

IDENTYFIKACJA GENÓW *PM2*, *PM3A*, *PM4B* I *PM6* W WYBRANYCH ODMIANACH I LINII PSZENICY ZWYCZAJNEJ

Agnieszka Tomkowiak✉, Danuta Kurasiak-Popowska, Dorota Weigt, Sylwia Mikołajczyk, Jerzy Nawracała, Joanna Grynia

UP w Poznaniu, Wydział Rolnictwa i Bioinżynierii

Streszczenie. Selekcja z wykorzystaniem markerów DNA okazuje się niezbędna w przypadku braku możliwości identyfikacji genów odporności przy użyciu testów fitopatologicznych, w szczególności, gdy nie do wszystkich genów odporności zostały zidentyfikowane wirulentne izolaty patogena. Celem pracy była identyfikacja genów *Pm2*, *Pm3a*, *Pm4b* i *Pm6* u 17 odmian i 1 linii pszenicy zwyczajnej z wykorzystaniem markerów molekularnych. Obecność wszystkich analizowanych genów *Pm* stwierdzono w odmianie Kreda. Kumulację genów *Pm2*, *Pm4b* i *Pm6* stwierdzono w odmianach: Novalis, Clever, Primus, Meister, Finezja i linii VPM. Odmiana Asosan posiadała skumulowane geny *Pm2*, *Pm3a* i *Pm6*. W odmianach Kranisch, Aron, Sokrates, Meridien, Cetus, KWS Pius, Atomic i Hadden stwierdzono obecność genów *Pm2* i *Pm6*. W odmianie Compliment stwierdzono gen *Pm3*, a w przypadku odmiany Prins nie stwierdzono obecności żadnego markera analizowanych genów *Pm*. Do najlepszych genotypów posiadających spiramidyzowane 3 lub 4 geny *Pm* zaliczamy: Kreda, Asosan, Novalis, Clever, Primus, Meister, Finezja i linię VPM. Mogą one stanowić źródło genów odporności na mączniaka prawdziwego.

Słowa kluczowe: pszenica zwyczajna, markery DNA, mączniak prawdziwy

WSTĘP

Wprowadzenie do powszechnego użycia chemicznych środków ochrony roślin stworzyło wrażenie łatwego zwalczania organizmów szkodliwych dla roślin i ochrony plonów. Nadmierne, nie zawsze uzasadnione, stosowanie środków ochrony roślin niesie za sobą jednak liczne niebezpieczeństwa, takie jak: presja na środowisko naturalne i ograniczanie bioróżnorodności agrocenoz, pojawianie się organizmów szkodliwych dla roślin

✉agatom@up.poznan.pl

odpornych na działanie środków ochrony roślin, obecność pozostałości środków ochrony roślin w płodach rolnych w ilościach zagrażających zdrowiu konsumentów. Potrzeba poszukiwania rozwiązań, które pozwoliłyby zapewnić ochronę upraw przed organizmami szkodliwymi dla roślin na odpowiednim poziomie, pozwalającym na zachowanie opłacalności ekonomicznej produkcji rolniczej, przy jednoczesnym ograniczeniu opisanych powyżej skutków negatywnych, doprowadziła do opracowania podstaw integrowanej ochrony roślin. Integrowana ochrona roślin jest to sposób walki z organizmami szkodliwymi, polegający na wykorzystaniu wszystkich dostępnych metod ochrony roślin, w szczególności metod niechemicznych, w sposób minimalizujący zagrożenie dla zdrowia ludzi, zwierząt oraz dla środowiska.

