

ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ ПРОБЛЕМ

DOI:10.30901/2227-8834-2016-4-70-78

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 633.16:631.524

Н. В. Алпатьева,
Р. А. Абдуллаев,
И. Н. Анисимова,
Н. К. Губарева,
О. Н. Ковалева,
Е. Е. Радченко

Федеральный
исследовательский центр
Всероссийский институт
генетических ресурсов
растений имени
Н. И. Вавилова,
190000 Санкт-Петербург,
ул. Б. Морская д. 42, 44,
Россия,
e-mail alpatievanatalia@mail.ru

Ключевые слова:

ячмень, мучнистая роса, ген
mlo11

Поступление:

26.09.2016

Принято:

06.12.2016

УСТОЙЧИВЫЕ К МУЧНИСТОЙ РОСЕ ОБРАЗЦЫ МЕСТНОГО ЯЧМЕНЯ ИЗ ЭФИОПИИ

Актуальность. Мучнистая роса – одна из самых опасных болезней ячменя. Ген *mlo11*, обеспечивающий длительную устойчивость современных сортов к возбудителю заболевания, был идентифицирован у местных ячменей из Эфиопии. Целью работы являлся поиск источников этого ценного гена среди местных форм, поступивших в коллекцию ВИР в начале XX века. Материалы и методы. Материалом для исследований служили 27 образцов ячменя, собранных сотрудниками ВИР во время экспедиций Н. И. Вавилова в Эфиопию и Эритрею, а также полученных из генных банков растительных ресурсов Германии, Великобритании и США. В качестве контролей использовали 9 современных сортов – носителей аллеля *mlo11*, и восприимчивый сорт ‘Белогорский’. В лабораторных условиях растения заражали северо-западной (С.-Петербург) популяцией возбудителя заболевания; через 30 дней проводили фенотипический скрининг и отбирали устойчивый материал. Параллельно из растений выделяли ДНК, проводили полимеразную цепную реакцию (ПЦР), а полученные ампликоны клонировали и секвенировали. Растения с аллелем *mlo11* довели до созревания, определили ботанические разновидности и оценили по электрофоретическим спектрам запасного белка гордеина. Результаты и выводы. С помощью фитопатологического скрининга и ДНК-маркеров среди местных ячменей из Эфиопии выявили 4 образца (7 генотипов), несущих аллель *mlo11*. Показано, что эти образцы с уникальной природной мутацией гена *Mlo* весьма разнородны по морфологическим и биохимическим признакам. Отобранные в ходе исследования генотипы из образцов к-5448, к-8555, к-8682 и к-17554 могут быть источниками аллеля *mlo11* при создании устойчивых к мучнистой росе сортов.

IDENTIFICATION OF THE DIVERSITY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES FOR SOLVING FUNDAMENTAL AND APPLIED PROBLEMS

DOI:10.30901/2227-8834-2016-4-70-78

ORIGINAL ARTICLE

**N. V. Alpatyeva,
R. A. Abdullaev,
I. N. Anisimova,
N. K. Gubareva,
E. E. Radchenko**

N. I. Vavilov All-Russian
Institute of Plant Genetic
Resources,
42-44 B. Morskaya St.,
St. Petersburg,
190000, Russia

Key words:

*barley, powdery mildew, the
mlo11 gene*

Received:

26.09.2016

Accepted:

