

Анализ полиморфизма генома представителей синтетического вида *×Trititrigia cziczinii* Tsvet. методом AFLP

А.А. Трифонова¹✉, К.В. Борис¹, Л.В. Дедова¹, В.А. Мельник¹, Л.П. Иванова², Н.П. Кузьмина², С.В. Завгородний², В.П. Упелниек²

¹ Институт общей генетики им. Н.И. Вавилова Российской академии наук, Москва, Россия

² Главный ботанический сад им. Н.В. Цицина Российской академии наук, Москва, Россия

×Trititrigia cziczinii Tsvet. – синтетический вид, полученный в результате гибридизации различных видов пшеницы и пырея. *×T. cziczinii*, – обладает уникальными признаками: многолетность, способность к отрастанию после скашивания на зерно, высокая адаптивность, устойчивость к болезням и вредителям, высокое содержание белка и клейковины в зерне. Это позволяет считать его перспективной сельскохозяйственной культурой. Новый вид является удобным объектом для проведения фундаментальных исследований в области генетики, филогении и эволюции злаков (Poaceae). Однако прежде генетические исследования *×T. cziczinii* практически не проводились. Цель настоящей работы – изучение генетического разнообразия 24 представителей двух подвидов (*ssp. Submitans* и *ssp. Perenne*) вида *×T. cziczinii*. Для оценки межвидовых различий в анализ было включено 17 образцов других видов трибы Triticeae (*Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Agropyron glaucum* и *Agropyron elongatum*, а также образцы пшенично-пырейных и пшенично-элимусных гибридов (ППГ и ПЭГ)). В работе был применен метод маркирования AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism), который позволил выявить достаточно высокий уровень полиморфизма изученных образцов. С помощью двух комбинаций праймер/фермент (*EcoRI*-ACT/*MseI*-CCC и *EcoRI*-ACT/*MseI*-CTA) удалось идентифицировать 227 фрагментов, из которых 224 были полиморфны (98.68 %), а уровень внутривидового полиморфизма 24 образцов *×T. cziczinii* составил 68.15 %. Найдены фрагменты AFLP-спектров, специфичные для представителей *×T. cziczinii* и изученных видов пырея, которые могут стать основой для создания маркеров, выявляющих интрогрессии генетического материала рода *Agropyron* в геноме представителей *×T. cziczinii*. Полученные результаты свидетельствуют о большей генетической близости *×T. cziczinii* к *T. aestivum*, чем к представителям рода *Agropyron*. Так, по данным кластерного анализа, представители *×T. cziczinii* и сорта мягкой пшеницы объединились в один подкластер, внутри которого образцы двух видов образуют отдельные группы. При этом в результате оценки внутривидового генетического разнообразия *×T. cziczinii* не было выявлено достоверной дифференциации представителей подвидов *Submitans* и *Perenne*, что, вероятно, связано с не до конца определенной генетической природой многолетности, основного признака, по которому эти подвиды разделены. Проведенное изучение части уникальной коллекции синтетического вида *×T. cziczinii* позволило получить первые данные о генетике вида, более ранние исследования затрагивали в основном фенотипические и хозяйственно ценные признаки. Применяемый в настоящем исследовании метод AFLP-маркирования показал высокую эффективность при работе с малоизученным видом, а его результаты перспективны и полезны для понимания генетической структуры нового вида (*×T. cziczinii* Tsvet.).

Ключевые слова: *×Trititrigia cziczinii* Tsvet.; синтетический вид; межвидовая гибридизация; AFLP-анализ; генетическое разнообразие.

Genome polymorphism of the synthetic species *×Trititrigia cziczinii* Tsvet. inferred from AFLP analysis

А.А. Трифонова¹✉, К.В. Борис¹, Л.В. Дедова¹, В.А. Мельник¹, Л.П. Иванова², Н.П. Кузьмина², С.В. Завгородний², В.П. Упелниек²

