СТАТЬИ

УДК 631.527:575.167:633.111.1(479.24)

ГЕНОТИПИРОВАНИЕ ОБРАЗЦОВ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ (*T. AESTIVUM* L.) АЗЕРБАЙДЖАНА НА ОСНОВЕ KASP ТЕХНОЛОГИИ

Аббасов М.А.

Институт генетических ресурсов национальной академии наук Азербайджана, Баку, e-mail: mehraj_genetic@yahoo.com

За последние десятилетия при использовании современных биотехнологических подходов, основанных на использовании молекулярных маркеров, были достигнуты большие результаты в области изучения генетического разнообразия, построения молекулярно-генетических карт, картирования генов и локусов количественных признаков, выявления маркеров, тесно сцепленных с генами, контролирующими хозяйственно ценные признаки зерновых культур. Одним из наиболее эффективных и быстрых технологий являются KASP-маркеры (Competitive Allele Specific PCR). В настоящем исследовании при использовании технологии KASP (Конкурентная аллель-специфичная ПЦР /Competitive Allele Specific PCR) с целью молекулярного тестирования и изучения коллекции был проведен скрининг 11 генов по таким важным показателям, как продуктивность, устойчивость к биотическому стрессу и качеству зерна, а также оценка частоты встречаемости и гетерозиготность аллелей 166 селекционных сортов и ботанических разновидностей мягкой пшеницы. В результате скрининга генов, контролирующих хозяйственно важные признаки, у 166 коллекционных сортов и разновидностей мягкой пшеницы были выявлены новые ценные источники. Были идентифицированы генотипы, несущие положительные аллели для генов RhtB1, RhtD1, Ppd-D1, Glu-D1, Gpc-B1, Lr34, FHB 5A, FHB 3BS. Отобранные генотипы мягкой пшеницы, характеризующиеся высокой урожайностью и устойчивостью к биотическому стрессу, с целью расширения генетической вариации и в качестве нового генетического источника могут быть рекомендованы для различных селекционных программ.

Ключевые слова: мягкая пшеница, однонуклеотидный полиморфизм, KASP-маркеры, скрининг, генетическая вариация, гомозиготность, гетерозиготность

GENOTYPIZATION OF MILLING WHEAT SAMPLES (*T. AESTIVIUM* L.) OF AZERBAIJAN AT THE FOUNDATION OF CASP-TECHNOLOGY

Abbasov M.A.

Genetic Resources Institute of Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, e-mail: mehraj_genetic@yahoo.com

Over the past decades, great results have been achieved by using modern biotechnological approaches based on molecular markers for studying genetic diversity, creating molecular genetic maps, QTL mapping, identifying markers closely linked to genes coding the economically valuable traits of cereals. One of the most effective and fast technologies are CASP-markers (Competitive Allele Specific PCR). In this study, by using CASP (Competitive Allele-Specific PCR) technology, with the aim of molecular testing and the study of the collection, screening of 11 genes controlling such important traits as productivity, resistance to biotic stress and grain quality and assessment of the frequency of occurrence and heterozygosity of alleles was done for 166 breeding varieties and botanical varieties of milling wheat. As a result of screening the genes controlling the economically important traits among 166 varieties and botanical varieties of milling wheat, new valuable sources were revealed. Genotypes carrying positive alleles for RhtB1, RhtD1, Ppd-D1, Glu-D1, Gpc-B1, Lr34, FHB 5A, FHB 3BS were identified. Selected milling wheat genotypes, characterized by high yield and resistance to biotic stress can be recommended for various breeding programs for expanding genetic variation and as new genetic sources.

Keywords: milling wheat, single nucleotide polymorphism, CASP markers, screening, genetic variation, homozygosity, heterozygosity

Зерновые культуры, в число которых входят пшеница, ячмень, кукуруза, рис, по продуктивным и кормовым качествам относятся к наиболее ценным сельскохозяйственным культурам и являются основным продуктом питания во многих регионах мира. Возрастающие потребности в зерне можно удовлетворить за счет повышения урожайности, интенсивности земледелия и внедрения новых технологий. Применение в селекционных программах современных биотехнологических подходов, основанных на использовании молекулярных маркеров, может способствовать решению этих проблем.

