

1. Анализ паспортных баз данных для отбора староместного, сорно-полевого и дикого видового материала для проведения фенологических исследований и молекулярно-генетических исследований

В отделе Генетических ресурсов овса, ржи, ячменя существует полноценная паспортная база данных рода *Avena* L., состоящая из двух частей – паспортная база культурных видов (на 10845 записей по 43 полям объемом 19 282 КБ) и диких видов (на 1975 записей по 32 полям объемом 990 КБ). Эти базы были проанализированы и из них были отобраны образцы для данного изучения. По теории Н.И. Вавилова овес посевной имеет сорно-полевое происхождение, т.е. овес засорял другие яровые зерновые культуры, в том числе полбу. Впервые факт засорения полбы оригинальными формами овса, неизвестными в Европе, был отмечен Н.И. Вавиловым для Ирана, куда эта культура была завезена из Турции. Иранский овес резко отличается от европейского очень длинными колосковыми и цветковыми чешуями (пленками). Среди последних имеется целая гамма расцветок – от белопленчатых до темно-коричневых. Собранные образцы *Avena sativa* выделены Н.И. Вавиловым в особую группу разновидностей *convar. asiatica* Vavilov ex Rod. et Sold. с разновидностями *var. iranica* Vavilov (белопленчатая), *var. persica* Vavilov (желтопленчатая), *var. asiatica* Vavilov (коричневопленчатая) (Родионова и др., 1994). В полбе из Прикамья наряду с обыкновенными формами (непрочное сочленение цветков колоска и распадающиеся при обмолоте зерна) обнаружены формы с прочным сочленением цветков (зерен) и с не распадающимися колосками. За компактность колосков, напоминающих *Triticum dicoccum* (полбу), эти формы овса названы полбяными. При обмолоте они всегда распадаются парами, так как цветки (зерна) остаются у них не разъединенными. Такие формы овса выделены только из полбяных посевов (Лоскутов, 2007). Среди них установлены новые разновидности *Avena sativa*, Объединенные в группу разновидностей *convar. volgensis* Vavilov ex Rod. et Sold., различающиеся по окраске и остистости: белопленчатые остистые – *var. kasanensis* Vavilov, белопленчатые безостые – *var. volgensis* Vavilov, желтопленчатые остистые – *var. bashkirorum* Vavilov, желтопленчатые безостые – *var. segetalis* Vavilov. Н.И. Вавилов считал весьма вероятным, что происхождение культуры овса в Прикамье связано с полбой, которая при продвижении с юга дошла до северных районов. Полбяной овес из Ирана, Поволжья и Прикамья представляет интерес для нахождения связей с предковыми формами овса и для установления путей доместикации, а также для селекции благодаря устойчивости к весенней засухе, повреждениям пьявицей и выносливости к повреждениям шведской мухой (Родионова и др., 1994). Среди этих разновидностей А.И. Мордвинкиной выделен целый ряд переходных форм от типично полбяных растений с прочным сочленением до обычных, сходных по сочленению колосков с возделываемым овсом (Мордвинкина, 1936). Все выше перечисленные разновидности были взяты в данное изучение. Всего из коллекции было отобрано обладающими данными признаками 26 уникальных образцов. Все они представляют оригинальные сборы 1920-х годов самого Н.И. Вавилова и его соратников. Все эти и другие редкие разновидности сохраняются в единственном числе только в рабочей коллекции и в хранилищах

Из коллекции диких видов овса для установления направления путей доместикации культурного овса, в первую очередь, были отобраны гексаплоидные виды (*A. ludoviciana* Durie. и *A. fatua* L.) собранные в разные годы с территории СССР, Российской Федерации (Краснодарский кр., Ставропольский кр., Дагестан, Крым) и Украины. Для уточнения геномного состава диких видов овса были отобраны виды с разным уровнем ploидности,

геномным составом и широким географическим происхождением из центров происхождения и разнообразия рода *Avena L.* Всего в изучение было взято из мировой коллекции ВИР 56 образцов диких видов овса.

2. Проведение полевого фенотипирования староместного, сорно-полевого и дикого видового материала на полях Пушкинских лабораторий ВИР

Все работы по размножению семенного материала, фенотипированию и выделению источников из 112 образцов мировой коллекции ВИР по широкому кругу морфологических, хозяйственно ценных признаков и устойчивости к биотическим стрессам (наиболее распространенным болезням) были проведены в полевых условиях Пушкинских и Павловских лабораторий ВИР с использованием стандартных методических указаний по изучению мировой коллекции овса (Лоскутов и др., 2012). Изучаемые образцы высевали на опытном поле Пушкинских лабораторий ВИР в мелкоделяночном опыте. Посев проведен в оптимальный срок 5 мая. Всходы отмечены 18 мая. Продолжительность периода вегетации и другие изучаемые признаки оценивались в сравнении с районированным в Ленинградской области сортом Привет (к-14787, Московская обл.). Предшественником овса в севообороте был картофель. Почвы опытного поля дерново - подзолистые легкосуглинистые, легкие по механическому составу, с низкой влагоемкостью и хорошей воздухопроницаемостью. Погода в первой половине вегетации от всходов до выметывания отличалась от средних многолетних показателей. Май был прохладным и сухим. Температура воздуха в среднем на 1,3⁰С ниже нормы, количество осадков за месяц – 25 мм (53% от нормы). Июнь, напротив, оказался аномально жарким, в среднем на 3,4⁰С, максимальная температура воздуха доходила до 32,4⁰С. Количество осадков было близко к норме – 66 мм (93%), но они выпадали неравномерно. Прошли сильные ливни с градом и шквалистым усилением ветра, что сказалось на состоянии посева. Большинство образцов выметались в первой декаде июля. Температура воздуха в июле была ниже, чем в июне и меньше многолетних показателей на 1,2⁰С. Осадков выпало больше нормы – 94 мм (118%), но основная их часть пришлась на третью декаду месяца. Такая погода способствовала появлению подгонов и развитию гельминтоспориоза. В августе температура воздуха была на уровне многолетних показателей – в среднем 17,2⁰. Осадки выпали в первой декаде месяца – 25 мм и в третьей декаде – 78 мм, что превысило норму (125%) и затруднило уборку урожая. Овес убран в конце августа.

В 2020 г. было проведено полевое фенотипирование образцов овса посевного из мировой коллекции ВИР и их размножение для последующей передачи в отдел биохимии на метаболомный анализ. В изучение включены 26 староместных образцов посевного овса (*A. sativa L.*), относящихся к двум группам разновидностей. Первая группа разновидностей *convar. asiatica* – овес с удлиненными чешуями (20-30 мм), включает 3 разновидности, имеющие раскидистую метелку и колоски с одной остью: *var. asiatica* – с коричневой окраской цветковой чешуи – 1 образец из Ирана, *var. iranica* – с белой окраской цветковой чешуи – 1 образец из Ирана и *var. persica* – с желтой окраской цветков чешуи – 1 образец из Ирана, 2 образца из Дагестана и 2 образца из Грузии. Вторая группа разновидностей – *convar. volgensis* – овес с прочным соединением цветков в колоске, очень коротким стерженьком второго цветка, зерна при обмолоте выпадают парами, включает 5 разновидностей: *var. volgensis* – окраска цветковых чешуй белая, без остей – 7 образцов из Ульяновской обл. и Татарстана, *var. kasanensis* – окраска цветковых чешуй белая, колоски с 1 остью – 7 образцов из Ульяновской обл., Саратовской обл. и Татарстана, *var. segetalis* –

окраска цветковой чешуи желтая, колоски без остей – 3 образца из Кировской обл., Чувашии и Башкирии, var. *bashkirorum* – окраска цветковой чешуи желтая, колоски с 1 остью – 1 образец из Ульяновской обл., var. *armeniaca* – окраска цветковой чешуи коричневая, колоски с одной остью – 1 образец из Грузии.

