

UDC 577.2 : 58.036.5 : 633.11

Генетическое разнообразие генофонда мягкой озимой пшеницы по аллелям связанного с морозоустойчивостью микросателлитного локуса *Xgwm182-5D*

М. В. Галаева, В. И. Файт, Ю. М. Сиволап

Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения
Овидиопольская дорога, 3, Одесса, Украина, 65036

mariaGal1@rambler.ru

Цель. Идентификация сортов озимой мягкой пшеницы разных регионов по локусу *Xgwm182-5D*. *Методы.* Полимеразная цепная реакция, гель-электрофорез. *Результаты.* По аллелям локуса *Xgwm182-5D* идентифицированы генотипы 180 сортов озимой мягкой пшеницы различных селекционных центров Украины и России. У сортов изученного набора выявлены пять аллелей указанного локуса: 162, 165, 167, 169 и 174 п. н. Отмечено большее распространение аллеля 165 п. н. в наборах сортов всех регионов. Аллель 162 п. н. обнаружен лишь в наборах сортов Юга Украины и Северного Кавказа (20 и 4 % соответственно). Аллель 169 п. н. присутствует исключительно у сортов Западной Сибири и Поволжья. *Выводы.* Различия в частотах встречаемости аллелей локуса *Xgwm182-5D* могут быть обусловлены селекционной и адаптивной ценностью отмеченных аллелей для условий определенных регионов.

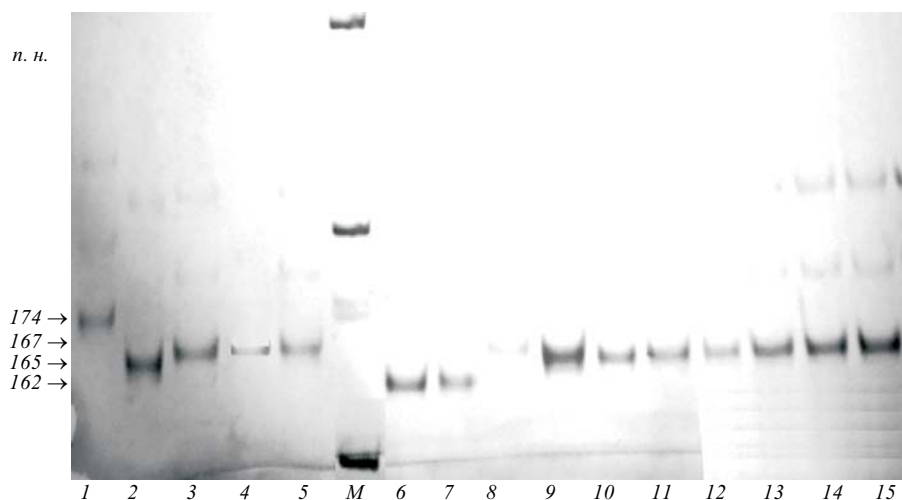
Ключевые слова: пшеница озимая, морозоустойчивость, микросателлитные локусы.

Введение. Зимо- и морозоустойчивость – одни из основных признаков растений, определяющих уровень стабильности урожая озимых культур и ареал распространения конкретного сорта. В суровые зимы на территории Украины наблюдается значительная гибель посевов озимой пшеницы и даже на целевших площадях выявляются различные повреждения, приводящие к резкому снижению урожая [1]. Поэтому создание сортов озимой мягкой пшеницы с высоким генетически обусловленным уровнем морозостойкости – одна из важнейших задач селекции в Украине [2, 3].

Привлечение молекулярно-генетических методов помогает эффективно идентифицировать и отбирать генотипы с необходимыми генами для дальнейшего использования в селекционных программах [4]. Создание набора ДНК-маркеров к генам

морозоустойчивости сортов озимой пшеницы, выращиваемых в Украине, позволит отбирать растения с необходимыми генами на ранних этапах селекции.