¹ Vavilov Institute of General Genetics, RAS, Moscow, Russia

² N.V. Tsitsin Main Botanical Garden, RAS, Moscow, Russia

×Trititrigia cziczinii Tsvet. is a synthetic species obtained as a result of hybridization of different wheat and wheat-grass species. *×T. cziczinii* has unique characteristics, as it is a perennial species, with the ability to grow after mowing, high adaptability, resistance to diseases and pests, high protein and gluten content in the grain. All this makes it a promising new crop for agriculture. The new species is a good object for fundamental research in the field of genetics, phylogeny and evolution of cereals (Poaceae). However, there were practically no genetic studies of *×T. cziczinii*. The aim of this work was to study the genetic diversity of 24 representatives of two *×T. cziczinii* subspecies (*ssp. Submitans* and *ssp. Perenne*). To estimate interspecific differences, 17 samples of other tribe Triticeae species (*Triticum aestivum*, *Triticum durum*, *Agropyron glaucum* and *Agropyron elongatum*, as well as samples of *Triticum-Agropyron* and *Triticum-Elymus* hybrids) were included in the analysis. For the study, AFLP method (Amplified Fragment Length Polymorphism) was chosen, which allowed us to reveal a sufficiently high polymorphism level of the studied samples. The two primer/enzyme combinations (*EcoRI*-ACT/*MseI*-CCC, *EcoRI*-ACT/*MseI*-CTA) allowed the identification of 227 fragments, 224 of them were polymorphic (98.68 %), and the level of intraspecific polymorphism of 24 *×T. cziczinii* samples was 68.15 %. The identified fragments of AFLP spectra, specific for the *×T. cziczinii* representatives and the studied wheat-grass species, can be the basis for creating markers that will detect introgressions of genetic material of the genus *Agropyron* in the *T. cziczinii* genome. Our results indicate a greater genetic relatedness of *×T. cziczinii* to *T. aestivum* than to representatives of the genus *Agropyron*. According to the cluster analysis, representatives of *×T. cziczinii* and varieties of bread wheat were combined into a single subcluster, within which the samples of two species form separate groups. At the same time, the evaluation of the intraspecific genetic diversity of *×T. cziczinii* showed

no reliable differentiation of representatives of the subspecies *Submitans* and *Perenne*, which is probably due to uncertain genetic nature of perenniality, the main feature that divides these subspecies. The study of the unique $\times T. cziczinii$ collection allowed us to obtain the first data on the genetics of the species, while previous studies were focused mainly on phenotypic and economically valuable traits. AFLP analysis used in this study showed high efficiency when working with less studied species, and its results are promising and useful for understanding the genetic structure of the new species ($\times T. cziczinii$ Tsel.).

Key words: $\times Triticigia cziczinii$ Tsel.; synthetic species; interspecific hybridization; AFLP-analysis; genetic diversity.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Трифонова А.А., Борис К.В., Дедова Л.В., Мельник В.А., Иванова Л.П., Кузьмина Н.П., Завгородний С.В., Упельник В.П. Анализ полиморфизма генома представителей синтетического вида $\times Triticigia cziczinii$ Tsel. методом AFLP. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(6):648-653. DOI 10.18699/VJ18.406

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Trifonova A.A., Boris K.V., Dedova L.V., Melnik V.A., Ivanova L.P., Kuzmina N.P., Zavgorodny S.V., Upelniek V.P. Genome polymorphism of the synthetic species $\times Triticigia cziczinii$ Tsel. inferred from AFLP analysis. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Seleksii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(6):648-653. DOI 10.18699/VJ18.406 (in Russian)

Отдаленная гибридизация открывает широкие возможности для использования геномного потенциала диких видов растений. Так, представители видов пырея являются донорами генов устойчивости к ряду заболеваний, адаптивности и качества и, соответственно, могут быть использованы в селекционных программах по улучшению культурных видов злаков. Поэтому отдаленные гибриды, полученные от скрещивания культурных и диких видов, могут стать не только хорошим объектом для фундаментальных исследований, но и перспективными формами для селекции и сельскохозяйственного производства.

Генетическое разнообразие отдаленных гибридов, в частности синтетических (рукотворных), полученных с помощью межродовой гибридизации, изучается недостаточно активно, хотя подобные исследования позволяют получать данные о механизмах межгеномных взаимодействий в процессе образования новых таксонов при гибридизации, расширить знания в области сетчатой эволюции злаков – одного из способов объяснения главных эволюционных путей в трибе Triticeae.

$\times Triticigia cziczinii$ Tsel. – синтетический вид, полученный под руководством академика Н.В. Цицина методом отдаленной гибридизации и выделенный в отдельный род *Triticigia* Н.Н. Цвелевым (1973). В качестве родительских форм использовали виды пырея (*Agropyron elongatum* (Host) P. Beauv. (syn. *Thinopyrum ponticum* (Podp.) Zhi W. Liu & R.R.-C. Wang) и *A. glaucum* (Desf. ex DC) Roem. and Schult. (syn. *Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & D.R. Dewey)) и сорта мягкой и твердой пшеницы (*Triticum aestivum* L. и *T. durum* Desf.) в различных комбинациях. Описывая новый синтетический вид, отличительной особенностью которого является то, что после созревания и уборки зерна развиваются побеги возобновления, т. е. происходит отрастание новых побегов, которые способны образовывать колос, Н.В. Цицин (1960) выделил два подвита: ssp. *Submitans* (отрастающая форма) и ssp. *Perenne* (многолетняя форма). Геном $\times T. cziczinii$ представлен 56 хромосомами, из которых 42 пшеничные и 14 пырей-

ные (Любимова и др., 1976). Кроме того, растения этого вида обладают устойчивостью к болезням и вредителям, высокой адаптивностью.