Фенологические наблюдения показали, что продолжительность периода вегетации от всходов до созревания у местных образцов овса составила от 80 до 90 дней, продолжительность периода всходы – выметывание от 45 до 52 дней, периода выметывание – созревание – от 35 до 41 дня. Самый короткий период вегетации был у Местного образца из Ульяновской области (к-2152) – 80 дней, самый продолжительный период – у Местного образца (к-1696) из Ирана – 90 дней. Все образцы созревали позже, чем стандартный сорт “Привет” (к-14787, Московская обл.), который на протяжении длительного периода является стандартом для изучения коллекции овса ВИР. Продолжительность периода вегетации у сорта “Привет” в 2020 году составила 74 дня, периода всходы – выметывание – 43 дня, периода выметывание – созревание – 31 день. Вегетационный период по группам разновидностей был следующим: 1. convar. *asiatica* – 83-90 дней, var. *iranica* – 89 дней, var. *persica* – 83-86 дней, var. *asiatica* – 90 дней; 2. convar. *volgensis* – 80-87 дней, var. *volgensis* – 80-87 дней, var. *kasanensis* – 82-85 дней, var. *segetalis* – 83-86 дней, var. *bashkirorum* – 83 дня и var. *armeniaca* – 85 дней. Высота растений у местных образцов колебалась от 95 до 125 см. Среднюю высоту (105 – 110 см.) имели 12 образцов овса всех разновидностей, кроме var. *iranica*. Образец из Ирана var. *iranica* был самым низкорослым – высота 95 см. Высоту выше средней (115 – 125 см) имели 13 образцов, относящихся к разновидностям – *persica*, *volgensis*, *kasanensis*, *segetalis*. Самыми высокими были образцы var. *persica* – 125 см: к-4492 (Грузия) и к-7022 и к-7023 из Дагестана. Эти образцы не полегли и имели максимальный балл устойчивости (9 баллов). В слабой степени полегли образцы из Ирана var. *iranica*, *persica* и *asiatica*, в средней степени (5 баллов) полегли образцы var. *volgensis* из Татарстана с высотой растений от 110 до 120 см. Проведена полевая оценка устойчивости овса к болезням на естественном инфекционном фоне. В 2020 году из-за слабой инфекционной нагрузки не получили распространения корончатая ржавчина и вирус желтой карликовости ячменя (ВЖКЯ). В июле, в фазу выметывания овса появилась темно-бурая листовая пятнистость – гельминтоспориоз, который поражал растения в слабой и средней степени (3-5 балла). Поражение 5 баллов наблюдалось у Местных образцов разновидности *persica*, *volgensis*, *kasanensis*, *segetalis* и *bashkirorum*. После уборки урожая проведен анализ метелки овса и проведена оценка крупности зерна по массе 1000 зерен. Длина метелки местных образцов составила от 16,9 до 24,4 см. Метелку средней длины от 16,9 до 18,9 см имели 6 образцов, длинную метелку 19-21 см – 12 образцов и очень длинную – больше 21 см – 8 образцов. Самая короткая метелка была у образца из Ирана (к- 1693) var. *iranica*, самая длинная – у образца из Грузии (к-4492) - var. *persica*. Число зерен в метелке колебалось от 28 до 86. Большое количество зерен (больше 61) имели 6 образцов, относящихся к разновидностям *persica*, *volgensis*, *kasanensis*, *segetalis*, и *bashkirorum*. Максимальное число зерен – 86 шт. было у образца из Татарстана (к-2631) разновидности *kasanensis*. Масса зерна с метелки у большинства образцов была средней и ниже средней (от 1,2 до 1,88 г), у 4 образцов – меньше 1,2 г, у 3 образцов выше средней (больше 2 г) от 2,05 до 2,11 г. Самая большая масса зерна с метелки получена у образцов из Ульяновской обл. (к-2146) var. *bashkirorum*, из Кировской обл. (к-2896) var. *segetalis* и из Татарстана (к-6763) var. *volgensis*. Масса 1000 зерен характеризует образцы по крупности зерна. Большой считается масса 1000 зерен от 36 г и выше. Только два образца из Ирана имели крупное

зерно – к-1693 var. *iranica* – 37,9 г и к-1696 var. *asiatica* – 36,6 г. Зерно средней крупности и выше средней (от 26 до 35 г) имели 21 образец. Самое мелкое зерно у Местного образца из Татарстана (к-2631) – 21,8 г var. *kasanensis*. Масса зерна с 1 м² дает представление о продуктивности образцов овса. Местные сорта овса, как правило, менее урожайные, чем современные селекционные сорта. В нашем изучении масса зерна с 1 м² колебалась от 226 до 627 г/м². Самые низкие показатели были у образцов из Ирана, относящихся к разновидностям *iranica* и *asiatica*. Эти крупнозерные образцы оказались малопродуктивными. Урожайность выше 500 г/м² была у 6 образцов, относящихся к разновидностям *volgensis*, *kasanensis*, *segetalis* и *persica*: к-2153, к-2611, к-2631 из Татарстана, к-4419 из Чувашии, к-5529 из Башкирии, к-7023 из Дагестана.

Материалом для исследования диких видов овса послужили 86 образцов из коллекции ВИР, относящиеся к 10 видам из 22 стран мира. Образцы относятся к видам с различным уровнем ploидности: диплоидные (2n=14) – *A. damascena* Rajh et Baum – 5 образцов из Сирии, *A. clauda* Durieu. – 1 образец из Турции, *A. longiglumis* Durieu – 1 образец из Марокко; тетраплоидные (2n=28) – *A. barbata* Pott – 1 образец из Франции (о. Корсика), *A. insularis* Ladiz. – 1 образец из Италии (о. Сицилия), *A. magna* Murph. et Terr. – 2 образца из США и 2 из Марокко; гексаплоидные – *A. fatua* L. – 5 образцов из России, 4 – из Украины, 1 - из Казахстана, 7 – из Болгарии, *A. ludoviciana* Durieu – 11 образцов из России, 4 – из Украины, 22 – из Турции и 2 – из США, *A. sterilis* L. – 1 образец из России, 13 – из Израйля, 2 – из США, *A. occidentalis* Durieu – 1 образец из Испании.

