


The Fifth International Scientific Conference PlantGen2019

Сравнительная оценка variability ядерного и хлоропластного генома лука-поррея (*Allium porrum* L.)

Е.А. Дьяченко¹, Т.М. Середин², М.А. Филюшин^{1, 2} 

¹ Федеральное исследовательское учреждение «Фундаментальные основы биотехнологии» Российской академии наук, Институт биоинженерии, Москва, Россия

² Федеральное научное учреждение овощеводства, пос. ВНИИССОК, Одинцовский район, Московская область, Россия

 e-mail: michel7753@mail.ru

К роду *Allium* L. (сем. Amaryllidaceae), самому многочисленному среди однодольных растений, относятся такие экономически значимые овощные культуры, как лук репчатый (*A. cepa*), чеснок (*A. sativum*) и лук-порей (*A. porrum*). Лук-порей обладает высокими вкусовыми качествами и доказанными ценными диетическими свойствами и является одной из самых популярных овощных культур в Западной Европе. Несмотря на высокую значимость лука-порей как овощной культуры, этот вид редко бывает объектом молекулярно-генетических исследований. Генетическое разнообразие лука-порей практически не изучали ранее. Поэтому в настоящей работе на широкой выборке образцов изучена variability ядерного (метод AFLP) и хлоропластного (анализ нуклеотидных последовательностей) геномов. Для проведения работы было отобрано 65 образцов лука-порей из коллекции Федерального научного центра овощеводства, которая включала сорта отечественной и зарубежной селекции. В результате проведения AFLP-анализа и обработки полученных ДНК-спектров идентифицировано 760 фрагментов, из которых 716 были полиморфны для анализируемых образцов лука-порей. Рассчитанные генетические расстояния между образцами лука-порей варьировали от 0.4 до 0.76, что сопоставимо с внутривидовым полиморфизмом родственных видов *Allium* (лук репчатый, чеснок). Анализ геномной структуры в программе STRUCTURE 2.3.4 разделил исследуемые образцы лука-порей на семь групп, что в целом совпадает с кластеризацией этих образцов по результатам кластерного анализа. Для оценки variability хлоропластного генома у анализируемых образцов лука-порей были секвенированы девять участков хлоропластного генома, как некодирующие: межгенные спейсеры *rpl32-trnL*, *ndhJ-trnL* и интрон гена *rps16*, так и белок-кодирующие: гены *psaA*, *psaB*, *psbA*, *psbB*, *psbE*, *petB*. Проведенный анализ участков хлоропластного генома лука-порей выявил крайне низкий уровень их полиморфизма, было обнаружено всего шесть SNP в изученных последовательностях суммарной длиной около 10500 п. н. Таким образом, в результате работы был установлен высокий уровень полиморфизма ядерного генома лука-порей, при этом полиморфизм хлоропластного генома оказался крайне низким.

Ключевые слова: лук-порей; *Allium porrum*; AFLP; генетическое разнообразие; анализ генома; хлоропластный геном.


Для цитирования: Дьяченко Е.А., Середин Т.М., Филюшин М.А. Сравнительная оценка variability ядерного и хлоропластного генома лука-порей (*Allium porrum* L.). Вавиловский журнал генетики и селекции. 2019; 23(7):902-909. DOI 10.18699/VJ19.565

Nuclear and chloroplast genome variability in leek (*Allium porrum* L.)

Е.А. Dyachenko¹, Т.М. Seredin², М.А. Filyushin^{1, 2} 

¹ Federal Research Centre "Fundamentals of Biotechnology", RAS, Institute of Bioengineering, Moscow, Russia

² Federal Scientific Center, VNISSOK, Odintsovo region, Moscow district, Russia

 e-mail: michel7753@mail.ru

The genus *Allium* L. (Amaryllidaceae), the most numerous among monocotyledonous plants, includes such economically important vegetable crops as onion (*A. cepa*), garlic (*A. sativum*) and leek (*A. porrum*). Leek has a high taste and proven valuable dietary properties and is one of the most popular vegetable crops in Western Europe. Despite a high importance of leek as a vegetable, this species is rarely the subject of molecular genetic studies. The genetic diversity of leeks has never been studied before. Therefore, in this work, we studied the nuclear variability (AFLP) and the chloroplast (nucleotide sequence analysis) genomes using a broad sample. For this work, 65 leek accessions were selected from the collection of the Scientific Center of Vegetable Crops, which included varieties of domestic and foreign breeding. As a result of an AFLP analysis and processing of the DNA spectra obtained, 760 fragments were identified, of which 716 were polymorphic for the leek accessions being analyzed. The calculated genetic distances between the leek samples varied from 0.4 to 0.76, which is comparable to the intraspecific polymorphism of related *Allium* species (onions, garlic). Analysis of the genomic structure with STRUCTURE 2.3.4 divided the leek samples into seven groups, which generally coincides with the clustering of these samples. To

assess the variability of the chloroplast genome, nine sites of the chloroplast genome were sequenced in the leek samples, both non-coding (intergenic spacers *rpl32-trnL*, *ndhJ-trnL*, and intron *rps16* gene), and protein coding genes (*psaA*, *psaB*, *psbA*, *psbB*, *psbE*, *petB*). The analysis of the sites of the leek chloroplast genome revealed an extremely low level of their polymorphism, only six SNPs were detected in the studied sequences with a total length of about 10,500 bp. Thus, as a result of this work, a high level of polymorphism of the leek nuclear genome was revealed, while the polymorphism of the chloroplast genome was extremely low.

