

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 III. Trwałość odporności

Mlo resistance of barley to powdery mildew (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) Part III. Durability of resistance

Mączniak prawdziwy (powodowany przez *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) jest jedną z najważniejszych chorób jęczmienia (*Hordeum vulgare* L.). Uprawa odpornych odmian jest skuteczną metodą ochrony jęczmienia przed tą chorobą. Dotychczas nie znaleziono izolatów *B. graminis* f. sp. *hordei* wirulentnych w stosunku do genu *mlo*. Odporność Mło uważana jest za trwałą, ponieważ jest efektywna przez długi okres czasu. W pracy przedstawiono główne zagadnienia związane z trwałością odporności Mło.

Słowa kluczowe: jęczmień, mączniak prawdziwy, odporność Mło, trwałość odporności

Powdery mildew (caused by *Blumeria graminis* f. sp. *hordei*) is one of the most important diseases affecting the barley. The growing of resistant cultivars is the effective method to control of this disease. Until now no virulent isolates of *B. graminis* f. sp. *hordei* to *mlo* gene have been found. The Mlo resistance is considered to be durable because it has remained effective for a long time while being used widely. In this paper were discuss the main aspects of durability of the Mlo resistance.

Key words: barley, Mlo resistance, powdery mildew, durability of resistance

WSTĘP

Odporność na choroby, w tym na mączniaka prawdziwego zbóż (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*), jest jednym z głównych czynników warunkujących wysokie plony nasion jęczmienia. Stosowanie fungicydów oraz zabiegi agrotechniczne to jedne ze sposobów zwalczania chorób roślin (Gacek, 1990, 1992, 1998). Jednak skuteczność zabiegów agrotechnicznych w zwalczaniu patogenów liściowych jęczmienia jest niewielka, a stosowanie fungicydów jest kosztowne (koszt fungicydu, paliwa, robocizny, opryskiwaczy) oraz prowadzi do wzrostu poziomu odporności patogenów na fungicydy

(Gacek, 1992). Stosowanie fungicydów ulega również ograniczeniom ze względów ekologicznych (Czembor i Czembor, 2001). Uprawa odmian odpornych znacznie obniża nasilenie chorób, w tym mączniaka prawdziwego zbóż, oraz powoduje zwiększenie plonów średnio o 4–10% oraz poprawia stabilność plonowania (Gacek i Czembor, 1983; Gacek, 1992).

Populacja grzyba *B. graminis* f. sp. *hordei* charakteryzuje się dużą dynamiką zmian genetycznych pod względem ilościowym i jakościowym (Czembor, 1981; Czembor i Kudła, 1984; Lyngkjær i in., 2000). Związane jest to z silną presją selekcyjną ze strony genetycznie jednorodnych odmian żywiciela na chorobotwórczość patogena (Czembor i Gacek, 1987, 1990; Czembor, 2002). Głównymi źródłami zmienności u mączniaka są mutacje oraz rozmnażanie płciowe. W Europie Środkowej mutacje wydają się być głównym czynnikiem przyczyniającym się do powstawania nowych genów wirulencji i ich kombinacji w populacji *B. graminis* f. sp. *hordei*. Współczynnik mutacji spontanicznych w jednym locus od awirulencji do wirulencji waha się od 10^{-9} do 10^{-6} na jedną generację patogena (Marshall, 1977; Torp i Jensen, 1985).

Grzyb *B. graminis* f. sp. *hordei* jest patogenem którego zarodniki konidialne są przenoszone z wiatrem. W warunkach Polski większość wiatrów jest z kierunku zachodniego, co w powiązaniu z faktem, że wegetacja w Europie Zachodniej zaczyna się wcześniej niż w Polsce powoduje powszechne występowanie tego grzyba wiosną na plantacjach jęczmienia w naszym kraju (Czembor i Kudła, 1984; Limpert i in., 1999; 2000). Zarodniki konidialne tego grzyba znaleziono na wysokości kilku tys. m nad ziemią i udowodniono ich przemieszczanie się na odległość do 500 km (Jenkyn i Bainbridge, 1978). Na porażonej grzybem *B. graminis* f. sp. *hordei* roślinie jęczmienia można zaobserwować setki kolonii grzyba. Od zetknięcia się zarodnika konidialnego z rośliną do powstania kolonii grzyba wytwarzającej zarodniki konidialne w optymalnych warunkach potrzeba 8–10 dni. W warunkach niesprzyjających rozwojowi grzyba proces ten trwa nawet 25 dni. Jedna kolonia grzyba wytwarza w warunkach optymalnych ok. 300 tys. zarodników konidialnych (Jørgensen, 1988). Biorąc to pod uwagę patogen może się szybko namnażać aseksualnie wytwarzając ok. 20 cykli rozwojowych w ciągu sezonu wegetacyjnego w warunkach Europy Środkowej (Limpert, 1985).

Johnson (1984) zdefiniował trwałą odporność gospodarza na patogena jako typ odporności, który jest efektywny w powszechnie uprawianych odmianach przez długi okres czasu. Według tej definicji odporność Mlo jęczmienia na mączniaka jest odpornością trwałą. Znane są przypadki załamania się odporności warunkowanej pojedynczymi genami, która była efektywna przez kilkadziesiąt lat, czyli uznawana za trwałą. Przykładem jest gen *Mlg*, który warunkował efektywną odporność jęczmienia na europejską populację mączniaka przez ponad 50 lat oraz gen *Rpg1*, który warunkował wysoce efektywną odporność pszenicy na rdzę żdźbłową w USA przez ponad 40 lat (Wolfe i Schwarzbach, 1978 a, 1978 b; Steffenson, 1992).

