

УДК 582.285.2:633.11

Ю.В. Зеленева, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник;

В.В. Плахотник, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией;

В.П. Судникова, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник,

*Среднерусский Филиал ФГНБУ «Тамбовский НИИСХ»,
(392553, Тамбовская область, Тамбовский район, п/о Новая жизнь, ул.
Молодежная, 1, тел.: 8(4752)62-90-60, e-mail: tmbsnifs@mail.ru)*

ИДЕНТИФИКАЦИЯ Lr-ГЕНОВ В СЕЛЕКЦИОННЫХ ЛИНИЯХ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ, УСТОЙЧИВЫХ К ВОЗБУДИТЕЛЮ БУРОЙ РЖАВЧИНЫ В УСЛОВИЯХ ЦЧР

Практика показала, что прямое включение в селекционный процесс инорайонных доноров не всегда дает желаемый результат, в основном вследствие слабой адаптивности последующих поколений. В целях снижения вероятности нарушения сложившегося среди районированных в ЦЧР сортов пшеницы баланса ассоциированных генов и повышения результативности селекции, особую актуальность представляет создание адаптированных к зональным условиям высокоэффективных генетических источников и доноров, обладающих комплексом положительных признаков и свойств; в первую очередь групповой и (или) комплексной устойчивостью к стрессовым факторам среды. С использованием молекулярных маркеров проведена идентификация Lr-генов у 79 селекционных линий пшеницы, созданных в Среднерусском филиале ФГНБУ ТНИИСХ, сочетающих устойчивость к бурой ржавчине с комплексом других положительных признаков (устойчивость к скрытостебельным вредителям, засухоустойчивость, высокая урожайность и технологические качества зерна). В результате молекулярного анализа изучаемого материала идентифицированы как единичные Lr-гены, так и сочетания в одном генотипе нескольких генов различной эффективности. Среди изученного материала были выявлены гены Lr9, Lr10, Lr19, Lr20, Lr24, Lr26, Lr34. Преобладали линии с геном Lr19 в сочетании в одном генотипе с Lr10, Lr20 и Lr26.

Ключевые слова: селекция, пшеница, бурая ржавчина, сорт, линия, гибрид, ДНК-маркёры, Lr-гены, устойчивость.

Yu.V. Zeleneva, Candidate of Agricultural Sciences, senior research associate;

V.V. Plakhotnik, Candidate of Biological Sciences, head of the laboratory;

V.P. Sudnikova, Candidate of Agricultural Sciences, senior research associate

*Middle-Russian Branch of FSBSI 'Tambov RIA'
(392553, Tambov region, Tambov district, v. of Novaya Zhizn, Molodezhnaya Str., 1; tel.:
8(4752)62-90-60, e-mail: tmbsnifs@mail.ru)*

IDENTIFICATION OF LR-GENES IN THE BREEDING LINES OF SPRING SOFT WHEAT, TOLERANT TO THE PATHOGEN OF BROWN RUST IN THE CENTRAL BLACK EARTH REGION

The research showed that the direct introduction of the donors of other regions into the breeding process do not always give a desired result because of the weak adaptive ability of the following generations. The development of highly efficient genetic sources and donors adapted to the regional conditions and possessing a complex of positive traits and properties (e.g. group and/or complex tolerance to stress factors of environment) is of special importance, in order not to damage the balance of associated genes among wheat varieties in the CNeR and to increase breeding results. The molecular markers have been applied to identify Lr-genes in 79 breeding lines of wheat, grown in the Middle-Russian branch of FSBSI 'Tambov RIA'. The wheat lines combined tolerance to brown rust and other positive traits, e.g. resistance to stem pests, drought tolerance, high productivity, and technological quality of grain. The molecular analysis of the material identified single Lr-genes as well as the combination of several genes with different efficiency in one genotype. Among the studied material the Lr9, Lr10, Lr19, Lr20, Lr24, Lr26 and Lr34 genes have been found. There were a lot of lines with the Lr19 gene in a combination with Lr10, Lr20 and Lr26 genes in one genotype.

Keywords: *selection, breeding, wheat, brown rust, variety, line, DNA-markers, Lr-gene, resistance, tolerance.*

Введение. Результативность селекции на устойчивость к возбудителям болезней предопределяется многими составляющими, среди которых особую значимость имеет наличие в распоряжении селекционера высокоэффективных адаптированных к зональным условиям генетических источников и доноров.