Key words: leek; *Allium porrum*; AFLP; genetic diversity; genome analysis; chloroplast genome.

For citation: Dyachenko E.A., Seredin T.M., Filyushin M.A. Nuclear and chloroplast genome variability in leek (*Allium porrum* L.). *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii* = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2019;23(7):902-909. DOI 10.18699/VJ19.565 (in Russian)

Введение

Род *Allium* L. (сем. Amaryllidaceae) – самый многочисленный среди однодольных растений, объединяет около 1200 видов, каждый год описываются новые виды луков (Govaerts et al., 2018; Brullo et al., 2019). Представители рода распространены в Северном полушарии, многие виды являются эндемиками. К роду *Allium* относятся такие важные сельскохозяйственные культуры, как лук репчатый (*A. cepa*), чеснок (*A. sativum*), лук-порей (*A. porrum*), возделываемые в настоящее время во всем мире.

Лук-порей – ценная овощная культура с двухлетним циклом выращивания. В пищу пригоден практически все растение – утолщенный ложный стебель и широкие зеленые линейно-ланцетные листья. Обе части содержат важные для диеты человека вторичные метаболиты: сераорганические, полифенольные соединения, витамин С (Bernaert et al., 2014; Агафонов, Дубов, 2018). Высокие вкусовые качества и доказанные ценные диетические свойства сделали лук-порей популярным в Европе, Северной Америке и Азии. Ежегодное производство этой культуры составляет более 2 млн т в год (по данным FAO, 2017 г.), крупнейшим производителем и потребителем лука-порея является Западная Европа (Soininen et al., 2014; Агафонов, Дубов, 2018).

Культуру лук-порея, столь популярную в Западной Европе, в России начали выращивать сравнительно недавно. Первый из отечественных сортов – Карantanский – внесен в Государственный реестр селекционных достижений, допущенных к использованию (Госсортреестр) в 1961 г., и только с 1993 г. этот список начал расширяться, включая к настоящему времени 27 сортов, преимущественно западноевропейской селекции. В Российской Федерации активная селекция лука-порея ведется в Федеральном научном центре овощеводства (ФНЦО), на сегодняшний день четыре сорта лука-порея включены в Госсортреестр.

Лук-порей – популярный объект для биохимических исследований (Bernaert et al., 2013, 2014; Soininen et al., 2014), однако генные и геномные исследования этой культуры ранее практически не проводили. Так, был определен транскриптом листа лука-порея, который использовали для сравнительного анализа экспрессии генов у видов *Allium* с различной морфологией листа (Zhu et al., 2017). Методами AFLP и ISSR изучены геномный полиморфизм 16 образцов лука-порея и внутрисортная вариабельность (Филюшин и др., 2011; Филюшин, Агафонов, 2015).

Комплексная оценка биоразнообразия, включающая, помимо классического морфофизиологического описания образцов, геномный анализ, становится в настоящее время обязательной для характеристики сельскохозяйствен-

ных видов растений. Поэтому целью нашей работы стали оценка и сравнительный анализ вариабельности ядерного и хлоропластного геномов у широкой выборки образцов лука-порея.

Материалы и методы

Для изучения были взяты 65 образцов лука-порея из коллекции Федерального научного центра овощеводства (пос. ВНИИССОК, Московская область) (табл. 1). В качестве внешней группы использованы родственные виды из коллекции Ботанического сада Университета Оснабрюк (Германия), предоставленные профессором Н. Фризеном: *A. ampeloprasum* (кат. № 1023 и 1744, Грузия), *A. commutatum* (кат. № 1662, Франция) и *A. pyrenaicum* (кат. № 3018, Испания). ДНК выделяли из пятидневных проростков СТАВ-методом с двойной депротенизацией хлороформом, для выделения использовали по 10 проростков каждого сорта для охвата возможного внутрисортного полиморфизма.

Полиморфизм ядерного генома определяли методом AFLP, согласно стандартному протоколу (Vos et al., 1995). В связи с тем, что лук-порей имеет большой размер генома, для AFLP-анализа применяли праймерные комбинации с девятью селективными нуклеотидами: E-ACT/M-CAAGCG и E-AGG/M-CAAGCG. Из 12 протестированных комбинаций только эти пары позволили выявить внутривидовой полиморфизм и получить оптимальное количество фрагментов на геле. ДНК гидролизовали с помощью рестриктаз *EcoRI* и *MseI* (Thermo Fisher Scientific, США). Продукты амплификации разделяли в 6.5 % денатурирующем полиакриламидном геле с помощью системы фрагментного анализа LI-COR 4300 DNA Analyzer (LI-COR Biosciences, США).

