



Doctoral Thesis

Durability of mlo resistance in barley against powdery mildew caused by *Erysiphe graminis* f.sp. hordei

Author(s):

Atzema, Jantine Lammechine

Publication Date:

1998

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-002054806> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss.ETH: Nr. 12782

**Durability of *mlo* resistance in barley
against powdery mildew
caused by *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei***

A dissertation submitted to the

Swiss Federal Institute of Technology Zurich

for the degree of Doctor of Technical Sciences

presented by

Jantine Lammechine Atzema

Msc. Wageningen Agricultural University Netherlands

born February, 1st, 1963

Dutch nationality

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. K. Apel, examiner

Prof. Dr. M.S. Wolfe, co-examiner

1998

Abstract

Barley with the *mlo* resistance against powdery mildew, caused by *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*, has been grown in Europe continuously over a large area since 1979. Now, about 30% of the spring barley area is occupied by the *mlo* resistance. The resistance has remained effective until now. The *mlo* resistance is based on one recessive gene. Previously, resistances against powdery mildew in barley based on one gene have always been overcome sooner or later; *mlo* resistance is the one exception.

No isolates possessing a significant elevated level of *mlo* virulence have been found in the field, so far. Sometimes it was reported that the *mlo* crop was not resistant any more. In none of these cases a virulent isolate was found. The false alarms were due mostly to occasional colonies, which can grow in the subsidiary cells of the epidermis of the host. These colonies occur more or less frequently due to environmental circumstances and to the genetics of the plants. Two isolates which show virulence against *mlo* resistance exist in the laboratory. One isolate, HL3/5, was selected in an experiment in the glasshouse and the other, Race I, is a Japanese field isolate, which was kept in a laboratory for decades before its *mlo* virulence was detected. Both isolates are only partially *mlo* virulent.

Adaptation of the pathogen to the *mlo* resistance in the field was investigated in 1993 and 1994 in areas in central Europe, where spring barley with *mlo* resistance was grown on a large scale. In Sachsen and Niederösterreich, about 70% of the spring barley possessed the *mlo* resistance and in Rheinland-Pfalz it was close to 100%. Although the selection pressure was high, no *mlo* virulent isolates could be found. Spores were collected in the field with a spore collector containing leaf segments of a *mlo* resistant barley variety. In this way, the collecting was in itself a screening for *mlo* virulence. Under these test conditions based on statistical estimates *mlo* virulent isolates should be detected even if their frequency is only around 1% in the field.

The use of leaf segments for testing *mlo* virulence (in vitro) was compared with the use of whole plants (in vivo). The leaf segment tests proved to be a useful tool for testing barley powdery mildew isolates for *mlo* virulence. Expression of *mlo* virulence appears to be stronger on leaf segments than on whole plants. Therefore, the leaf segment test may allow for the identification of low levels of quantitative *mlo* virulence that might otherwise go undetected, making the test especially useful for genetic studies. In this way an early indication of population changes in the field towards greater virulence in general population surveys might be detected, which can provide an early warning to breeders and farmers.

To study the genetics of *mlo* virulence, crosses were made between the partly virulent isolate HL3/5 with two avirulent field isolates E1 and E82. We distinguished three classes of isolates: avirulent, intermediate and virulent isolates. Some isolates of the progeny of E1 * HL3/5 were backcrossed with one of the parents. A minimum of three genes of unequal effects on virulence (major and minor) appear to be involved in this partial *mlo* virulence. In addition, it is likely that an inhibitory gene or a fourth minor gene was present in one of the field isolates we used for crossing. In contrast, to ten day old plants that could be attacked by *mlo* virulent isolates, twenty one day old plants were

IV

always completely resistant. However, more testing is required to confirm these results. This result represents a rare exception to the conventional gene-for-gene hypothesis for the interaction of host resistance and pathogen virulence genes. It appears here that the single recessive *mlo* host gene, requires the combined action of at least three pathogen virulence genes to overcome it in seedling stage only.