Практика показала, что прямое включение в селекционный процесс инорайонных доноров не всегда дает желаемый результат, в основном в следствие слабой адаптивности последующих поколений.

В этой связи, в целях снижения вероятности нарушения сложившегося среди районированных в ЦЧР сортах пшеницы баланса ассоциированных генов и повышения результативности селекции, особую актуальность представляет создание адаптированных к зональным условиям высокоэффективных генетических источников и доноров, обладающих комплексом положительных признаков и свойств; в первую очередь, групповой и (или) комплексной устойчивостью к стрессовым факторам среды (септориоз, пыльная и твёрдая головня, скрытостебельные вредители, засухоустойчивость), высокой урожайностью и технологическими качествами зерна.

Материалы и методы. Работу по созданию адаптированных к зональным условиям высокоэффективных генетических источников и доноров устойчивости к стрессовым факторам среды проводили методами традиционной селекции по полной схеме селекционного процесса с применением искусственных инфекционных фонов на всех его этапах. Основным методом – внутривидовая гибридизация. В качестве доноров эффективных Lr-генов (9, 19, 24, 37, 38, Agi, Bl, Tt₁Tt₂) служили сорта Эстивум 522, Эстивум 526, Эстивум 1509, Лебёдушка, Лубнинка, Тулеевская, Лютесценс 516, Тулайковская 100, Фаворит, Беянка, SST-23, SST-25, Моррис, АНК 3, АНК 4, ИТ 3, а также сорта с неидефицированными Lr-генами, обладающими групповой и (или) комплексной устойчивостью к стрессовым факторам среды биотического характера.

В качестве родительских форм, обладающих высокими хозяйственно-ценными признаками и свойствами, использовали районированные в ЦЧР сорта яровой мягкой пшеницы.

В зависимости от биологических и хозяйственно-ценных свойств родительских форм применяли различные методы: топкросс, беккросс и сложные скрещивания. В работе использовали схемы селекционного процесса, наблюдения и оценки, принятые в селекционных центрах России и СНГ [1].

Объектом исследования служили 79 селекционных линий, сочетающих устойчивость к бурой ржавчине с комплексом других положительных признаков и свойств в первую очередь устойчивостью к септориозу, пыльной и твердой головне, скрытостебельным вредителям, засухе и урожайностью.

Идентификация Lr-генов с использованием ДНК-маркеров выполнена нами на экспериментальной базе ВИЗР под руководством к.б.н. Е.И. Гульяевой. Для идентифицирования использовали молекулярные маркеры 15 Lr-генов.

Используемые маркёры, размер продукта амплификации и условия ПЦР представлены в таблице 1.

ДНК выделяли из двух-трёх листов 5-7- дневных проростков пшеницы по методике Д.Б. Дорохова и Э. Клоке [2]. Амплификацию ДНК проводили в реакционной смеси по предложенным авторами протоколам и при необходимости модифицировали. Объём реакционной смеси для проведения ПЦР составлял 20 мкл и содержал геномную ДНК (50 – 100 нг), 10х реакционный буфер с MgCl₂ (2 мкл), 25 mM хлористый магний (0,1 мкл), 25 mM смесь дезоксирибонуклеотидфосфатов – dNTP's (1,6 мкл), прямой и обратный праймеры концентрацией 10 пкМ/мкл каждый (0,7–1 мкл), фермент *Taq*-полимеразу (5 ед/мкл) (0,2 мкл).

Аmplифицированные фрагменты разделяли с помощью электрофореза в 1,5% агарозном геле в 1×TBE буфере. Гели окрашивали бромистым этидием и фотографировали в ультрафиолетовом свете. Для оценки размера маркерных фрагментов использовали маркер 100 bp mix («Fermentas»).