Определение генетических расстояний (1 – коэф. Жаккара) и построение дендрограммы (метод UPGMA) проводили в программе PAST3 (<https://folk.uio.no/ohammer/past/>). Геномную структуру выявляли с помощью программы STRUCTURE 2.3.4 (<https://web.stanford.edu/group/pritchardlab/structure.html>) со следующими параметрами: ADMIXTURE model с allele frequencies correlated, burn-in 500.000 и длиной прогона 500.000 MCMC, числом кластеров (set K) от 2 до 19. Наиболее вероятное число кластеров определяли по методике (Evanno et al., 2005).

Для анализа полиморфизма участков хлоропластного генома были амплифицированы и секвенированы межгенные спейсеры *rpl32-trnL* и *ndhJ-trnL*, интрон гена *rps16* (последовательности праймеров взяты из работы (Shaw et al., 2007) и белок-кодирующие гены *psaA* (5'-CTTGACTGTTGGCGGGTCT-3'; 5'-GTAC

Table 1. Leek accessions from the FSCVC collection used in the work

No.	Cultivars*	Country of origin (if available)*	Acc. no. in FSCVC (if available)*	Acc. no. in VIR (if available)*
1	Agria	Netherlands	K-16	2398
2	Amarillo	France	K-13	2307
3	American flag	Denmark	K-3	2191
4	Arcona	Netherlands	K-24	5162
5	Bentons Monorel	–	K-59	2084
6	Blauwgroene Winter	Germany	K-17	2403
7	Carentan	Germany	K-60	2092
8	Colonna	Netherlands	K-54	2243
9	Empire	Denmark	K-14	2350
10	Florena	Netherlands	K-25	5989
11	Geant d'Hiver Tezier	France	K-64	2203
12	Giant anelioro	Netherlands	K-7	2238
13	Giant Musselburgh	India	K-69	2140
14	Italion gent	Denmark	K-15	2353
15	Lincoln	Yugoslavia	K-21	2544
16	Long d'hiver	France	K-5	2212
17	Lyon	United Kingdom	K-2	2159
18	Lyon	United Kingdom	K-55	2252
19	Merlin	Netherlands	K-45	2545
20	Monstruoso	Argentina	K-1	2114
21	Monstrouso	United Kingdom	K-10	2248
22	Monstruena de Carentan	France	K-65	2204
23	Monstrueux	France	K-67	2198
24	Monstrueux d'Elbeuf	France	–	2236
25	Musselburgh	Netherlands	K-11	2253
26	Olifant-Exelsior	Netherlands	K-4	2196
27	Poireau	France	K-6	2231
28	Porree dicker	Germany	K-41	2017
29	Praza 2	Italy	K-9	2245
30	Siegfried	Denmark	K-70	2187
31	Suttons Prizetaker	India	K-68	2120
32	The Legon	Netherlands	K-50	5998
33	Timperley Light	United Kingdom	–	2239
34	Tres long Hiver	Botswana	K-19	2518
35	Tynis	Tunisia	K-57	2276
36	Wastlandia Winterreusen	Netherlands	K-62	2197
37	Winter lauch Rijen fon Carentan	Germany	K-71	2005
38	Zocal Type	–	K-53	2580
39	Zocalen	Iran	K-22	2574
40	Alligator	–	–	–
41	Vesta	–	–	–
42	Goliath	–	K-28	–
43	Gulliver	–	K-119	–
44	Dobryy molodec	–	K-39	–
45	Giraffe	–	K-29	–
46	Zimniy gigant	–	K-118	–
47	Kazachok (kyavar)	Russia	K-113	–
48	Kazimir	Germany	K-31	–

Table 1 (end)

No.	Cultivars*	Country of origin (if available)*	Acc. no. in FSCVC (if available)*	Acc. no. in VIR (if available)*
49	Karantanskiy	Russia	K-40	2001
50	Kilima	–	K-111	–
51	Columbus	Netherlands	–	–
52	Kyavar	Azerbaijan	K-61	2094
53	Letnii briz	–	K-33	–
54	Osenniy gigant	–	–	–
55	Pras	Russia	K-42	2038
56	Premier	Russia	–	–
57	Slon (Elephant)	–	K-36	–
58	Hobot slona (Elephant trunk)	–	K-37	–
59	Elefant	Czech Republic	–	–
60	–	Syria	K-43	2054
61	–	United Kingdom	K-44	2026
62	–	United Kingdom	K-63	2200
63	–	Canada	K-23	4895
64	–	–	K-51	5954
65	–	–	K-52	2563

* If available.

CATAGTCAGTAGCTAGA-3'), *psaB* (5'-TTCTGGG TGGAATTGCCAC-3'; 5'-ATAGCTCCATGAGCAAAG GC-3'), *psbA* (5'-AGTACGTGTGCTTGGGAGT-3'; 5'-TATAGCCCCTTCGTTTCGAC-3'), *psbB* (5'-GTC TATTGCAATGCGATAAAG-3'; 5'-ACCATAGAA CTCAACAGTTAC-3'), *psbE* (5'-TCCCATCTTTCAC CGAATC-3'; 5'-AGTCCGTGAATAGCTAACC-3'), *petB* (5'-TGTGTTTCTGTTTGAGCCGT-3'; 5'-TATT GTTCCCTTCCCGATAGG-3'). Праймеры для белок-кодирующих генов были разработаны на основе секвенированных пластомов видов *Allium* (Filyushin et al., 2016, 2018). Нуклеотидные последовательности выравнивали и анализировали в программе MEGA7.0 (<https://www.megasoftware.net/>).