W ciągu ostatnich 20 lat areal uprawy odmian jęczmienia z genem *mlo* warunkującym odporność na mączniaka prawdziwego *B. graminis* f. sp. *hordei* istotnie wzrastał (Schwarzbach, 1997 b, 1998; Czembor i Czembor, 2003 b). Odporność ta jest nadal w pełni efektywna gdyż nie znaleziono izolatu patogena z wirulencją w stosunku do genu *mlo*.

W ostatnich latach pojawiały się alarmujące doniesienia z różnych krajów Europy np. Austrii, Niemiec, Wielkiej Brytanii, na temat występowania dużego nasilenia mączniaka na odmianach z genem *mlo* (Jørgensen, 1992; Atzema, 1998). Jednak były to fałszywe alarmy wynikające z faktu, że rolnicy myśleli, że uprawiają odmianę z genem *mlo*, a w rzeczywistości była to odmiana bez genu *mlo*, lub z faktu, że rolnicy wysiali odmianę z genem *mlo* z dużą domieszką odmiany bez genu *mlo* (Jørgensen, 1992; Newton i Young, 1996; Atzema, 1998). Atzema (1998) badała izolaty *B. graminis* f. sp. *hordei* pobrane z pól, na których były uprawiane odmiany z genem *mlo*, gdzie zaobserwowano podwyższony poziom występowania mączniaka, jednak jej szczegółowe badania laboratoryjne nie wykazały ich podwyższonej wirulencji w stosunku do genu *mlo*. Zwiększone nasilenie mączniaka na tych polach można tłumaczyć wysokim nawożeniem azotowym lub stresem suszy.

Dlatego, biorąc pod uwagę „niezwykłą” trwałość odporności uwarunkowanej przez gen *mlo* oraz spekulacje wśród rolników, genetyków, hodowców i fitopatologów nad możliwością jej „załamania” celem przedstawionej pracy jest opisanie niektórych aspektów trwałości odporności Mlo.

TRWAŁOŚĆ ODPORNOŚCI MLO NA TLE EUROPEJSKICH BADAŃ PATOGENICZNOŚCI POPULACJI *B. GRAMINIS* F. SP. *HORDEI*

Mimo szerokiego użycia w Europie odmian z genem *mlo* odporność Mlo pozostała wysoce efektywna (Lyngkjær i in., 2000; Schwarzbach i in., 2002; Czembor i Czembor, 2003 b). Wiele danych otrzymanych w wyniku monitorowania zmian wirulencji w populacji mączniaka w 12 krajach Europy (Austria, Czechy, Dania, Finlandia, Francja, Łotwa, Niemcy, Polska, Słowacja, Ukraina, Węgry, Wielka Brytania) w ciągu ostatnich lat wskazuje na brak izolatów wirulentnych w stosunku do genu *mlo* (Atzema, 1998; Lyngkjær i in., 2000; Schwarzbach i in., 2002). Jedynie w 1998 roku dane monitorowania populacji mączniaka w Wielkiej Brytanii wykazały zauważalny wzrost liczby kolonii grzyba na odmianie Riviera a wyniki eksperymentów przeprowadzonych w Wielkiej Brytanii sugerują niewielki wzrost agresywności populacji mączniaka w stosunku do roślin z genem *mlo* (Atzema, 1998; Slater i Clarkson, 1999, 2001 a, 2001 b).

Już od 20 lat genetycy, hodowcy i fitopatolodzy zajmujący się odpornością jęczmienia na mączniaka spodziewają się „załamania” odporności Mlo. Obawy te są częściowo potwierdzone przez fakt, że opisano 2 izolaty mączniaka o podwyższonej wirulencji w stosunku do genu *mlo* (Schwarzbach, 1979; Lyngkjær i in., 1995). Na początku lat 90. XX wieku niektórzy autorzy donosili, że w populacji mączniaka następuje wzrost wirulencji w stosunku do genu *mlo* (Felsenstein i Fischbeck, 1992, 1993). W celu wyjaśnienia tego problemu na terenie Centralnej Europy, gdzie odmiany jęczmienia jarego posiadające gen *mlo* były uprawiane na dużą skalę, podjęto badania mające na celu określenie adaptacji patogena w latach 1993–1994 (Atzema, 1998). Do badań wybrano 3 regiony: Saksonia, Dolna Austria i Nadrenia Palatynat. W Dolnej Austrii jęczmień jary miał 70% udział w zasiewach jęczmienia. Uprawę odmiany Atem rozpoczęto tam w 1981 roku i w latach 1983–1993 odmiany Atem i Apex stanowiły 30–60% zasiewów jęczmienia

jarego. W Saksonii pierwszą uprawianą odmianą z genem *mlo* była Salome i rozpoczęto jej uprawę w 1982 roku. W późniejszych latach uprawiane były również inne odmiany z genem *mlo*: Krona i Bitrana. W latach 1993–1994 odmiany z genem *mlo* miały 85% udział w zasiewach jęczmienia jarego. Około 30% uprawianego jęczmienia w tym regionie stanowił jęczmień jary. Regionem, w którym występowała duża presja selekcyjna w kierunku wytworzenia izolatów *mlo*-wirulentnych był również region Nadrenii Palatynatu. W regionie tym w latach 1990–1996 wszystkie uprawiane odmiany jęczmienia jarego (Alexis i Krona) posiadały gen *mlo*, a jęczmień jary stanowił 75% powierzchni zasiewów jęczmienia. W tych warunkach presja selekcyjna w kierunku powstania *mlo*-wirulentnych była duża, jednak nie znaleziono izolatów *mlo*-wirulentnych lub o podwyższonej wirulencji w stosunku do genu *mlo*. Był to niespodziewany wynik, gdyż według statystycznych wyliczeń *mlo*-wirulentne izolaty powinny występować w populacji mączniaka na tych terenach z frekwencją ok. 1% (Atzema, 1998; Schwarzbach, 1998).

