



Изучение генетического полиморфизма диплоидной пшеницы *Triticum boeoticum* Boiss. с использованием SSR-маркеров

М.А. Аббасов

Институт генетических ресурсов Национальной академии наук Азербайджана, Баку, Азербайджан

Диплоидная пшеница *Triticum boeoticum* Boiss. (геном AA) – потенциальный источник новых ценных аллелей для улучшения возделываемых видов пшеницы. В связи с этим оценка внутривидового разнообразия *T. boeoticum* и ДНК-паспортизация образцов этого вида является актуальной задачей. В настоящей работе исследовано генетическое разнообразие более 60 образцов *T. boeoticum* с использованием 11 микросателлитных маркеров. По данным SSR-анализа было идентифицировано 83 аллеля, в среднем наблюдалось по 7.5 аллелей на locus. Величины ожидаемой (H_E) и наблюдаемой (H_O) гетерозиготности варьировали в пределах 0.17–0.89 и 0.00–0.74 при среднем показателе $H_E = 0.52$ и $H_O = 0.13$ соответственно. Значение PIC для каждого локуса находилось в пределах 0.17–0.88 и в среднем равнялось 0.49. Для всех изученных локусов были обнаружены уникальные аллели. Кластерный анализ позволил объединить изученные образцы в пять основных групп, расстояния между группами варьировали от 0 до 1, что указывает на высокий уровень генетических различий в исследуемой коллекции. Согласно анализу PCoA, было образовано пять основных групп и выявлены некоторые соответствия с дендрограммой. При обобщении полученных данных PCoA и кластерного анализа отмечена слабая генетическая дифференциация изученной коллекции *T. boeoticum*. Корреляция генетического расстояния с географическим происхождением выявлена лишь для образцов диплоидной пшеницы *T. boeoticum* из Ирана. Анализ образцов показывает широкое разнообразие *T. boeoticum* по микросателлитным локусам. Полученные нами данные расширяют представления и дают дополнительную информацию о генетической структуре коллекции и разнообразии изученных образцов *T. boeoticum*.

Ключевые слова: *T. boeoticum*; генетический полиморфизм; SSR-маркеры; кластерный анализ; анализ PCoA.

КАК ЦИТИРОВАТЬ ЭТУ СТАТЬЮ:

Аббасов М.А. Изучение генетического полиморфизма диплоидной пшеницы *Triticum boeoticum* Boiss. с использованием SSR-маркеров. Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018;22(5):515-523. DOI 10.18699/VJ18.389

HOW TO CITE THIS ARTICLE:

Abbasov M.A. Study of the genetic polymorphism of diploid wheat *Triticum boeoticum* Boiss. using SSR markers. Vavilovskii Zhurnal Genetiki i Selekcii = Vavilov Journal of Genetics and Breeding. 2018;22(5):515-523. DOI 10.18699/VJ18.389 (in Russian)

УДК 633.11:575.174.015.3
Поступила в редакцию 18.01.2018
Принята к публикации 04.06.2018
© АВТОР, 2018

✉ e-mail: mehraj_genetic@yahoo.com

Study of the genetic polymorphism of diploid wheat *Triticum boeoticum* Boiss. using SSR markers

M.A. Abbasov

Genetic Resources Institute of Azerbaijan National Academy of Sciences, Baku, Azerbaijan

Diploid wheat *Triticum boeoticum* Boiss. (genome constitution AA) is a promising source of new valuable alleles for improving cultivated wheat species. Therefore, the evaluation of the intraspecies diversity of *T. boeoticum* and DNA fingerprinting of accessions of this species are topical tasks. In this paper, the genetic diversity of over 60 *T. boeoticum* accessions was studied using 11 SSR markers. The analysis revealed 83 alleles, 7.5 alleles per locus on the average. The values of expected (H_E) and observed (H_O) heterozygosity varied within 0.00–0.74 and 0.17–0.89, respectively, the average indices being $H_O = 0.13$ and $H_E = 0.52$. The PIC value for each locus was within 0.17–0.88, 0.49 on the average. Unique alleles were found in all loci studied. Cluster analysis allowed the accessions studied to be combined into five major groups. The distances between the groups varied from 0 to 1, pointing to a high level of genetic differences in the collection under study. On the base of PCoA, five major groups were formed and some correspondence with the dendrogram was detected. Summarizing the data of PCoA and cluster analysis, we noted a weak genetic differentiation in the studied collection of *T. boeoticum*. A correlation between the genetic distance and geographic origin was revealed only for accessions of diploid wheat *T. boeoticum* from Iran. The analysis of the *T. boeoticum* accessions studied showed a wide diversity for SSR loci. The results expand our knowledge and provide additional information on the genetic structure of the collection and on the genetic diversity of *T. boeoticum* accessions studied.

Key words: *T. boeoticum*; genetic polymorphism; SSR markers; cluster analysis; principal coordinates analysis.

