

SSR-анализ геномной ДНК перспективных сортов мягкой озимой пшеницы узбекистанской селекции

А.Т. Адылова, Ж.К. Норбеков, Э.Э. Хуршут, Е.В. Никитина, Ф.Н. Кушанов

Центр геномики и биоинформатики Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан

Целью работы было изучение генетического разнообразия сортов мягкой пшеницы узбекистанской селекции, так как они являются источником адаптированного к местным условиям обитания растительного материала и могут служить важнейшим поставщиком генетических ресурсов для селекционных работ по пшенице не только в Узбекистане, но и в других странах. В настоящее время микросателлитные маркеры (simple sequence repeats, SSR – простые повторяющиеся последовательности) – одни из наиболее широко используемых и эффективных классов ДНК-маркеров для генотипирования, паспортизации и классификации сортов растений. В работе представлены результаты генотипирования 32 сортов мягкой пшеницы отечественной селекции с использованием 144 микросателлитных праймерных пар, выбранных исходя из литературных данных, 36 пар из них дали полиморфные хорошо воспроизводимые ПЦР-фрагменты. Для каждого сорта были получены индивидуальные SSR-спектры, различающиеся числом ампликонов. По 36 микросателлитным локусам выявлен 141 аллель, их число на локус (N_a) составляло от 2 до 6 (3 в среднем). Для изученной группы генотипов эффективное число аллелей (ne), характеризующее локусы по частоте встречаемости аллелей, варьировало от 1.7 до 4.8, составляя в среднем 2.8. Величина ожидаемой гетерозиготности (H_e) в нашей популяции пшеницы была в среднем 0.626, меняясь от 0 до 0.792. Размеры амплифицированных продуктов находились в пределах от 93 до 552 п. н. Индекс полиморфного информационного содержания (PIC) варьировал от 0 до 0.758. На основании набора аллелей микросателлитных локусов была построена дендрограмма, отражающая филогенетические различия изученных сортов мягкой пшеницы, которая показала, что сорта узбекистанской селекции разделяются на два больших кластера, это свидетельствует о возможной общности их происхождения. Для каждого сорта пшеницы Узбекистана разработана генетическая формула, которая может быть использована для идентификации, паспортизации этих сортов, а также при подборе родительских пар в селекционных программах по пшенице.

Ключевые слова: мягкая озимая пшеница; ПЦР-анализ; генетическое разнообразие; микросателлитные локусы ДНК; кластеризация; паспортизация.

SSR analysis of the genomic DNA of perspective Uzbek hexaploid winter wheat varieties

A.T. Adylova, G.K. Norbekov, E.E. Khurshut, E.V. Nikitina, F.N. Kushanov

Center of Genomics and Bioinformatics of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan

The objective of this study was to investigate the genetic diversity of hexaploid wheat varieties of Uzbekistan breeding using simple sequence repeat (SSR) markers. These varieties are adapted to local conditions, and can be considered as the most important supplier of genetic resources for cultivation in Uzbekistan and other countries. Microsatellite markers are now most widely used and effective classes of DNA markers for genotyping, certification and classification of plant varieties. In this paper, genotyping results of 32 hexaploid wheat domestic varieties using 144 microsatellite primer pairs are presented. Microsatellite primer pairs were chosen from literature data and 36 primer pairs (from 144) gave polymorphic well-reproducible PCR-fragments. The individual SSR spectra differing in number of amplicons were obtained for each variety. A total number of 141 alleles for 36 microsatellite loci were detected. The number of alleles per locus ranged from 2 to 6, the mean number of alleles per locus (N_a) was 3 alleles. For the studied genotypes group the effective number of alleles (ne) characterizing the loci by the allele frequency, varied from 1.7 to 4.8, the mean number of alleles per locus was 2.8. The expected heterozygosity (H_e) ranged from 0 to 0.792, averaging 0.626, in studied wheat population. The amplified fragment sizes ranged from 93 to 552 bp. The polymorphic index content (PIC) ranged from 0 to 0.758. A dendrogram was constructed using the alleles set of microsatellite loci, reflecting the phylogenetic differences of the studied hexaploid wheat varieties. It showed that Uzbekistan breeding varieties are divided into two main clusters, which may be evidence of their common origin. A genetic formula has been developed for each Uzbek wheat variety. It can be used for identification, certification of these varieties, as well as for the selection of parental pairs in the wheat breeding programs.