На уровень морозоустойчивости влияют гены как минимум 10 из 21 пары хромосом озимой мягкой пшеницы. Главные гены морозоустойчивости локализованы на хромосомах пятой гомеологической группы [5]. С помощью молекулярных маркеров (методами полиморфизма длин рестрикционных фрагментов – ПДРФ или полимеразной цепной реакции – ПЦР) локализованы гены морозоустойчивости *Fr-A1* и *Fr-A2* на хромосоме 5A, *Fr-B1* – на 5B и *Fr-D1* – на 5D [6–9]. Большая часть маркеров к указанным генам получена с использованием достаточно трудоемкого ПДРФ-анализа; ПЦР-маркеры оказались неэффективными для сортов украинской селекции. Возникла необходимость в поиске новых ПЦР-маркеров к генам морозоустойчивости у украинских сортов пшеницы. В предыдущих



Электрофореграмма продуктов амплификации ДНК сортов озимой пшеницы по локусу *Xgwm182-5D*: М – маркер молекулярной массы *pUC19/MspI*; 174 п. н.: 1 – Сирена одесская; 165 п. н.: 2 – Одесская 16; 9 – Лузановка одесская; 10 – Зирка; 11 – Застава одесская; 12 – Одесская полукарликовая; 13 – Панна; 14 – Струмок; 15 – Заможність; 167 п. н.: 3 – Николия; 4 – Червона; 5 – Ватажок; 8 – Турунчук; 162 п. н.: 6 – Одесская красноколосая; 7 – Обрий

исследованиях мы выявили связь аллельных различий по локусу *Xgwm182-5D* с морозоустойчивостью рекомбинантно-инбредных линий озимой пшеницы Лузановка одесская/Одесская красноколосая. Линии с аллелем локуса *Xgwm182-5D* размером 165 п. н. морозоустойчивого сорта Лузановка одесская характеризуются более высоким уровнем морозоустойчивости, чем линии с аллелем 162 п. н. менее морозоустойчивого сорта Одесская красноколосая [10].

Цель настоящего исследования – идентификация сортов озимой мягкой пшеницы разных регионов по локусу *Xgwm182-5D*.

Материалы и методы. Материалом исследования служили 180 сортов озимой мягкой пшеницы разного географического происхождения из рабочих коллекций Селекционно-генетического института. Среди изученных генотипов 152 сорта из различных селекционных центров Украины, 26 сортов из России и два сорта из Франции.

ДНК выделяли из сухих зерен и 3–5-дневных проростков [11]. Анализировали ДНК 10 зерен или проростков каждого сорта. ПЦР с направленными праймерами к микросателлитному локусу *Xgwm182-5D*, локализованному на хромосоме 5D, проводили на термоциклере «Терцик» («ДНК-технология», РФ). Реакционная смесь содержала буфер (67 мМ трис-НCl, pH 8,8, 16,6 мМ (NH₄)₂SO₄, 1,5 мМ MgCl₂, 0,01 % твин-20); dNTP в концентрации 0,2 мМ каждый; 0,25 мкМ праймер, 20 нг ДНК, 1 ед. Taq-полимеразы. Условия реакции (35 циклов): денатурация при температуре 94 °С – 30 с (начальная – 2 мин),

отжиг – 60 °С, 30 с; элонгация – 72 °С, 1 мин; заключительная элонгация – 4 мин. Продукты амплификации фракционировали в 12 %-м полиакриламидном геле в 1 × TBE. Электрофорез проводили при постоянном напряжении 500 В в аппарате для вертикального гель-электрофореза «Hoefler Scientific Instruments» (США). Гели окрашивали нитратом серебра согласно протоколу Silver sequence TMDNA Sequencing System Technical Manual («Promega», США). Видеоизображение и размеры амплифицированных фрагментов получали с помощью видеосистемы «Image Master VDS» («AmershamPharmacia Biotech», США). Калибровку молекулярной массы выполняли относительно стандарта *pUC19/MspI*.

Статистическую обработку полученных результатов проводили по общепринятым методикам [12].

