

Полученные за период, на который был предоставлен грант, результаты Научного проекта

Род *Avena* L. насчитывает 26 видов, 22 из которых – дикие, произрастающие только в ненарушенных фитоценозах, или, как сегетальные и рудеральные сорняки, засоряющие посевы и местообитания человека по всему миру (Лоскутов, 2007). Коллекция диких видов овса ВИР насчитывает около 2-х тысяч образцов. Все они представляют внутривидовое разнообразие из всех центров происхождения и разнообразия рода *Avena* L. Сравнительное изучение диких видов представляет интерес не только для теоретических исследований, но и для практического использования в селекции, так как многие из этих видов являются носителями селекционно ценных признаков (адаптации к различным почвенно-климатическим условиям, устойчивости к болезням, высокого содержания белка и масла в зерне и др.), которые могут быть перенесены в культурные виды овса с помощью современных достижений молекулярной генетики (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 видоизмененным геномом А. Кариотипы гексаплоидных видов состоят из трех типов геномов AACDD (Лоскутов, 2007; Loskutov, 2008). Но до сих пор многие проблемы филогении и таксономии рода остаются до конца нерешенными. В тоже время, метаболомные профили зерновок различных видов 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. 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 ploidy, типами геномов и отдельным образцам внутри этих видов (Лоскутов и др., 2016; 2018, 2019; 2020).

В тоже самое время, овес – это важная продовольственная и кормовая культура как у нас в стране, так и за рубежом. Российская Федерация лидирует в мире по посевным площадям, занятым овсом и по валовому сбору зерна. По различным причинам посевные площади под овсом сокращаются, а потребность в зерне растет. В этой связи возрастает роль инновационной селекции. При создании новых сортов в первую очередь обращают внимание на увеличение продуктивности и устойчивости к неблагоприятным факторам среды, чтобы получить стабильную урожайность и обеспечить потребности в кормовом и продовольственном зерне. Для селекции в качестве исходного материала чаще всего используют хорошо изученные образцы, являющиеся источниками или донорами хозяйственно ценных признаков. В качестве исходного материала могут быть использованы как местные, так и селекционные сорта. В учении об исходном материале Н. И. Вавилов отводил важную роль местным сортам, подчеркивая необходимость использования местного материала в смысле выделения из него наиболее продуктивных, наиболее ценных по адаптивности форм (Вавилов, 1935). Коллекция культурных видов овса ВИР насчитывает около 12 тысяч образцов, в том числе около 6 тысяч – это местные сорта. Образцы коллекции проходят комплексное полевое и лабораторное изучение, в результате которого выделяются источники селекционно ценных признаков и создаются доноры. Признаковая коллекция ВИР содержит обширный исходный материал для создания новых сортов овса.

Целью данного исследования было фенотипирование внутривидового разнообразия культурных и диких видов овса по основным хозяйственно ценным признакам (скороспелость, высота растений, устойчивость к полеганию, к болезням на естественном инфекционном фоне, продуктивность, крупность зерна и др.) и проведение метаболомного и молекулярно-генетического анализа для комплексной оценки всех изученных видов.

Полевое фенотипирование

В 2018-2020 гг. в рамках заявленного проекта в полевых условиях Пушкинского филиала ВИР был профенотипирован и размножен набор из 200 образцов культурных и диких видов овса из мировой коллекции генетических ресурсов растений ВИР и видов рода *Deschampsia* P. Beauv. (из гербария БИН РАН) для проведения метаболомных и молекулярно-филогенетических исследований.

Культурные виды

В изучения были взяты внутривидовое разнообразие культурных видов овса: диплоидного *A. strigosa* Schreb., тетраплоидного *A. abyssinica* Hochst., гексаплоидного *A. byzantina* K. Koch и подвидов посевного овса – пленчатого *A. sativa* subsp. *sativa* L. и голозерного *A. sativa* subsp. *nudisativa* Rod et Sold., кроме того, в полевое изучение были привлечены межвидовые гибриды *A. sativa* × *A. macrostachya*. Проведенное полевое фенотипирование всех изученных видов, подвидов и межвидовых гибридов продемонстрировало значительное разнообразие по основным хозяйственно ценным признакам, в результате были выделены образцы с повышенными характеристиками изученных признаков.

При изучении сортов с различным уровнем селекционной проработки (местные, примитивно селекционные 1920-х годов и современные селекционные) были выделены образцы, обладающие селекционно ценными признаками, среди всех изученных групп. Местный сорт из России (к-1461, Пензенская обл.) отличался скороспелостью, высотой растений ниже среднего (88 см), устойчивостью к полеганию и устойчивостью к корончатой ржавчине, старый селекционный сорт из Франции – Av. Janue de Ardenne (к-2108) – скороспелый, средняя высота растений – 100 см, устойчив к полеганию, крупнозерный, современные сорта из России: Медведь (к-15494, Кировская обл.) – среднепоздний, высота растений 110 см, устойчив к полеганию, с очень крупным зерном (48,2 г), урожайность выше среднего; сорта из Франции – сорт Noire de Mihamps (к-14712) – скороспелый, высота растений 108 см, устойчив к полеганию, урожайность выше среднего.