Пшеница – одна из самых важных и агрономически значимых сельскохозяйственных культур, которая широко возделывается по всему миру (Найиев et al., 2015). Род *Triticum* L. состоит из четырех групп, в том числе: einkorn ($2n = 2x = 14$, AA), emmer ($2n = 4x = 28$, AABB), timopheevi ($2n = 4x = 28$, AAGG) и обычной пшеницы ($2n = 6x = 42$, AABBDD). Три вида – *T. monococcum* L., *T. boeoticum* Boiss. и *T. urartu* Thum. ex Gandil. – относятся к группе пшеницы einkorn (Mizumoto et al., 2002). Как известно, дикие виды пшеницы являются важным источником для улучшения генетических признаков пшеницы. *T. boeoticum* и *T. urartu* – два основных вида-кандидата для донора генома А для мягкой и твердой пшеницы (Farouji et al., 2015). Показано, что вид *T. monococcum* произошел от *T. boeoticum* и *T. urartu* был донором генома для полиплоидных видов пшеницы (Конарев и др., 1976; Dvorak et al., 1993; Takumi et al., 1993). Первичное место произрастания *T. boeoticum* – центральная и восточная часть Плодородного Полумесяца (Zohary, Hopf, 1993). В результате анализа 288 AFLP локусов *T. monococcum* и его диких сородичей М. Неун с сотрудниками (1997) установили, что *T. boeoticum* из Каракадагских гор (Юго-Восточная Турция) оказался вероятным предшественником культурной однозернянки. *T. boeoticum* Boiss. с геномом A^bA^b – источником ценных генов для улучшения современных сортов пшеницы (Bahrai et al., 1998; Harjit-Singh et al., 2000; Anker, Niks, 2001). Несмотря на низкую потребительскую ценность по сравнению с *T. durum* и *T. aestivum*, *T. boeoticum* содержит богатое аллельное разнообразие для адаптивных признаков. Как известно, окультивирование и различные стратегии селекции привели к огромной потере аллелей и ограничению генетического разнообразия современных сортов пшеницы – это проблема в селекции пшеницы на устойчивость к биотическим и абиотическим стрессорам (Aliyev et al., 2007; Wang et al., 2017). Поэтому необходимо проводить исследования гермоплазмы пшеницы с целью расширения генетического разнообразия для селекционных программ. В ближайшем будущем ожидается, что *T. boeoticum* будет играть важную роль в генетических и геномных исследованиях пшеницы. Для эффективного использования ресурсов *T. boeoticum* в программах генетического улучшения пшеницы необходимо оценить разнообразие этого вида на уровне генома. При изучении генетического разнообразия можно использовать различные подходы, такие как анализ родословных, морфологические признаки или молекулярные маркеры. Использование систем молекулярных маркеров позволяет изучать полиморфизм ДНК, устанавливать генетические взаимоотношения, выявлять гены хозяйственно ценных признаков, что представляет собой актуальное направление в селекции сельскохозяйственных культур (Cox et al., 1985; Motawei et al., 2007; Cifci, Yagdi, 2012; Abouzied et al., 2013; Malik et al., 2013).

Генетическое разнообразие диплоидной пшеницы оценивали с использованием маркеров: RFLP (Figliuolo, Pergino, 2004), RAPD (Ovesna et al., 2002), AFLP (Malaki et al., 2006), IRAP (Farouji et al., 2015) и ISSR (Kojima et al., 1998). Наиболее широкое применение в генетическом анализе получили микросателлитные маркеры (Chen et al., 1994). Благодаря таким качествам, как воспроизводи-

мость, мультиаллельная природа, кодоминантный характер наследования и хромосомоспецифичность, они считаются высокоинформативными генетическими маркерами (Babayeva et al., 2009). Доказано, что SSR-маркеры – эффективный инструмент для анализа генетического разнообразия различных видов пшеницы (McLaughlan et al., 2001).

Несмотря на большой перечень публикаций по оценке генетического разнообразия популяций *T. boeoticum* с применением различных маркерных систем (Korzun et al., 1998; Hammer et al., 2000; Mousavifard et al., 2014), это направление исследований все еще остается актуальным. Нами поставлена задача – изучить генетическое разнообразие 63 образцов коллекции дикой однозернянки и определить степень родства и характер различий между генотипами с использованием SSR-маркеров.

Материал и методы

Объектом для молекулярных исследований служили 63 образца диплоидной пшеницы *T. boeoticum* различного происхождения из коллекции Национального генетического банка Института генетических ресурсов Национальной академии наук Азербайджана и генбанка Международного центра сельскохозяйственных исследований в засушливых районах (ИКАРДА). Названия и происхождение изученных генотипов приведены в табл. 1.

Выделение ДНК и ПЦР. Выделение геномной ДНК и ПЦР проводили согласно ранее описанному протоколу (Zhang et al., 2010). ПЦР-фрагменты анализировали ДНК-анализатором ABI PRISM 3730 (Applied Biosystems, Fargo, ND, США) и оценивали с помощью Gene Marker версии 1.6 (Soft Genetics LLC, State College, PA, США).

Анализ данных. В статистический анализ были включены четкие и воспроизводимые результаты. Продукты амплификации документировали в виде фрагментов, SSR-профили были составлены на основе их размера (bp). Количество аллелей (N_a), частота встречаемости основных аллелей, наблюдаемая (H_o) и ожидаемая (H_e) гетерозиготность, величина информационного полиморфизма (PIC) были рассчитаны для каждого локуса с использованием программного обеспечения PowerMarker, версия 3.25 (Liu, Muse, 2005). В работе было использовано девять микросателлитных маркеров *Xbarc* (the USDA-ARS Beltsville Agricultural Research Center, США) (Song et al., 2002, 2005) и два маркера *Xgwm* (Gatersleben Wheat Microsatellites, IPK-Gatersleben, Германия) (Röder et al., 1998; Pestsova et al., 2000). Кластерный анализ и анализ главных компонент (PCoA) осуществлены с помощью программного пакета DARwin 6.0 (Perrier, Jacquemoud-Collet, 2006) с использованием алгоритма кластеризации UNJ (unweighted Neighbor-joining), предложенного O. Gascuel (1997).

Результаты

Генетический полиморфизм. Для оценки генетического полиморфизма 63 образцов *T. boeoticum* использован SSR-метод и проанализировано 11 микросателлитных локусов (табл. 2). В целом идентифицировано 83 аллеля, в среднем наблюдалось по 7.5 аллелей на локус. Количество синтезированных аллелей варьировало от 4 (маркеры *Xbarc200*, *Xbarc101*, *Xbarc142* и *Xgwm219*) до 15 (маркеры *Xbarc213*

Таблица 1. Название и географическое происхождение изученных образцов *T. boeoticum*

