

**Полученные за период, на который был предоставлен грант, результаты с описанием методов и подходов, использованных в ходе реализации Научного проекта (описать, уделив особое внимание степени оригинальности и новизны)**

Сравнительное изучение культурных и диких видов овса в таксономическом и селекционном отношении вызвано большим интересом селекционеров к их практическому использованию (Лоскутов, 2007; Loskutov, Rines, 2011). Род интересен тем, что у диплоидных и полиплоидных видов хромосомные наборы построены на основании нескольких типов геномов. У диплоидов встречаются несколько вариантов генома А и два типа генома С. У одной группы тетраплоидных видов имеется кариотип AABB, у другой - геномы типа С и D, где геном D, вероятно, также является видоизменённым геномом А. Кариотипы гексаплоидных видов состоят из трех типов геномов AACCCDD (Лоскутов, 2007; Loskutov, 2008). Но до сих пор многие проблемы филогении и таксономии рода остаются до конца нерешенными.

В тоже время, метаболомные профили зерновок овса могут представлять максимально полную по представленности определенных метаболитов биохимическую характеристику, которая позволяет идентифицировать различные виды, подвиды и отдельные образцы, представляя своего рода биохимический «фингер-принт» исследуемых генотипов овса (Лоскутов и др., 2016; 2018).

Нами впервые предпринята попытка идентифицировать различия по метаболомным спектрам между группами диких и культурных видов, между отдельными видами и подвидами, а также видами с различным уровнем пloidности, типами геномов и отдельным образцам внутри этих видов.

Зерновые культуры являются частыми объектами исследования метаболома в связи с продолжающимся поиском среди них оптимальных источников для сбалансированного питания. Изучение метаболитов зерновых культур позволяет оценить компоненты, обладающих низкой концентрацией, но высокой биологической активностью, такие как фенольные соединения, полиолы, свободные аминокислоты, фитостеролы и ряд органических кислот (Zilic et al., 2011; Björck et al., 2012). Изучение метаболитов живых объектов дает возможность выявить влияние на него генетических модификаций и биотических и абиотических стрессоров (Khakimov et al., 2014). Таким образом, метаболомика является перспективным подходом к выявлению связи между биохимическими компонентами и генетическими особенностями злаков и может открыть новые возможности для получения новых фундаментальных знаний и целенаправленной селекции на качество (Fernie et al., 2009).

В 2018 г. в рамках заявленного проекта в полевых условиях Пушкинского филиала ВИР выращен семенной материал 60 образцов культурных и диких видов овса из коллекции генетических ресурсов растений ВИР для проведения метаболомных и молекулярно биологических исследований в 2019 г. Для полевого фенотипирования были выбраны следующие виды овса: культурные – *A. sativa*, *A. byzantina*, *A. sativa* × *A. macrostachya*, *A. abyssinica*, *A. strigosa*; дикие – *A. atlantica*, *A. canariensis*, *A. clauda*, *A. damascena*, *A. hirtula*, *A. longiglumis*, *A. pilosa*, *A. wiestii*, *A. agadiriana*, *A. barbata*, *A. vaviloviana*, *A. magna*, *A. murphy*, *A. insularis*, *A. macrostachya*, *A. fatua*, *A. ludoviciana*, *A. occidentalis*, *A. sterilis*.

Полевой эксперимент проводили на делянках 0,5 м<sup>2</sup>. Норма высева – 20 зерен на 1 м, повторность однократная. Почвы опытного поля дерново-подзолистые легкосуглинистые. Погодные условия в период вегетации были в основном благоприятными для овса. Фенологические наблюдения и полевые оценки выполнены в соответствии с методикой ВИР (Лоскутов и др., 2012), степень выраженности признаков определяли по Международному классификатору рода *Avena* L. (1984; Oat Descriptors, 1985). Образцы оценивали по следующим признакам: форма куста, толщина соломины и

ширина листьев, опушение междоузлий, форму и число мутовок в метелке, длину метелок, массу 100 зерен и пленчатость зерновок.

Метаболомный анализ проводили на 80 образцах диких и культурных видов рода *Avena* L. разного географического происхождения, с разным уровнем ploидности и разным геномным составом, выращенных ранее. Было проведено сравнение диких видов овса с культурным видом овса посевного (*Avena sativa* L.), у которого выделяют два подвида пленчатый (*A. sativa* subsp. *sativa* L.) и голозерный (*A. sativa* subsp. *nudisativa* (Husn.) Rod. et Sold.) (Родионова и др., 1994).