С 1960 г. коллекция образцов $\times T. cziczinii$ поддерживается в отделе отдаленной гибридизации Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН; сотрудниками проводятся многолетние наблюдения и исследования этого вида, отбираются новые перспективные формы. Но только в последние годы начаты работы по использованию молекулярно-генетических маркеров для оценки генетического разнообразия коллекции. В 2012 г. впервые исследован полиморфизм запасных белков (глиадинов) $\times T. cziczinii$ (Упельник и др., 2012). Однако анализ генетического разнообразия вида $\times T. cziczinii$ с помощью ДНК-маркеров ранее не проводился.

Одним из эффективных методов изучения генетического разнообразия растений является AFLP-анализ (Amplified Fragment Length Polymorphism). Он широко используется для изучения популяционного полиморфизма, филогенетических отношений, идентификации видов, а также маркирования локусов, сцепленных с хозяйственно ценными признаками (Alinkut et al., 2003; El Rabey et al., 2014; Kaaya et al., 2014; Xue, Chu, 2015). Этот метод довольно часто применяется и для исследования геномов злаков, причем как культурных (El Rabey et al., 2014; Садыгов и др., 2017), так и дикорастущих (Kaaya et al., 2014; Горюнова и др., 2017) видов.

Целью настоящей работы было изучение внутривидового генетического разнообразия представителей двух подвидов синтетического вида $\times Triticigia cziczinii$ Tsel., а также межвидового разнообразия представителей дикорастущих и культурных форм злаков, использованных при создании этого вида, методом AFLP-анализа.

Материалы и методы

Исследовано восемь образцов подвита ssp. *Submitans* (однолетние, отрастающие) – линии № 12, 38, 40, 80, 166, 192, 1689, 3305 и 15 образцов подвита ssp. *Perenne* (многолетние) – линии № 24, 33, 249, 249-1, 548, 1416,

1451, 1514, 1533, 1797, 1682, 3202, 4015, 209, 3П26. Разделение по признаку многолетности происходит в зависимости от числа перезимовавших растений и может зависеть от условий зимовки. Поэтому линии подвида *Perenne* могут в определенные годы развиваться как однолетние, отрастающие. Лишь линии 24, 249, 249-1 можно считать облигатно многолетними (по данным длительных наблюдений).

Кроме того, в анализ было включено шесть образцов двух видов пырея (три образца *A. glaucum* и три – *A. elongatum*), четыре образца мягкой пшеницы *T. aestivum* (сорта Chinese Spring, Мироновская 808, Московская 39 и Заря), один образец твердой пшеницы *T. durum* (сорт Харьковская 21), четыре линии пшенично-пырейных гибридов (ППГ-254, ППГ-260, ППГ-283, ППГ-284), два сорта ППГ (Оста, Снегиревская 10) и один сорт пшенично-элимусного гибрида – ПЭГ (Рубежная).

Образцы родов *×Trititrigia* и *Agropyron*, а также пшенично-пырейные и элимусные гибриды получены из коллекции Главного ботанического сада им. Н.В. Цицина РАН. Сорта мягкой и твердой пшеницы взяты из коллекции Института общей генетики им. Н.И. Вавилова РАН (ИОГен РАН).

ДНК образцов рода *Agropyron* и вида *×T. cziczinii* выделяли из свежих листьев, а образцов рода *Triticum*, ППГ и ПЭГ – из пятидневных проростков стандартным СТАВ-методом с модификациями (Doyle, 1991). AFLP-анализ проводили стандартным методом (Vos et al., 1995). Для первого раунда амплификации была использована следующая комбинация праймер/фермент: *EcoRI-A* и *MseI-C*. Для второго раунда амплификации по литературным данным (Садыгов и др., 2017) были отобраны две комбинации: *EcoRI-ACT/MseI-CCC* и *EcoRI-ACT/MseI-CTA*. Фракционирование продуктов амплификации осуществляли путем электрофореза в 6 % полиакриламидном геле (ПААГ) в 1×кратном ТВЕ-буфере. Окрашивание проводили нитратом серебра, проявляли гель по методу № 3 (Benbouza et al., 2006). Для определения длины амплифицированных фрагментов использовали маркер молекулярной массы 100 bp DNA ladder (Invitrogen) (0.05 г/л).