06.12.2016

LOCAL BARLEY ACCESSIONS FROM ETHIOPIA RESISTANT TO POWDERY MILDEW

Background. Powdery mildew is one of the most dangerous diseases of barley. The *mlo11* gene providing long-lasting resistance to the pathogen in modern cultivars was originally identified in local barley accessions from Ethiopia. The aim of our study was searching for sources of this valuable gene in the set of Ethiopian accessions from the VIR Genebank (Russia) collected in the early 20th century. **Materials and methods.** Materials for investigations included 27 local Ethiopian barley accessions collected by the staff of VIR during N.I. Vavilov's expedition to Ethiopia and Eritrea as well as received from the genebanks of plant resources in Germany, the UK and the USA. Nine modern *mlo11*-containing varieties and the susceptible cultivar Belogorsky were used as references. Under laboratory conditions the plants were infected with the North-Western (St. Petersburg) population of the pathogen. After 30 days we conducted phenotypic screening and selected resistant material. Concurrently, plant DNA was extracted, polymerase chain reaction (PCR) was performed and amplicons were cloned and sequenced. The plants with the *mlo11* allele were brought to maturity to determine botanical species and evaluate them by electrophoresis of the storage protein hordein. **Results and conclusions.** Using a phytopathological test and DNA markers 4 *mlo11*-containing accessions (7 genotypes) were identified in the set of local Ethiopian accessions. It has been shown that accessions with a unique natural mutation of the *Mlo* gene are very different in their morphological and biochemical characteristics. Genotypes selected during the study from the accessions k-5448, k-8555, k-8682 and k-17554 can be used as the sources of the *mlo11* allele to develop barley cultivars resistant to powdery mildew.

Введение

Мучнистая роса ячменя, вызываемая грибом *Blumeria graminis* (DC.) Golovin ex Speer f. sp. *hordei* Marchal, наиболее вредоносна в регионах России с влажным климатом. Болезнь поражает все надземные органы растения – листья, листовые влагалища, стебель, а в годы сильного развития даже колосковые чешуи и ости. У пораженных растений снижается фотосинтетическая активность листьев, существенно изменяется ход физиологических процессов: возрастает потеря воды, резко возрастает дыхание. Вследствие этих причин замедляется интенсивность роста и ослабевает способность к кущению, снижается масса семян, уменьшается озерненность колосьев. Наиболее рациональный способ борьбы с болезнью – селекция устойчивых сортов. Идентифицировано свыше 100 обозначенных различными символами генов, контролирующих устойчивость ячменя к мучнистой росе, большинство которых представляют собой аллельные варианты. Так, известно 34 аллеля гена *Mla* (хромосома 1Н) и свыше 30 – гена *Mlo* (хромосома 4Н) (Weibull et al., 2003; Reinstädler et al., 2010). К сожалению, большинство аллелей неэффективны против возбудителя заболевания. Практически единственный эффективный ген, контролирующий длительную устойчивость к патогену во всем мире – *mlo11*. Рецессивный ген неспецифической устойчивости *mlo11* обуславливает не полную, а частичную устойчивость к патогену и широко используется в современной селекции: половина современных яровых европейских ячменей несут аллель *mlo11* и лишь несколько сортов – *mlo9* (Jørgensen et al., 1992; Dreiseitl, 2012). У *mlo11* мутантов обнаружили несколько tandemно расположенных повторов перед геном *Mlo*. Такая конструкция препятствует экспрессии гена и, как следствие, обуславливает устойчивость к грибу. Повтор включает фрагменты нуклеотидной последовательности, предшествующей смысловой и частично гена с 1-го экзона по 5-й интрон (Buschgeset et al., 1997). Повторы разделены динуклеотидами GT. Первый повтор оказался короче последующих («усеченный» повтор). П. Пиффанелли с соавторами разработали две комбинации праймеров (ADUP7/Mlo6 и Mlo6/Mlo10) для идентификации обоих ти-

пов повторов. При использовании праймеров ADUP7 и Mlo6 у носителей *mlo11* образуется ампликон 1200 пн, а Mlo6 и Mlo10 – 440 пн (Piffanelli et al., 2004). Показано, что в современных сортах донорами *mlo11* послужили, главным образом, 2 образца из Эфиопии – L92 и L100, собранные во время экспедиций в 1937 и 1938 гг. Доля носителей аллеля *mlo11* среди местных форм (ландрас) из Эфиопии невелика и составляет 0,2–0,6% (Piffanelli et al., 2004). В коллекции ВИР насчитывается свыше тысячи образцов ячменя из Эфиопии, в том числе и собранных в начале прошлого века. К сожалению, частота носителей аллеля *mlo11* в этой обширной коллекции неизвестна, поиск новых источников ценного для селекции гена весьма актуален.

