

JERZY H. CZEMBOR¹**ELŻBIETA CZEMBOR**²¹ Zakład Genetyki i Hodowli Roślin² Samodzielna Pracownia Traw i Roślin Motylkowatych
Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin, Radzików

Odporność Mło jęczmienia na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*)

Część I. Genetyka, fenotyp, mechanizm i badania molekularne

Mlo resistance of barley to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) **Part I. Genetics, phenotype, mechanism and molecular investigations**

Odporność Mło jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.) odgrywa coraz większą rolę w ochronie jęczmienia przed mączniakiem prawdziwym (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). Odporność ta jest bardzo efektywna i jest powszechnie używana w programach hodowlanych jęczmienia w Europie. W artykule podano najnowsze informacje na temat genetyki, fenotypu, mechanizmu i badań molekularnych nad odpornością Mło.

Słowa kluczowe: jęczmień, mączniak prawdziwy, odporność Mło

Significance of the Mlo resistance in protection of barley (*Hordeum vulgare* L.) against powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) has been successively growing up. This type of resistance is very effective, and is commonly used in breeding programmes in Europe. In this paper, the current knowledge of the genetics, phenotype and mechanism of the Mlo resistance, including the results of recent molecular studies, is reviewed.

Key words: barley, Mlo resistance, powdery mildew

WSTĘP

Na świecie jęczmień (*Hordeum vulgare* L.) jest czwartą pod względem znaczenia rośliną zbożową po kukurydzy, pszenicy i ryżu. Jest uprawiany na ponad 70 mln hektarach, a jego globalna produkcja wynosi ponad 160 mln ton. W krajach Unii Europejskiej jest pod względem znaczenia gospodarczego drugą po pszenicy rośliną zbożową i ma ok. 32% udziału w areale zbóż (Rasmusson, 1985; Atzema, 1998). Często, jest to jedyne zboże uprawiane na terenach suchych oraz na glebach kwaśnych (Ceccarelli i in., 1995).

W ostatnich latach w Polsce areał uprawy jęczmienia wynosił ok. 1,3 mln ha (jęczmienia jarego ok. 1,0–1,1 mln ha, a jęczmienia ozimego ok. 170 tys. ha) (Anonim, 1999). Jęczmień jary jest uprawiany na terenie całej Polski, z wyjątkiem terenów położonych powyżej 500 m n.p.m., gdzie dominuje owies. Z uwagi na niską mrozoodporność jęczmień ozimy jest uprawiany w zachodniej części Polski (Słaboński, 1994).

Jęczmień uprawia się na cele paszowe i przemysłowe. Do celów przemysłowych zalicza się produkcję piwa, wódki szkockiej (whisky), kaszy oraz namiastek kawowych. W Polsce jęczmień jary uprawia się w 70%, a ozimy w całości na cele paszowe. Główne rejony uprawy jęczmienia dla celów browarowych zlokalizowane są na Śląsku, w Wielkopolsce, Pomorzu i Kujawach. Odpowiednia agrotechnika oraz brak występowania chorób, w tym mączniaka, warunkują dobrą jakość ziarna jęczmienia (Słaboński, 1985, 1994).

Mączniak prawdziwy jęczmienia powodowany przez grzyba *Blumeria graminis* (DC.) Golovin ex Speer f. sp. *hordei* (synonim *Erysiphe graminis* DC. f. sp. *hordei* Em Marchal) występuje powszechnie w głównych rejonach uprawy tego gatunku na całym świecie. W większości krajów Europejskich występowanie mączniaka powoduje poważne straty w plonie i istotnie obniża jego jakość (Czembor, 1996; Atzema, 1998). Choroba ta jest mniej ważna ekonomicznie jedynie na północy i południu kontynentu. Największe straty w plonie choroba ta powoduje w Centralnej Europie, gdzie wynoszą one średnio 10%, a w niektórych rejonach mogą one osiągnąć 25% (Gacek i Czembor 1984; Zwarz, 1987; Schally i in., 1995). W Polsce mączniak jest jedną z najważniejszych chorób jęczmienia. Powoduje on znaczne straty w plonie ziarna odmian podatnych, sięgające od kilku do kilkudziesięciu procent w zależności od nasilenia choroby (Czembor, 1981 a, 1981 b; Gacek, 1990). Również istotnie wpływa na jakość ziarna, szczególnie obniżając masę tysiąca nasion, co jest ważne przy produkcji jęczmienia browarnego (Balkema-Boomstra i Masterbroek, 1995; Griffiths i in., 1975).

Aby zapobiec stratom powodowanym przez mączniaka opracowano wiele metod ochrony roślin jęczmienia. Dominują dwie metody: ochrona chemiczna oraz hodowla odmian odpornych. Ochrona chemiczna jest metodą efektywną i szybką w zastosowaniu, jednak może powodować efekty uboczne w postaci skażenia środowiska przez środki chemiczne toksyczne dla ludzi, zwierząt i roślin (Arseniak, 1983; Czembor i Czembor, 1998, 1999, 2001). Oprócz tego, w latach siedemdziesiątych ubiegłego wieku, pojawił się problem uodporniania się patogenów roślin, w tym *B. graminis* f. sp. *hordei*, na działanie substancji aktywnych zawartych w powszechnie stosowanych fungicydach systemicznych (Gacek, 1992). Hodowla odmian odpornych jest metodą ekologiczną oraz znacznie tańszą w zastosowaniu w porównaniu do metody ochrony chemicznej. Warunkiem powodzenia tej metody jest wprowadzenie przez hodowców różnych, efektywnych genów odporności na mączniaka do nowych odmian oraz właściwe wykorzystanie tych odmian w celu zapewnienia trwałości odporności (Gacek i Czembor, 1983, 1984; Czembor i Gacek, 1987, 1990; Gacek, 1989, 1990). Odporność rasowo specyficzna jest najbardziej popularna wśród hodowców i producentów jęczmienia (Arseniak, 1995 a, 1995 b; Czembor i Czembor, 2001). Odporność ta jest zwykle uwarunkowana przez pojedyncze, główne geny odporności oraz charakteryzuje się wyraźną ekspresją fenotypową. Podstawową wadą tego

rodzaju odporności jest zjawisko jej „załamywania”, wynikające z procesów adaptacyjnych mączniaka (Czembor, 1983, 1984 a, 1984 b; Gacek, 1998).

W latach dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku w ochronie jęczmienia przed mączniakiem dużego znaczenia nabrała wysoce efektywna odporność *Mlo* (Czembor, 2000, 2002; Czembor i Czembor 2003 b). Odporność ta jest powszechnie używana w programach hodowlanych jęczmienia prowadzonych przez wszystkie znaczące firmy hodowlane w Europie. Nie jest ona odpornością rasowo-specyficzną i warunkowana jest jednym recesywnym genem (Jørgensen, 1971 a, 1971 b, 1991 b). Mimo, że odmiany z tą odpornością uprawiane są od 20 lat na dużym areale w Europie, to dotychczas nie znaleziono rasy fizjologicznej mączniaka posiadającej gen wirulencji komplementarny do tej odporności (Jørgensen, 1993; Atzema, 1998; Schwarzbach, 1997 a, 1997 b, 1998; Hovmøller i in., 2000). Ze względu na zwiększające się zainteresowanie zastosowaniem odporności *Mlo* w zwalczaniu *B. graminis* f. sp. *hordei* autorzy uznali za wskazane zebranie informacji dotyczących jej uwarunkowań genetycznych, fenotypu i mechanizmu działania.

GENETYKA

Odporność *Mlo* na mączniak prawdziwy jęczmienia jest warunkowana przez serię recesywnych alleli w locus *Mlo* (Schwarzbach, 1967; Jørgensen, 1991 a, 1994; Czembor i Fresk, 2003). Dotychczas opisano przynajmniej jeden allel (*mlo11*) w odmianach miejscowych z Etiopii oraz ponad 160 mutantów z odpornością *Mlo* otrzymanych w wyniku działania takich mutagenów jak EMS oraz promieniowania X i γ (Nover i Schwarzbach, 1971; Yamaguchi i Yamashita, 1979; Czembor i Gacek, 1991; Czembor i Czembor, 2003 b). Na podstawie badań genetycznych udowodniono istnienie 30 alleli *mlo* (Jørgensen, 1983, 1992 a, 1992 b; Piffanelli i in., 2002; Czembor i Czembor, 2003 a). Gen odporności w locus *Mlo* został zlokalizowany na dłuższym ramieniu chromosomu 4 w odległości 42 cM od genu *br2* i 50 cM od centromeru (Jørgensen, 1977 b; Jensen, 1987). Jørgensen i Jensen (1979) przeprowadzili badania genetyczne mające na celu wyjaśnienie struktury locus *Mlo*. Powyższe badania wykazały istnienie przynajmniej 3 zmutowanych miejsc oddalonych od siebie o ok. 0,05 procent rekombinacji. Jedno z tych miejsc zawiera allele *mlo1* i *mlo4* otrzymane w wyniku działania promieniowania X, a inne zawiera allele *mlo5*, *mlo8* i *mlo9* otrzymane w wyniku działania EMS. Trzecie z miejsc jest usytuowane między dwoma miejscami opisanymi powyżej i zawiera wyłącznie allel *mlo11* pochodzący z odmiany miejscowej z Etiopii (Jørgensen, 1976 a, 1976 b, 1977 a). Wielkość locus *Mlo* jest porównywalne z wielkością innych loci organizmów wyższych, które nie przekraczają zwykle 0,1% rekombinacji (Atzema, 1998). Wszystkie opisane dotychczas allele, mimo że powstały w wyniku różnych mutacji, wykazują identyczny fenotyp odporności (Jørgensen, 1983, 1992 a, 1992 b). Badania te wskazują na to, że dominujący (funkcjonalny) typ "dziki" genu *Mlo* koduje jeden produkt (białko), którego wytwarzanie może zostać zakłócone przez mutacje w kilku miejscach tego genu (Jørgensen, 1991 a, 1991 b). Badania genetyczne alleli *mlo1* do *mlo11* prowadzone przez Jørgensena i Jensena (1979) wykazały, że dominujący „dziki” allel *Mlo* uległ zmianie na recesywne allele poprzez mutacje

w jednym z przynajmniej trzech miejsc locus *Mlo*. Obecnie uważa się, że „dziki” gen *Mlo* pełni rolę negatywnego regulatora reakcji odpornościowej rośliny na zetknięcie się z patogenem (Collins i in., 2000; Lyngkjær i in., 2000; Piffanelli i in., 2002).

