

Instytut Genetyki i Hodowli Roślin, Akademia Rolnicza w Lublinie
ul. Akademicka 15, 20-033 Lublin, Poland

Krzysztof Kowalczyk

Identyfikacja supresora locus Pm8 w polskich odmianach pszenicy
zwyczajnej (*Triticum aestivum* L.)

Identification of suppressor gene for Pm8 locus in Polish common wheat cultivars
(*Triticum aestivum* L.)

ABSTRACT. In order to identify a suppressor locus Pm8 in the varieties without 1BL/1RS translocation, crossings of Polish common wheat cultivars with Wilga cv. containing 1BL/1RS translocation and suPm8 genes were performed. The crossing made use of the cultivars non-resistant to isolates W2 and W17 avirulent for gene Pm8. The hybrids of the selected cultivars with cv. Wilga were tested using the powdery mildew isolates W2 and W17. It was found out that the F₁ hybrids of the following cultivars: Almari, Bromia, Emika, Henika, Juma, Kaja, Kamila, Kobra, Oda, Olcha, Sakwa, Santa and Wanda, were resistant to the isolates used. On the other hand, the studies performed in generation F₂ resulted in a segregation into the plants resistant and susceptible to definite isolates of *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*. On verifying the results with test χ^2 it was shown that the segregations did not differ in a significant way from the expected ratios in the proportion of 3 resistant : 1 susceptible. On this basis it was established that these cultivars did not contain SuPm8 genes. On the other hand, F₁ hybrids of the cultivars: Alba, Begra, Elena, Grana, Hera, Ilawska, Izolda, Panda, Roma, Rosa with cv. Wilga were susceptible to the powdery mildew isolates W2 and W17. In generation F₂ of those hybrids were obtained segregations that were not significantly different from the expected ratios in the proportion of 13 susceptible : 3 resistant. On this basis the cultivars that contained SuPm8 genes were found. The SuPm8 genes were epistatic for Pm8 gene.

KEY WORDS: common wheat, host-pathogen test, powdery mildew resistance genes, SuPm8 gene

W hodowli pszenicy zwyczajnej często wykorzystuje się krzyżowania z innymi gatunkami i rodzajami celem wprowadzenia odporności na mączniaka prawdziwego *Blumeria graminis* (DC.) E. O. Speer f. sp. *tritici* [Zeller, Heun 1985; Celoni i in. 1992; Eser 1998; Simeone i in. 1998; 2001]. Za pomocą krzyżowań międzyrodzajowych i międzygatunkowych wprowadzono do pszenicy geny Pm12, Pm16 i Pm21, warunkujące całkowitą odporność na mączniaka prawdziwego. Gen Pm12 pochodzi od *Aegilops speltoides*, Pm16 od *Triticum dicoccoides*, a Pm21 od *Haynaldia villosa* (*Dasypyrum villosum*) [Miller i in. 1988; Reader, Miller 1991; Chen i in. 1995; Jia i in. 1996]. Od żyta (*Secale cereale* L.) wprowadzono geny Pm7, Pm8, Pm17 i Pm20 [Driscoll, Anderson 1967; Zeller, Fuchs 1983; Heun i in. 1990; Hsam i in. 1995]. Hsam i Zeller [1997] wykazali, że geny Pm8 i Pm17, zlokalizowane na krótkim ramieniu chromosomu 1R żyta, są allelami.

W mieszańcowych roślinach często nie obserwuje się ekspresji genów odporności na choroby grzybowe, zwłaszcza jeśli są one wnoszone z niższego na wyższy poziom ploidalności [Hunušova i in. 1996; Zeller, Hsam 1996]. Dlatego oprócz poszukiwania nowych źródeł odporności ważne jest również wyjaśnienie niektórych problemów związanych z ekspresją genów Pm. Friebe i in. [1989] stwierdzili brak ekspresji genu Pm8 w odmianach Florida, Heinrich i Olymp, które zawierały translokację 1BL/1RS. Na podstawie uzyskanych wyników autorzy sugerują, że albo gen Pm8 w tych odmianach nie był zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 1R lub ramię 1RS zawierało mutację tego genu, albo też występowała supresja genu Pm8. Hunušova [1992] wykazała, że ekspresja genu Pm8 w odmianie Agra była inhibitowana przez dominujący supresor segregujący niezależnie od locus Pm8. Kowalczyk i in. [1998] wykorzystali określone izolaty *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* do identyfikacji genów (Pm) odporności na mączniaka prawdziwego. Autorzy badali 69 polskich odmian pszenicy jarej i ozimej. W odmianach Jubilatka, Lama, Olma, Toba i Weneda nie obserwowali ekspresji genów Pm8, pomimo obecności pszenno-żytniej translokacji 1BL/1RS. Na podstawie przeprowadzonych badań autorzy stwierdzili obecność genów SuPm8 w odmianach Jubilatka, Lama, Olma, Toba i Weneda. Obecność supresora locus Pm8 stwierdzono w wielu odmianach pszenicy [Bimb i Johnson 1996; Hanušova i Bartoš 1996; Hanušova i in. 1996; Ren i in. 1997].