Результаты AFLP-анализа суммировали в виде бинарной матрицы (1/0) в программе Microsoft Excel. Анализ методом главных координат (PCA), а также построение дендрограммы выполняли в программе PAST 3.16 (Hammer et al., 2001) на основе индекса генетического сходства Дайса, который исключает из рассмотрения совместное отсутствие фрагмента (так как существует возможность того, что нулевые аллели не гомологичны), и в некоторых исследованиях показаны преимущества его использования (Duarte et al., 1999). Кластерный анализ выполнен с использованием метода UPGMA, оценку достоверности проводили с помощью бутстреп-анализа с 1000 реплик.

Результаты

В ходе AFLP-анализа 41 образца трибы Triticeae выявлено 227 фрагментов (137 для праймера *EcoRI-ACT/MseI-CCC* и 90 для праймера *EcoRI-ACT/MseI-CTA*), из которых 224 были полиморфны (98.68 %).

Средний показатель коэффициента генетического сходства между всеми образцами составил 0.668. Наиболее

генетически близкими оказались образцы ППГ-254 и сорт ПЭГ Рубежная (0.982). Наименьший уровень генетического сходства отмечен для образцов *A. elongatum* и сорта ПЭГ Рубежная (0.087).

На основании рассчитанных индексов сходства проведен кластерный анализ (рис. 1).

Как видно из рис. 1, на дендрограмме четко выделяются два кластера с высоким значением бутстреп-поддержки (индекс бутстрепа (ИБ) = 100). Представители рода *Agropyron* образуют первый кластер, который в свою очередь делится на два подкластера, соответствующих видам *A. glaucum* и *A. elongatum*.

Все остальные образцы объединяются во второй кластер. Обособленное положение (ИБ = 100) в этом кластере занимает образец твердой пшеницы сорта Харьковская 21. Отдельный подкластер во втором кластере образуют линии и сорта ППГ (ППГ-254, ППГ-260, ППГ-283, ППГ-284, Оста, Снегиревская 10) и сорт ПЭГ (Рубежная). Представители *×T. cziczinii* и сорта мягкой пшеницы объединились в еще один подкластер, внутри которого образцы двух видов дифференцированы, пусть и с небольшим значением индекса бутстрепа (ИБ = 58).

Спектры фрагментов представителей *×T. cziczinii* были более сходны со спектрами *T. aestivum*, чем со спектрами *A. glaucum* и *A. elongatum*. Детектировано 10 фрагментов, присутствующих только у представителей рода *Agropyron*, и 24 фрагмента, присутствующих только у *T. aestivum* и представителей двух подвигов *×Trititrigia*. Но найдены также фрагменты, специфичные для *A. glaucum*, *A. elongatum* и представителей *×T. cziczinii*. Было детектировано три фрагмента, амплифицирующихся только у образцов рода *Agropyron* и у всех представителей ssp. *Submitans* и ssp. *Perenne*, а также один фрагмент, который амплифицировался у образцов *T. aestivum*, а в спектрах *A. glaucum*, *A. elongatum* и *×T. cziczinii* отсутствовал.

В ходе работы была проведена оценка внутривидового полиморфизма *×T. cziczinii*. Уровень полиморфизма изучаемых образцов *×T. cziczinii* составил 68.15 %. При этом у представителей подвида *Submitans* уровень полиморфизма был ниже, чем у представителей подвида *Perenne* (52.08 и 61.07 % соответственно), что может быть объяснено меньшим числом образцов этого подвида, доступных для анализа.

Коэффициент генетического сходства Дайса между образцами *×T. cziczinii* оказался достаточно высоким (среднее значение 0.855), он варьировал от 0.755 до 0.974. Максимальный уровень сходства между образцами подвида *Perenne* составил 0.974 (образцы 4015 и 209), минимальный уровень сходства отмечен между образцами 24 и 3202 (0.755). Среди образцов подвида *Submitans* этот показатель варьировал от 0.784 (между образцами 38 и 3305) до 0.961 (между образцами 40 и 80).