Zidentyfikowano dwa geny, *Ror1* i *Ror2*, które są wymagane do ekspresji odporności *Mlo* (Freialdenhoven i in., 1996; Collins i in., 2001). Rośliny jęczmienia z genem *mlo* i z jednym z zmutowanych genów *ror* wykazywały częściową ekspresję odporności *Mlo* (Schulze-Lefert i Kogel, 2000). Podobny system dwóch genów mających wpływ na ekspresję genu został opisany w przypadku rasowo specyficznego genu *Mla12* (Freialdenhoven i in., 1996; Jørgensen, 1996). Jednak geny *mlo* nie współdziałają z innymi genami odporności jęczmienia. Geny te mogą występować w odmianach jęczmienia z genami rasowo-specyficznymi oraz z genami warunkującymi odporność częściową.

FENOTYP

Długie komórki epidermy odmian jęczmienia z genem *mlo* umiejscowione nad tkankami przewodzącymi nie są penetrowane przez grzyba, podczas gdy komórki krótkie epidermy są penetrowane bardzo rzadko. Odporność *Mlo* charakteryzuje się głównie takimi cechami fenotypowymi jak obecność pojedynczych, stosunkowo małych kolonii grzyba, które rozwijają się prawie wyłącznie w wyniku infekcji komórek przyszparkowych (Wolfe, 1972; Wiberg, 1973, 1974). Tego rodzaju reakcję odpornościową oznaczono symbolem 0(4) (Nover 1972). Jednak, gdy roślina posiada dodatkowy efektywny gen odporności warunkujący na przykład reakcję odpornościową 2 to reakcja odpornościowa tej rośliny będzie oznaczona 0(2), a gdy ten dodatkowy gen będzie warunkował reakcję 0 to reakcja tej rośliny będzie oznaczona symbolem 0 (brak koloni grzyba) (Czembor, 2000; Czembor i Czembor, 2001).

Wielkość i liczba kolonii grzyba

Liczba i wielkość występujących pojedynczych koloni jest różna i zależy od wielu czynników. Ilość ta jest zawsze minimum 10 razy mniejsza niż u odmian podatnych oraz kolonie grzyba są wyraźnie mniejsze (Atzema, 1998; Schwarzbach, 1998; Lyngkjær i in., 2000).

Na podstawie dostępnej literatury można wyróżnić 9 głównych czynników mających wpływ na liczbę i wielkość koloni na roślinach z genem *mlo*:

Ilość inokulum

W wielu badaniach wykazano dodatnią zależność ilości inokulum z liczbą koloni grzyba (Jørgensen i Mortensen, 1977; Atzema, 1998; Schwarzbach, 1998).

Genotyp grzyba

Mimo testowania tysięcy izolatów w Europie i Japonii nie znaleziono dotychczas izolatu mączniaka wirulentnego w stosunku do genu *mlo* (Andersen, 1991; Atzema i in., 1994, 1996; Heta i Takeda, 1995; Atzema, 1998; Schwarzbach, 1998). Jednak wykazano istotne różnice w liczbie małych kolonii grzyba powstałych na roślinie po zakażeniu różnymi izolatami, co świadczy o istnieniu zróżnicowania w ich agresywności (Andersen 1991; Schwarzbach, 1998; Lyngkjær i in., 1995). Najwyższy opisany poziom agresywności w stosunku do genu *mlo* stanowi tylko ok. 10% agresywności patogena na materiale

roślinnym z głównymi genami odporności bez genu *mlo* (Lyngkjær i in., 1995; Atzema, 1998; Schwarzbach, 1979, 1998).

Allele *mlo*

Badania przeprowadzone w Niemczech (Habekuss i Hentrich, 1988; Hentrich i Habekuss, 1991; Röbbelen i Heun, 1991) wykazały, że odmiany z allelami *mlo* otrzymanymi w wyniku różnych mutacji tej samej odmiany zakażone mączniakiem różnią się między sobą liczbą kolonii oraz efektem plejotropowym. Zinterpretowano ten fakt jako istnienie różnic fenotypowych odporności warunkowanej poszczególnymi allelami *mlo*. Wydaje się jednak, że dalsze badania są potrzebne dla potwierdzenia występowania takiego samego tła genetycznego użytych mutantów i braku innych mutacji powstałych w procesie mutagenезы. Ostatnie badania tego zagadnienia przeprowadzone przez Atzemę (1998) nie wykazały istotnych różnic w funkcjonowaniu różnych alleli *mlo* w roślinach z tym samym tłem genetycznym. Autorka w swoich badaniach użyła 10 linii izogenicznych BCI odmiany Ingrid z allelami *mlo*: 1,3,4,5,6,7,8,9,10 i 11. Linie te zakażano izolatami HL3/5, a następnie liczono kolonie grzyba. Podobne badania przy użyciu linii izogenicznych odmiany Ingrid przeprowadzili Wolter i Zimmermann (1993). Wyniki ich badań były podobne do wyników otrzymanych przez Atzemę (1998).

Genotyp rośliny

W wielu badaniach wykazano wpływ „tła genetycznego” na ekspresję różnych alleli *mlo* oraz na liczbę kolonii grzyba (Jørgensen i Mortensen, 1977; Atzema, 1998; Baker i in., 1998). Atzema (1998) w badaniach swoich wykazała, że linie Ris5678R i BCImlo5 posiadające ten sam allel *mlo5* różnią się istotnie pod względem liczby kolonii grzyba. Schwarzbach (1987) opisał różny poziom odporności *Mlo* w różnych odmianach na zakażenie awirulentnymi w stosunku do genu *mlo* izolatami mączniaka. Stwierdził, że najwyższy poziom odporności miała odmiana Alexis, mniejszy Atem, a najmniej Apex. Wysoki poziom odporności odmiany Alexis został potwierdzony przez Atzemę (1998). Autorka ta wykazała, że odmiana Alexis posiadała najwyższy poziom odporności na wszystkie badane przez nią izolaty patogena. Odmianą najbardziej podatną okazała się odmiana Lotus. Tło genetyczne może być również przyczyną obserwowanych efektów ilościowych w ekspresji genów *mlo*. Zjawisko to opisano u odmian Grosso i Lotus, na których liczba kolonii zależała od użytych do zakażenia izolatów. Na roślinach tych odmian po zakażeniu niektórymi izolatami obserwowano zupełny brak kolonii grzyba, a po zakażeniu innymi izolatami kolonie grzyba były mniej lub bardziej liczne (Atzema 1998; Schwarzbach, 1998).

Wiek rośliny

Atzema (1998) badała trzytygodniowe siewki roślin z genem *mlo* oraz odmiany kontrolne Ingrid i Ris5678S nie posiadające genu *mlo*. Rośliny w stadium 3- lub 4-liścia inokulowała siedmioma izolatami, w tym dwoma częściowo *mlo* wirulentnymi HL3/5 i RaceI. Na siewkach posiadających gen *mlo* zaobserwowała zupełny brak kolonii grzyba, podczas gdy rośliny kontrolne bez genu *mlo* były porażone. Sugeruje to obecność mechanizmu powodującego wzrost ekspresji odporności *Mlo* wraz z wiekiem rośliny. Hwang i Heitefus (1982 a, 1982 b) wykazali, że odporność roślin na choroby w późniejszych stadiach rozwojowych rośliny może być zaobserwowana już w stadium

trzeciego liścia. Lyngkjær i wsp. (1997) stwierdzili, że dzieje się tak również w przypadku roślin z genem *mlo* zakażonych izolatem HL-3/5. Badania nad tym problemem oraz nad zagadnieniami związanymi ze zmianami fizjologicznymi w infekowanej mączniakiem komórkach epidermy roślin jęczmienia z genem *mlo* były prowadzone przez ostatnie 10 lat przez zespół Carvera w Institute of Grassland and Environmental Research, Aberystwyth, Wielka Brytania (Carver i in., 1991, 1992, 1994, 1996).

Warunki środowiska

Tymczasowe „załamanie” się odporności Mlo może spowodować m.in. obfitość wody dostępnej dla rośliny po okresie suszy (Newton i Young, 1996 a, 1996 b; Baker i in., 1998, 2000) oraz usunięcie stresu niskiej temperatury (Lyngkjær i in. 2000). Wykazano, że w warunkach laboratoryjnych i polowych niektóre genotypy jęczmienia zachowują się odmiennie (Newton, inf. ustna).

Dostępność mikro- i makroelementów

Wykazano, że dostępność azotu dla rośliny wpływa istotnie na poziom odporności Mlo (Newton i Young, 1996 a; Baker i in., 1998). Znacznie mniejsze papilla wytwarzane przez rośliny z genem *mlo* (podczas prób penetracji komórek epidermy przez grzyba) przy pozbawieniu ich dostępnego krzemu nie spowodowało zmniejszenia efektywności odporności Mlo (Zeyen i in., 2001).

Intensywność światła

Działanie intensywnego światła na rośliny z genem *mlo* powoduje zwiększenie liczby i wielkości plam nekrotycznych. Tłumaczy się to zmianami w metabolizmie tlenu pod wpływem intensywnego światła słonecznego (Dangl i in., 1996). Zmiany te obserwowano u niektórych odmian rosnących w warunkach polowych, ze szczególnym nasileniem u odmiany Krona (Walter i Zimmermann, 1993). W warunkach szklarniowych zmian takich nie obserwowano (Atzema, 1998).

Temperatura

Badania opisane przez Atzemę (1998) wykazały, że liczba kolonii powstałych w wyniku inokulacji roślin izolatem HL3/5 była 20–38% wyższa, gdy inokulacja i inkubacja była przeprowadzona w temperaturze 20°C, niż gdy to miało miejsce w temperaturze 17°C i 18°C.