№	Каталожный номер	Происхождение	Регион	Высота	Долгота	Широта
1	-	AZE*	-	-	-	-
2	-	AZE	-	-	-	-
3	-	AZE	-	-	-	-
4	-	AZE	-	-	-	-
5	-	AZE	-	-	-	-
6	44821	TUR	Кайсери	1888	E36 47	N38 51
7	137335	ARM	Котайк	1282	E044 36 17	N40 09 04
8	44833	TUR	Киршехир	1086	E33 43	N39 22
9	137409	ARM	Вайоц Дзор	1852	E045 07 16	N39 49 18
10	116146	TUR	Газиантеп	796	E37 17 32	N37 16 27
11	113283	IRN	Курдистан	1302	E46 08	N35 30
12	44861	TUR	Чанаккал	126	E26 34	N40 03
13	113291	IRN	Хузестан	706	E48 52	N32 33
14	113311	IRN	Восточный Азербайджан	1127	E47 45	N37 23
15	44937	SYR	Дамаскус	1134	E36 03 49	N33 35 48
16	44813	TUR	Киршехир	1086	E33 43	N39 22
17	113261	IRN	Керманшах	1433	E46 25	N34 20
18	109086	IRG	Нинаш	847	E41 51	N36 21
19	113254	IRN	Лурестан	1554	E48 45	N33 53
20	109080	IRG	Нинаш	1216	E41 47	N36 23
21	113266	IRN	Керманшах	1433	E46 25	N34 20
22	116138	TUR	Газиантеп	678	E37 28 15	N36 55 32
23	110826	LBN	Рашая	1224	E35 54	N33 38
24	44818	TUR	Кайсери	1656	E36 30	N38 48
25	113282	IRN	Западный Азербайджан	1819	E47 06	N36 24
26	113264	IRN	Илам	1558	E46 27	N33 37
27	44941	ARM	Арагат	1668	E44 50	N39 50
28	113275	IRN	Курдистан	1302	E46 08	N35 30
29	109081	IRG	Нинаша	1216	E41 47	N36 23
30	45103	ARM	-	-	-	-
31	44820	TUR	Кайсери	1656	E36 30	N38 48
32	113309	IRN	Восточный Азербайджан	1127	E47 45	N37 23
33	113260	IRN	Керманшах	1433	E46 25	N34 20
34	135341	SYR	Эль-Хасака	470	E41 34.571	N37 04.220
35	44949	IRN	Восточный Азербайджан	1321	E46 10	N37 20
36	131176	TUR	Анкара	904	E32 45	N40 00
37	113280	IRN	Западный Азербайджан	1407	E45 44	N36 44
38	137477	ARM	Арагат	1694	E045 00 03	N39 49 29
39	137341	ARM	Котайк	1282	E044 36 17	N40 09 04
40	44868	TUR	Бурса	567	E29 35	N40 20
41	113288	IRN	Хузестан	706	E48 52	N32 33
42	113284	IRN	Курдистан	2032	E45 54	N35 58
43	110789	SYR	Эль-Хасака	337	E42 12 43	N37 17 35
44	44822	TUR	Кайсери	1888	E36 47	N38 51
45	116134	TUR	Газиантеп	692	E37 21 04	N36 52 55
46	44955	LEB	Баальбек	1083	E36 07	N34 05
47	113286	IRN	Хузестан	706	E48 52	N32 33
48	113277	IRN	Курдистан	1311	E46 09	N35 30

Окончание табл. 1.

№	Каталожный номер	Происхождение	Регион	Высота	Долгота	Широта
49	44856	BGR	Бургас	166	E26 21	N42 11
50	116153	TUR	Газиантеп	838	E37 11 57	N36 53 02
51	116139	TUR	Газиантеп	625	E37 31 06	N36 52 51
52	44857	BGR	Бургас	192	E26 20	N42 09
53	139313	SYR	Сувейда	1399	E36 50.388	N32 41.993
54	110749	SYR	Алеппо	541	E37 35 00	N36 39 00
55	113273	IRN	Курдистан	1614	E46 59	N35 19
56	44953	SYR	Алеппо	485	E36 58 00	N36 29 00
57	131180	IRG	Сулеймания	941	E45 24	N35 23
161	44904	SSR	–	25	E27 09	N38 26
162	44900	SSR	–	25	E27 09	N38 26
163	113258	IRN	–	–	E48 21	N33 29
164	44936	SAR	–	–	E36 01 40	N33 38 10
165	110820	LEB	–	–	E35 49	N33 30
166	44948	LEB	–	–	E35 56	N33 35

* AZE – Азербайджан; TUR – Турция; ARM – Армения; IRN – Иран; SYR – Сирия; IRG – Ирак; LEB – Ливан; SSR – Сербия; BGR – Болгария; SAR – Саудовская Аравия.

Таблица 2. Основные показатели генетического разнообразия у 63 образцов диплоидной пшеницы *T. boeoticum*

Локус	Хромосома	Общее число аллелей	Максимальная частота аллеля	H_O	H_E	PIC
<i>Xbarc213</i>	1AL	15	0.18	0.02	0.89	0.88
<i>Xbarc15</i>	2AL	8	0.46	0.74	0.62	0.54
<i>Xbarc1021</i>	3AL	9	0.29	0.11	0.82	0.79
<i>Xbarc206</i>	4AS	8	0.82	0.03	0.32	0.31
<i>Xbarc117</i>	5AS	7	0.42	0.06	0.73	0.69
<i>Xbarc174</i>	1BL	15	0.38	0.24	0.81	0.79
<i>Xbarc200</i>	2BS	4	0.70	0.10	0.44	0.37
<i>Xbarc101</i>	2BL	4	0.70	0.00	0.45	0.38
<i>Xbarc142</i>	5BL	4	0.91	0.00	0.17	0.17
<i>Xgwm361</i>	6BS	5	0.89	0.14	0.21	0.21
<i>Xgwm219</i>	6BL	4	0.84	0.02	0.29	0.27
Среднее значение		7.5	0.60	0.13	0.52	0.49
Всего		83				

Примечание. Здесь и в табл. 3: H_O – величина наблюдаемой гетерозиготности; H_E – величина ожидаемой гетерозиготности; PIC – величина информационного полиморфизма.

и *Xbarc174*). Для всех изученных локусов были обнаружены уникальные аллели, общее число которых составило 27 (диапазон 1–5). Наибольшее количество уникальных аллелей было выявлено праймерами *Xbarc206*, *Xbarc174* и *Xbarc15*. Нами рассчитаны частоты встречаемости выявленных аллелей, которые послужили основой для расчета индекса информативности (PIC) каждого маркера. Частота основных аллелей варьировала от 0.18 (*Xbarc213*) до 0.91 (*Xbarc142*) и в среднем составила 0.60. Анализ изменчивости исследованных локусов показал, что по значениям наблюдаемой и ожидаемой гетерозиготности прослеживаются существенные различия. Величины

ожидаемой (H_E) и наблюдаемой (H_O) гетерозиготности варьировали в пределах 0.17–0.89 и 0.00–0.74 при среднем показателе $H_E = 0.52$ и $H_O = 0.13$ соответственно. Среднее значение PIC составило 0.49 и изменялось от 0.17 в локусе *Xbarc142* до 0.88 в локусе *Xbarc213*. В локусах *Xbarc213*, *Xbarc1021*, *Xbarc174* и *Xbarc15* выявлено значение PIC более 0.5 (см. табл. 2 и 3).

