PROGRESS IN PLANT PROTECTION
59 (1): 46-52, 2019
ISSN 1427-4337

DOI: 10.14199/ppp-2019-007
Published online: 11.03.2019

Received: 02.11.2018 / Accepted: 27.02.2019

Molecular analysis of resistance to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) of selected winter wheat genotypes analyzed in post-registration variety testing

Molekularna ocena odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) wybranych genotypów pszenicy ozimej analizowanych w doświadczeniach porejestrowych

Justyna Szwarc*, Danuta Kurasiak-Popowska, Agnieszka Tomkowiak, Roksana Skowrońska

Summary

The aim of this study was to identify powdery mildew resistance genes in winter wheat cultivars obtained from Post-registration Variety Testing (PDO). The research material contained leaves of 46 winter wheat cultivars, obtained from post-registration cultivar testing field trials in Choryń, conducted by Danko Hodowla Roślin. Primers designed based on the markers *Xcfd81* (*Pm2* gene) and STS_{-241} (*Pm4b* gene) were used to identify resistance genes. *Pm2* gene was identified in 23 cultivars and *Pm4b* gene was identified in 21 cultivars. This study confirmed the efficiency of *Xcfd81* and STS_{-241} markers in identification of *Pm2* and *Pm4b* genes.

Key words: wheat, *Xcfd81*, STS_{-241}, powdery mildew

Streszczenie

Celem pracy była identyfikacja genów odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw u odmian pszenicy zwyczajnej ozimej pochodzących z Porejestrowego Doświadczalnictwa Odmianowego (PDO). Materiał badawczy stanowiły liście 46 odmian pszenicy ozimej, pozyskane z doświadczeń PDO w Choryni prowadzonych przez Danko Hodowla Roślin. Do identyfikacji genów odporności wykorzystano startery zaprojektowane na bazie markerów *Xcfd81* (gen *Pm2*) oraz STS_{-241} (gen *Pm4b*). Gen *Pm2* zidentyfikowano u 23 odmian, a gen *Pm4b* zidentyfikowano u 21 odmian. Badania potwierdziły skuteczność markerów *Xcfd81* oraz STS_{-241} w identyfikacji genów *Pm2* i *Pm4b*.

Słowa kluczowe: pszenica, *Xcfd81*, STS_{-241}, mączniak prawdziwy

Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Katedra Genetyki i Hodowli Roślin
Dojazd 11, 60-632 Poznań
*corresponding author: justyna.szwarc@up.poznan.pl

Wstęp / Introduction

Pszenica zwyczajna (*Triticum aestivum* L.) jest zbożem podatnym na wiele chorób, a za jedną z najważniejszych uznaje się mączniaka prawdziwego zbóż i traw (Jasińska i Kotecki 2003; Tratwal 2012). Sprawca choroby – *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* może powodować straty plonu sięgające 34–50% (Niewoehner i Leath 1998; Czajowski i Czembor 2016). Za najskuteczniejsze metody walki z mączniakiem prawdziwym zbóż i traw uważa się stosowanie fungicydów oraz hodowlę odmian odpornych (Kowalczyk i wsp. 2011). *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* jest jednym z organizmów o wysokim ryzyku wykształcenia odporności na substancje czynne używane w fungicydach, dlatego metoda hodowlana jest przez wielu autorów uznawana za najlepszy sposób ograniczania występowania tego patogena (Ge i wsp. 1998; Kowalczyk i wsp. 2011; Czajowski i Czembor 2016). Dotychczas odkryto 77 genów odporności pszenicy (*Pm*) zlokalizowanych w 49 loci. Niektóre loci (*Pm1*, *Pm2*, *Pm3*, *Pm4*, *Pm5*, *Pm8*, *Pm24*) zawierają więcej niż jeden wariant genu (Miranda i wsp. 2006; Hao i wsp. 2015). Odmiany pszenicy tylko z jednym genem odporności na mączniaka prawdziwego szybko stają się podatne na patogena. Rozwiązaniem problemu przełamywania odporności jest piramidyzacja polegająca na kumulowaniu wielu genów odporności w jednym genotypie (odmianie) za pomocą hodowli (Bennett 1984; Singrün i wsp. 2004). Wiele genów odporności używanych w hodowli zostało zmapowanych za pomocą markerów molekularnych – znaczników sprzężonych z nimi cech. Selekcja z użyciem markerów (MAS – marker-assisted selection) umożliwia identyfikację genów u wprowadzanych odmian w sposób szybki, niezawodny oraz niezależny od warunków zewnętrznych i faz rozwojowych rośliny (Pietrusińska i Czembor 2015). MAS jest szczególnie przydatna w przypadku cech, które trudno ocenić poprzez obserwację roślin (Mohan i wsp. 1997). Do najczęściej stosowanych technik MAS zaliczyć można selekcję przy użyciu następujących typów markerów: Randomly Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), Amplified Fragment Lenght Polymorphism (AFLP), Simple Sequence Repeats (SSR), Sequence Tagged Site (STS) i Sequence Characterized Amplified Region (SCAR) (Sztuba-Solińska 2005).