Efekt plejotropowy

Drugą charakterystyczną cechą roślin jęczmienia z odpornością Mlo jest występowanie efektu plejotropowego genów *mlo* (Schwarzbach, 1976; Hentrich, 1979; Jørgensen, 1991 a). Najbardziej charakterystycznymi z tych efektów jest występowanie w różnym nasileniu chloroz i plam nekrotycznych. Występowanie chloroz i nekroz zmniejsza intensywność fotosyntezy w wyniku ograniczenia powierzchni asymilacyjnej roślin oraz ogranicza transport produktów fotosyntezy z liści do ziarniaków (Kjær i in., 1990; Jørgensen 1991 a). Według Schwarzbacha (1976), Kjæra i wsp. (1990) oraz Bjørnstada i Aastveita (1990) średni efekt plejotropowy u mutantów w porównaniu do form wyjściowych wyniósł dla masy ziarniaków ok. 4%–6%. Schwarzbach (1976) wykazał, że efekt plejotropowy dla wysokości roślin wynosi 0,3%, dla liczby kłosów 0,4%, dla liczby ziarniaków w kłosie 2,4%, a dla plonu 12,3%. W wielu badaniach wykazano istotny wpływ tła genetycznego

na wielkość efektu plejotropowego genu *mlo* (Bjørnstad i Aastveit, 1990; Kjær i in., 1990; Lundquist, 1991; Atzema, 1998).

Dangl i wsp. (1996) przedstawił hipotezę tłumaczącą efekt plejotropowy genu *mlo* tym, że gen ten należy do mutantów „Less”. „Less” są to mutanty, na których obserwuje się większe lub mniejsze plamy martwej tkanki (nekrozy) przy braku zetknięcia się tych roślin z patogenem. Bardzo często plamy te przypominają symptomy chorób np. reakcję odpornościową nadwrażliwości jęczmienia uwarunkowaną przez geny *Mla*, *MLk* i *MLh* na zakażenie mączniakiem. Reakcja nadwrażliwości polega na śmierci jednej lub więcej komórek epidermy po ich zetknięciu się ze strzępką infekcyjną grzyba. Bardzo często zamieranie komórek występuje również w przypadku zetknięcia się patogena z rośliną nieżywcicielską. Jednak tego rodzaju reakcje odpornościowe nie występują w roślinach jęczmienia z genem *mlo*. Peterhansel i wsp. (1997) wykazali, że inokulacja roślin jęczmienia z odpornością *Mlo* mączniakiem pszenicy (*B. graminis* f. sp. *tritici*) nie powoduje zamierania komórek, a jedynie tworzenie papilli. Wskazuje to, że mechanizm odporności *Mlo* działa również w przypadku zetknięcia się roślin jęczmienia z patogenem, dla którego jęczmień nie jest żywicielem. Mutanty „less” są dość często obserwowane u innych gatunków roślin np. kukurydzy. Reakcja nadwrażliwości uruchamia często nabytą odporność systemiczną (SAR — systemic acquired resistance). Odporność SAR chroni roślinę przed wszystkimi patogenami (Dangl i in., 1996). Mutanty „Less” nie są związane ze znanymi genami odporności, ale mogą być związane z nieznanymi genami odporności. Najprawdopodobniej fenotyp mutantów „Less” jest wynikiem zaburzeń w funkcjonowaniu głównych genów odporności (genów R) (Sudupak i in., 1993; Dangl i in., 1996).

Trzy lata wcześniej pierwsza odmiana z genem *mlo* (Atem) została zarejestrowana, Schwarzbach (1976) wyraził pogląd, że w związku z efektem plejotropowym genu *mlo* wyhodowanie odmiany dającej wysoki plon o dobrej jakości nie będzie możliwe. Jednak w wyniku odpowiednich krzyżowań i selekcji udało się zredukować efekt plejotropowy genu *mlo* do minimum (Czembor i Czembor, 2003 a).

MECHANIZM ODPORNOŚCI

Odporność *Mlo* polega na uniemożliwieniu przenikania przez ścianę komórkową strzępki infekcyjnej *B. graminis* f. sp. *hordei*. Dzieje się tak, ponieważ tworzona jest warstwa ochronna (papilla) poniżej miejsca zetknięcia się strzępki infekcyjnej mączniaka z powierzchnią liścia (Lyngkjær, 1985; Skou, 1985; Stolzenburg i in., 1984; Inoue i in., 1994; Lyngkjær i Østergård, 1996). Papilla powstaje na skutek szybkiego wydzielania przez komórki epidermy różnych substancji chemicznych głównie kalozy i fenoli, ale także białek i węglowodanów. Papilla stanowi fizyczną i chemiczną barierę dla strzępki mączniaka i są powszechnym mechanizmem obronnym roślin wobec patogenów (Aist, 1976, 1983; Aist i in., 1979; Aist i Bushnell, 1991). Papilla warunkowana obecnością genu *mlo* są ponad dwa razy większe i grubsze od papilli wytwarzanych przez komórki rośliny w wyniku działania genów odporności rasowo-specyficznych np. *Mla* lub wytworzonych w przypadku, gdy strzępka infekcyjna nie była w stanie przeniknąć przez ścianę komórkową (Skou i in., 1984; Lyngkjær i Østergård, 1998). W wielu badaniach

udowodniono wysoki stopień korelacji między odpornością *Mlo* a rozmiarami papilli. Stwierdzono również, że niektóre linie podatne jęczmienia również wytwarzają stosunkowo duże papilla, co sugeruje, że na efektywność tego mechanizmu odporności wpływa nie tylko wielkość wytworzonej warstwy ochronnej, ale również jej skład (Skou 1982; Skou i in., 1984; Gold i in., 1986; Bayles i in., 1990; Zeyen i in., 1993). Wyraźnie mniejsze papilla są obserwowane, gdy przez ścianę komórki epidermy stara się przeniknąć strzępka infekcyjna izolatu HL3/5 częściowo wirulentnego w stosunku do genu *mlo* (Lyngkjær i in., 1996; Lyngkjær i Østergård, 1998). Ponadto gen *mlo* warunkuje szybsze odkładanie papilli (Aist i Israel, 1977; Bayles i in., 1990). Wykazano, że formowanie papilli w linii izogenicznej z genem *mlo* rozpoczęło się 60 minut przed próbą penetracji komórki przez strzępkę grzyba, podczas gdy dla linii izogenicznej nie posiadającej genu *mlo* formowanie się papilli rozpoczęło się 40 minut po próbie penetracji komórki przez strzępkę grzyba (Skou i in., 1984; Gold i in., 1986; Bayles i in., 1990).

Głównymi składnikami papilli jest kaloza i fenole. Kaloza jest wytwarzana przez komórki epidermy roślin jęczmienia w odpowiedzi na uszkodzenia mechaniczne (Skou i in., 1984; Koga i in., 1990; Yokoyama i in., 1991; Clark i in., 1994, 1995). Gdy strzępka infekcyjna przeniknie przez kutykulę i ścianę komórkową to grzybnia wrasta do wnętrza komórki formując haustorium (ssawkę), a wokół szyjki haustorium tworzy się kołnierz z kalozy. Wytwarzanie kalozy występuje u roślin jęczmienia pod wpływem uszkodzenia ściany komórkowej komórek epidermy przez czynniki abiotyczne (np. ostre ziarna piasku, ocieranie się rośliny o roślinę) i biotyczne (np. kłujka mszycy, strzępka infekcyjna zarodnika konidialnego mączniaka; Russo i Bushnell, 1989). Jednak u roślin z odpornością *Mlo* ilość wytworzonej kalozy jest blisko trzykrotnie większa (Skou, 1982; Skou i in., 1984; Gold i in., 1986; Zeyen i in., 1993). Badania prowadzone przez Bayles i Aista (1987) oraz Golda i wsp. (1986) udowodniły, że gen *mlo* wpływa istotnie na regulację gospodarki wapniem w komórkach skórki jęczmienia, a jony wapnia pełnią dużą rolę w aktywacji enzymów odpowiedzialnych za wytwarzanie kalozy (Kauss i in., 1983; Aist i Gold, 1987; Bayles i Aist, 1987; Pedersen, 1990; Zeyen, 1999).

Powszechnie występującym mechanizmem obronnym roślin na infekcję patogenów jest polimeryzacja związków fenolowych w ścianie komórkowej pod wpływem kontaktu z patogenem i tworzenie w ten sposób pierwszej bariery izolacyjnej wokół miejsca infekcji. Duże znaczenie fenoli podczas reakcji obronnej roślin jęczmienia, w wyniku której tworzone są papillae zostało udowodnione w wielu badaniach (Sherwood i Vance, 1982; Aist i in., 1988; Carver i in., 1991, 1994). Związki fenolowe działają wzmacniająco na ścianę komórkową komórek epidermy oraz papilli u jęczmienia (Carver i in., 1991; Clark i in., 1994, 1995; Zeyen i in., 1995). Utwardzone regiony ściany komórkowej oraz papilla powstałe poprzez przyłączone do włókien celulozy związki fenolowe stanowią fizyczną przeszkodę dla strzępki infekcyjnej grzyba (Stolzenburg i in., 1984; Lyngkjær i in., 2000). Obecność fenoli powoduje również, że ściany komórkowe komórek epidermy stają się odporne na działanie celulazy. Związki fenolowe wytwarzane są minimum 2 godziny szybciej u roślin z genem *mlo* niż u roślin podatnych (Stolzenburg i in., 1984).

Udowodniono również zwiększenie wydzielania H_2O_2 w komórkach epidermy roślin jęczmienia z genem *mlo* po zetknięciu się ze strzępką infekcyjną mączniaka (Hückelhoven

i in., 1999). H_2O_2 wpływa na wzmocnienie struktury ściany komórkowej, ma działanie fungostatyczne oraz pełni rolę w wyzwalaniu reakcji odpornościowej w komórkach otaczających miejsce infekcji roślin (Collins i in., 2000). Badania von Röpenacka i współpracowników (1998) wykazały istotny wpływ H_2O_2 na wzmocnienie struktury papilli.

Komórki przysparkowe nie wytwarzają papilli (Skou, 1985; Lyngkjær i in., 2000). Najprawdopodobniej spowodowane jest to tym, że komórki te mają specyficzną fizjologię i giętką ścianę komórkową, co umożliwia im otwieranie i zamykanie szparki. Wykazano, że w komórkach przysparkowych jęczmienia kaloza nie jest wytwarzana niezależnie od obecności alleli *mlo* (Skou, 1985). Liczne badania wykazały, że papilla są wytwarzane przez komórki epidermy również w czasie kiełkowania zarodnika konidialnego mączniaka niezależnie od istnienia genów odporności. Jednakże papilla te są znacznie mniejsze i około 50% cieńsze od tych wytwarzanych przez rośliny z odpornością *Mlo* (Skou, 1985; Aist i in., 1988; Lyngkjær i in., 2000).