Different *mlo* alleles originated in various mutation events. These alleles are structurally different and are different mutations of the same gene. It was not clear if there were differences in the function of these alleles. Ten different alleles in near isogenic lines with background Ingrid were used for an infection study. Leaf segments of these lines were inoculated with the *mlo* virulent isolate HL3/5 and infection rates were determined microscopically. No significant differences could be detected between the different *mlo* alleles. In an additional experiment the genetic background of the *mlo* alleles was investigated. The same allele in different backgrounds resulted in different severities. No interaction was found between isolates, with different levels of *mlo* virulence and the different levels of *mlo* resistance. This shows that besides the *mlo* resistance gene the genetic background is an important factor.

The durability of the *mlo* resistance in barley appears to have different causes. In the first place, at least three or four genes of relatively minor effect are needed to produce at least partial *mlo* virulence. In the second place, the genetic background of the host might affect the expression of *mlo* resistance or add to it. In the third place, selection for *mlo* virulence takes place only during part of the year, because until now, only spring barley possesses *mlo* resistance. The survey aspect of this thesis showed no reliable indication of any stages of pathogen adaptation to *mlo* occurring in the field.

Taken together, the experimental data obtained indicate that there is no immediate danger in continuing to rely on the mildew resistance of *mlo*, provided that a) the resistance is not used, overall, more than at present, b) that it should always be combined with the use of other resistances, either combined in the variety genotype or in variety mixtures, and c) that the resistance should not be used simultaneously in spring and winter barley, to avoid a significant increase in selection for virulence. The extraordinary value of this durable resistance to barley mildew emphasises the need for caution in its further exploitation.

Zusammenfassung

Die *mlo*-Resistenz gegen Gerstenmehltau, verursacht durch *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*, wird seit 1979 in Europa auf stark zunehmender Fläche genutzt. Heute sind in Europa etwa 30% der Sommergerste *mlo*-resistent. Die *mlo*-Resistenz basiert auf einem rezessiven Gen und wurde bisher nicht durchbrochen. Resistenzen gegen Gerstenmehltau, welche auf einem Gen basieren, wurden früher oder später immer durchbrochen; *mlo*-Resistenz ist die Ausnahme.

Im Feld wurden bis heute keine Isolate mit einem erhöhten significanten Niveau an *mlo*-Virulenz gefunden. Meldungen über Resistenzzusammenbrüche waren zufälligen Kolonien zuzuschreiben, welche in den Nebenzellen der Spaltöffnungen der Epidermis des Wirtes wachsen können. Diese Kolonien kommen mehr oder weniger oft vor, abhängig von Umweltfaktoren und der Genetik der Pflanzen. Im Labor gibt es zwei Isolate, welche auf *mlo*-resistente Sorten partiell virulent sind. HL3/5 wurde in einem Experiment im Gewächshaus selektiert. Race I ist ein japanisches Feldisolat, welches während Jahrzehnten im Labor aufbewahrt wurde, bevor seine *mlo*-Virulenz entdeckt wurde.

Eine eventuelle Anpassung des Pathogens (partiell *mlo*-virulente Isolate) wurde im Feld in 1993 und 1994 untersucht in Sachsen und Niederösterreich, wo ungefähr 70%, und in Rheinland-Pfalz, wo fast 100% der angebauten Sommergerste *mlo*-resistent sind. Durch direktes Sammeln der Sporen auf Blattsegmenten einer *mlo*-resistenten Gerstensorte war das Sammeln selbst schon eine erste Selektion für *mlo*-Virulenz. Mit dieser Methode sollten nach statistischen Schätzungen *mlo*-virulente Sporen ab einer Frequenz von 1% im Feld entdeckt werden können. Es konnten aber keine *mlo*-virulenten Isolate gefunden werden.

Resistenzreaktionen auf Blattsegmenten *in vitro* wurden mit den Reaktionen auf ganzen Pflanzen *in vivo* verglichen. Die Blattsegment-Tests erwiesen sich als einfache, sichere und relativ schnelle Methode für das Testen von Gerstenmehltauisolaten auf *mlo*-Virulenz. Die Virulenz äussert sich schneller und stärker auf Blattsegmenten als auf ganzen Pflanzen. Dies verbessert die Chancen, niedrige Niveaus der quantitativen *mlo*-Virulenz zu entdecken, die anders möglicherweise übersehen werden. Diese Tests sind deshalb speziell interessant für genetische Forschung und Populationsuntersuchungen. Man erhält dadurch frühzeitige Hinweise auf Veränderungen der Population bis hin zu erhöhter Virulenz, was wiederum eine frühe Warnung für Züchter und Bauern sein kann.