Celem pracy była identyfikacja supresora SuPm8 w wybranych polskich odmianach pszenicy zwyczajnej bez translokacji 1BL/1RS, niezawierających genu Pm8.

METODY

Przedmiotem pracy były mieszańce F₁ i F₂ otrzymane w wyniku krzyżowania dwudziestu czterech polskich odmian pszenicy jarej i ozimej bez translokacji

1BL/1RS, które nie zawierały genów Pm8 z odmianą Wilga. Do krzyżowania wybrano odmiany analizowane wcześniej w pracy Kowalczyka i in. [1998], które były nieodporne na izolaty mączniaka prawdziwego W2 i W17.

Izolaty mączniaka prawdziwego W2 i W17, wyselekcjonowane z pojedynczych zarodników, zebranych w Europie Zachodniej, awirulentne dla genów Pm8 i Pm17, otrzymano od dr F. Felsensteina z Uniwersytetu w Monachium. Testy odporności wykonywano na pierwszych liściach 10 dniowych siewek. Liście cięto na fragmenty ok. 3 cm długości i umieszczano na szalkach wypełnionych do połowy agarą, z dodatkiem benzimidazolu (6 g agaru na 1 l wody oraz 35 mg/l benzimidazolu). Szalki z fragmentami liści inokulowano w wieży inokulacyjnej, umieszczając ok. 500–700 zarodników mączniaka prawdziwego na 1 cm². Następnie szalki te umieszczano w fitotronie w temperaturze ok. 17°C przy natężeniu światła ok. 10 μE/m²s przez 10 dni.

Po 10 dniach od inokulacji izolatami mączniaka prawdziwego określano porażenie liści w skali 10° (gdzie 0 oznacza brak porażenia, a 9 porażenie, w którym grzybnia zajmuje powyżej 50% powierzchni liścia). Każdą z obserwacji przypisywano do poszczególnych klas odporności. Wyróżniano dwie klasy reakcji pszenicy na zastosowane izolaty: odporna – gdy infekcja względem odmiany podanej Kanzler wynosiła 0–20%, i nieodporna (wrażliwa) – gdy stopień infekcji był powyżej 30%.

WYNIKI

Po inokulacji izolatami *Blumeria graminis* f. sp. *tritici* W2 i W17 mieszańców F₁ otrzymanych ze skrzyżowania odmian: Alba, Begra, Elena, Grana, Hera, Ilawska, Izolda, Korweta, Panda, Rada, Roma i Rosa z cv. Wilga, stwierdzono znaczne porażenie przez tego patogena (tab. 1 i 2). W pokoleniu F₂ tych mieszańców uzyskano segregację roślin na odporne i nieodporne na zastosowane izolaty mączniaka prawdziwego. Po weryfikacji otrzymanych wyników za pomocą testu χ^2 nie stwierdzono różnicy w porównaniu z oczekiwaną proporcją rozszczepień 3 odporne : 13 nieodpornych (tab. 1 i 2).

Na podstawie przeprowadzonych testów żywiciel–patogen stwierdzono, że mieszańce F₁ z odmianami: Almari, Broma, Emika, Henika, Juma, Kaja, Kamila, Kobra, Oda, Olcha, Sakwa, Santa i Wanda były odporne na zastosowane izolaty mączniaka prawdziwego (tab. 1 i 2). W kolejnym roku przetestowano pokolenie F₂ tych mieszańców. We wszystkich formach uzyskano rozszczepienie na rośliny odporne i nieodporne na izolaty W2 i W17 (tab. 1 i 2). Po weryfikacji hipotezy za pomocą testu χ^2 wykazano, że uzyskane wyniki nie różniły się istotnie od oczekiwanych rozszczepień w stosunku 3 odporne : 1 nieodporny

(tab. 1 i 2). Na tej podstawie wykazano, że wymienione odmiany nie zawierały supresora locus Pm8. Przedstawione wyniki świadczą o obecności supresora locus Pm8 w wymienionych odmianach, zaś otrzymane rozszczepienie 3 odporne : 13 nieodpornych wskazuje na epistatyczne działanie genu SuPm8.