Key words: hexaploid winter wheat; PCR analysis; genetic diversity; microsatellite DNA loci; clusterization; barcoding.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Адылова А.Т., Норбеков Ж.К., Хуршут Э.Э., Никитина Е.В., Кушанов Ф.Н. SSR-анализ геномной ДНК перспективных сортов мягкой озимой пшеницы узбекистанской селекции. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(6):634-639. DOI 10.18699/VJ18.404

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Adylova A.T., Norbekov G.K., Khurshut E.E., Nikitina E.V., Kushanov F.N. SSR analysis of the genomic DNA of perspective Uzbek hexaploid winter wheat varieties. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(6):634-639. DOI 10.18699/VJ18.404

С введением в практику биологических исследований ДНК-маркеров появились новые возможности изучения генетического разнообразия организмов (Гостимский и др., 2005). В частности, SSR или микросателлитный анализ генома многих растений показал, что микросателлитные локусы, представленные множественными аллелями и характеризующиеся сравнительно высокой гетерогенностью, – удобный инструмент для анализа полиморфизма геномной ДНК.

Метод анализа полиморфизма микросателлитных локусов позволяет получить воспроизводимые информативные профили известных фрагментов генома и поэтому наиболее перспективен для идентификации, паспортизации и сертификации сортов и гибридов культурных растений (Сулимова, 2004).

Пригодность маркера для указанных целей зависит от числа аллелей, которые имеет этот маркер, и их соответствующих относительных частот. Количественно степень полиморфизма обычно измеряется двумя различными величинами, или показателями: гетерозиготность (H), для которой объективный алгоритм оценки и формула изменчивости хорошо известны (Nei, Roychoudhury, 1974; Nei, Li, 1979), и величина информационного полиморфизма (PIC).

Гетерозиготность рассматривается как средняя порция локусов с двумя различными аллелями в одном локусе у одной особи. Этот показатель распространяется на всю популяцию или какую-то ее часть и подразделяется на наблюдаемую (H_o) и ожидаемую (H_e) гетерозиготность. Когда описывают генетическое разнообразие, обычно определяют ожидаемую гетерозиготность, поскольку она менее чувствительна к размеру выборки, чем наблюдаемая гетерозиготность (Чесноков, Артемьева, 2015).

Мера PIC определяется способностью маркера улавливать полиморфизм популяции в зависимости от числа обнаруживаемых аллелей и распределения их частот и тем самым эквивалентна генному разнообразию. Для доминантных маркеров максимальное значение PIC составляет 0.5. Значение PIC приближается к единице, если локус имеет множество аллелей с примерно равной частотой встречаемости, и равно нулю, если локус мономорфный (Чесноков, Артемьева, 2015). Еще один параметр, используемый для оценки генетической изменчивости, называется эффективным числом аллелей (ne). Показатель ne связан с гетерозиготностью простой зависимостью: $ne = 1/(1-H_e)$, т. е. это величина, обратная доле гомозиготных локусов особи. Она представляет собой число аллелей, встречающихся в популяции с равной частотой и обеспечивающих заданную гетерозиготность при случайном скрещивании (Ayala, Kiger, 1984).

Цель настоящей работы – исследование генетической структуры мягкой пшеницы узбекистанской селекции с использованием перечисленных выше мер оценки генетического разнообразия. Изучение этого вопроса актуально, так как эти сорта являются источником адаптированного к местным условиям обитания растительного материала и могут служить важнейшим поставщиком генетических ресурсов для селекционных работ по пшенице не только в Узбекистане, но и в других странах.