Кластерный анализ и метод главных компонент. Проведен кластерный анализ и построена дендрограмма, отображающая генетические различия между изученными образцами пшеницы (рис. 1). Генотипы были сгруппированы в пять различных кластеров, где индекс генетического

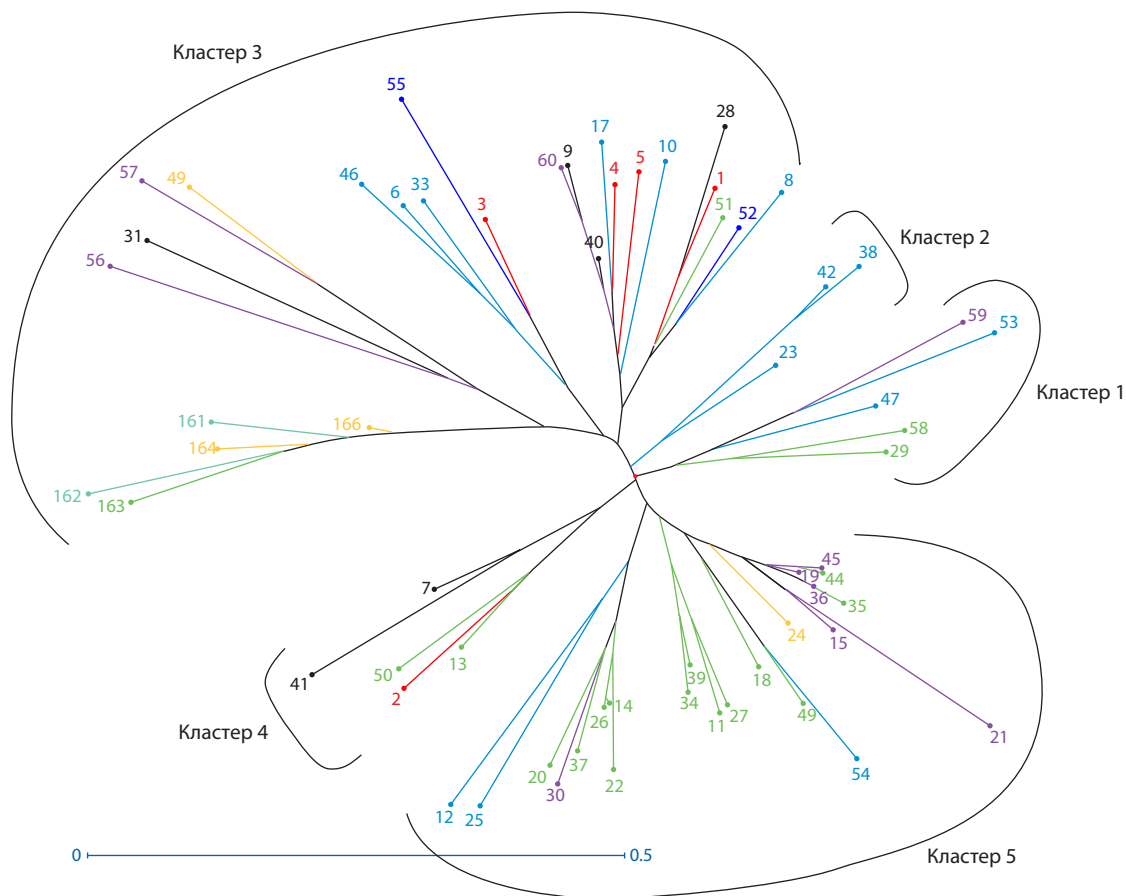


Рис. 1. Дендрограмма, построенная по результатам SSR-анализа на основе индекса генетического расстояния.

Разные цвета ветвей на дендрограмме обозначают образцы различных географических регионов произрастания (синий – Болгария; зеленый – Иран; красный – Азербайджан; фиолетовый – Сирия; желтый – Ливан; черный – Армения; голубой – Турция; бирюзовый – Сербия).

расстояния (ИГР) составил от 0 до 1. Количество сгруппированных образцов варьировало от 3 до 27. Отмечена преимущественная локализация образцов в кластерах 3 и 5. Самый обширный – третий кластер, состоящий из 27 образцов, в свою очередь подразделяется на два больших субкластера. Первый и четвертый кластеры включают в себя по пять образцов, а наименьшим числом генотипов представлен кластер 2. При анализе дендрограммы (см. рис. 1) можно отметить, что установлена некоторая корреляция между географическими ареалами и генетическим расстоянием. Наименьшее генетическое расстояние было выявлено между генотипами под номерами 45 и 44, 22 и 14 (ИГР = 0.06) и между 35 и 36 (ИГР = 0.05). Между генотипами 164 и 165 отмечено полное генетическое сходство (ИГР = 0). Наибольшее генетическое расстояние установлено между генотипами под номерами 22 и 57, 30 и 162, 37 и 57, 46 и 57, где ИГР был равен 1.

Генетические взаимоотношения у образцов *T. boeoticum* были дополнительно исследованы с использованием анализа главных компонент (РСоА). Согласно анализу РСоА, было образовано пять основных групп и показано соответствие с дендрограммой. Первые две основные оси дифференциации (РСо1 и РСо2) объясняют 24.96 % от общей вариации (рис. 2).

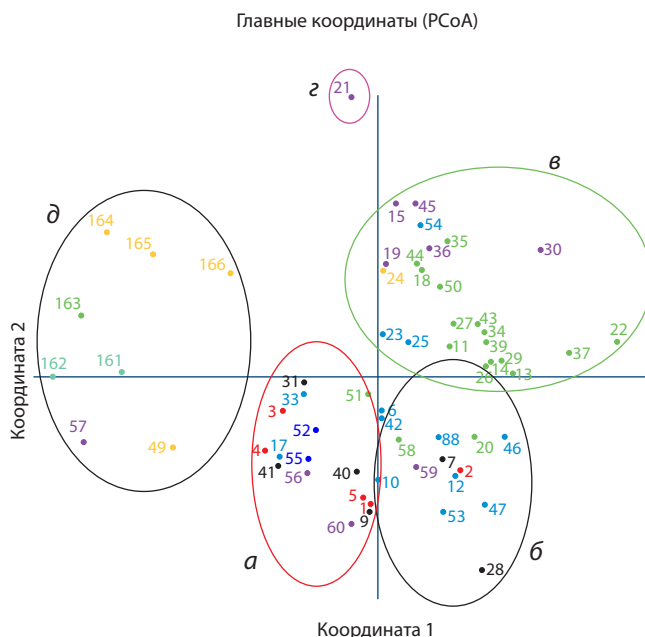


Рис. 2. РСоА анализ SSR-данных, показывающий кластеризацию образцов вида *T. boeoticum*.