Gen *mlo* najprawdopodobniej spełnia podstawową funkcję regulującą mechanizm obronny rośliny (Skou i in., 1984). Recesywność alleli *mlo* oraz otrzymanie ich na drodze mutacji wskazują na to, że „dziki” gen *Mlo* jest genem, który warunkuje powstanie określonego produktu (białka) w roślinie. Z drugiej strony wytwarzanie warstwowej struktury (papilla) w skład, której wchodzi mniej lub bardziej złożone związki chemiczne takie jak kalloza, białka i węglowodany sugeruje, że w tej reakcji odpornościowej jest aktywnych wiele genów (Jørgensen, 1991 a, 1992 a; Büschges i in., 1997; Lyngkjær i Østergård, 1998; Lyngkjær i in., 2000). Hipotezą łączącą obecność recesywnego genu powstałego w wyniku mutacji z aktywnością wielu genów warunkujących powstawanie produktów metabolicznych komórki jest pełnienie funkcji regulatora przez „dziki” gen *Mlo*, który może być inaktywowany w wyniku mutacji (Bayles i in., 1990; Hinze i in., 1991; Büschges i in., 1997). W myśl tej hipotezy, występowanie w większym lub mniejszym nasileniu chloroz i plam nekrotycznych na roślinach jęczmienia z odpornością *Mlo* może być wyjaśniona poprzez fakt, że regulacja genetyczna procesów metabolicznych rośliny jest zaburzona. Każde mechaniczne uszkodzenie może uaktywnić ten proces, a brak genetycznej kontroli może powodować trwanie tego procesu do momentu, gdy w komórce poddanej stresowi oraz w komórkach sąsiadujących z nią ulegną wyczerpaniu substraty dla odpowiednich procesów metabolicznych (Schulze-Lefert i in., 1994, 1999 a, 1999 b). Lyngkjær i Østergård (1998) wykazali, że odporność *Mlo* posiada aspekt specyficzny i niespecyficzny. Aspekt specyficzny jest skorelowany z wielkością udziału kalozy w papillach i ten aspekt odporności *Mlo* jest przewyższony przez częściowo wirulentny na gen *mlo* izolat HL3/5. Aspekt niespecyficzny jest związany z udziałem fenoli w papillach. Jak dotąd nie opisano izolatu mączniaka mogącego „przełamać” część niespecyficzną odporności *Mlo*.

W świetle dotychczasowych badań gen odporności *mlo* warunkuje odporność jedynie na infekcję grzyba *B. graminis* f. sp. *hordei*. Odporność ta jest niezależna od obecności innych znanych genów odporności na mączniaka prawdziwego jęczmienia (Lyngkjær i in., 2000). Jednak niektórzy badacze, np. Jørgensen (1992 a, 1992 b), spodziewają się, że ta odporność może być efektywna wobec innych patogenów penetrujących żywe komórki

epidermy i nie należy się spodziewać by gen *mlo* był efektywny wobec takich patogenów jak *Puccinia hordei* (infekująca roślinę przez aparaty szparkowe) czy *Drechslera teres* (produkujący toksyny) (Lyngkjær i in., 2000).

W ostatnich latach udowodniono, że obecność różnych alleli *mlo* w roślinach jęczmienia zwiększa ich podatność na zakażenie grzybem *Magnaporthe grisea* (Jarosch i in., 1999; Kogel i in., 1999). Na roślinach jęczmienia z genem *mlo* grzyb *M. grisea* rozwijał się szybciej, jego zarodnikowanie było nasilone a plamy nekrotyczne na roślinach znacznie większe. Biorąc to pod uwagę uważa się, że gen *mlo* nie warunkuje w sposób bezwzględny odporności na infekcje patogenów penetrujących rośliny jęczmienia przez żywe komórki skórki liścia. Powoduje to również problem w użyciu tego genu w odmianach jęczmienia na terenach, gdzie grzyb *M. grisea* przyczynia się do strat (np. południowa Francja czy północne Włochy) (Jarosch i in., 1999). Ostatnie doniesienia (Kumar i in., 2001) mówią, że obecność genu *mlo* wpływa na podatność jęczmienia na infekcję innego grzyba nekrofitycznego *Bipolaris sorokiniana*, powodującego brunatną plamistość jęczmienia.

Wyniki niektórych badań sugerowały, że gen *mlo* jest odpowiedzialny za zwiększoną podatność odmian jęczmienia na infekcję grzyba *Rhynchosporium secalis*. Jednak analiza pochodzenia szeregu odmian jęczmienia sugeruje, że powyższy związek jest wynikiem tła genetycznego oraz brakiem programów hodowli odpornościowej na grzyba *R. secalis* (Brown i Jonem, 1996; Lyngkjær i in., 2000).

BADANIA MOLEKULARNE

Budowa genu *Mlo*

Gen *Mlo* ma 1599 par zasad i koduje białko składające się z 533 aminokwasów o masie 60 kDa. Ma ono strukturę helikoidalną i umocowane jest w błonie komórkowej w 7 miejscach tak, że koniec z wolną grupą aminową znajduje się na zewnątrz komórki a koniec z grupą karboksylową wewnątrz komórki (Büschges i in., 1997; Devoto i in., 1999; Piffanelli i in., 1999). Dlatego białko to określane jest symbolem 7 TM — transmembrane). Białko to należy do powszechnie występującej w roślinach grupy białek umocowanych w błonie komórkowej (Elliot i in., 2002; Kim i in., 2002). Grupa tych białek występuje wcześnie w ewolucji roślin, gdyż białka tego typu stwierdzono w wielu grupach roślin w tym u mchów. Większa część białka znajduje się w cytoplazmie (Devoto i in., 1998, 1999, 2002; Stein i Somerville, 2002).

Dotychczasowe badania na poziomie molekularnym wyjaśniły zmiany mutacyjne w locus *Mlo* dla 15 alleli *mlo* (tab. 1) (Büschges i in., 1997; Schwarzbach, 1998; Piffanelli, 2002).

W 1998 roku budowa genu *mlo* została opatentowana (International Patent Publication Number WO9804586, AU731487, CA2260363, JP2000516811T) przez: Innes John Centre Innov Ltd, Panstruga Ralph, Büschges Rainer i Schulze-Lefert Paul Maria Jose. Patent zawiera 73 aspekty związane z budową genu *mlo* dotyczące m. in. modyfikacji struktury tego genu przez zastosowanie metod biologii molekularnej oraz wykorzystanie wiedzy na temat sekwencji tego genu w biotechnologii w tym roślin transgenicznych.

Natomiast nie dotyczy on użycia alleli *mlo* otrzymanych w wyniku mutagenезы lub występujących spontanicznie w odmianach miejscowych jęczmienia, w hodowli i badaniach genetycznych jęczmienia (Devoto i in., 1998, 1999; Schwarzbach, 1998; Piffanelli, 2002).

Tabela 1

Zmiany mutacyjne genu *Mlo* (Büschges i in., 1997; Schwarzbach 1998; Piffanelli i in., 2002)
Mutation changes of gene *Mlo* (Büschges et al., 1997; Schwarzbach 1998; Piffanelli et al., 2002)

Gen Gene	Mutacje Mutations	
	Nukleotydy Nucleotids	Aminokwasy Aminoacids
<i>mlo1</i>	T ⁴⁸⁴ → A	Trp ¹⁶² → Arg
<i>mlo2</i>	?	?
<i>mlo3</i>	2 delecje ¹¹⁸⁸	przesunięcie ramki odczytu w Phe ³⁹⁵ — shifting of reading frame in Phe ³⁹⁵
<i>mlo4</i>	11 delecji ⁴⁷⁸	przesunięcie ramki odczytu w Trp ¹⁵⁹ — shifting of reading frame in Trp ¹⁵⁹
<i>mlo5</i>	G ³ → A	Met ¹ → Ile
<i>mlo6</i>	?	?
<i>mlo7</i>	G ⁶⁷⁷ → A	Gly ²²⁶ → Asp
<i>mlo8</i>	A ¹ → Γ	Met ¹ → Val
<i>mlo9</i>	C ²⁸ → T	Arg ¹⁰
<i>mlo10</i>	6 delecji ⁵⁴³	brak Phe ¹⁸² i Thr ¹⁸³
<i>mlo11</i>	?	?
<i>mlo12</i>	?	?
<i>mlo13</i>	T ⁸⁹ → A	Val ⁵⁰ → Glu
<i>mlo14</i>	?	?
<i>mlo15</i>	?	?
<i>mlo16</i>	?	?
<i>mlo17</i>	C ⁹² → T	Ser ³¹ → Phe
<i>mlo18</i>	?	?
<i>mlo19</i>	?	?
<i>mlo20</i>	?	?
<i>mlo21</i>	?	?
<i>mlo22</i>	?	?
<i>mlo23</i>	?	?
<i>mlo24</i>	?	?
<i>mlo25</i>	?	?
<i>mlo26</i>	T ⁸⁰⁹ → A	Leu ²⁷⁰ → Phe
<i>mlo27</i>		Gly ³¹⁸ → Glu
<i>mlo28</i>		Thr ²²² → Ile
<i>mlo29</i>		Pro ³³⁴ → Leu
<i>mlo30</i>	delecje — deletions	brak 6 aminokwasów — 6 aminoacids lacking

Markery molekularne

Określono 3 rodzaje markerów molekularnych dla genu *mlo*: polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (ang. RFLP = Restriction Fragment Length Polymorphism), polimorfizm losowo wzmocnionych fragmentów DNA (ang. RAPD = Random Amplified Polymorphic DNA) i polimorfizm długości fragmentów amplifikowanych (ang. AFLP = Amplification Fragment Length Polymorphism) (Hinze i in., 1991; Manninen i in., 1997; Simons i in., 1997).