В настоящее время увеличивается число различных типов молекулярных маркеров вместе с достижениями современных технологий и знаниями об отдельных генах и геномах растений в целом [1–3]. Однонуклеотидный полиморфизм (ОНП), замена одного нуклеотида в любой части генома в результате естественной мутации, является одним из самых мощных инструментов в молекулярной биологии [4–6]. ОНП как точечные мутации могут быть эволю-

ционно нейтральными и избегать влияния естественного отбора, если они происходят в некодирующих областях или не влияют на аминокислотную последовательность кодируемых полипептидов. Впоследствии ОНП стали широко распространяться в геномах всех живых организмов [7]. Для идентификации ОНП применяют различные типы молекулярных маркеров, каждый из которых имеет сопутствующие преимущества и недостатки. Одним из наиболее эффективных и быстрых способов использования маркеров ОНП является технология KASP (Competitive Allele Specific PCR) [8]. KASP – конкурентная аллель-специфичная ПЦР по конечной точке с флуоресцентной детекцией, в которой полиморфизм выявляют с помощью ОНП-маркеров за счет однонуклеотидных замещений, вставок и делеций. Этот универсальный метод диагностики характеризуется высокой точностью и производительностью и является удобным инструментом для маркер-опосредованной селекции (Marker-Assisted Selection, MAS). С использованием KASP-маркеров был картирован целый ряд генов и локусов количественных признаков (QTL). В анализе KASP используется новая гомогенная флуоресцентная система генотипирования, которая, по сравнению с мультиплексными методами (например, чиповая технология), очень быстрая и позволяет получать точные результаты (99,8 %) в течение нескольких часов. Таким образом, KASP-маркеры представляют собой эффективный инструмент как в молекулярно-генетических исследованиях, так и в селекции растений. Высокопроизводительная SNP маркерная технология очень эффективна для мягкой пшеницы (*Triticum aestivum* L.). Среди злаков геном пшеницы оценивается как один из наименее полиморфных. С помощью этих маркеров можно точно и быстро анализировать сотни образцов одновременно по маркерам ОНП.

Основная цель исследования направлена на скрининг 11 различных локусов, связанных с продуктивностью, показателями качества и устойчивостью к болезням коллекций мягкой пшеницы из Национального генетического банка Института генетических ресурсов Национальной академии Наук азербайджана, с использованием технологии KASP.

Материалы и методы исследования

В качестве исследовательского материала были использованы 166 образцов мягкой пшеницы из коллекции Национального генетического банка Института генетических ресурсов Национальной академии наук Азербайджана. Изученный материал представлен 35 сортами, созданными в разные годы, и образцами, собранными из разных регионов республики, изученными в полевых условиях и отобранными по биоморфологическим признакам в течение трех лет. Выделение геномной ДНК проводили согласно CTAB протоколу. Для генотипирования использованы 11 KAPS-маркеров (RhtB1_cim-KASP; RhtD1-KASP; Ppd-D1-D002-KASP; Glu-D1-DX-KASP; Gpc-B1-DUP-KASP; Lr21-GQ504819-1346-KASP; Lr34JagExon22-KASP; csSr2; Tsn1-KASP; FHB 5A; FHB 3BS/Fhb1), которые разработаны и изготовлены компанией LGC Genomics на основе соответствующего протокола, предоставленного компанией.

Результаты исследования и их обсуждение

Молекулярное тестирование и изучение генетических коллекций позволяет проводить скрининг на наличие новых генов и ценных аллелей, оценивать частоту встречаемости и гетерозиготность аллелей в популяции. В настоящем исследовании был проведен скрининг по таким важным показателям, как продуктивность, устойчивость к биотическому стрессу и качество зерна.

Основным требованием любой селекционной программы является создание сортов с высоким генетическим потенциалом продуктивности. Как известно, одним из важных фенотипических признаков, связанных с продуктивностью, являются высота растения и нечувствительность к фотопериоду. Генетическая природа признака – высота растения у пшеницы достаточно хорошо изучена. Для пшениц давно известно, что снижение высоты растений и формирование низкорослого, утолщенного стебля связано с мутациями в генах Rht (reduced height). Растения пшениц, содержащие в геноме мутированные гены Rht (гены карликовости), обнаруженные в 1935 г., отличались повышенной урожайностью и после «Зеленой революции» широко использовались в селекции пшеницы. Гены карликовости различного происхождения сыграли огромную роль в создании современных интенсивных сортов пшеницы, устойчивых к полеганию с высоким уборочным индексом (HI). На хромосомах идентифицировано и локали-