Tabela 1. Reakcja mieszańców F₁ i F₂ wybranych odmian pszenicy z cv. Wilga (Pm8, Pm4b, suPm8) po inokulacji izolatami W2 *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*

Table 1. Reaction of F₁ and F₂ hybrids of chosen wheat cultivars with cv. Wilga (Pm8, Pm4b, suPm8) after inoculation of W2 isolate *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*

Mieszańce Hybrids	Liczba roślin w pokoleniu F ₁ Number of plants in F ₁ generation		Liczba roślin w pokoleniu F ₂ Number of plants in F ₂ generation			Oczeki- wane Rozsze- pienie Expected ratios	χ^2	P
	odpornych resistant	nieodpornych susceptible	odpornych resistant	nieodpornych susceptible	razem together			
Alba×Wilga		10	44	164	208	3:13	0,789	0,50-0,30
Almari×Wilga	11		171	62	233	3:1	0,321	0,70-0,50
Begra×Wilga		6	26	84	110	3:13	1,727	0,30-0,10
Broma×Wilga	6		87	30	120	3:1	0,400	0,70-0,50
Elena×Wilga		6	30	33	133	3:13	1,263	0,30-0,10
Emika×Wilga	7		95	38	133	3:1	0,904	0,50-0,30
Grana×Wilga		7	32	106	138	3:13	1,781	0,30-0,10
Henika×Wilga	5		78	29	107	3:1	0,252	0,70-0,50
Hera×Wilga		7	30	108	138	3:13	0,807	0,50-0,30
Ilawska×Wilga		7	29	106	135	3:13	0,662	0,50-0,30
Izolda×Wilga		10	46	165	211	3:13	1,290	0,30-0,10
Juma×Wilga	11		160	51	211	3:1	0,077	0,90-0,70
Kaja×Wilga	10		141	52	193	3:1	0,388	0,70-0,50
Kamila×Wilga	8		104	31	135	3:1	0,299	0,70-0,50
Kobra×Wilga	7		112	33	145	3:1	0,388	0,70-0,50
Korweta×Wilga		6	28	92	120	3:13	1,654	0,30-0,10
Oda×Wilga	6		94	33	127	3:1	0,065	0,90-0,70
Olcha×Wilga	8		115	40	155	3:1	0,053	0,90-0,70
Panda×Wilga		8	29	130	159	3:13	0,027	0,90-0,70
Roma×Wilga		6	29	97	126	3:13	1,508	0,30-0,10
Rosa×Wilga		10	42	158	200	3:13	0,665	0,50-0,30
Sakwa×Wilga	9		125	47	172	3:1	0,496	0,50-0,30
Santa×Wilga	5		70	26	96	3:1	0,223	0,70-0,50
Wanda×Wilga	9		123	36	159	3:1	0,472	0,50-0,30

Hunušova i in. [1996] badali odmiany Agra, Sabina, Florida, Olymp i Tje-lvar, które miały translokowane chromosomy 1BL/1RS oraz wykazywały od-porność na rdzę brunatną kontrolowaną przez gen Lr26, a także brak odporności na mączniaka prawdziwego, kontrolowanej przez gen Pm8. Autorzy odmiany te krzyżowali z cv. Vala, cv. Hana i cv. Viginta, które nie zawierały translokacji 1BL/1RS. Otrzymane mieszańce F₁, testowane izolatami *Blumeria graminis*

f. sp. *tritici* nr 2 i nr 47, były nieoporne na infekcję. W pokoleniu F₂ obserwowali segregację na rośliny odporne i nieodporne w stosunku 3 : 13. Autorzy stwierdzili, że gen Pm8 w mieszańcach F₁ nie wykazywał ekspresji w obecności supresora. Natomiast w pokoleniu F₂ rośliny zawierające gen Pm8, lecz bez supresora były odporne na zastosowane izolaty. Rośliny nieodporne miały kombinację genów Pm8 wraz z supresorem. Homozygoty recesywne, które nie zawierały genów Pm8 i SuPm8, były również nieodporne. Hunušova i in. [1997] krzyżowali cv. Regina z odmianami: Florida, Tjelvar, Agra, Olymp i Sabina, które zawierały translokację 1BL/1RS i supresor SuPm8, z odmianą Riebesel 47/51 (zawierającą substytucję 1B/1R i gen SuPm8) oraz z Iris, Mona i Sparta, zawierającymi translokację 1BL/1RS i geny suPm8. Uzyskane mieszańce F₁ i F₂

Tabela 2. Reakcja mieszańców F₁ i F₂ wybranych odmian pszenicy z cv. Wilga (Pm8, Pm4b, suPm8) po inokulacji izolatem W17 *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*

