

PYRAMIDE : Développement d'une nouvelle stratégie de sélection pour l'obtention de lignées élites cumulant des résistances aux principales maladies fongiques

Ellen GOUEMAND^{1*}, Marie-Reine PERRETANT², Denis BEGHIN¹, Pierre DEVAUX¹,
Brigitte DEVAUX¹, Gilles CHARMET²

1 - FLORIMOND DESPREZ VEUVE & FILS, 59242 Cappelle-en-Pévèle

2 - INRA GDEC, 63039 Clermont-Ferrand

* Coordinateur : Ellen GOUEMAND, ellen.gouemand@florimond-desprez.fr

1. Introduction

Pour répondre aux enjeux d'une agriculture française et européenne compétitive et durable, il est nécessaire d'adapter les futures variétés à des systèmes «écologiquement intensifs», permettant d'optimiser le rendement et la qualité des produits tout en réduisant les impacts négatifs sur l'environnement. Dans ces systèmes, les résistances génétiques aux maladies sont un élément clef pour maintenir le potentiel de rendement avec des conduites culturales ayant recours à une protection chimique réduite et raisonnée (directives européennes, Ecophyto2018...). Cependant, ce type de conduite nécessite que les variétés utilisées présentent des résistances efficaces et durables. L'hypothèse centrale du projet est que le cumul dans un même génotype de plusieurs sources (gènes ou QTLs) de résistance, de préférences ayant des modes d'action complémentaires (par exemple stade jeune/stade adulte, résistance vertical/résistance partielle) permet d'obtenir une résistance efficace et durable, c'est-à-dire ayant moins de risque d'être contournée par mutation du pathogène. Il a été démontré, par exemple, chez le pathosystème colza/*L.maculans* que le cumul de résistances quantitatives et de gènes majeurs de résistance permettait d'accroître la durabilité de la résistance (Brun *et al.*, 2010). De même, chez le blé, le cumul de résistances partielles à la rouille noire a permis d'obtenir des lignées présentant un haut niveau de résistance au champ avec une faible probabilité de contournement (Singh *et al.* 2006). Dans le projet, nous proposons de construire, par sélection assistée par marqueurs, des géniteurs cumulant des gènes et QTLs de résistance pour trois des maladies fongiques du blé les plus préjudiciables pour le rendement et la qualité : la fusariose de l'épi (*Fusarium graminearum*), la rouille jaune (*Puccinia striiformis*) et la rouille brune (*Puccinia triticina*).

Généralement, les gènes de résistance, identifiés dans des lignées ou variétés exotiques, peu adaptées aux conditions de culture françaises, voire dans des espèces sauvages apparentées au blé, sont transférés dans un fonds génétique adapté par une série de rétro-croisements (backcross). Au cours de la dernière décennie, la méthode de back-cross assisté par marqueurs a été largement développée, puis étendue à d'autres schémas de croisement permettant d'optimiser le cumul ou « pyramidage » de gènes/QTLs (Servin *et al.* 2004, Ishii and Yonezawa 2007, Ishii *et al.* 2008). Dans ces méthodes, le parent récurrent, c'est-à-dire la variété « receveuse », est considéré comme possédant le fonds génétique optimal, dont la récupération doit être maximisée par l'utilisation de marqueurs moléculaires. Toutefois, la durée de vie commerciale d'une variété de blé tendre est relativement courte, comparée au temps nécessaire pour achever une construction par rétro-croisements récurrents. Autrement dit, une

fois le cumul de résistances réalisé dans une variété élite, cette variété risque d'être dépassée, pour d'autres caractères comme le rendement, par les nouvelles variétés inscrites entre temps.

L'originalité de ce programme provient de la stratégie utilisée qui consiste, d'une part à utiliser des marqueurs liés à des gènes/QTL identifiés pour piloter leur cumul (pyramidage) et d'autre part à utiliser des marqueurs densément répartis sur l'ensemble du génome dans le but d'améliorer le fonds génétique dans lequel les QTLs de résistance seront cumulés. La méthode utilisée propose de remplacer la « récupération » d'un fonds génétique donneur « fixe » par une amélioration du fonds génétique réalisée en même temps que le transfert et le cumul des gènes/QTLs. Il s'agit d'une combinaison des théories actuelles du pyramidage assistée par marqueurs pour les gènes/QTLs « discrets » et des méthodes plus récentes de sélection génomique pour les caractères à déterminisme plus complexe (nombreux QTLs à effets faibles). Les lignées obtenues devraient révéler un excellent niveau de résistance (durable) face à ces 3 maladies et être au niveau des meilleures variétés pour les autres caractères (rendement, qualité du grain...). Ainsi, ces lignées constitueront un matériel de choix pour la diversification du germplasm dans le cadre de programmes d'amélioration variétale.