W programach hodowlanych powszechne stało się wykorzystywanie efektywnych źródeł odporności jako nośnika stabilnej i trwałej na przestrzeni lat odporności na często występujące choroby zbóż [Pietrusińska i Czembor 2017]. Obok rdzy brunatnej i rdzy żółtej mączniak prawdziwy zbóż i traw jest jedną z groźniejszych chorób grzybowych powodujących duże straty w plonach zbóż na świecie [Parks i in. 2008, Walker i in. 2011, Klocke i in. 2013]. Straty te mogą sięgać nawet 50% w przypadku pszenicy oraz 15% w pszenicy [Czembor i in. 2013, Mwaile i in. 2014]. Ponieważ odporność na mączniaka prawdziwego warunkowana jednym genem jest mało efektywna w programach hodowlanych, dąży się do tworzenia kombinacji genów *Pm*. Tworzenie piramid genowych jest procesem pracochłonnym, a czynnikiem decydującym o skuteczności powodzenia procesu hodowlanego jest dobór efektywnych źródeł odporności. Hodowla odpornościowa zbóż dysponuje narzędziami genetyki molekularnej, które z powodzeniem mogą być wykorzystywane w selekcji korzystnych genotypów. Celem pracy była identyfikacja genów *Pm2*, *Pm3a*, *Pm4b* i *Pm6* u odmian i linii pszenicy zwyczajnej o zróżnicowanym pochodzeniu.

MATERIAŁ I METODY

Materiałem roślinnym użytym do badań było 17 odmian i jedna linia pszenicy zwyczajnej o zróżnicowanym pochodzeniu (tab. 1). Jak wynika z literatury, odmiany te charakteryzują się dobrą odpornością na mączniaka prawdziwego i mogą zawierać różne geny *Pm*. Odmiany te wchodziły w skład kolekcji pszenicy zwyczajnej zgromadzonej w Katedrze Genetyki i Hodowli Roślin Uniwersytetu Przyrodniczego w Poznaniu.

Materiał do badań pobrano z 10-dniowych siewek uzyskanych ze skielkowanych w warunkach laboratoryjnych nasion. Izolację DNA prowadzono wykorzystując zestaw do izolacji DNA z roślin Genomic Mini AX PLANT firmy A&A BIOTECHNOLOGY zgodnie z dołączoną procedurą. Próby rozcieńczano wodą destylowaną w celu uzyskania jednolitego stężenia 40 ng/μl. Reakcję PCR (polymerase chain reaction) przeprowadzono w mieszaninie o składzie: woda – 5 μl, DreamTaq™ Green PCR Master Mix – 6,25 μl, startery – 2 × 0,25 μl (stężenie końcowe starterów wynosiło 20 μM), matryca DNA – 1 μl. W celu stwierdzenia obecności genów *Pm* w odmianach i linii wykorzystano cztery specyficzne markery: *Xcfd81* dla genu *Pm2* [<https://wheat.pw.usda.gov/>], *Pm3a* dla genu *Pm3a* [Tommasini i in. 2006], *STS_421* dla genu *Pm4b* [Yi i in. 2008], *NAU/STSBCD135* dla genu *Pm6* [Yi i in. 2008]. Sekwencje starterów zamieszczono w tabeli 2.

Tabela 1. Odmiany i linia oraz wykaz hodowców bądź reprezentantów (pełnomocników)

Table 1. Cultivars, line and a list of breeders or representatives

Odmiana – Linia Cultivar – Line	Hodowca – reprezentant Breeder – representative	Odmiana – Linia Cultivar – Line	Hodowca – Reprezentant Breeder – Representative
Aron	Syngenta Cereals GmbH DE	Kredo	Nordsaat Saatzucht GmbH DE
Asosan	BGCz CSK	KWS Pius	KWS Lochow GMBH DE
Atomik	Limagrain Advanta Nederland BV NL	Meister	RAGT 2n DE
Cetus	Semundo Saatzucht GmbH DE	Meridien	Svalöf Weibull AB DK
Clever	Saatenvertrieb Nord Erhardt Eger OHG DE	Novalis	Deutsche Saatveredlung Lippstadt- -Bremen GmbH zu Lippstadt DE
Compli- ment	Deutsche Saatveredlung Lippstadt- -Bremen GmbH zu Lippstadt DE	Primus	Deutsche Saatveredlung Lippstadt- -Bremen GmbH zu Lippstadt DE
Finezja	DANKO Hodowla Roślin sp. z o. o. PL	Prins	BGCz CSK
Hadden	BGCz CSK	Sokrates	Saatzucht Engelen Büchling e.K., Inh. Katrin Dengler DE
Kranich	Syngenta Cereals GmbH DE	VPM	BGCz CSK