зовано множество локусов Rht, контролирующих этот признак [9, 10]. Хотя пшеница обладает большим числом генов Rht, только три из них Rht-B1 (Rht1), Rht-D1 (Rht2) и Rht8 широко используются в селекции [11, 12, 13]. Из 166 исследованных образцов 43 являются носителями мутантных аллелей Rht-B1b гена Rht-B1, 5 – аллелей Rht-D1b гена Rht-D1. Кроме того, было установлено, что 6 генотипов являются гетерозиготами по гену Rht-B1, 4 – по Rht-D1. Наряду с разновидностями var. *milturum*, var. *erythrospermum*, var. *lutescens*, var. *alborubrum*, var. *barbarossa*, var. *albidum*, var. *hostianum*, var. *velutinum*, var. *leucospermum*, var. *delfi* аллель Rht-B1b была также выявлена у сортов Арзу, Карабах, Зардаби, Экинчи 84, Рузи 84, Азамот 95, Гобустан, Егяна и другие. Согласно литературным данным, сорта, несущие аллель Rht-D1b, в основном среднего размера и устойчивы к полеганию, у них высота растения колеблется в пределах от 81 до 100 см. Аллель Rht-D1b была выявлена лишь для сорта Гюнешли, обладающего самым низким показателем по признаку длины роста (81–92 см). Другие сортообразцы мягкой пшеницы характеризовались аллелями высокорослости Rht-B1a и Rht-D1a. Высота сортов Угур, Шеки 1, Азери, Шафаг 2 варьировала в пределах значений от 110 до 117 см. Известно, что в благоприятных условиях мутантные гиббереллин-нечувствительные карликовые аллели Rht-B1b и Rht-D1b способствуют повышению индекса продуктивности и устойчивости к полеганию [14]. Однако присутствие мутантных аллелей в неблагоприятных условиях (таких как засуха) может привести к уменьшению длины колеоптиля, что в свою очередь приводит к слабому росту проростков и потере урожая [15]. Напротив, генотипы, которые не имеют ни одного из упомянутых мутантных аллелей, являются более подходящими для культивирования в богарных условиях, так как не уменьшают длину колеоптиля [16]. Таким образом, генотипы, у которых не обнаружены аллели Rht-B1b и Rht-D1b, можно считать более целесообразными для культивирования в богарных условиях. Согласно некоторым литературным данным, существование одновременно двух мутантных аллелей вызывает резкое снижение продуктивности [17]. В изученной коллекции мягкой пшеницы генотипы с обеими мутантными аллелями не наблюдались.

Современные сорта пшеницы по своей фотопериодической чувствительности (ФПЧ) варьируют от сильночувствительных до абсолютно нечувствительных, способных к колошению даже в условиях короткого 8-часового дня [18]. Как правило, фотопериодическая нечувствительность считается важным свойством современных высокоадаптивных сортов со стабильно высокой продуктивностью. Возможность воздействовать на такой важный фактор, как сроки перехода к колошению в современных условиях изменяющегося климата и нестабильных погодных условий, может дать явное преимущество при селекции новых высокоадаптивных сортов пшеницы. Этим объясняется неизменно высокий интерес к донорам новых аллелей генов Ppd у мягкой пшеницы. Гены Ppd, отвечающие за чувствительность растения к длине дня (фотопериоду), играют важную роль при адаптации сортов пшеницы к разным агроклиматическим условиям. Доминантный аллель Ppd-D1a гена Ppd-D1, локализованный в хромосоме 2DS, отвечает за нечувствительность к фотопериоду и раннее цветение, в то время как другой рецессивный аллель – Ppd-D1b ответственен за фотопериодическую чувствительность (ФПЧ). В наших исследованиях среди изученных разновидностей более половины образцов мягкой пшеницы (53 %) несут нечувствительные к фотопериоду аллели гена Ppd-D1, 41,5 % – чувствительные. У девяти образцов была выявлена гетерозиготность по указанному выше локусу. Из 35 изученных сортов у 24 выявлены нечувствительные к фотопериоду аллели Ppd-D1a, тогда как сорта Йерли, Бол бугда, Перзиван1, Перзиван 2 и др. являлись носителями рецессивного аллеля Ppd-D1b гена Ppd-D1. Полученные результаты не согласуются с опубликованными ранее данными. Так, Guedira и другие в 2010 г. в своих исследованиях среди 174 изученной линии пшеницы выявили аллель Ppd-D1a только у 32 % генотипов [19]. Плейотропный эффект аллелей нечувствительности к фотопериоду и карликовости оказывает положительное влияние на формирование высокой биомассы. Из 88 образцов, несущих доминантный аллель Ppd-D1a гена Ppd -D1, три генотипа были идентифицированы с аллелем Rht-D1b, а 31 – с аллелем Rht-B1b. Эти генотипы, включая 10 сортов, созданных в разные годы, могут быть успешно использованы для создания новых разновидностей с комплексом положительных признаков.