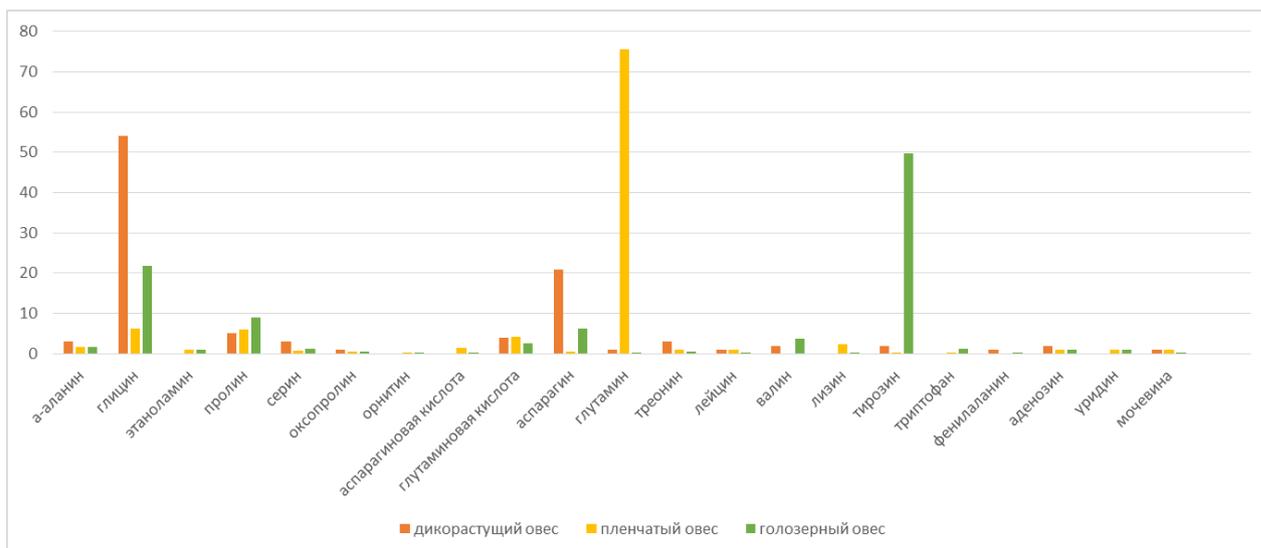
Методика проведения метаболомного анализа. Зерна образца взвешивали, гомогенизировали с адекватным количеством этанола, пробу настаивали в течение 30 суток при 5-6°C. 100 мкл экстракта выпаривали досуха на установке CentriVar Concentrator фирмы «Labconco» (США). Сухой остаток силилировали с помощью бис(триметилсилил)трифторацетамида в течение 40 минут при 100°C. Определение метаболомного состава зерна проводили на капиллярной колонке HP-5MS 5% фенилметилполисилоксан (30,0 м, 250,00 мкм, 0,25 мкм) с помощью газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией (ГЖХ МС) на хроматографе «Agilent 6850» с квадрупольным масс-селективным детектором Agilent 5975B VL MSD фирмы «Agilent Technologi» (США). Условия проведения хроматографического исследования: скорость потока инертного газа через колонку 1,5 мл/мин. Программа нагревания колонки: начальная температура — +70°C, конечная — +220°C, скорость нагревания 4°C в минуту. Температура детектора масс спектрометра — +250°C, температура инжектора — +300°C, объем вводимой пробы — 1 мкл. Внутренним стандартом служил раствор трикозана в пиридине (1 мкг/мкл). Полученные результаты обрабатывались с помощью программы «UniChrom» и NIST MS Version 2,0.

В результате исследования установлено, что метаболомый профиль зерновок овса в среднем состоял из более чем 350 компонентов, из них идентифицировано 94. Идентифицированные компоненты представляли следующие группы соединений: 28 органических кислот, 18 свободных аминокислот, азотные основания (аденозин, уридин), 14 жирных кислот, ацилглицеролы (МАГ-1 С16:0, МАГ-1 С18:0, МАГ-2 С18:3, МАГ-2 С18:2, ДАГ), 18 многоатомных спиртов, в том числе 5 стеролов, 8 фенолсодержащих соединений, моно и полисахара (15 и 6, соответственно).

Зерновки диких и культурных видов отличались друг от друга по метаболомному спектру. Для удобства рассмотрения все данные приводятся в % долях от общего содержания всех идентифицированных соединений. Образцы диких видов отличались от групп культурного овса наибольшим процентом органических кислот (1,6%), жирных кислот (7,7%), многоатомных спиртов (3,8%), фитостеролов (0,7%), полисахаридов (76%). У образцов пленчатого овса отмечено высокое по сравнению с другими группами содержание свободных аминокислот, ацилглицеролов и моносахаров (3, 2, и 63%, соответственно). Доля фенольных соединений, идентифицированных в группах пленчатых и диких видов овса было одинаковым, однако они отличались по своему качественному составу (см. ниже). Содержание фосфорной кислоты и метилглюкозида у диких видов составляло 0,7%, у пленчатых — 0,1 и у голозерных образцов овса 0,2%. Доля азотистых оснований у образцов культурного овса составила 0,1%, у диких видов она была равна 0,03%.