W 1997 roku Schwarzbach badał populację *B. graminis* f. sp. *hordei* w południowo-zachodniej Słowacji, na Morawach, Czechach, wschodnich Niemczech oraz w Danii w celu określenia adaptacji patogena do odporności *Mlo*. W tym celu był użyty chwytacz zarodników grzyba umieszczony na dachu samochodu. W chwytaczu tym na pożywce agarowej z dodatkiem benzimidazolu i ampiciliny były umieszczone fragmenty liści linii podatnej SM42 oraz linii HL70 z genem *mlo9*. Izolaty mączniaka były zbierane z łapacza co 100–200 km. Badania te różniły się istotnie od badań opisanych przez Andersena (1989) i Atzemę i wsp. (1994) znacznie większą liczbą izolatów ocenianych pod względem stopnia ich wirulencji do genu *mlo*. Opracowano specjalną procedurę pozwalającą na testowanie poszczególnych populacji mączniaka prowadząc selekcję i izolując izolaty o zwiększonym stopniu wirulencji na gen *mlo*. Wynikiem tych badań było stwierdzenie obecności izolatów wykazujących zwiększoną wirulencję w stosunku do genu *mlo*, jednak wirulencja ta nie była większa niż 10 razy w porównaniu do awirulentnych izolatów kontrolnych. Wirulencja tych izolatów była znacznie mniejsza niż opisany wcześniej, częściowo *mlo*-wirulentny izolat HL3. Największa frekwencja tego rodzaju izolatów występowała w okolicy Magdeburga (3,5%), podczas gdy w regionie Lipska wynosiła ona 2%, a w Czechach i na Morawach 0,1%. Wyniki otrzymane w Niemczech, Danii i na Słowacji nie mogą być interpretowane jednoznacznie ze względu na małą liczbę zebranych izolatów. W badaniach oceniono 5972 izolaty i w 10 izolatach stwierdzono częściową wirulencję w stosunku do genu *mlo*. Biorąc pod uwagę przedstawione wyniki stwierdzono, że w populacji mączniaka w Europie Środkowej izolaty o częściowo zwiększonej wirulencji w stosunku do genu *mlo* występują z frekwencją ok. 0,2%. Po analizie i wykluczeniu wyników otrzymanych dla populacji mączniaka zebranej w okolicach Magdeburga, gdzie prawie wyłącznie uprawiano odmiany z genem *mlo* oceniono, że frekwencja ta dla pozostałych badanych regionów wynosi ok. 0,1%. Podsumowując te badania należy stwierdzić, że frekwencja izolatów o stosunkowo niewielkim wzroście wirulencji na gen *mlo* (maksymalnie 10 razy więcej kolonii w stosunku do kontroli) jest bardzo niska i biorąc pod uwagę ustabilizowany w ostatnim czasie udział odmian z genem *mlo* w zasiewach jęczmienia jarego, wynoszący ok. 30% dla Europy Środkowej, odporność

Mlo powinna utrzymać swoją trwałość przez jeszcze stosunkowo długi czas (Schwarzbach, 1997 a, 1997 b, 1998).

IZOLATY O CZĘŚCIOWO PODWYŻSZONEJ WIRULENCJI W STOSUNKU DO GENU *MLO*

Pierwszy izolat o podwyższonej wirulencji w stosunku do genu *mlo* (HL-3) został opisany przez Schwarzbacha (1979), w tym samym roku, w którym zarejestrowano pierwszą odmianę z genem *mlo* w Europie. Izolat ten wyselekcjonowano w warunkach szklarniowych w wyniku wielokrotnego zakażenia siewek jęczmienia z genem *mlo9* izolatem GE-3. Zarodniki konidialne pochodzące z nielicznych kolonii grzyba powstałych na roślinach służyły do powtórnego zakażenia siewek z genem *mlo9*. Cykl ten powtarzano ok. 40 razy. Następnie porównano agresywność izolatu wyjściowego GE-3 i otrzymanego HL-3. Agresywność izolatu GE-3 oceniono jako zdolność utworzenia 0,02 kolonii na 100 zarodników konidialnych, a izolatu HL-3 jako zdolność utworzenia 2,72 kolonii na 100 zarodników konidialnych. Patogeniczność izolatów GE-3 oraz HL-3 była porównywana również przez innych badaczy, którzy potwierdzili wyniki otrzymane przez Schwarzbacha (1979) (Andersen i Jørgensen, 1992; Lyngkjær i Østergard, 1996, 1998). Autorzy ci w wyniku badań mikroskopowych stwierdzili również, że izolat HL-3 tworzy kolonie na komórkach długich epidermy ponad 1000 razy częściej, na komórkach krótkich epidermy ponad 75 razy częściej, a na komórkach przyszparkowych 10 razy częściej niż jego izolat wyjściowy GE-3. W badaniach tych stwierdzono również, że izolat HL-3 tworzył kolonie 50 razy częściej niż izolat GE-3. Lyngkjær i wsp. (1995) opisali izolat RaceI, pochodzący z Japonii, wykazujący częściową wirulencję w stosunku do genu *mlo* podobną do wirulencji izolatu HL-3. Izolat ten uzyskano w latach 50. XX wieku w Japonii, podczas gdy nie uprawiano odmian z genem *mlo*, a jego częściową *mlo*-wirulencję opisano dopiero 40 lat później.