Результаты и обсуждение. Микросателлитный анализ с использованием направленных праймеров к локусу *Xgwm182-5D* позволил выявить у сортов изученного набора пять различных аллелей данного локуса: 162, 165, 167, 169 и 174 п. н. (табл. 1). На рисунке представлена электрофореграмма результатов ПЦР-анализа ряда сортов по локусу *Xgwm182-5D*. Большинство сортов (87,1 %) были линейными с присутствием одного из вышеуказанных аллелей локуса *Xgwm182-5D*. Некоторые сорта (23 образца, или 12,9 %) оказались популятивными. Все они включали два генотипа по аллелям локуса *Xgwm182-5D* с различным соотношением. В зависимости от сочетания аллелей популятивные сорта можно распределить на шесть групп. В каждой из них частота встречаемости сортов была невысокой и составля-

Таблица 1

Генотипы сортов озимой мягкой пшеницы различного географического происхождения по аллелям локуса *Xgwm182-5D*

Группа	Аллель, п. н.	n	$p \pm S_p, \%$	Сорт
1	162	16	$8,9 \pm 2,1$	Господыня, Дюк, Золотава, Кирия, Красуня одесская, Обрий, Одесская 265, Одесская 266, Одесская красноколосая, Оксана, Ольвия, Отаман, Супутныця, Тира, Хвыля, Херсонская остистая
2	165	111	$61,6 \pm 3,6$	Аврора, Багратионовская, Банатка, Безостая 1, Белоснежка, Белоцерковская полукарликовая, Богдана, Бригантина, Бриз, Бунчук, Буревестник одесский, Вымпел одесский, Годувальница одесская, Гостианум 237, Гурт, Дальницкая, Дарунок, Диканька, Доброчин, Довира, Донецкая 48, Донецкая полукарликовая, Донской сюрприз, Едність, Заграва одесская, Заможність, Застава одесская, Зирка, Злагода, Золотоколоса, Ивановская остистая, Ильичевка, Истина одесская, Кавказ, Казанская 237, Кияна, Кнопа, Коломак 3, Колумбия, Кооператорка, Краснодарская 99, Крыжынка, Крымка, местная, Ластивка одесская, Лебидка одесская, Лесостепка 75, Либидь, Лиона, Лузанівка одесская, Лытанівка, Лютесценс 17, Мирич, Мироновская 33, Мироновская 65, Мироновская 808, Мироновская остистая, Мироновская юбилейная, Мирхард, Нагорода одесская, Одесская 117, Одесская 12, Одесская 130, Одесская 16, Одесская 162, Одесская 26, Одесская 267, Одесская 3, Одесская 51, Одесская 66, Одесская безостая, Одесская остистая полуинтенсивная, Одесская полукарликовая, Омская 2, Омская 3, Панна, Пересвет, Повага, Подолянка, Порада, Прибой, Прокофьевка, Ренан, Северная заря, Символ одесский, Скифянка, Скороспелка 36, Служныця одесская, Снигурка, Спартанка, Спиванка, Станичная, Степова, Струмок, Украинка, Украинка 0246, Украинка полтавская, Ульяновка, Фаворитка, Фарандоль, Федорівка, Фрегат одесский, Харьковская 105, Харьковская 96, Херсонская безостая, Хыст, Чайка, Эритропермум 127, Эритропермум 15, Юбилейная 75, Южная заря, Юннат одесский
3	167	7	$3,9 \pm 1,4$	Ватажок, Мироновская 27, Никония, Полевик, Скороспелка 1, Турунчук, Червона
4	169	4	$2,2 \pm 1,1$	Альбидум 12, Альбидум 114, Казанская 285, Омская озимая
5	174	19	$10,6 \pm 2,3$	Антоновка, Благодарка одесская, Володарка, Дриада 1, Жайвир, Журавка одесская, Зорепад, Киевская 8, Княгиня Ольга, Куяльник, Леля, Небокрай, Одесская 132, Победа 50, Сирена одесская, Скарбныця, Эпоха одесская, Якорь одесский, Ятрань 60
6	162 + 165*	7	$3,9 \pm 1,4$	Косовица (0,6 : 0,4)**, Лелека (0,7 : 0,3), Мисия одесская (0,4 : 0,6), Одесская 133 (0,5 : 0,5), Одом (0,3 : 0,7), Подяка (0,5 : 0,5), Прометей (0,5 : 0,5)
7	162 + 167*	1	$0,6 \pm 0,6$	Юна (0,5 : 0,5)
8	162 + 174*	7	$3,9 \pm 1,4$	Альбатрос одесский (0,5 : 0,5), Апогей Луганский (0,5 : 0,5), Запорука (0,5 : 0,5), Знахідка одесская (0,5 : 0,5), Любава одесская (0,5 : 0,5), Селянка (0,5 : 0,5), Фантазия одесская (0,5 : 0,5)
9	165 + 174*	5	$2,8 \pm 1,2$	Белоцерковская 198 (0,5 : 0,5), Виктория одесская (0,4 : 0,6), Голубка одесская (0,5 : 0,5), Одесская 120 (0,6 : 0,4), Херсонская 99 (0,5 : 0,5)
10	165 + 169*	1	$0,6 \pm 0,6$	Сибирская нива (0,5 : 0,5)
11	167 + 169*	2	$1,1 \pm 0,8$	Омская 4 (0,5 : 0,5), Омская 5 (0,5 : 0,5)