Tabela 2. Sekwencje starterów oraz temperatura ich przyłączania w identyfikacji genów Pm2, Pm3a, Pm4b i Pm6

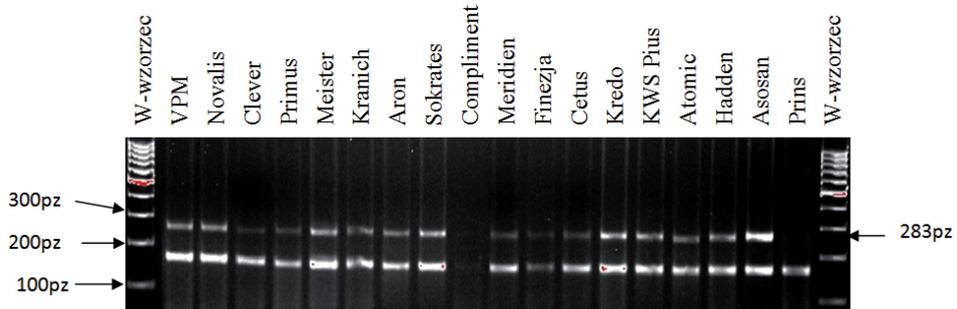
Table 2. Primers sequences and annealing temperature of the molecular markers linked to Pm2, Pm3a, Pm4b and Pm6 genes

Gen – Marker Gene – Marker	Sekwencje startera Primer sequence	Temperatura przyłączania starterów Annealing temperature
<i>Pm2 – Xcfd81</i>	F:5'TATCCCCAATCCCCTCTT3' R:5'GTCAATTGTGGCTTGCCCT3'	58°C
<i>Pm3a – Pm3a</i>	F:5'GGAGTCTCTTCGCATAGA3' R:5'CAGCTTCTAAGATCAAGGAT3'	51°C
<i>Pm4b – STS_241</i>	F:5'CTCATTCTTGTTTTACTTCCTTCAGT3' R:5'GTCTCGTCTTCAGCATCCTATACA3'	56°C
<i>Pm6 – NAU/ /STSBCD135</i>	F:5'GCTCCGAAGCAAGAGAAGAA3' R:5'TCTGCTGGTCTCTGATGTG3'	57°C

Po zoptymalizowaniu reakcję PCR przeprowadzono w tych samych warunkach niezależnie od identyfikowanego genu, profil różnił się tylko temperaturą przyłączania starterów ustaloną zgodnie z temperaturą ich topnienia: denaturacja wstępna – 3 min. w 94°C, 40 cykli (denaturacja – 30 s. w 94°C, przyłączanie starterów – 1 min. w 58°C, 51°C, 56°C, 57°C, elongacja – 1 min. w 72°C), synteza końcowa – 5 min. w 72°C, przechowywanie max. 24 h w 4°C. Elektroforezę prowadzono w 2,5-procentowym żelu agarozowym.

WYNIKI I DYSKUSJA

Jak wynika z przeprowadzonych analiz PCR-SSR z wykorzystaniem markera *Xcfd81* sprzężonego z genem *Pm2*, specyficzny produkt amplifikacji o długości 283pz zidentyfikowano u 16 spośród 18 analizowanych genotypów (rys. 1). Marker ten nie pojawił się tylko w przypadku odmian Compliment i Prins (tab. 3).