Table 2. Reaction of F₁ and F₂ hybrids of chosen wheat cultivars with cv. Wilga (Pm8, Pm4b, suPm8) after inoculation of W17 isolate *Blumeria graminis* f. sp. *tritici*

Mieszańce Hybrids	Liczba roślin w pokoleniu F ₁ Number of plants in F ₁ generation		Liczba roślin w pokoleniu F ₂ Number of plants in F ₂ generation			Oczeki- wane Rozcze- pienie Expec- ted ratios	χ^2	P
	odpornych resistant	nieodpornych susceptible	odpornych resistant	nieodpornych susceptible	razem together			
Alba×Wilga		10	43	165	208	3:13	0,505	0,50-0,30
Almari×Wilga	11		170	63	233	3:1	0,516	0,50-0,30
Begra×Wilga		6	24	86	110	3:13	0,682	0,50-0,30
Broma×Wilga	6		85	35	120	3:1	1,111	0,30-0,10
Elena×Wilga		6	30	103	133	3:13	1,263	0,30-0,10
Emika×Wilga	7		96	37	133	3:1	0,564	0,50-0,30
Grana×Wilga		7	30	108	138	3:13	0,807	0,50-0,30
Henika×Wilga	5		76	31	107	3:1	0,900	0,50-0,30
Hera×Wilga		7	31	107	138	3:13	1,247	0,30-0,10
Ilawska×Wilga		7	27	108	135	3:13	0,139	0,90-0,70
Izolda×Wilga		10	45	166	211	3:13	0,921	0,50-0,30
Juma×Wilga	11		162	49	211	3:1	0,356	0,70-0,50
Kaja×Wilga	10		139	54	193	3:1	0,913	0,50-0,30
Kamila×Wilga	8		106	29	135	3:1	0,891	0,50-0,30
Kobra×Wilga	7		113	32	145	3:1	0,664	0,50-0,30
Korweta×Wilga		6	26	94	120	3:13	0,670	0,50-0,30
Oda×Wilga	6		97	30	127	3:1	0,128	0,90-0,70
Olcha×Wilga	8		112	43	155	3:1	0,621	0,50-0,30
Panda×Wilga		8	31	128	159	3:13	0,059	0,90-0,70
Roma×Wilga		6	27	99	126	3:13	0,595	0,50-0,30
Rosa×Wilga		10	43	157	200	3:13	0,993	0,50-0,30
Sakwa×Wilga	9		132	40	172	3:1	0,279	0,70-0,50
Santa×Wilga	5		69	27	96	3:1	0,500	0,50-0,30
Wanda×Wilga	9		125	34	159	3:1	1,109	0,30-0,10

testowali izolatami mączniaka prawdziwego nr 2, nr 35 i nr 53. Wszystkie analizowane kombinacje krzyżówkowe w F₂ były nieodporne na zastosowane izolaty. Natomiast w pokoleniu F₂ tylko w mieszańcach Iris×Regina, Mona×Regina i Sparta×Regina obserwowali segregację nieróżniącą się istotnie od oczekiwanej w stosunku 3 odporne : 13 nieodpornych. Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzili, że odmiana Regina zawiera gen supresor SuPm8.

PODSUMOWANIE

Na podstawie przeprowadzonych testów odporności mieszańców F₁ oraz F₂, wybranych polskich odmian pszenicy z cv. Wilga, stwierdzono, że odmiany: Alba, Begra, Elena, Grana, Hera, Ilawska, Izolda, Korweta, Panda, Roma, Rosa zawierają supresor locus Pm8. Gen SuPm8, występujący w tych odmianach powodował supresję i był epistatyczny dla genu Pm8.

