roślin Plant height [cm]
1	2	3	4	5	6	7
1	BKH 458	73,2	9	8	9	84
2	BKH 1288	72,0	9	8	9	80
3	BKH 248	71,4	8	8	9	73
4	BKH 1127	70,3	9	7	9	81
5	BKH 1153	69,8	9	9	9	87
6	BKH 1366	69,5	9	8	9	81
7	BKH 549	69,1	9	8	9	63
8	BKH 1314	69,0	9	9	9	78
9	MAYBRIT	68,4	9	5	9	88
10	BKH 727	67,6	9	7	9	79
11	BKH 403	67,0	9	6	9	81
12	BKH 859	66,8	8	9	9	68
13	BKH 763	66,7	9	7	9	75
14	BKH 1469	66,6	9	4	9	57
15	BKH 695	66,4	9	7	9	78
16	BKH 333	66,3	9	8	9	74
17	BKH 5735	66,3	9	9	9	79
18	BKH 317	66,0	9	8	9	78
19	BKH 848	65,5	8	7	9	74
20	BKH 238	65,2	9	8	9	68
21	NICKELA	64,1	8	8	9	65
22	BKH 620	63,3	9	4	9	67
23	BKH 1793	62,7	9	5	9	82
24	BKH 661	61,7	9	8	9	63
25	B KH 359	61,3	8	9	9	75
26	BKH 744	60,9	9	8	9	80
27	BKH 813	60,9	8	8	9	86
28	BKH 806	60,5	9	8	9	87
29	BKH 1819	60,2	9	5	9	79
30	BKH 1826	60,1	9	3	9	83

1	2	3	4	5	6	7
31	BKH 479	59,3	8	6	9	85
32	BKH 518	59,3	9	5	9	77
33	BKH 1200	59,0	9	8	9	80
34	BKH 553	58,7	8	7	9	64
35	BKH 754	58,1	9	6	9	80
36	BKH 794	57,9	9	5	9	76
37	BKH 293	57,4	9	7	9	99
38	BKH 273	57,1	9	6	9	74
39	BKH 6	57,0	8	7	9	82
40	BKH 1786	56,7	9	7	9	75
41	BKH 227	56,5	8	5	9	75
42	BKH 186	56,0	9	7	9	66
43	BKH 1235	55,8	9	6	9	87
44	BKH 789	55,4	9	7	9	74
45	BKH 78	55,3	8	9	9	73
46	BKH 14	54,8	8	6	9	69
47	BKH 220	54,6	9	7	9	71
48	BKH 83	54,4	8	6	9	74
49	BKH 1734	54,1	8	8	9	87
50	BKH 1414	54,0	9	7	9	81
51	BKH 985	52,7	9	7	9	71
52	BKH 205	52,5	8	8	9	66
53	BKH 1484	52,0	8	8	9	70
54	BKH 773	51,7	8	6	9	75
55	BKH 105	51,2	9	6	9	64
56	BKH 653	51,0	9	4	9	67
57	BKH 976	49,8	9	8	9	69
58	BKH 39	4,94	9	6	9	77
59	BKH 1494	48,5	8	8	9	77
60	BKH 1503	45,7	9	8	9	80
62	BKH 1554	42,0	9	9	9	83
Średnia ogólna Average overall		59,9	8,7	7,0	9	76,1
Średnia wzorce Average patterns		63,4	7,9	4,7	9	83,7
Odchylenie standardowe wzorce Standard deviation patterns		2,1	0,1	0,6	0	1,2

*w skali 1–9 – using 1–9 scale

W roku 2010, 18 wybranych linii i 15 innych linii hodowlanych jęczmienia ozimego o symbolach: POA lub WTDL oceniono w trzech miejscowościach. W warunkach kontrolowanych oceniono w stadium siewki reakcję na zakażenie izolatem 63 *B. graminis* f. sp. *hordei*. Na podstawie uzyskanych wyników, można stwierdzić, że 10 linii BKH plonowało na poziomie plenniejszej odmiany wzorcowej Maybrit (tab. 2). W tabeli 3. przedstawiono wyniki oceny odporności 18 linii BKH na mączniaka w stadium siewki i warunkach polowych. Odporność linii: BKH 1153, BKH 1314, BKH 859 i BKH 5735 w warunkach naturalnej infekcji w doświadczeniu polowym była