1. Характеристика используемых маркёров Lr-генов

Ген	Маркёры	Размер продукта амплификации, п.н.	Условия ПЦР, литературный источник
Lr9	SCS5F	550 п.н.	95° – 2 мин., 30 циклов (94° – 1 мин., 64° – 1 мин., 72°С – 1 мин.), 72°С – 7 мин. [3]
	SCS5R		
Lr10	Fi.2245	310 п.н.	94° – 3 мин., 35 циклов (94° – 45 сек., 57° – 45 с, 72° – 30 с), 72° – 4 мин. [4]
	Lr10-6/r2		
Lr19	SCS265 F	512 п.н.	95° – 2 мин., 35 циклов (94° – 1 мин., 60°С – 1 мин., 72° – 1 мин.), 72°С – 7 мин. [5, 6]
	SCS265 R	737 п.н.	
	SCS253 F		
	SCS253 R		
Lr20	STS638-L	542 п.н.	94°С – 3 мин., 40 циклов (94° – 1 мин., 62°С – 1 мин., 72° – 2 мин.), 72°С – 10 мин. [7, 8]
	STS638-R		94°С – 3 мин., 40 циклов (94°С – 30 сек., 62°С – 30 с, 72°С – 1 мин.), 72°С – 10 мин. [9]
Lr24	Sr24#50F	200 п.н.	94° С– 3 мин., 30 циклов (94°С – 30 с, 57°С – 30 сек., 72°С – 40 с.), 20°С – 1 мин. [10]
	Sr24#50L		
	Sr24#12F Sr24#12L	500 п.н.	94° С– 3 мин., 7 циклов (94°С – 30 с, 65-59°С (-1°С/цикл) – 30 с, 72°С – 40 сек.), 30 циклов (94°С – 30 с, 58°С – 30 с, 72°С – 40 с), 20°С – 1 мин. [10]
Lr26	iag95 F	1000 п.н.	94°С – 3 мин., 35 циклов (94°С – 30 с, 55°С – 1 мин., 72°С – 1 мин.), 72°С – 5 мин. [11, 12]
	iag95 R		
Lr34	CsLV34F	150 п.н. (наличие функциональной аллели гена)	94°С – 5 мин., 40 циклов (94°С – 40 сек., 55°С – 30 с, 72°С – 1 мин.), 72°С – 7 мин. [13]
	CsLV34R	229 п.н. (указывает на нефункциональную аллель) Наличие обоих	

		фрагментов – на гетерозиготное состояние	
--	--	--	--

Результаты. В результате молекулярного анализа изучаемого материала идентифицированы как единичные Lr-гены, так и сочетания в одном генотипе нескольких генов различной эффективности (таблица 2).

2. Характеристика гибридных линий

№ п/п	Гибридная линия	Тип и степень поражения бурой ржавчиной в инфекционном питомнике (2013- 2015 гг.)	Идентифицированные Lr-гены	Урожайность	
				ц/га	±St
1	Рл568(33)	1/30	9	26,1	-2,6
2	Рл869(136)	2/20	9	27,1	-1,1
3	Рл11	1/5	19, 10, 20	30,5	+1,9
4	СФР202-7	1/5	10	25,8	-2,9
5	Рл3-4-2-6-1-3-15	1/10	10	29,9	+1,2
6	Рл 3	1/10	19	28,3	+0,4
7	Рл8-1	1/10	19	21,5	-7,2
8	Рл9	1/5	19, 20	31,6	+2,9
9	Рл16	1/5	19,20	32,8	+4,1
10	СФР88-1	2/10	19,10	32,4	+3,7
11	СФР135-17-16-2	1/10	19, 10	36,7	+8,0
12	СФР135-17-20-2	1/10	19,10,26	38,3	+9,6
13	СФР135-17-16-15	1/15	19, 10	38,4	+9,7
14	СФР142-32-11-6	2/20	19,10	39,2	+10,5
15	СФР184-3-5-7	1/5	19,10,20,26	35,2	+6,5
16	СФР193-12-8-6-1	1/5	19,10,26	38,3	+9,6
17	Рл34815-2-2	1/10	20	24,6	-4,1
18	Рл184-3-5-32	1/5	20	38,5	+9,8
19	Рл4	1/5	34	22,0	-6,7
20	Рл31776-2	1/5	34	27,1	-1,6
21	Рл34927	1/10	34	30,2	+1,5
22	Рл34659	1/10	24	29,7	+1,0
23	Рл33708.5	1/5	24	28,8	+0,1
24	Фаворит St	3/10	Bl-	28,7	-

Ген Lr9, идентифицированный в селекционных линиях Рл568(33), Рл869(136), позволяет обеспечивать высокую степень ювенильной устойчивости пшеницы к бурой ржавчине (рисунок 1).