2. Matériels et méthodes

L'introduction des résistances aux rouilles (*Puccinia striiformis* et *Puccinia triticina*) d'une part et à la fusariose de l'épi (*Fusarium graminearum*) d'autre part a été effectuée dans des schémas de pyramidage séparés mais menés en parallèle par des partenaires distincts. Les schémas de pyramidage et sélection ont été construits uniformément. Deux types d'hybrides 4-voies ont été produits : des hybrides cumulant les différentes sources de résistance ciblées (rouilles ou fusariose) et des hybrides regroupant une certaine diversité élite présentant d'autres caractères d'intérêt. Ces deux types d'hybrides 4-voies ont été croisés afin d'obtenir des hybrides 8 voies cumulant à la fois les gènes/QTLs de résistance ciblés et une part de génome élite d'origine diverse. Ces hybrides 8-voies ont ensuite été fixés génétiquement par haplo-diploïdisation, permettant d'obtenir une large population d'haploïdes doublés (HD) par caractère cible.

► 2.1 - Choix des parents

Schéma Rouilles

Bien qu'il existe plus de 70 gènes de résistance à la rouille jaune recensés chez le blé tendre et tout autant à la rouille brune (McIntosh *et al.*, 2016), seulement une petite partie de ces résistances est utilisée en pratique dans les variétés cultivées.

Deux lignées, porteuses de résistance aux rouilles peu introduites dans les variétés françaises, ont été choisies comme parents pour initier le pyramidage. La première est la lignée KS91WGRC11, dérivée du rétrocroisement de Century avec une accession *Ae. tauschii* TA2450 contenant le gène de résistance à la rouille brune *Lr42*. Cette source de résistance est utilisée dans les variétés cultivées aux Etats-Unis (Martin *et al.*, 2003). La seconde lignée est la lignée TA5089 (KS11WGRC53-J) dérivée de l'accession TA5602 possédant les gènes de résistance aux rouilles *Lr57* et *Yr40*. Cette lignée possède un chromosome recombinant T5DL-5DS-5MgS composé du bras long du chromosome 5D du blé, de la plus grande partie du bras court du chromosome 5D et d'un petit segment dérivé du bras court du chromosome 5Mg d'*Ae. geniculata* portant *Lr57* et *Yr40*. Cette source de résistance est efficace contre la plupart des isolats de rouilles aux Etats-Unis et en Inde (Kuraparthi *et al.*, 2009).

Les parents à haut potentiel agronomique ont été choisis parmi les variétés présentes sur le marché français au début du projet FSOV (2012). Le premier critère a été de choisir des variétés possédant le même gène de nanisme, ici *Rht1*, afin d'observer peu de ségrégation de hauteur dans la descendance finale. Les variétés utilisées comme géniteurs ont ensuite été sélectionnées pour provenir de différents obtenteurs afin d'élargir la diversité génétique du matériel qui sera obtenu à l'issue de ce projet. Enfin, chaque variété sélectionnée était porteuse d'une caractéristique particulière, ayant un intérêt en sélection, et étant complémentaire de la résistance aux rouilles qui sera apportée par ailleurs. Les variétés choisies sont regroupées dans le tableau ci-dessous.

Variétés	Inscription	Obtenteurs	Caractéristiques
CELLULE	2012	FD	Rht1, BPS, septo +
KARILLON	2010	AO	Rht1, BPS, Pch1
PAKITO	2011	RAGT	Rht1, BPS, QTL5A
ADHOC	2011	Momont	Rht1, BP, QTL5A, froid +
SY MOISSON	2011	Syngenta	Rht1, BPS, oïdium +

La variété KARILLON est porteuse du gène de résistance au piétin verse *Pch1*. Les variétés PAKITO et ADHOC sont toutes deux porteuses du QTL5A de résistance à la fusariose de l'épi.