Celem pracy była identyfikacja genów odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (*Pm2* i *Pm4b*) u odmian pszenicy zwyczajnej ozimej pochodzących z Porejestrowego Doświadczalnictwa Odmianowego.

Materiały i metody / Materials and methods

Materiał badawczy stanowiły liście 46 odmian pszenicy zwyczajnej pochodzące z doświadczeń prowadzonych w 2017 roku przez firmę Danko Hodowla Roślin w ramach Porejestrowego Doświadczalnictwa Odmianowego organizowanego przez Centralny Ośrodek Badania Odmian Roślin Uprawnych (COBORU). Wszystkie odmiany oprócz Memory, Julius, Aleksander i Desamo są wpisane do Krajowego Rejestru Odmian. Wykaz odmian poddanych analizie wraz z nazwą hodowcy zachowującego odmianę został przedstawiony w tabeli 1. Izolację DNA wykonano przy użyciu zestawu do izolacji genomowego DNA z materiału roślinnego Genomic Mini AX Plant (A&A Biotechnology), zgodnie z załączonym protokołem. Po wykonaniu izolacji zmierzono koncentrację DNA w próbach przy użyciu spektrofotometru DS-11 DeNovix. Następnie próby rozcieńczono buforem Tris HCl 10 mM (A&A Biotechnology) w celu uzyskania jednolitego stężenia DNA 70 ng/µl. Łańcuchową reakcję polimerazy (PCR – polymerase chain reaction) przeprowadzono w mieszaninie o składzie: woda – 5 µl, DreamTaq PCR MasterMix (Thermo Fisher Scientific) – 6,25 µl, startery – 2 × 0,25 µl, matryca DNA – 1 µl. Stężenie końcowe starterów wynosiło 20 µM. W celu identyfikacji genów odporności pszenicy na mączniaka prawdziwego zbóż i traw wykorzystano następujące markery: *Xcfd81* – identyfikacja genu *Pm2*, STS_{-241} – identyfikacja genu *Pm4b* (tab. 2). Reakcje PCR przeprowadzano w termocyklerze T3 (Biometra). Warunki reakcji były jednakowe dla identyfikowanych markerów, a profil reakcji przedstawiał się następująco: denaturacja wstępna – 3 minuty w 94°C, 40 cykli (denaturacja – 30 sekund w 94°C, przyłączanie starterów – 1 minuta w 56°C, synteza – 1 minuta w 72°C), synteza końcowa – 5 minut w 72°C. Elektroforezę prowadzono w 2,5% żelu agarozowym, do którego dodano barwnik Midori Green Advance DNA Stain (Nippon Genetics Europe) w ilości 5 µl na 100 ml żelu. Rozdział wykonano pod napięciem prądu 120 V w warunkach chłodni przez 1,5 godziny. Do wizualizacji produktów reakcji PCR wykorzystano transiluminator GelDoc XR+ (Biorad) oraz program ImageLab (Biorad).

Wyniki i dyskusja / Results and discussion

W wyniku przeprowadzonych analiz z użyciem markera *Xcfd81* zidentyfikowano gen *Pm2* u 23 odmian pszenicy (rys. 1, 2, 3). Marker STS_{-241} umożliwił identyfikację genu *Pm4b* u 21 badanych odmian (rys. 4, 5, 6). Szczegółowa interpretacja analiz znajduje się w tabeli 3.

Zgodnie z opisową listą odmian (Bundessortenamt 2018), gen *Pm2* posiadają odmiany: Patras, Tobak i Sailor. Według Tomkowiak i wsp. (2017) odmiana Hondia również posiada ten gen. W trakcie badań udało się potwierdzić te informacje, co świadczy o skuteczności markera *Xcfd81*. Również badania Huang i wsp. (2012) oraz Ma i wsp. (2015, 2016) potwierdzają dużą przydatność tego markera. W pracy Tomkowiak i wsp. (2017), marker umożliwił

zidentyfikowanie genu *Pm2* u 21 z 27 odmian pszenicy zawierających ten gen.