Материалы и методы

Материалом для исследований послужили 27 местных образцов ячменя, которые были собраны сотрудниками ВИР во время экспедиций Н. И. Вавилова в Эфиопию и Эритрею, а также получены из генных банков растительных ресурсов Германии, Великобритании и США. В качестве контролей использовали 9 носителей аллеля *mlo11*, включая изогенную линию сорта ‘Ingrid’ *mlo11*, и восприимчивый сорт ‘Белогорский’ (таблица). В лабораторных условиях по 10 ювенильных растений исследуемых образцов заражали северо-западной (С.-Петербург) популяцией возбудителя заболевания, через 30 дней с использованием шкалы Майнса и Дитца (Krivchenko et al., 2008) проводили фенотипический скрининг и отбирали устойчивый материал. Параллельно выделяли ДНК из опытных растений по методике Д. Б. Дорохова и Э. Клоке (Dorokhov, Klocke, 1997) с некоторыми модификациями (Anisimova et al., 2010). С помощью праймеров ADUP7 (5'-СТС ААG СТТ GCC ACC ATGTСG GAC AAA AAA GGG G-3'), Mlo6 (5'-САТ СТА СТА СТА GCA TGT ACC-3') и Mlo10 (5'-GTC СТG ССА ССТ ААG TAG CAG-3') проводили ПЦР по протоколу, предложенному П. Пиффанелли с соавторами (Piffanelli et al., 2004), электрофорез амплифицированных фрагментов – в 1,5% агарозном геле в 1xTBE буфере, окрашивали фрагменты бромистым этидием и визуализировали в ультратрафиолетовом свете.

Список изученных образцов ячменя из Эфиопии
List of the examined barley accessions from Ethiopia

№ п/п	№ по каталогу ВИР	Образец	Разновидность	Год поступления образца в коллекцию ВИР	Наличие аллелей <i>Mlo</i>
1	5448	Аbyn 8	<i>duplinigrum</i>	1922 (экспедиция ВИР)	Нет данных
2	5450	Аbyn 11	<i>nutans</i>	1922 (экспедиция ВИР)	Нет данных
3	5454	Аbyn15	<i>stuedelii</i>	1922 (экспедиция ВИР)	Нет данных
4	6461	С.І.3906	<i>pallidum</i>	1922 (из генного банка США)	Нет данных
5	6470	С.І.3915	<i>pallidum</i>	1925 (из генного банка США)	Нет данных
6	6477	С.І.3922	<i>pallidum</i>	1925 (из генного банка США)	Нет данных
7	6492	С.І.3212	<i>deficiens</i>	1925 (из генного банка США)	Нет данных
8	7087	Местный	<i>nigrum</i>	1925 (из генного банка Великобритании)	Нет данных
9	7093	Местный	<i>pallidum</i>	1925 (из генного банка Великобритании)	Нет данных
10	7095	Местный	<i>pallidum</i>	1925 (из генного банка Великобритании)	Нет данных
11	8518	Местный	<i>pallidum</i>	1927 (экспедиция ВИР)	Нет данных
12	8526	Местный	<i>pallidum</i>	1927 (экспедиция ВИР)	Нет данных
13	8553	Местный	<i>pallidum</i>	1927 (экспедиция ВИР)	Нет данных
14	8555	Местный	<i>deficiens</i>	1927 (экспедиция ВИР)	Нет данных
15	8559	Местный	<i>pallidum</i>	1927 (экспедиция ВИР)	Нет данных
16	8564	Местный	<i>pallidum</i>	1927 (экспедиция ВИР)	Нет данных
17	8682	Местный	<i>duplinigrum</i>	Неизвестно	Нет данных
18	8712	Местный	<i>pallidum</i>	1927 (экспедиция ВИР)	Нет данных
19	8718	Местный	<i>nutans</i> , единичные растения многорядные	1927 (экспедиция ВИР)	Нет данных
20	8749	Местный	<i>abyssinicum</i>	1927 (экспедиция ВИР)	Нет данных
21	17554	Ер-80 Abissinien	<i>dupliatrum</i>	1949 (из генного банка Германии)	Нет данных
22	17695	Местный	<i>pallidum</i>	1949 (из генного банка Германии)	Нет данных
23	17696	Fayiks	<i>pallidum</i>	1949 (из генного банка Германии)	Нет данных
24	19979	АНОР40/65	<i>brunneinudum</i>	1969 (из генного банка Германии)	Нет данных
25	19992	АНОР 3525/63	<i>deficiens, nutans</i>	1969 (из генного банка Германии)	Нет данных
26	20001	АНОР 3526/63	<i>nigripallidum, nigrum</i>	1969 (из генного банка Германии)	Нет данных
27	22968	DZ 02-447	<i>stuedeli</i>	1976 (из генного банка Эфиопии)	Нет данных
28	22089	Белогорский	<i>pallidum</i>	1975 (Северо-Западный НИИСХ)	Нет данных
29	20040	АНОР 2551/63	<i>nigrinudum</i>	1969 (из генного банка Германии)	<i>mlo11</i>
30	20077	АНОР 2556/63	<i>duplinigrum</i>	1969 (из генного банка Германии)	<i>mlo11</i>
№ п/п	№ по каталогу ВИР	Образец	Разновидность	Год поступления образца в коллекцию ВИР	Наличие аллелей <i>Mlo</i>
31	20083	АНОР 3210/66	<i>duplinigrum, tibetanum</i>	1969 (из генного банка Германии)	<i>mlo11</i>