Результаты и обсуждение

AFLP-анализ ядерного генома лука-поррея. С использованием отобранных комбинаций праймеров E-ACT/M-CAAGCG и E-AGG/M-CAAGCG проведен AFLP-анализ ядерного генома 65 образцов лука-поррея, включающих сорта отечественной и зарубежной селекции. В результате анализа и обработки полученных ДНК-спектров идентифицировано 760 фрагментов, 716 из которых были полиморфны для анализируемых образцов. Рассчитанные генетические расстояния между образцами лука-поррея варьировали от 0.4 до 0.76, а между образцами лука-поррея и видами, взятыми в качестве внешней группы, – от 0.65 до 0.82.

На дендрограмме (рис. 1) все образцы *A. porrum* формировали единый субкластер, а виды, взятые в качестве внешней группы, – сестринский субкластер. Выбор видов *A. ampeloprasum*, *A. commutatum* и *A. pyrenaicum* в качестве внешней группы обусловлен тем, что ряд исследователей объединяет их вместе с *A. porrum* и еще несколькими родственными видами в *Allium ampeloprasum* complex (Jones,

Mann, 1963; Hirscheegger et al., 2010; Guenaoui et al., 2013). Согласно системе APG IV, *A. porrum* – самостоятельный вид, в то время как ряд исследователей считает лук-порей подвигом *A. ampeloprasum* (Hirscheegger et al., 2010; Guenaoui et al., 2013). Однако на дендрограмме образцы *A. ampeloprasum* не образуют единой группы с образцами *A. porrum*, а кластеризуются с образцами *A. commutatum* и *A. pyrenaicum* (см. рис. 1).

Анализ геномной структуры изучаемых образцов лука-поррея в программе STRUCTURE 2.3.4 в сочетании с методикой (Evanno et al., 2005) показал их вероятное разделение на семь групп. Полученная диаграмма была наложена на AFLP-дендрограмму (см. рис. 1). Как видно на диаграмме, наборы ДНК-фрагментов образцов лука-поррея отличаются друг от друга менее чем 10 % (примеси других цветов на красном фоне), при этом образцы *A. porrum*, формирующие на дендрограмме отдельные группы, имеют схожую геномную структуру (см. рис. 1).

Выявленный высокий уровень полиморфизма ядерного генома *A. porrum* логично было бы объяснить типом размножения (перекрестное опыление). Аналогично высокий уровень внутривидовой вариабельности был показан для перекрестно-опыляемого лука репчатого *A. cepa* (Karić et al., 2018). При этом интересно отметить, что геном чеснока *A. sativum*, который размножается только вегетативно, также является крайне вариабельным (Volk et al., 2004; Zhao et al., 2011; Egea et al., 2017). По всей видимости, высокий уровень полиморфизма ядерного генома характерен для видов *Allium* и может быть связан с насыщенностью мобильными элементами и повторяющимися последовательностями, о чем свидетельствуют проведенные ранее цитологические и геномные исследования некоторых видов *Allium* (Suzuki et al., 2001; Jakse et al., 2008; Vitte et al., 2013; Peška et al., 2019). Помимо этого, для некоторых сельскохозяйственных культур было по-