Najwyższy opisany poziom agresywności izolatów HL-3 i Race I w stosunku do genu *mlo* stanowi tylko ok. 10% agresywności patogena na materiale roślinnym z głównymi genami odporności, ale bez genu *mlo*. Jednak opisanie izolatów HL-3 i Race I świadczy o tym, że *mlo*-wirulentne izolaty mogą powstać w sposób spontaniczny w warunkach naturalnych. Częściowo zostało to potwierdzone obserwacjami opisanymi przez Felsensteina i Fischbecka (1992, 1993) oraz Schwarzbacha (1987, 1998) dotyczącymi populacji mączniaka na terenie Niemiec oraz przez Yahyaoui i wsp. (1997) dotyczącymi populacji mączniaka na terenie Maroka i Tunezji. W badaniach tych wykazano istnienie, jednak z bardzo niską frekwencją, izolatów o częściowo zwiększonej wirulencji w stosunku do genu *mlo*.

Podstawy genetyczne wirulencji *Vo* u haploidalnego grzyba *B. graminis* f. sp. *hordei* nie zostały dokładnie scharakteryzowane. Schwarzbach (1979) sugerował, że stopniowy wzrost wirulencji grzyba w stosunku do genu *mlo* w jego eksperymentach dotyczących izolatu HL-3 wskazuje, że wirulencja w stosunku do genu *mlo* jest kontrolowana przez więcej niż jeden gen. Ponadto 6 genotypów wyselekcjonowanych w wyniku tego eksperymentu można było rozdzielić na 4 grupy ze względu na ich tempo rozwoju, co wskazywało na udział minimum 3 genów. Opinie o tym, czy opisane 2 izolaty nazywać

agresywnymi czy wirulentnymi są podzielone. W praktyce rolniczej izolaty te nie stanowią istotnego zagrożenia gdyż: (1) są one tylko częściowo mlo-wirulentne, (2) częściowa mlo-wirulencja tych izolatów uwiadcza się głównie na pierwszym liściu siewki oraz (3) na częściową mlo-wirulencję tych izolatów wpływają istotnie czynniki zewnętrzne (temperatura, nawożenie azotem, dostępność wody) (Atzema, 1998; Czembor i Czembor, 2003 a). Fakt, że dotychczas znane izolaty o podwyższonej wirulencji w stosunku do genu *mlo* nie wykazują jej w stosunku do roślin starszych niż 3 tygodnie może wskazywać na to, że stopień ekspresji odporności Mlo wzrasta z wiekiem rośliny. Ma to bardzo duże znaczenie dla odporności polowej odmian z genem *mlo* na mączniaka (Atzema, 1998; Schwarzbach, 1998; Czembor i Czembor, 2003 a).

INDUKOWANIE ZWIĘKSZONEGO STOPNIA ODPORNOŚCI GENOTYPÓW JĘCZMIENIA Z GENEM *MLO*

Inokulacja roślin jęczmienia zarodnikami konidialnymi grzyba *B. graminis* f. sp. *hordei* powoduje zmiany w poszczególnych komórkach epidermy prowadzące do zwiększenia lub zmniejszenia ich podatności na zakażenie tym grzybem (Atzema, 1998; Lyngkjær i Carver, 1999). Mechanizm tego rodzaju indukcji był badany dla odmiany z genem *mlo* używając izolatów awirulentnych i wirulentnych w stosunku do tego genu (Lyngkjær i Carver, 1999). Badania te wykazały, że w przypadku użycia izolatu o zwiększonej wirulencji w stosunku do genu *mlo*, gdy infekcja się powiedzie i wytworzone zostanie haustorium, to ekspresja odporności Mlo zainfekowanej komórki oraz komórek sąsiednich jest ograniczona. Natomiast w przypadku użycia izolatu awirulentnego w stosunku do genu *mlo*, gdy infekcja się nie powiedzie to ekspresja reakcji odpornościowej Mlo zainfekowanej komórki oraz komórek sąsiednich jest wzmocniona zarówno w stosunku do izolatów wirulentnych, jak i izolatów o zwiększonej wirulencji *Vo* (Lyngkjær i Carver, 1999; Lyngkjær i in., 2000). Tego rodzaju indukowanie zwiększonej lub zmniejszonej podatności powoduje, że podczas gdy większość genotypów populacji *B. graminis* f. sp. *hordei* nie jest wirulentna w stosunku do genu *mlo*, to rośliny jęczmienia rosnące w polu będą wykazywały wysoki poziom odporności indukowanej, zarówno w stosunku do izolatów wirulentnych, jak i izolatów o zwiększonej wirulencji w stosunku do genu *mlo*. W przypadku, gdy wirulencja *Vo* stanie się powszechna dla populacji mączniaka to będzie ona w sposób istotny wpływała na indukowanie zwiększonej podatności roślin jęczmienia na tego patogena (Atzema, 1998; Lyngkjær i Carver, 1999).