Według Bundessortenamt (2018), gen *Pm4b* posiadają odmiany Sailor oraz Franz. Niniejsze badania potwierdzają te informacje, co wskazuje na skuteczność markera STS_{-241}. Według Yi i wsp. (2008), marker ten jest użyteczny i z powodzeniem może być stosowany w analizach molekularnych. W badaniach Kowalczyka i wsp. (2011) ten sam marker również umożliwił zidentyfikowanie genu *Pm4b*. Na podstawie badań w tej pracy oraz wymienionych autorów, można stwierdzić, że marker STS_{-241} jest wysoce przydatny do identyfikacji genu *Pm4b* pszenicy.

Połowa spośród badanych w tej pracy genotypów posiada gen *Pm2*, z kolei gen *Pm4b* występuje u 46% analizowanych odmian. Aż 42% badanych odmian, u których skutecznie udało się zidentyfikować gen *Pm2* lub *Pm4b* po-

Tabela 1. Wykaz badanych odmian wraz z listą hodowców zachowujących (COBORU 2018)
Table 1. List of studied cultivars and a list of maintainers of cultivars (breeders COBORU 2018)

Odmiana Cultivar	Hodowca zachowujący Breeder	Odmiana Cultivar	Hodowca zachowujący Breeder
1 Belissa	HR Smolice Grupa IHAR	24 KWS Livius	KWS Lochow GmbH
2 Opcja	HR Strzelce Grupa IHAR	25 KWS Ozon	KWS Lochow GmbH
3 Pokusa	HR Strzelce Grupa IHAR	26 Franz*	Nordsaat
4 Medalistka	Małopolska Hodowla Roślin	27 Rivero	Nordsaat Saatzucht
5 Natula	Małopolska Hodowla Roślin	28 Aleksander	Secobra Recherches
6 Astoria	Poznańska Hodowla Roślin	29 Sailor*	Secobra Saatzucht GmbH
7 Arkadia	Danko HR	30 Florus	Strube
8 Banderola	Danko HR	31 Lavantus	Strube
9 Hondia	Danko HR	32 Leandrus	Strube
10 Jantarka	Danko HR	33 Platin	Strube
11 Mewa	Danko HR	34 Rotax	Strube
12 Ostroga	Danko HR	35 Desamo	Syngenta Seeds GmbH
13 Tytanika	Danko HR	36 Dolores	Syngenta Seeds GmbH
14 Memory	Secobra Recherches SA	37 Fakir	Syngenta Seeds GmbH
15 Bartosz	Borries-Eckendorf	38 Delawar	Syngenta Seeds GmbH
16 Bonanza	Borries-Eckendorf	39 Fidelius	Saatzucht Donau
17 Janosch	Borries-Eckendorf	40 Frisky	Limagrain Europe
18 Tobak*	Borries-Eckendorf	41 LG Jutta	Limagrain Europe
19 Artist	Deutsche Saatveredelung AG	42 Linus	RAGT 2n
20 Patras*	Deutsche Saatveredelung AG	43 Praktik	RAGT 2n
21 Julius	KWS Lochow GmbH	44 RGT Kicker	RAGT 2n
22 KWS Dakotana	KWS Lochow GmbH	45 RGT Kilimanjaro	RAGT 2n
23 KWS Kiran	KWS Lochow GmbH	46 Hybery	Saaten Union Recherche

*odmiany referencyjne, o potwierdzonej obecności genów odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (Bundessortenamt 2018)
reference cultivars with confirmed presence of powdery mildew resistance genes (Bundessortenamt 2018)

Tabela 2. Charakterystyka starterów wykorzystanych do łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR)
Table 2. Characteristics of primers used in polymerase chain reaction

Marker Marker	Sekwencje starterów Primers sequence	Oczekiwany produkt reakcji PCR [pz] Expected PCR product [bp]	Źródło Source
Xcfd81	F: 5'TAT CCC CAA TCC CCT CTT3' R: 5'GTC AAT TGT GGC TTG TCC CT3'	283	Qiu i wsp. Qiu et al. (2006)
STS_{-241}	F: 5'CTC ATT CTT GTT TTA CTT CCT TCA GT3' R: 5'GTC TCG TCT TCA GCA TCC TAT ACA3'	241	Yi i wsp. Yi et al. (2008)