Rys. 1. Elektroforogram przedstawiający występowanie markera *Xcfd81* genu *Pm2* u odmian, linii pszenicy

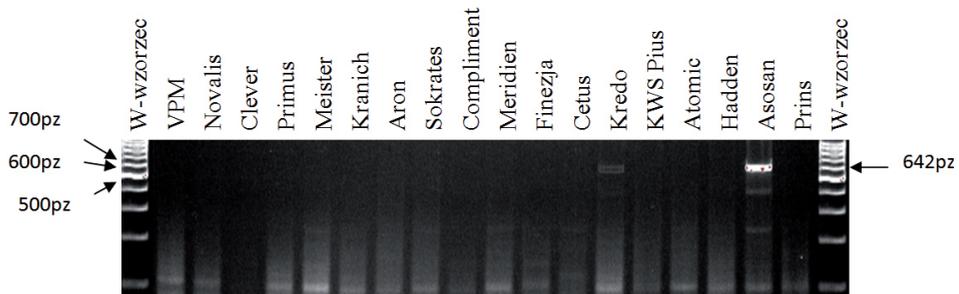
Fig. 1. Agarose gel electrophoresis showing the presence of a marker *Xcfd81* gene *Pm2* in to cultivars and line of wheat

Tabela 3. Obecność genów *Pm2*, *Pm3a*, *Pm4b* and *Pm6* u odmian i linii pszenicy o zróżnicowanym pochodzeniu

Table 3. Presence of *Pm2*, *Pm3a*, *Pm4b* and *Pm6* genes in varieties and lines of wheat of different origins

Odmiany i linia Varieties and line	Obecność genu <i>Pm2</i> Presence <i>Pm2</i> gene	Obecność genu <i>Pm3a</i> Presence <i>Pm3a</i> gene	Obecność genu <i>Pm4b</i> Presence <i>Pm4b</i> gene	Obecność genu <i>Pm6</i> Presence <i>Pm6</i> gene
VPM	+	-	+	+
Novalis	+	-	+	+
Clever	+	-	+	+
Primus	+	-	+	+
Meister	+	-	+	+
Kranich	+	-	-	+
Aron	+	-	-	+
Sokrates	+	-	-	+
Compliment	-	-	+	-
Meridien	+	-	-	+
Finezja	+	-	+	+
Cetus	+	-	-	+
Kredo	+	+	-	+
KWS Pius	+	-	-	+
Atomic	+	-	-	+
Hadden	+	-	-	+
Asosan	+	+	-	+
Prins	-	-	-	-

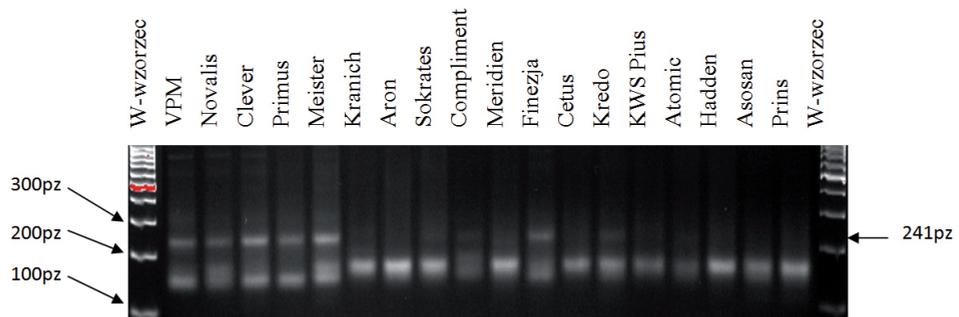
W badaniach nad identyfikacją genu *Pm3a* specyficzny produkt o długości 642pz pojawił się w 2 analizowanych odmianach Asosan i Kreda (rys. 2, tab. 3).