Примечание. *В сорте присутствуют два генотипа с разными аллелями локуса *Xgwm182-5D*; **соотношение частот генотипов внутри конкретного сорта.

ла от 0,6 (сочетание аллелей 162 и 167 или 165 и 169 п. н.) до 3,9 % (162 и 174 п. н.).

Таким образом, все исследуемые сорта можно распределить на 11 групп, пять из которых характеризуются наличием одного аллеля локуса *Xgwm182-5D*, а шесть представлены неоднородными сортами с различным сочетанием двух аллелей вышеуказанного локуса.

Преимущественное распространение какого-либо из аллелей локуса *Xgwm182-5D* в изученной выборке сортов может свидетельствовать о его селекционном и/или адаптивном превашировании для конкретных экологических условий. В общем наборе сортов и в наборах сортов отдельных регионов с большей частотой встречается аллель 165 п. н. (табл. 2). Частота данного аллеля в различных реги-

Таблица 2

Частоты аллелей локуса *Xgwm182-5D* в общем наборе сортов и в наборах сортов разных регионов Украины и России

Аллель, п. н.	Общий набор		Юг Украины		Север Украины		Поволжье, Западная Сибирь		Северный Кавказ	
	<i>n</i>	<i>p</i> ± <i>S_p</i> , %	<i>n</i>	<i>p</i> ± <i>S_p</i> , %	<i>n</i>	<i>p</i> ± <i>S_p</i> , %	<i>n</i>	<i>p</i> ± <i>S_p</i> , %	<i>n</i>	<i>p</i> ± <i>S_p</i> , %
162	23,5	13 ± 2,5	22,52	20 ± 3,8	0	0 ± 3,3	0	0 ± 5,9	0,5	4 ± 5,8
165	117,5	65 ± 3,6	65,5	58 ± 4,6	22,5	83 ± 7,2	7,5	54 ± 13,3	9	75 ± 12,5
167	8,5	5 ± 1,6	5	4 ± 1,9	1	4 ± 3,6	1	7 ± 6,9	1,5	13 ± 9,5
169	5,5	3 ± 1,3	0	0 ± 0,9	0	0 ± 3,3	5,5	39 ± 13,1	0	0 ± 6,6
174	25,0	14 ± 2,6	20	18 ± 3,6	3,5	13 ± 6,5	0	0 ± 5,9	1	8 ± 8,0
Итого:	180	100	113	100	27	100	14	100	12	100