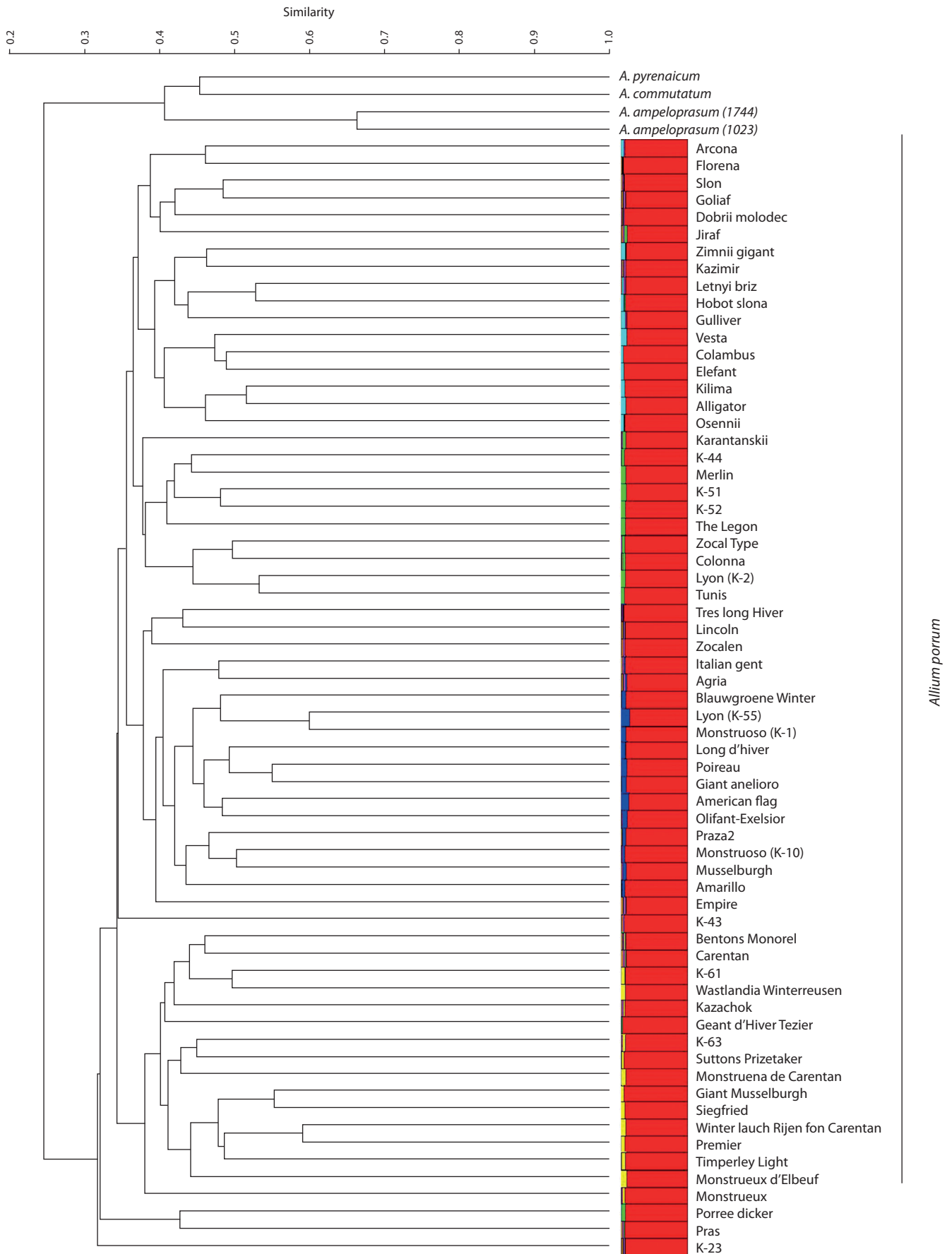


Fig. 1. UPGMA consensus tree of genetic differences in 65 *Allium porrum* accessions and 4 related species; diagram of the genomic structure of 65 analyzed leek accessions.

Table 2. Characteristics of the chloroplast genome regions analyzed in *A. porrum* accessions

Parameter	<i>rpl32-trnL</i>	<i>ndhJ-trnL</i>	<i>rps16</i> (intron)	<i>psaA</i>	<i>psaB</i>	<i>psbA</i>	<i>psbB</i>	<i>psbE</i>
Length, bp	793	837	844, 891, 913	2253	2205	1062	1527	252
SNP	2	3	0	0	1	0	0	0
Indels	0	0	2	0	0	0	0	0

казано, что уровень генетического разнообразия может быть связан с domestikацией и селекцией (Sun et al., 2018; Fu et al., 2019).

Анализ вариабельности участков хлоропластного генома. У изучаемых образцов лука-порея были амплифицированы и секвенированы девять участков хлоропластного генома, как некодирующие: межгенные спейсеры *rpl32-trnL* и *ndhJ-trnL*, интрон гена *rps16*, так и белок-кодирующие: гены *psaA*, *psaB*, *psbA*, *psbB*, *psbE*, *petB* (табл. 2).

Размеры межгенных спейсеров *rpl32-trnL* и *ndhJ-trnL* у всех исследуемых образцов лука-порея оказались инвариантны, в нуклеотидных последовательностях было выявлено два и три вариабельных сайта соответственно (см. табл. 2). Размеры этих участков у видов луков, взятых в качестве внешней группы, варьировали за счет наличия коротких инделей. Так, длина последовательности *rpl32-trnL* у образцов *A. ampeloprasum* составила 839 п. н., *A. commutatum* – 822 п. н., *A. pyrenaicum* – 785 п. н. Интересно, что в последовательностях *rpl32-trnL* и *ndhJ-trnL* у *A. ampeloprasum* обнаружены короткие индели и нуклеотидные замены, не встречающиеся у образцов *A. porrum*, но присутствующие у *A. commutatum*.

Длина последовательности интрона гена *rps16* у образцов лука-порея была различна. У большинства образцов интрон имел размер 913 п. н. У трех образцов *A. porrum* – Monstruoso (K-1), Wastlandia Winterreusen и Премьер – длина последовательности составила 891 п. н. Разница в длинах обусловлена тандемно повторяющимся 22-нуклеотидным фрагментом. У образцов видов *A. ampeloprasum*, *A. commutatum* и *A. pyrenaicum* этот повтор представлен одной копией. У единственного образца лука-порея – сорта Merlin – выявлена специфичная 69-нуклеотидная делеция, за счет чего длина интрона составила 844 п. н.

Последовательности шести генов фотосинтетического аппарата, кодирующих субъединицы фотосистем 1 и 2 (*psaA*, *psaB*, *psbA*, *psbB*, *psbE*), а также субъединицу цитохрома b (*petB*), были инвариантны по размеру у анализируемых образцов лука-порея и мономорфны (см. табл. 2). Единственная замена T327A в гене *psaB* была обнаружена у сортов Monstruoso (K-1), Wastlandia Winterreusen (K-62) и Казачок, однако она не приводила к замещению аминокислотного остатка. У образцов видов, взятых в качестве внешней группы, размеры изучаемых шести генов также были инвариантны.