PRESJA SELEKCYJNA W KIERUNKU POWSTANIA IZOLATÓW *B. GRAMINIS* F. SP. *HORDEI* WIRULENTNYCH W STOSUNKU DO GENU *MLO*

Uprawa odmian jęczmienia z genem *mlo* na bardzo dużą skalę wywiera istotną presję selekcyjną w kierunku zwiększenia wirulencji w stosunku do tego genu w populacji mączniaka. Dotychczas opisano 3 główne przyczyny braku występowania izolatów z wirulencją *Vo* w warunkach polowych w ciągu ostatnich 20 lat: specyficzny mechanizm działania odporności Mlo, uwarunkowanie genetyczne tej odporności oraz mała selekcyjna

korzystać częściowo mło-wirulentnych izolatów mączniaka w warunkach naturalnych (Atzema, 1998; Schwarzbach, 1998; Lyngkjær i in., 2000; Schwarzbach i in., 2002).

Mechanizm działania

Mechanizm działania odporności Mło polega głównie na szybkim formowaniu stosunkowo bardzo dużych i strukturalnie zwartych warstw ochronnych (papilla) na skutek prób penetracji strzępek grzyba do wnętrza komórek epidermy jęczmienia. Mechanizm obronny, jakim jest wytwarzanie papilli występuje również u roślin jęczmienia z niezmutowanym genem *mlo* (niezmutowanym) oraz jest powszechny u pszenicy, owsa i wielu innych gatunków roślin (Aist i Gold, 1987; Carver i in., 1992). Tak więc gen *mlo* nie warunkuje nowego rodzaju reakcji odpornościowej rośliny, jedynie w sposób ilościowy i jakościowy wzmacnia już istniejący, jakim jest wytwarzanie papilli (Czembor i Czembor, 2003 a). Mechanizm ten u roślin bez genu *mlo* oraz bez genów głównych, warunkujących odporność na mączniaka powoduje, że ponad 80% zarodników konidialnych nie jest w stanie zainfekować komórek epidermy. U roślin z genem *mlo* procent ten jest znacznie wyższy i wynosi 99,96% (Atzema, 1998).

W przeciwieństwie do genów odporności warunkujących reakcję nadwrażliwości, odporność warunkowana genem *mlo* wpływa głównie na efektywność zakażenia patogenem rośliny żywicielskiej i nie powoduje typów infekcji charakterystycznych dla odporności opisanych w skali fitopatologicznej jako 0, 1, 2, 3, lecz warunkuje typ infekcji 4 typowy dla roślin podatnych. Jednak liczba kolonii jest ok. 500 razy mniejsza na roślinach z genem *mlo* w stosunku do roślin podatnych co zostało określone odnoszącym się tylko do genu *mlo* typem infekcji 0(4) (Atzema, 1998; Lyngkjær i in., 2000; Schwarzbach i in., 2002; Czembor i Czembor, 2003 a). Efektywność ta zależy głównie od rodzaju komórek epidermy, przez które wnika strzępka infekcyjna grzyba i dla izolatów awirulentnych w stosunku do genu *mlo* wynosi ona: dla komórek przysparkowych 0,8%, dla komórek krótkich w sąsiedztwie szparek 0,1%, a dla komórek długich mniej niż 0,003% (Andersen, 1989; Andersen i Jørgensen, 1992). Wymienione rodzaje komórek stanowią kolejno 6%, 35% i 59% powierzchni liścia. Zjawisko zróżnicowanej podatności na zakażenie mączniakiem różnych rodzajów komórek skórki jęczmienia jest charakterystyczne nie tylko dla genu *mlo*, ale zostało opisane również dla innych genów (Koga i in., 1990; Mishina i in., 1993). Obecność na roślinach z genem *mlo* nielicznych kolonii grzyba wytwarzających zarodniki konidialne powoduje znaczne obniżenie presji selekcyjnej w kierunku *Vo* niż jest to w przypadku większości genów odporności warunkujących typ infekcji 0, 1, 2, (brak zarodnikowania) lub 3 (bardzo ograniczone zarodnikowanie) (Atzema, 1998; Lyngkjær i in., 2000).

Uwarunkowanie genetyczne

Obserwacje i badania nad częściowo wirulentnym izolatem HL-3 wskazują na istnienie od 3 do 6 genów odpowiedzialnych za częściowo zwiększoną wirulencję tego izolatu w stosunku do genu *mlo* (Schwarzbach, 1979; Andersen, 1991; Atzema i in., 1996). Wyniki badań Atzemy (1998) polegających na skrzyżowaniu izolatów E1 i E82 z częściowo wirulentnym izolatem HL3/5 wyselekcjonowanym przez Schwarzbacha (1979) wskazują, że częściowa mło-wirulencja izolatu HL3/5 warunkowana jest obecnością minimum 4 genów o zróżnicowanym stopniu ekspresji. Działanie jednego

z tych genów ma charakter regulujący ekspresję pozostałych 3 genów. Wyniki te są potwierdzeniem wcześniejszych obserwacji dokonanych przez Andersena (1991). Wirulencja *Vo* jest więc cechą ilościową i wymaga skumulowania w jednym genotypie patogena kilku lub kilkunastu genów. Prawdopodobieństwo by tak się stało jest bardzo małe, a przede wszystkim o wiele mniejsze niż w przypadku odporności warunkowanej jednym genem, jak to ma miejsce dla 36 genów odpornościowych głównych, używanych w hodowli jęczmienia w ciągu ostatnich siedemdziesięciu lat (Atzema, 1998). Recesywność genu *mlo* wynika z braku funkcjonalnego białka kodowanego przez „dziki” gen *mlo*. Białko to składa się z 533 aminokwasów i wiele alleli genu *mlo* powstało w wyniku mutacji punktowych, najczęściej delecji jednej lub kilku par zasad spośród 1599 par zasad stanowiących gen *mlo* (Büschegees i in., 1997; Czembor i Czembor, 2003 a). Biorąc pod uwagę opis genu *mlo* na poziomie molekularnym prawdopodobieństwo zaistnienia mutacji przywracających funkcjonalność genu *Mlo* jest bardzo małe.