Рисунок 1. Основные группы метаболомного спектра зерновок диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания всех идентифицированных соединений).

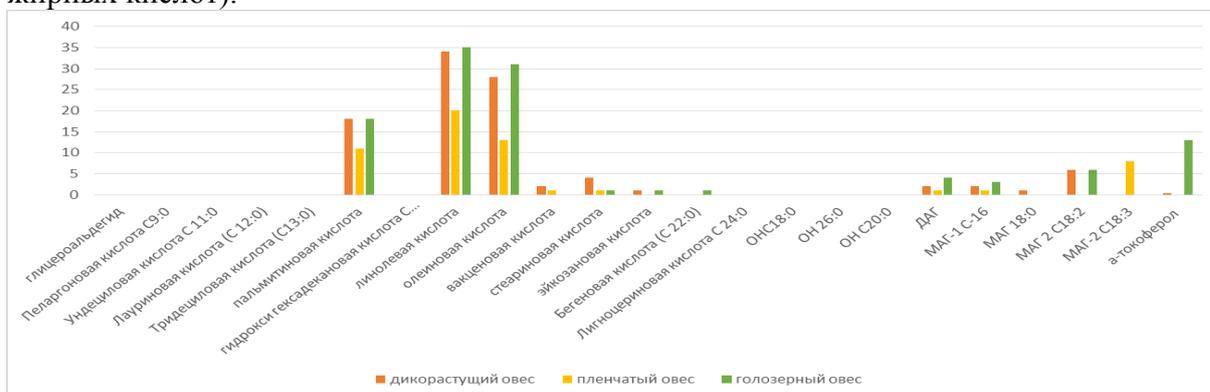




Были идентифицированы следующие жирные кислоты: пеларгоновая, ундециловая, пеларгоновая, лауриновая, тридециловая, пальмитиновая, линолевая, олеиновая, вакценовая, стеариновая, эйкозановая, бегеновая, лигноцеринаовая, гидроксооктадекановая, кислоты. А также ацилглицеролы (ДАГ, МАГ-1 С16:0, МАГ-1 С18:0, МАГ-2 С18:2, МАГ-2 С18:3).

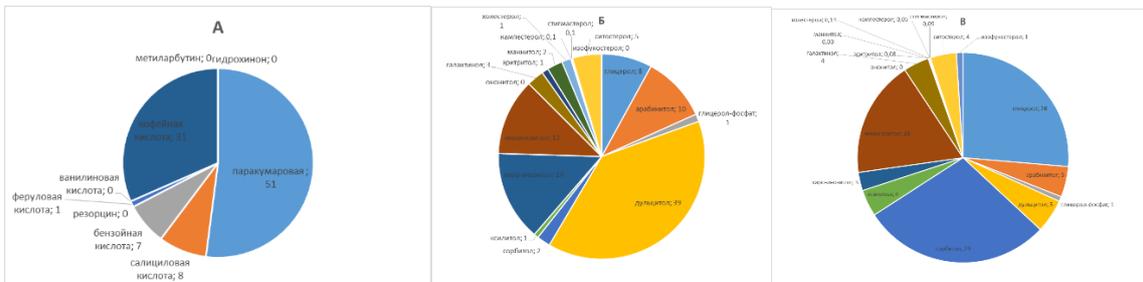
Для всех изученных образцов зерновок овса основными жирными кислотами были пальмитиновая, линолевая и олеиновая (см.рис.4) МАГ 2 С18:2 преобладали у образцов диких видов и голозерного овса превалирующими были ацилглицеролы (6 и 6%, соответственно), а в группе пленчатого овса – МАГ-2 С18:3 (8%). У образцов диких видов овса идентифицирован и α-токоферол.

Рисунок 4. Жирные кислоты, ацилглицеролы и α-токоферол зерновок диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания всех идентифицированных жирных кислот).