Полученные для каждого образца последовательности были объединены и использованы для построения дендрограммы (рис. 2). На дендрограмме анализируемые образцы лука-порея образуют единый субкластер, базальную ветвь к которому формирует образец *A. pyrenaicum*. Образцы *A. ampeloprasum* и *A. commutatum* образуют

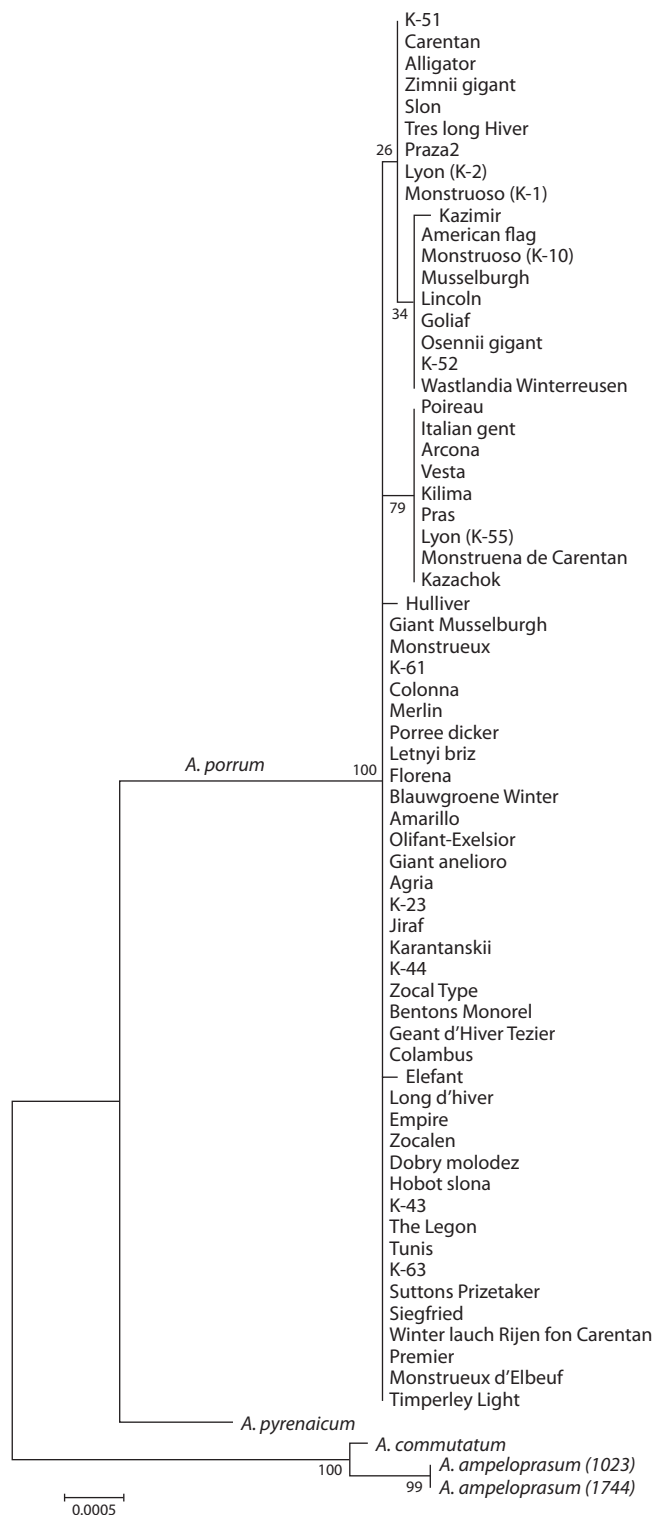


Fig. 2. Consensus tree based on nine regions of the chloroplast genome (MEGA7.0, Maximum Likelihood method, HKY model).

обособленный субкластер, в изученных последовательностях хлоропластного генома этих видов был обнаружен ряд общих инделей и SNP, отсутствующих у *A. porrum* и *A. pyrenaicum*, последовательности которых были высокомонологичны (99.62 %).

Анализ кодирующих и некодирующих участков хлоропластного генома суммарной длиной около 10500 п. н. для каждого из 65 образцов лука-порей показал крайне низкий уровень их полиморфизма – всего 6 SNP.

Данные о внутривидовом полиморфизме участков пластома известны лишь для нескольких видов *Allium*. Так, анализ трех межгенных спейсеров у 24 образцов дикорастущих популяций *A. roseum* также выявил низкую вариабельность хпДНК (Guétat et al., 2010). Отсутствие внутривидовой вариабельности пластома обнаружено при исследовании небольших выборок (до 10 образцов) видов секции *Rhizirideum* (Sinitsyna et al., 2016). Низкий уровень вариабельности участков хлоропластного генома, по-видимому, – характерный признак для представителей *Allium*, что, как предполагается, может быть следствием гибридизации или интрогрессии хлоропластного генома (Hanelt, 1996; Li et al., 2010, 2016).