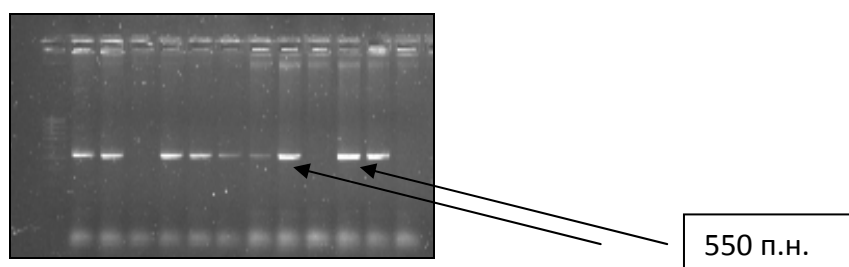


Рис.1. Продукты амплификации с использованием маркера SCS5 к STS локусу, сцепленному с геном устойчивости Lr9

Транслокация с геном Lr19 передана мягкой пшенице от *Agropiron elongatum*. В данной транслокации находится также ген устойчивости к стеблевой ржавчине Sr25 [3], эффективный против наиболее агрессивной в настоящий период расы стеблевой ржавчины Ug99.

В условиях ЦЧР Lr19 до 1999 года характеризовался как высокоэффективный ген (тип реакции 0, или единичные пустулы с баллом 1). С 2001 года наметился сдвиг в сторону повышения восприимчивости: преобладающими стали типы реакции 1-2 балла, интенсивность поражения до 10%, т.е. по своим свойствам Lr19 может быть отнесён к средне эффективным генам [14, 15]

Ген Lr19 выявлен в 12 селекционных линиях: Рл9, Рл11, Рл16, Рл3, Рл8-1, СФР135-17-16-2, СФР135-17-20-2, СФР142-32-11-6, СФР184-3-5-7, СФР193-12-8-6-1, СФР88-1, СФР135-17-16-15 (рисунок 2). При инокуляции в фазу проростков изолятами, вирулентными к этому гену, данные линии проявляли тип реакции 0; в полевых условиях интенсивность их поражения колебалась от 5% до 20% при типе реакции 1-2 балла.

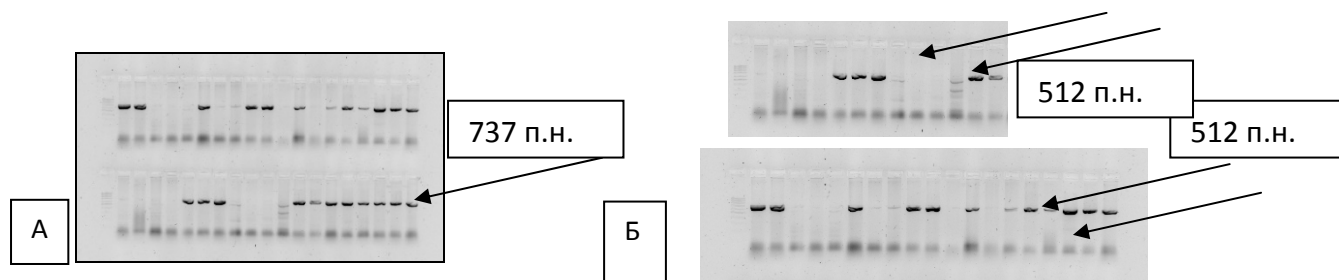


Рис. 2. А) Продукты амплификации с использованием маркера SCS253 F, стрелкой выделен контрольный фрагмент амплификации 737 п.н. (наличие фрагмента указывает на отсутствие Lr19;

Б) Идентификация гена Lr19 с использованием маркера SCS 253. Стрелкой выделен контрольный фрагмент амплификации 512 п.н.

Ген Lr34 локализован в коротком плече хромосомы 7D и тесно сцеплен с генами устойчивости к мучнистой росе (Pm38) и желтой ржавчине (Yr18), а также с геном некроза верхушек листьев (Ltn1). Относится к группе генов, обеспечивающих возрастную устойчивость к фитопатогену, и обеспечивает неспецифическую устойчивость,

протекающую по типу медленного развития – slow rusting. Ген *Lr34* идентифицирован в линиях Рл4, Рл31776-2, Рл34927 (рисунок 3).

