

УДК 577.2:58.036.5:633.11

МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ F₂ ПОПУЛЯЦИЙ ПШЕНИЦЫ МЯГКОЙ ОЗИМОЙ И ЕЕ СВЯЗЬ С АЛЛЕЛЯМИ МИКРОСАТЕЛЛИТНЫХ ЛОКУСОВ

© 2013 г. М. В. Галаева, В. И. Файт,
С. В. Чеботарь, Ю. М. Сиволап

Селекционно-генетический институт –
Национальный центр семеноведения и сортоизучения
Национальной академии аграрных наук Украины
(Одесса, Украина)

Проведена оценка морозоустойчивости четырех F₂ популяций *Triticum aestivum* Обрий/Прогресс, Эритроспермум 2917/Одесская 132, Альбидум 114/Одесская 132, Лузановка одесская/Одесская красноколосая и родительских форм при различной продолжительности первой фазы закаливания. Существенные различия по морозоустойчивости родительских сортов независимо от продолжительности первой фазы закаливания отмечены в комбинации скрещивания Лузановка одесская/Одесская красноколосая. Популяция F₂ Лузановка одесская/Одесская красноколосая проанализирована по аллелям микросателлитных локусов хромосом 5A и 5D. Установлена связь аллельных различий локусов *Xbarc 117-5A* и *Xgwm 156-5A* с уровнем морозоустойчивости растений F₂-популяции.

Ключевые слова: *Triticum aestivum* L., морозоустойчивость, микросателлитные локусы

Пшеница мягкая озимая – одна из наиболее распространенных злаковых культур в мире. Достаточный уровень зимо- и морозоустойчивости определяет стабильность урожая озимых культур и ареал распространения конкретного сорта. В суровые зимы на территории Украины наблюдается значительная гибель посевов пшеницы озимой, а на уцелевших площадях отмечены различные нелетальные повреждения растений, которые приводят к резкому снижению урожая (Литвиненко та ін., 2004). Поэтому создание сортов озимой мягкой пшеницы с высоким генетически обусловленным уровнем морозоустойчивости – одна из важных задач селекции в Украине (Лыфенко, 1976; Литвиненко, 2010; Кочмарский, 2011; Шевченко, 2012).

Адаптация растений к действию низких температур связана с изменением экспрессии

довольно большого числа генов (Guy, 1990; Thomashow, 1999; Chinnusamy et al., 2006). Большую часть данных генов можно отнести к *Cor/Lea* семейству (Thomashow, 1999). Уровень экспрессии *Cor/Lea* генов при действии низких температур коррелирует с морозоустойчивостью пшеницы и других злаков (Pearce et al., 1998; Baldi et al., 1999; Ohno et al., 2001). *Cor/Lea* гены локализованы на разных хромосомах пшеницы (Kobayashi et al., 2004). Вместе с тем, большинство из них одинаково проявляют экспрессию при низкой температуре (Quellet et al., 1998). Данный факт свидетельствует, что *Cor/Lea* гены пшеницы контролируются одними и теми же регуляторными генами.

Одними из первых в каскадный механизм формирования морозоустойчивости включаются гены *Cbf* семейства (Gilmour et al., 2004). *Cbf*-гены кодируют белки – факторы транскрипции генов семейств *Cor*, *Lea* и др. СBF-белки узнают специфические регуляторные элементы (CRT/DRE) в промоторной зоне своих целевых генов и индуцируют их экспрессию (Xue, 2002). СBF-опосредованный холодоустойчивый механизм *Arabidopsis thaliana* (L.)

Адрес для корреспонденции: Галаева Мария Вячеславовна, Селекционно-генетический институт – Национальный центр семеноведения и сортоизучения НААН Украины, Овидиопольская дорога, 3, Одесса, 65036, Украина; e-mail: mariagall1@rambler.ru

Heynh. оказался консервативным для однодольных и двудольных растений, включая рапс, томаты, пшеницу и рожь (Jaglo et al., 2001; Hsieh et al., 2002).