№ п/п	№ по каталогу ВИР	Образец	Разновидность	Год поступления образца в коллекцию ВИР	Наличие аллелей <i>Mlo</i>
32	26185	Atem	<i>nutans</i>	1980 (из генного банка Нидерландов)	<i>mlo11</i>
33	29432	HVS-3.1703 Dercado	<i>nutans</i>	1989 (из генного банка Германии)	<i>mlo11</i>
34	30068	Dercado	<i>nutans</i>	Год поступления неизвестен (из генного банка Германии)	<i>mlo11</i>
35	30225	Изогенная линия сорта Ingrid, <i>mlo11</i>	<i>nutans</i>	1995 (из генного банка Германии)	<i>mlo11</i>
36	30299	Grannenlose Zeizeilige	<i>duplialbum</i>	1995 (из генного банка Польши)	<i>mlo11</i>
37	30942	Heris	<i>nutans</i>	2005 (из генного банка Чехии)	<i>mlo11</i>

Аmplифицированные фрагменты длиной 1200, 380 и 440 пн были клонированы в векторе pAL-TA Vector (Евроген). Очистку ПЦР-продуктов из амплификационной смеси проводили в 1% агарозном геле. Лигирование вектора со вставкой проводили согласно протоколу, рекомендованному фирмой ЗАО Евроген (<http://evrogen.ru/kit-user-manuals/pAL-TA.pdf>). Для трансформации использовали штамм DH5L *Escherichia coli*. Отбор клонов осуществляли при помощи ПЦР с праймерами M13. Продукты ПЦР разделяли электрофорезом в 1% агарозном геле и отбирали клоны со вставкой нужного размера. Фрагменты секвенированы на приборе ABI 3500xl в ЦКП «Геномные технологии и клеточная биология» (ФГБНУ ВНИИСХМ).

Устойчивые растения доводили до созревания, определяли их ботаническую разновидность и дифференцировали с помощью электрофореза запасного белка гордеина в полиакриламидном геле (ПААГ) в соответствии с протоколом, разработанным в отделе молекулярной биологии и биохимии ВИР (Konarev et al., 2000). При этом анализировали по 10 зерен каждого образца.

Результаты и обсуждение

Среди исследованных форм выявили устойчивый к мучнистой росе образец к-5448, поражение растений которого не превышало 1 балла. Три образца оказались гетерогенными по изучаемому признаку: к-8555 (одно устойчивое растение из 10), к-8682 (7 из 10), к-17554 (8 из 10). Слабо (до 1

балла) поражались грибом 6 образцов, несущих аллель *mlo11*: к-20040, к-20077, к-20083, к-30068, к-30942, к-30299. Образцы к-26185, к-29432, и изогенная линия сорта Ingrid с геном *mlo11* оказались гетерогенными: 1–2 растения каждого образца поражались грибом на уровне восприимчивого контроля (4 балла).

Устойчивые и восприимчивые растения проанализировали с помощью молекулярных маркеров, разработанных для идентификации аллеля *mlo11*. Для устойчивых растений всех образцов характерно наличие ампликонов длиной 1200 пн с первой (ADUP7 и Mlo6) и 440 пн – со второй парой праймеров (Mlo6 и Mlo10). У восприимчивых растений выявлен лишь один фрагмент длиной 380 пн при использовании комбинации праймеров Mlo6 и Mlo10, что свидетельствует об отсутствии у них повторов, характерных для аллеля *mlo11* (рис. 1). Таким образом, у всех выделенных нами устойчивых образцов идентифицирован ген *mlo11*.