Обозначения см. в подписи к рис. 1.

Обсуждение

Исследования, направленные на выявление генетического разнообразия пшеницы с помощью SSR-маркеров, ведутся во всем мире. M.R. Naghavi с коллегами (2004) провели сравнительный анализ генетического разнообразия генотипов пшеницы на основе 17 RAPD- и 35 SSR-маркеров. В работе S. Sud с коллегами (2005), посвященной необходимости создания новых сортов пшеницы с разнообразным генетическим фоном и включения новой изменчивости в существующий генофонд пшеницы, осуществлен анализ родословных у 20 элитных сортов пшеницы с использованием 25 микросателлитных маркеров. Наконец, V. Zeb с коллегами (2009) изучили на 10 генотипах различные разновидности пшеницы с помощью 14 SSR-маркеров, которые могут быть использованы в будущих селекционных программах.

Настоящее исследование направлено на оценку генетической вариабельности у 63 образцов диплоидной пшеницы вида *T. boeoticum* с использованием 11 SSR-маркеров. Во многих работах доказана эффективность маркеров *Xbarc* и *Xgwm* для изучения генетического разнообразия пшеницы (Dresigacker et al., 2004; Drikvand et al., 2012; Spanic et al., 2012; Kumar et al., 2016). В общей сложности определено 83 аллеля. Число аллелей на локус варьировало от 4 до 15 и в среднем составило 7.5 аллелей. Диапазон длины полученных фрагментов находился в пределах 100–323 п. н. Наши результаты согласуются с данными других авторов. Так, M.R. Naghavi с коллегами (2004) для 36 популяций *T. boeoticum* с использованием 17 SSR-маркеров выявил 147 аллелей, в среднем 8.5 аллеля на локус. Рядом исследователей показан высокий уровень полиморфизма микросателлитных локусов генома диплоидных пшениц по сравнению с другими маркерными системами (Medini et al., 2005; Naghavi et al., 2011). Следует подчеркнуть, что информативность SSR-маркеров может быть связана с уникальным механизмом, ответственным за генерацию аллельного разнообразия посредством про-скальзывания репликации.

Выявление уникальных и разнообразных аллелей дает возможность исследовать генетическое разнообразие и специфичность сортов, их идентификацию и регистрацию, улучшение культурных растений, включая пшеницу (Abouzed et al., 2013). Кроме того, наличие уникальных аллелей определяет индивидуальность популяций, что подразумевает наличие генетической вариации, необходимой для адаптации к экологическим условиям. В наших исследованиях обнаружено 19 генотипов, для которых идентифицированы специфичные аллели. Каждый из них содержал от одного до четырех таких аллелей. У образца под номером 56 выявлены специфичные аллели в большинстве локусов (*Xbarc15*, *Xbarc174*, *Xbarc101* и *Xbarc142*), что указывает на уникальность этого генотипа. Чаще такие аллели были обнаружены в локусах *Xbarc206* у генотипов 31, 41, 49, 57 и 161 (хромосома 4AS, 5 аллелей), *Xbarc174* – у генотипов 1, 5, 53, 55 и 56 (хромосома 1BL, 5 аллелей) и *Xbarc15* – у генотипов 12, 31, 41 и 56 (хромосома 2AL, 4 аллеля), т. е. маркеры *Xbarc206*, *Xbarc174* и *Xbarc15* наиболее эффективны, их можно рекомендовать для идентификации образцов *T. boeoticum*.

Показатель PIC характеризует дискриминационную силу локуса не только по количеству выявленных аллелей, но и по их относительным частотам. Для отобранных нами локусов значение PIC варьировало от 0.17 для *Xbarc142* до 0.88 для *Xbarc213* и в среднем было 0.49. Значения PIC для локусов *Xbarc206*, *Xbarc200*, *Xbarc101*, *Xbarc142*, *Xgwm361* и *Xgwm219* находились в пределах 0.17–0.38, что достаточно для идентификации изучаемых образцов. Остальные пять локусов с показателями PIC более 0.5 особенно эффективны для дифференциации изученной группы генотипов. Высокое значение PIC свидетельствовало о широком генетическом разнообразии в изученной коллекции диплоидной пшеницы. Аналогичные результаты для разных коллекций пшеницы представлены и другими исследователями (Prasad et al., 2000; Bossolini et al., 2006; Zeshan et al., 2016). Исходя из рассмотренных данных по оценке эффективности апробированных маркеров, можно отметить информативность праймеров *barc-213*, *barc-1021* и *barc-174*, которые выделились наибольшим числом общих аллелей, высокими показателями гетерозиготности и PIC, а также наименьшей частотой основных аллелей. Полученные показатели разнообразия были ожидаемы, так как образцы, включенные в настоящее исследование, представляют различные регионы Плодородного Полумесяца и соседних стран, считающиеся первичным очагом произрастания диких пшениц, а также *T. monococcum*. Эти результаты согласуются с ранее полученными данными (Farouji et al., 2015; Wang et al., 2017).

Значение PIC рассчитывали для каждой страны, оно не зависело от размера выборки (табл. 3). Например, при сравнении исследуемых образцов различного происхождения установлено, что наибольший показатель выявлен среди генотипов из Сирии (PIC = 0.49), представленных шестью образцами; второе по величине значение PIC обнаружено у генотипов из Турции (14 образцов, PIC = 44). В результате анализа полученных данных было также установлено, что образцы из Сирии (3.5 аллелей на локус, $H_E = 0.54$) и Турции (4 аллеля на локус, $H_E = 0.48$) более полиморфны, чем остальные генотипы. Относительно высокое разнообразие среди генотипов сирийского и турецкого происхождения по сравнению с другими регионами отмечалось и в других исследованиях (Hammer et al., 2000; Moghaddam et al., 2000; Wang et al., 2017). Для остальных изученных регионов выявлены средние значения PIC, находящиеся в пределах 0.26–0.399. Наименьший показатель разнообразия (PIC = 0.26) установлен для четырех образцов из Ирака. Следует отметить, что все эти генотипы были из одного и того же региона Нинава. Несмотря на большой объем выборки и широкий диапазон мест сбора, генотипы из Ирана (19 образцов) демонстрируют относительно узкое генетическое разнообразие (PIC = 0.33), что указывает на сходный генетический фон этих образцов. Для генотипов, происходящих из Азербайджана, несмотря на небольшое число изученного материала (пять образцов), значение PIC составило 0.399. Различия между образцами иранского происхождения в основном были связаны с первыми тремя локусами, а остальные восемь локусов показали высокую долю общих аллелей. Генетическое разнообразие популяций диплоидной пшеницы из Ирана изучали многие исследователи. Полученные