zgodna z oceną w stadium siewki w warunkach kontrolowanych. Pozostałe linie BKH zakażane izolatem 63 *B. graminis* f. sp. *hordei* były heterogeniczne – reakcja 0(4) i 4, 0(4) i 2, średnio odporne – reakcja 2 i podatne – reakcja 4. Linie te w warunkach polowych oceniono od średnio odpornych do podatnych. Biorąc pod uwagę homozygotyczną odporność linii BKH 5735 na porażenie przez *B. graminis* f. sp. *hordei*, udokumentowaną wynikami ocen w warunkach kontrolowanych, naturalnej infekcji (tab. 3) i oceny molekularnej oraz porównywalną ocenę innych cech wartości gospodarczej w porównaniu do odmian wzorcowych (tab. 2, 3, 4), linia BKH 5735 jest

formą jęczmienia ozimego odporną na *B. graminis* f. sp. *hordei* uwarunkowaną genem *mlo*.

W Polsce patotypy wirulentne w stosunku do większości genów obecnych w odmianach jęczmienia jarego

i ozimego zarejestrowanych przez COBORU występują z różnym nasileniem, za wyjątkiem genu *mlo* (Czembor

Tabela 2. Plony ziarna linii włączonych do badań w Szelejewie, Bąkowie i Wiatrowie w roku 2010 [dt/ha]

Table 2. Grain yield of breeding lines evaluated in Szelejewo, Bąków and Wiatrowo in 2010 [dt/ha]

Lp. No.	Linia Breeding line	Miejscowości – Locations			Średnia Mean	% wzorca % of standard
		Szelejewo	Bąków	Wiatrowo		
1	BKH 458	58,4	57,8	90,5	68,9	107,9
2	WTDL 224	57,5	54,2	87,6	66,4	104,1
3	MAYBRIT wz.	62,3	58,2	78,2	66,3	103,7
4	BKH 5735	62,3	58,4	77,3	66,0	103,3
5	WTDL 242	54,0	56,7	84,2	65,0	101,7
6	BKH 859	55,3	57,0	82,5	64,9	101,6
7	NICKELA wz.	54,3	60,7	78,9	64,6	101,2
8	BKH 1127	50,9	57,7	84,4	64,3	100,7
9	BKH 1288	55,8	57,3	77,5	63,5	99,5
10	POA8 11-10	57,4	56,3	75,4	63,0	98,7
11	POA 1287-16	55,6	52,8	80,1	62,9	98,4
12	BKH 248	56,3	54,7	77,2	56,3	98,2
13	POA 858	53,7	53,9	80,3	53,7	98,1
14	WTDL 455	53,7	53,9	80,3	62,6	98,1
15	BKH 727	53,1	51,1	80,2	61,5	96,2
16	BKH 549	53,1	51,1	80,2	61,5	96,2
17	ROSITA wz.	55,9	50,6	75,7	60,7	95,1
18	WTDL 1412	51,6	53,1	74,0	59,6	93,3
19	BKH 333	48,7	52,8	75,3	58,9	92,3
20	BKH 848	50,5	59,2	67,0	58,9	92,2
21	BKH 1366	51,8	51,4	72,1	58,4	91,5
22	BKH 317	54,6	54,1	65,8	58,2	91,1
23	BKH 238	47,6	49,8	76,4	58,0	90,8
24	BKH 1153	50,0	53,3	67,8	57,0	89,3
25	POA 788-10	48,1	56,8	65,9	56,9	89,2
26	BKH 1314	48,7	52,6	69,5	56,9	89,2
27	POA 1365-17	50,5	49,5	70,0	56,7	88,7
28	WTDL 1491	56,0	45,1	67,6	56,3	88,1
29	WTDL 81	40,7	51,8	75,3	56,0	87,6
30	POA 804-10	42,6	53,1	71,6	55,7	87,3
31	BKH 695	49,9	51,3	65,9	55,7	87,2
32	WTDL 1363	46,3	50,4	65,2	54,0	84,5
33	POA 1313-16	42,7	54,3	64,2	53,7	84,1
34	POA 762-10	39,3	50,5	70,5	53,4	83,7
35	BKH 763	40,2	47,9	52,5	52,5	82,2
36	BKH 661	67,7	46,6	67,7	51,2	80,2
Średnia – Mean		51,3	53,6	74,6	59,9	–
NIR (0,05) LSD (0,05)		10,9	6,4	9,0	7,0	–
NIRP (0,05) LSDP (0,05)		21,3%	11,9%	12,0%	–	11,6%