Markery RFLP

Markery RFLP sprzężone z locus *Mlo* zostały zidentyfikowane przez Hinze i wsp. (1991), markery te pozwoliły na lokalizację tego locus na chromosomie 4 jęczmienia. Dalsze badania nad markerami RFLP dla locus *Mlo* wykazały, że zastosowanie markerów ABG394 i ABG396 było efektywne w praktyce hodowlanej (Hinze i in., 1991; Kleinhofs i in., 1993; Saghai-Marooft i in., 1994). Fragment chromosomu z locus *Mlo* wyznaczony przez dwa najbardziej ściśle sprzężone markery RFLP wynosi ok. 2,7 cM. Genom jęczmienia ma wielkość ok. 4800 Mb, czyli jest ok. 2 razy większy niż genom człowieka (Arumuganathan i Earle, 1991), a mapa genetyczna pokrywa ok. 1800 cM (Becker i in., 1995). Biorąc pod uwagę wielkość genomu jęczmienia, odcinek odpowiadający 2,7 cM zawiera fragment DNA wielkości kilku Mb.

Markery RAPD

Dla genu *mlo* zidentyfikowano również markery RAPD w oparciu o przetestowanie 60 linii podwojonych haploidów pochodzących ze skrzyżowania izogenicznej linii odmiany Ingrid z genem *mlo11* z odmianą podatną Pokko. Używając analizę skrajnych grup segregantów (BSA) zidentyfikowano 7 markerów RAPD, z których najsilniej sprzężony (1,6 cM) był marker F4-980 (Manninen i in., 1997).

Markery AFLP

Zastosowanie techniki AFLP (Zabeau i Vos, 1993; Vos i in., 1995) pozwala na znacznie dokładniejsze mapowanie interesującego nas fragmentu chromosomu z locus *Mlo*. Dokładność ta wynosi przynajmniej 0.1 cM. Technika AFLP została użyta w celu identyfikacji markerów sprzężonych ściśle z locus *Mlo* i do stworzenia dokładnej mapy genetycznej fragmentu chromosomu 4, na którym zlokalizowany jest ten gen (Simons i in., 1997). W badaniach tych zostało przeanalizowanych 8000 fragmentów AFLP i uzyskano 18 potencjalnych markerów AFLP dla genu *mlo*. Technika ta umożliwiła szybką ocenę ok. 250 tys. loci pod względem ich sprzężenia z locus *Mlo* i w oparciu o tę technikę stworzono fizyczną mapę fragmentu DNA, zawierającego locus *Mlo* o wielkości 30 kB.

PODSUMOWANIE

Mączniak właściwy jęczmienia obniża istotnie ilość i jakość uzyskiwanego plonu z porażonych roślin. Ze względu na dynamicznie rozwijający się w Polsce przemysł browarniany intensywnie wzrasta zapotrzebowanie na ziarno jęczmienia o bardzo dobrej jakości. W obecnej sytuacji ekonomicznej w Polsce stosowanie częstych oprysków fungicydami nie zawsze jest opłacalne i jedyną skuteczną ochroną przed mączniakiem jest uprawa odmian odpornych, zwłaszcza odmian z genem *mlo* warunkującym trwałą i wysoko efektywną odporność. Przedstawione w pracy podstawowe informacje dotyczące uwarunkowań genetycznych, fenotypu, mechanizmu odporności oraz badań molekularnych powinny istotnie pomóc w hodowli odpornościowej jęczmienia na mączniaka. Rezultatem właściwego wykorzystania odporności *Mlo* przez genetyków, fitopatologów, hodowców będzie zwiększone i bardziej stabilne plonowanie jęczmienia, a przez to lepsze wyniki ekonomiczne uzyskane przez plantatorów jęczmienia.

LITERATURA

- Aist J. R. 1976. Papillae and related wound plugs of plant cells. *Ann. Rev. Phytopath.* 14: 145 — 163.
- Aist J. R. 1983. Structural responses as resistance mechanisms. In: *The dynamics of host defense*. Bailey J. A., Deverall B. J. (ed.). Sydney, Academic Press: 33 — 70.
- Aist J. R., Gold R. E. 1987. Prevention of fungal ingress: The role of papillae and calcium. In: *Molecular Determinants of Plant Diseases*, Nishimura S., Vance C. P., Doke N. (ed.). Springer-Verlag, Berlin: 47 — 58.
- Aist J. R., Bushnell W. R. 1991. Invasion of plants by powdery mildew fungi and cellular mechanisms of resistance. In: *The spore and disease initiation in plants and animals*. Cole G. T., Hoch H. C. (ed.). Plenum Press N. York: 321 — 345.
- Aist J. R., Israel H. W. 1977. Papilla formation: Timing and significance during penetration of barley coleoptiles by *Erysiphe graminis hordei*. *Phytopathol.* 67: 455 — 461.
- Aist J. R., Gold E. R., Bayles C. J., Morrison G. H., Chandra S., Israel H. W. 1988. Evidence that molecular components of papillae may be involved in *ml-o* resistance to barley powdery mildew. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 33: 17 — 32.
- Aist J. R., Kunoh H., Israel H. W. 1979. Challenge appresoria of *Erysiphe graminis* fail to breach preformed papillae of compatible barley cultivar. *Phytopathol.* 69: 1245 — 1250.
- Andersen L. 1991. *Mlo* aggressiveness in European barley powdery mildew. In: *Integrated Control of Cereal Mildews: Virulence Patterns and their Change*. Jørgensen J. H. (ed.). Risø Natl. Lab., Røskilde: 187 — 196.
- Anonim 1999. Rocznik statystyczny Rzeczypospolitej Polskiej. GUS. Zakład Wydawnictw Statystycznych, Warszawa.
- Arseniuk E. 1983. Odporność roślin na choroby. *Biul. IHAR* 151: 213 — 221.
- Arseniuk E. 1995 a. Odporność roślin uprawnych na stresy biologiczne i fizyczne. I. Zarys ewolucji i rozwoju teorii odporności roślin na stresy biotyczne. W: *Odporność Roślin na Choroby i Niesprzyjające Czynniki Środowiska*. Arseniuk E., Góral T., Czembor P. Cz. (wyd.), 12 — 14.09. Radzików: 19 — 37.
- Arseniuk E. 1995 b. Zmienność genetyczna w populacjach patogenów i szkodników — źródła, implikacje dla hodowli, techniki wykrywania. W: *Odporność Roślin na Choroby i Niesprzyjające Czynniki Środowiska*. Arseniuk E., Góral T., Czembor P. Cz. (wyd.), 12—14.09. Radzików: 139 — 150.
- Arumuganathan K., Earle E. D. 1991. Nuclear DNA content of some important plant species. *Plant Mol. Biol. Rep.* 9 (3): 208 — 219.
- Atzema J. L. 1998. Durability of *mlo* resistance in barley against powdery mildew caused by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. Ph. D. thesis, Szwajcarski Instytut Techniczny, Zurich, Szwajcaria: 1 — 93.
- Atzema J. L., Finckh M. R., Wolfe M. S. 1996. Genetics of the response of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* to *ml-o* resistance in barley. W: *Proc. 9th European Med. Cereal Rusts & Powdery Mildews Conference*. Kema G. H. J., Niks R. E., Daamen R. A. (eds.), 2–6.09. 1996, Lunteren, The Netherlands: 55 — 57.
- Atzema J., Limpert E., Wolfe M. S. 1994. Testing isolates of barley powdery mildew for *mlo* virulence. In: *Integrated control of cereal mildews and rusts: towards coordination of research across Europe*. European Commission, Directorate-General XII, Brussels. Limpert E., Finckh M. R., Wolfe M. S. (ed.): 47 — 48.
- Baker S. J., Newton A. C., Crabb D., Guy D. C., Jefferies R. A., Mackerron D. K. L., Thomas W. T. B., Gurr S. J. 1998. Temporary partial breakdown of *mlo*-resistance in spring barley by sudden relief of soil water-stress under field conditions: the effects of genetic background and *mlo* allele. *Plant Pathol.* 47: 401 — 410.
- Baker S. J., Newton A. C., Gurr S. J. 2000. Cellular characteristics of temporary partial breakdown of *mlo*-resistance in barley to powdery mildew. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 56: 1 — 11.
- Balkema-Boomstra, A. G., Mastebroek H. D. 1995. Effect of powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) on photosynthesis and grain yield of partially resistant genotypes of spring barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Breed.* 114: 126 — 130.
- Bayles C. J., Aist J. R. 1987. Apparent calcium mediation of resistance of an *ml-o* barley mutant to powdery mildew. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 30: 337 — 345.
- Bayles C. J., Ghemawat M. S., Aist J. R. 1990. Inhibition by 2-deoxy-D-glucose of callose formation, papilla deposition, and resistance to powdery mildew in an *mlo* barley mutant. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 36: 63 — 72.
- Becker J., Vos P., Kuiper M., Salamini F., Heun M. 1995. Combined mapping of AFLP and RFLP markers in barley. *Mol. Gen. Genet.* 249: 65 — 73.