Rys. 2. Elektroforogram przedstawiający występowanie markera *Pm3a* genu *Pm3a* u odmian, linii pszenicy

Fig. 2. Agarose gel electrophoresis showing the presence of a marker *Pm3a* gene *Pm3a* in cultivars and line of wheat

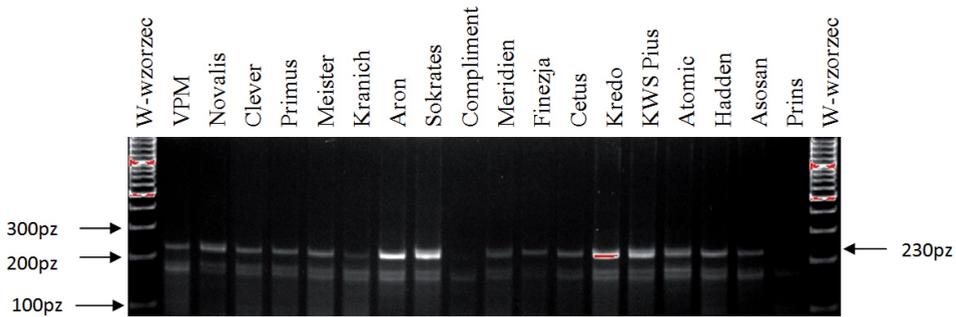
Jako trzeci testowano marker *STS_241* dający produkt o długości 241pz sprzężony z genem *Pm4b*. W wyniku przeprowadzonych analiz marker ten zaobserwowano w 7 spośród 18 testowanych genotypów (rys. 3). Wyraźny produkt o długości 241pz pojawił się u odmian: Kreda, Novalis, Clever, Primus, Meister, Compliment, Finezja i linii VPM (tab. 3).



Rys. 3. Elektroforogram przedstawiający występowanie markera *STS_241* genu *Pm4b* u odmian, linii pszenicy

Fig. 3. Agarose gel electrophoresis showing the presence of a marker *STS_241* gene *Pm4b* in cultivars and line of wheat

Ostatni z testowanych markerów to *NAU/STSB CD135* genu *Pm6*. Obecność specyficznego markera o długości 230pz stwierdzono w 16 na 17 testowanych odmian i jednej linii VPM (rys. 4). Produktu o długości 230pz. nie stwierdzono w odmianach Compliment i Prins (tab. 3).



Rys. 4. Elektroforogram przedstawiający występowanie markera *NAU/STSB CD135* genu *Pm6* u odmian, linii pszenicy

Fig. 4. Agarose gel electrophoresis showing the presence of a marker *NAU/STSB CD135* gene *Pm6* in to cultivars and line of wheat

Głównym celem dzisiejszej produkcji roślinnej jest uzyskanie jak najwyższego plonu przy jednoczesnej minimalizacji stosowania środków ochrony roślin. Uprawa odmian o korzystnych cechach gospodarczych, w tym również o wysokim potencjale ich plonowania, ściśle związana jest z ich odpornością. Hodowla odpornościowa dysponuje narzędziami zarówno genetyki klasycznej, jak i molekularnej, które z powodzeniem mogą być wykorzystywane w celu uzyskania roślin odpornych [Pietrusińska i Czembor 2015]. Obecnie liczne systemy markerów molekularnych są niezbędnym narzędziem wykorzystywanym do identyfikacji genów odporności na różnego rodzaju choroby grzybowe, do których zaliczamy mączniaka prawdziwego zbóż i traw.

Jak wskazują wyniki, marker genu *Pm2* pojawił się we wszystkich analizowanych genotypach z wyjątkiem odmian Compliment i Prins. Odporność warunkowana genem *Pm2* nie jest skuteczna w stu procentach z uwagi na obecność wirulencji w wielu obszarach geograficznych [Persaud i Lipps 1995, Niewoehner i Leath 1998, Duan i in. 2002, Parks i in. 2008]. Mimo że genu tego nie można traktować jako głównego czynnika odporności u roślin może on okazać się bardzo użyteczny w połączeniu z innymi genami odporności na mączniaka prawdziwego [Ma i in. 2011]. Mimo braku stuprocentowej odporności w odmianach zawierających gen *Pm2* cały czas prowadzone są prace związane z tym genem, czego dowodem jest praca Ma i innych [2016], którzy wykorzystując markery specyficzne oraz markery SNP zidentyfikowali nową formę alleliczną *PmFG* genu *Pm2* w mieszańcach pochodzących z przekrzyżowania bardzo odpornej zarówno w stadium siewki, jak i rośliny dojrzałej francuskiej linii FG-1 z genotypem Mingxian169. Huang i Röder [2004] analizowali 32 genotypy pod kątem obecności różnych genów *Pm*, ostatecznie potwierdzili obecność genu *Pm2* w odmianie Ulka.