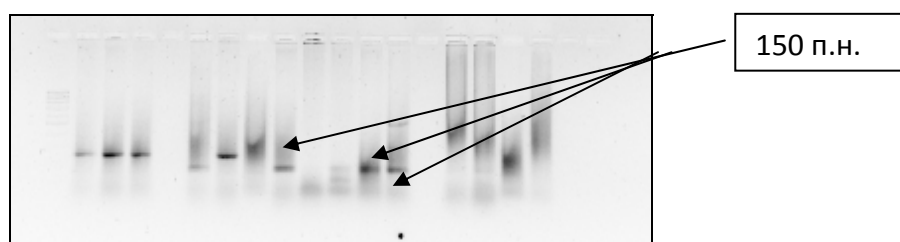


Рис.3. Продукты амплификации с использованием маркера CsLV34 к STS локусу, сцепленному с геном устойчивости *Lr34*

Ген *Lr10* выявлен в 10 селекционных линиях (СФР88-1, СФР142-32-11-6, Рл11, СФР193-12-8-6-1, СФР184-3-5-7, СФР135-17-20-2, СФР135-17-16-2, СФР135-17-16-15, СФР202-7, Рл3-4-2-6-1-3-15) (рисунок 4).

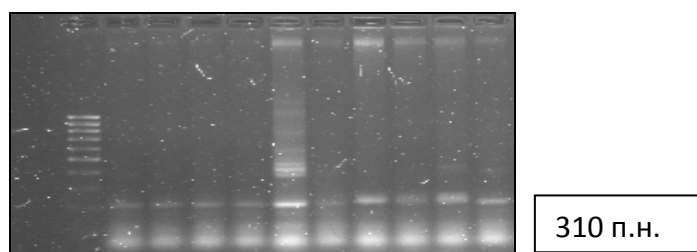


Рис. 4. Продукты амплификации с использованием маркера Fi.2245 к STS локусу, сцепленному с геном устойчивости *Lr10*

Ген *Lr20* распространён в сортах пшеницы австралийской, западно-европейской и северо-американской селекции [16, 17]. В Российской Федерации зарегистрирован в районированных сортах Дарья и Тризо [17]. *Lr20* идентифицирован в семи селекционных линиях (Рл9, Рл11, Рл34815-2-2, СФР184-3-5-7, СФР184-3-5-32, Рл8-1, Рл16) (рисунок 5).

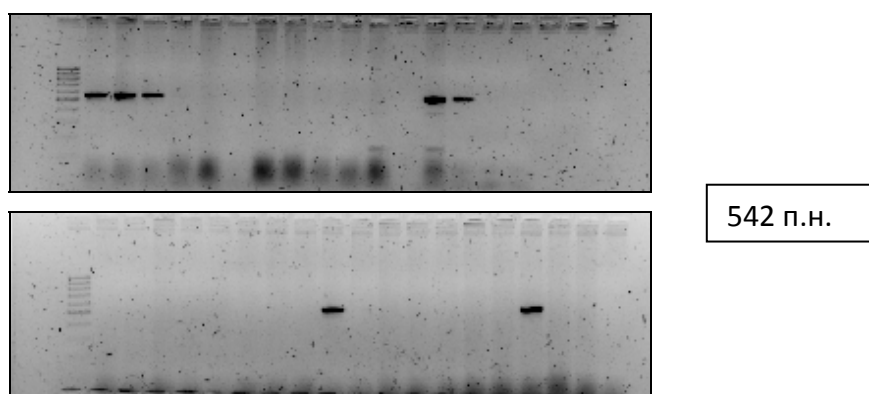


Рис.5. Продукты амплификации с использованием маркера STS638 к STS локусу, сцепленному с геном устойчивости *Lr20*

Наличие гена *Lr24* выявлено в двух селекционных линиях: Рл34659 и Рл33708.5 (рисунок 6).