Schéma Fusariose

Une étude bibliographique a été réalisée pour recenser les sources de résistance et la cartographie des principaux gènes et QTLs. On peut citer plus particulièrement les revues de Buerstmayr *et al.* (2009) ou les méta-analyses réalisées par Liu *et al.* (2009). Cette compilation nous a permis de choisir 4 sources de résistances d'origines diversifiées, susceptibles d'apporter des facteurs génétiques indépendants dont le cumul permettrait d'améliorer le niveau global et/ou la durabilité de la résistance. Ces 4 sources sont :

- Sumai 3 : une variété chinoise bien connue pour porter un QTL à effet majeur sur le chromosome 3B (*Fhb1* : Anderson *et al.* 2001), ainsi que de nombreux QTLs mineurs.
- Wangshuibai : une variété chinoise possédant également un très haut niveau de résistance, avec un effet plus faible au locus *Fhb1* (autres formes alléliques), mais d'autres QTLs que Sumai3.
- Apache : La variété française qui est toujours la référence comme variété tolérante, avec des QTLs identifiés sur les chromosomes 4A, 5A, 5B et 6A (Holzapfel *et al.* 2008).
- Renan : une variété tolérante, possédant en outre des introgressions d'*Aegilops ventricosa* apportant des résistances aux rouilles et au piétin verse (*Pch1*). Elle possède des QTLs de résistance à FHB sur les chromosomes 2A, 2B, 5A et 3B, mais à un locus différent de *Fhb1* (Gervais *et al.* 2003).

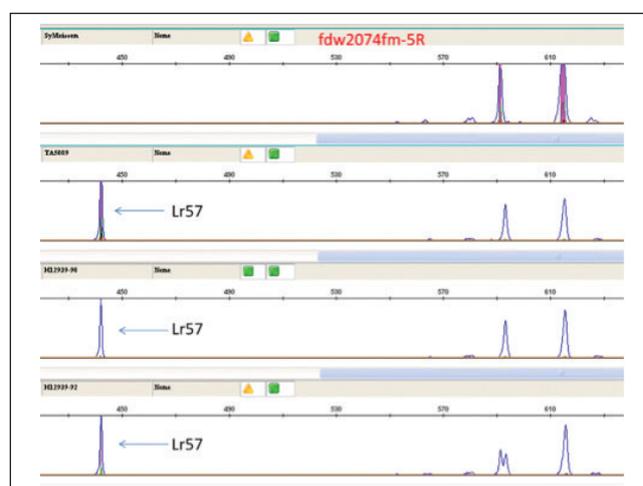
Pour réaliser des populations à base large donnant prise à la sélection génomique pour l'amélioration des caractères polygéniques (rendement, qualité...), nous avons choisi les géniteurs parmi des variétés inscrites au catalogue français, ainsi que deux lignées issues d'un programme FSOV d'introgression de diversité du génome D à partir de blés synthétiques. Les 2 lignées choisies : Resy18-6 et Resy045 présentent un excellent niveau de résistance à la septoriose.

Variétés	Inscription	Obtenteurs	Caractéristiques
AREZZO	2007	RAGT	BPS
BAROK	2009	AO	BAU
FOLKLOR	2011	AO	BPS, RU +
LYRIK	2012	AO	BPS
RESY18-6	-	INRA	Septo +
RESY045	-	INRA	Septo +
APACHE	1998	LG	BPS, Fusa +
RENAN	1990	AO	BAF, Fusa +

► 2.2 - Génotypage

Dans le schéma de pyramidage « rouilles », 4 gènes/QTLs de résistance ont été suivis, de façon ciblée, par marquage.