Материалы и методы

В работе было использовано 32 сорта мягкой пшеницы отечественной селекции, основная часть которых введена в реестр сельскохозяйственных культур Узбекистана: Turkiston; Kelajak; Barhayot; Chillaki; Pahlavon; Farovon; Hazrati Bashir; Bardosh; Bobur; Omad; Gozgon; Matonat; Sanzar 8; Elomon; Boysuntura; Andijon 2; Andijon 4; Dostlik; Yaksart; Muftalo; Asr; Durdona; Taraqqiyot; Kokbuloq; Bunyodkor; Hisorak; Jayhun; Uzbek; Oqmarvarid; Iftihor; Ustoz; Andijon 1.

Выделение ДНК, ее амплификацию, электрофорез и визуализацию продуктов амплификации проводили по стандартным методикам (Dellaporta et al., 1983). В работе использована 51 микросателлитная праймерная пара (из базы данных Grain Genes, <http://wheat.pw.usda.gov>), в том числе: 18 – из группы WMC (Röder et al., 1998), 12 – из группы BARC (Song et al., 2002), 10 – из группы WMS (Röder et al., 1998), 4 – из группы CFD (Guyomarc'h et al., 2002), 3 – из группы GPW (Sourdille et al., 2004), 2 – из группы CFA (Sourdille et al., 2004), а также по одной паре из коллекций PSP (Devos et al., 1995) и GDM (Zhao et al., 2006). При идентификации и определении размеров аллелей микросателлитных локусов использовали программы Gel-Pro Analyzer 3.1. Значение PIC для каждого маркера вычисляли при помощи собственного скрипта на языке R (R Core Team, 2016), успешно примененного нами ранее (Khurshut et al., 2017). Статистическую обработку результатов и построение диаграмм осуществляли с использованием среды R (R Core Team, 2016).

Результаты и обсуждение

ДНК 32 генотипов мягкой пшеницы отечественной селекции были зондированы с помощью 144 микросателлитных праймерных пар, которые были отобраны нами как ожидаемо информативные маркеры, на основании анализа зарубежной литературы, а также собственных ранее проведенных исследований по генотипированию гермиплазмы гексаплоидной пшеницы отечественной селекции. Однако из 144 выбранных микросателлитных праймерных пар амплифицировалась лишь 51.

В результате SSR-анализа 32 генотипов пшеницы были получены специфические и хорошо воспроизводимые фрагменты ДНК. Для каждого сорта определены индивидуальные SSR-спектры, различающиеся числом ампликонов, их размерами и степенью выраженности на электрофореграммах (рис. 1).

По результатам скрининга из дальнейшего исследования были исключены малоинформативные локусы, у которых $PIC < 0.3$: BARC6, BARC96, BARC139, BARC159, BARC206, CFA2149, CFA2209, GPW3032, WMC177, WMC311, WMC356, WMC367, WMC727, WMS539, WMS577. Интересно, что праймерная пара CFD239 давала по одному ПЦР-продукту, что выявилось нулевым значением PIC (табл. 1). Однако она детектировалась у 28 из 32 сортов пшеницы, и мы оставили эту праймерную пару для дальнейших исследований. Таким образом, набор локусов был сужен до 36.

При исследовании по 36 микросателлитным локусам был выявлен 141 аллель. Их число на локус варьировало