По данным ряда авторов, *Fr*-локус, в свою очередь, играет главную роль в регуляции экспрессии *Cbf*-генов пшеницы (Takumi et al., 2005). Кластер из 11 *Cbf*-генов картирован на хромосоме 5A *Triticum monococtum* L. на расстоянии 0,8 сМ от гена морозоустойчивости *Fr-A^m2* (Knox et al., 2008). *Cbf*-гены ячменя расположены на 5HL хромосоме близко к гену *Fr-H2* (Galiba et al., 2009; Kobayashi et al., 2005). Предполагают, что у пшеницы мягкой *Cbf*-гены находятся на хромосомах пятой гомеологической группы рядом с генами морозоустойчивости *Fr*.

Привлечение молекулярно-генетических методов помогает идентифицировать и отбирать в процессе селекции генотипы с необходимыми генами. Использование указанных методов позволяет выявить специфические фрагменты ДНК, тесно сцепленные с определенными генами морозоустойчивости. С помощью молекулярных маркеров (полимеразная цепная реакция, полиморфизм длин рестрикционных фрагментов) на длинных плечах хромосом пятой гомеологической группы локализованы главные гены морозоустойчивости, а именно, гены *Fr-A1* и *Fr-A2* на хромосоме 5A, *Fr-B1* – на 5B и *Fr-D1* – на 5D (Galiba et al., 1995; Snape et al., 1997; Toth et al., 2003; Vaguifalvi et al., 2003). Большая часть маркеров к указанным генам была получена с помощью достаточно трудоемкого ПДРФ-анализа, а ПЦР-маркеры (Toth et al., 2003) не были эффективными для сортов украинской селекции. Возникла необходимость в поиске новых ПЦР маркеров к генам морозоустойчивости у украинских сортов пшеницы.

Цель настоящего исследования – анализ F_2 популяций озимой мягкой пшеницы по аллелям микросателлитных (МС) локусов хромосом 5A и 5D и оценка связи аллельных различий МС-локусов с морозоустойчивостью пшеницы.

МЕТОДИКА

В качестве исходного материала использовали четыре F_2 популяции: Обрий/Прогресс, Эритроспермум 2917/Одесская 132, Альбидум 114/Одесская 132, Лузановка одесская/Одесская красноколосая, полученные от скрещивания чистых линий (потомств индивидуальных отборов) различающихся по морозоустойчивости сортов пшеницы мягкой озимой

Обрий, Прогресс, Эритроспермум 2917, Одесская 132, Альбидум 114, Лузановка одесская, Одесская красноколосая (Файт, 2005).

Оценку морозоустойчивости родительских сортов озимой пшеницы и популяций F_2 проводили на стадии проростков путем прямого промораживания при -12°C и двух вариантах продолжительности первой фазы закаливания: 12 и 24 сут.

Пластмассовые площадки размером 22 x 13 x 3 см наполняли вермикулитом слоем 1 см, на котором раскладывали семена родительских сортов и F_2 . Зерна располагали на расстоянии 1 см от стенки площадки, друг от друга в ряду и 2 см между рядами. Всего на площадку было 11 рядов по 12 зерен в ряду. В каждой площадке высевали по 2-3 ряда каждого из родителей (один в центре и 1-2 с краю) и 5-7 рядов F_2 . Сверху семена засыпали слоем вермикулита 1 см, поливали и помещали в термостат при температуре $+20^{\circ}\text{C}$ для прорастания. После появления всходов, согласно методике проростки выращивали в течение пяти суток при комнатной температуре (Феоктистов та ін., 2006). Пятидневные проростки размещали в низкотемпературной камере КНТ-1 для прохождения первой фазы закаливания при $+2^{\circ}\text{C}$ и круглосуточном освещении в течение 12 суток и 24 сут. Вторую фазу закаливания проводили без освещения при температуре -6°C в течение трех суток. После постепенно снижали температуру по градусу в час до температуры промораживания (-12°C). Промораживали растения в течение 24 час. После промораживания температуру повышали со скоростью два градуса в час до полного оттаивания проростков. Проростки отращивали в течение 15 сут в лабораторных условиях с последующим подсчетом живых и погибших растений. За критерий морозоустойчивости принимали отношение количества живых растений после промораживания к общему их количеству после всходов (процент живых растений).