В 2020 г. продолжительность периода вегетации образцов диких видов овса зависит от их происхождения, реакции на длину дня и от погодных условий в период их роста и развития. Большинство образцов происходит из стран с теплым климатом и коротким днем. При выращивании в условиях длинного дня и прохладного климата Ленинградской области образцы диких видов ведут себя по-разному. У образцов с сильной реакцией на длину дня – очень растянут период от всходов до выметывания и более продолжительный период вегетации, чем у нечувствительных образцов. В 2020 году продолжительность периода вегетации у образцов диких видов овса была различной – от 81 до 117 дней. Первая половина вегетации от всходов до выметывания – от 45 до 73 дней. У стандарта – сорта «Привет» период вегетации составил в среднем 76 дней (период всходы - выметывание 43 дня). Все образцы в нашем изучении созревали позже стандарта. Выметывание метелки у диких видов происходило не одновременно на всех растениях и было растянуто по времени от 4 до 22 дней. Самое равномерное выметывание отмечено у образца *A. magna* из Марокко (к-1851). Этот образец выметался раньше всех – за 45 дней, т.е. на 2 дня позже стандарта. Самое неравномерное выметывание растений на делянке (от начала до полного – 22 дня) и самый продолжительный период всходы – выметывание был у образца *A. magna* (к-2081) из США. Вторая часть вегетации – от выметывания до созревания у большинства образцов короче первой или равна ей. Однако, у некоторых образцов этот период был длиннее первого на 4-10 дней. Это 7 образцов *A. magna*, *A. fatua*, *A. sterilis*, *A. ludoviciana*. Самый короткий период от выметывания до созревания был у образца *A. clauda* (к-1907, Турция) – 29 дней, самый продолжительный – у образца *A. ludoviciana* (к-170, США) – 62 дня. Дикие виды овса созревают неравномерно. От начала до полного созревания у образцов диких видов проходит от 6 до 35 дней. Самое равномерное созревание отмечено у образца *A. occidentalis* (к-1855, Испания), самое неравномерное созревание у образца *A. sterilis* (к-500, Израиль). По продолжительности периода вегетации (от всходов до полного созревания) большинство образцов отнесены к позднеспелым, по отношению к стандарту. Восемь

образцов очень поздние с периодом вегетации 117 дней – это 2 образца *A. magna*, 2 образца *A. sterilis* и 4 образца *A. ludoviciana*. В группу средне - поздних образцов с периодом вегетации 86 дней вошли 5 образцов *A. damascena* из Сирии, в группу среднеспелых – 2 образца - *A. fatua* (к-29, Россия, Тува) - 81 день и *A. insularis* (к-2067, Италия, Сицилия) – 82 дня. Высота растений была различной как у разных видов овса, так и у разных образцов одного вида и варьировала от 50 см до 185 см. Короткостебельными (80 см и ниже) были три образца: *A. magna* (к-161, США) – 80 см, *A. insularis* (к-2067, Италия, Сицилия) – 60 см, *A. fatua* (к-29, Россия, Тува) – 50 см. Среднюю высоту растений (от 81 до 130 см) имели 33 образца различных видов, выше 130 см – 20 образцов. Самые высокие растения были у двух образцов – *A. longiglumis* (к-1811, Марокко) – 185 см и *A. clauda* (к-1907, Турция) – 180 см. Большинство образцов были не устойчивыми к полеганию. Проведена полевая оценка устойчивости образцов овса к болезням на естественном инфекционном фоне. Болезни на растениях овса в 2020 году появились поздно в июле и из-за низкой инфекционной нагрузки не получили сильного распространения. Основным заболеванием был гельминтоспориоз – красно-бурая пятнистость, возбудителем которой является гриб *Drechslera avenae* (Eidam.) Ito et Kuribay. Поражение растений составило от 0 до 5 баллов. Сильнее других поражались образцы *A. fatua*. Корончатая ржавчина также появилась во второй половине вегетации, но не всех образцах. Не устойчивыми к этой болезни оказались два образца *A. fatua* и по одному образцу *A. sterilis* и *A. ludoviciana*. На одном образце *A. fatua*, кроме корончатой ржавчины отмечена и стеблевая ржавчина (к-43, Украина). На отдельных образцах *A. fatua*, *A. sterilis* и *A. ludoviciana* отмечен вирус желтой карликовости ячменя (ВЖКЯ) от 1 до 5 баллов. Один образец *A. ludoviciana* (к-383, Украина) поражался ВЖКЯ в сильной степени (9 баллов). Не поражались грибными и вирусными болезнями 6 образцов: 3 образца *A. damascena* из Сирии (к-1862, 1984, 2097), образец *A. insularis* (к-2067, Италия, Сицилия) и образец *A. fatua* (к-59, Болгария).

Таким образом, проведенное полевое фенотипирование 112 образцов мировой коллекции ВИР показало большое разнообразие на межвидовом уровне среди диких видов и внутривидовое разнообразие посевного овса, связанное с уровнем отбора местного материала на протяжении многих десятилетий в конце XIX и начале XX веков.

3. Проведение сбора недостающего материала по диким видам овса на территории РФ.

В рамках совместного проекта планировалась отсылка в Великобританию семенного материала коллекции ВИР по примитивным формам культурного овса и образцам диких видов, собранных по территории России, Украины и Азербайджана. Разрешение на отсылку семенного материала за границу нами получено не было.

Из всего взятого на изучение материала было выделено ДНК для отправки в Великобританию. Руководитель проекта (Лоскутов И.Г.) планировал посетить Великобританию для передачи материала британской стороне и обсуждения детальных планов совместной работы, для чего в конце марта 2020 г. была получена полугодовая британская виза. К сожалению, начавшийся карантин из-за пандемии коронавируса в России и в Великобритании не позволил осуществить данную поездку. Кроме того, была сорвана планировавшаяся совместная экспедиция по сбору недостающего материала по диким видам овса на территории РФ. Правда, была предпринята успешная попытка сбора материала по диким видам овса в пределах Краснодарского края. Сотрудники Майкопской оп. ст. ВИР собрали 20 образцов *A. ludoviciana* и передали их в институт. В следующем году этот материал будет включен в изучение.

4. Выявление новых источников хозяйственно ценных признаков в качестве исходного селекционного материала по устойчивости к биотическим стрессам.

В результате полевого фенотипирования староместного и видового разнообразия овса нами выделены образцы, которые являются источниками хозяйственно ценных признаков: среди культурного овса –

- по урожайности с делянки выделились местные сорта к-2153 и к-2611 из Татарстана, к-4419 из Чувашии, к-5529 из Башкирии, к-7023 из Дагестана;
- по числу зерен в метелке и урожайности к-2631 из Татарстана;
- по крупности зерна к-1693 и к-1696 из Ирана;

среди диких видов овса –

- с сокращенным периодом вегетации (менее 85 дней) вошли 5 образцов *A. damascena* из Сирии, в группу среднеспелых – 2 образца - *A. fatua* (к-29, Россия, Тува) - 81 день и *A. insularis* (к-2067, Италия, Сицилия) – 82 дня;
- по короткостебельности (ниже 80 см) были три образца: *A. magna* (к-161, США) – 80 см, *A. insularis* (к-2067, Италия, Сицилия) – 60 см, *A. fatua* (к-29, Россия, Тува) – 50 см;
- по полевой устойчивости к грибными и вирусными болезням выделились 6 образцов: 3 образца *A. damascena* из Сирии (к-1862, к-1984, к-2097), образец *A. insularis* (к-2067, Италия, Сицилия) и образец *A. fatua* (к-59, Болгария).