Tabela 3. Odporność linii wybranych do doświadczenia w 3 miejscowościach na mączniaka prawdziwego po zakażeniach izolatem 63 *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* w warunkach kontrolowanych oraz w warunkach polowych
 Table 3. Resistance level of breeding lines selected to the experiments for powdery mildew evaluation after inoculation by isolate 63 of *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* under controlled conditions and conducted in three locations under field conditions

Lp. No.	Linia Breeding line	Odporność – Resistance	
		stadium siewki – izolat 63* growth stage of seedlings – isolate 63	polowa** field resistance
1	BKH 458	2	8
2	BKH 1288	2	8
3	BKH 248	2 i 0(4)	8
4	BKH 1127	4	7
5	BKH 1153	0(4)	9
6	BKH 1366	0(4) i 4	8
7	BKH 549	2	8
8	BKH 1314	0(4)	9
9	BKH 727	4	7
10	BKH 403	4	6
11	BKH 859	0(4)	9
12	BKH 763	4	7
13	BKH 1469	4	4
14	BKH 695	4	7
15	BKH 333	2	8
16	BKH 5735	0(4)	9
17	BKH 317	2	8
18	BKH 848	2	7
MAYBRIT wz.		4	5

*ocena w skali 1–4 – using 1–4 scale

**ocena w skali 1–9 – using 1–9 scale

Tabela 4. Opis linii BKH 5735 jako źródła odporności typu *Mlo* jęczmienia ozimego
 Table 4. Characteristics of the BKH 5735 line as a source of winter barley *Mlo* resistance

Linia BKH 5735 BKH 5735 line	Gen Gene	Odporność na mączniaka Powdery mildew resistance		Plon* Yield
		stadium siewki growth stage of seedling	polowa field resistance	
BKH 5735 forma ozima – winter	<i>mlo₁₁</i>	0(4)	9	7
Rodzice – Parents	–	–	–	–
Bażant forma ozima – winter	heterogeny** heterogenous	4	5	7
Carola forma ozima – winter	<i>Mla₆</i> **	4	7	8
Danuta forma jara – spring	<i>mlo₁₁</i> ***	0(4)	9	7
Pochodzenie – Pedgree	–	–	–	–
(Carola × Danuta) × Bażant	–	–	–	–

Dostępny w Banku Genów IHAR – PIB w Radzikowie pod numerem : 50105

Seeds are available in Gene Bank IHAR – PIB Radziców under numer: 50105

*ocena plonu w skali 1–9, 1 – najniższa, 9 – najwyższa – using 1–9 scale

**Lista Opisowa Odmian Roślin Rolniczych COBORU 2004 – according to COBORU 2004

***Schwarzbach 2008

i Czembor 2001, 2004; Czembor 2003, 2004; Gacek i wsp. 2004). Przykładowo, zarówno w 1999 roku, jak i w 2001 roku wykazano brak w Polsce korespondujących wiru-

lencji w stosunku do genów odporności *Mlo*, *Mla23* i *Mlp* (Czembor i Czembor 2001, 2004). Biorąc to pod uwagę można stwierdzić, że należą one do najbardziej efektyw-

nych genów odporności na terenie Polski. Należy zwrócić uwagę na fakt ciągłego braku wirulencji korespondującej do odporności *Mlo*, pomimo że odmiany z tą odpornością były uprawiane w tym okresie na poziomie około 17,6%. Podobne wyniki uzyskano badając odmiany włączone do badań rejestrowych w Polsce w 2011 roku (Czembor i wsp. 2012). Bieżące badania mają charakter oryginalny, ponieważ wykazały na możliwość uzyskania genotypów jęczmienia ozimego o wysokiej odporności na mączniaka prawdziwego jęczmienia (*B. graminis* f. sp. *hordei*) warunkowanej efektywnym genem *mlo* przy równoczesnym zachowaniu wysokiej wartości agronomicznej.

Wnioski / Conclusions

1. Gen *mlo* może zostać włączony do programów hodowlanych, których celem jest uzyskanie odmian jęczmienia ozimego o wysokiej odporności na mączniaka prawdziwego (*B. graminis* f. sp. *hordei*) nie wpływając przy tym negatywnie na ich wartość agronomiczną.
2. Linia jęczmienia ozimego BKH 5735 stanowi cenne źródło odporności na mączniaka prawdziwego typu *Mlo*.

Praca finansowana z programu Postępu Biologicznego Ministerstwa Rolnictwa i Rozwoju Wsi, zadanie 39.