Для определения структуры ампликонов и определения мест праймирования фрагменты были секвенированы. Полученные результаты сравнивали с последовательностью локуса *Mlo* сорта ‘Ingrid’, представленной в Международном генном банке нуклеотидных последовательностей Basic Local Alignment Search Tool (BLAST, GenBank accession no. Y14573, <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). На рисунке 2а показано, что ампликон 1200 пн включает фрагмент характерного для *mlo11* tandemно расположенного повтора: участок кодирующей области

с 1-го экзона по 5-й интрон (частично) и последовательности, предшествующей смысловой. На 5'-конце фрагмента находится короткий уникальный участок ДНК длиной 15 пн, который отсутствует в последовательности Mlo (Y14573). Фрагмент амплифицируется только у образцов – носителей аллеля *mlo11*. Другая комбинация праймеров Mlo6 и Mlo10 амплифицирует фрагмент, предшествующей кодирующей области локуса *Mlo* в интервале 7398-7778 в соответствии с нумерацией нуклеотидов в последовательности образца Y14573 (рис. 2б). Места праймирования у мутантов и растений с аллелем

дикого типа совпадают, но ампликоны различаются по длине (440 и 380 пн соответственно). Ампликон длиной 440 пн, включающий так называемый «усеченный повтор», характерный для генотипов с *mlo11*, имеет вставку длиной 120 пн, которая включает фрагмент 5-го экзона и 5-го интрона смысловой последовательности гена и делецию во фланкирующей области длиной 60 пн (рис. 2в). Перед фрагментом кодирующей последовательности в усеченном повторе расположен участок ДНК длиной 13 пн, отсутствующий у образца Y14573.

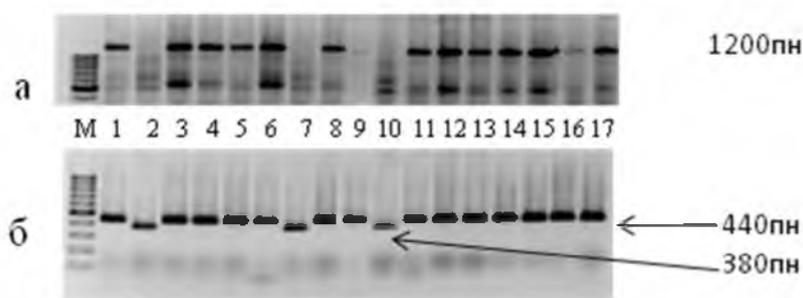


Рис. 1. ПЦР анализ геномной ДНК образцов местного ячменя из Эфиопии с помощью маркеров, разработанных для идентификации:

а – аллеля *mlo11* (1200 пн), праймеры ADUP7 и Mlo6;
б – аллеля дикого типа локуса *Mlo* (380 пн) и *mlo11* (440 пн), праймеры Mlo6 и Mlo10.
1–10 растения образца к-8682, 11–17 – к-5448. Растения 1, 3–6, 8, 9, 11–17 защищены геном *mlo11*; 2, 7, 10 – восприимчивые растения.

Fig.1. PCR analysis of the genomic DNA extracted from the local Ethiopian barley accessions with the use of the following markers developed for identification:

а – the *mlo11* allele (1200 bp), primers ADUP7 и Mlo6;
б – the *Mlo* wild-type allele (380 bp) and the *mlo11* allele (440 bp), primers Mlo6 and Mlo10;
1–10 – plants from the accession k-8682, 11–17 – k-5448. 1, 3–6, 8, 9, 11–17 – resistant *mlo11*-containing plants; 2, 7, 10 – susceptible plants.

Все растения образца к-5448, а также 7 растений, отобранных из образца к-8682, относятся к разновидности *duplinigrum* и сходны по высоте. Потомство устойчивого растения, отобранного из образца к-8555, имеет озимый тип развития. Устойчивый к мучни-

стой росе компонент образца к-17554 представляет собой смесь безостой (разновидность *dupliatrum*) и остистой (*nigrinudum*) форм. Растения, относящиеся к разновидности *nigrinudum*, скорее всего, являются примесью вследствие переопыления, которое довольно характерно для ячменей Эфиопии.