Перед помещением пятидневных проростков на закаливание с каждого индивидуального растения родительских сортов и F_2 популяции срезали небольшой (0,5 см) фрагмент листа для последующего выделения ДНК с помощью СТАВ-буфера (Использование ..., 1998). ПЦР с направленными праймерами проводили на термоциклере «Терцик» («ДНК-технология», Россия). Реакционная смесь содержала буфер (67 мМ трис-НСl рН 8,8; 16,6 мМ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 1,5 мМ MgCl_2 ; 0,01 % Tween-20); 0,2 мМ каждого dNTP; 0,25 мкМ праймера; 20 нг ДНК; 1 ед. Taq-полимеразы. Условия ре-

МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ F₂ ПОПУЛЯЦИЙ ПШЕНИЦЫ

Таблица 1. Морозоустойчивость популяций F₂ и родительских сортов (P₁, P₂) при продолжительности первой фазы закаливания 12 и 24 суток, % живых растений

Гибридная комбинация	Продолжительность закаливания, сут	P ₁	P ₂	НСР _{0,05}	F ₂
Обрий/Прогресс	12	30	50	-	72
	24	13	41	18	33
	НСР _{0,05}	17	-		9
Эритроспермум 2917/Одесская 132	12	22	39	-	17
	24	63	64	-	55
	НСР _{0,05}	20	19		10
Альбидум 114/Одесская 132	12	53	39	-	27
	24	24	64	17	65
	НСР _{0,05}	21	19		10
Лузановка одесская/Одесская красноколосая	12	67	29	22	44
	24	74	43	21	40
	НСР _{0,05}	-	-		-

акции – 35 циклов: денатурация при 94°C – 30 с (начальная – 2 мин), отжиг при 55, 58, 60, 62°C (в зависимости от праймеров) – 30 с, элонгация при 72°C – 1 мин, заключительная элонгация – 4 мин. Анализ ДНК сортов проводили с помощью праймеров к микросателлитным локусам, локализованным на хромосомах пятой группы: *Xgwm 156-5A*, *Xwmc 110-5A*, *Xwmc 96-5A*, *Xbarc 186-5A*, *Xbarc 117-5A*, *Xbarc 330-5A*, *Xbarc 319-5A*, *Xbarc 165-5A*, *Xgwm 190-5D*, *Xgwm 583-5D*, *Xgwm 212-5D*, *Xgwm 182-5D*, *Xbarc 93-5D*, *Xbarc 320-5D* и *Xbarc 286-5D*. Растения F₂ популяций анализировали по некоторым из вышеуказанных локусов.

Продукты амплификации фракционировали в 2 % агарозном геле и 12 % полиакриламидном геле в 1хТВЕ. Электрофорез проводили при постоянном напряжении 500 В в аппарате для вертикального гель-электрофореза «Hoefel Scientific Instruments» (США). Гели окрашивали нитратом серебра согласно Silver sequence TMDNA Sequencing System Technical Manual («Promega», США). Видеоизображение и размеры амплифицированных фрагментов получали с помощью видеосистемы «ImageMaster VDS» («AmershamPharmaciaBiotech», США). Калибровку молекулярной массы проводили при использовании стандарта pUC 19/MspI.

Статистическую обработку полученных результатов проводили согласно методикам (Рокицкий, 1973; Стельмах, 1973).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для картирования локусов сложных количественных признаков (QTL) используется разнообразный генетический материал: рекомбинантно-инбредные и рекомбинантно-

замещенные линии, набор линий-дигаплоидов и F₂-картирующие популяции (Snape et al., 2001; Терновская, Вдовиченко, 2003). С использованием рекомбинантно-инбредных и рекомбинантно-замещенных линий на хромосомах пятой гомеологической группы были локализованы QTL морозоустойчивости (*Fr* гены). Популяции F₂ широко используются для картирования ряда QTL пшеницы, в частности, морозоустойчивости и времени цветения (Sofalian et al., 2008), термоустойчивости (Barakat et al., 2011) и др. (Bullrich et al., 2002; Abouzied et al., 2012). В нашем исследовании F₂ популяции пшеницы мягкой озимой служили материалом для выявления МС-локусов, связанных с морозоустойчивостью.