Dotychczas nazwano i opisano 30 różnych alleli *mlo*, jednak obecność genu *mlo* została stwierdzona w 160 mutantach oraz kilkunastu liniach pochodzących z odmian miejscowych zebranych w Etiopii, Libii, Turcji i Jemenie (Czembor i Czembor, 2003 a). Mimo tak dużej liczby źródeł tej odporności obecnie w hodowli odmian jęczmienia jarego używa się głównie allelu *mlo11* oraz rzadziej allelu *mlo9*. Aby zwiększyć trwałość odporności *Mlo* należy zalecać hodowcom sięganie również po inne opisane allele tego genu. Ponadto fakt istnienia tak dużej liczby alleli *mlo* powoduje, że z chwilą „załamania” się odporności uwarunkowanej allelami *mlo11* i *mlo9* można będzie sięgnąć po inne istniejące allele, lub uzyskać nowe allele na drodze mutacji i przy zastosowaniu technik molekularnych (Jørgensen, 1984, 1993, 1994; Czembor i Gacek, 1991).

Korzyść selekcyjna

Korzyść selekcyjna dla nowej wirulencji może być określona jako zwiększony udział danego izolatu w populacji naturalnej mączniaka w ciągu jednego cyklu selekcyjnego. W warunkach naturalnych prawie identyczne genotypy jęczmienia rosną na stosunkowo dużych obszarach. Rozwój choroby odbywa się głównie na skutek infekcji pierwotnej powodowanej przez zarodniki konidialne izolatów pochodzących często z odległych (oddalonych o kilkadziesiąt kilometrów) źródeł. Infekcja pierwotna odbywa się krótko po wschodzie roślin i dalszy rozwój choroby odbywa się autonomicznie w obrębie populacji patogena na poszczególnych polach. Biorąc to pod uwagę odbywa się tylko jeden cykl selekcyjny w ciągu sezonu (Wolfe i Schwarzbach, 1978 a, 1978 b; Bousset, 2000). Praktyczną miarą namnażania się poszczególnych izolatów (selekcyjnej korzyści) jest liczba kolonii wytworzonych w stosunku do liczby zarodników konidialnych, jakie zetknęły się z gospodarzem. Schwarzbach (1998) przedstawił teoretyczne dane dotyczące tego zagadnienia zakładając m.in., że region jest „fitopatologicznie” zamknięty, izolaty namnażają się aseksualnie, gospodarz (jęczmień) rośnie w zasiewie czystym, selekcja izolatów odbywa się tylko podczas infekcji pierwotnej. W tej pracy wykazał, że korzyść selekcyjna izolatów częściowo *mlo*-wirulentnych wynosi ułamki procenta (dla obecnego 20%–50% udziału powierzchni jęczmienia z genem *mlo*) oraz, że potrzeba kilkadziesiąt lat, aby odporność *Mlo* straciła swoją efektywność. Przedstawione przez niego rozważania tłumaczą obserwowaną przez ćwierć wieku trwałość odporności *Mlo*. Procent ten może

w warunkach naturalnych być większy na skutek dwóch dodatkowych czynników. Pierwszym z nich jest powstanie w sposób nieprzewidywalny mutantów, które będą zawierały w sobie wiele zmutowanych genów prowadzących do zwiększenia ich wirulencji w stosunku do genu *mlo* (Atzema, 1998; Schwarzbach, 1998). Drugim czynnikiem jest rekombinacja seksualna, która wprawdzie występuje rzadko (np. ok. 25% zarodników workowych w populacji mączniaka jesienią w Wielkiej Brytanii), to może istotnie wpływać na powstanie nowych, częściowo *mlo*-wirulentnych izolatów (Atzema, 1998). Jej znaczenie istotnie wzrośnie z chwilą, gdy w uprawie znajdą się odmiany jęczmienia ozimego z genem *mlo*. Niektórzy hodowcy jęczmienia uzyskali już zaawansowane linie jęczmienia ozimego z genem *mlo* (Spunar, 1996; Atzema, 1998). Większość hodowców, genetyków i fitopatologów uznaje słuszność ograniczenia wykorzystania genu *mlo* w odmianach jęczmienia jarego, ale w krajach, w których uprawia się głównie jęczmień ozimy wykorzystanie odporności *Mlo* staje się uzasadnione. Presja selekcyjna wywierana przez odmiany z genem *mlo* na populację patogena jest znacznie mniejsza niż presja selekcyjna wywierana przez odmiany z genami głównymi odporności, warunkującymi odporność, w wyniku której izolaty awirulentne nie wytwarzają zarodników konidialnych. Spowodowane jest to dużo większym zróżnicowaniem genetycznym populacji mączniaka występujących na odmianach z genem *mlo* niż na odmianach z genami rasowo specyficznymi, ponieważ w tym ostatnim przypadku przeżyć mogą jedynie izolaty wirulentne w stosunku do tych genów (Atzema, 1998; Schwarzbach, 1998; Schwarzbach i in., 2002).