онах колеблется от 83,0 до 53,6 % и достоверно превышает таковые всех остальных аллелей в общем наборе сортов на 51–62 %, в наборе сортов Юга Украины – на 38–58 %, Севера Украины — на 70–83 % и Северного Кавказа — на 62–75 %. В наборе сортов Поволжья и Западной Сибири частота встречаемости аллеля 165 п. н. (54 %) оказалась значительно выше таковой аллелей 162, 167 и 174 п. н., но достоверно не отличалась от аллеля 169 п. н. (39 %). В то же время встречаемость аллеля 165 п. н. у сортов Севера Украины достоверно выше (на 25 %), чем у сортов Юга Украины (различия достоверны, $P < 0,01$). Различия в частотах аллеля 165 п. н. указанных двух наборов по сравнению с наборами сортов Западной Сибири, Поволжья, Северного Кавказа и двух последних между собой были недостоверными.

Наличие аллеля 165 п. н. ассоциировано с повышенной морозостойкостью мягкой пшеницы [10]. Данный аллель выявлен в генотипе сортов шедевров морозостойкости Мироновская 808 и Одесская 16. Он встречался абсолютно у всех сортов Юга Украины (СГИ – НЦНС) I–V сортосмен (1912–1975 гг.).

В генотипах сортов VI–VII сортосмен (1976–2012 гг.) выявлены новые аллели локуса *Xgwm182-5D* размером 162, 167 и 174 п. н., что связано с привлечением в селекционный процесс на юге Украины сортов из США, Мексики, Европы и других регионов.

Аллель 162 п. н. с частотой 20 % выявлен (за исключением сорта Юна, Северный Кавказ) только у сортов Юга Украины, что может свидетельствовать

о селекционной ценноости указанного аллеля для условий последнего региона. Частота встречаемости аллеля 162 п. н. в наборе сортов Северного Кавказа достоверно не отличается от нуля. В то же время аллель 162 п. н. негативно влияет на уровень морозостойкости растений пшеницы [10]. Слабоморозостойчивые сорта юга Украины Обрий, Одесская красноколосая, Ольвия и др. унаследовали аллель 162 п. н. от ярового сорта Red River (США). Возможно, привнесение в сорта одесской селекции аллеля 162 п. н. и стало причиной снижения уровня морозостойкости отмеченных сортов.

В отличие от аллеля 162 п. н. аллель 167 п. н. выявлен у сортов различных регионов. Вместе с тем, его частота в общем наборе сортов оказалась низкой (5 %) с тенденцией к увеличению от 4 % в наборе сортов Севера или Юга Украины до 13 % в наборе сортов Северного Кавказа.

Аллель 169 п. н. идентифицирован только у линейных и неоднородных сортов Западной Сибири и Поволжья с частотой 39 %, достоверно не отличающейся от таковой наиболее распространенного аллеля 165 п. н. и на 32 % превышающей частоту аллеля 167 п. н. в данном наборе. Среди сортов Украины и Северного Кавказа указанный аллель локуса *Xgwm182-5D* не обнаружен. В то же время в наборе сортов Западной Сибири и Поволжья ни одного сорта с присутствием аллелей 162 и 174 п. н. не зарегистрировано.

Частота встречаемости аллеля 174 п. н. в наборе сортов Юга Украины составляет 18 % с тенденцией к снижению в наборах сортов Севера Украины и Северного Кавказа до 13 и 8 % соответственно.