На первом этапе работы проводили оценку морозоустойчивости F₂ популяций и их родительских форм. Морозоустойчивость родительских сортов (табл. 1) при продолжительности закаливания 12 суток варьировала от 22 (Эритроспермум 2917) до 67% (Лузановка одесская), а при закаливании в течение 24 сут – от 13 (Обрий) до 74% (Лузановка одесская). Вместе с тем, существенные различия по морозоустойчивости родительских сортов независимо от продолжительности первой фазы закаливания отмечены лишь в комбинации скрещивания Лузановка одесская/Одесская красноколосая. Уровень морозоустойчивости сорта Лузановка одесская превышал аналогичный показатель сорта Одесская красноколосая на 38 и 31% при 12 и 24 сут закаливания, соответственно. В двух комбинациях Обрий/Прогресс и Альбидум 114/Одесская 132 различия родительских сортов достоверны только при продолжительности первой фазы закаливания 24 сут, а при закаливании в течение 12 сут разли-

Таблица 2. Генотипы сортов Лузановка одесская и Одесская красноколосая по аллелям (количество п.н.) полиморфных микросателлитных локусов хромосом 5A и 5D

Сорт	Локус				
	<i>Xbarc</i> <i>117-5A</i>	<i>Xbarc</i> <i>330-5A</i>	<i>Xgwm</i> <i>156-5A</i>	<i>Xbarc</i> <i>319-5A</i>	<i>Xgwm</i> <i>182-5D</i>
Лузановка одесская	224	104	311	218	165
Одесская красноколосая	230	106	290	206	162

чия не существенны. В четвертой комбинации скрещивания Эритроспермум 2917/Одесская 132 родительские сорта не различались по морозоустойчивости независимо от продолжительности первой фазы закаливания.

Родительские сорта в различной степени реагировали на изменение продолжительности первой фазы закаливания. У сортов Обрий и Альбидум 114 при увеличении продолжительности закаливания с 12 до 24 сут достоверно снижалась морозоустойчивость. В то же время, морозоустойчивость сортов Эритроспермум 2917 и Одесская 132 существенно возрастала при увеличении продолжительности закаливания с 12 до 24 сут. Сорта Прогресс, Лузановка одесская и Одесская красноколосая не реагировали на смену продолжительности закаливания, хотя можно отметить тенденцию к уменьшению морозоустойчивости у первого и ее повышение у двух вторых с увеличением продолжительности закаливания. Соответственно, отмечали существенное снижение уровня морозоустойчивости F_2 популяции Обрий/Прогресс на 39% при увеличении продолжительности закаливания с 12 до 24 сут и, наоборот, увеличение морозоустойчивости F_2 популяций Эритроспермум 2917/Одесская 132 и Альбидум 114/Одесская 132 на 38% в обеих популяциях при увеличении продолжительности закаливания. Морозоустойчивость F_2 популяции Лузановка одесская/Одесская красноколосая, как и родительских сортов, не зависела от продолжительности закаливания.

Наличие существенных различий между родителями, независимо от продолжительности закаливания, и отсутствие реакции родителей и F_2 популяции на продолжительность закаливания послужило основанием выбора комбинации скрещивания Лузановка одесская/Одесская красноколосая для дальнейших молекулярно-генетических исследований.

При использовании праймеров к 15 МС-локусам хромосом 5A и 5D, которые могут быть сцеплены с генами морозоустойчивости *Fr* или *Cbf*-генами, выявлен полиморфизм ДНК

сортов Лузановка одесская и Одесская красноколосая по пяти из них, в частности *Xbarc 117-5A*, *Xbarc 330-5A*, *Xgwm 156-5A*, *Xbarc 319-5A* и *Xgwm 182-5D*. Генотипы сортов по аллелям (количество п.н.) полиморфных микросателлитных локусов хромосом 5A и 5D представлены в табл. 2. Продукты амплификации ДНК сортов Лузановка одесская и Одесская красноколосая при использовании праймеров к остальным четырем локусам хромосомы 5A (*Xwmc 110-5A*, *Xwmc 96-5A*, *Xbarc 186-5A*, *Xbarc 165-5A*) и шести локусам хромосомы 5D (*Xgwm 190-5D*, *Xgwm 583-5D*, *Xgwm 212-5D*, *Xbarc 93-5D*, *Xbarc 320-5D* и *Xbarc 286-5D*) были идентичными. Следовательно, указанные сорта являются носителями одного и того же аллеля по каждому из вышеуказанных 10 локусов. При различиях родительских сортов по двум аллелям одного гена и кодоминантном наследовании в F_2 должно наблюдается расщепление в соотношении 1:2:1. Следовательно, в F_2 популяции Лузановка одесская/Одесская красноколосая при ДНК анализе 298 индивидуальных растений, которые использовались в двух опытах с различной продолжительностью первой фазы закаливания (12 и 24 сут), по каждому из полиморфных микросателлитных локусов *Xbarc 117-5A*, *Xbarc 330-5A*, *Xgwm 156-5A*, *Xbarc 319-5A* и *Xgwm 182-5D* теоретически у 74,5 гомозиготных растений ожидается присутствие в генотипе аллеля сорта Лузановка одесская, у 74,5 растений – аллеля Одесской красноколосой и у 149 гетерозиготных растений аллелей обоих родителей. Соотношение расщепления по аллелям каждого из пяти локусов соответствовало теоретически ожидаемому (табл. 3). Величина критерия соответствия χ^2 варьировала от 0,06 (локус *Xbarc330-5A*) до 2,38 (локус *Xgwm182-5D*), что достоверно меньше $\chi^2_{0,05}=5,99$ для $df=2$. При этом, критерий разнородности χ^2 варьировал от 0,66 до 5,72 при $df=2$.