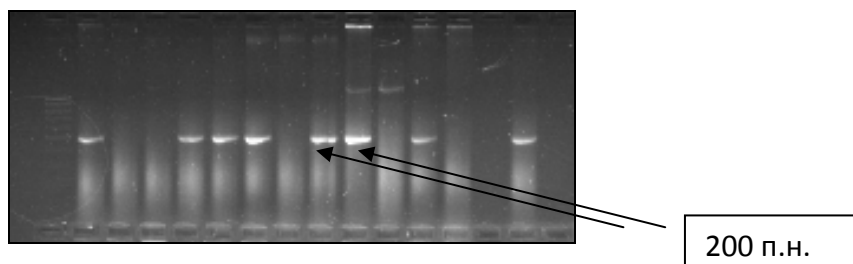


Рис.6. Продукты амплификации с использованием маркера Sr24#50 к STS локусу, сцепленному с геном устойчивости Lr24

Транслокация 1RS с геном Lr26 перенесена в мягкую пшеницу от сорта ржи Petkus и локализована в длинном плече 3В хромосомы. В этой транслокации также находятся гены устойчивости к мучнистой росе (Pm8), стеблевой (Sr31) и жёлтой (Yr9) ржавчинам [19].

R. Mago с соавторами [20] установили, что гены устойчивости к трём видам ржавчины являются независимыми, но тесно сцеплены друг с другом. Дополнительно 1BL транслокация несёт гены, повышающие урожайность и качество зерна, а также засухоустойчивость, обеспечиваемую за счёт увеличения массы корней [21]. Lr26 выявлен в 3 селекционных линиях СФР135-17-20-2; СФР184-3-5-7; СФР193-12-8-6-1 (рисунок 7).

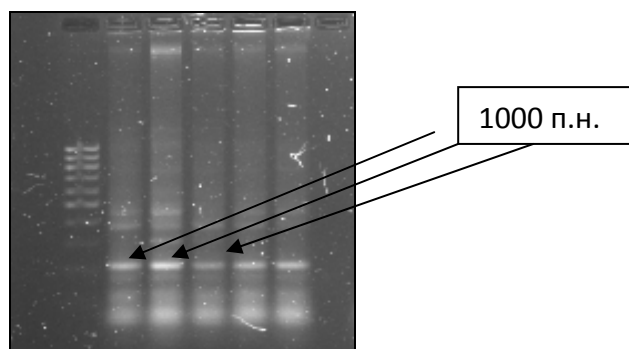


Рис.7. Продукты амплификации с использованием маркера iag95 к STS локусу, сцепленному с геном устойчивости Lr26

Установлено сочетание в одном генотипе гена Lr19 с геном Lr10: СФР88-1, СФР135-17-16-2; СФР135-17-16-15, СФР142-32-11-6; сочетание генов Lr19 и Lr20 в генотипах образцов Рл8-1, Рл9, Рл16. У сортообразца Рл11 были обнаружены гены Lr19, Lr10 и Lr20. У сортообразцов СФР135-17-20-2 и СФР193-12-8-6-1 присутствуют гены Lr19, Lr10, Lr26. Образец СФР184-3-5-7 обладает четырьмя генами устойчивости Lr19, Lr10, Lr20 и Lr26 (таблица 2).

Выводы. Таким образом, в результате проведенной идентификации Lr-генов с использованием молекулярных маркеров в устойчивых к бурой ржавчине селекционных линиях, отобранных по комплексу положительных признаков и свойств, идентифицировано семь Lr-генов: 9, 10, 19, 20, 24, 26, 34 и сочетание в одном генотипе Lr 19 с генами Lr10, 20, 26.

Среди изученных линий не было выявлено Lr-генов 1, 21, 25, 28, 29, 37, 41, 47, 50.