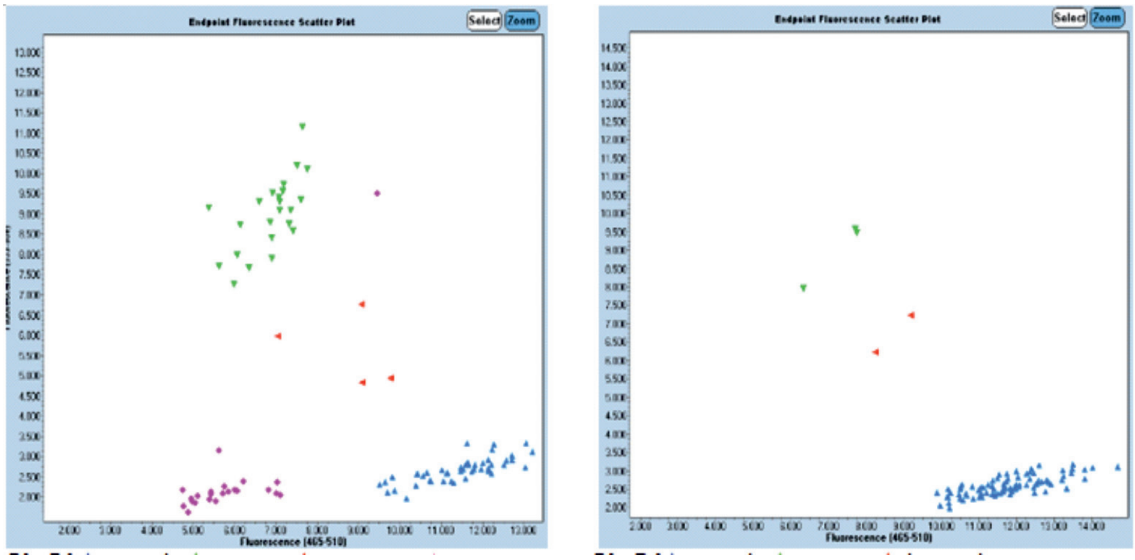

Рис. 1. Скрининг 96 генотипов мягкой пшеницы по генам Rht-B1 (слева) и Rht-D1 (справа). Синий – нормальный, зеленый – мутантный, красный – гетерозиготный, розовый – неизвестный

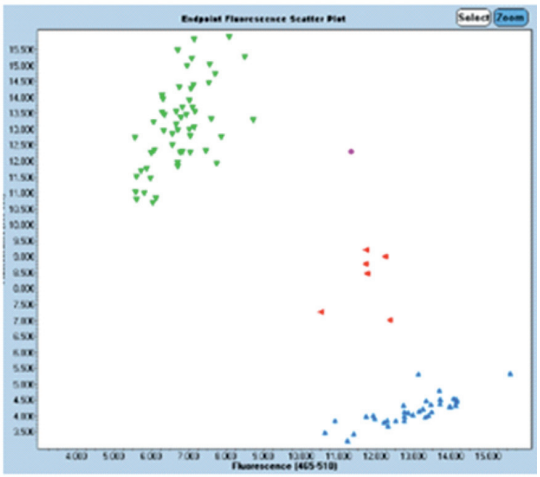

Рис. 2. Скрининг 96 образцов мягкой пшеницы по гену PPdD1. Зеленый – нечувствительные к фотопериоду, синий – чувствительные к фотопериоду, красный – гетерозиготный