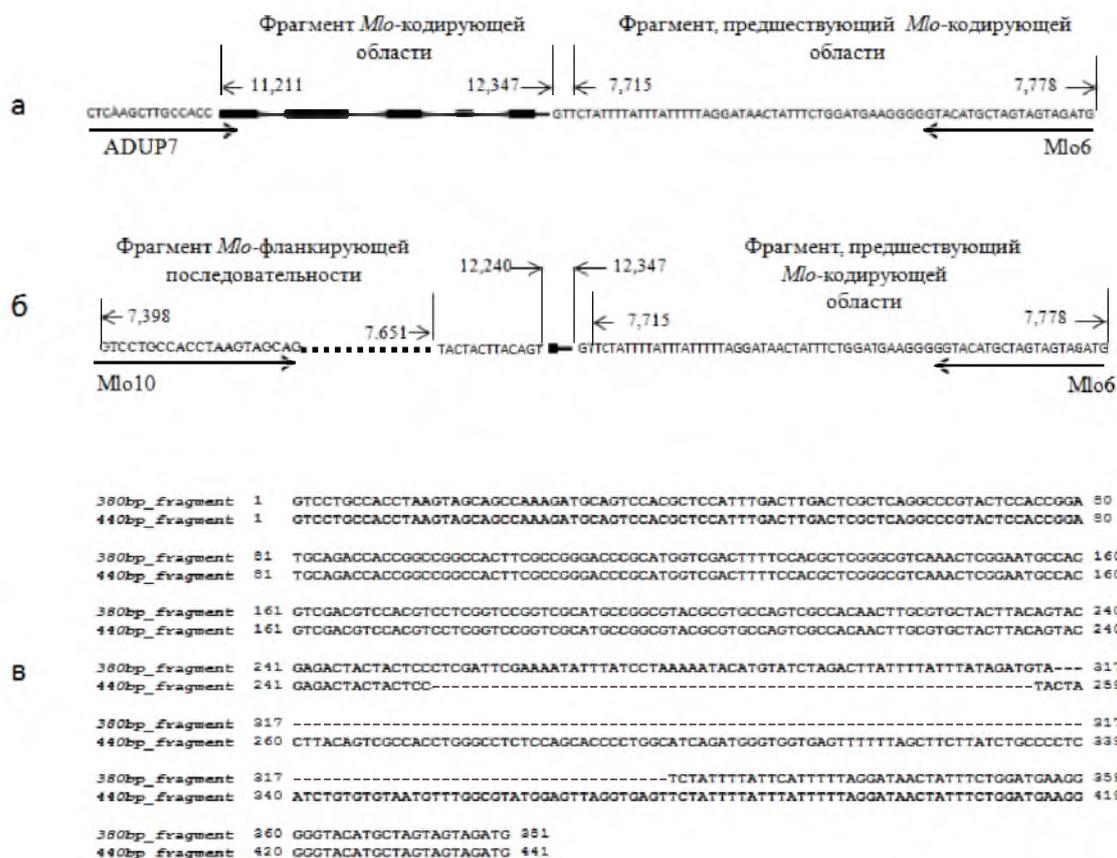


Рис. 2. Маркерные фрагменты аллеля *mlo11* с указанием мест праймирования:

а – ампликон 1200 пн, включающий участок ДНК длиной 15 пн (часть праймера ADUP7), фрагмент кодирующей (1137 пн) и предшествующей гену *Mlo* последовательностей, которые разделены динуклеотидом GT;

б – ампликон 440 пн, включающий последовательность, фланкирующую *Mlo*, фрагмент длиной 13 оснований, участок кодирующей последовательности (108 пн), динуклеотид GT и фрагмент последовательности, предшествующей *Mlo*;

в – выравнивание последовательностей фрагментов 440 пн и 380 пн устойчивых и восприимчивых растений образца к-8682.

Позиции нуклеотидов (а, б) обозначены в соответствии с нумерацией, приведенной в Международном геномном банке нуклеотидных последовательностей BLAST (GenBank accession no. Y14573).