Таблица 3
Критерий соответствия χ^2 различий частот аллелей наборов разных регионов

Регион	Общий набор	Юг Украины	Север Украины	Северный Кавказ
Юг Украины	6,8			
Север Украины	5,5	7,8		
Северный Кавказ	2,8	3,7	2,35	
Западная Сибирь и Поволжье	34,3	46,6	13,8	7,1

Распределение частот аллелей локуса *Xgwm182-5D* в общем наборе, наборе сортов Юга Украины, Севера Украины и Северного Кавказа было практически идентичным (табл. 3). Критерий соответствия χ^2 различий в наборах сортов Юга Украины и общем наборе сортов равен 6,8; Севера Украины и общего набора – 5,5; Северного Кавказа и общего набора – 2,8; Севера Украины и Юга Украины – 7,8; Юга Украины и Северного Кавказа – 3,7; Севера Украины и Северного Кавказа – 2,4, что достоверно меньше $\chi_{0,05}^2 = 9,49$ при $df = 4$ для $P = 0,05$. Выборка сортов Западной Сибири и Поволжья статистически значимо отличается по частотам аллелей локуса *Xgwm182-5D* от общего набора ($\chi^2 = 34,3$), набора сортов Юга ($\chi^2 = 46,6$) и Севера Украины ($\chi^2 = 13,8$).

Указанные существенные различия данных наборов сортов в основном обусловлены отсутствием у сортов Западной Сибири и Поволжья аллелей 162 и 174 п. н., характерных для украинских сортов, и наличием нового аллеля 169 п. н., не встречающегося у исследованных сортов других регионов. Различия в распределении аллелей могут быть связаны с селекционной и адаптивной ценностью аллеля 169 п. н. для условий Западной Сибири и Поволжья и аллелей 162 и 174 п. н. – для условий Юга Украины.

Выводы. Идентифицирован аллельный состав локуса *Xgwm182-5D* у 180 сортов озимой мягкой пшеницы различного географического происхождения. Выявлены пять аллелей указанного локуса размером 162, 165, 167, 169 и 174 п. н. У сортов всех регионов чаще встречается аллель 165 п. н. (54–83 %). Аллель 162 п. н., за исключением сорта Юна, присутствует только у сортов Юга Украины, а аллель 169 п. н. – исключительно у сортов Западной Сибири и Поволжья. Выборка сортов Западной Си-

бири и Поволжья статистически значимо отличается по частотам аллелей локуса *Xgwm182-5D* от таковой общего набора и наборов сортов других регионов Украины и России. Выявленные различия сортов по частоте встречаемости аллелей могут быть обусловлены селекционной и адаптивной ценностью отмеченных аллелей для условий определенных регионов.

M. V. Galaeva, V. I. Fayt, Yu. M. Sivolap

Genetic diversity of the gene pool of bread winter wheat alleles of microsatellite locus *Xgwm182-5D* associated with frost resistance

Plant Breeding and Genetics Institute – National Center of Seed and Cultivar Investigations

3, Ovidiopolskaya dor., Odessa, Ukraine, 65036

Summary

Aim. Identification of winter wheat varieties from different regions at *Xgwm182-5D* locus. **Methods.** Polymerase chain reaction (PCR), gel-electrophoresis. **Results.** 180 genotypes of winter wheat varieties from Ukraine and Russia selection centers are identified by the locus *Xgwm182-5D*. There were detected five alleles of this locus, namely 162, 165, 167, 169 and 174 bp. Allele 165 bp was noted to be more common in the sets of investigated varieties in all regions. Allele 162 bp was identified only in the sets of varieties of Southern Ukraine and North Caucasus (20 % and 4 %, respectively). Allele 169 bp was detected only in varieties of Western Siberia and Volga region. **Conclusions.** The differences in frequencies of locus *Xgwm182-5D* alleles may be due to adaptive and breeding value of these alleles for the conditions of certain regions.

Keywords: winter wheat, frost resistance, microsatellite loci.