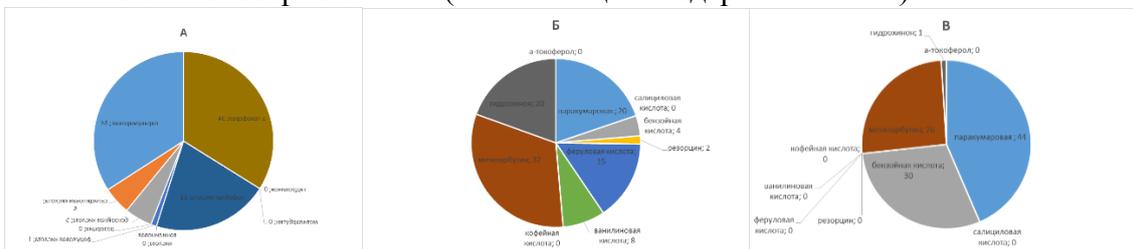
В образцах диких видов основными полиолами были галактинол, дульцитол, глицерол и ситостерол (31, 17, 15 и 14%, соответственно). У образцов пленчатого овса основными многоатомным спиртами оказались дульцитол, хиро и мио инозитолы, арабинтол (39, 14, 12, 10%, соответственно), а у голозерного – сорбитол, глицерол и мио-инозитол (29, 26, 18%). Фитостеролом, обладавшим наибольшим содержанием в зерновках, всех исследованных образцов, был ситостерол (см. рис4).

Рисунок 4. Многоатомные спирты, идентифицированные в зерновках диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания многоатомных спиртов).



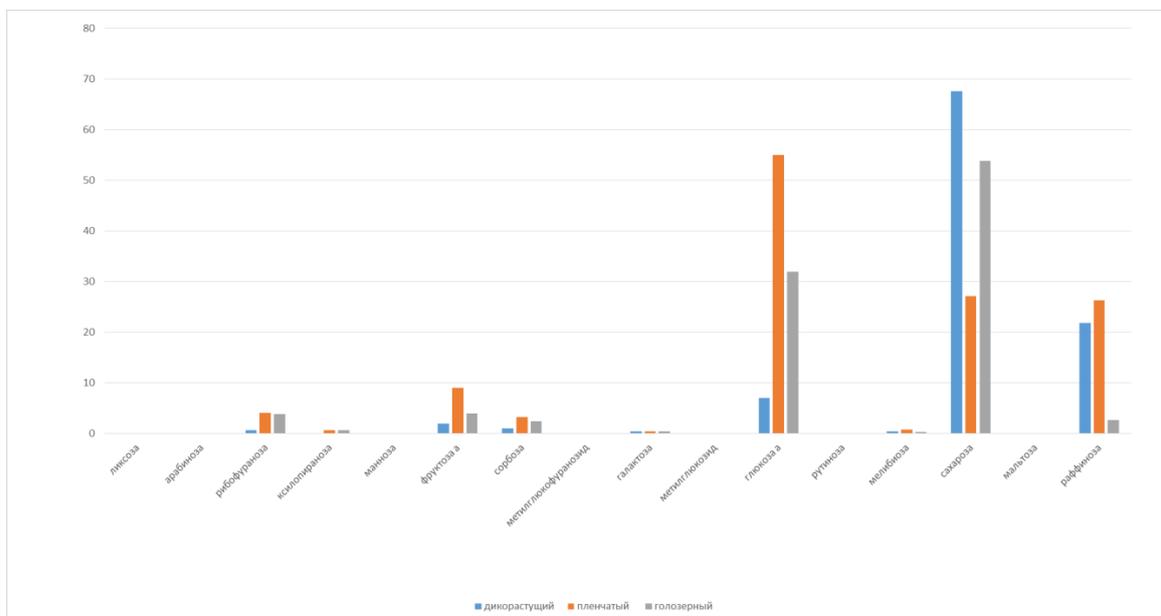
Из фенольных соединений (ФС) соединений у образцов диких видов овса наибольшее содержание имели паракумаровая и кофейная кислоты, (51, 31%, соответственно). Для образцов пленчатого овса – метиларбутин, гидрохинон, паракумаровая, феруловая кислоты, ризорцин (32, 20, 20, 15, 2%, соответственно), для голозерного овса – паракумаровая, бензойная кислоты и метиларбутин (44, 30, 26%, соответственно). Как видно из вышеизложенного образцы разных групп овса различались и по качественному и по количественному составу, только паракумаровая кислота имела значительное процентное содержание во всех изученных группах (см. рис. 4). Исследуемые нами образцы отличались между собой по качественному составу ФС. Если у диких видов основное содержание ФС было представлено оксикоричными кислотами и токоферолом, у пленчатых образцов – оксикоричными кислотами, гидрохиноном и метиларбутином, а у голозерных форм практически в равной степени – оксикоричными, оксibenзойными кислотами и метиларбутином.

Рисунок 4. Фенольные соединения, идентифицированные в зерновках диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания ФСС).



Представленные группы образцов сильно отличались по общему содержанию моно- и полисахаридов. У образцов диких видов овса доля моносахаридов составила только 10%, а полисахариды составили 90% от общего содержания всех идентифицированных сахаров. Сахара образцов пленчатого овса были представлены в основном полисахаридами (74%), моносахара же составили 26%. Образцы голозерного овса заняли промежуточное положение по содержанию моно и полисахаров (43 и 57%, соответственно). Моносахариды были представлены в основном глюкозой, которая у образцов диких видов, пленчатого и голозерного овса составила 7, 55, 32% соответственно, а полисахариды – сахарозой (68, 28 и 54%, соответственно), для диких видов и пленчатых образцов овса также установлено значительное количество раффинозы (22 и 26%, соответственно).