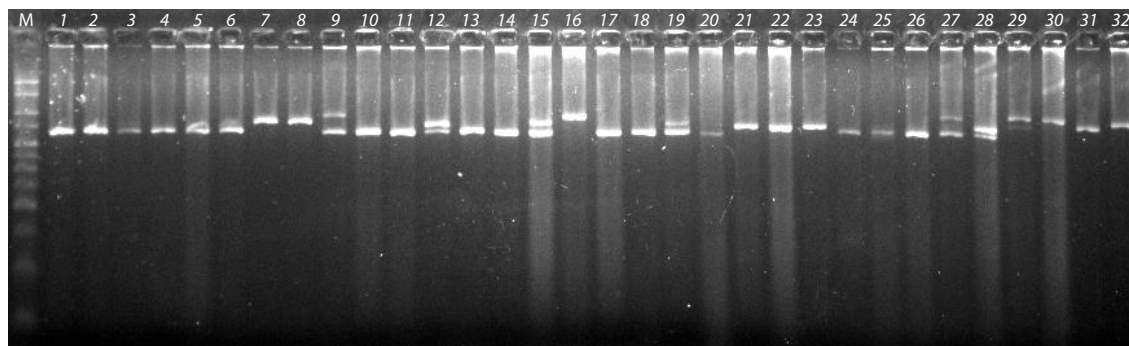


Рис. 1. Электрофореграмма продуктов амплификации геномной ДНК мягкой пшеницы узбекистанской селекции с праймером PSP3000.

М – маркер ДНК; 1–32 – пробы ДНК изученных сортов (см. Материалы и методы).

Таблица 1. Характеристика микросателлитных локусов ДНК

№ п/п	Название локуса	N_a	PI_C	H_e	Размер ампликона, п. н.	Эффективное число аллелей	Литературный источник
1	WMS349	5	0.758	0.792	131–152	4.8	Röder et al., 1998
2	WMC526	6	0.720	0.762	169–513	4.2	Somers et al., 2004
3	PSP3000	5	0.713	0.750	233–301	4.0	Devos et al., 1995
4	CFD76	6	0.694	0.737	155–260	3.8	Guyomarc'h et al., 2002
5	WMC626	4	0.681	0.732	212–271	3.7	Somers et al., 2004
6	WMC276	4	0.677	0.725	318–349	3.6	»
7	WMC445	4	0.666	0.717	251–283	3.5	»
8	GDM33	6	0.663	0.716	135–266	3.5	Zhao et al., 2006
9	WMC453	5	0.661	0.708	176–230	3.4	Somers et al., 2004
10	GPW2203	5	0.661	0.715	185–332	3.5	Sourdille et al., 2004
11	GPW2181	5	0.655	0.710	146–310	3.4	»
12	WMC216	4	0.639	0.695	93–146	3.2	Somers et al., 2004
13	BARC74	5	0.628	0.674	105–133	3.6	Lowe et al., 2011
14	WMC104	6	0.613	0.676	160–430	3.1	Somers et al., 2004
15	WMS513	4	0.605	0.668	127–164	3.0	Röder et al., 1998
16	WMC273	4	0.596	0.651	190–278	2.8	Somers et al., 2004
17	CFD23	3	0.585	0.659	253–283	2.9	Guyomarc'h et al., 2002
18	WMS630	3	0.581	0.655	173–203	2.8	Röder et al., 1998
19	WMS291	4	0.576	0.645	116–192	2.8	»
20	WMC198	3	0.576	0.651	210–283	2.8	Somers et al., 2004
21	WMC367	3	0.572	0.645	159–194	2.8	»
22	WMS495	3	0.567	0.641	134–166	2.7	Röder et al., 1998
23	BARC182	3	0.565	0.642	106–134	2.7	Somers et al., 2004
24	WMS512	3	0.562	0.639	195–204	2.7	Röder et al., 1998
25	WMC166	3	0.515	0.586	353–402	2.4	Somers et al., 2004
26	CFD267	3	0.504	0.589	263–313	2.4	Guyomarc'h et al., 2002
27	WMS443	5	0.499	0.580	127–237	2.3	Röder et al., 1998
28	BARC176	3	0.489	0.562	231–296	2.2	Somers et al., 2004
29	BARC175	3	0.477	0.569	224–246	2.3	»
30	WMC167	3	0.472	0.560	204–222	2.2	»
31	WMS295	5	0.467	0.550	232–552	2.2	Röder et al., 1998
32	BARC80	3	0.460	0.542	112–130	2.1	Somers et al., 2004
33	WMC432	4	0.456	0.498	197–257	1.9	»
34	BARC187	3	0.378	0.428	273–308	1.7	Lowe et al., 2011
35	BARC96	2	0.357	0.465	184–202	1.8	Song et al., 2002
36	CFD239	1	0.000	0.000	249	0.0	Guyomarc'h et al., 2002
Среднее		3	0.564	0.626		2.8	