Сопоставление двух групп растений F_2 – носителей альтернативных аллелей (гетерозиготные растения не учитывали) по каждому из

МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ F₂ ПОПУЛЯЦИЙ ПШЕНИЦЫ

Таблица 3. Соотношение расщепления по аллелям полиморфных микросателлитных локусов популяции F₂ Лузановка одесская/Одесская красноколосая

Алели сорта	Теоретически ожидаемое	Фактически полученное				
		<i>Xbarc 117-5A</i>	<i>Xbarc 330-5A</i>	<i>Xgwm 156-5A</i>	<i>Xbarc 319-5A</i>	<i>Xgwm 182-5D</i>
Лузановка одесская	74,5	83	76	68	74	70
Обоих родителей	149,0	141	149	152	157	142
Одесская красноколосая	74,5	74	73	78	67	86
критерий соответствия χ^2		1,40	0,06	0,79	1,19	2,38
критерий разнородности χ^2		5,72	0,66	1,55	3,20	1,93

Таблица 4. Морозоустойчивость групп растений популяции F₂ Лузановка одесская/Одесская красноколосая – носителей альтернативных аллелей локусов *Xbarc 117-5A* и *Xgwm 156-5A* при продолжительности первой фазы закаливания 12 и 24 сут, % живых растений

Локус	Генотип, п.н.	12 сут			24 сут		
		живых	всего	%	живых	всего	%
<i>Xbarc 117-5A</i>	224	12	36	33	26	47	55
	230	25	45	56	9	29	31
НСР _{0,05}				22			23
<i>Xgwm 156-5A</i>	311	9	29	31	15	39	38
	290	23	39	59	13	39	33
НСР _{0,05}				23			-

пяти полиморфных локусов позволило выявить достоверные аллельные различия по морозоустойчивости для двух локусов *Xbarc 117-5A* и *Xgwm 156-5A* (табл. 4). Продолжительность первой фазы закаливания 12 сут способствовала формированию достоверно большей морозоустойчивости растений F₂ – носителей аллеля 230 п.н. локуса *Xbarc 117-5A* или аллеля 290 п.н. локуса *Xgwm 156-5A*, характерных для сорта Одесская красноколосая, на 23 и 28% по сравнению с таковой группы растений-носителей аллеля 224 п.н. или 311 п.н., соответственно, сорта Лузановка одесская. Увеличение продолжительности первой фазы закаливания с 12 до 24 сут приводило к смене рангов по морозоустойчивости генотипов-носителей альтернативных аллелей каждого из локусов. Так, морозоустойчивость растений с аллелем 224 п.н. локуса *Xbarc 117-5A* от сорта Лузановка одесская в данном варианте была существенно выше (на 24%) морозоустойчивости растений с аллелем 230 п.н. сорта Одесская красноколосая. Различия двух групп растений F₂ – носителей альтернативных аллелей локуса *Xgwm 156-5A* – при продолжительности закаливания 24 сут оказались недостоверными. Вместе с тем, отмечали тенденцию большей морозоустойчивости у группы растений – носителей аллеля 311 п.н. сорта Лузановка одесская.

Таким образом, из четырех комбинаций скрещивания пшеницы мягкой выбрана комбинация Лузановка одесская/Одесская красноколосая, которая отличалась от остальных трех популяций отсутствием реакции родителей и F₂ популяции на продолжительность закаливания и наличием существенных различий между родителями по морозоустойчивости.