Sun *et al.* (2010) ont détecté les marqueurs SSR *Xwmc432* et *Xcfd15* comme liés au gène de résistance à la rouille jaune *Lr42*. La résistance se situe sur le chromosome 1Ds et les deux marqueurs se trouvent en position proximale du gène, à 0.8 cM et 1.6 cM. Ces deux marqueurs SSR ont été utilisés pour le marquage des hybrides 4-voies. Les deux marqueurs étaient totalement cohérents mais le marqueur *Xcfd15* étant parfois difficile à lire et plus éloigné du gène *Lr42*, il n'a pas été réutilisé pour la suite des étapes. En 2013, Liu *et al.* ont publié un nouveau marqueur SSR lié au gène *Lr42*. Le marqueur *Xgdm33*, situé à 13.64 cM du gène *Lr42* en position distale, permettrait de pouvoir encadrer le gène en l'utilisant conjointement avec l'un des deux autres marqueurs situés en position proximale. Cependant, ce marqueur *Xgdm33* n'a pas été utilisé dans ce projet car il a été considéré comme trop éloigné du gène à suivre. Le marqueur CAPS *XLr57/Yr40-MAS-CAPS16* a été détecté par Kuraparthi *et al.* (2009) comme lié aux gènes *Lr57/Yr40*. Il a été utilisé pour suivre les gènes *Lr57/Yr40* dans les hybrides 4-voies. Ce marqueur CAPS s'est révélé difficilement répétable et peu lisible. Un marqueur KASPAR a donc été développé en interne chez Florimond Desprez. La figure ci-dessous représente la lecture de ce marqueur KASPAR chez un individu non-porteur et chez 3 individus porteurs de la résistance conférée par les gènes *Lr57/Yr40*.



Le QTL5A a été suivi à l'aide des marqueurs SSR publiés par McCartney *et al.* (2004). Le gène majeur *Pch1*, quant-à-lui, a été suivi tout au long du programme avec un marqueur SNP développé en interne chez Florimond Desprez, avant ce projet FSOV.

Dans le schéma de pyramidage « fusariose », 2 gènes/QTLs ont principalement été suivis par marquage.

Pour le gène majeur *Fhb1*, nous avons utilisé des marqueurs SNP développés dans des séquences consensus d'EST localisées à l'intérieur ou proche de l'intervalle [Xgwm533 - Xgwm493] (Bernardo *et al.*, 2012).

Un set de huit SNP a finalement été choisi, dont l'un a été dessiné dans une séquence de 4.8kb couvrant Umn10 (Choulet, com perso 2013). Parmi ces SNP, dans la population Ning7840 X Clark, 6 sont associés au QTL de résistance à la maladie avec des LOD de valeur comprise entre 1.76 et 11.62 et des pourcentages de variabilité expliquée compris entre 11 et 54%. L'un d'entre eux est associé à une protéine identifiée comme possédant une fonction de défense. On notera que le comportement bi-allélique des marqueurs SNP, la possibilité du haut débit et le marquage au plus près de la fonction sont des propriétés particulièrement intéressantes pour la SAM.

Des marqueurs SSR ont été utilisés pour suivre le QTL *Fhb5*, sur le bras court du chromosome 5A (source Wangshuibai).

Enfin, les différentes populations HD produites à la fin de chaque schéma de pyramidage ont été génotypées avec la puce SNP 35K Axiom® (Axiom® Wheat Breeder's Genotyping Array) afin d'obtenir un génotypage dense avec des marqueurs anonymes répartis sur l'ensemble du génome du blé tendre.

► 2.3 - Sélection génomique

Des équations de prédiction ont été développées par les partenaires, notamment dans le cadre du projet PIA Breedwheat (www.breedwheat.fr). En utilisant 5 à 10 000 marqueurs choisis parmi les 200 000 SNP polymorphes dans une population de type « breeding », la qualité des prédicteurs (appelés GEBV), estimée par validation croisée, est de l'ordre de 0.6 à 0.7 pour des caractères comme le rendement, la teneur en protéines ou le score fusariose. Pour des raisons de coût, c'est une autre puce SNP qui a été utilisée dans ce projet. Néanmoins, en utilisant les 5 900 marqueurs communs aux 2 puces, la reliabilité des prédictions reste correcte (# 0.5) et pourra sans doute être améliorée par l'utilisation de méthodes d'inférence. Bien que les populations pyramide comportent des géniteurs génétiquement éloignés de la population de référence utilisée pour l'entraînement du modèle de sélection génomique, la présence de plus de 50% de géniteurs « élites » nous rend confiant dans la portabilité des équations et la précision des prédicteurs.

Ces données de génotypage haut-débit seront disponibles aux partenaires dès le début de l'année 2017 et les premiers modèles pourront ainsi être testés rapidement.