На основании значений индексов генетического сходства выполнен анализ методом главных координат, отражающий различия между изучаемыми образцами *×T. cziczinii* (рис. 2). Как видно из приведенного графика, а также на дендрограмме, нет четкого разделения между образцами двух подвигов. Это подтверждается также отсутствием фрагментов, специфичных для AFLP-спектра определенного подвида. Достаточно обособлены образцы подвида

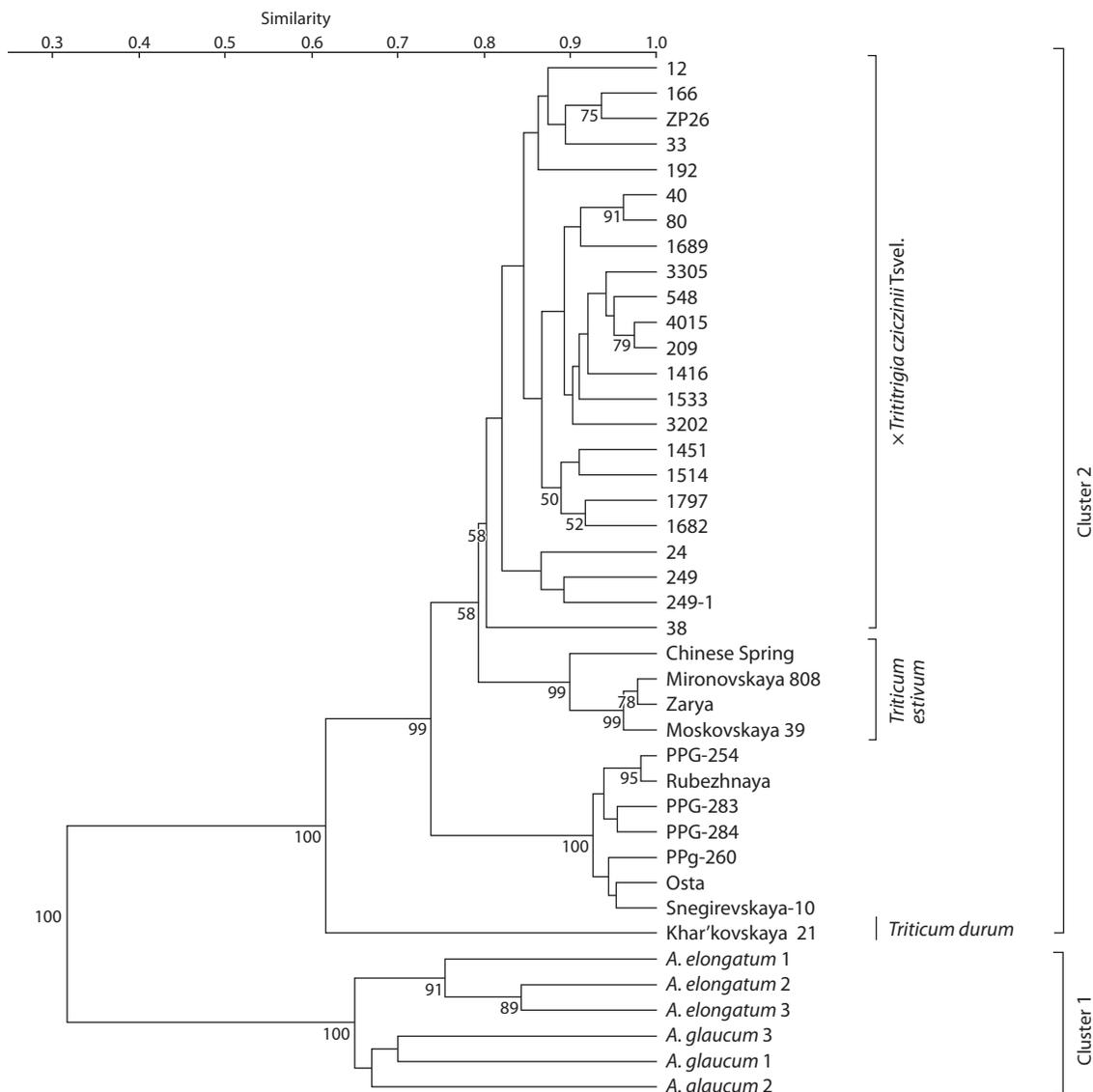


Fig. 1. Cluster analysis of AFLP data for all studied samples.