Аллель Glu-D1a локуса Glu-D1, расположенной на длинном плече 1-й хромосомы и кодирующей глютеиновые субъединицы [20, 21], широко распространен у мягкой пшеницы и положительно влияет на хлебопекарное качество [22]. Для поиска ценных генов запасных белков была проведена оценка аллельного состава локуса Glu-D1 коллекции сортов мягкой пшеницы и выделены генотипы, несущие аллели Glu-D1a. При анализе частоты встречаемости аллелей локуса Glu-D1 показано, что 34 генотипа содержали аллель Glu-D1a, среди которых 31 образец оказался гомозиготой, 3 – гетерозиготами. Носителями аллеля Glu-D1a также оказались 7 селекционных сортов (Сяба, Тале 38, Сианотрикс 334/12, Арзу, Гарабах, Зердаби и Гюнешли). Jin с коллегами (2011) в результате скрининга 718 сортов из 20 стран, с помощью маркеров, сцепленного генами Glu-A1 и Glu-D1, обнаружили, что 50% исследованных сортов являются носителями аллелей Glu-A1b или Glu-D1d [23]. Другой показатель – содержание протеина – оказывает большое влияние на хлебопекарные свойства пшеницы, так как воздействует на абсорбцию воды и формирование теста. Среди исследованных образцов выявлен только один образец разновидности var. *milturum* из Агдамского региона, несущий аллель, связанный с высоким содержанием белка. Указанный генотип с высоким содержанием белка можно использовать в селекционной работе в качестве доноров для выведения перспективных образцов.

Несмотря на большое разнообразие исследований, связанных с применением KASP-маркеров, основная часть этих работ нацелена на селекцию по признакам устойчивости к вирусам и болезням, а также к гербицидам. Устойчивость к различным болезням является чрезвычайно важным признаком у разных культур, но гены, контролирующие данные признаки, как и их ну-

клеотидные последовательности, остаются пока неизвестными. К настоящему времени во всем мире у пшеницы идентифицирован 71 ген устойчивости к листовой (Lr) и 57 стеблевой (Sr) ржавчине, которые использовались в селекционных программах. Гены Lr 21 и Lr 34 обеспечивают устойчивость у взрослых растений. В наших исследованиях, в результате скрининга, не выявлен ген Lr 21 и изученные генотипы можно охарактеризовать как восприимчивые к листовой ржавчине. Однако у 17 генотипов была установлена устойчивость по гену Lr 34, а 33 образца оказались носителями гена устойчивости в гетерозиготном состоянии. Среди сортов была выявлена устойчивость только у Сяба и Гюнешли. Приведенные выше сорта могут быть использованы в качестве ценного источника в селекционной работе, направленной на повышение устойчивости к листовой ржавчине.

Единственный ген устойчивости к стеблевой ржавчине, не являющийся расоспецифическим (Sr2), был выявлен у вида *Triticum turgidum* ssp. *dicoccum* (Schrank ex Schubler) Thell (*Triticum dicoccum* Schrank ex Schubler) [24]. В настоящем исследовании в результате скрининга по гену Sr2 все образцы оказались восприимчивыми к стеблевой ржавчине.

Наряду с биотрофными анализами мягкой пшеницы был также проведен гемибиотрофный анализ устойчивости к желтой пятнистости (Tsn) и фузариозу колоса, в результате чего получен ряд различных результатов. Несмотря на то, что было выявлено несколько QTL для устойчивости к фузариозу колоса, большинство исследователей в этом направлении подчеркивают, что наиболее важными являются гены Fhb1, расположенные в хромосоме 3BS, Fhb2 – в хромосоме 6 BS и Fhb5 – в хромосоме 5AS.

В наших исследованиях результаты скрининга локуса Fhb 5A выявили устойчивость 47 генотипов к фузариозу колоса, остальные образцы оказались чувствительными. Отмечена гетерозиготность четырех генотипов по этому локусу.

Скрининг генов устойчивости к желтой пятнистости выявил чувствительность всех образцов изученной коллекции.

Заключение

Таким образом, в результате скрининга 11 локусов, контролирующих хозяйственно ценные признаки, у 166 сортов и разновидностей в коллекции мягкой пшеницы были выявлены новые ценные генные источники.

Для всех генов, за исключением трех локусов *(Lr 21, Tsn и Sr 2*), были идентифицированы генотипы, обладающие селекционно значимыми аллелями.