Заклучение

В настоящей работе впервые на широкой выборке образцов изучен внутривидовой полиморфизм генома *A. porrum*. В результате выявлен высокий уровень полиморфизма ядерного генома лука-порей, сопоставимый с таковым у других сельскохозяйственно значимых видов *Allium*. Несмотря на то что лук-порей – популярная овощная культура, молекулярно-генетические исследования как всего генома в целом, так и отдельных локусов/генов ранее практически не проводились. Наши результаты по вариабельности ядерного генома *A. porrum* будут использованы для научно обоснованного подбора родительских пар для скрещивания с целью получения возможного гетерозисного эффекта в F_1 при селекции лука-порей в Федеральном научном центре овощеводства.

Список литературы / References

Агафонов А.Ф., Дубов М.В. Селекция лука порей для средней полосы России при выращивании безрассадным способом. Овощи России. 2018;3(41):47-51.
[Agafonov A.F., Dubova M.V. Selection of leek for the midland of Russia at cultivation no seedling method. Ovoshchi Rossii = Vegetable Crops of Russia. 2018;3:47-51. DOI 10.18619/2072-9146-2018-3-47-51. (in Russian)]

Филюшин М.А., Агафонов А.Ф. Анализ внутрисортного полиморфизма сортообразцов лука порей методами RAPD и ISSR анализов. Вестн. Российской академии сельскохозяйственных наук. 2015;5:53-56.
[Filyushin M.A., Agafonov A.F. Analyzing the intravarietal polymorphism in variety samples of leek by methods of RAPD and ISSR analysis. Vestnik Rossiyskoy Akademii Selskokhozyaystvennyh Nauk = Vestnik of the Russian Agricultural Science. 2015;5:53-56. (in Russian)]

Филюшин М.А., Холда О.А., Кочиева Е.З., Рыжова Н.Н. AFLP маркирование генотипов сортов лука-порей (*Allium porrum*). Генетика. 2011;47(4):560-565.
[Filyushin M.A., Kholda O.A., Kochieva E.Z., Ryzhova N.N. AFLP marking of the genotypes of leek (*Allium porrum*) varieties. Rus. J. Genet. 2011;47:492-496. DOI 10.1134/S1022795411030045.]

Bernaert N., De Loose M., Van Bockstaele E., Van Droogenbroeck B. Antioxidant changes during domestic food processing of the white shaft and green leaves of leek (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*). J. Sci. Food Agric. 2014;94(6):1168-1174. DOI 10.1002/jsfa.6389.

Bernaert N., Wouters D., De Vuyst L., De Paep D., De Clercq H., Van Bockstaele E., De Loose M., Van Droogenbroeck B. Antioxidant changes of leek (*Allium ampeloprasum* var. *porrum*) during spontaneous fermentation of the white shaft and green leaves. J. Sci. Food Agric. 2013;93(9):2146-2153. DOI 10.1002/jsfa.6020.

Brullo S., Brullo C., Cambria S., del Galdo G.G., Salmeri C. *Allium albanicum* (Amaryllidaceae), a new species from Balkans and its relationships with *A. meteoricum* Heldr. & Hausskn. ex Halácsy. PhytoKeys. 2019;119:117-136. DOI 10.3897/phytokeys.119.30790.

Egea L.A., Mérida-García R., Kilian A., Hernandez P., Dorado G. Assessment of genetic diversity and structure of large garlic (*Allium sativum*) germplasm bank, by diversity arrays technology “genotyping-by-sequencing” platform (DArTseq). Front. Genet. 2017; 8:98.

Evanno G., Regnaut S., Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. Mol. Ecol. 2005;14(8):2611-2620.

Filyushin M.A., Beletsky A.V., Mazur A.M., Kochieva E.Z. The complete plastid genome sequence of garlic *Allium sativum* L. Mitochondrial DNA. Part B. 2016;1(1):831-832. DOI 10.1080/23802359.2016.1247669.

Filyushin M.A., Beletsky A.V., Mazur A.M., Kochieva E.Z. Characterization of the complete plastid genome of lop-sided onion *Allium obliquum* L. (Amaryllidaceae). Mitochondrial DNA. Part B. 2018;3(1):393-394. DOI 10.1080/23802359.2018.1456369.

Fu Y.H., Yang C., Meng Q., Liu F., Shen G., Zhou M., Ao M. Genetic diversity and structure of *Coix lacryma-jobi* L. from its world secondary diversity center, Southwest China. Int. J. Genomics. 2019; 2019:9815697. DOI 10.1155/2019/9815697.

Govaerts R., Kington S., Friesen N., Fritsch R., Snijman D.A., Marcucci R., Silverstone-Sopkin P.A., Brullo S. World checklist of Amaryllidaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. 2018. <http://wmsp.science.kew.org> [Retrieved 1 October 2018].

Guenauoi C., Mang S., Figliuolo G., Neffati M. Diversity in *Allium ampeloprasum*: from small and wild to large and cultivated. Genet. Resour. Crop Evol. 2013;60:97-114. DOI 10.1007/s10722-012-9819-5.

Guétat A., Vilatersana R., Neffati M., Boussaid M. Genetic diversity in Tunisian rosy garlic populations (*Allium roseum* L.) as evidenced by chloroplastic DNA analysis: sequence variation of non-coding region and intergenic spacers. Biochem. Syst. Ecol. 2010;38:502-509.

Hanelt P. Taxonomic problems in Mediterranean *Allium*, and relationships with non-Mediterranean *Allium* groups. Bocconea. 1996;5: 259-265.