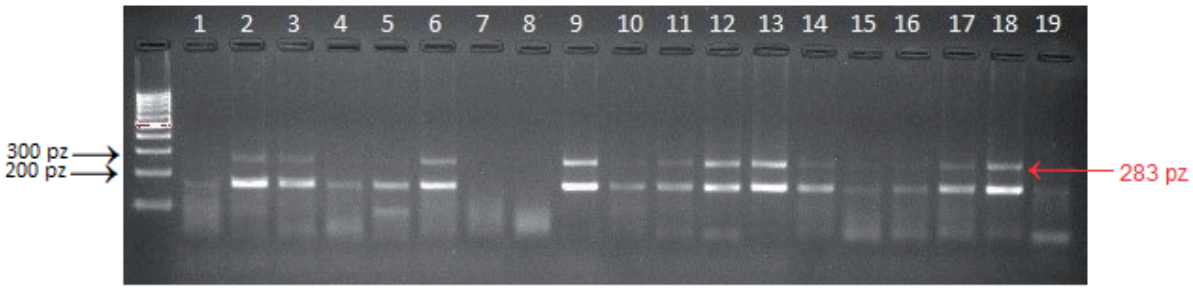
Tabela 3. Interpretacja analiz – obecność genów *Pm2* i *Pm4b* w badanych odmianach
Table 3. Interpretation of analyses – presence of *Pm2* and *Pm4b* genes in examined cultivars

Odmiana Cultivar	Zidentyfikowane geny Identified genes	Odmiana Cultivar	Zidentyfikowane geny Identified genes
1 Belissa	–	24 KWS Livius	*Pm4b*
2 Opcja	*Pm2*, *Pm4b*	25 KWS Ozon	–
3 Pokusa	*Pm2*	26 Franz*	*Pm2*, *Pm4b*
4 Medalistka	*Pm4b*	27 Rivero	*Pm2*, *Pm4b*
5 Natula	*Pm4b*	28 Aleksander	*Pm4b*
6 Astoria	*Pm2*, *Pm4b*	29 Sailor*	*Pm2*, *Pm4b*
7 Arkadia	–	30 Florus	*Pm2*, *Pm4b*
8 Banderola	*Pm4b*	31 Lavantus	*Pm2*
9 Hondia	*Pm2*, *Pm4b*	32 Leandrus	–
10 Jantarka	*Pm2*	33 Platin	*Pm2*
11 Mewa	*Pm2*	34 Rotax	*Pm2*, *Pm4b*
12 Ostroga	*Pm2*	35 Desamo	–
13 Tytanika	*Pm2*, *Pm4b*	36 Dolores	–
14 Memory	*Pm2*, *Pm4b*	37 Fakir	–
15 Bartosz	–	38 Delawar	–
16 Bonanza	*Pm4b*	39 Fidelius	*Pm2*, *Pm4b*
17 Janosch	*Pm2*	40 Frisky	–
18 Tobak*	*Pm2*, *Pm4b*	41 LG Jutta	*Pm4b*
19 Artist	*Pm4b*	42 Linus	*Pm2*
20 Patras*	*Pm2*	43 Praktik	–
21 Julius	*Pm2*, *Pm4b*	44 RGT Kicker	*Pm2*
22 KWS Dakotana	–	45 RGT Kilimanjaro	–
23 KWS Kiran	–	46 Hybery	–

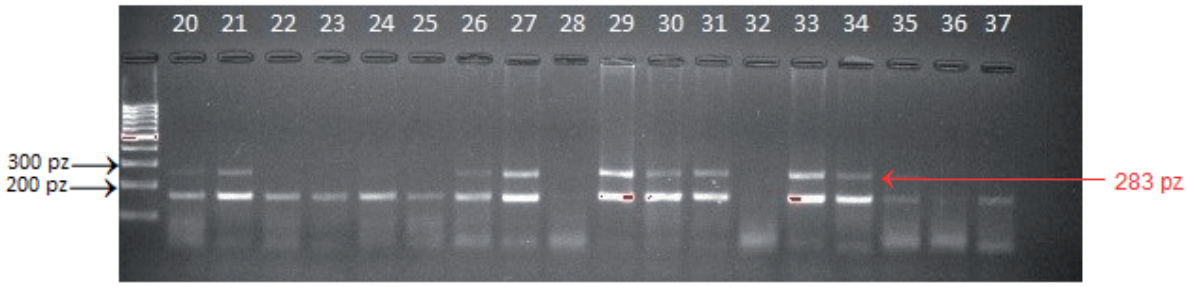
*odmiany referencyjne, o potwierdzonej obecności genów odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (Bundessortenamt 2018)
reference cultivars with confirmed presence of powdery mildew resistance genes (Bundessortenamt 2018)