Из 166 исследованных генотипов положительные результаты были достигнуты только у 20, а каждый из оставшихся 146 образцов (в гомо- или гетерозиготном состоянии) оказались носителями желаемых аллелей. С целью расширения генетического разнообразия эти образцы могут быть использованы как доноры продуктивности и устойчивости к болезням в различных селекционных программах. У разновидности мягкой пшеницы var. *meridionale* был выявлен 1, у сорта Гюнешли и разновидности var. *alborubrum* – 4 положительных аллеля. Эти сортообразцы, как генотипы с комплексом положительных признаков, рекомендованы для получения продуктов высокого качества в различных хозяйствах и как родительские формы для гибридизации.

Список литературы / References

1. Mohan M., Nair S., Bhagwat A., Krishna T.G., Yano M., Bhatia C.R., Sasaki T. Genome mapping, molecular markers and marker-assisted selection in crop plants. Molecular breeding. 1997. Vol. 3. № 2. P. 87–103. DOI: 10.1023/A:1009651919792.

2. Хлесткина Е.К., Салина Е.А. SNP-маркеры: методы анализа, способы разработки и сравнительная характеристика на примере мягкой пшеницы // Генетика. 2006. Т. 42. № 6. С. 725–736.

Khlestkina E.K., Salina E.A. SNP-markers: Methods of analysis, ways of development, and comparison on an example of common wheat // Russian Journal of Genetics. 2006. Vol. 42. № 6. P. 585–594. DOI: 10.1134/S1022795406060019.

3. Semagn K., Bjornstad A., Ndjiondjop M.N. An overview of molecular marker methods for plants. African Journal of Biotechnology. 2006. Vol. 5. № 25. P. 2540–2568.

4. Poczai P., Varga I., Laos M., Cseh A., Bell N., Valkonen J.P.T., Hyvönen J. Advances in plant gene-targeted and functional markers: a review. Plant Methods. 2013. Vol. 9. № 1. P. 6. DOI: 10.1186/1746-4811-9-6.

5. Salgotra R.K., Gupta B.B., Stewart J.C.N. From genomics to functional markers in the era of next-generation sequencing. Biotechnology Letters. 2014. Vol. 36. Issue 3. P. 417–426. DOI: 10.1007/s10529-013-1377-1.

6. Liao P.Y., Lee K.H. From SNPs to functional polymorphism: The insight into biotechnology applications. Biochemical Engineering Journal. 2010. Vol. 49. № 2. P. 149–158. DOI: 10.1016/j.bej.2009.12.021.

7. Perkel J. SNP genotyping: six technologies that keyed a revolution. Nature Methods. 2008. Vol. 5. № 5. P. 447–453. DOI: 10.1038/nmeth0508-447.

8. Semagn K., Babu R., Hearne S., Olsen M. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): overview of the technology and its application in crop improvement. Molecular breeding. 2014. Vol. 33. Issue 1. P. 1–4. DOI: 10.1007/s11032-013-9917-x.

9. Buerstmayr H., Ban T., Anderson J.A. QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: A review. Plant Breeding. 2009. Vol. 128. Issue 1. P. 1–26. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2008.01550.x.

10. Lin F., Xue S.L., Zhang Z.Z., Zhang C.Q., Kong Z.X., Yao G.Q., Tian D.G., Zhu H.L., Li C.J., Cao Y., Wei J.B.

Mapping QTL associated with resistance to Fusarium head blight in the Nanda2419× Wangshuibai population. II: Type I resistance. Theoretical and Applied Genetics. 2006. Vol. 112. Issue 3. P. 528–535. DOI: 10.1007/s00122-005-0156-3.

11. Ellis M.H., Spielmeyer W., Gale K.R., Rebetzke G.J., Richards R.A. Perfect Markers for the Rht-B1b and Rht- D1b Dwarfing Genes in Wheat. Theoretical and Applied Genetics. 2002. Vol. 105. Issue 6-7. P. 1038–1042. DOI:10.1007/s00122-002-1048-4.

12. Worland A.J. The Influence of Flowering Time Genes on Environmental Adaptability in European Wheat. Euphytica. 1996. Vol. 89. Issue 1. P. 49–57. DOI: 10.1007/BF00015718.