Рисунок 6. Сахара, идентифицированные в зерновках диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания сахаров).



Кроме вышеописанных соединений нами были идентифицированы фосфатные (глицерол-3-фосфат) и лактонные формы (треоно-1,4-лактон), которые были в основном представлены в образцах голозерных форм овса. Фосфаты представляют собой метаболически активные формы соединений. Они свидетельствуют об активности процессов липидного обмена.

Таким образом в образцах овса были идентифицированы компоненты, характеризующие основные метаболические процессы, проходящие в зерне (дыхание, гликолиз, ЦТК и др.). Кроме того, были обнаружены отличительные особенности метаболома исследуемых групп овса. У образцов диких видов овса был более узкий спектр органических кислот, по сравнению с образцами культурного овса (см. рис 2). Кроме того, в только в зерновках диких видов овса была идентифицирована азелаиновая и салициловая кислоты, эти кислоты и их производные играют роль сигнальных молекул. Эти соединения в виде гликозидов вырабатываются растительной тканью в ответ на воздействие стрессовых факторов.

Также у образцов диких видов овса был беднее качественный состав свободных аминокислот, в том числе незаменимых, по сравнению с образцами культурного овса. Однако, образцы диких видов овса отличались большим количеством пипеколовой кислоты, а в образцы голозерного овса – 5-гидрокси-пипеколовой. Их присутствие связывают с преобразованием аминокислоты лизина. Также присутствие пипеколовой связывают с иммунным ответом на поражение растительных тканей грибом рода *Fusarium*. Присутствие глицина, который составлял значительную часть аминокислотного состава диких видов и голозерного овса, связывают в том числе с устойчивостью растений к абиотическим факторам окружающей среды, в частности к засухе.

Различия образцов в представленности тех или иных ацилглицеролов в образцах различных групп овса скорее всего связан с особенностями липидного обмена, в том числе в силе реакции на воздействия внешней среды. У образцов диких видов овса идентифицирован и  $\alpha$ -токоферол, который является одним из мембранопротекторов растительной клетки.

Группа фенольных соединений была немногочисленна, образцы разных групп овса различались по их качественному и количественному составу. Наименьшее их содержание оказалось у голозерных образцов. Однако, биологически активные соединения они не требуют большой концентрации. Во всех исследованных образцах в значительная доля всех ФС приходилась на паракумаровую кислоту. Для ФС диких форм были характерны оксикоричные, для голозерных форм – оксибензойные кислоты, а для пленчатых форм –

фенолы. Только у диких форм овса определялась салициловая и кофейная кислота и  $\alpha$ -токоферол, что характеризует особенности реакции диких форм на стрессы окружающей среды. В частности, салициловая кислота и ее производные связывают с устойчивостью к болезням растений и насекомым-вредителям, и водному стрессу.

Если у диких видов основное содержание ФС было представлено оксикоричными кислотами и токоферолом, оксикоричными кислотами, и метиларбутином, а у голозерных форм практически в равной степени – оксикоричными, оксibenзойными кислотами и метиларбутином.

Доля многоатомных спиртов в метаболоме образцов разных групп овса была практически одинакова (см. рис. 1), но состав их различен. Галактинол выявлен в значительном количестве в образцах диких видов овса. Маннитол выявленный у диких и пленчатых форм овса, способствует устойчивости растения к засухе.

Изученные нами группы образцов сильно отличались друг от друга по общему содержанию моно- и полисахаридов. Глюкоза была преобладающим моносахаридом для всех изученных групп, но наибольшее ее количество отмечено у образцов пленчатого и голозерного овса.

В результате исследования установлены достоверные отличия метаболома образцов диких видов овса от образцов культурного овса. Наиболее выраженными оказались различия в составе свободных аминокислот, в частности (глутамина, тирозина и глутаминовой кислоты), жирных кислот и ацилглицеролов (пальмитиновой, олеиновой и линолевой, МАГ-1 С16:0, МАГ-2 С18:2, МАГ-1 С18:0, ДАГ), органических кислот (яблочной, глюконовой, галактуроновой кислот), фосфорной кислоты, многоатомных спиртов (глицерола, глицеро-6-фосфата, сорбитола, ксилитола, ситостерола, дульцитола и мио инозитола), моносахаров (галактозы, маннозы, ксилозы, фруктозы) и метилглюкозида. Из вышеописанного видно, что метаболом диких видов существенно отличался от форм культурного овса, в то время как метаболом образцов культурных форм овса не имел существенных различий между собой. Метаболитный профиль, в том числе его особенности характеризует биохимический фенотип, сформировавшийся под влиянием генотипа и условий окружающей среды (биотические и абиотические факторы). Таким образом, можно предположить, что полученные нами различия метаболомных профилей диких видов, пленчатого и культурного овса подтверждает влияние процесса окультуривания и селекции на его метаболомный профиль, как было показано ранее (Лоскутов и др., 2016).