Hirscheegger P., Jakse J., Trontelj P., Bohanec B. Origins of *Allium ampeloprasum* horticultural groups and a molecular phylogeny of the section *Allium* (*Allium*: Alliaceae). Mol. Phylogenet. Evol. 2010; 54(2):488-497. DOI 10.1016/j.ympev.2009.08.030.

Jakse J., Meyer J.D., Suzuki G. Pilot sequencing of onion genomic DNA reveals fragments of transposable elements, low gene densities, and significant gene enrichment after methyl filtration. Mol. Genet. Genomics. 2008;280:287-292.

Jones H.A., Mann L.K. Onions and their Allies – Botany, Cultivation, and Utilization. London: Leonard Hill Books Limited, 1963.

Karić L., Golzardi M., Glamočlija P., Šutković J. Genetic diversity assessment of *Allium cepa* L. cultivars from Bosnia and Herzegovina using SSR makers. Genet. Mol. Res. 2018;17(1):gmr16039870. DOI 10.4238/gmr16039870.

Li Q.Q., Zhou S.D., He X.J., Yu Y., Zhang Y.C., Wei X.Q. Phylogeny and biogeography of *Allium* (Amaryllidaceae: Alliaceae) based on nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *rps16* sequences, focusing on the inclusion of species endemic to China. Ann. Bot. 2010;106(5):709-733. DOI 10.1093/aob/mcq177.

Li Q.Q., Zhou S.D., Huang D.Q., He X.J., Wei X.Q. Molecular phylogeny, divergence time estimates and historical biogeography within

- one of the world's largest monocot genera. *AoB Plants*. 2016;8: plw041. DOI 10.1093/aobpla/plw041.
- Peška V., Mandáková T., Ihradská V., Fajkus J. Comparative dissection of three giant genomes: *Allium cepa*, *Allium sativum*, and *Allium ursinum*. *Int. J. Mol. Sci.* 2019;20(3):733. DOI 10.3390/ijms20030733.
- Shaw J., Lickey E.B., Schilling E.E., Small R.L. Comparison of whole chloroplast genome sequences to choose noncoding regions for phylogenetic studies in angiosperms: the tortoise and the hare III. *Am. J. Bot.* 2007;94(3):275-288.
- Sinitsyna T.A., Herden T., Friesen N. Dated phylogeny and biogeography of the Eurasian *Allium* section Rhizirideum (Amaryllidaceae). *Plant Syst. Evol.* 2016;302:1311-1328.
- Soininen T.H., Jukarainen N., Soininen P. Metabolite profiling of leek (*Allium porrum* L.) cultivars by (1) H NMR and HPLC-MS. *Phytochem. Anal.* 2014;25(3):220-228. DOI 10.1002/pca.2495.
- Sun S., Zhou Y., Chen J., Shi J., Zhao H., Zhao H., Song W., Zhang M., Cui Y., Dong X., Liu H., Ma X., Jiao Y., Wang B., Wei X., Stein J.C., Glaubitz J.C., Lu F., Yu G., Liang C., Fengler K., Li B., Rafalski A., Schnable P.S., Ware D.H., Buckler E.S., Lai J. Extensive intraspecific gene order and gene structural variations between Mo17 and other maize genomes. *Nat. Genet.* 2018;50(9):1289-1295. DOI 10.1038/s41588-018-0182-0.
- Suzuki G., Ura A., Saito N., Do G.S., Seo B.B., Yamamoto M., Mukai Y. BAC FISH analysis in *Allium cepa*. *Genes Genet. Syst.* 2001; 76:251-255.
- Vitte C., Estep M.C., Leebens-Mack J., Bennetzen J.L. Young, intact and nested retrotransposons are abundant in the onion and asparagus genomes. *Ann. Bot.* 2013;112:881-889.
- Volk G.M., Henk A.D., Richards C.M. Genetic diversity among U.S. garlic clones as detected using AFLP methods. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 2004;129(4):559-569.
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijmans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M., Zabeau M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 1995;23: 4407-4414.
- Zhao W.G., Chung J.W., Lee G.A., Ma K.H., Kim H.H., Kim K.T., Chung I.M., Lee J.K., Kim N.S., Kim S.M., Park Y.J. Molecular genetic diversity and population structure of a selected core set in garlic and its relatives using novel SSR markers. *Plant Breed.* 2011; 130:46-54.
- Zhu S., Tang S., Tan Z., Yu Y., Dai Q., Liu T. Comparative transcriptomics provide insight into the morphogenesis and evolution of fistular leaves in *Allium*. *BMC Genomics.* 2017;18:60. DOI 10.1186/s12864-016-3474-8.

ORCID ID

E.A. Dyachenko orcid.org/0000-0002-0570-9751
M.A. Filyushin orcid.org/0000-0003-3668-7601

Acknowledgements. The AFLP analysis was supported by the Russian Foundation for Basic Research, project 19-016-00054. The sequencing of chloroplast genome regions was supported by the program of the President of the Russian Federation for governmental support of young Russian Candidates of Sciences, project MK 3350.2019.11.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Received May 23, 2019. Revised July 1, 2019. Accepted July 15, 2019.