M. V. Galaeva, V. I. Fayt, Yu. M. Sivolap

Генетичне розмаїття генофонду м'якої озимі пшениці за алелями пов'язаного з морозостійкістю мікросателітного локусу *Xgwm182-5D*

Резюме

Мета. Ідентифікація сортів озимі м'якої пшениці різних регіонів за локусом *Xgwm182-5D*. **Методи.** Полімеразна ланцюгова реакція, гель-електрофорез. **Результати.** За алелями локусу *Xgwm182-5D* ідентифіковано генотипи 180 сортів озимі м'якої пшениці різних селекційних центрів України та Російської Федерації. У сортів вивченого набору виявлено п'ять алелів зазначеного локусу: 162, 165, 167, 169 і 174 п. н. Відзначено більше поширення алеля 165 п. н. у наборах сортів усіх регіонів. Алель 162 п. н. виявлено лише в наборах сортів Півдня України і Північного Кавказу (20 і 4 % відповідно). Алель 169 п. н. присутній виявляється у сортів Західного Сибіру і Поволжя. **Висновки.** Відмінності в частотах зустрічальності алелів локусу *Xgwm182-5D* можуть бути обумовлені селекційною і адаптивною цінністю зазначених алелів для умов певних регіонів.

Ключові слова: озима пшениця, морозостійкість, мікросателітні локуси.

REFERENCES

1. *Lytvynenko N., Lyfenko S., Druzyak V., Druzyak V.* Influence of crop terms and sublethal winter temperatures upon a survival and productivity of winter wheat // *News of Agrarian Sciences.*—2004.—N 5.—P. 27–31.
2. *Lyfenko S. Ph.* Some patterns of inheritance of frostresistance in winter wheat hybrids // *The ways of creating of initial material for breeding of cereal crops.*—Odessa: PBGI, 1976.—Vol. 14.—P. 71–86.
3. *Litvinenko M. A.* The wheat breeding and seed production department in the 100-year history of the institute // *Collected scientific articles in Ukrainian of PBGI-NCSCI.*—2012.—20 (60).—P. 11–27.
4. *Peleman J. D., van der Voort J. R.* The challenges in marker assisted breeding // *Eucarpia Leafy Vegetables: Proc. EUCARPIA Meet. on Leafy Vegetables Genetics and Breeding / Eds Th. J. L. van Hintum, A. Lebeda, D. Pink, J. W. Schut.*—Noordwijkerhout, 2003.—P. 125–130.
5. *Sutka J., Galiba G., Veisz O., Snape J.* Genetic analysis of frost resistance and its contribution to development of frost resistant cereal varieties: a review // *Plant Breeding and Seed Science.*—1997.—**41**, N 2.—P. 39–50.
6. *Galiba G., Quarrie S. A., Sutka J., Morgounov A., Snape J. W.* RFLP mapping of the vernalization (*Vrn1*) and frost resistance (*Fr1*) genes on chromosome 5A of wheat // *Theor. Appl. Genet.*—1995.—**90**.—P. 1174–1179.
7. *Snape J. W., Semikhodskii A., Fish L., Sarma R. N., Quarrie S. A., Galiba G., Sutka J.* Mapping of frost tolerance loci in wheat and comparative mapping with other cereals // *Acta Agron. Hung.*—1997.—**45**.—P. 268–270.
8. *Toth B., Galiba G., Feher E., Sutka J., Snape J. W.* Mapping genes affecting flowering time and frost resistance on chromosome 5B of wheat // *Theor. Appl. Genet.*—2003.—**107**.—P. 509–514.
9. *Vagujfalri A., Galiba G., Cattivelli L., Dubcovsky J.* The cold-regulated transcriptional activator *Cbf3* is linked to the frost-tolerance locus *Fr-A2* on wheat chromosome 5A // *Mol. Genet. Genomics.*—2003.—**269**.—P. 60–67.
10. *Galaeva M. V., Fayt V. I., Chebotar S. V., Galaev A. V., Sivolap Yu. M.* Association of microsatellite loci alleles of the group-5 chromosomes with the frost resistance of winter wheat // *Cytology and Genetics.*—2013.—**47**, N 5.—P. 261–267.
11. *Application of PCR analysis in genetic and breeding research: Scientific-method. Manual.*—Kyiv: Agrar. Nauka, 1998.—156 p.
12. *Rokitsky P. F.* *Biological statistics.*—Moscow: Kolos, 1973.—327 p.

Received 01.11.12