Таблица 2. Формулы генотипов мягкой озимой пшеницы узбекистанской селекции

Сорт	Формула
Hazrati Bashir	A ₅ B ₁ B ₂ B ₃ B ₆ C ₄ D ₃ D ₆ E ₁ F ₄ G ₁ H ₁ H ₂ H ₄ I ₃ I ₄ J ₁ J ₄ K ₁ K ₂ K ₄ L ₂ L ₄ M ₃ M ₄ N ₁ N ₂ O ₃ P ₂ P ₃
Andijon 1	A ₁ B ₁ B ₂ B ₃ B ₆ C ₃ D ₂ D ₅ E ₃ F ₃ G ₂ H ₁ H ₂ I ₁ I ₂ I ₃ J ₂ K ₁ K ₂ K ₄ L ₂ L ₄ M ₂ N ₁ N ₂ O ₃ P ₁ P ₂ P ₄
Dostlik	A ₂ B ₁ B ₂ B ₃ B ₆ C ₁ D ₃ D ₆ E ₄ F ₂ G ₄ H ₁ H ₂ H ₄ I ₂ I ₃ J ₁ J ₃ K ₁ K ₂ K ₃ L ₂ L ₄ M ₂ N ₁ N ₂ N ₃ N ₅ N ₆ O ₃ P ₁ P ₂ P ₄
Bobur	A ₅ B ₁ B ₂ B ₃ C ₁ C ₅ D ₃ D ₆ E ₁ F ₃ H ₁ H ₂ H ₄ H ₆ J ₁ J ₃ J ₄ K ₁ K ₂ K ₄ L ₂ L ₄ M ₂ N ₁ N ₂ N ₅ O ₄ P ₁ P ₂

Примечание. Код локуса: А – WMS349; В – WMC526; С – PSP3000; D – CFD76; E – WMC626; F – WMC276; G – WMC445; H – GDM33; I – WMC453; J – GPW2203; K – GPW2181; L – WMC216; M – BARC74; N – WMC104; O – WMS513; P – WMC273. Буквами латинского алфавита обозначены праймеры; нижний индекс – аллельное состояние локуса, который он маркирует.