Анализ данных по диким видам овса показал, полученные впервые, различия метаболомных профилей по группам видов по уровню пloidности и на уровне отдельных видов.

Органические кислоты – повышенное содержание молочной кислоты было у *A. atlantica*, метилмалоновой кислоты – *A. atlantica*, яблочной кислоты – *A. wiestii*, *A. occidentalis*, эритроновой кислоты – *A. clauda*, пипеколовой кислоты – *A. insularis*, азеиноновой кислоты – *A. occidentalis*, фталевой кислоты – *A. sterilis*, глюконовой кислоты – *A. canariensis*, глюкуроновой кислоты – *A. longiglumis*, галактуроновой кислоты – *A. insularis* (диплоиды и гексаплоиды).

Жирные кислоты – повышенное содержание стеариновой кислоты было у *A. insularis*, олеиновой кислоты – *A. occidentalis*, вакценовой кислоты – *A. occidentalis*, линолевой кислоты – *A. insularis*, линоленовой кислоты – *A. occidentalis*, моноацилглицерола 16:0 – *A. insularis*, моноацилглицерола 18:0 – *A. clauda*, моноацилглицерола 2-18:2 – *A. occidentalis* (тетраплоиды и гексаплоиды)

Аминокислоты – повышенное содержание глицина было у *A. atlantica*, валина – *A. wiestii*, этаноламина – *A. fatua*, пролина – *A. wiestii*, серина – *A. wiestii*, треонина – *A. wiestii*,

оксопролина – *A. occidentalis*, аспарагиновой кислоты – *A. wiestii*, глутамина – *A. wiestii*, аспарагина – *A. wiestii* (диплоиды).

Многоатомные спирты – повышенное содержание глицерола было у *A. occidentalis*, арабинитола – *A. occidentalis*, ксилитола – *A. sterilis*, глицерол-фосфата – *A. sterilis*, дульцитола – *A. fatua*, сорбитола – *A. sterilis*, галактинола – *A. fatua*, мио-инозитола – *A. atlantica*, хиро-инозитола – *A. occidentalis*,  $\beta$ -ситостерола – *A. sterilis*, изофукостерола – *A. insularis* (гексаплоиды).

Моносахара – повышенное содержание маннозы было у *A. atlantica*, а и в фруктозы – *A. insularis*, сорбозы – *A. canariensis*, аи в глюкозы – *A. fatua*, галактозы – *A. atlantica*, ксилозы – *A. atlantica* (диплоиды).

Дисахара – повышенное содержание сахарозы было у *A. clauda* и *A. canariensis* (диплоиды).

Следующим набором для исследования было выбрано разнообразие культурных видов овса – *A. sativa* (*A. sativa* subsp. *sativa* и *A. sativa* subsp. *nudisativa*, 6n), *A. byzantina* (6n), *A. abyssinica* (4n) и *A. strigosa* (2n). Объект исследования – зерновки образцов культурных видов овса разного уровня плоидности из коллекции отдела генетических ресурсов (ГР) овса, ржи, ячменя ВИР. Задача работы – выявление различий между формами овса на уровне метаболомных спектров для фенотипирования, структурирования генетического разнообразия, выявления связи между биохимическими компонентами и генетическими особенностями зерновых культур, с перспективой выявления новых возможностей для целенаправленной селекции на качество. Последнее время метаболиты «пищевых», в том числе зерновых, культур активно изучаются. Поэтому, наше исследование является актуальным и востребованным.

Установлено, что самые высокие показатели суммы органических кислот, фенольных соединений и ацилглицеролов у образцов диких видов овса. Сумма свободных органических кислот практически одинакова у образцов диких видов овса и *A. sativa* subsp. *nudisativa*. Для образцов *A. sativa* subsp. *nudisativa* и *A. strigosa* установлено высокое содержание жирных кислот по сравнению с другими образцами. У образцов диких видов овса и *A. strigosa* определена самые высокие показатели суммы многоатомных спиртов. Самая высокая сумма фитостеролов отмечена у образцов *A. sativa* subsp. *sativa*. Самые высокие показатели моносахаров отмечены у *A. sativa* subsp. *sativa* и *A. strigosa*, а полисахаров и сахаров в целом у образцов *A. sativa* subsp. *nudisativa*.