Таблица 3. Параметры генетического разнообразия для отдельных географических регионов

Происхождение	Количество изученных генотипов	Общее число аллелей	Максимальная частота аллеля	H_o	H_e	PIС
<i>T. boeoticum</i>	63	7.5	0.60	0.13	0.52	0.49
SYR*	6	3.5	0.60	0.20	0.54	0.49
TUR	14	4	0.62	0.13	0.48	0.44
IRN	19	3.4	0.71	0.11	0.37	0.33
LEB	4	2.3	0.64	0.16	0.40	0.35
ARM	6	2.7	0.67	0.10	0.44	0.395
BGR	2	1.5	0.70	0.0	0.31	0.27
IRG	4	1.9	0.76	0.12	0.32	0.26
AZE	5	2.2	0.63	0.0	0.45	0.399

* Усл. обозн. см. в табл. 1.

в нашей работе результаты не согласуются с данными других авторов, обнаруживших более высокий уровень генетического разнообразия среди диплоидной пшеницы *T. boeoticum* иранского происхождения. Так, М.Р. Naghavi с коллегами (2009) с использованием SSR-маркеров выявили высокий уровень полиморфизма у видов *T. boeoticum* (PIC = 0.81), собранных из разных агросистем, а также с помощью RAPD-, AFLP- и SSR-маркеров установили, что наиболее высокий генетический полиморфизм наблюдается среди популяций *T. boeoticum* из Ирана.

Генетические взаимосвязи. Как известно, эффективность гибридизации зависит от выбора генетически различных генотипов (Burkhamer et al., 1998; Bohn et al., 1999). В связи с этим нами предприняты усилия для прогнозирования наиболее различимых образцов путем определения степени сходства или расстояния между ними.

В анализируемой коллекции собраны образцы диплоидной пшеницы *T. boeoticum* различного происхождения: отечественные и зарубежные генотипы. На основании данных о генетическом полиморфизме различных сортов пшеницы была построена дендрограмма (см. рис. 1), отражающая сходство изучаемых генотипов. Индекс генетического расстояния среди генотипов *T. boeoticum* варьировал от 0 до 1, что указывает на высокий уровень генетических различий в изучаемой коллекции. Было также выявлено 100 % сходство между образцами под номером 164 (Саудовская Аравия) и 165 (Ливан). Образцы под номерами 21 (Ирак) и 56 (Сирия), а также 22 (Иран) и 57 (Сирия) оказались самыми отдаленными, у них индекс генетического расстояния составил 0.94 и 1 соответственно. Генотипы, содержащие различные комбинации аллелей, могут послужить ценным источником для будущих селекционных программ, поскольку чем больше различия между родительскими формами, тем больше число желаемых аллелей (Ghaderi et al., 1984). Выявлена некоторая дифференциация генотипов в зависимости от географического региона. В частности, в кластере 2 локализовались исключительно образцы из Турции, а в кластере 5 преобладали генотипы иранского происхождения. Несмотря на малую выборку, генотипы из Азербайджана объединились в кластере 3. Однако в большинстве случаев

можно наблюдать локализацию изученных образцов одинакового происхождения в разных кластерах.

Если сопоставить данные кластерного анализа и метода главных компонент, можно выявить некоторые сходства и различия групп образцов.

Группа А содержит 15 генотипов, которые главным образом происходили из Азербайджана и Армении (см. рис. 2). Схожую группировку можно отметить на дендрограмме кластерного анализа (см. рис. 1), где четыре из пяти и четыре из шести генотипов из Азербайджана и Армении соответственно объединились в кластере 3. В группе В преобладают генотипы из Турции и соседних с ней регионов. На дендрограмме кластерного анализа кластер 2 представлен также исключительно генотипами из Турции. Группировка генотипов под номерами 6 (Турция) и 42 (Турция), 12 (Турция) и 2 (Азербайджан) указывает на наличие общих аллелей (см. рис. 2). В группе С, аналогично кластерному анализу, количественно преобладают образцы из Ирана, в ней также присутствуют генотипы из Турции и Сирии. Связь между географическим происхождением и генетической организацией для образцов из Ирана (см. рис. 2) может быть обусловлена общим генетическим фоном среди гермоплазмы, ограничением генетического потока, что также подтверждено сравнительно низким показателем PIC. Схожие результаты ранее были получены на других культурах (Izzatullayeva et al., 2014). В самостоятельную группу D обособился генотип под номером 21 из Ирана.

При обобщении полученных данных РСoA и кластерного анализа можно сделать заключение о слабой генетической дифференциации образцов изученной коллекции. Корреляция генетического расстояния с географическим происхождением выявлена лишь для образцов диплоидной пшеницы *T. boeoticum* из Ирана. В ранних исследованиях показано отсутствие корреляции между генетическим расстоянием и географическим происхождением у популяций *T. boeoticum* из Ирана (Ovesna et al., 2002; Malaki et al., 2006).