- Bjørnstad Å, Aastveit K. 1990. Pleiotropic effects on the *ml-o* mildew resistance gene in barley in different genetical backgrounds. *Euphytica* 46: 217 — 226.
- Brown J. K. M., Jones E. R. L. 1995. The effect of the *mlo* mildew resistance gene on *Rhynchosporium secalis* of barley. UK Cereal Pathogen Virulence Survey 1995. Annual Report 1996: 47 — 49.
- Büsches R., Holtricher K., Panstruga R., Simons G., Wolter M., Frijters A., van Daelen R., van der Lee T., Diergaarde P., Groenendijk J., Topsch S., Vos P., Salamini F., Schulze-Lefert P. 1997. The barley *mlo* gene: A novel control element of plant pathogen resistance. *Cell* 88: 695 — 705.
- Carver T. L. W., Robbins M. P., Zeyen R. J. 1991. Effects of two PAL inhibitors on the susceptibility and localized autofluorescent host cell responses of oat leaves attacked by *Erysiphe graminis* DC. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 39: 269 — 287.
- Carver T. L., Zeyen R. J., Bushnell W. R., Robbins M. P. 1994. Inhibition of phenylalanine ammonia lyase and cinnamyl-alcohol dehydrogenase increased quantitative susceptibility of barley to powdery mildew (*Erysiphe graminis* DC.). *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 44: 261 — 272.
- Carver T. L., Zeyen R. J., Robbins M. P., Deame G. A. 1992. Effects of PAL inhibition on oat, barley and wheat cell response to appropriate and inappropriate formae speciales of *Erysiphe graminis* DC. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 41: 397 — 409.
- Carver T. L., Zhang L., Zeyen R. J., Robbins M. P. 1996. Phenolic biosynthesis inhibitors suppress adult plant resistance to *Erysiphe graminis* in oat at 20 °C and 10 °C. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 49: 121 — 149.
- Ceccarelli S., Grandi S., Leur van J. A. G. 1995. Barley landraces of the fertile crescent offer new breeding options for stress environments. *Diversity* 11: 112 — 113.
- Clark T. A., Zeyen R. J., Smith A. G., Carver T. L. W., Vance C. P. 1994. Phenylalanine ammonia lyase mRNA accumulation, enzyme activity and cytoplasmic responses in barley isolines differing at M1-a and M1-o loci, attacked by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 44: 171 — 185.
- Clark T. A., Zeyen R. J., Carver T. L. W., Smith A. G., Bushnell, W. R. 1995. Epidermal cell cytoplasmic events and response gene transcript accumulation during *Erysiphe graminis* attack in isogenic barley lines differing at the M1-o locus. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 46: 1 — 16.
- Collins N., Sadanandom A., Zhou F., Shirasu K., Elliott C., Kurth J., Devoto A., Piffanelli P., Lahaye T., Hartmann A., Schulze-Lefert P. 2000. The genetic and molecular basis of disease resistance to the powdery mildew fungus in barley. In: Barley Genetics VIII, 8th International Barley Genetics Symp., 22–27.10.2000, Adelaide, Australia: 61 — 67.
- Collins N. C., Lahaye T., Peterhänsel Ch., Freialdenhoven A., Corbitt M., Schulze-Lefert P. 2001. Sequence haplotypes revealed by sequence-tagged site fine mapping of the Ror1 gene in the centromeric region of barley chromosome 1H¹. *Plant Physiol.* 125: 1236 — 1247.
- Czembor H. J. 1981 a. Dziedziczenie odporności jęczmienia na mączniak (*Erysiphe graminis* DC. EX Merat f. sp. *hordei* Marchal). *Hod. Rośl. Aklim.* 25 (5/6): 227 — 234.
- Czembor H. J. 1981 b. Rasy fizjologiczne mączniaka jęczmienia (*Erysiphe graminis* DC. EX Merat f. sp. *hordei* Marchal) występujące w Polsce w latach 1975–1979. *Hod. Rośl. Aklim.* 25 (5/6): 215 — 225.
- Czembor H. J. 1983. Hodowla jęczmienia odpornego na choroby — stan badań i program. *Biul. IHAR* 150: 4 — 10.
- Czembor H. J. 1984 a. Dziedziczenie odporności jęczmienia na mączniak (*Erysiphe graminis* DC. EX Merat f. sp. *hordei* Marchal). *Hod. Rośl. Aklim.* 28(1): 33 — 44.
- Czembor H. J. 1984 b. Odporność jęczmienia ozimego na mączniak (*Erysiphe graminis* DC Ex Merat f. sp. *hordei*). *Hod. Rośl. Aklim.* 28 (1): 1 — 31.
- Czembor, J. H. 1996. Presence and expression of resistance genes to powdery mildew of barley in selections from Tunisian barley landraces. Ph. D. thesis, Department of Plant Pathology, Montana State University, Bozeman, USA.
- Czembor J. H. 2000. Sources of resistance to powdery mildew in barley landraces from Libya. *J. Swedish Seed Assoc.* 4: 232 — 248.
- Czembor J. H. 2002. Resistance to powdery mildew in selections from barley landraces. *Euphytica* 125 (3): 397 — 409.
- Czembor J. H., Czembor H. J. 1998. Powdery mildew resistance in cultivars of spring barley from Polish Register. *Plant Breed. Seed Sci.* 42 (2): 87 — 99.

- Czembor J. H., Czembor H. J. 1999. Powdery mildew resistance in cultivars of winter barley from Polish Register. *Plant Breed. Seed Sci.* 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 Breed. Seed Sci.* 45 (1): 19 — 28.
- Czembor J. H., Czembor E. 2003 a. Odporność Mło jęczmienia na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). II. Źródła i ich wykorzystanie w hodowli. *Biul. IHAR* 230 w druku.
- Czembor J. H., Czembor E. 2003 b. Odporność Mło jęczmienia na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). III. Trwałość odporności. *Biul. IHAR*, 230 w druku.
- Czembor J. H., Frese L. 2003. Powdery mildew resistance in selections from barley landraces collected from Turkey. *Die Bodenkultur*, w druku.
- Czembor H. J., Gacek E. 1987. Badania nad sposobami zwiększenia trwałości odporności genetycznej jęczmienia na mączniak i inne choroby. *Biul. IHAR* 163: 25 — 32.
- Czembor H. J., Gacek E. 1990. Wybrane problemy hodowli odpornościowej zbóż na choroby. *Biul. IHAR* 173/174: 53 — 64.
- Czembor H. J., Gacek E. 1991. Development of high-yielding and disease resistant barley cultivars through combination of mutagenesis with conventional cross-breeding. *Cereal Res. Commun.* 19: 43 — 49.
- Dangl J. L., Dietrich R. A., Richberg M. H. 1996. Death don't have mercy: cell death programs in plant-microbe interactions. *The Plant Cell* 8: 1793 — 1807.
- Devoto A., Piffanelli P., Nilsson L., Wallin E., Panstruga R., von Heijne G., Schulze-Lefert P. 1999. Topology, Subcellular localization, and sequence diversity of the Mlo family in plants. *J. Biol. Chem.* 274: 34993 — 35004.
- Devoto A., Piffanelli P., Panstruga R., Schulze-Lefert P. 1998. Structural and functional analysis of the *mlo* gene. In: *Proc. 7th Internat. Congress of Plant Pathol.* 9–16.08. Edinburgh, Scotland.
- Devoto A., Hartmann H.A., Piffanelli P., Elliot C., Simmons C., Taraminio G., Goh C.S., Cohen F.E., Schulze-Lefert P., Panstruga R. 2002. Molecular phylogeny and domain-specific co-evolution of the plant-specific seven transmembrane MLO family. *J. Mol. Evolution* 56: 77 — 88.
- Elliot C., Zhou F., Spielmeier W., Panstruga P., Schulze-Lefert P. 2002. Functional conservation of wheat and rice Mlo orthologs in defence modulation to the powdery mildew fungus. *Mol. Plant-Microbe Inter.* 15 (10): 1069 — 1077.
- Freialdenhoven A., Peterhänsel Ch., Kurrth J., Kreuzaler F., Schulze-Lefert P. 1996. Identification of genes required for the function of non-race-specific *mlo* resistance to powdery mildew in barley. *The Plant Cell* 8: 5 — 14.
- Gacek E. 1989. Problem wykorzystania genetycznej odporności w ochronie zbóż. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 374: 143 — 149.
- Gacek E. 1990. Studia nad sposobami wykorzystania odporności genetycznej jęczmienia w zwalczaniu mączniaka prawdziwego (*Erysiphe graminis* DC. f. sp. *hordei* Marchal). *Hod. Rośl. Aklim.* 34 (5/6): 3 — 49.
- Gacek E. 1992. Odporność mączniaka prawdziwego (*Erysiphe graminis* DC) i innych patogenów zbóż na fungicydy układowe. *Biul. IHAR* 184: 31 — 45.
- Gacek E. 1998. Strategie wykorzystania odporności genetycznej w zwalczaniu chorób roślin uprawnych. *Postępy w Ochronie Roślin*: 38 (1): 44 — 49.
- Gacek E., Czembor H. J. 1983. Problem wykorzystania genetycznej odporności w hodowli i uprawie mieszanin zbóż ze szczególnym uwzględnieniem jęczmienia. *Biul. IHAR* 151, 37 — 45.
- Gacek E., Czembor H. J. 1984. Prawidłowe wykorzystanie genetycznej odporności jęczmienia na choroby. *Zesz. Probl. Post. Nauk Roln.* 305: 163 — 170.
- Griffiths E., Gareth J. D., Valentine M. 1975. Effects of powdery mildew at different growth stages on grain yield of barley. *Ann. Appl. Biol.* 80: 343 — 349.
- Gold R. E., Aist J. R., Hazen B. E., Stolzenburg M. C., Marshall M. R., Israel H. W. 1986. Effects of calcium nitrate and chlortetracycline on papilla formation, mlo resistance and susceptibility of barley to powdery mildew. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 29: 115 — 129.
- Habekuss A., Hentrich W. 1988. Charakterisierung funktionell verschiedener ml-o Mutanten durch Primärinfektion, Pustelwachstum, Inkubationszeit und Befallsverlauf. *Tag.-Ber. Akad. LWW DDR Berlin*, 272: 229 — 237.
- Hentrich W. 1979. Multiple Allelie. Pleiotropie und züchterische Nutzung mehlauresistenter Mutanten des mlo-Locus der Gerste, Tag — Ber, Akad. Landwirtsch.-Wiss. DDR, 175: 191.