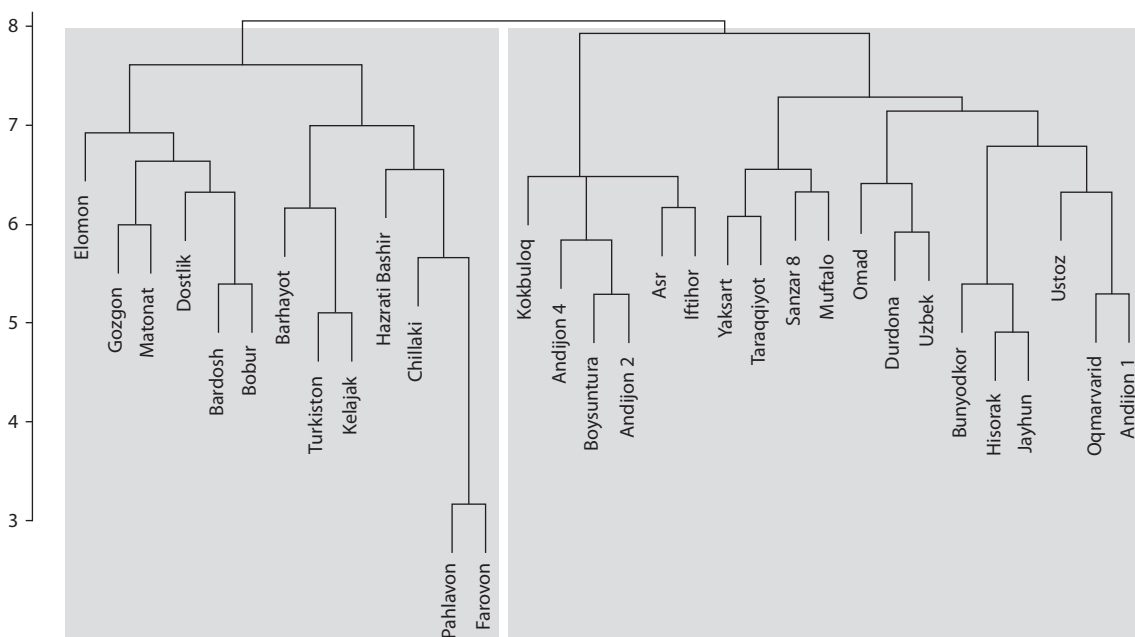


Рис. 2. Филогенетическое древо изученных сортов пшеницы узбекистанской селекции, полученных с использованием 36 SSR-маркеров.

от 2 до 6, что в среднем составило 3 на локус. У локусов WMC526, CFD76, GDM33 и WMC104 установлено максимальное количество аллелей – шесть; у восьми локусов – WMS349, PSP3000, WMC453, GPW2203, GPW2181, BARC74, WMS443 и WMS295 – выявлено по пять аллелей, у локусов WMC626, WMC276, WMC445, WMC216, WMS513, WMC273, WMS291 и WMC432 – по четыре и у остальных (кроме CFD239) по два-три аллеля (табл. 2).

Эффективное число аллелей – показатель, характеризующий локусы по частоте встречаемости аллелей, – в изученной группе генотипов варьировало от 1.7 (BARC187) до 4.8 (WMS349), в среднем 2.8 на локус. Величина ожидаемой гетерозиготности в нашей популяции пшеницы соответствовала в среднем 0.626, изменяясь от 0 (CFD239) до 0.792 (WMS349). Размеры амплифицированных продуктов находились в пределах от 93 до 552 п. н. Для анализа данных амплификации микросателлитной ДНК использовали индекс полиморфного информационного содержания, который варьировал от 0 (для маркера CFD239) до 0.758 (WMS349), составляя в среднем 0.564 (см. табл. 1).

На основании набора аллелей микросателлитных локусов была построена дендрограмма, отражающая филогенетические связи изученных сортов мягкой пшеницы. При иерархической кластеризации методом полной связи сорта разделились на два основных кластера (рис. 2), причем распределение и состав древовидной кластеризации в большинстве своем совпали с результатами, полученными с применением метода k-средних (рис. 3).

Сорта пшеницы узбекистанской селекции, за исключением нескольких местных (Pahlavon и Farovon, выведенных из местного сорта Маржон) и стародавних сортов Boysuntura и Oqmarvarid, являются генотипами, полученными из различных мировых коллекций и адаптированными к местным условиям культивирования. Генотипы первого кластера, а именно: Elomon, Gozgon, Matonat, Dostlik, Bardosh, Barhayot, Turkiston и Kelajak, созданы в Кашкардарьинском научно-исследовательском институте селекции и семеноводства зерновых колосковых культур (Узбекистан) на основе образцов из коллекции СИММИТ (Международный центр улучшения кукурузы и пшеницы), при этом превалировал отбор по признаку «засухоустойчивость».