Литература

1. Гуляев, Г.В. Селекция и семеноводство / Г.В. Гуляев, Ю.Л. Гужов. – М.: Колос, 1972. – 441 с.
2. Дорохов, Д.Б. Быстрая и экономичная технология RAPD анализа растительных геномов / Д.Б. Дорохов, Э. Клоке // Молекулярная генетика, 1997, 3, 4, с.443 – 450.
3. Gupta S.K., Charpe A., Koul S., et al. Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf rust-resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat // Genome, 2005, V. 48, № 5, P. 823-830.
4. Chelkowski J., Golka L., Stepień L. Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. Thatcher. // J. Appl. Genet, 2003, V.44, P. 323-338.
5. Prins R., Marais G.F., Pretorius Z.A. et al. A study of modified forms of the *Lr19* translocation of common wheat // Theor. Appl. Genet, 1997, V.95, P. 424-430.
6. Gupta S.K., Charpe A., Prabhu K.W., Hague O.M.R. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene *Lr 19* in wheat // Theor. Appl. Genet, 2006, V.113, P.1027-1036.
7. Neu et al. Genetic mapping of the *Lr20-Pm1* resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat // Genome, 2002, V.45, P.737-744.
8. Blaszczyk L., Krämar I., Ordon F. et al. Validity of selected DNA markers for breeding leaf rust resistant wheat // Cereal Research Communications. 2008. V. 36(2). P.201 – 213.
9. Гуляева Е.И., Канюка И.А., Алпатьева Н.В. и др. Молекулярные подходы в идентификации генов устойчивости к бурой ржавчине у российских сортов пшеницы / Е.И.Гуляева, И.А. Канюка, Н.В. Алпатьева // Доклады РАСХН, 2009. – С. 23-27.
10. Mago R., Miah H., Lawrence G.J. et al. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes *Sr31*, *Lr26* and *Tr9* on the short arm of rye chromosome 1 // Theor. Appl. Genet, 2005, V. 112, P. 41-50.
11. Mago R., Spielmeier W., Lawrence G.J. et al. Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines // Theor. Appl. Genet, 2002, V. 104, P. 1317-1324.
12. Weng, Y., Azhaguvel, P., Devkota R. N., Rudd, J. C. PCR-based markers for detection of different sources 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background // Plant Breeding, 2007, 126, p. 482-486.
13. Lagudah E.S., McFadden H., Singh R.P. et al. Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat // Theor. Appl. Genet, 2006, V.114, P. 21-30.

14.Зеленева, Ю.В. Идентификация Lr - генов у образцов мягкой пшеницы, устойчивых к возбудителю бурой ржавчины в условиях ЦЧР, с использованием ДНК-маркёров / Ю.В. Зеленева, Е.И. Гульяева, В.В. Плахотник // Вестник защиты растений.– №3.–2013.– С. 34-39.

15.Зеленева, Ю.В. Создание источников устойчивости яровой пшеницы к опасным болезням и вредителям в условиях центрального черноземья / Ю.В. Зеленева, В.В. Плахотник, В.П. Судникова, Ю.М. Денисова // Вопросы современной науки и практики. Университет им. В.И. Вернадского. – №3(57). – 2015. (51).– С. 20-27.

16.Gold J., Yarder D., Townley-Smith F. et.al. Development of molecular marker for rust resistance genes Sr39 and Lr35 in wheat breeding lines // Electronic Journal of Biotechnology. 1999. V2(1). P. 35-40.

17.McIntosh R.A., Wellings C.R., Park R.F. Wheat rusts: an atlas of resistance genes. CSIRO Publications, 1995, 205 pp.

18.Гульяева, Е.И. Методы идентификации генов устойчивости пшеницы к бурой ржавчине с использованием ДНК-маркеров и характеристика эффективности *Lr* – генов. Санкт-Петербург, 2012. –.72с.

19.Helguera M., Khan I.A., Kolmer J. et al. PCR assays for the *Lr* 37-*Yr* 17-*Sr*38 cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines // Crop Science. 2003. V. 43. P.1839-1847.

20.Mago R., Zhang P., Bariana H.S. et al. Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene *Sr39* with reduced *Aegilops speltoides* chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection // Theor. Appl. Genet., 2009. V. 124. P.65-70.

21.Kim W., Jonson P.S., Baenziger P.S.et al. Agronomic effect of wheat-rye translocation carrying rye chromatin (1R) from different sources // Crop Sci. 2004. V. 44. P.1254-1258 wheat cv. Thatcher. // J.Appl. Genet, 2003, V.44, P. 323-338.

Literature

1. Gulyaev, G.V. Plant-breeding and seed-growing / G.V. Gulyaev, Yu.L. Guzhov. – М.: Kolos, 1972. – 441p.

2. Dorokhov, D.B. Rapid and cost-efficient technology RAPD of the analysis of plant genomes / D.B. Dorokhov, E. Kloke // Molecular genetics, 1997, 3, 4, PP.443 – 450.

3. Gupta S.K., Charpe A., Koul S., et al. Development and validation of molecular markers linked to an *Aegilops umbellulata*-derived leaf rust-resistance gene, *Lr9*, for marker-assisted selection in bread wheat // Genome, 2005, V. 48, № 5, P. 823-830.