Весь выделенный нами материал будет генотипирован и разослан в ведущие селекционные центры РФ (более 10 центров) для продолжения селекционной работы по овсу по созданию новых адаптивных высокопродуктивных сортов этой культуры.

5. Получение и выявление наиболее информативных маркерных последовательностей ядерного и хлоропластного геномов у сортов различного уровня селекционной проработки и образцов диких видов рода *Avena*, включая редко встречающиеся виды с неясным систематическим положением, и для получения информации о путях одомашнивания овса.

Из 121 образца овса была выделена геномная ДНК (из семян) СТАВ методом (Doyle & Doyle 1987) с модификациями. Для образцов с слишком низкой концентрацией ДНК, выделение проводили повторно, используя Qiagen DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen Inc., Valencia, CA, USA). Для амплификации района ITS1-5.8S рДНК-ITS2 ядерного генома в ходе полимеразной цепной реакции использовались праймеры: Its-1P AACCTTATCATTTAGAGGAAGG (Ridgway et al., 2003) и Its-4 CCTCCGCTTATTGATATGC (White et al., 1990). ПЦР производили на амплификаторах «PCR-Sprint» (Hybaid Inc., Великобритания), «Techne TC412» (BarloworldScientific, Великобритания). Параметры циклов амплификации: 1 цикл: 5 мин 95°C; 30 циклов: 1 мин 94°C; 1 мин 55-56°C; 1 мин. 72° C; 1 цикл: 10 мин 72°C. Полученные в ходе амплификации фрагменты выделялись из 1-1.5% агарозного геля с помощью набора QiaGen Extraction Kit (Qiagen, Inc., Германия).

Список изученных образцов:

A. abyssinica К-14826, К-11678, К-11677 (Эфиопия); *A. agadiriana* К-2123 (Марокко); *A. atlantica* К-2108, К-2111 (Марокко); *A. barbata* К-230 (Азербайджан), К-1848 (Франция), К-2071 (Ливан); *A. canariensis* К-2114, К-2115 (Испания); *A. clauda* К-1907 (Турция); *A.*

damascena К-1862 (Сирия); *A. fatua* К-393 (Иран); *A. hirtula* К-2 (Израиль); *A. insularis* К-2067, К-2102 (Италия); *A. longiglumis* К-1881 (Алжир); *A. ludoviciana* К-428 (Иран), К-510 (Израиль), К-389 (Венесуэла); *A. magna* К-2099, К-145 (Марокко); *A. murphyi* К-2088 (Испания); *A. occidentalis* К-1967 (Испания); *A. pilosa* К-1890 (Сирия); *A. ventricosa* К-2056; *A. sativa* × *A. macrostachya* (PR5T8A); *A. sterilis* К-501, К-477 (Ливан), К-511 (Израиль), К-846 (Кения); *A. vaviloviana* К-10 (Эритрея), К-755 (Эфиопия); *A. wiestii* К-2119 (Израиль); *A. prostrata* СС7192, К-1891; *A. fatua* К-30; *A. magna* К-1786; *A. magna* К-1853; *A. magna* К-1863; *A. magna* К-1851; *A. magna* К-1852; *A. magna* К-1896; *A. agadiriana* К-2066; *A. agadiriana* К-1895; *A. murphyi* К-1897; *A. murphyi* К-1986; *A. occidentalis* К-1855; *A. occidentalis* К-1854; *A. barbata* К-1859; *A. sativa* × *A. macrostachya* PR5Q52, *A. sativa* × *A. macrostachya* PR-4H8-99/08, *A. sativa* × *A. macrostachya* PR-4H8-32/08, *A. sativa* × *A. macrostachya* PR-4H8-28/08, *A. sativa* × *A. macrostachya* PR-4H8-60/08, *A. sativa* × *A. macrostachya* PR-4H8-50/08, *A. sativa* v. *aurea* “Привет” К-14787, *A. sativa*-фартурид, *A. damascena* К-1984, *A. damascena* К-2097, *A. damascena* К-1892, *A. damascena* К-2057 (2 образца), *A. damascena* К-1862, *A. damascena* К-2097, *A. wiestii* К-208, *A. magna* К-161, *A. magna* “Amagelon” К-2081, *A. hirtula* К-1878, *A. pilosa* К-207, *A. clauda* К-254, *A. clauda* К-269, *A. volgensis* К-2134 (1922, 2016), К-2153 (1922, 2014), К-2130 (1922, 2011), К-2134, К-2152, К-2153, К-2630, К-5529, К-6752, К-6793, *A. kasanensis* К-1260, К-2136 (1922, 2016), К-2146, К-2606, К-2608 (1922, 2013), К-2611 (1922, 2018), К-2631 (1922, 2015), *A. iranica* К-1693 (1929, 1934), *A. persica* К-1694, К-4492 (1928, 2016), К-4497, К-7022 (1929, 2017), К-7023, *A. asiatica* К-1696 (2 образца), *A. segetalis* К-2896 (1922, 2017), К-4419 (1924, 2009), К-6763, *A. armeniaca* К-4491 (1928, 2016); *A. ludoviciana* К-19 (Болгария), К-383 (Украина), К-1778 (Краснодарский кр.), К-1949 (Дагестан); *A. fatua* К-31 (Казахстан), К-40 (Украина), К-58 (Болгария), К-937 (Румыния), К-1950 (Дагестан); *A. sterilis* К-323 (Краснодарский кр.).

Есть предположение, что некоторые из географически изолированных популяций, не всегда имеющих специфический синдром морфологических признаков, могут оказаться весьма удаленными друг от друга на филогенетическом древе видами-двойниками или близко родственными, но репродуктивно изолированными сестринскими видами (*sibling species*). Для прояснения таксономического статуса редких, сорных, примитивных и критических видов, представляет большой интерес исследование группы родства *A. sativa* (*A. aggr. sativa*), в частности такие виды, такие как эндемик Поволжья *A. volgensis* (Vavilov) Nevski, европейско-среднеазиатский *A. macrantha* (Hack.) Nevski (= *A. sativa* var. *asiatica* Vavilov), европейско-кавказско-сибирский *A. georgica* Zuccagni и евросибирско-дальневосточный *A. orientalis* Schreb., а в составе *A. aggr. fatua* такие формы, как европейско-кавказско-сибирский *A. intermedia* T. Lestib., *A. cultiformis* (Malzew) Malzew и *A. aemulans* Nevski – всё это специализированные сорняки полбы и овса, ныне, в условиях интенсивного земледелия, встречающиеся довольно редко или, возможно, уже исчезнувшие.

Нами впервые были секвенированы маркерные последовательности ITS1–гена 5.8S рРНК–ITS2 у микровидов из агрегатов *Avena sativa* и *A. fatua* (Рис. 1).