siada kombinację tych dwóch genów. Wskazuje to na dużą powszechność tych genów w programach hodowlanych. Prace Lutz i wsp. (1992), Svec i wsp. (2002) oraz Alam i wsp. (2011) potwierdzają, że geny *Pm2*, *Pm4b* oraz kombinacja genów *Pm2* + *Pm6* są nadal jednymi z najczęściej występujących źródeł odporności pszenicy na mączniaka prawdziwego zbóż i traw w odmianach europejskich i polskich. Bardzo duże rozpowszechnienie tych genów sprawia, że zwiększa się wirulencja patogena wobec nich. Limpert i wsp. (1987) przeprowadzili badania dotyczące wirulencji *B. graminis* f. sp. *tritici* w Europie. Wyniki ich prac sprzed ponad 30 lat przedstawiają nieskuteczność pojedynczych genów *Pm2* i *Pm4b*. Według Felsenstein i Jaser (2007) w Niemczech wobec genu *Pm2* wirulentnych jest 100% izolatów patogena. Gen *Pm4b* również został sklasyfikowany jako niosący znikomą odporność. Z kolei Li i wsp. (2011) podaje, że gen *Pm2* w wielu regionach świata nadal stanowi dobre źródło odporności. Pietrusińska i Czembor (2014) analizowali wirulencję izolatów sprawcy mączniaka prawdziwego w Polsce wobec odmian z ustalonymi genami odporności *Pm*. Zdecydowana większość (ponad 90%) izolatów była wirulentna wobec genu *Pm2*. Gen *Pm4b* również nie wykazał dużej skuteczności – 74% izolatów było zdolnych do porażenia odmiany z genem *Pm4b*. Z kolei według Ma i wsp. (2011), mimo iż gen *Pm2* nie jest użyteczny jako główne źródło odporności, może utrzymywać skuteczność jako część piramidy genowej. W związku z obniżającą się efektywnością dotychczas szeroko wykorzystywanych genów odporności, konieczne jest dążenie do większego zróżnicowania genetycznego poprzez wprowadzanie w programach hodowlanych genów, które charakteryzują się wysoką skutecznością i które nie są powszechne w odmianach zarejestrowanych w Polsce. W tym celu, niezbędne jest poszukiwanie nowych źródeł odporności i kontynuacja badań dotyczących wirulencji *B. graminis* f. sp. *tritici* w Polsce i Europie.

W pracy dokonywano identyfikacji genów odporności z użyciem markerów molekularnych. Pszenica jest rośliną,

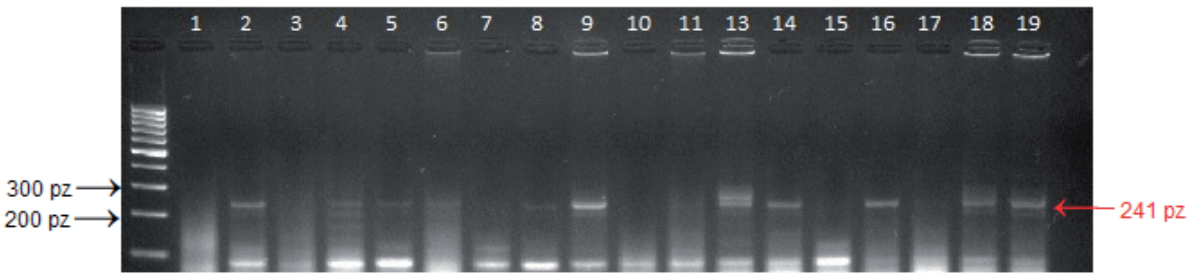


Rys. 1. Obraz elektroforetyczny z rozdziałem produktów PCR z użyciem markera *Xcfd81*. Kolejność genotypów na żelu została zamieszczona w tabeli 1.
Fig. 1. Electrophoresis of PCR products with marker *Xcfd81*. The order of genotypes in gel according to Table 1