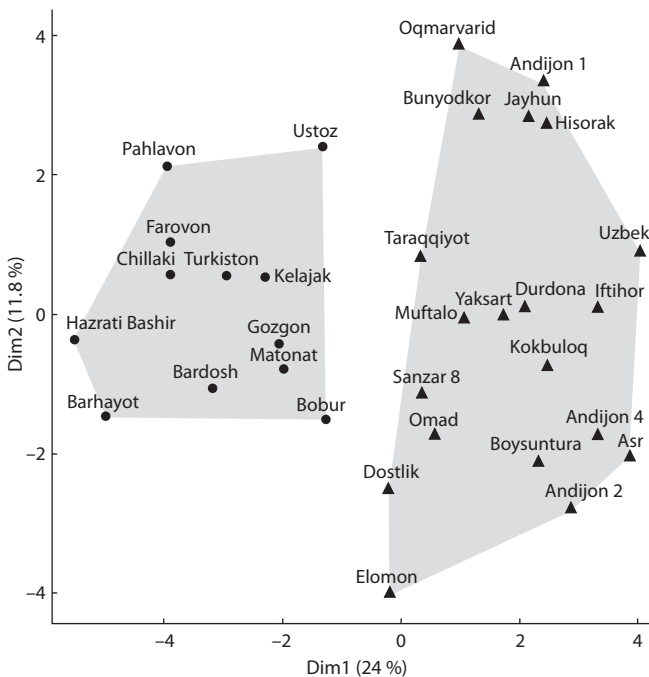


Рис. 3. Кластеризация методом k-средних изученных сортов пшеницы узбекистанской селекции на основе 36 SSR-маркеров.

Генотипы второго кластера, за исключением сорта Oqmarvarid, созданы Научно-исследовательским институтом зерна и зернообовых культур (Андижан, Узбекистан) в сотрудничестве с Краснодарским научно-исследовательским институтом сельского хозяйства им. П.П. Лукьяненко (см. рис. 2). В правую подгруппу этого кластера объединяются сорта, отобранные по урожайности (Yaksart, Taraqqiyot, Sanzar 8, Muftalo, Omad, Durdona, Uzbek, Bunyodkor, Hisorak, Jayhun, Ustoz и Andijon 1), а в левую – сорта, районированные в Галляаральском районе (Узбекистан) и адаптированные к богарному земледелию (Kokbuloq, Andijon 4, Boysuntura, Andijon 2, Asr и Iftihor).

Значения *PIC*, полученные в результате генотипирования, находятся в пределах, достаточных для идентификации и паспортизации сортов. В табл. 2 представлен фрагмент молекулярного паспорта, разработанного для перспективных сортов мягкой озимой пшеницы отечественной селекции при использовании 16 наиболее эффективных и информативных SSR-маркеров с показателями $PIC \geq 0.6$.

Для примера мы взяли сорта Hazrati Bashir и Andijon 1 как генотипы, максимально удаленные друг от друга в многомерном пространстве, и сорта Bobur и Dostlik, имеющие, напротив, генетическую близость (см. рис. 2 и 3).

Как видно из табл. 2, некоторые наборы аллелей, в частности $V_1V_2V_3$, H_1H_2 , L_2L_4 и N_1N_2 , амплифицируемых праймерными парами WMC526, GDM33, WMC216 и WMC104 соответственно, детектируются у всех четырех генотипов, независимо от того, в какой кластер они сгруппированы. Поскольку эти локусы отмечаются и в большинстве остальных исследованных сортов, их, по-видимому, можно признать видоспецифическими. С другой стороны, есть сорта, в том числе Bobur, не содержащие ни одно-

го аллеля локусов WMC445 и WMC453, что, возможно, является характерной особенностью этих генотипов.

Таким образом, нами проведены скрининг и оценка генетического разнообразия 32 сортов мягкой озимой пшеницы узбекистанской селекции с использованием 36 микросателлитных SSR-маркеров. Исследования выявили наличие определенной генетической вариативности как по количеству аллелей на локус, так и по индексу генетического разнообразия. Показано, что изученные сорта кластеризуются в соответствии с их эколого-географическим и селекционным происхождением. Наряду с этим нами разработана генетическая формула, которая может быть использована для идентификации, паспортизации этих сортов и при подборе родительских пар в селекционных программах по пшенице.