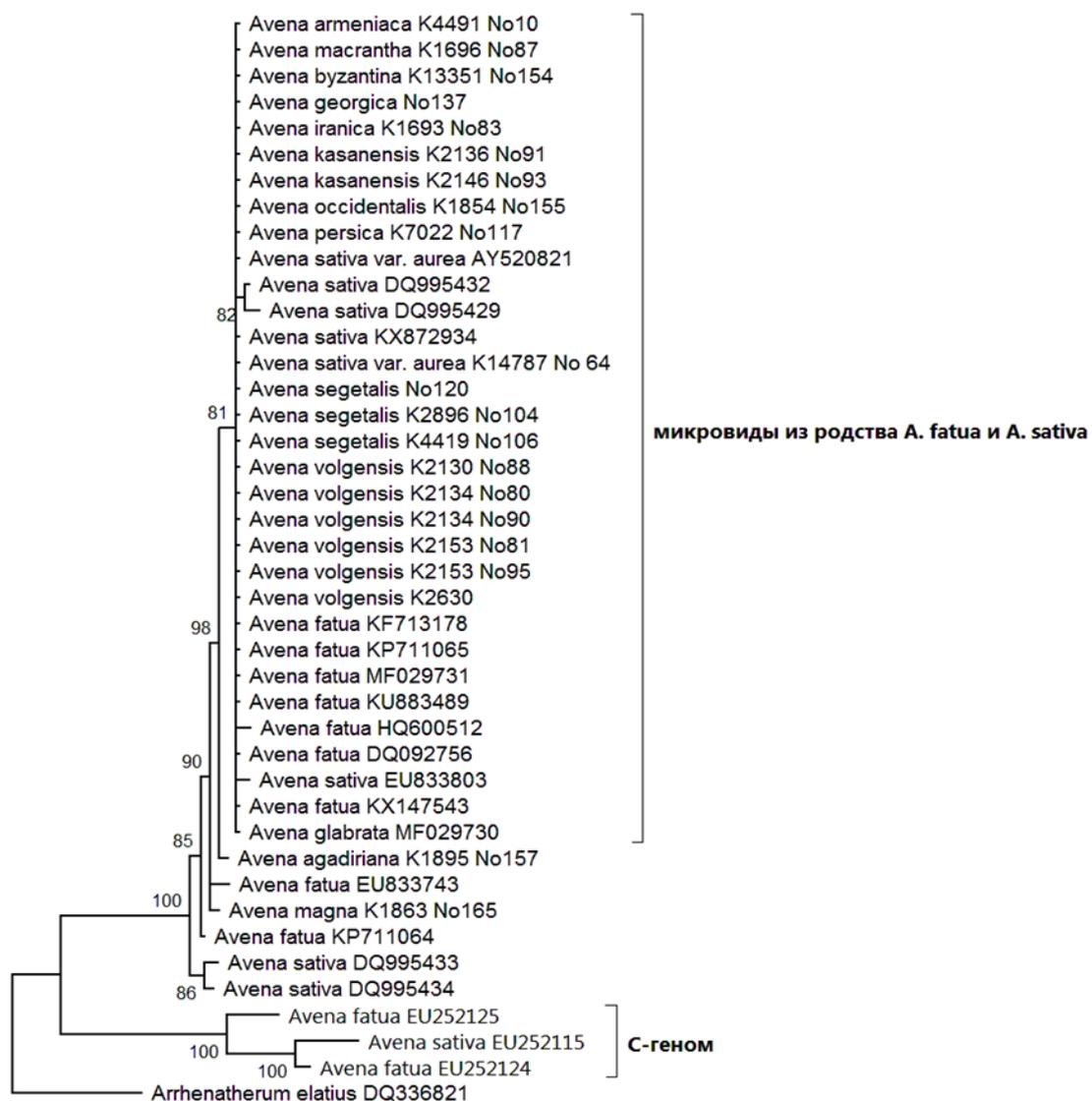


Рис. 1. Филогенетическое древо, построенное по результатам анализа последовательностей ITS1–гена 5.8 рРНК– ITS2 методом Байеса, и отражающее родство микровидов из групп *Avena sativa* и *A. fatua*.

Все эти микровиды сформировали отдельную кладу с хорошим уровнем поддержки, при этом их различия между собой невелики (p -distance от 0.003 до 0.02). Все они гексаплоиды с геномом ACD, секвенирование по Сэнгеру выявляет лишь наиболее массовый вариант субгенома в полиплоидном геномном наборе. Эта кллада соответствует А-геному гексаплоидных видов овса, в нее также входит ряд образцов *A. sativa* (из Южной Кореи и из Греции) и *A. fatua* (из Южной Кореи и Китая). Между собой микровиды отличаются полиморфными (неоднозначно читаемыми) нуклеотидными сайтами в позициях 46 и 101 (ITS1), 226 (5.8S рДНК), 301, 308, 543 (ITS2). Например, у *A. georgica*, *A. armeniaca*, *A. occidentalis*, *A. persica*, *A. segetalis* в позиции 46 стоит А и G (полиморфизм R, пурин). У *A. volgensis*, *A. asiatica*, *A. kasanensis*, *A. iranica* в позиции 46 находится А, у некоторых образцов *A. sativa* из Греции – G, у *A. fatua* var. *glabrata* (= *A. intermedia*) из Китая (провинция Сычуань) – G, и у некоторых образцов *A. sativa* из Греции – А. Такой же полиморфизм у вышеназванных образцов наблюдается и в позиции 101, там С и Т (У, пиримидин). У *A.*

volgensis, *A. asiatica*, *A. kasanensis*, *A. persica* в этом положении стоит С, у *A. intermedia* из Сычуаня Т, греческие образцы *A. sativa* – либо С, либо Т. Не все образцы *A. sativa* попадают в кладу с микровидами: например, некоторые образцы из Греции имеют в позиции 143 (5.8S рДНК) аутапоморфную делецию трех нуклеотидов. Полученные данные позволяют предположить, что микровиды в составе группы родства *A. fatua* – *A. sativa* существуют, но являются эволюционно молодыми и к тому же, вероятно, гибридного происхождения. Наиболее значимые различия между видами из родства *A. fatua* и *A. sativa* мы предполагаем получить с помощью секвенирования нового поколения (next-generation sequencing, NGS), выявляющего весь набор маркерных последовательностей в комплексном аллополиплоидном геноме. Исследование, ранее неизученных микровидов овса поможет в дальнейшем выделению нового исходного материала для селекции, обладающего комплексом хозяйственно ценных признаков, адаптивностью и устойчивостью к заболеваниям, который расширит генетическую основу вновь создаваемых сортов.

Полученные хлоропластные последовательности межгенного спейсера *trnK-rps16* показали низкий уровень изменчивости, что может говорить о недавней дивергенции и стремительной диверсификации изучаемых таксонов. Такая низкая разрешающая способность заставила отказаться в дальнейшем от использования этого участка в наших исследованиях. Для увеличения разрешающей способности нами были выбраны дополнительные хлоропластные участки (*trnL-trnF*, *trnH-psbA*). Работы с этими участками продолжатся в следующем году.