При использовании праймеров к 15 МС-локусам хромосом 5A и 5D, выявлен полиморфизм ДНК сортов Лузановка одесская и Одесская красноколосая по пяти из них, в частности *Xbarc 117-5A*, *Xbarc 330-5A*, *Xgwm 156-5A*, *Xbarc 319-5A* и *Xgwm 182-5D*.

Сопоставление двух групп растений F₂ – носителей альтернативных аллелей по каждому из пяти полиморфных локусов – позволило выявить достоверные различия по морозоустойчивости для двух локусов *Xbarc 117-5A* и *Xgwm 156-5A*, что может указывать на сцепление данных локусов со специфическими генами морозоустойчивости. Продолжительность первой фазы закаливания 12 сут способствовала формированию достоверно большей морозоустойчивости растений F₂ – носителей аллелей, характерных для сорта Одесская красноколосая. Увеличение продолжительности первой фазы закаливания с 12 до 24 сут приводило к смене

рангов по морозостойчивости генотипов-носителей альтернативных аллелей, большей морозостойчивостью характеризовались растения с аллелями сорта Лузановка одесская.

ЛИТЕРАТУРА

Использование ПЦР-анализа в генетико-селекционных исследованиях / Под ред. Ю.М. Сиволапа– Киев: Аграрна наука, 1998. – С. 34-40.

Кочмарський В.С. Нові генотипи пшениці озимої м'якої з підвищеним потенціалом адаптивності, продуктивності та якості зерна // Вісник аграрної науки. – 2011. – № 12. – С. 40-43.

Литвиненко М.А., Лифенко С.П., Друзьяк В.В., Друзьяк В.Г. Вплив строків сівби і сублетальних зимових температур на виживаність та врожайність озимої пшениці // Вісник аграрної науки. – 2004. – № 4. – С. 27-31.

Литвиненко М.А. Удосконалення програми селекції сортів озимої м'якої пшениці універсального типу для умов Півдня України // Збірник наук. праць СГІ-НЦНС. – 2010. – Вип. 16 (56). – С. 9-22.

Лыфенко С.Ф. О некоторых закономерностях наследования морозостойкости у гибридов озимой мягкой пшеницы // Пути создания исходного материала для селекции зерновых культур. – Одесса: ВСГИ, 1976. – Вып. 14. – С. 71-86.

Рокицкий П.Ф. Биологическая статистика. – М.: Колос, 1973. – 327 с.

Стельмах А.Ф. Принципы дисперсионного анализа данных альтернативной изменчивости // Генетический анализ количественных и качественных признаков с помощью математико-статистических методов. – М., 1973. – С. 11-16.

Терновская Т.К., Вдовиченко Ж.В. Зависимость результатов генетического анализа самоопыляющихся видов злаков от природы картирующей популяции // Цитология и генетика. – 2003. – Т. 37, № 3. – С. 67-79.

Файт В.І. Морозостійкість і урожайність окремих сортів озимої м'якої пшениці // Вісник аграрної науки. – 2005. – Т. 41, № 5. – С. 18-26.

Феоктістов П.О., Гаврилов С.В., Ляшок А.К Григорук І.П., Мельничук М.Д. Методологічні принципи оцінки озимої пшениці на терморезистентність в умовах півдня України: Методичні рекомендації. – К.: Видавничий центр НАУ, 2006. – 36 с.

Шевченко А.М. Високоадаптивні сорти озимої пшениці Луганщини та ефективна технологія їх насіництва // Посібник українського хлібороба. – 2012. – С. 193-195.

Abouzieed H.M., Shakam H.M., Milad S.I., Barakat M.N. Quantitative trait loci (QTL) analysis of flag leaf senescence in wheat (*Triticum aestivum* L.) with microsatellite DNA markers under water-stressed condition // Afr. J. Biotechnol. – 2012. – V. 55. – P. 11782-11788.

Baldi P., Grossi M., Pecchioni N., Vale G., Cattivelli L. High expression level of a gene coding for a chloroplastic amino acid selective channel protein is correlated to cold acclimation in cereals // Plant Mol. Biol. – 1999. – V. 41. – P. 233-243.

Barakat M.N., Al-Doss A.A., Elshafei A.A., Moustafa K.A. Identification of new microsatellite marker linked to the grain filling rate as indicator for heat tolerance genes in F₂ wheat population // Austr. J. Crop Sci. – 2011. – V. 5. – P. 104-110.