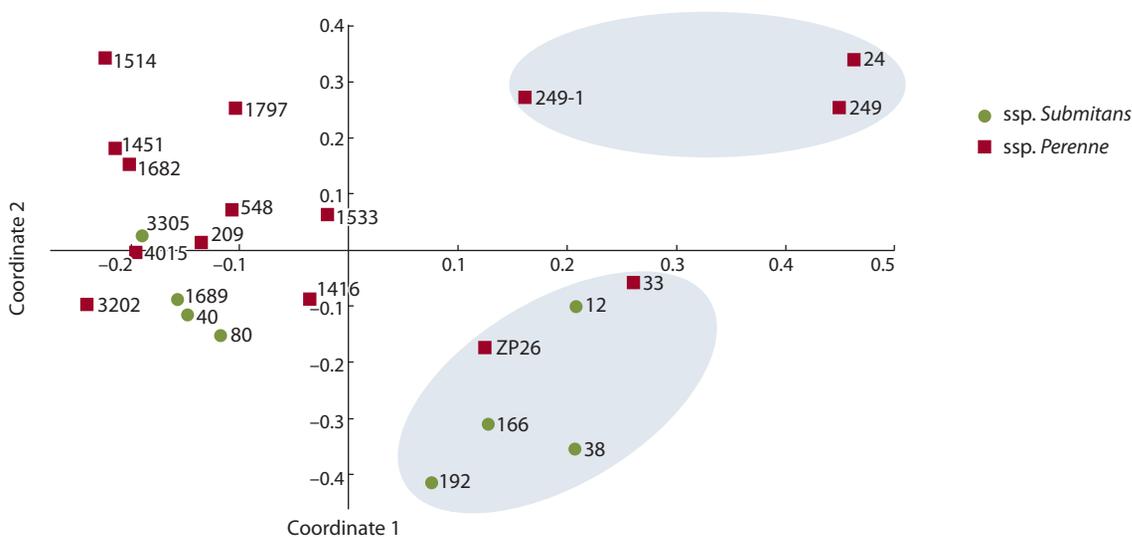


Fig. 2. Differentiation of studied *xT. cziczinii* Tsvet. samples by principal coordinate analysis based on AFLP data.

Perenne: 24, 249, 249-1. Отдельную группу формируют также образцы 12, 33, 38, 166, 192 и ЗП26.

Обсуждение

Метод AFLP-маркирования достаточно широко используется для анализа генетического разнообразия трибы Triticeae (Khalighi et al., 2008; Colomba et al., 2011; Jensen et al., 2016; Горюнова и др., 2017; Садыгов и др., 2017). В настоящем исследовании этот метод был впервые применен для анализа генетического разнообразия синтетического вида *×T. cziczinii* Tsvet. и позволил выявить и оценить как внутривидовой полиморфизм, так и межвидовые различия. Были использованы две праймерные комбинации, ранее успешно примененные для оценки генетического разнообразия твердой пшеницы (Садыгов и др., 2017). Выбранные комбинации праймер/фермент оказались эффективны и для анализируемой выборки (всего получено 227 фрагментов), а уровень межвидового полиморфизма был достаточно высок и составил 98.68 %.

Уровень разнообразия внутри вида *×T. cziczinii* был меньше (68.15 %). Однако, по сравнению с другими исследованиями внутривидового разнообразия представителей рода *Triticum*, его можно считать высоким. Так, при исследовании внутривидового полиморфизма разных видов пшеницы с помощью AFLP-маркирования уровень полиморфизма не превышал 64 % (Khan et al., 2014). Уровень генетического разнообразия, выявленный в ходе AFLP-анализа 54 образцов синтетической гексаплоидной пшеницы, полученной путем скрещивания *T. dicoccum* и *A. tauschii*, составил 39 %, что, как отмечают авторы (Lage et al., 2003), выше, чем у обычно наблюдаемого для культивируемых гексаплоидных пшениц уровня полиморфизма (12–21 %).

В AFLP-спектрах образцов *×T. cziczinii* преобладают компоненты пшеницы. В результате кластерного анализа полученных результатов установлено, что вид *×T. cziczinii* является промежуточной формой и генетически ближе к роду *Triticum*, чем к роду *Agropyron* (см. рис. 1). Близость вида *×T. cziczinii* к представителям рода *Triticum* подтверждается также данными, полученными в результате анализа электрофоретических спектров глинадина. Спектры глинадина *×T. cziczinii* типичны для представителей рода *Triticum*, в них присутствовали также и отдельные компоненты проламинов пырея (Упельник и др., 2012). Такая дифференциация вполне объяснима, ведь при получении *×T. cziczinii* применялись сложные схемы скрещиваний, в том числе возвратные скрещивания с пшеницей, для элиминации нежелательных признаков пырея.

Идентифицированные в настоящем исследовании фрагменты, специфичные для представителей *×T. cziczinii* и изучаемых видов пырея, могут стать основой для создания маркеров, которые будут выявлять интрогрессии генетического материала рода *Agropyron* в геноме представителей *×T. cziczinii*. Это может быть использовано в селекционной работе для отслеживания передачи генетического материала пырея и последующей защиты и идентификации сортов/генотипов синтетического вида.