В нашем исследовании были изучены так называемые, почти исчезнувшие, микровиды (разновидности), входящие в состав агрегатов *A. fatua* и *A. sativa*, таксономическое положение которых, до сих пор неопределено, – одни авторы относят их к самостоятельным видам, другие к подвидам или разновидностям. Предварительные результаты нашей работы показали, что эти виды существуют, но являются эволюционно молодыми и, вероятно, гибридного происхождения. Выявляя филогенетические связи диких, редких сорно-полевых предков культурных видов овса, а также устанавливая фактический геномный состав этих видов, проясняется картина филогенетической эволюции в роде *Avena* (от диких видов к домашним), и возрастает возможность привлечения этого достоверного материала, обладающего селекционно ценными признаками в работу по селекции овса.

Все полученные результаты были обсуждены с нашим английским коллегой Т. Ленгдоном.

6. Изучение вклада разных геномов в формирование полиплоидных видов рода *Avena* (включая сорта) с помощью специфических праймеров на маркерные последовательности (прежде всего ITS) из разных геномов. Построение моделей филогенетических деревьев, путей одомашнивания и гибридных сетей, выявляющих родительские таксоны для культивируемых видов.

Методом NGS (Рис. 2) мы проанализировали геномный состав гексаплоидных видов овса с геномной конституцией ACD – *Avena fatua*, *A. occidentalis*, *A. sterilis*, *A. ludoviciana* в сравнении с тетраплоидом AC, *A. magna* и диплоидом с Cv геномом, *A. ventricosa*.

Секвенирование внутреннего спейсера – ITS1 – ген 5.8S рДНК методом NGS было выполнено на платформе Illumina в Центре коллективного пользования «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» Всероссийского научно-исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСХМ). Полученные последовательности были обрезаны при помощи программы TrimmomaticPE (Bolger et al. 2014). Сиквенсы (прочтения) были объединены с использованием программы

fastq-join (Aronesty 2013). Затем все сиквенсы были отсортированы с помощью алгоритма «the bubble sorting». Связанные сиквенсы мы проанализировали с помощью MEGA X (Cumar et al., 2016), сеть гаплотипов была построена с помощью программы TCS 2.1 (Clement et al. 2000) с использованием метода "statistical parsimony" (Templeton et al. 1992) и визуализирована в TCS BU (<https://cibio.up.pt/software/tcsBU/>). В анализ были взяты последовательности с количеством прочтений (ридов) не менее 10.

Отметим, что *A. ventricosa* является предполагаемым предком *A. magna*, донором его С-генома, а также С-генома всех гексаплоидов. Технология секвенирования нового поколения (NGS) позволила нам получить весь пул последовательностей в полиплоидном геноме. На схеме (Рис. 2) мы видим хорошо отделяющиеся два главных субгенома, соответствующие А-геному и его варианту, D-геному, а также один минорный субгеном, представленный у всех взятых в работу гексаплоидов и тетраплоидов, количеством ридов (прочтений) от 10 до 15, унаследованный от С-генома. Этот минорный остаток С-генома сильно изменен процессами постгибридизационной трансформации и достаточно сильно отличается от Сv-генома диплоида *A. ventricosa*. Его последовательности не представлены в нынешнем геноме *A. ventricosa*. Первый из массовых субгеномов объединяет *A. occidentalis*, 2 образца *Avena fatua*, *A. ludoviciana*; эти сиквенсы наиболее представленные в их геноме (4668, 5203, 4682 и 11774 прочтения). Заметим, что в первом выделившемся по результатам нашего анализа субгеноме нет последовательностей *A. sterilis*, по предыдущим данным тоже являющегося гексаплоидом АСD. Вероятно, этот субгеном, объединяющий *Avena fatua*, *A. occidentalis* и *A. ludoviciana*, соответствует D-геному, который, как мы знаем, происходит от А-генома (Rajhathy, Morrison, 1959; Rajhathy, Thomas, 1974; Jellen et al., 1994; Raina, Ran, 2001).

Второй субгеном присутствует у всех взятых в анализ видов овса, кроме Сv-геномного диплоида *A. ventricosa*. В него входят следующие по частоте прочтений (ридов) варианты сиквенсов ITS1 *Avena fatua* (1608, 848 ридов), *A. occidentalis* (3763, 2694 рида), *A. ludoviciana* (3811, 1409 ридов) и наиболее представленные в геноме варианты ITS1 *A. magna* (5720, 4032 рида). Самые частые варианты ITS1 (6138 ридов) *A. sterilis* также принадлежат ко второму субгеному, при этом создавая общий пул со вторыми по массовости вариантами ITS1 *A. occidentalis* (3763 рида). По всей видимости, этот субгеном соответствует геному А. Таким образом, можно говорить, что по результатам NGS ITS1 у *A. sterilis* не выявляется D-субгеном. Вероятно, *A. sterilis* либо имеет геномную конституцию АСА', либо его D-субгеном подвергся изменению в результате интрогрессии с носителями А-генома. Также не исключен вариант, что А-субгеном *A. sterilis* является предковым для D-геномов, и поэтому не выделяется в особую группу.

Наши исследования геномного состава тетра- и гексаплоидных видов овса методом NGS выявили на первый взгляд парадоксальную ситуацию: у видов с традиционной схемой генома АСD, последовательности, относящиеся к С-субгеному, почти не обнаруживаются, а у *A. sterilis* из этой же группы, также не выявлены последовательности D-субгенома. Кроме того, у *A. magna* (4x, АС) не обнаружилось связи с его предполагаемым предком и донором С-генома *A. ventricosa*. Отчасти наши данные подтверждаются цитогенетическими исследованиями Е.Д. Бадаевой и соавт. – FISH показывает, что С-субгеномы полиплоидных видов овса потеряли большую часть рДНК, на них удается выявить только очень слабые 35S рДНК-позитивные сигналы (Шелухина и др. 2007, 2008; Badaeva et al., 2010).