Bullrich L., Appendino M.L., Tranquilli G., Lewis S., Dubcovsky J. Mapping of a thermo-sensitive earliness *per se* gene on *Triticum monococcum* chromosome 1A^m // Theor Appl Genet. – 2002. – V. 105. – P. 585-593.

Chinnusamy V., Zhu J., Zhu J.-K. Gene Regulation during Cold Acclimation in Plants // Physiol. Plant. – 2006. – V. 126. – P. 52-61.

Galiba G., Quarrie S.A., Sutka J., Morgounov A., Snape J.W. RFLP mapping of the vernalisation *Vrn 1* and frost resistance *Fr 1* genes on chromosome 5A of wheat // Theor. Appl. Genet. – 1995. – V. 90. – P. 1174-1179.

Galiba G., Vagujfalvi A., Li C., Soltesz A., Dubcovsky J. Regulatory genes involved in the determination of frost tolerance in temperate cereals // Plant Sci. – 2009. – V. 176. – P. 12-19.

Gilmour S.J., Fowler S.G., Thomashow M.F. Arabidopsis transcriptional activators CBF1, CBF2, CBF3 have matching functional activities // Plant Mol. Biol. – 2004. – V. 54. – P. 767-781.

Guy C.L. Cold acclimation and freezing stress tolerance: role of protein metabolism // Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1990. – V. 41. – P. 915-922.

Hsieh T.H., Lee J.T., Yang P.T., Chiu L.H., Charng Y.Y., Wang Y.C., Chan M.T. Heterology expression of the Arabidopsis C-repeat/Dehydration response binding factor 1 gene confers elevated tolerance to chilling and oxidative stresses in transgenic tomato // Plant Physiol. – 2002. – V. 129. – P. 1086-1094.

Jaglo K.R., Kleff S., Amundsen K.L., Zhang X., Haake V., Zhang J.Z., Deits T., Thomashow M.F. Components of the Arabidopsis C-repeat/dehydration responsive element binding factor cold-responsive pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species // Plant Physiol. – 2001. – V. 127. – P. 910-917.

Knox A., Li C., Vagujfalvi A., Galiba G., Stockinger E., Dubcovsky J. Identification of candidate of CBF genes for the frost tolerance locus *Fr-A^m2* in *Triti-*

МОРОЗОУСТОЙЧИВОСТЬ F₂ ПОПУЛЯЦИЙ ПШЕНИЦЫ

- cum monococcum* // Plant Mol. Biol. – 2008. – V. 67. – P. 257-270.
- Kobayashi F., Takumi S., Kume S., Ishibashi M., Ohno R., Murai K., Nakamura C. Regulation by *Vrn-1* /*Fr-1* chromosomal intervals of CBF-mediated *Cor* /*Lea* gene expression and freezing tolerance in common wheat // J. Exp. Bot. – 2005. – V. 56. – P. 887-895.
- Kobayashi F., Takumi S., Nakamura C. Regulation of cold-responsive *Cor* /*Lea* genes and their transcription factors by the major freezing tolerance locus *Fr-1* in wheat // Rec. Res. Devel. Plant. Sci. – 2004. – V. 2. – P. 249-266.
- Ohno R., Takumi S., Nakamura C. Expression of a cold-responsive *Lt-Cor* gene and development of freezing tolerance during cold acclimation in wheat (*Triticum aestivum* L.) // J. Exp. Bot. – 2001. – V. 52. – P. 2367-2374.
- Pearce R.S., Houlston C.E., Atherton K.M., Rixon J.E., Harrison P., Hughes M.A., Dunn M.A. Localization of expression of three cold-induced genes, *blt101*, *blt4.9*, and *blt4*, in different tissues of the crown and developing leaves of cold-acclimated cultivated barley // Plant Physiol. – 1998. – V. 117. – P. 787-795.
- Quellet F., Vazquez-Tello A., Sarhan F. The wheat *wcs120* promoter is cold-inducible in both monocotyledonous and dicotyledonous species // FEBS Lett. – 1998. – V. 423. – P. 324-328.
- Snape J.W., Semikhodskii A., Fish L., Sharma L.N., Quarrie S.A., Galiba G., Sutka J. Mapping frost tolerance loci in wheat and comparative mapping with other cereals // Acta Agron. Hung. – 1997. – V. 45. – P. 265-270.
- Snape J.W., Sarma R., Quarrie S.A., Fish L., Galiba G., Sutka J. Mapping genes for flowering time and frost tolerance in cereals using precise genetic stocks // Euphytica. – 2001. – V. 120. – P. 309-315.
- Sofalian O., Mohammadi S.A., Aharizad S., Moghadam M., Shakiba M.R. Mapping of QTLs for frost tolerance and heading time using SSR markers in bread wheat // Afr. J. Biotechnol. – 2008. – V. 9. – P. 5260-5264.
- Takumi S., Nakamura C. Abiotic stress signal pathways associated with development of freezing tolerance after cold acclimation in common wheat // Memorial Issue, Wheat Information Service. – 2005. – № 100. – P. 89-107.
- Thomashow M.F. Plant cold acclimation: freezing tolerance genes and regulatory mechanisms // Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. – 1999. – V. 50. – P. 571-599.
- 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. – V. 107. – P. 509-514.
- Vagujfalvi A., Galiba G., Cattivelli L., Dubkovsky J. The cold-regulated transcriptional activator *Cbf3* is linked to the frost-resistance locus *Fr-A2* on wheat chromosome 5A // Mol. Genet. Genomics. – 2003. – V. 269. – P. 60-67.
- Xue G.P. Characterisation of DNA-binding profile of barley HvCBF1 using an enzymatic method for rapid, quantitative and high-throughput analysis of the DNA-binding activity // Nucl. Acids Res. – 2002. – V. 30. – P. 77.