Huang i Röder [2004] wykazali obecność genu *Pm3a* w odmianie Asosan, która wraz z innymi genotypami była przedmiotem analiz tej pracy. Produkt o długości 642pz pojawił się w odmianie Asosan i Kreda. Tommasini i inni [2006] również zidentyfikowali marker genu *Pm3a* w odmianie Asosan. Odmiana ta może stanowić dobre źródło genów odporności na mączniaka prawdziwego, ponieważ w wyniku analiz z wyjątkiem genu *Pm3a* zidentyfikowano w niej również markery genów *Pm2* i *Pm6*. Kolejną dobrą odmianą stanowiącą

bardzo dobre źródło genów *Pm* jest odmiana Kreda. Jak wynika z literatury posiada ona gen *Pm3a*. W odmianie tej zidentyfikowano również markery pozostałych analizowanych genów *Pm*, czyli *Pm2*, *Pm4b* i *Pm6*. Piramidyzacja 4 genów *Pm*, stawia ją na pierwszym miejscu spośród testowanych odmian.

Jako trzeci testowano marker genu *Pm4b*. Wyraźny produkt o długości 241pz sprzężony z tym genem pojawił się u odmian: Kreda, Novalis, Clever, Primus, Meister, Compliment, Finezja i linii VPM. Hao i inni [2008] w swojej pracy wymienili linię VPM jako źródło genu *Pm4b*. Podobnie Yi i inni [2008] zidentyfikowali w linii VPM cztery markery sprzężone z genem *Pm4b*: *Me12/Em7_205*, *Me8/Em7_220*, *Xgwm382_125* oraz analizowany w pracy *STS_241*. Identyfikacja 4 specyficznych markerów genu *Pm4b* w linii VPM pozwala na uznanie jej za dobre źródło tego genu, dodatkowo w linii tej zidentyfikowano markery genów *Pm2* i *Pm6*. Schmolke i inni [2012] wymieniają jako dobre źródło genu *Pm4b* nie testowaną w pracy odmianę Armada.

W badaniach marker *NAU/STSB CD135* genu *Pm6* pojawił się u wszystkich analizowanych genotypów prócz Compliment i Prins. Na przydatność markera *NAU/STSB CD135* do identyfikacji genu *Pm6* wskazali w swojej pracy również Kęska i inni [2015].

Kumulację wszystkich analizowanych genów *Pm* stwierdzono w odmianie Kreda. Kumulację genów *Pm2*, *Pm4b* i *Pm6* stwierdzono w odmianach: Novalis, Clever, Primus, Meister, Finezja i linii VPM. Odmiana Asosan posiadała skumulowane geny *Pm2*, *Pm3a* i *Pm6*. W odmianach Kranisch, Aron, Sokrates, Meridien, Cetus, KWS Pius, Atomic i Hadden stwierdzono obecność genów *Pm2* i *Pm6*. W przypadku odmiany Compliment stwierdzono obecność genu *Pm4b*, z kolei w odmianie Prins nie stwierdzono obecności żadnego markera analizowanych genów *Pm*. Do najlepszych genotypów posiadających spiramidyzowane 3 lub 4 geny *Pm* zaliczamy: Kreda, Asosan, Novalis, Clever, Primus, Meister, Finezja i linię VPM. Stanowią one dobre źródło genów odporności na mączniaka prawdziwego. Pozostałe genotypy z wyjątkiem odmiany Prins mogą być również dobrym źródłem genów odporności na mączniaka.