- Hentrich W., Habekuss A. 1991. Untersuchungen an heteroallelen mehlttauresistenten Mutanten des *mlo*-Locus der Sommergerste. Vorträge für Pflanzenzüchtung 19: 311 — 312.
- Heta H., Takeda K. 1995. Reaction of the resistant gene *ml-o* to various barley powdery mildew strains. Bull. of the Res. Inst. for Biores., Okayama Univ. 3: 11 — 16.
- Hinze K., Thompson R.D., Ritter E., Salamini F., Schulze-Lefert P. 1991. Restriction fragment length polymorphism-mediated targeting of the *ml-o* resistance locus in barley (*Hordeum vulgare*). Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 88: 3691
- Hovmøller, M.S., Caffier, V., Jalli, M., Andersen, O., Besenhofer, G., Czembor, J.H., Dreiseitl, A., Flath, K., Fleck, A., Heinrics, F., Jönsson, R., Limpert, E., Mercer, P., Plesnik, S., Rashal, I., Skinnes, H., Slater, S., and Vronska, O. 2000. The European barley powdery mildew virulence survey and disease nursery. Agronomie 20: 729 — 744.
- Hückelhoven R., Fodor J., Preis C., Kogel K. H. 1999. Hypersensitive cell death and papilla formation in barley attacked by the powdery mildew fungus are associated with hydrogen peroxide but not with salicylic acid accumulation. Plant Physiol. 119: 1251 — 1260.
- Hwang B. K., Heitefuss R. 1982 a. Characterization of adult plant resistance of spring barley to powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*). I. Race specificity and expression of resistance. Phytopath. Zeit. 104: 168 — 178.
- Hwang B. K., Heitefuss R. 1982 b. Characterization of adult plant resistance of spring barley to powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*). II. Infection process at different leaf stages. Phytopath. Zeit. 104: 179 — 190.
- Inoue S., Aist J. R., Macko V. 1994. Earlier papilla formation and resistance to barley powdery mildew induced by a papilla-regulating extract. Physiol. Mol. Plant Pathol. 44: 433 — 440.
- Jarosch B., Jansen M., Schaffrath U. 2003. Acquired resistance functions in *mlo* barley, which is hypersusceptible to *Magnaporthe grisea*. Mol. Plant Microbe Interact. 16 (2): 107 — 114.
- Jarosch B., Kogel K. H., Schaffrath U. 1999. The ambivalence of the barley *Mlo* locus: mutations conferring resistance against powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) enhance susceptibility to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. Mol. Plant Mic. Interact. 12: 508 — 514.
- Jensen J. 1987. Linkage map of barley chromosome 4. In: Barley Genetics V. Okayama University Press, Okayama: 189.
- Jørgensen J. H. 1971 a. Comparison of induced mutant genes with spontaneous genes in barley conditioning resistance to powdery mildew. In: Mutation Breeding for Disease Resistance, IAEA — PL — 412/12: 117 — 124.
- Jørgensen J. H. 1971 b. Studies on induced and spontaneous mildew resistance genes at the *ml-o* locus in barley. Hereditas 69: 298.
- Jørgensen H.J. 1976a. Identification of powdery mildew resistant barley mutants and their allelic relationships. W: Barley Genetics III. Proc. sympos. 7–12.07.1975 Garching, Karl Thiernig Verlag, Munchen: 446 — 455.
- Jørgensen J. H. 1976 b. Studies on recombination between alleles in the *ml-o* locus of barley and pleiotropic effect of the alleles. In: Proc. Res. Co-ordination Meeting, Joint FAO/IAEA Division of Atomic Energy in Food and Agriculture, 15–19.09.1975 Ames (USA): 129 — 140.
- Jørgensen J. H. 1977a. Spectrum of resistance conferred by *ml-o* powdery mildew resistance genes in barley. Euphytica 26: 55 — 62.
- Jørgensen J. H. 1977 b. Location of the *ml-o* locus on barley chromosome 4. In: Induced Mutations Against Plant Diseases, IAEA, Vienna, Austria: 533 — 549.
- Jørgensen J. H. 1983. Experience and conclusions from the work at Risø on induced mutations for powdery mildew resistance in barley. W: Induced Mutations for Disease Resistance in Crop Plants II. Intern. Atomic Energy Agency, Vienna, Austria: 73 — 86.
- Jørgensen J. H. 1991 a. Mechanism of *Mlo* resistance to barley powdery mildew. Sveriges Ustadesförenings Tidskrift 101: 80 — 84.
- Jørgensen J. H. 1991b. Mutation studies on cereal disease resistance. W: Plant Mutation Breeding for Crop Improvement: Proceedings of an International Symposium on the Contribution of Plant Mutation Breeding to Crop Improvement Jointly Organized by the IAEA and FAO JAEA, 18–22.06.1990, vol. 2, Vienna, Austria: 81 — 91.
- Jørgensen, J. H. 1992 a. Sources and genetics of resistance to fungal pathogens. In: Barley Genetics, Biochemistry, Molecular Biology and Biotechnology. Shewry P. R. (ed.): 441 — 458.

- Jørgensen J. H. 1992 b. Discovery, characterization and exploitation of Mlo powdery mildew resistance in barley. *Euphytica* 63: 141 — 152.
- Jørgensen J. H. 1993. Durability of resistance in the pathosystem: barley — powdery mildew. In: *Durability of disease resistance*, Jacobs Th., Parlevliet J. E. (ed.), Kluwer Academic Publishers, The Netherlands: 159 — 176.
- Jørgensen J. H. 1994. Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Crit. Rev. Plant Sci.* 13: 97 — 119.
- Jørgensen J. H., Jensen H. P. 1979. Inter-allelic recombination in the *ml-o* locus in barley. *Barley Genet. Newsl.* 9: 37 — 39.
- Jørgensen J. H., Mortensen K. 1977. Primary infection by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* of barley mutants with resistance genes in the *ml-o* locus. *Phytopathol.* 67: 678 — 685.
- Kauss H., Köhle H., Jeblick W. 1983. Proteolytic activation and stimulation by Ca^{2+} of glucan synthase from soybean cells. *FEBS Lett.* 158: 84 — 88.
- Kim M. C., Lee S. H., Kim J. K., Chun H. J., Coi M. S., Chung W. S., Moon B. C., Kang C. H., Park C. Y., Yoo Y. H., Koo S. C., Koo Y. D., Jung J. C., Kim S. T., Schulze-Lefert P., Lee S. Y., Cho M. J. 2002. Mlo, a modulator of plant defense and cell death, is a novel calmodulin-binding protein. Isolation and characterization of a rice Mlo homologue. *J. Biol. Chem.* 277 (22): 19304 — 19314.
- Kim M.C., Panstruga R., Elliot C., Mueller J., Devoto A., Yoon H. W., Park Y.C., Cho M. J., Schulze-Lefert P. 2002. Calmodulin-regulated MLO defence suppression functions independently of heterotrimeric G proteins. *Nature* 416: 447 — 451.
- Kjær B., Jensen H. P., Jensen J., Jørgensen J. H. 1990. Associations between three *ml-o* powdery mildew resistance genes and agronomic traits in barley. *Euphytica* 46: 185 — 193.
- Kleinhofs A., Kilian A., Saghai Maroof M. A., Biyashev R. M., Hayes P., Chen F. Q., Lapitan N., Fenwick A., Blake T. K., Kanazin V., Ananiev E., Dahleen L., Kudrna D., Bollinger J., Knapp S. J. Liu B., Sorrells M. Heun M., Franckowiak J. D., Hoffman D., Skadsen R., Steffenson B. J. 1993. A molecular, isozyme and morphological map of the barley (*Hordeum vulgare*) genome. *Theor. Appl. Genet.* 86: 705 — 712.
- Koga H., Bushnell, Zeyen R. J. 1990. Specificity of cell type and timing of events associated with papilla formation and the hypersensitive reaction in leaves of *Hordeum vulgare* attacked by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Can. J. Bot.* 68: 2344 — 2352.
- Kogel K. L., Jarosch B., Schaffrath U. 1999. *Mlo* confers non-race specific resistance against *Blumeria* but enhances susceptibility to the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. In: *First International Powdery Mildew Conference*, 29.08.-2. 09., Avignon, France: 83 — 84.
- Kumar J., Hüchelhoven R., Beckhove U., Nagarajan S., Kogel K. H. 2001. A compromised *Mlo* pathway affects the response of barley to the necrotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana* (teleomorph: *Cochliobolus sativus*) and its toxin. *Phytopathol.* 91: 127 — 133.
- Lundqvist U. 1991. Swedish mutation research in barley with plant breeding aspects. A historical review. In: *Proc. Plant Plant Mutation Breeding for Crop Improvement*, Volume 1, IAEA/FAO IAEA, Vienna, Austria: 135 — 147.
- Lyngkjær M. F. 1985. Infection of barley with *E. graminis*: effect of Mlo-virulence and Mlo-resistance. Ph.D. thesis, Copenhagen: 1 — 88.
- Lyngkjær M. F., Østergård H. 1996. Powdery mildew infection of barley with the mlo resistance gene. In: *Proc. 9th Cereal Rusts and Powdery Mildew Conference*, 2–6.09. Lunteren, NL. *Cereal Rusts and Powdery Mildew Bull.* 24: 58 — 60.
- Lyngkjær M. F., Østergård H. 1998. Interaction between powdery mildew and barley with *mlo5* mildew resistance. *Plant Pathol.* 47: 252 — 258.
- Lyngkjær M. F., Carver T. L. W., Zeyen R. J. 1997. Suppression of resistance to *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* conferred by the *mlo5* barley powdery mildew resistance gene. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 50: 17 — 36.
- Lyngkjær M. F., Jensen H. P., Østergård H. 1995. A Japanese powdery mildew isolate with exceptionally large infection efficiency on Mlo-resistant barley. *Plant Pathol.* 45: 786 — 790.
- Lyngkjær M. F., Newton A. C., Atzema J. L., Baker S. J. 2000. The barley *mlo*-gene: an important powdery mildew resistance source. *Agronomie* 20: 745 — 756.
- Lyngkjær M. F., Østergård H., Munk L. 1996. Papilla formation in leaves of mlo-resistant barley attacked by mlo-virulent powdery mildew. In: *COST 817 Population studies of airborne pathogens on cereals as a means of*