► 2.4 - Phénotypage

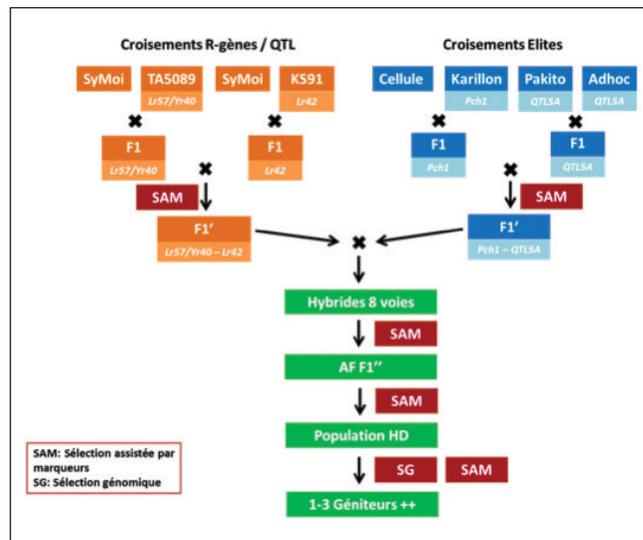
Une fois les populations HD produites, celles-ci seront phénotypées en 2016-2017 en pépinières pour des caractères de développement et de résistance aux maladies. Ces premiers résultats permettront d'analyser notamment la résistance réelle aux rouilles du matériel produit en conditions naturelles.

La récolte ainsi obtenue permettra de semer en octobre 2017 des premiers essais mono-répétition en 3 lieux. Ces essais permettront d'évaluer le rendement des HD et de valider les résultats obtenus par sélection génomique.

3. Résultats et Discussion

Schéma Rouilles

Le schéma de pyramidage des résistances aux rouilles effectué est présenté dans la figure ci-dessous.



Le premier croisement pyramidal à 4 parents (en orange sur la figure) avait pour objectif principal le transfert des résistances aux rouilles (*Lr57/Yr40* et *Lr42*). 220 grains F1' (hybrides 4-voies) ont été obtenus en février 2013.

Un second croisement pyramidal à 4 parents (en bleu sur la figure) avait pour objectif le mélange de fonds génétiques élites. En parallèle, deux gènes/QTLs de résistance ont été suivis (*QTL5A* et *Pch1*). 189 grains F1' (hybrides 4-voies) ont été obtenus en février 2013. Les grains F1' n'étaient pas tous porteurs des gènes d'intérêt et une sélection assistée par marqueurs (SAM) a donc dû être effectuée. 33 plantes étaient porteuses à la fois du gène *Lr42* et des gènes *Lr57/Yr40* à l'état hétérozygote. 43 plantes étaient porteuses à la fois du gène *Pch1* et du *QTL5A* à l'état hétérozygote.

Les plantes F1' issues de chaque croisement 4-voies et sélectionnées par SAM ont été croisées entre-elles en juin 2013. 178 croisements ont pu être réalisés. A l'issue de ces croisements, 2122 grains F1'' (hybrides 8-voies) ont été récoltés en août 2013. Ces individus ont été marqués pour les gènes/QTL de résistance *Lr42*, *Lr57/Yr40*, *Pch1* et *QTL5A* et sélectionnés. Au total, seulement 97 plantes étaient porteuses de l'ensemble des gènes/QTLs à l'état hétérozygote. Si l'on avait décidé de produire des HD directement à partir des 97 plantes possédant les 4 gènes/QTLs de résistance, théoriquement on aurait pu espérer obtenir 500 HD dont uniquement 1/16^{ème} auraient été porteurs des 4 gènes/QTL, soit seulement 30 HD environ. Le nombre final d'HD disponibles pour la suite du programme étant trop faible, il a été décidé d'effectuer un cycle d'autofécondation supplémentaire à partir des hybrides 8-voies, avant la production des HD, afin de permettre de fixer les gènes/QTL majeurs à l'état homozygote. Les 97 plantes F1'' ont donc été autofécondées en juillet 2014 et 6122 grains issus de l'autofécondation des hybrides 8-voies ont été récoltés et marqués pour les 4 gènes/QTL de résistance. 67 plantes ont été sélectionnées comme potentiellement porteuses des 4 gènes/QTL de résistance à l'état homozygote.