Таким образом, анализ нашей коллекции подтверждает высокое разнообразие *T. boeoticum* по микросателлитным локусам, эти маркеры вполне могут быть использованы

для оценки генетического полиморфизма коллекции пшеницы в целом. С помощью этих маркеров в коллекции были установлены уникальные генотипы, несущие редкие аллели по микросателлитным локусам, и, соответственно, эти праймеры могут оказаться перспективными для идентификации и генетической паспортизации образцов *T. boeoticum*. Знание генетического разнообразия образцов дикой однозернянки, сохраняемых в коллекции, необходимо для их использования при проведении научных исследований. Полученные нами результаты дают дополнительную информацию о генетической структуре и разнообразии изученных образцов *T. boeoticum*.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы / References

- Конарев В.Г., Гаврилюк И.П., Пенева Т.И., Конарев А.В., Хакимова А.Г., Мигушова Э.Ф. О природе происхождения геномов пшеницы по данным биохимии и иммунохимии белков зерна. С.-х. биология. 1976;11(5):656-665. [Konarev V.G., Gavriilyuk I.P., Peneva T.I., Konarev A.V., Khakimova A.G., Migushova E.F. On the nature and origin of wheat genomes with regard to the data on the biochemistry and immunochemistry of grain proteins. Selskokhozyaystvennaya Biologiya = Agricultural Biology. 1976;11(5):656-665. (in Russian)]
- Abouzied H.M., Eldemery S.M.M., Abdellatif K.F. SSR-based genetic diversity assesment in tetraploid and hexaploid wheat populations. Br. Biotechnol. J. 2013;3:390-404.
- Aliyev R.T., Abbasov M.A., Mammadov A.C. Genetic identification of diploid and tetraploid wheat species with RAPD markers. Turk. J. Biol. 2007;31(3):173-180.
- Anker C.C., Niks R.E. Prehaustorial resistance to the wheat leaf rust fungus, *Puccinia triticina*, in *Triticum monococcum* (s.s.). Euphytica. 2001;117:3-12.
- Babayeva S., Akparov Z., Abbasov M., Mammadov A., Zaifzadeh M., Street K. Diversity analysis of Central Asia and Caucasian lentil (*Lens culinaris* Medikus) germplasm using SSR fingerprinting. Genet. Res. Crop. Evol. 2009;56:293-298.
- Bahrai S., Jaradat A.A., Jaradat A.A. Diversity in seed storage proteins of *T. boeoticum* and *T. urartu*. Triticeae III. Proc. 3rd Int. Triticeae Symp. Aleppo, Syria, 4-8 May. 1998:237-243.
- Bohn M., Utz H.F., Melchinger A.E. Genetic similarities among winter wheat cultivars determined on the basis of RFLPs, AFLPs and SSRs and their use for predicting progeny variance. Crop Sci. 1999;39: 228-237.
- Bossolini E., Krattinger S.G., Keller B. Development of simple sequence repeat markers specific for the *Lr34* resistance region of wheat using sequence information from rice and *Aegilops tauschii*. Theor. Appl. Genet. 2006;113:1049-1062.
- Burkhamer R.L., Lanning S.P., Martens R.J., Martin J.N., Talbert L.E. Predicting progeny variance from parental divergence in hard red spring wheat. Crop Sci. 1998;38:234-248.
- Chen H.B., Martin J.M., Lavin M., Talbert L.E. Genetic diversity in hard red spring wheat based on sequence-tagged-site PCR markers. Crop Sci. 1994;34:1629-1632.
- Cifci E.A., Yagdi K. Study of genetic diversity in wheat (*Triticum aestivum*) varieties using random amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis. Turk. J. Field Crops. 2012;17:91-95.
- Cox T.S., Lookhart G.L., Walker D.E., Harrell L.G., Albers L.D., Rodgers D.M. Genetic relationships among hard red winter wheat cultivars as evaluated by pedigree analysis and gliadin polyacrylamide-gel electrophoretic patterns. Crop Sci. 1985;25:1058-1063.
- Dreisigacker S., Zhang P., Warburton M.L., Van Ginkel M., Hoisington D., Bohn M., Melchinger A.E. SSR and pedigree analyses of genetic diversity among CIMMYT wheat lines targeted to different megaenvironments. Crop Sci. 2004;44(2):381-388.
- Drikvand R., Bihamta M.R., Najafian G., Ebrahimi A. Investigation of genetic diversity among bread wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) using SSR markers. J. Agric. Sci. 2012;5(1):122.
- Dvorak J., Terlizzi P.D., Zhang H.B., Resta P. The evolution of polyploid wheats: identification of the A genome donor species. Genome. 1993;36:21-31.
- Farouji A., Khodayari H., Saeidi H., Rahiminejad M.R. Genetic diversity of diploid *Triticum* species in Iran assessed using inter-retroelement amplified polymorphisms (IRAP) markers. Biologia. 2015; 1:52-60.
- Figliuolo G., Perrino P. Genetic diversity and intra-specific phylogeny of *Triticum turgidum* L. subsp. dicoccon (Schrank) Thell. revealed by RFLPs and SSRs. Genet. Resour. Crop Evol. 2004;51:519-527.
- Gascuel O. Concerning the NJ algorithm and its unweighted version, UNJ. Mathematical Hierarchies and Biology. DIMACS Series in Discrete Mathematics and Theoretical Computer Science. Providence: Am. Math. Soc. 1997;37:149-170.
- Ghaderi A., Adams M.W., Nassib A.M. Relationship between genetic distance and heterosis for yield and morphological traits in dry edible bean and faba bean. Crop Sci. 1984;24:37-24.
- Hajiyev E.S., Akparov Z.I., Aliyev R.T., Saidova S.V., Izzatullayeva V.I., Babayeva S.M., Abbasov M.A. Genetic polymorphism of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) accessions of Azerbaijan. Russ. J. Genet. 2015;51:863-870.
- Hammer K., Filatenko A.A., Korzun V. Microsatellite markers – a new tool for distinguishing diploid wheat species. Genet. Resour. Crop Evol. 2000;47(5):497-505.
- Harjit-Singh X., Dhaliwal H.S., Yifru-Teklu Y., Singh H. Germplasm enhancement through wide hybridization and molecular breeding. 11th Regional Wheat Workshop Eastern Central and Southern Africa, Addis-Abeba, Ethiopia, September. 2000;18-22.
- Heun M., Schafer-Pregl R., Klawan D., Castagna R., Accerbi M., Borghi B., Salamini F. Site of Einkorn wheat domestication identified by DNA fingerprinting. Science. 1997;278:1312-1314.
- Izzatullayeva V.I., Akparov Z.I., Babayeva S.M., Ojaghi J., Abbasov M.A. Efficiency of using RAPD and ISSR markers in evaluation of genetic diversity in sugar beet. Turk. J. Biol. 2014;38:429-438.
- Kojima T., Nagaoka T., Noda K., Ogihara Y. Genetic linkage map of ISSR and RAPD markers in Einkorn wheat in relation to that of RFLP markers. Theor. Appl. Genet. 1998;96:37-45.
- Korzun V., Röder M., Ganai M., Filatenko A., Hammer K. Genetic diversity and evolution of the diploid wheat *T. urartu*, *T. boeoticum* and *T. monococcum* revealed by microsatellite markers. Schr. Genet. Ressour. 1998;8:244-247.
- Kumar S., Kumar V., Kumari P., Singh A.K., Singh R. DNA fingerprinting and genetic diversity studies in wheat genotypes using SSR markers. J. Environ. Biol. 2016;37(2):319.
- Liu K., Muse S.V. PowerMarker: Integrated analysis environment for genetic marker data. Bioinformatic. 2005;21:2128-2129.
- Malaki M., Naghavi M.R., Alizadeh H., Potki P., Kazemi M., Pirseyedi S.M., Mardi M., Tabatabaei F. Study of genetic variation in wild diploid wheat (*Triticum boeoticum*) from Iran using AFLP markers. Iran. J. Biotech. 2006;4:269-274.
- Malik R., Tiwari R., Arora A., Kumar P., Sheoran S., Sharma P., Singh R., Tiwari V., Sharma I. Genotypic characterization of elite Indian wheat genotypes using molecular markers and their pedigree analysis. Aust. J. Crop Sci. 2013;7:561-567.
- McLauchlan A., Henry R.J., Issac P.G., Edwards K.J. Microsatellite analysis in cultivated hexaploid wheat and wild wheat relatives. Ed. R.J. Henry. Plant Genotyping: The DNA Fingerprinting of Plants. Wallingford, UK: CABI Publishing, CAB International, 2001;147-159.
- Medini M., Hamza S., Rebai A., Baum M. Analysis of genetic diversity in Tunisian durum wheat cultivars and related wild species by SSR and AFLP markers. Genet. Resour. Crop Evol. 2005;52:21-31.