- improving strategies for disease control. Integrated control of cereal mildews and rusts: Towards Coordination of Research Across Europe. Limpert E., Finckh M. R., Wolfe M. S. (ed.): 227 — 236.
- Manninen O. M., Turpeinen T., Nissilä E. 1997. Identification of RAPD markers closely linked to the *mlo*-locus in barley. *Plant Breeding* 116: 461 — 464.
- Newton A.C., Young I.M. 1996 a. Temporary partial breakdown of Mlo powdery mildew resistance in barley. *Euphytica* 63: 141 — 152.
- Newton A. C. Young I. M. 1996 b. Temporary partial breakdown of Mlo-resistance in spring barley by the sudden relief of soil water stress. *Plant Pathology* 45: 970 — 974.
- Nover I. 1972. Untersuchungen mit einer für den Resistenzträger 'Lyallpur 3645' virulenten Rasse von *Erysiphe graminis* DC. f. sp. *hordei* Marchal. *Arch Pflanzenschutz* 8: 439 — 445.
- Nover I., Schwarzbach E. 1971. Inheritance studies with a mildew resistant barley mutant. *Barley Genetics Newsl.* 1: 36 — 37.
- Pedersen L. H. 1990. 1,3- β -glucansynthetase activity and callose synthesis in barley *mlo* mutants and mother varieties. (Abstract no. 582.) *Physiol. Plant.* 79: 102.
- Peterhänsel C., Freialdenhoven A., Kurth J., Kolsch R., Schulze-Lefert P. 1997. Interaction analyses of genes required for resistance responses to powdery mildew in barley reveal distinct pathways leading to leaf cell death. *Plant Cell* 9: 1397 — 1409.
- Piffanelli P., Devoto A., Schulze-Lefert P. 1999. Defence signalling pathways in cereals. *Curr. Opin. Plant Biol.* 2: 295 — 300.
- Piffanelli P., Zhou F., Casais C., Orme J., Jarosch B., Schaffrath U., Collins N.C., Panstruga R., Schulze-Lefert P. 2002. The barley MLO modulator of defense and cell death is responsive to biotic and abiotic stress stimuli. *Plant Physiol.* 129 (3): 1076 — 1085.
- Rasmusson, D. C. 1985. *Barley*. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Publishers. Madison, Wisconsin.
- Röbblen G., Heun M. 1991. Genetic analysis of partial resistance against powdery mildew in induced mutants of barley. In: *Plant Mutation Breeding for Crop Improvement, Volume 1*, IAEA, Vienna, Austria: 93 — 111.
- Röpenack E. von, Parr A., Schulze-Lefert P. 1998. Structural analyses and dynamics of soluble and cell wall bound phenolics in a broad spectrum resistance to the powdery mildew fungus in barley. *J. Biol. Chemistry* 273: 9013 — 9022.
- Russo V. M., Bushnell W. R. 1989. Responses of barley cells to puncture by microneedles and to attempted penetration by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Can. J. Bot.* 67: 2912 — 2921.
- Saghai Maroof M. A., Zhang Q., Biyashev R. M. 1994. Molecular marker analyses of powdery mildew resistance in barley. *Theor. Appl. Genet.* 88: 733 — 740.
- Sherwood R. T., Vance C. P. 1982. Initial events in the epidermal layer during penetration. In: *Plant Infection: The Physiological and Biochemical Basis*. Asada Y., Bushnell W. R., Ouchi S., Vance C. P. (ed.), Japan Scientific Societies Press. Tokyo: 27 — 44.
- Schally H., Zedebrauer R., Zwatz B. 1995. Virulenzanalyse am Beispiel Sommergerste-Mehltau in Österreich unter Nutzung der Kollektionssysteme Sporenfall und Pflanzendeposition. *Pflanzenschutzberichte* 55: 52 — 68.
- Schulze-Lefert P., Vogel J. 2000. Closing the ranks to attack by powdery mildew. *Trends in Plant science* 5 (8): 343 — 348.
- Schulze-Lefert P., Shirasu K., Lahaye T., Piffanelli P., Devoto A., Orme J. 1999 a. Pathways leading to resistance and death: interactions of powdery mildew and barley. In: *7th International Congress of Plant Pathol.*, N° 6.58.
- Schulze-Lefert P., Shirasu K., Sandanarom A., Devoto A., Piffanelli P., Elliott C., Orme J., Haizel T., Zhou F., Hartmann A. 1999 b. Genetic and molecular components controlling disease resistance to powdery mildew in barley. W: *First International Powdery Mildew Conference*, 29.08.-2. 09. Avignon, France: 69.
- Schulze-Lefert P., Freialdenhoven A., Scherag, B., Görg, R. 1994. Dissection of resistance pathways in barley to powdery mildew attack. W: *Advances in Molecular Genetics of Plant-Microbe Interactions* 3, Daniels M. J. (ed.), Kluwer Academic Publishers: 309 — 312.
- Schwarzbach E. 1967. Recessive total resistance of barley against mildew (*Erysiphe graminis* D.C. f. sp. *hordei* Marchal) as a mutation induced by ethylmethansulphonate. *Genet. a. Šlecht.* 3: 157 — 161.
- Schwarzbach E. 1976. The pleiotropic effects of the *mlo* gene and their implications in breeding. W: *Barley Genetics III*, Karl Thieming, München: 440 — 445.

- Schwarzbach E. 1979. Response to selection for virulence against the *ml-o* based mildew resistance in barley, not fitting the gene-for-gene hypothesis. *Barley Genet. Newslet.* 9: 85 — 88.
- Schwarzbach E. 1987. Shifts to increased pathogenicity on *ml-o* varieties. In: *Integrated Control of Cereal Mildews: Monitoring the Pathogen*, Wolfe M. S., Limpert E. (ed.). Kluwer Acad. Press., Dordrecht, The Netherlands: 5 — 7.
- Schwarzbach E. 1997 a. Epidemiologic aspects of the *mlo* gene for resistance of barley to powdery mildew. *Genet. a Šlecht.* 33: 55 — 59.
- Schwarzbach E. 1997 b. Recent history of the *ml-o* gene. In: *Protection of Cereals Crops Against Harmful Organisms*. Tvaruzek L. (ed.) 1-4.07. Kromeriz, Czech Republik: 98.
- Schwarzbach E. 1998. The *mlo* based resistance of barley to mildew and the response of mildew populations to the use of varieties with the *mlo* gene. *Czech J. Genet. Plant Breed.* 34: 3 — 10.
- Simons G., van der Lee T., Diergaarde P., van Daelen R., Groenendijk J., Frijters A., Buschges R., Hollricher K., Topsch S., Schulze-Lefert P., Salamini F., Zabeau M., Vos P. 1997. AFLP-based fine mapping of the *Mlo* gene to a 30-kb DNA segment of the barley genome. *Genomics* 44 (1): 61 — 70.
- Skou J. P. 1982. Callose formation responsible for the powdery mildew resistance in barley with genes in the *ml-o* locus. *Phytopathol. Zeit.* 104: 90 — 95.
- Skou J. P. 1985. On the enhanced callose deposition in barley with *ml-o* powdery mildew resistance genes. *Phytopath. Zeit.* 112: 207 — 216.
- Skou J. P., Jørgensen J. H., Lilholt U. 1984. Comparative studies on callose formation in powdery mildew compatible and incompatible barley. *Phytopath. Zeit.* 109: 147 — 168.
- Słaboński A. 1985. Jęczmień jary i ozimy. PWRiL, Warszawa: 1 — 91.
- Słaboński A. 1994. Jęczmień jary — problemy produkcji i wykorzystania. *Biul. IHAR* 154: 19 — 27.
- Stein M., Somerville S. C. 2002. *Mlo*, a novel modulator of plant defenses and cell death, binds calmodulin. *Trends in Plant Science* 7 (9): 379 — 380.
- Stolzenburg M.C., Aist J. R., Israel H. W. 1984. The role of papillae in resistance to powdery mildew conditioned by the *ml-o* gene in barley. I. Corrective evidence. *Physiol. Plant Pathol.* 25: 337 — 346.
- Sudupak M., Bennetzen J. L., Hubert S. H. 1993. Unequal exchange and meiotic instability of disease-resistance genes in the *Rp1* region of Maize. *Genetics* 133: 119 — 125.
- Vos P., Hogers R., Bleekers M., Reijans M., van der Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 23: 4407 — 4414.
- Thomas W.T.B., Baird E., Fuller J. D., Lawrence P., Young G.R., Russell J., Ramsay L., Waugh R., Powell W. 1998. Identification of a QTL decreasing yield in barley linked to *Mlo* powdery mildew resistance. *Mol. Breed.* 4 (5): 381 — 393.
- Walter U., Zimmermann H. 1993. Blattflecken, die den Ertrag nicht schmälern. Sortenspezifische Erscheinungsbilder und Auswirkungen der durch *mlo*-Gen bedingten Blattflecken bei Braugersten. *Neue Landwirtschaft* 1: 34 — 35.
- Wiberg A. 1973. Mutants of barley with induced resistance to powdery mildew. *Hereditas* 75: 83 — 100.
- Wiberg A. 1974. Genetical studies of spontaneous sources of resistance to powdery mildew in barley. *Hereditas* 77: 89 — 148.
- Wolfe M. S. 1972. The genetics of barley mildew. *Rev. Pl. Path.* 51 (8): 507 — 522.
- Wolter M., Hollricher K., Salamini F., Schulze-Lefert P. 1993. The *mlo* resistance alleles to powdery mildew infection in barley trigger a developmentally controlled defence mimic phenotype. *Mol. Gen. Genet.* 239: 122 — 128.
- Yamaguchi I., Yamashita A. 1979. Induced mutation of two-rowed barley resistant to powdery mildew, *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. I. Comparison of effects of gamma-rays and ethylene imine induction of resistant mutation. *Jpn. J. Breed.* 29: 217 — 227.
- Yokoyama K., Aist J. R., Bayles C. J. 1991. A papilla-regulating extract that induces resistance to barley powdery mildew. *Physiol. Mol. Plant Pathol.* 39: 71.
- Zabeau M., Vos P. 1993. European patent application. Publication No. EP 0534858.
- Zeyen R. J. 1999. Papillae and localized inorganic chemical elements in defense. In: *First International Powdery Mildew Conference*, 29.08.-2.09. Avignon, France: 66.

- Zeyen R. J., Ahlstrand G. G., Carver T. L. W. 1993. X-ray microanalysis of frozen-hydrated, freeze-dried, and critical point dried leaf specimens — Determination of soluble and insoluble chemical elements at *Erysiphe graminis* epidermal cell papilla sites in barley isolines containing *mlo* and *mlo* alleles. Can. J. Bot. 71: 284 — 296.
- Zeyen R. J., Bushnell W. R., Carver T. L. W., Robbins M. P., Clark T. A., Boyles D. A., Vance C. P. 1995. Inhibiting phenylalanine ammonia lyase and cinnamylalcohol dehydrogenase suppress *Mla1* (HR) but not *mlo5* (non-HR) barley powdery mildew resistances. Physiol. Mol. Plant Pathol. 47: 119 — 140.
- Zeyen R. J., Carver T. L., Lyngkjær M. F. 2001. The formation and role of papillae In: The powdery mildews: a comprehensive treatise. Belanger R. R., Dik A. J., Bushnell W. R. (ed.), APS Press, St. Paul, Minnesota, US, in. press.
- Zwatz B. 1987. Analyse der Resistenzfaktoren und Virulenzfaktoren im Wirt-Parasit-System Sommergarste-Sorten und Mehltau (*Erysiphe graminis* DC. f. sp. *hordei*) in Österreich. Die Bodenkultur 38: 341 — 349.