PIŚMIENICTWO

- Bimb H. P., Johnson R. 1996. Expression of the gene Pm8 for powdery mildew resistance in wheat cultivars with the 1BL/1RS translocation which carries the gene Yr9 for yellow rust resistance. Proc. 9th European and Mediterranean Cereal Rusts & Powdery Mildew Conference, 2–6 September 1996, Lunteren, The Netherlands, 247.
- Ceoloni C., Del Signore G., Ercoli L., Donini P. 1992. Locating the alien chromatin segment in common wheat – *Aegilops longissima* mildew resistant transfers. *Hereditas* 116, 239–245.
- Driscoll C. J., Anderson L. M. 1967. Cytogenetic studies of Transec – a wheat-rye translocation line. *Can. J. Genet. Cytol.* 9, 375–380.
- Eser V. 1998. Characterisation of powdery mildew resistant lines derived from crosses between *Triticum aestivum* and *Aegilops speltoides* and *Ae. mutica*. *Euphytica* 100, 269–272.
- Friebe B., Heun M., Bushuk W. 1989. Cytological characterization, powdery mildew resistance and storage protein composition of tetraploid and hexaploid 1BL/1RS wheat-rye translocation lines. *Theor. Appl. Genet.* 78, 425–432.
- Hanušova R. 1992. Powdery mildew resistance of wheat cultivars with 1B/1R translocation/substitution. Proc 8th Europ. Medit. Cereal Rusts Mildew Conf., Vorträge Pflanzenzüchtg 24, 237–238.
- Hanušova R., Bartoš P. 1996. Genetics of powdery mildew resistance in Czech and Slovak wheat cultivars. W: Limpert E., Finckh M. R. I., Wolfe M. S. (Ed), Integrated Control of Cereal Mildews and Rusts: Towards Co-ordination of Research across Europe. Proc. Workshop COST 817, Zurich 5–10 Nov. 1994. ECSC-EC-EAEC, Brussels, Luxembourg, 155–159.
- Hanušova R., Hsam S. L. K., Bartoš P., Zeller F. J. 1996. Suppression of powdery mildew resistance gene Pm8 in *Triticum aestivum* L. (common wheat) cultivars carrying wheat-rye translocation T1BL1RS. *Heredity* 77, 383–387.

- Hanušova R., Bartoš P., Zeller F. J. 1997. Characterization of the suppressor gene of powdery mildew resistance gene Pm8 in common wheat (*Triticum aestivum* L.) cv. Regina. J. Appl. Genet. 38, 1, 11–17.
- Heun M., Friebe B., Bushuk W. 1990. Chromosomal location of the powdery mildew resistance of Amigo wheat. Phytopathology 80, 1129–1133.
- Hsam S. L. K., Zeller F. J. 1997. Evidence of allelism between genes Pm8 and Pm17 and chromosomal location of powdery mildew and leaf rust resistance genes in common wheat cultivar 'Amigo'. Plant Breed. 116, 119–122.
- Jia J., Devos K. M., Chao S., Miller T. E., Reader S. M., Gale M. D. 1996. RFLP-based maps of the homoeologous group-6 chromosomes of wheat and their application in the tagging of Pm12 a powdery mildew resistance genes transferred from *Aegilops speltoides* to wheat. Theor. Appl. Genet. 92, 559–565.
- Kowalczyk K., Hsam S. L. K., Zeller F. J. 1998. Identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.) XI. Cultivars grown in Poland. J. Appl. Genet. 39, 3, 225–236.
- Miller T.E., Reader S.M., Ainsworth C.C., Summers R.W. 1988. The introduction of a major gene for resistance to powdery mildew of wheat, *Erysiphe graminis* f.sp. *tritici*, from *Aegilops speltoides* into wheat, *Triticum aestivum* . (Eds) Joma M.L., Sloodmaker L.A.J., Proc. Conf. Cereal Section EUCARPIA, PUDOC, Wageningen, the Netherlands, 179–183.
- Reader S.M., Miller T.E. 1991. The introduction into bread wheat of a major gene for resistance to powdery mildew from wild emmer wheat. Euphytica 53, 57–60.
- Ren S.X., McIntosh R.A., Lu Z.J. 1997. Genetic suppression of the cereal rye-derived gene Pm8 in wheat. Euphytica 93, 353–360.
- Simeone R., Blanco A., Galasso I. 1998. Isolation of wheat *Aegilops caudata* recombinat lines resistant to powdery mildew. Proc. 9th Int. Wheat Genet. Symp. Saskatoon, Saskatchewan, Poster Presentation. 3, 143–144.
- Simeone R., Galasso I., Pignone D., Blanco A. 2001. Introgression of powdery mildew resistance from wild species to wheat. EWAC Newsletter, Proc. 11th EWAC Conference, Nowosybirsk, Rosja, 55–59.
- Zeller F.J., Fuchs E. 1983. Cytologie und Krankheitsresistenz einer 1A/1R- und mehrerer 1B/1R – Weizen-Roggen-Translokationssorten. Z. Pflanzenzüchtg. 90, 285–296.
- Zeller F.J., Heun M. 1985. The incorporation and characterization of powdery mildew resistance from *Aegilops longissima* in common wheat (*T. aestivum* L.). Theor. Appl. Genet. 71, 513–517.
- Zeller F.J., Hsam S.L.K., 1996. Chromosomal location of a gene suppressing powdery mildew resistance genes Pm8 and Pm17 in common wheat (*Triticum aestivum* L. em. Thell.). Theor. Appl. Genet. 93, 38–40.