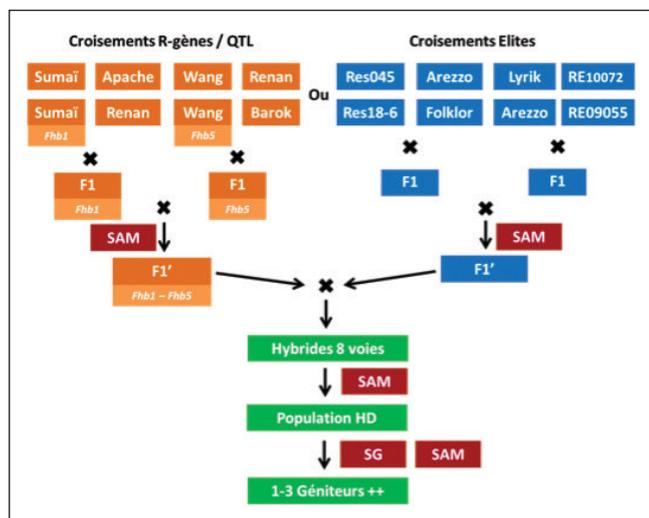
A partir de ces 67 plantes, une production d'HD a été initiée au début de l'année 2015. En août 2016, 695 lignées HD ont été produites cumulant des gènes de résistance aux rouilles (*Lr42* et *Lr57/Yr40*) et 2 gènes/QTL de résistance à d'autres maladies d'intérêt (*Pch1* et *QTL5A*).

Ces 695 lignées HD sont en cours de génotypage Axiom au fin d'année 2016 et devraient être sélectionnées par sélection génomique vers mi-2017.

Schéma Fusariose

Le schéma de pyramidage des résistances à la fusariose effectué est présenté dans la figure ci-contre.

Pour la partie gauche du plan de croisement, 127 et 83 grains F'1 ont été produits respectivement pour chaque hybride double. Après marquage *Fhb1* et *Fhb5*, 20 et 10 plantes F'1 R-gène ont été croisées avec des F'1 élite.



Au total, 950 grains hybrides 8 voies ont été obtenus (500 et 450). Après un tri sur les marqueurs de *Fhb1*, *Fhb5* et *Rht1/2*, 221 plantes mères ont été sélectionnées, 162 du croisement (Sumaï3/Apache //Wangshuibai/Renan)////(Resy045/Arezzo//Lyrik/RE10072) et 59 du croisement (Sumaï3/Renan//Wangshuibai /Barok)////(Resy18-6/Folklor//RE09055/Arezzo). Celles-ci ont été utilisées au printemps 2015 pour la fixation de lignées recombinantes par haplo-diploïdisation (méthode Zea).

Malheureusement, un certain nombre de ces plantes hybrides 8 voies ont présenté un phénomène de nécrose hybride, connu pour apparaître en particulier dans les croisements entre le pool européen et le pool asiatique (photo ci-après).

Sur les plantes présentant un développement normal, 520 épis ont été prélevés, représentant un total de 19122 fleurs, qui ont donné 7955 grains d'où 2202 embryons haploïdes. 367 plantes ont été régénérées et implantées en serre après traitement à la colchicine. Au final, 238 plantes se sont révélées fertiles. Elles ont été semées pour multiplication et extraction d'ADN pour le marquage avec la puce Axiom® Wheat Breeder's Genotyping Array.



Echange des géniteurs entre les partenaires

Les GEBV pour les caractères agronomiques et la qualité du grain seront utilisées pour sélectionner, parmi les centaines de descendants porteurs des gènes et QTLs de résistance, ceux qui présentent les meilleures valeurs génétiques attendues pour le rendement et la qualité du grain. Ainsi, 10 à 20 géniteurs les plus prometteurs seront transférés aux sélectionneurs des deux partenaires dès la fin de l'été 2017.

Ces géniteurs pourront être utilisés dans leurs programmes de sélection respectifs, permettant ainsi l'apport de nouvelles sources de résistance à la fusariose et aux rouilles déjà incorporées dans un fonds génétique élite et donc une valorisation très rapide de cette diversité génétique.

Valorisation scientifique

En attendant des résultats sur l'évaluation agronomique du matériel créé, qui pourrait donner lieu à une publication scientifique comme preuve de concept d'une démarche associant SAM et sélection génomique, une communication par affiche, intitulée « Development of a new pre-breeding scheme combining marker-assisted selection and genomic selection for improving wheat disease resistance », a été proposée à la prochaine conférence IWGS (<http://iwgs2017.boku.ac.at/>).