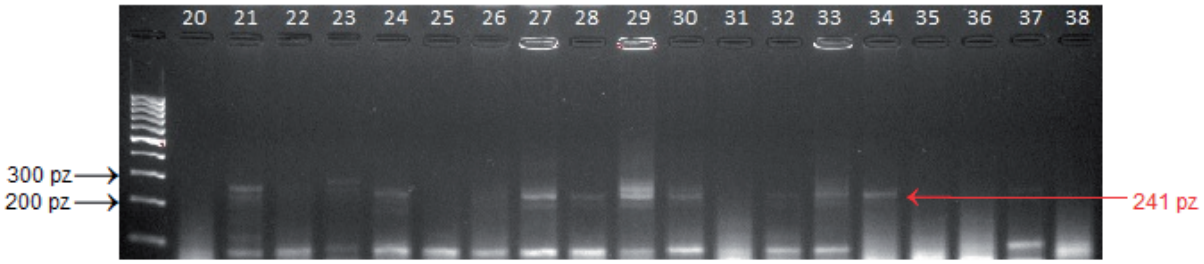


Rys. 2. Obraz elektroforetyczny z rozdziałem produktów PCR z użyciem markera *Xcfd81*. Kolejność genotypów na żelu została zamieszczona w tabeli 1.
Fig. 2. Electrophoresis of PCR products with marker *Xcfd81*. The order of genotypes in gel according to Table 1

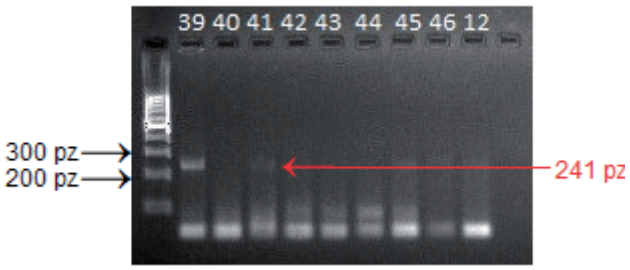
Rys. 3. Obraz elektroforetyczny z rozdziałem produktów PCR z użyciem markera *Xcfd81*. Kolejność genotypów na żelu została zamieszczona w tabeli 1.
Fig. 3. Electrophoresis of PCR products with marker *Xcfd81*. The order of genotypes in gel according to Table 1



Rys. 4. Obraz elektroforetyczny z rozdziałem produktów PCR z użyciem markera STS_{-241}. Kolejność genotypów na żelu została zamieszczona w tabeli 1.
Fig. 4. Electrophoresis of PCR products with marker STS_{-241}. The order of genotypes in gel according to Table 1



Rys. 5. Obraz elektroforetyczny z rozdziałem produktów PCR z użyciem markera STS_{-241}. Kolejność genotypów na żelu została zamieszczona w tabeli 1.
Fig. 5. Electrophoresis of PCR products with marker STS_{-241}. The order of genotypes in gel according to Table 1



Rys. 6. Obraz elektroforetyczny z rozdziałem produktów PCR z użyciem markera STS_{-241}. Kolejność genotypów na żelu została zamieszczona w tabeli 1.
Fig. 6. Electrophoresis of PCR products with marker STS_{-241}. The order of genotypes in gel according to Table 1

dla której ze względu na jej duże znaczenie gospodarcze, prowadzi się wiele badań mających na celu stworzenie nowych markerów do identyfikacji genów odporności na mączniaka prawdziwego zbóż i traw, oraz badań oceniających przydatność konkretnych markerów w analizach (Gupta i Varshney 2000). Szczególnie w ostatnich latach dokonano dużego postępu w tych dziedzinach (Alam i wsp. 2011). Dużą zaletą MAS jest brak uzależnienia od warunków środowiskowych. W niniejszej pracy wykazano, że markery są bardzo użytecznym narzędziem identyfikacji genów. Ponadto, uzasadniona wydaje się być potrzeba poszukiwania nowych, wysoce specyficznych markerów sprzężonych z genami odporności na mączniaka prawdziwego.

Wnioski / Conclusions

1. Wykazano przydatność markera *Xcfd81* do identyfikacji genu *Pm2*.
2. Wykazano przydatność markera STS_{-241} do identyfikacji genu *Pm4b*.