4. Chelkowski J., Golka L., Stepień L. Application of STS markers for leaf rust resistance genes in near-isogenic lines of spring wheat cv. Thatcher. // J.Appl. Genet, 2003, V.44, P. 323-338.
5. Prins R., Marais G.F., Pretorius Z.A. et al. A study of modified forms of the Lr19 translocation of common wheat // Theor. Appl. Genet, 1997, V.95, P. 424-430.
6. Gupta S.K., Charpe A., Prabhu K.W., Hague O.M.R. Identification and validation of molecular markers linked to the leaf rust resistance gene Lr 19 in wheat // Theor. Appl. Genet, 2006, V.113, P.1027-1036.
7. Neu et al. Genetic mapping of the Lr20-Pm1 resistance locus reveals suppressed recombination on chromosome arm 7AL in hexaploid wheat // Genome, 2002, V.45, P.737-744.
8. Blaszczyk L., Krămar I., Ordon F. et al. Validity of selected DNA markers for breeding leaf rust resistant wheat // Cereal Research Communications. 2008. V. 36(2). P. 201-213.
9. Gulyaeva, E.I. et al. Molecular approaches in the identification of brown rust resistance genes of Russian varieties of wheat / E.I. Gulyaeva, I.A. Kanyuka, N.V. Alpatieva // Reports of RAA, 2009. – PP. 23-27.
10. Mago R., Miah H., Lawrence G.J. et al. High-resolution mapping and mutation analysis separate the rust resistance genes Sr31, Lr26 and Tr9 on the short arm of rye chromosome 1 // Theor. Appl. Genet, 2005, V. 112, P. 41-50.
11. Mago R., Spielmeier W., Lawrence G.J. et al. Identification and mapping of molecular markers linked to rust resistance genes located on chromosome 1RS of rye using wheat-rye translocation lines // Theor. Appl. Genet, 2002, V. 104, P. 1317-1324.
12. Weng, Y., Azhaguvel, P., Devkota R. N., Rudd, J. C. PCR-based markers for detection of different sources 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in wheat background // Plant Breeding, 2007, 126, p. 482-486.
13. Lagudah E.S., McFadden H., Singh R.P. et al. Molecular genetic characterization of the Lr34/Yr18 slow rusting resistance gene region in wheat // Theor. Appl. Genet, 2006, V.114, P. 21-30.
14. Zeleneva, Yu.V. Identification of Lr-genes of soft wheat samples, resistant to brown rust in the CBeR with the markers assistance / Yu.V. Zeleneva, E.I. Gulyaeva, V.V. Plakhotnik // Vestnik of plant protection.– №3.– 2013. – PP. 34-39.
15. Zeleneva, Yu.V. The development of the sources of spring wheat tolerance to dangerous pests and diseases in the conditions of the Central Black earth / Yu.V. Zeleneva, V.V. Plakhotnik, V.P. Sudnikova, Yu.M. Denisova // The questions of modern science and practice. The University named after V.I. Vernadsky.– №3(57). – 2015. (51). – PP. 20-27.

16. Gold J., Yarder D., Townley-Smith F. et al. Development of molecular marker for rust resistance genes Sr39 and Lr35 in wheat breeding lines // *Electronic Journal of Biotechnology*. 1999. V2(1). P. 35-40.

17. McIntosh R.A., Wellings C.R., Park R.F. Wheat rusts: an atlas of resistance genes. CSIRO Publications, 1995, – 205 pp.

18. Gultyaeva, E.I. The methods of identification of brown rust resistance genes with the use of DNA-markers and characteristics of Lr-gene efficiency. Saint-Petersburg, 2012. – 72p.

19. Helguera M., Khan I.A., Kolmer J. et al. PCR assays for the Lr 37-Yr 17-Sr38 cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines // *Crop Science*. 2003. V. 43. P.1839-1847.

20. Mago R., Zhang P., Bariana H.S. et al. Development of wheat lines carrying stem rust resistance gene Sr39 with reduced Aegilops speltoides chromatin and simple PCR markers for marker-assisted selection // *Theor. Appl. Genet.*, 2009. V. 124. P.65-70.

21. Kim W., Jonson P.S., Baenziger P.S. et al. Agronomic effect of wheat-rye translocation carrying rye chromatin (1R) from different sources // *Crop Sci.* 2004. V. 44. P.1254-1258 wheat cv. Thatcher. // *J. Appl. Genet.*, 2003, V.44, P. 323-338.