PODSUMOWANIE

Biorąc pod uwagę przedstawione aspekty trwałości odporności *Mlo* można uznać, że znaczenie jej będzie wzrastać. Odporność *Mlo* zachowa swój trwały charakter przez następne kilkadziesiąt lat pod warunkiem spełnienia 5 zaleceń: (1) nie wprowadzanie do uprawy odmian jarych i ozimych z odpornością *Mlo* na tym samym terenie, (2) stosowanie genu *mlo* w połączeniu z innymi genami głównymi w nowych odmianach jęczmienia, (3) stosowanie odmian wieloliniowych i mieszanek odmianowych, w których część linii/odmian była by z genem *mlo*, a część linii/odmian z innymi genami odporności, (4) stosowanie poprawnej agrotechniki oraz ograniczenie występowania stresów fizjologicznych, (5) stosowanie integrowanego systemu ochrony roślin: uprawa odmian z genem *mlo* w połączeniu z odpowiednią agrotechniką (nawożenie, nawadnianie itp.) oraz z zastosowaniem środków ochrony roślin (Jørgensen, 1984, 1993; Atzema, 1998; Schwarzbach, 1998; Lyngkjær i in., 2000; Czembor i Czembor, 2003 a, 2003 b, 2003 c).

LITERATURA

- Aist J. R., Gold R. E. 1987. Prevention of fungal ingress: The role of papillae and calcium. In: Nishimura S., Vance C. P., Doke N. (ed.) Molecular Determinants of Plant Diseases, Springer-Verlag, Berlin: 47 — 58.
 Andersen L. 1989. Overvågning af *Mlo* aggressivitet. Nordic Plant Protection Conference 1989. Helsingør, Denmark: 79 — 86.

- Andersen L. 1991. Mlo aggressiveness in European barley powdery mildew. W: Integrated Control of Cereals: Virulence Patterns and Their Change. Jørgensen (ed.), Risø National Laboratory, Roskilde, Denmark: 187 — 196.
- Andersen L, Jørgensen J. H. 1992. Mlo aggressiveness in barley powdery mildew. Norweg. J. Agric. Sci. 7: 77 — 87.
- Atzema J. L. 1998. Durability of mlo resistance in barley against powdery mildew caused by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. Praca doktorska, Szwajcarski Instytut Techniczny, Zurich: 1 — 93.
- Atzema J., Finckh M. R., Wolfe M. 1996. Genetics of the response of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* to mlo resistance in barley. W: Proc. of the 9th European and Mediterranean Cereal Rust and Powdery Mildews Conference, 2/6. 09. 1996, Lunteren, Holandia: 55 — 57.
- Atzema J., Limpert E., Wolfe M. 1994. Testing isolates of barley powdery mildew for Mlo virulence. In: Integrated Control of Cereal Mildews and Rusts: Towards Coordination of Research Across Europe, Limpert E., Finckh M. R., Wolfe M. S. (ed.), Kappel am Abis, 5–10.11.1994: 47 — 48.
- Bousset L., Østegård H., Hovmøller M. S., Caffier V., Valavieille-Pope C. 2000. Effectiveness of powdery mildew resistance genes in autumn-sown and spring-sown barley crops. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica 35: 153 — 160.
- Büschges R., Hollricher 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., Zeyen R. J., Robbins M. P., Dearne 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. and Molec. Plant Path. 41: 397 — 409.
- Czembor J. H. 1981. 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): 216 — 226.
- Czembor J. H. 2002. Resistance to powdery mildew in selections from barley landraces. Euphytica 125 (3): 397 — 409.
- 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 Mlo jęczmienia na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). I. Genetyka, fenotyp, mechanizm i badania molekularne Biul. IHAR, w druku.
- Czembor J. H., Czembor E. 2003 b. Odporność Mlo jęczmienia na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. sp. *hordei*). II. Źródła i ich wykorzystanie w hodowli. Biul. IHAR, w druku.
- Czembor J. H., Czembor H. J. 2003 c. Identification of new sources of resistance in selections from barley landraces collected in Yemen. Cereal Rusts and Powdery Mildew Bull. in press
- 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.
- Czembor H. J., Kudła M. M. 1984. Rasy fizjologiczne mączniaka jęczmienia (*Erysiphe graminis* DC EX Merat f. sp. *hordei* Marchal) występujące w Polsce w latach 1980-1982. Hod. Rośl. Aklim. 28 (3/4): 219 — 220.
- Felsenstein F. G., Fischbeck G. 1992. Das Resistenzrisiko aus der Luft gegriffen. Pflanzenschutz-Praxis, 2: 18 — 21.
- Felsenstein F. G., Fischbeck G. 1993. Sommergerste: Mlo-Mehltauersistenz gefährdet. Pflanzenschutz-Praxis, 2: 30 — 31.
- 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.
- Jenkyn M. J., Bainbridge A. 1978. Biology and pathology of cereal powdery mildew. In: *The powdery mildew*. Spencer D. M. (ed.): 283 — 321.
- Johnson R. 1984. A critical analysis of durable resistance. *Annual Review of Phytopathol.* 22: 303 — 330.
- Jørgensen J. H. 1984. Durability of the *mlo* powdery mildew resistance genes in barley. *Vortr. Pflanzenzüchtg.* 6: 33 — 31.
- Jørgensen J. H. 1988. *Erysiphe graminis*, powdery mildew of cereal grasses. *Advances in Plant Pathol.* 6: 137 — 157.
- 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, Dordrecht: 159 — 176.
- Jørgensen J. H. 1992. Discovery, characterization and exploitation of *Mlo* powdery mildew resistance in barley. *Euphytica* 63: 141 — 152.
- Jørgensen J. H. 1994. Genetics of powdery mildew resistance in barley. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13: 97 — 119.
- Koga H., Bushnell, Zeyen R. J. 1990. Specificity of cell type and timing of events associated with papilla formation and the hypersensitive reaction in leaf of *Hordeum vulgare* attacked by *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*. *Can. J. Bot.* 68: 2344 — 2352.
- Limpert E. 1985. Ursachen unterschiedlicher Zusammensetzung des Gerstenmehltaus, *Erysiphe graminis* DC. f. sp. *hordei* Marchal, und deren Bedeutung für Züchtung und Anbau von Gerste in Europa. PhD thesis TU München, Germany: 183.
- Limpert E., Bartos P., Graber W. K., Müller, Fuchs J. G. 2000. Increase of virulence complexity of nomadic airborne pathogens from west to east across Europe. *Acta Phytopathol. Entomologica Hungarica* 35: 261 — 272.
- Limpert E., Godet F., Muller K. 1999. Dispersal of cereal mildews across Europe. *Agric. Forest Meteorol.* 97 (4): 293 — 308.
- Lyngkjær M. F., Carver T. L. W. 1999. Induced accessibility and inaccessibility to *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in barley epidermal cells attacked by a compatible isolate. *Physiol. Mol. Pathol.* 55: 151 — 162.
- Lyngkjær M. F., Østergård H. 1996. Powdery mildew infection of barley with the *mlo* resistance gene. In: *Proc. of the 9th European and Mediterranean Cereal Rust and Powdery Mildews Conference*, 2-6. 09. 1996, Lunteren, Hollandia: 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., Jensen H. P., Østergård H. 1995. A Japanese powdery mildew isolate with exceptional large infection efficiency on *Mlo*-resistant barley. *Plant Pathol.* 44: 786 — 790.
- Lyngkjær M. F., Jørgensen J. H., Østergård H. Is *Mlo*-powdery mildew resistance in barley durable? In: *13th Danish Plant Protection Conference, Pest and Diseases*. SP Rapport 4: 145 — 155.
- 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.
- Marshall D. R. 1977. The advantages and hazards of genetic homogeneity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 287: 1 — 20.
- Mishina G. N., Serezhkina G. V., Andreev L. N. 1993. Cytophysiological study of the effect of *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* appressoria on the nuclear apparatus of barley cells. *Biol. Biull. Russ. Acad. Sci.* 19: 289 — 296.
- Newton A. C., Young I. M. 1996. Temporal partial breakdown of *Mlo* resistance in spring barley by the sudden relief of soil water stress. *Plant Pathol.* 45: 973 — 977.
- 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*. M. S. Wolfe, E. Limpert (eds.): 5 — 7.