Fig. 2. Marker fragments of the *mlo 11* allele with indication of the priming sites:

а – 1200 bp amplicon comprising DNA segment length of 15 bp (primer part ADUP7), fragment of coding (1137 bp) and *Mlo* upstream sequence, which are separated by dinucleotide GT;

б – 440 bp amplicon comprising *Mlo* flanking region, segment length of 13 bp, fragment of coding sequence, dinucleotide GT and *Mlo* upstream sequence;

в – sequence alignment of fragments 440 bp and 380 bp of resistant and susceptible plants from the accession k-8682 ,

Nucleotide positions (a,b) are indicated according to the numeration set forth by the International Genebank of Nucleotide Sequences (BLAST), genbank accession No. Y14573.

С целью более детальной характеристики генотипов растений, несущих аллель *mlo11*, изучили состав электрофоретических спектров полиморфных запасных белков семян – гордеинов. Этот признак наследуется кодо-

минантно и не зависит от условий выращивания (Konarev et al., 2000). Гордеины устойчивых растений образцов к-5448 и к-8682 имеют идентичные спектры белка (рис. 3а), а устойчивые компоненты к-8555 и к-

17554 – уникальные. Безостые растения образца к-17554 идентичны по спектрам гордеина, в то время как среди 10 проанализированных зерен остистых растений выявлены

4 варианта спектров (рис. 3б), что, возможно, обусловлено гибридным происхождением растений, относящихся к разновидности *nigrinudum* этого образца.

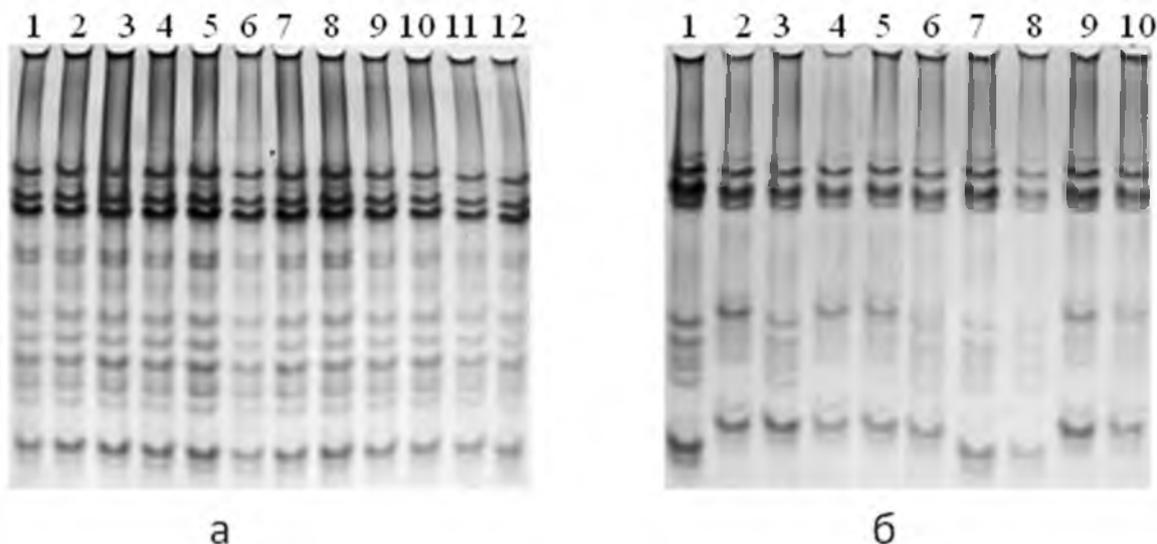


Рис. 3. Электрофореграммы запасного белка семян гордеина образцов-носителей аллеля *mlo11*:

а – к-5448 (спектры 1–6) и к-8682 (7–12);
б – к-17554 (разновидность *nigrinudum*).

Fig. 3. Electrophoregrams of the seed storage protein hordein in *mlo11*-containing accessions:

а – k-5448 (patterns 1–6) and k-8682 (7–12);
б – k-17554 (var. *nigrinudum*).