Поступила в редакцию
12.06.2013 г.

FROST RESISTANCE OF BREAD WINTER WHEAT F₂ POPULATIONS AND ITS ASSOCIATION WITH ALLELES OF THE MICROSATELLITE LOCI

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

*Plant Breeding and Genetics Institute –
National Center of Seed and Cultivar Investigation
of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine
(Odesa, Ukraine)*

The estimation of frost resistance of four F₂ populations of *Triticum aestivum* Obrij/Progress, Erythrosperrum 2917/Odesskaya 132, Albidum 114/Odesskaya 132, Luzanovka odesskaya/Odesskaya krasnokolosaya and parental forms was performed for different duration of the first phase of hardening. There were observed significant differences of frost resistance of parental varieties regardless of the duration of the first phase of hardening in the combination of crossing Luzanovka odesskaya/Odesskaya krasnokolosaya. F₂ population Luzanovka odesskaya/Odesskaya krasnokolosaya was analyzed by alleles microsatellite loci of chromosomes 5A and 5D. There was determined the association relation of allelic differences of *Xbarc 117-5A* and *Xgwm 156-5A* loci with the level of frost resistance of F₂-population.

Key words: *Triticum aestivum* L., frost resistance, microsatellite loci

ГАЛАЄВА и др.

**МОРОЗОСТІЙКІСТЬ F₂ ПОПУЛЯЦІЙ ПШЕНИЦІ М'ЯКОЇ ОЗИМОЇ
ТА ЇЇ ЗВ'ЯЗОК З АЛЕЛЯМИ МІКРОСАТЕЛІТНИХ ЛОКУСІВ**

М. В. Галаєва, В. І. Файт, С. В. Чеботар, Ю. М. Сиволап

*Селекційно-генетичний інститут –
Національний центр насіннєзнавства та сортовивчення
Національної академії аграрних наук України
(Одеса, Україна)*

Проведено оцінку морозостійкості чотирьох F₂ популяцій *Triticum aestivum* Обрій/Прогрес, Еритроспермум 2917/Одеська 132, Альбідум 114/Одеська 132, Лузанівка одеська/Одеська червоноколоса і батьківських форм при різній тривалості першої фази загартування. Істотні відмінності за морозостійкістю батьківських сортів незалежно від тривалості першої фази загартовування відзначені в комбінації схрещування Лузанівка одеська/Одеська червоноколоса. Популяцію F₂ Лузанівка одеська/Одеська червоноколоса проаналізовано за алелями мікросателітних локусів хромосом 5A і 5D. Встановлено зв'язок алельних відмінностей локусів *Xbarc 117-5A* та *Xgwm 156-5A* з рівнем морозостійкості рослин F₂-популяції.

Ключові слова: *Triticum aestivum* L., морозостійкість, мікросателітні локуси