Благодарности

Работа выполнена в рамках проекта Т.8-16 «Сравнительное изучение полиморфизма ДНК различных сортов мягкой пшеницы узбекистанской селекции с использованием микросателлитных SSR-маркеров», финансируемого Фондом поддержки фундаментальных исследований Академии наук Республики Узбекистан.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

- Гостимский С.А., Кокаева З.Г., Коновалов Ф.А. Изучение организации и изменчивости генома растений с помощью молекулярных маркеров. Генетика. 2005;41(4):480-492. [Gostimsky S.A., Kokaeva Z.G., Kononov F.A. Studying plant genome variation using molecular markers. Russian Journal of Genetics. 2005;41(4):378-388. DOI 10.1007/s11177-005-0101-1.]
- Сулимова Г.Е. ДНК-маркеры в генетических исследованиях: типы маркеров, их свойства и области применения. Усп. соврем. биологии. 2004;124(3):260-271. [Sulimova G.E. DNA markers in genetic studies: types of markers, their properties, and applications. Uspekhi Sovremennoy Biologii = Advances in Current Biology. 2004;124(3):260-271. (in Russian)]
- Чесноков Ю.В., Артемьева А.М. Оценка меры информационного полиморфизма генетического разнообразия. С.-х. биология. 2015;50(5):571-578. DOI 10.15389/agrobiology.2015.5.571rus. [Chesnokov Yu.V., Artemyeva A.M. Evaluation of the measure of polymorphism information of genetic diversity. Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology. 2015;50(5):571-578. (in Russian)]
- Ayala F., Kiger J. Modern Genetics. Menlo Park, Calif.: Benjamin/Cummings Publ. Co., 1984.
- Dellaporta S.L., Wood J., Hicks J.B. A plant DNA miniprep: Version II. Plant Mol. Biol. Rep. 1983;1(4):19-21.
- Devos K.M., Bryan G.J., Collins A.J., Stephenson P., Gale M.D. Application of two microsatellite sequences in wheat storage proteins as molecular markers. Theor. Appl. Genet. 1995;90:247-252.
- Guyomarc'h H.I., Sourdille P., Charmet G., Edwards J., Bernard M. Characterisation of polymorphic microsatellite markers from *Aegilops tauschii* and transferability to the D-genome of bread wheat. Theor. Appl. Genet. 2002;104(6-7):1164-1172.
- Khurshut E.E., Adylova A.T., Norbekov J.K., Kushanov F.N., Turaqulov Kh.S. Molecular analysis of winter wheat varieties in Uzbekistan. Uzb. Biol. J. 2017;(3):44-48.
- Lowe I., Jankuloski L., Chao S., Chen X., See D., Dubcovsky J. Mapping and validation of QTL which confer partial resistance to broad-

- ly virulent post-2000 North American races of stripe rust in hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2011;123:143-157.
- Nei M., Li W.H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1979;76:5269-5273. DOI 10.1073/pnas.76.10.5269.
- Nei M., Roychoudhury A.K. Sampling variances of heterozygosity and genetic distance. *Genetics.* 1974;76:379-390.
- R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria, 2016. Available at <https://www.R-project.org>.
- Röder M.S., Korzun V., Wandehake K., Planschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganal M.W. A microsatellite map of wheat. *Genetics.* 1998; 149:2007-2023.
- Somers D.J., Peter I., Edwards K. A high-density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* 2004;109:1105-1114.
- Song Q.J., Fickus E.W., Cregan P.B. Characteristics of trinucleotide markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2002;104:286-293.
- Sourdille P., Gandon B., Chiquet V., Nicot N., Somers D., Murgueux A., Bernard M. Wheat génoplante SSR mapping data release: a new set of markers and comprehensive genetic and physical mapping data. 2004. Available at: <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/SSRclub/GeneticPhysical>. Accessed on March 10, 2010.
- Zhao H.X., Liu X.M., Chen M.-S. H22, a major resistance gene to the Hessian fly (*Mayetiola destructor*), is mapped to the distal region of wheat chromosome 1DS. *Theor. Appl. Genet.* 2006;113:1491-1496.