Literatura / References

- Anonymous. 2004. Lista opisowa odmian. Cz. 1. Zbożowe. COBORU, Słupia Wielka: 57–65.
- Bjørnstad A., Aastveit K. 1990. Pleiotropic effects on the *ml-o* mildew resistance gene in barley in different genetical backgrounds. *Euphytica* 46 (3): 217–226.
- Czembor J.H. 2002. Resistance to powdery mildew in selections from Moroccan barley landraces. *Euphytica* 125 (3): 397–409.
- Czembor H.J. 2003. Odporność krajowych odmian jęczmienia jarego na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 230: 327–334.
- Czembor H.J. 2004. Odporność krajowych odmian jęczmienia ozimego na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 233: 117–125.
- Czembor J.H., Czembor H.J. 1998. Powdery mildew resistance in cultivars of spring barley from Polish register. *Plant Breeding and Seed Science* 42 (2): 87–99.
- Czembor J.H., Czembor H.J. 1999. Powdery mildew resistance in cultivars of winter barley from Polish register. *Plant Breeding and Seed Science* 43 (1): 65–75.
- Czembor H.J., Czembor J.H. 2001. Resistance to powdery mildew in barley cultivars and breeding lines included in 1998–2000 Polish registration trials. *Plant Breeding and Seed Science* 45 (1): 21–41.
- Czembor J.H., Czembor E. 2003. Odporność *Mlo* jęczmienia na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). Cz. III. Trwałość odporności. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 230: 375–386.
- Czembor J.H., Czembor H.J. 2004a. Chorobotwórczość mączniaka prawdziwego jęczmienia (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) w Polsce w roku 1999. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 231: 377–386.
- Czembor H.J., Czembor J.H. 2004b. Chorobotwórczość mączniaka prawdziwego jęczmienia (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) w Polsce w roku 2000. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 233: 107–115.
- Czembor J.H., Czembor H.J. 2005. Chorobotwórczość mączniaka prawdziwego jęczmienia (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) w Polsce w roku 2001. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 236: 183–192.
- Czembor H.J., Czembor J.H., Pietrusińska A., Domeradzka O. 2012. Odporność na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) odmian jęczmienia włączonych do badań rejestrowych w Polsce w roku 2011. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 265: 23–33.
- Czembor J.H., Doraczyńska O., Pietrusińska A., Czembor H.J. 2013. Odporność na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) odmian jęczmienia włączonych do badań rejestrowych w Polsce w roku 2012. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 268: 35–45.
- Czembor H.J., Gacek E. 1990. Wybrane problemy hodowli odpornościowej zbóż na choroby. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 173–174: 53–64.
- Dreiseitl A. 1991a. Analysis of powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) populations. *Genetika a Šlechtění* 27: 39–46.
- Dreiseitl A. 1991b. A Czechoslovak test-assortment of spring barley cultivars for identifying powdery mildew pathotypes. *Genetika a Šlechtění* 27: 251–257.
- Dreiseitl A. 1997. Changes in the barley powdery mildew population in the Czech Republic (1993–1994). *Ochrana Rostlin* 33: 281–296.
- Dreiseitl A. 1998. Comparison of methods to study powdery mildew and monitor the population of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* in 1997. *Plant Protection Science* 34: 33–38.
- Dreiseitl A. 2004. Virulence frequencies to powdery mildew resistance genes of winter barley cultivars. *Plant Protection Science* 40 (4): 135–140.
- Dreiseitl A. 2008. Virulence frequency to powdery mildew resistances in winter barley cultivars. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 44 (4): 160–166.
- Dreiseitl A. 2011a. Differences in powdery mildew epidemics in spring and winter barley based on 30-year variety trials. *Annals of Applied Biology* 159 (1): 49–57.
- Dreiseitl A. 2011b. Resistance of ‘Roxana’ to powdery mildew and its presence in some European spring barley cultivars. *Plant Breeding* 130: 419–422.
- Dreiseitl A. 2011c. Resistance of ‘Laverda’ to powdery mildew and its presence in some winter barley cultivars. *Cereal Research Communications* 39 (4): 569–576.
- Dreiseitl A. 2011d. Changes in the population of *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in the Czech Republic from 2009 to 2010. *Plant Protection Science* 47: 43–51.