W polskich odmianach pszenic ozimych i jarych najczęściej spotyka się następujące kombinacje genów odporności na mączniaka prawdziwego: *Pm2+Pm5*, *Pm2+Pm6*, *Pm3d+Pm8*, *Pm3d+Pm* nieokreślony, *Pm5+Pm8*, *Pm1+Pm2+Pm* nieokreślony, *Pm1++pm3d+Pm4b*, *Pm2+Pm3d+Pm4b*, *Pm2+Pm6+Pm* nieokreślony, *Pm3d+Pm4b+Pm* nieokreślony oraz *Pm1+Pm2+Pm9+Pm4b* [Pietrusińska 2010]. Kumulacja różnych kombinacji genów warunkujących odporność na ważne z punktu widzenia rolniczego choroby jest metodą powszechnie stosowaną w programach hodowlanych na całym świecie.

WNIOSKI

1. Genotypy posiadające spiramidyzowane 3 lub 4 geny *Pm* to: Kreda, Asosan, Novalis, Clever, Primus, Meister, Finezja i linię VPM. Stanowią one dobre źródło genów odporności na mączniaka prawdziwego.
2. Dobrym źródłem genów odporności na mączniaka mogą być również odmiany: Kranisch, Aron, Sokrates, Meridien, Cetus, KWS Pius, Atomic i Hadden, u których stwierdzono obecność genów *Pm2* i *Pm6*.

LITERATURA

- Czembor H.J., Doraczyńska O., Czembor J.H., 2013. Odporność odmian pszenżyta na mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. *ssp.*) występującego w Polsce. Biuletyn Instytutu Hodowli i Aklimatyzacji Roślin 267, 3–16.
- Duan S., Xu Y., Wu X., 2002. Research progress of pathogen virulence, resistance genes and resistance breeding of wheat powdery mildew (in Chinese). J Triticeae Crops 22, 83–86.
- Hao Y., Liu A., Wang Y., Feng D., Gao J., Li X., Liu S., Wang H., 2008. *Pm23*: a new allele of *Pm4* located on chromosome 2AL in wheat. Theor Appl Genet 117, 1205–1212.
- Huang X.Q., Röder M.S., 2004. Molecular mapping of powdery mildew resistance genes in wheat: A review. Euphytica 137, 203–223.
- Kęska P., Okoń S., Stadnik J., 2015. Charakterystyka zróżnicowania genetycznego i identyfikacja genów *Pm6* w nowych liniach hodowlanych pszenicy zwyczajnej za pomocą markerów DNA. Annales Umcs (Sectio e Agricultura) Vol. LXX (4), 35, 43.
- Klocke B., Flath K., Miedaner T., 2013. Virulence phenotypes in powdery mildew (*Blumeria graminis*) populations and resistance genes in triticale (x *Triticosecale*). European Journal of Plant Pathology 137(3), 463–476.
- Ma H.Q., Kong Z.X., Fu B.S., Li N., Zhang L.X., Jia H.Y., Ma Z.Q. 2011. Identification and mapping of a new powdery mildew resistance gene on chromosome 6D of common wheat. Theor. Appl. Genet. 123, 1099–1106.
- Ma P., Xu H., Li L., Zhang H., Han G., Xu Y., Fu X., Zhang X., An D., 2016. Characterization of a New *Pm2* allele conferring powdery mildew resistance in the wheat germplasm line FG-1. Frontiers in Plant Science vol.7, art. 546.
- Mwale V.M., Chilembwe E.H.C., Uluko H.C., 2014. Wheat powdery mildew (*Blumeria graminis* f. *sp. tritici*): Damage effects and genetic resistance developed in wheat (*Triticum aestivum*). International Research Journal of Plant Science 5(1), 1–16.
- Niewoehner A.S., Leath S., 1998. Virulence of *Blumeria graminis* f. *sp. tritici* on winter wheat in the eastern United States. Plant Dis 82, 64–68.
- Parks R., Carbone I., Murphy J., Marshall D., Cowger C., 2008. Virulence structure of the eastern US wheat powdery mildew population. Plant Dis 92, 1074–1082.
- Persaud R., Lipps P. 1995 Virulence genes and virulence gene frequencies of *Blumeria graminis* f. *sp. tritici* in Ohio. Plant Dis 79, 494–499.
- Pietrusińska A., Czembor J.H., 2017. Piramidowanie genów odporności (*Pm21* + *Pm34*) pszenicy ozimej na mączniaka prawdziwego zbóż i traw (*Blumeria graminis* f. *sp. tritici*). Prog. Plant Prot. DOI:10.14199/ppp-2017-006 ISSN, 1427–4337.
- Pietrusińska A., Czembor J.H., 2015. Piramidyzacja genów – powszechne narzędzie używane w programach hodowlanych. Biuletyn IHAR 278, 3–15.
- Pietrusińska A., 2010. Wykorzystanie markerów molekularnych do wprowadzania genów odporności na rdzę brunatną (*Puccinia recondite* f. *sp. Tritici*) i mączniaka prawdziwego (*Blumeria graminis* f. *sp. Tritici*) do pszenicy ozimej. Biuletyn IHAR, Nr 256, 31–44.
- Schmolke M., Mohler V., Hartl L., Zeller F.J., Hsam S.L.K., 2012. A new powdery mildew resistance allele at the *Pm4* wheat locus transferred from einkorn (*Triticum monococum*). Mol Breeding 29, 449–456.
- Tommasini L., Yahiaoui N., Srichumpa P., Keller B., 2006. Development of functional markers specific for seven *Pm3* resistance alleles and their validation in the bread wheat gene pool. Theor Appl Genet 114, 165–175.
- Walker A.S., Bouguennec A., Confais J., Morgant G., Leroux P., 2011. Evidence of host-range expansion from new powdery mildew (*Blumeria graminis*) infections of triticale (x *Triticosecale*) in France. Plant Pathology 60(2), 207–220.