Références bibliographiques

- Plan Ecophyto 2018 <http://agriculture.gouv.fr/le-plan-ecophyto-pour-reduire-lutilisation-des-produits-phytosanitaires-en-france>
- Anderson JA, Stack RW, Liu S, Waldron BL, Fjeld AD, Coyne C, Moreno-Sevilla BR, Mitchell J, Song QJ, Cregan PB, Frhberg RC (2001) **DNA markers for a Fusarium head blight in two wheat populations.** Theor. Appl. Genet. 102: 1164-1168
- Bernardo AN, Ma HX, Zhang DD, Bai GH (2012) **Single nucleotide polymorphism in wheat chromosome region harboring Fhb1 for Fusarium head blight resistance.** Molecular Breeding 29:477-488
- Brun H., Chèvre A.M., Fitt B.D.L., Powers S., Besnard A.L., Ermel M., Huteau V., Marquer B., Eber F., Renard M., Andrivon D., 2010. **Quantitative resistance increases the durability of qualitative resistance to Leptosphaeria maculans in Brassica napus.** New Phytologist 185, 285-299.
- Buerstmayr H, Ban T, Anderson JA (2009) **QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: A review.** Plat Breed. 128:1-26
- McCartney CA, Somers DJ, Fedak G, Cao W (2004) **Haplotype diversity at fusarium head blight resistance QTLs in wheat.** Theor Appl Genet 109:261-271
- Gervais L, Dedryver F, Morlais JY, Bosusseu V, Negre S, Bilous M, Groos C, Trottet M (2003) **Mapping quantitative trait loci for Fusarium head blight resistance in a European winter wheat.** Theor. Appl. Genet. 110:1218-1225
- Holzappel J, Voss HH, Miedaner T, Korzun V, Häberle J, Schweizer G, Mohler V, Zimmermann G, Hartl L (2008) **Inheritance of resistance to Fusarium head blight in three European winter wheat populations.** Theor. Appl. Genet. 117:1119-1128
- Ishii T, Yonezawa K (2007) **Optimization of the marker-based procedures for pyramiding genes from multiple donor lines: I. Schedule of crossing between the donor lines.** Crop Sci 47:537-546
- Ishii T, Hayashi T, Yonezawa K (2008) **Optimization of the marker-based procedures for pyramiding genes from multiple donor lines: III. Multiple gene assemblage using background marker selection.** Crop Sci 48:2123-2131
- Kuraparthi V, Sood S, See DR, Gill BS (2009) **Development of a PCR Assay and Marker-Assisted Transfer of Leaf Rust and Stripe Rust Resistance Genes Lr57 and Yr40 into Hard Red Winter Wheats.** Crop Science 49:120-126
- Liu S, Hall MD, Griffey CA, McKendry AL (2009) **Meta-analysis of QTL associated with Fusarium Head blight resistance in wheat.** Crop Science 49: 1955-1968
- Liu Z, Bowden RL, Bai G (2013) **Molecular Markers for Leaf Rust Resistance Gene Lr42 in Wheat.** Crop Science 53:1566-1570
- Martin, J.N., B.F. Carver, R.M. Hunger, and T.S. Cox (2003) **Contributions of leaf rust resistance and awns to agronomic and grain quality performance in winter wheat.** Crop Science 43:1712-1717.
- McIntosh R.A., Dubcovsky J., Rogers J., Morris C., Appels R., Xia X. 2010: **Catalogue of Gene Symbols for Wheat: 2015-2016 Supplement.**
- Servin B, martin OC, Mezard M, Hospital F (2004) **Toward a theory of marker-assisted gene pyramiding.** Genetics 168:513-523
- Singh R.P., Hodson D.P., Jin Y., Huerta-Espino J., Kinyua M.G., Wanyera R., Njau P., Ward R.W. (2006) **Current status, likely migration and strategies to mitigate the threat to wheat production from race Ug99 (TTKS) of stem rust pathogen.** Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources 1:54
- Sun X, Bai G, Carver BF, Bowden R (2010) **Molecular Mapping of Wheat Leaf Rust Resistance Gene Lr42.** Crop Science 50:59-66