Поиск маркеров, позволяющих выявлять интрогрессии генетического материала в гибридных видах, был ранее проведен П.Ю. Крупиным с коллегами (2011). В своей

работе они идентифицировали специфичные аллельные варианты для видов рода *Agropyron* и сорта пшенично-пырейного гибрида Истра 1 по шести микросателлитным локусам, отсутствующим у пшеницы. Однако следует заметить, что в это исследование был включен всего один образец ППГ, а размер аллелей микросателлитных локусов (п. н.) пшеницы, использованной авторами для сравнения, был взят из литературных данных.

Образцы ППГ формируют на дендрограмме отдельную группу (см. рис. 1), что, по всей видимости, связано с тем, что у этих гибридов в геноме встречаются отличные от *×T. cziczinii* комбинации хромосом от родительских форм. Однако средний коэффициент сходства между образцами ППГ и образцами мягкой пшеницы сопоставим с таковым между представителями *×T. cziczinii* и образцами мягкой пшеницы (0.790 и 0.794 соответственно). Интересно, что вместе с образцами ППГ кластеризуется и образец ПЭГ (сорт Рубежная), возможно, из-за похожего набора родительских форм пшеницы, использованных для их создания, а также из-за сходства геномов элимуса и пырея.

В результате проведенной оценки внутривидового генетического разнообразия *×T. cziczinii* не было выявлено достоверной дифференциации представителей подвидов *Submitans* и *Perenne* (см. рис. 2). Кроме того, коэффициент генетического сходства между всеми изучаемыми образцами *×T. cziczinii* совпадает со значениями этого показателя, выявленными для образцов внутри каждого подвида. Отметим обособленное положение на графике главных координат (см. рис. 2) образцов 24, 249, 249-1, которые по описанию являются облигатно многолетними формами (см. Материалы и методы). Вероятно, именно эти образцы должны быть отнесены к ssp. *Perenne*. Однолетние отрастающие и многолетние образцы 12, 33, 38, 166, 192 и ЗП26 располагаются на графике главных координат отдельно от основной группы образцов, состоящей из линий, которые по определенным ботаническим характеристикам, выделенным еще Н.В. Цициным, относятся к разным подвидам (см. рис. 2). Возможным объяснением полученного результата можно считать не окончательно выявленную природу основного признака, по которому эти подвиды разделены, – многолетность. Необходимо проведение дополнительных исследований, направленных на уточнение ботанических, а также генетических параметров, разделяющих изучаемые подвиды.

Таким образом, впервые проведен AFLP-анализ представителей двух подвидов вида *×T. cziczinii* Tsvet. (ssp. *Submitans* и ssp. *Perenne*). Примененные комбинации праймеров позволили выявить и оценить уровень внутривидового полиморфизма ранее не изучавшегося синтетического вида, а также генетические различия с видами рода *Triticum* и *Agropyron*. Определено, что, исходя из структуры генома изучаемого вида, вид *×T. cziczinii* генетически более близок к роду *Triticum*, чем к роду *Agropyron*, что вполне закономерно. Показан низкий уровень дифференциации между представителями двух подвидов. Найдены фрагменты, специфичные для образцов рода *Agropyron* и *×T. cziczinii*. Идентифицированные фрагменты могут стать основой для создания маркеров, которые будут выявлять интрогрессии генетического материала *Agropyron* в геноме представителей *×T. cziczinii*.

Acknowledgements

This work was supported by RAS Presidium Program 41 “Biodiversity of natural systems and bioresources of Russia”, project 0112-2018-0023; and by Governmental contract 118021490111-5 with the State Botanical Garden, Russian Academy of Sciences.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