Заключение

Результаты исследования показывают, что собранные Н. И. Вавиловым и сотрудниками ВИР в 20-х годах прошлого века местные ячмени Эфиопии, а также полученный из Германии образец – уникальный и разнообразный материал, который может быть использован для создания сортов с длительной

устойчивостью к мучнистой росе. Поскольку изученная выборка составляет менее 3% хранящихся в коллекции ВИР образцов ячменя из Эфиопии, а частота носителей гена *mlo11* в ней достаточно высока (14,8%), можно предположить, что более пристальное исследование позволит выявить значительный потенциал ценных для селекции доноров устойчивости к опасной болезни.

References/Литература

Anisimova I. N., Alpatieva N. V., Timofeeva G. I. Screening of plant genetic resources using DNA markers: basic principles, DNA isolation, PCR, electrophoresis in agarose gels. Guidelines of VIR (Ed. by E. E. Radchenko). SPb.: VIR, 2010, 30 p. [in Russian] (Анисимова И. Н., Алпатьева Н. В., Тимофеева Г. И. Скрининг генетических ресурсов растений с использованием ДНК-маркеров: основные принципы, выделение ДНК, постановка ПЦР,

электрофорез в агарозном геле: Методические указания ВИР // под ред. Е. Е. Радченко. СПб: ВИР. 2010. 30 с.).

Basic Local Alignment Search Tool. <http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

Buschges R., Hollricher K., Panstruga R., Simons G., Wolter M., Frijters A., Van Daelen R., Van der Lee T., Diergaarde P., Groenendijk J., Töpsch S., Vos P., Salamini F., Schulze-Lefert P. The barley *Mlo* gene: a novel control element of plant pathogen resistance //

- Cell, 1997, vol. 88, no. 5, pp. 695-705. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81912-1](http://dx.doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81912-1).
- Dorokhov D. B., Klocke E. A. Rapid and economic technique for RAPD analysis of plant genomes // *Rus. J. Genet.*, 1997, vol. 33, no. 4, pp. 358-365.
- Dreiseitl A. Frequency of powdery mildew resistances in spring barley cultivars in Czech variety trials // *Plant Protection Sci.*, 2012, vol. 48, no. 1, pp. 17-20.
- Identification of varieties and registration of the gene pool of cultivated plants by seed proteins (Ed. by Acad. of RAAS V. G. Konarev). St. Petersburg: VIR, 2000. 186 p. [in Russian] (*Идентификация сортов и регистрация генофонда культурных растений по белкам семян* (под ред. Акад. РАСХН В. Г. Конарева). СПб.: ВИР, 2000. 186 с.
- Jørgensen J. H. Discovery, characterization and exploitation of *Mlo* powdery mildew resistance in barley // *Euphytica*, 1992, vol. 63, no. 1-2, pp. 141-152. DOI: 10.1007/BF00023919
- Krivchenko V. I., Lebedeva T. V., Peusha Kh. O. Powdery mildew // In: The study of the genetic resources of crops for resistance to pests. Moscow: Rossel-chozakademia, 2008, pp. 86-105 [in Russian] (*Кривченко В. И., Лебедева Т. В., Певуша Х. О. Мучнистая роса* // В кн.: Изучение генетических ресурсов зерновых культур по устойчивости к вредным организмам. Методическое пособие. М.: Россельхозакадемия, 2008. С. 86-105).
- Piffanelli P., Ramsay L., Waugh R., Benabdelmouna A., D'Hont A., Hollricher K., Jørgensen J. H., Schulze-Lefert P., Panstruga R. A barley cultivation-associated polymorphism conveys resistance to powdery mildew // *Nature*, 2004, vol. 430, no. 7002, pp. 887-891. DOI: 10.1038/nature02781.
- Reinstädler A., Müller J., Jerzy H., Czembor J. H., Piffanelli P., Panstruga R. Novel induced *mlo* mutant alleles in combination with site-directed mutagenesis reveal functionally important domains in the heptahelical barley *Mlo* protein // *BMC Plant Biology*, 2010, vol. 10, art. no. 31. DOI: 10.1186/1471-2229-10-31.
- Weibull J., Walther U., Sato K., Habekuß A., Kopahnke D., Proeseler G. Diversity in resistance to biotic stresses // *Diversity in Barley (Hordeum vulgare)*. Elsevier, 2003, pp. 143-178.