- Mizumoto K., Hirosawa S., Nakamura C., Takumi S. Nuclear and chloroplast genome genetic diversity in the wild einkorn wheat, *Triticum urartu*, revealed by AFLP and SSLP analyses. *Hereditas*. 2002;137: 208-214.
- Moghaddam M., Ehdaie B., Waines J.G. Genetic diversity in populations of wild diploid wheat *Triticum urartu* Tum. ex. Gandil. revealed by isozyme markers. *Genet. Res. Crop Evol.* 2000;47(3):323-334.
- Motawei M.I., Al-Doss A.A., Moustafa K.A. Genetic diversity among selected wheat lines differing in heat tolerance using molecular markers. *J. Food Agr. Environ.* 2007;5:180-183.
- Mousavifard S.S., Saeidi H., Rahiminejad M.R., Shamsadini M. Molecular analysis of diversity of diploid *Triticum* species in Iran using ISSR markers. *Genet. Resour. Crop Evol.* 2014. DOI 10.1007/s10722-014-0160-z.
- Naghavi M., Ebrahimi A., Sabokdast M., Mardi M. Assessment of genetic variation among five hordeum species from Iran. *Cer. Res. Commun.* 2011;39(4):487-496. <http://www.jstor.org/stable/23792314>.
- Naghavi M.R., Malaki M., Alizadeh H., Pirseiedi M., Mardi M. An assessment of genetic diversity in wild diploid wheat *Triticum boeoticum* from west of Iran using RAPD, AFLP and SSR markers. *J. Agr. Sci. Tech.* 2009;11:585-598.
- Naghavi M.R., Mardi M., Ramshini H.A., Fazelinasab B. Comparative analyses of the genetic diversity among bread wheat genotypes based on RAPD and SSR markers. *Iran. J. Biotechnol.* 2004;2:195-202.
- Ovesná J., Kučera L., Bocková R., Holubec V. Characterisation of powdery mildew resistance donors within *Triticum boeoticum* accessions using RAPDs. *Czech. J. Genet. Plant Breed.* 2002;38:117-124.
- Perrier X., Jacquemoud-Collet J.P. DARwin software <http://darwin.cirad.fr/darwin>. 2006.
- Pestsova E., Ganal M.W., Roder M.S. Isolation and mapping of microsatellite markers specific for the D genome of bread wheat. *Genome*. 2000;43:689-697.
- Prasad M., Varshney R.K., Roy J.K., Balyan H.S., Gupta P.K. The use of microsatellites for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2000; 100:584-592.
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.H., Leroy P., Ganal M.W. A microsatellite map of wheat. *Genetics*. 1998; 149:2007-2023.
- Song Q.J., Fickus E.W., Cregan P.B. Characterization of trinucleotide SSR motifs in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2002;104:286-293.
- Song Q.J., Shi J.R., Singh S., Fickus E.W., Costa J.M., Lewis J., Gill B.S., Ward R., Cregan P.B. Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* 2005;110: 550-560.
- Španić V., Buerstmayr H., Drezner G. Assessment of genetic diversity of wheat genotypes using microsatellite markers. *Period. Biol.* 2012; 114(1):37-42.
- Sud S., Bains N.S., Nanda G.S. Genetic relationships among wheat genotypes, as revealed by microsatellite markers and pedigree analysis. *J. Appl. Genet.* 2005;46:375-379.
- Takumi S., Nasuda S., Liu Y.G., Tsunewaki K. Wheat phylogeny determined by RFLP analysis of nuclear DNA. *Einkorn Wheat. Jpn. J. Genet.* 1993;68:73-79.
- Wang X., Luo G., Yang W., Li Y., Sun J., Zhan K., Liu D., Zhang A. Genetic diversity, population structure and marker-trait associations for agronomic and grain traits in wild diploid wheat *Triticum urartu*. *BMC Plant. Biol.* 2017;17:112.
- Zeb B., Khan I.A., Ali S., Bacha S., Mumtaz S., Swati Z.A. Study on genetic diversity in Pakistani wheat varieties using simple sequence repeat (SSR) markers. *Afr. J. Biotechnol.* 2009;8:4016-4019.
- Zeshan A., Afzal M., Alghamdi S., Kettener K., Mubashar A., Mubashar M., Shakeel A. Evaluation of genetic diversity among the Pakistani wheat (*Triticum aestivum* L.) lines through random molecular markers. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 2016;59:e16160282.
- Zhang D., Bai G., Zhu C., Yu J., Carver B.F. Genetic diversity, population structure, and linkage disequilibrium in U.S. elite winter wheat. *Plant Genome*. 2010;3:117-127.
- Zohary D., Hopf M. Domestication of plants in the Old World: the Origin and Spread of Cultivated Plants in West Asia, Europe, and the Nile Valley. 2nd ed. Oxford: New York: Clarendon Press, 1993.