13. Worland A.J., Krozun V., Roder M.S., Ganal M.W., Law C.N. Genetic Analysis of the Dwarfing Gene Rht8 in Wheat. Part II. The Distribution and Adaptive Significance of Allelic Variation at the Rht8 Locus of Wheat as Revealed by Microsatellite Screening. Theoretical and Applied Genetics. 1998. Vol. 96. Issue 8. P. 1110–1120. DOI: 10.1007/s001220050846.

14. Gao Z., Shi Z., Zhang A., Guo J. Distribution of genes associated with yield potenial and water-saving in Chinese Zone II wheat detected by developed functional markers. Journal of Genetics. 2015. Vol. 94. Issue 1. P. 35–42. DOI: 10.1007/s12041-015-0472-6.

15. Rebetzke G.J., Appels R., Morrison A.D., Richards R.A., McDonald G., Ellis M.H., Spielmeyer W., Bonnett D.G. Quantitative trait loci on chromosome 4B for coleoptile length and early vigour in wheat (*Triticum aestivum* L.). Australian Journal of Agricultural Research. 2001. Vol. 52. № 12. P. 1221–1234. DOI: 10.1071/AR01042.

16. Flintham J.E., Borner A., Worland A.J., Gale M.D. Optimizing Wheat Grain Yield: Effects of Rht (Gibberellin-Insensitive) Dwarfing Genes. Journal of Agricultural Science. 1997. Vol. 128. Issue 1. P. 11–25. DOI: 10.1017/S0021859696003942.

17. Ellis M.H., Rebetzke G.J., Azanza F., Richards R.A., Spielmeyer W. Molecular mapping of gibberellin-responsive dwarfing genes in bread wheat. Theoretical and Applied Genetics. 2005. Vol. 111. Issue 3. P. 423–430. DOI:10.1007/s00122-005-2008-6.

18. Worland A., Appendino M., Sayers E. The distribution, in European winter wheats, of genes that influence eco climatic adaptability whilst determining photoperiodic insensitivity and plant height. Euphytica. 1994. Vol. 80. no. 3. P. 219–228. DOI: 10.1007/BF00039653.

19. Guedira M., Brown-Guedira G.G., Sanford V.D., Sneller C., Souza E., Marshall D. Distribution of genes in modern and historic winter wheat cultivars from the Eastern and Central USA. Crop Science. 2010. Vol. 50. P. 1811–1822. DOI: 10.2135/cropsci2009.10.0626.

20. Gupta R.B., Shepherd K.W. Two-step one-dimensional SDS-PAGE analysis of LMW subunits of glutenin. I. Variation and genetic control of the subunits in hexaploid wheats. Theoretical and Applied Genetics. 1990. Vol. 80. Issue 1. P. 65–74. DOI: 10.1007/BF00224017.

21. Payne P.I., Seekings J.A., Worland A.J., Jarvis M.G., Holt L.M. Allelic variation of glutenin subunits and gliadins and its effect on bread making quality in wheat: analysis of F5 progeny from Chinese Spring x Chinese Spring (Hope 1A). Journal of Cereal Science. 1987. Vol. 6. P. 103–118.

22. Liu S., Rudd J.C., Bai G., Haley S.D., Ibrahim A.M., Xue Q., Hays D.B., Robert A. Graybosch R.A., Ravindra N. Devkota R.N., St Amand P. Molecular Markers Linked to Genes Important for Hard Winter. Crop Science. 2014. Vol. 54. № 4. P. 1304–1321. DOI: 10.2135/cropsci2013.08.0564.

23. Jin H., Yan J., Pena R.J., Xia X.C., Morgounov A., Han L.M., Zhang Y., He Z.H. Molecular detection of high- and low-molecular-weight glutenin subunit genes in common wheat cultivars from 20 countries using allele-specific markers. Crop and Pasture Science. 2011. Vol. 62. № 9. P. 746–754. DOI: 10.1071/CP11134.

24. Mago R., Brown-Guedira G., Dreisigacker S., Breen J., Jin Y., Singh R., Appels R., Lagudah E., Ellis J., Spielmeyer W. An accurate DNA marker assay for stem rust resistance gene Sr2 in wheat. Theoretical Applied Genetics. 2011. Vol. 122. Issue 4. P. 735–744. DOI: 10.1007/s00122-010-1482-7.