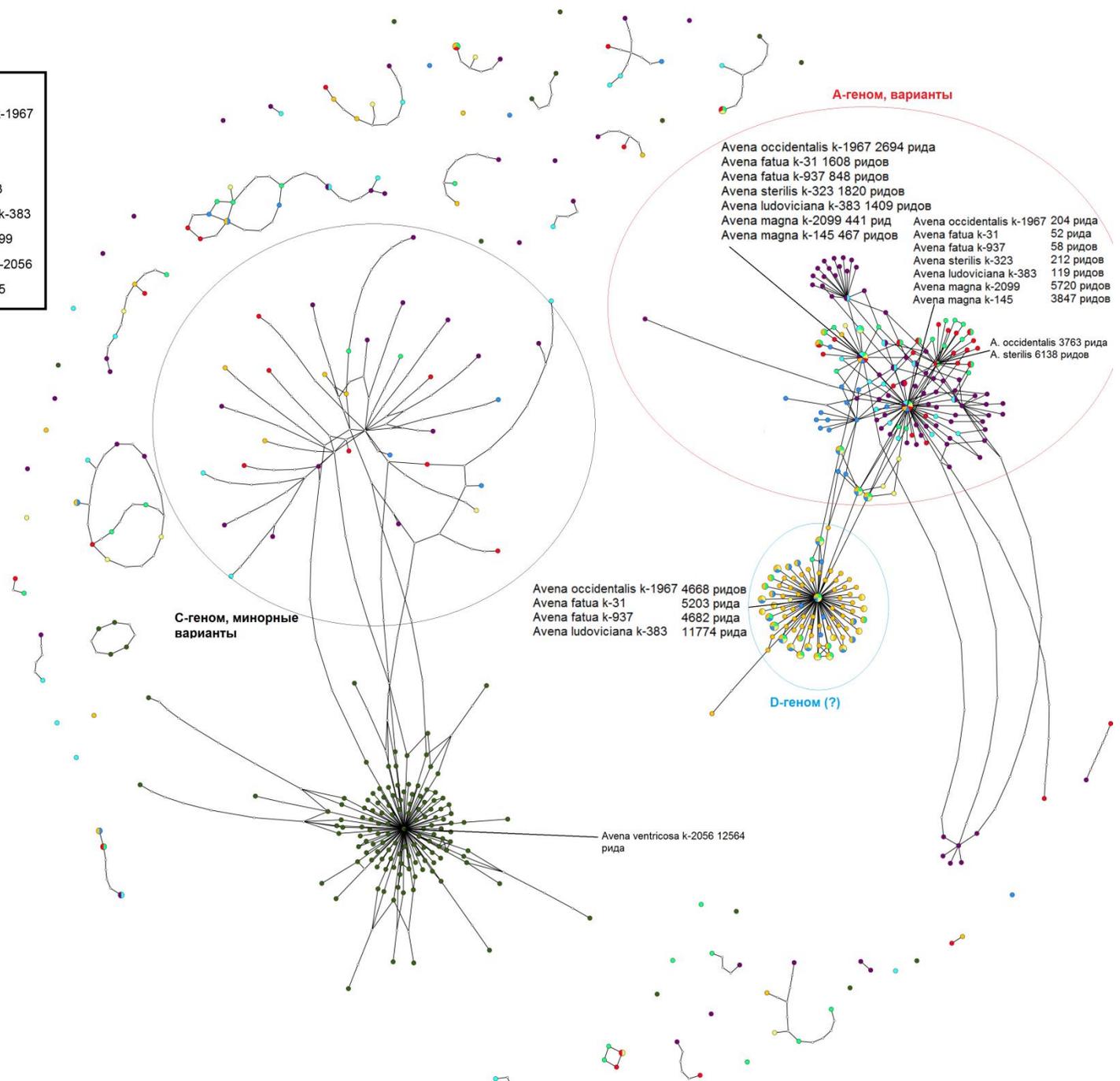
Все полученные результаты были обсуждены с нашим английским коллегой Т. Ленгдоном.

Надо отметить, что карантин из-за пандемии коронавируса в С-Петербурге с апреля по июнь 2020 г. сдвинул работу по секвенированию изучаемого материала на более поздний срок (август-сентябрь).

В связи с трудностями, вызванными карантином, по результатам проведенного изучения была подготовлена только рукопись статьи авторским коллективом всех участников проекта и английского коллеги Т. Ленгдона, которая в ближайшее время будет отослана журнал Генетика.

Кроме того, участница проекта Михайлова Юлия Владимировна в конце 2019 г. уехала в Германию и не смогла вернуться оттуда для проведения работ по секвенированию видов овса и, таким образом, ее участие в проекте не было оплачено. В следующем году, мы надеемся на ее помощь в анализе полученного материала, что что ей будет выплачено денежное вознаграждение.

- Groups**
- 1 *Avena occidentalis* k-1967
 - 36 *Avena fatua* k-31
 - 41 *Avena fatua* k-937
 - 39 *Avena sterilis* k-323
 - 40 *Avena ludoviciana* k-383
 - 12 *Avena magna* k-2099
 - 45 *Avena ventricosa* k-2056
 - 14 *Avena magna* k-145



А-геном, варианты

- | | |
|--|---|
| <i>Avena occidentalis</i> k-1967 2694 рида | <i>Avena occidentalis</i> k-1967 204 рида |
| <i>Avena fatua</i> k-31 1608 ридов | <i>Avena fatua</i> k-31 52 рида |
| <i>Avena fatua</i> k-937 848 ридов | <i>Avena fatua</i> k-937 58 ридов |
| <i>Avena sterilis</i> k-323 1820 ридов | <i>Avena sterilis</i> k-323 212 ридов |
| <i>Avena ludoviciana</i> k-383 1409 ридов | <i>Avena ludoviciana</i> k-383 119 ридов |
| <i>Avena magna</i> k-2099 441 рид | <i>Avena magna</i> k-2099 5720 ридов |
| <i>Avena magna</i> k-145 467 ридов | <i>Avena magna</i> k-145 3847 ридов |

A. occidentalis 3763 рида
A. sterilis 6138 ридов

С-геном, минорные варианты

- | |
|---|
| <i>Avena occidentalis</i> k-1967 4668 ридов |
| <i>Avena fatua</i> k-31 5203 рида |
| <i>Avena fatua</i> k-937 4682 рида |
| <i>Avena ludoviciana</i> k-383 11774 рида |

D-геном (?)

Avena ventricosa k-2056 12564 рида

7. Создание геномной коллекции диких видов и староместных и примитивных сортов овса для доступности генетического материала, необходимого для таксономических исследований и селекционных работ.

Вся выделенная ДНК составит основу формирующейся коллекции ДНК овса, на настоящий момент насчитывающей более 200 образцов. Нам представляется важным создание геномной коллекции (коллекции тотальной геномной ДНК, выделенной из листового или семенного материала) диких видов р. *Avena* и его культиваров. Подобные геномные коллекции на сегодняшний день есть во многих странах мира. Например, Королевский Ботанический сад в Кью (Великобритания) на сегодняшний день насчитывает около 56 тыс. образцов, представляющих почти все семейства цветковых растений (<https://www.kew.org/science/collections/dna-and-tissue-bank>). Также коллекции растительной геномной ДНК созданы в Австралии, Германии, ЮАР, Южной Корее, Японии и др. (Спиридович, 2015), но у нас, к сожалению, такой геномной ресурсной коллекции, в частности, овса, до сих пор не существовало. Создание коллекции образцов геномной ДНК культурных видов и сортов растений – настоятельное требование времени, неременное дополнение к традиционно поддерживаемым в ВИРе коллекциям семян, живых растений и коллекциям гербарных образцов.

Созданная коллекция овса образцов геномной ДНК содержит 121 образец.