In Kreuzungen zwischen dem partiell virulenten Isolat HL3/5 und zwei Feldisolaten (E1 und E82) konnten drei Klassen unterschieden werden: avirulente, intermediäre und virulente Isolate. Einige Isolate aus der Nachkommenschaft von E1 * HL3/5 wurden mit einem der Eltern zurückgekreuzt. Mindestens drei Gene mit unterschiedlichen Effekten in Bezug auf Virulenz sind anscheinend an dieser partiellen Virulenz beteiligt. Zusätzlich hat wahrscheinlich eines der gekreuzten Feldisolate noch ein viertes, eventuell hemmendes Gen mit weniger Effekt. In mehreren kleinen Experimenten konnten im Gegensatz zu zehn Tage alten Pflanzen einundzwanzig Tage alte Pflanzen nicht mehr von *mlo*-virulenten Isolaten befallen werden. Dies bedarf allerdings noch genauerer Untersuchungen. Dieses Resultat ist eine seltene Ausnahme der konventionellen Gen-für-

Gen-Hypothese der Interaktion zwischen Wirtsresistenz- und Pathogenvirulenzgenen. In diesem System gibt es ein einzelnes rezessives *mlo*-Wirtsgen, das die gesamte Aktion von mindestens drei Virulenzgenen braucht, um im Jungpflanzenstadium überwunden werden zu können.

Verschiedene *mlo*-Allele sind durch Mutationen entstanden. Diese Allele sind strukturell unterschiedlich und sind unterschiedlichen Mutationen vom *Mlo*-Gen. Die Infektion wurde an zehn verschiedenen Allelen in beinahe isogenen Linien (NILs) mit Hintergrund der Sorte Ingrid untersucht. Blattsegmente dieser Linien wurden mit dem *mlo*-virulenten Isolat HL3/5 inokuliert und die Infektionsraten mikroskopisch untersucht. Zwischen den verschiedenen Allelen konnten keine Unterschiede entdeckt werden.

In einem weiteren Experiment wurde der Einfluss des genetischen Hintergrundes der *mlo*-Allele untersucht. Die gleichen Allele in unterschiedlichen Hintergründen ergaben unterschiedliches Infektionsniveau. Keine Interaktion wurde gefunden zwischen Isolaten mit unterschiedlichem Niveau der *mlo*-Virulenz und verschiedenen Allelen der *mlo*-Resistenz. Das zeigt, dass neben der *mlo*-Resistenz der genetische Hintergrund eine wichtige Rolle spielt. Die Dauerhaftigkeit der *mlo*-Resistenz basiert also auf mehreren Faktoren. Erstens braucht es mindestens drei oder vier Gene mit relativ niedrigen Effekten, um wenigstens partielle *mlo*-Virulenz zu produzieren, und zweitens konnte der genetische Hintergrund des Wirtes die Expression der *mlo*-Resistenz beeinflussen oder die allgemeine Resistenz erhöhen. Weiter findet Selektion für *mlo*-Virulenz nur während eines Teils des Jahres statt, weil die *mlo*-Resistenz bis heute nur in Sommergerste genutzt wird. Bei der Suche nach *mlo*-virulenten Isolaten im Feld wurden keine Hinweise für Stadien der Anpassung an *mlo*-gefunden.

Insgesamt haben die experimentellen Daten gezeigt, dass keine direkte Gefahr für einen Zusammenbruch der *mlo*-Resistenz besteht, unter dem Vorbehalt, dass a) die Resistenz nicht noch intensiver als bisher genutzt wird, b) dass sie kombiniert wird mit anderen Resistenzgenen, entweder im Genotyp einer *mlo*-Sorte oder in Sortenmischungen, und dass c) die Resistenz nicht gleichzeitig in Sommer- und Wintergerste eingesetzt wird, um signifikante Selektion der Virulenz zu verhindern.

Der ungewöhnliche Wert dieser dauerhaften Resistenz gegen Gerstenmehltau verlangt Vorsicht bei deren weiteren Nutzung.