Literatura / References

Alam A., Xue F., Wang Ch., Ji W. 2011. Powdery mildew resistance genes in wheat: identification and genetic analysis. Journal of Molecural Biology Research 1 (1): 1–39. DOI: 10.5539/jmbr.v1n1p20.

Bennett F.G.A. 1984. Resistance to powdery mildew in wheat: a review of its use in agriculture and breeding programmes. Plant Pathology 33 (3): 279–300. DOI: 10.1111/j.1365-3059.1984.tb01324.x.

Bundessortenamt 2018. Beschreibende Sortenliste 2017. www.bundessortenamt.de/internet30/fileadmin/Files/PDF/bsl_getreide_2017.pdf [dostęp: 11.05.2018].

COBORU 2018. http://www.coboru.pl [dostęp: 12.07.2018].

Czajowski G., Czembor P. 2016. Chorobotwórczość *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* i *Blumeria graminis* f. sp. *triticale* sprawców mączniaka prawdziwego zbóż i traw na pszenicy i pszenżycie. [Pathogenicity of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* and *Blumeria graminis* f. sp. *triticale* the causal agents of wheat and triticale powdery mildew]. Progress in Plant Protection 56 (3): 360–365. DOI: 10.14199/ppp-2016-058.

Felsenstein F.G., Jaser B. 2007. Fungizidresistenz bei pilzlichen Getreide pathogenen und Wirksamkeit der vertikalen (qualitativen) Mehltauresistenz bei Weizen und Gerste. Situationsbericht 2005. www.epilogic.de/BL2007Bericht.pdf [dostęp: 6.06.2018].

Ge Y., Johnson J.W., Roberts J.J., Rajaram S. 1998. Temperature and resistance gene interactions in the expression of resistance to *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. Euphytica 99 (2): 103–109. DOI: 10.1023/A:1018392725474.

Gupta P.K., Varshney R.K. 2000. The development and use of microsatellite markers for genetic analysis and plant breeding with emphasis on bread wheat. Euphytica 113 (3): 163–185. DOI: 10.1023/A:1003910819967.

Hao Y., Parks R., Cowger C., Chen Z., Wang Y., Bland D., Johnson J., Murphy J.P., Guedira M., Brown-Guedira G. 2015. Molecular characterization of a new powdery mildew resistance gene *Pm54* in soft red winter wheat. Theoretical and Applied Genetics 128 (3): 465–476. DOI: 10.1007/s00122-014-2445-1.

Huang J., Zhao Z., Song F., Wang X., Xu H., Huang Y., Diaoguo A., Li H. 2012. Molecular detection of a gene effective against powdery mildew in the wheat cultivar Liangxing 66. Molecular Breeding 30 (4): 1737–1745. DOI: 10.1007/s11032-012-9757-0.

Jasińska Z., Kotecki A. 2003 Szczegółowa uprawa roślin. Tom I. Wydawnictwo Akademii Rolniczej we Wrocławiu, 510 ss. ISBN 83-89189-15-1.

Kowalczyk K., Gruszecka D., Nowak M., Leśniowska-Nowak J. 2011. Resistance of *Triticale* hybrids with *Pm4b* and *Pm6* genes to powdery mildew. Acta Biologica Cracoviensia – Series Botanica 53 (1): 57–62. DOI: 10.2478/v10182-011-0008-1.

Li H.J., Wang X.M., Song F.J., Wu C.P., Wu X.F., Zhang N., Zhou Y., Zhang X.Y. 2011. Response to powdery mildew and detection of resistance genes in wheat cultivars from China. Acta Agronomica Sinica 37 (6): 943–954. DOI: 10.1016/S1875-2780(11)60026-6.

Limpert E., Felsenstein F.G., Andrivon D. 1987. Analysis of virulence in populations of wheat powdery mildew in Europe. Journal of Phytopathology 120 (1): 1–8. DOI: 10.1111/j.1439-0434.1987.tb04408.x.

Lutz J., Limpert E., Bartoš P., Zeller F.J. 1992. Identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aeativum* L.). I. Czechoslovakian Cultivars. Plant Breeding 108 (1): 33–39. DOI: 10.1111/j.1439-0523.1992.tb00097.x.

Ma H., Kong Z., Fu B., Li N., Zhang L., Jia H., Ma Z. 2011. Identification and mapping of a new powdery mildew resistance gene on chromosome 6D of common wheat. Theoretical and Applied Genetics 123 (7): 1099–1106. DOI: 10.1007/s00122-011-1651-3.