Дикие диплоидные виды: 21 образец

- A. *atlantica* - К-2108 (Марокко), К-2111 (Марокко);
- A. *damascena* - К-1862 Сс 7045 (Сирия), К-1892 Сс 7256 (Марокко), К-1984 (Сирия), К-2057 Сс 7519 (Марокко), К-2097 (Сирия);
- A. *wiestii* - К-208 (Азербайджан), К-2119 (Израиль);
- A. *canariensis* - К-2114 (Испания), К-2115 (Испания);
- A. *clauda* - К-254 (Азербайджан), К-269 (Азербайджан), К-1907 (Турция);
- A. *pilosa* - К-207 (Азербайджан), К-1890 Сс 7058 (Сирия);
- A. *hirtula* - К-2 (Израиль); К-1878 Сс 3678 (Испания);
- A. *ventricosa* - К-2056 Сс 7064 (Алжир);
- A. *longiglumis* - К-1881 (Алжир);
- A. *prostrata* - К-1891 Сс 7192 (Испания);

Дикие тетраплоидные виды: 24 образца

- A. *barbata* - К-230 (Азербайджан), К-1848 Сс 7049 (Франция), К-1859 Сс 7066 (Иран), К-2071 (Ливан);
- A. *agadiriana* - К-1895 Сс 7266 (Марокко), К-2066 Сс 7432 (Марокко), К-2123 (Марокко);
- A. *insularis* - К-2067 (Италия), К-2102 (Италия);
- A. *magna* - К-145 (Марокко), К-161 (Марокко), К-1786 (Марокко), К-1851 Сс 7069 (Марокко), К-1852 Сс 7071 (Марокко), К-1853 Сс 7073 (Марокко), К-1863 Сс 7070 (Марокко), К-1896 Сс 7245 (Марокко), К-2081 “Amagelon” (США), К-2099 (Марокко);
- A. *murphyi* - К-1986 (Испания), К-1897 Сс 7180 (Марокко); К-2088 (Испания);
- A. *vaviloviana* - К-10 (Эритрея), К-755 (Эфиопия);

Дикие гексаплоидные виды: 22 образца

- A. *fatua* - К-30 (Россия), К-31 (Казахстан), К-40 (Украина), К-58 (Болгария), К-393 (Иран), К-937 (Румыния), К-1950 (Дагестан);
- A. *ludoviciana* - К-19 (Болгария), К-383 (Украина), К-389 (Венесуэла), К-428 (Иран), К-510 (Израиль), К-1778 (Россия), К-1949 (Дагестан);

A. sterilis - К-323 (Россия), К-477 (Ливан), К-501 (Израиль), К-511(Израиль), К-846 (Кения);
A. occidentalis - К-1854 Сс 7075 (Испания), К-1855 Сс 7077 (Испания), К-1967 (Испания);
Культурные виды: 47 образцов (включая оригинальные образцы и их поздние репродукции)
A. abyssinica - К-11677 (Эфиопия), К-11678 (Эфиопия), К-14826 (Эфиопия);
A. sativa var. *aurea* “Привет” К-14787 (Россия), *A. sativa*-фатуоид,
A. sativa var. *volgensis* К-2134 (1922, 2016), К-2153 (1922, 2014), К-2130 (1922, 2011), К-2134, К-2152, К-2153, К-2630, К-5529, К-6752, К-6793,
A. sativa var. *kasanensis* К-1260, К-2136 (1922, 2016), К-2146, К-2606, К-2608 (1922, 2013), К-2611 (1922, 2018), К-2631 (1922, 2015),
A. sativa var. *iranica* К-1693 (1929, 1934),
A. sativa var. *persica* К-1694, К-4492 (1928, 2016), К-4497, К-7022 (1929, 2017), К-7023,
A. sativa var. *asiatica* К-1696 (2 образца),
A. sativa var. *segetalis* К-2896 (1922, 2017), К-4419 (1924, 2009), К-6763,
A. sativa var. *armeniaca* К-4491 (1928, 2016);
Гибриды с *A. macrostachya*: 7 образцов
A. sativa × *A. macrostachya* К-15711 PR 5T 8A) (Польша), К-15712 PR 5Q 52 (Польша), PR-4Н8-99/08 (Польша), PR-4Н8-32/08 (Польша), PR-4Н8-28/08 (Польша), PR-4Н8-60/08 (Польша), PR-4Н8-50/08 (Польша).

Литература.

- Лоскутов И. Г. Овес (*Avena L.*). Распространение, систематика, эволюция и селекционная ценность. СПб: ВИР. 2007. 336 с.
- Лоскутов И. Г., Ковалева О. Н., Блинова Е. В. Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса. СПб.: ВИР, 2012, 63 с.
- Мордвинкина А. И. Овес. - *Avena*. Культурная флора СССР. т. 2. Хлебные злаки. Рожь, ячмень, овес. М-Л., 1936. с. 333-438.
- Родионова Н. А., Солдатов В. Н., Мережко В. Е., Ярош Н. П., Кобылянский В. Д. Овес. Культурная флора. т. 2. ч. 3. 1994. 367 с.
- Спиридович Е.В. Ботанические коллекции: документирование и биотехнологические аспекты использования. Минск, 2015, 226 с.
- Шелухина О.Ю., Бадаева Е.Д., Лоскутов И.Г., Пухальский В.А. Сравнительное цитогенетическое исследование тетраплоидных видов овса с АС-геномным составом: *Avena insularis*, *A. magna* и *A. murphyi*. Генетика, 2007, т. 43, № 6, с. 747-761.
- Шелухина О. Ю., Бадаева Е. Д., Брежнева Т. А., Лоскутов И.Г., Пухальский В. А. Сравнительное исследование диплоидных видов рода *Avena L.* с использованием цитогенетических и биохимических маркеров: *A. pilosa* M. В. и *A. clauda* Dur. Генетика. 2008. Т. 44, № 9, 1246-1251.
- Aronesty, E. (2013) TOBIOJ: “Comparison of Sequencing Utility Program”. DOI:10.2174/1875036201307010001
- Badaeva E.D., Shelukhina O.Yu., Goryunova S.V., Loskutov I.G., Pukhalsky V.A. 2010. Phylogenetic Relationships of Tetraploid AB-Genome *Avena* Species Evaluated by Means of Cytogenetic (C-Banding and FISH) and RAPD Analyses. Journal of Botany. Volume 2010, Article ID 742307, 13 pages doi:10.1155/2010/742307
- Bolger, A.M., Lohse, M. & Usadel, B. (2014) Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina Sequence Data. Bioinformatics: btu170. DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170

- Clement, M., Posada, D., & Crandall, K.A. (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Mol. Ecol.* 9(10): 1657–1669. DOI: 10.1046/j.1365-294x.2000.01020.x
- Doyle, J.J. & Doyle J.L. (1987) A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochem. Bull.* 19: 11.
- Jellen, E.N., Gil, B.S., Cox, T.S. Genomic in situ hybridization differentiates between A/D- and C-genome chromatin and detects intergenomic translocations in polyploid oat species (genus *Avena*) // *Genome*. 1994. V. 37. P. 613–618.
- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, M. (2016) MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets 33(7):1870–1874. DOI: 10.1093/molbev/msw054
- Templeton, A.R., Crandall, K.A. & Sing, C.F. (1992) A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping and DNA sequence data. III. Cladogram estimation. *Genetics* 132: 619–633.
- Rajhathy, T., Morrison, J. W. Chromosome morphology in the genus *Avena* // *Can. J. Botany*. 1959. V. 37. P. 331–337
- Rajhathy, T., Thomas, H. Cytogenetics of oats (*Avena L.*) // *Ottawa: Genet. Soc. Can. Misc. Publ.* 1974. No. 2. P. 1–90.
- Raina, S.N., Ran, V. GISH technology in plant genome research // *Methods in Cell Sci.* 2001. V. 23. P. 83–104.