- Schwarzbach E. 1997. Epidemiologic aspects of the *mlo* gene for resistance of barley to powdery mildew. Genet. a Šlecht. 33: 55 — 59.
- Schwarzbach E. 1997. Recent history of the *ml-o* gene causing resistance of barley against mildew. In: Protection of Cereal Crops Against Harmful Organisms, Tvarůžek (ed.), 1–4. 07. 1997, Kroměříž, Republika Česka: 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.
- Schwarzbach E., Slater S. E., Clarkson J. D. S. 2002. Occurrence of partially *mlo*-virulent isolates of barley powdery mildew in agricultural environments in Europe. Cereal Rusts and Powdery Mildew Bull. www.crpmb.org/2002/0208schwarzbach.
- Slater S. E., Clarkson J. D. S. 1999. Mildew of barley, U.K. Cereal Pathogen Virulence Survey 1998. Annual Report: 43 — 51.
- Slater S. E., Clarkson J. D. S. 2001 a. Reaction of spring barley cultivars carrying the *mlo* resistance to infection by powdery mildew isolates in the UK. Cereal Rusts and Powdery Mildews Bulletin [www.crpmb.org/]2001/0724slater.
- Slater S. E., Clarkson J. D. S. 2001 b. Mildew of barley, U.K. Cereal Pathogen Virulence Survey 2000. Annual Report: 50 — 59.
- Spunar J. 1996. Genetical breeding and epidemiological aspects of incorporating the *mlo* gene for powdery mildew resistance into winter barley. Geneticko a Slechteni 32: 213 — 220.
- Steffenson B. J. 1992. Analysis of durable resistance to stem rust in barley. Euphytica 63: 153 — 167.
- Torp J., Jensen H. P. 1985. Screening for spontaneous virulent mutants to *Erysiphe graminis* DC f. sp. *hordei* on barley lines with resistance genes *ML-a1*, *ML-a6*, *ML-a12* and *ML-g*. Phytopath. Z. 112: 17 — 27.
- Yahyaoui M., Reinhold M., Scharen A. L. 1997. Virulence spectrum in populations of the barley powdery mildew pathogen *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* in Tunisia and Morocco in 1992. Plant Pathology 46: 139 — 146.
- Wolfe M. S., Schwarzbach E. 1978 a. The recent history of the evolution of barley powdery mildew in Europe. In: Spencer D. M. (ed.). The powdery Mildews, London, N. York, San Francisco, Academic Press. 129 — 155.
- Wolfe M. S., Schwarzbach E. 1978 b. Patterns of race changes in powdery mildews. Ann. Rev. Phytopathol. 16: 159 — 180.