Ma P., Xu H., Li L., Zhang H., Han G., Xu Y., Fu X., Zhang X., An D. 2016. Characterization of a new *Pm2* allele conferring powdery mildew resistance in the wheat germplasm Line FG-1. Frontiers in Plant Science 7 (546): 1–11. DOI: 10.3389/fpls.2016.00546.

Ma P., Xu H.X., Zhang H., Li L., Xu Y., Zhang X., An D. 2015. The gene *PmWFJ* is a new member of the complex *Pm2* locus conferring unique powdery mildew resistance in wheat breeding line Wanfengjian 34. Molecular Breeding 35 (210): 1–9. DOI: 10.1007/s11032-015-0403-5.

Miranda L.M., Murphy J.P., Marshall D., Leath S. 2006. *Pm34*: a new powdery mildew resistance gene transferred from *Aegilops tauschii* Coss. to common wheat (*Triticum aestivum* L.). Theoretical and Applied Genetics 113 (8): 1497–1504. DOI: 10.1007/s00122-006-0397-9.

Mohan M., Nair S., Bhagwat A., Krishna T.G., Yano M., Bhatia C.R., Sasaki T. 1997. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. Molecular Breeding 3 (2): 87–103. DOI: 10.1023/A:1009651919792.

Niewoehner A.S., Leath S. 1998. Virulence of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* on winter wheat in the eastern United States. Plant Disease 82 (1): 64–68. DOI: 10.1094/PDIS.1998.82.1.64.

Pietrusińska A., Czembor J.H. 2014. Struktura wirulencji populacji *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* występującej na terenie Polski w latach 2012–2013. [Virulence structure of the *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* population occurring in Poland across 2012–2013]. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin 274: 15–25.

Pietrusińska A., Czembor J.H. 2015. Piramidyzacja genów – powszechne narzędzie używane w programach hodowlanych. [Gene pyramiding – a tool commonly used in breeding programs breeding programs]. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin 278: 3–16.

Qiu Y., Sun X., Zhou R., Kong X., Zhang S., Jia J. 2006. Identification of microsatellite markers linked to powdery mildew resistance gene *Pm2* in wheat. Cereal Research Communications 34 (4): 1267–1273. DOI: 10.1556/CRC.34.2006.4.268.

Singrün C.H., Hsam S.L.K., Zeller F.J., Wenzel G., Mohler V. 2004. Localization of a novel recessive powdery mildew resistance gene from common wheat line RD30 in the terminal region of chromosome 7AL. Theoretical and Applied Genetics 109 (1): 210–214. DOI: 10.1007/s00122-004-1619-7.

Svec M., Szunics L., Miklovicova M., Slovakova T., Tisova V., Hauptvogel P. 2002. Identification of genes for resistance to wheat powdery mildew in Hungarian, Polish and Slovak wheat cultivars. Plant Protection Science 38 (2): 64–72.

Sztuba-Solińska J. 2005. Systemy markerów molekularnych i ich zastosowanie w hodowli roślin. [Molecular markers systems and their application in plant breeding]. Kosmos Problemy Nauk Biologicznych 54 (2–3): 227–239.

Tomkowiak A., Kurasiak-Popowska D., Grynia J., Nawracała J., Mikołajczyk S., Weigt D., Niemann J., Kiel A. 2017. Ocena przydatności markerów molekularnych *Xgwm205*, *Xcfd81*, *Whs350* do identyfikacji genu odporności *Pm2* na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) u odmian pszenicy o zróżnicowanym pochodzeniu. [Evaluation of the usefulness of molecular markers *Xgwm205*, *Xcfd81*, *Whs350* for the identification of resistance gene *Pm2* to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *tritici*) in wheat cultivars of different origins]. Progress in Plant Protection 57 (2): 146–152. DOI: 10.14199/ppp-2017-023.

Tratwal A. 2012. Występowanie ważnych gospodarczo chorób pszenicy ozimej w Polsce w latach 2006–2010. [Occurence of more important diseases on winter wheat in Poland 2006–2010]. Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, Sectio E, Agricultura 67 (2): 29–41.

Yi Y.J., Liu H.Y., Haung X.Q., An L.Z., Wang F., Wang X.L. 2008. Development of molecular markers linked to the wheat powdery mildew resistance gene *Pm4b* and marker validation for molecular breeding. Plant Breeding 127 (2): 116–120. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2007.01443.x.