Yi Y. J., Liu H.Y., Huang X. Q., An L.Z., Wang F., Wang X.L., 2008. Development of molecular markers Linked to the powdery mildew resistance gene *Pm4b* and marker validation for molecular breeding. *Plant Breed.* 127, 116–120.

IDENTIFICATION OF *PM2*, *PM3A*, *PM4B* AND *PM6* GENES IN SELECTED WHEAT VARIETIES AND LINE

Summary. The use of molecular markers in genetics and plant breeding is a convenient and sometimes necessary diagnostic tool used to create gene pyramids. Accumulation of several resistance genes using DNA markers enables the identification of individual genes which are part of the gene pyramid. Selection on the DNA level is essential when identification of the resistance genes using phytopathological tests is not able. The aim of the study was to identify *Pm2*, *Pm3a*, *Pm4b* and *Pm6* genes in varieties and lines of wheat of different origins. The accumulation of all analyzed Pm genes was found in Kredo variety. The accumulation of the *Pm2*, *Pm4b* and *Pm6* genes was found in: Novalis, Clever, Primus, Meister, Finezja varieties and VPM line. The Asosan variety carried *Pm2*, *Pm3a* and *Pm6*. The presence of *Pm2* and *Pm6* genes was found in: Kranisch, Aron, Socrates, Meridien, Cetus, KWS Pius, Atomic and Hadden varieties. The *Pm3a* gene was found in the Compliment variety, while in the Prins variety no marker of the analyzed Pm genes was found. The best genotypes having accumulation of 3 or 4 genes are: Cretaceous, Asosan, Novalis, Clever, Primus, Meister, Finezja varieties and VPM line. Those varieties are a very good source of resistance genes to Powdery mildew. Other genotypes, with the exception of the Prins variety, may also be a good source of resistance genes to Powdery mildew.

Key words: wheat, DNA markers, powdery mildew