References

- Altinkut A., Kazan K., Gozukirmizi N. AFLP marker linked to water-stress-tolerant bulks in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Genet. Mol. Biol.* 2003;26(1):77-82. DOI 10.1590/S1415-47572003000100013.
- Benbouza H., Jacquemin J., Baudoin J., Mergeai G. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2006;10(2):77-81.
- Colomba M.S., Gregorini A. Genetic diversity analysis of the durum wheat *Graziella* Ra, *Triticum turgidum* L. subsp. *durum* (Desf.) Husn. (Poales, Poaceae). *Biodivers. J.* 2011;2:73-84.
- Doyle J. DNA protocols for plants. *Molecular Techniques in Taxonomy NATO ASI Series.* 1991;57:283-293.
- Duarte J.M., Santos J.B.D., Melo L.C. Comparison of similarity coefficients based on RAPD markers in the common bean. *Genet. Mol. Biol.* 1999;22(3):427-432. DOI 10.1590/S1415-47571999000300024.
- El Rabey H.A., Al-Malki A.L., Abulnaja K.O., Ebrahim M.K., Kumosani T., Khan J.A. Phylogeny of ten species of the genus *Hordeum* L. as revealed by AFLP markers and seed storage protein electrophoresis. *Mol. Biol. Rep.* 2014;41(1):365-372. DOI 10.1007/s11033-013-2870-2.
- Goryunova S.V., Chikida N.N., Kochieva E.Z. AFLP, RAPD, and ISSR analysis of intraspecific polymorphism and interspecific differences of allotetraploid species *Aegilops kotschy* Boiss. and *Aegilops variabilis* Eig. *Russ. J. Genetics (Moscow).* 2017;53(5):568-575. DOI 10.1134/S1022795417050040.
- Hammer O., Harper D.A.T., Ryan P.D. PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Paleontologia Electronica.* 2001;4(1):1-9.
- Jensen K.B., Yan X., Larson S.R., Wang R.R.C., Robins J.G. Agromomic and genetic diversity in intermediate wheatgrass (*Thinopyrum intermedium*). *Plant Breed.* 2016;135(6):751-758. DOI 10.1111/pbr.12420.
- Kaya H.B., Demirci M., Tanyolac B. Genetic structure and diversity analysis revealed by AFLP on different *Echinochloa* spp. from northwest Turkey. *Plant Syst. Evol.* 2014;300(6):1337-1347. DOI 10.1007/s00606-013-0965-9.
- Khalighi M., Arzani A., Poursiahbidi M.A. Assessment of genetic diversity in *Triticum* spp. and *Aegilops* spp. using AFLP markers. *Afr. J. Biotechnol.* 2008;7(5):546-552.
- Khan M.K., Pandey A., Choudhary S., Hakki E.E., Akkaya M.S., Thomas G. From RFLP to DArT: molecular tools for wheat (*Triticum* spp.) diversity analysis. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2014;61(5):1001-1032. DOI 10.1007/s10722-014-0114-5.
- Krupin P.Yu., Divashuk M.G., Fesenko I.A., Karlov G.I. Adaptation of wheat microsatellite SSR-markers for the genome analysis of intermediate wheatgrass, tall wheatgrass, and wheat-wheatgrass hybrids. *Izvestiya Timiryazevskoy Selskokhozyaystvennoy Akademii = Proceedings of the Timiryazev Agricultural Academy.* 2011;3:49-57. (in Russian)
- Lage J., Warburton M.L., Crossa J., Skovmand B., Andersen S.B. Assessment of genetic diversity in synthetic hexaploid wheats and their *Triticum dicoccum* and *Aegilops tauschii* parents using AFLPs and agronomic traits. *Euphytica.* 2003;134(3):305-317.
- Lyubimova V.F., Myasnikova A.P., Belov V.I. Cytogenetic study of the perennial wheat forms. *Genetics and Breeding of Distant Hybrids.* Moscow: Nauka Publ., 1976. (in Russian)
- Sadigov G.B., Trifonova A.A., Kudryavtsev A.M. Genetic diversity in collection of cultivars and varieties of *Triticum durum* Desf. from Azerbaijan. *Russ. J. Genetics (Moscow).* 2017;53(5):576-586. DOI 10.1134/S1022795417050088.
- Tsitsin N.V. New species and new varieties of wheat. *Byulleten' Glavnogo Botanicheskogo Sada = Bulletin of the Central Botanical Garden.* 1960;38:38-41. (in Russian)
- Tsvelev N.N. Conspectus specierum tribus *Triticeae* Dum. familiae Poaceae in flora USSR. *Novosti Systematiki Vysshykh Rasteniy = News in Higher Plant Taxonomy.* 1973;10:19-59. (in Russian)
- Upelniek V.P., Belov V.I., Ivanova L.P., Dolgova S.P., Demidov A.S. Heritage of academician N.V. Tsitsin: state-of-the-art and potential of the collection of intermediate wheat × couch-grass hybrids. *Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selektzii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding.* 2012;16(3): 667-674. (in Russian)
- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijmans M., van de Lee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* 1995;23(21):4407-4414.
- Xue Y., Chu L. A rapid identification of barley varieties using DNA-AFLP. *J. Institute of Brewing.* 2015;121(4):496-501. DOI 10.1002/jib.253.

ORCID ID

- A.A. Trifonova orcid.org/0000-0001-9618-5932
K.V. Boris orcid.org/0000-0002-8479-4949
L.V. Dedova orcid.org/0000-0003-1531-8938
V.A. Melnik orcid.org/0000-0001-8677-4354
L.P. Ivanova orcid.org/0000-0002-3466-7263
N.P. Kuzmina orcid.org/0000-0002-2266-4348
S.V. Zavgorodny orcid.org/0000-0001-8264-4499
V.P. Upelniek orcid.org/0000-0002-6055-8861