Тетраплоидный культурный эндемичный вид *A. abyssinica* из Эфиопии занимал промежуточное положение и не выделялся по изученным показателям.

Таким образом, образцы овса диких видов отличаются наиболее высоким содержанием органических кислот, фенольных соединений, ацилглицеролов, свободных аминокислот и многоатомных спиртов, образцы *A. sativa* subsp. *sativa* – фитостеролов и моносахаров, *A. sativa* subsp. *nudisativa* – жирных кислот, свободных аминокислот, полисахаров и сахаров, *A. strigosa* – жирных кислот, многоатомных спиртов, моносахаров.

Следовательно, у образцов диких видов овса наиболее высокими являются показатели устойчивости, а у образцов культурного овса питательной ценности.

Таблица. Содержание основных групп метаболитов в зерновках образцов видов культурного овса различной плоидности (мг/100г. сухого вещества).

Группы метаболитов	2n	4n	6n
сумма органических кислот	<b>18,6</b>	8,8	12,4
сумма фенольных соединений	0,5	0,5	<b>0,8</b>
сумма жирных кислот	<b>165,4</b>	111,3	98,5
Сумма ацилглицеролов	<b>46,0</b>	41,6	14,8
сумма свободных аминокислот	44,9	<b>67,9</b>	54,4

<b>сумма многоатомных спиртов</b>	<b>159,4</b>	114,5	80,5
<b>сумма фитостеролов</b>	<b>6,4</b>	6,2	5,8
<b>сумма моносахаров</b>	<b>1147,1</b>	820,3	817,8
<b>сумма полисахаров</b>	318,5	256,5	<b>780,2</b>
<b>сумма сахаров</b>	1465,7	1076,9	<b>1598,0</b>

Сравнительный анализ основных групп метаболитов образцов культурных видов овса разной ploидности впервые показал, что у диплоидных образцов овса самое высокое содержание органических кислот, жирных кислот, ацилглицеролов, многоатомных спиртов, фитостеролов, моносахаров и общей суммы сахаров. У тетраплоидных образцов высокие показатели свободных аминокислот. Гексаплоидные образцы отличаются высоким содержанием фенольных соединений, полисахаров и общей суммы сахаров.

Из вышесказанного следует, что диплоидные формы имеют по ряду биохимических показателей сходство с дикими видами (см. выше) и содержат в зерновках больше не только метаболитов, связанных с большей устойчивостью овса к стрессовым факторам среды, но и «отвечающих» за питательную ценность. Высокое содержание фенольных соединений и сахаров в гексаплоидных образцах предположительно связано с направленностью селекционных работ, связанных с получением сортов, обладающих как питательной ценностью, так и устойчивостью.

Комплексное изучение диких видов овса в таксономическом и селекционном отношении вызвано большим интересом селекционеров к их практическому использованию. Однако, комплексный подход к изучению филогении рода отсутствует. До сих пор многие проблемы остаются до конца нерешенными: нет единого мнения о происхождении видов овса, их систематическом положении и родственных связях. Наша работа заключалась в получении и выявлении наиболее информативных маркерных последовательностей ядерного и хлоропластного геномов у культивируемых и диких видов рода *Avena* L., включая редко встречающиеся виды с неясным систематическим положением и культивары овса, полученные в процессе селекции.

Для выделения ДНК в августе месяце был отобран материал, выращенный на опытных полях Пушкинских лабораториях (ВИР) в 2018 г. Итоговый список включал 35 образцов – диких и культурных видов рода *Avena* L. из разных регионов мира:

*A. abyssinica* K-14826, K-11678, K-11677; *A. agadiriana* K-2123; *A. atlantica* K-2108, K-2111; *A. barbata* K-230, K-1848, K-2071; *A. canariensis* K-2114, K-2115; *A. clauda* K-1907; *A. damascena* K-1862; *A. fatua* K-393; *A. hirtula* K-2; *A. insularis* K-2067, K-2102; *A. longiglumis* K-1881; *A. ludoviciana* K-428, K-510, K-389; *A. macrostachya* K-1856; *A. magna* K-2099, K-145; *A. murphyi* K-2088; *A. occidentalis* K-1967; *A. pilosa* K-1890; *A. sativa* × *A. macrostachya* (PR5T8A); *A. sterilis* K-501, K-477, K-511, K-846; *A. vaviloviana* K-10, K-755; *A. wiestii* K-2119.

Выделение геномной ДНК производилось при помощи наборов для выделения QIAGEN «DNeasy Plant Mini Kit», а также с помощью СТАВ-метода (Saghai-Marooft et al., 1984) с модификациями (Doyle, Doyle, 1987).