- Dreiseitl A. 2012. Frequency of powdery mildew resistances in spring barley cultivars evaluated in Czech variety trials. *Plant Protection Science* 48 (1): 17–20.
- Dreiseitl A. 2013. Genes for resistance to powdery mildew in European winter barley cultivars registered in the Czech Republic and Slovakia to 2010. *Plant Breeding* 132 (6): 558–562.
- Dreiseitl A. 2014a. Pathogenic divergence of Central European and Australian populations of *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*. *Annals of Applied Biology* 165: 364–372.
- Dreiseitl A. 2014b. The *Hordeum vulgare* subsp. *spontaneum* – *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* pathosystem: its position in resistance research and breeding applications. *European Journal of Plant Pathology* 138: 561–568.
- Dreiseitl A., Kosman E. 2013. Virulence phenotypes of *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in South Africa. *European Journal of Plant Pathology* 136 (1): 113–121.
- Dreiseitl A., Platz G. 2012. Powdery mildew resistance genes in barley varieties grown in Australia. *Crop & Pasture Science* 63: 997–1006.
- Dreiseitl A., Schwarzbach E. 1994. Composition of the powdery mildew population on barley in Central Moravia (Czech Republic) in 1992. *Rostlinná Výroba* 40: 545–554.
- Gacek E. 1990. Studia nad sposobami wykorzystania odporności genetycznej jęczmienia w zwalczaniu mączniaka prawdziwego (*Erysiphe graminis* DC f. sp. *hordei* Marchal). *Hodowla Roślin, Aklimatyzacja i Nasiennictwo* 34 (5/6): 3–48.
- Gacek E., Biliński Z.R., Czembor H.J., Czembor J.H. 2004. Chorobotwórczość mączniaka prawdziwego jęczmienia (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) w Polsce w latach 1993–1996. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 231: 365–376.
- Gacek E., Czembor H.J., Nadziak J. 1996. Wpływ zróżnicowania genetycznego w mieszaninach i mieszankach zbożowych na rozwój chorób i plonowanie. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 200: 203–209.
- Higgins C.M., Hall R.M., Campbell P.R., Dietzgen R.G. 2000. PCR rescue and analysis of transgene sequences directly from crude extracts of transgenic embryos and plants. *Plant Molecular Biology Reporter* 18: 285a–285g.
- Hovmöller M.S., Caffier V., Jalli M., Andersen O., Besenhofer G., Czembor J.H., Dreiseitl A., Flath K., Fleck A., Heinrics F., Jonsson R., Limpert E., Mercer P., Plesnik S., Rashal I., Skinnes H., Slater S., Vronska O. 2000. The European barley powdery mildew virulence survey and disease nursery 1993–1999. *Agronomie* 20 (7): 729–744.
- Karakousis A., Barr A.R., Chalmers K.J., Ablett G.A., Holton T.A., Henry R.J., Lim P., Langridge P. 2003. Potential of SSR markers for plant breeding and variety identification in Australian barley germplasm. *Australian Journal of Agricultural Research* 54 (11–12): 1197–1210.
- Kozdój J., Mańkowski D., Czembor H.J. 2009. Analiza plonu jęczmienia jarego (*Hordeum vulgare* L.) porażonego mączniakiem prawdziwym (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). *Komunikat. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 254: 65–74.
- Limpert E., Godet F., Müller K. 1999. Dispersal of cereal mildews across Europe. *Agricultural and Forest Meteorology* 97 (4): 293–308.
- Nieróbca A., Horoszkiewicz-Janka J., Czembor J.H. 2003. Ochrona roślin – ważny element technologii uprawy zbóż w UE. *Pamiętnik Puławski* 132: 311–320.
- Pecio A., Bichoński A. 2003. Plon i jakość browarna ziarna jęczmienia jarego w zależności od sposobu ochrony roślin przed chorobami. *Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin* 230: 317–326.
- Ramsay L., Macaulay M., McLean K., Fuller J., Edwards K., Turesson S., Morgante M., Idegli-Ivanissivich S., Marmioli N., Maestri E., Massari A., Powell W., Waugh R. 2000. A simple sequence repeat-based linkage map on barley. *Genetics* 156 (4): 1997–2005.
- Rasmuson D.C. (ed.). 1985. *Barley*. Agronomy Series No. 26. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Publishers, Madison, Wisconsin, USA.
- Schwarzbach E. 2008. WORK-index *mlo*. <http://www.crpmb.org/mlo/> [Accessed: 20.05.2016].
- Szarzyńska J. 2015. Jęczmień. s. 22–45. W: „Lista opisowa odmian roślin rolniczych“ (E. Gacek, red.). COBORU, Słupia Wielka, 188 ss.