Для амплификации нужных (ядерных и хлоропластных) последовательностей в ходе полимеразной цепной реакции использовались следующие праймеры: Its-1P AACCTTATCATTTAGAGGAAGG (Ridgway et al., 2003) и Its-4 CCTCCGCTTATTGATATGC (White et al., 1990), tabA, tabB, tabC, tabF (Taberlet et al., 1991), trnK5'r (Johnson, Soltis, 1995), rps16-4547mod (Kress et al., 2005).

ПЦР производилась на амплификаторах «PCR-Sprint» (Hybaid Inc., Великобритания), «Techne TC412» (BarloworldScientific, Великобритания). Параметры циклов амплификации следующие: 1 цикл: 5 мин 95° C; 30 циклов: 1 мин 94° C; 1 мин 52° C; 1 мин. 72° C; 1 цикл: 10 мин 72° C для ITS-последовательностей, 5 мин 95° C; 35 циклов: 1

мин 95°C; 1 мин 10 с 55°C (или 52°C); 1 мин 10 с 72° C; 1 цикл: 10 мин 72°C для хлоропластных последовательностей *trnK-rps16* и *trnL-trnF*. Полученные в ходе амплификации фрагменты выделялись из 1-1.5% агарозного геля с помощью набора QiaGen Extraction Kit (Qiagen, Inc., Германия). После проводилось чтение полученной последовательности ДНК с использованием флуоресцентно меченных терминирующих реакцию аналогов нуклеотидов (Sanger et. al., 1977). В работе использовались флуоресцентно меченные 2',3'-дидезоксинуклеозидтрифосфаты набора Big Dye Terminator Kit v.2.0 (PerkinElmer Life Sciences, Inc., Boston, USA). Секвенирующая ПЦР производилась на автоматическом секвенаторе ABI Prizm 377 (Applied Biosystems, Warrington, UK) на базе Центра коллективного пользования БИН РАН. Полученные последовательности будут выравнены с помощью пакета программ MEGA 7 и PhyDE и сопоставлены с имеющимися в базе данных GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Также нами подготовлены образцы для исследования видов рода *Avena* на платформе Illumina (для изучения предполагаемых гибридогенных геномов и выявления возможных предков гибридогенных видов). Работы в данном направлении будут продолжены в 2019 г.

Кроме того, с 8 по 26 августа 2018 года была организована и проведена ботаническая экспедиция по сбору гербарного материала и семян злаков природной флоры в Алтайском крае и Республике Алтай. Экспедиция проводилась в рамках проекта РФФИ Комфи 17-00-00340 «Изменения геномов и метаболомов аллополиплоидов у злаков трибы овсовые (*Aveneae* Dumort.) в условиях жесткой селекции и при видообразовании в природе». В экспедиции участвовали А.В. Родионов (БИН), Е.О. Пунина (БИН), Н.Н. Носов (БИН) и А.А. Гнутиков (ВИР). Сбор материала проводился в следующих районах Алтайского края: Краснощековский, Рубцовский, Солонешенский; и Респ. Алтай: Кош-Агачский, Онгудайский, Улаганский, Усть-Канский, Чемальский, Шебалинский. Всего было собрано 525 гербарных образцов – представителей 35 родов злаков.

Уникальность данного исследования в первую очередь состоит в исследуемом материале. Такая выборка разных образцов овса, взятых для метаболомного исследования, встречается впервые. Материалом служили образцы видов культурного и дикого овса разной ploидности, различного географического происхождения, голозерные и пленчатые формы. Ранее метаболомный профиль данных образцов такого видового и внутривидового разнообразия изучен не был и данных в литературе об этом не приводится. Было идентифицировано более 100 метаболитов из более, чем 7 групп соединений (органические кислоты, свободные аминокислоты, жирные кислоты, многоатомные спирты, в том числе стеролы, ацилглицеролы, сахара, нулеозиды, и др.) Такой широкий спектр идентифицированных метаболитов на такой представленной выборке образцов ранее не встречался. Таким образом у нас есть возможность получить достоверные связи между отдельными метаболитами, между группами метаболитов, установить их связь с устойчивостью к различным стрессам и качественными показателями зерновки.

Изучение метаболитного профиля растения в разных стадиях развития дает возможность проследить динамику изменения соотношения различных метаболитов и их групп. Нашей же задачей было найти те соединения, которые обеспечивают питательную и хозяйственную ценность образцов (устойчивость к стрессам) в связи с перспективой их дальнейшего использования. Изучение метаболитов различных экономически значимых культур, в том числе овса, и их связь с устойчивостью к стрессам находится в стадии накопления информации, поэтому особенно важны такие работы как наша, где в изучение берутся образцы, наиболее полно отражающие все существующее в мире на настоящий момент разнообразие видов и форм овса, входящих в данный род.