Большое разнообразие по признакам показали межвидовые гибриды овса, созданные в Кемеровском НИИСХ Ганичевым Б.Л. В родословных этих сложных гибридов, в качестве материнской формы, был взят гибрид дикого автотетраплоидного вида *A. macrostachya* Balan. (геном CmCm), относящийся к секции овсяноподобных трав – *Avanastrum* K. Koch. с посевным овсом *A. sativa* L., в качестве отцовских форм, – виды овса, относящиеся к типовой секции *Avena*: дикие аллотетраплоидные виды – *A. barbata* Pott. (AB), *A. magna* Murph. et Terr. (AC), *A. murphyi* Ladiz. (AC), аллогексаплоидные виды – дикий *A. sterilis* L. (ACD), культурные *A. byzantina* K. Koch (ACD), *A. sativa* subsp. *nudisativa* (Husnot.) Rod et Sold. (ACD). Большинство гибридных популяций были представлены пленчатыми и голозерными линиями. Изучение показало наличие разнообразия между гибридными популяциями.

Основным признаком продуктивности является масса 1000 зерен и масса зерна с 1 м². Масса 1000 зерен пленчатого зерна считается большой от 36 г и выше, голого – от 25 г и выше. Стандарт Привет имел массу 1000 зерен – 33,1 г, пленчатое зерно гибридов имело показатели от 29,4 до 37,6 г. Крупное зерно имела пленчатая линия г/о-514, а также

голозерные линии г/о-518 и г/о-517. Масса зерна с 1 м² является комплексным показателем продуктивности образцов. Стандарт сорт Привет имел массу зерна с 1 м² – 668 г/м². Изучаемые гибриды были менее продуктивны по сравнению со стандартом. Урожайность зерна с 1 м² у гибридов составила от 274 до 544 г/м². Самой продуктивной пленчатой линией была г/о-514. Эта линия имела самое крупное зерно (37,6 г), которое созревало гораздо позже стандарта (на 19 дней) и в средней (5) степени поражалась гельминтоспориозом.

Образцы, обладающие селекционно ценными признаками, были выделены среди всех изученных групп, все они были разосланы в ведущие селекционные центры РФ.

Дикие виды

В изучение было взято все внутривидовое разнообразие 19 диких видов овса разного географического происхождения, с разным уровнем пloidности и различным геномным составом. Большинство образцов имели Средиземноморское происхождение из стран с теплым климатом и коротким днем и, поэтому продолжительность периода вегетации диких видов овса зависела от их происхождения, реакции на длину дня и от погодных условий в период роста и развития. На выращивание в условиях Ленинградской области с прохладным климатом и длинным днем образцы всех видов реагировали по-разному. У образцов с сильной реакцией на длину дня был очень растянут период от всходов до выметывания, а самые чувствительные – иногда не вызревали. Проведение фенотипирования большого и разнообразного набора диких видов в течение трех лет показало большой разброс признаков по продолжительности вегетационного периода, высоте растений, продуктивности и устойчивости к болезням.

Таким образом, проведенное полевое изучение показало большое разнообразие на межвидовом уровне среди диких и культурных видов и внутривидовое разнообразие, связанное с уровнем селекционной проработки изученных сортов овса и межвидовых гибридов.

Метаболомный анализ

Метаболомный анализ проводили на трех партиях (зерна и зеленой массы) в 210 образцах культурных и диких видов рода *Avena* L. разного географического происхождения, с разным уровнем пloidности, разным геномным составом и с разным уровнем селекционной проработки и виде *Deschampsia altaica* (Schischk.) O. D. Nikif.

В результате исследования установлено, что метаболомный 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%.

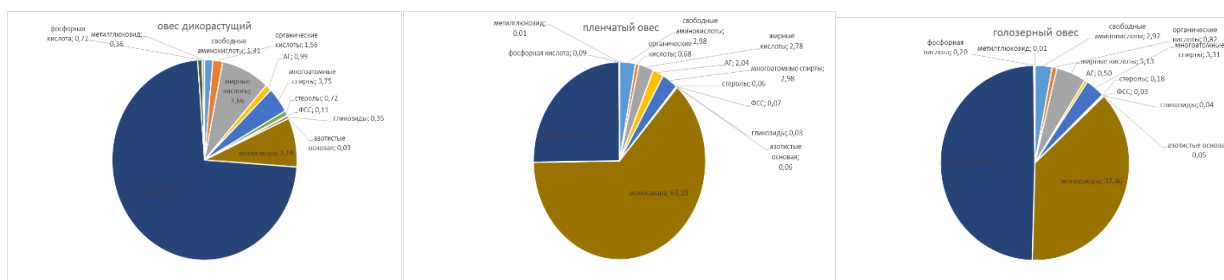


Рисунок 1. Основные группы метаболомного спектра зерновок диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания всех идентифицированных соединений).

Органические кислоты были представлены молочной, пировиноградной, 2-гидроксипропионовой, никотиновой, щавелевой, янтарной, фумаровой, малеиновой, щавелевой, малониновой, метилмалоновой, яблочной и глицериновой, эритроновой, рибоновой, галактоновой, глюконовой, галактуроновой кислотами, а также небелковыми аминокислотами (пипекловой, 5-гидроксипипекловой), треоно-1,4-лактоном (продукт окисления аскорбиновой кислоты), фенолсодержащими кислотами (бензойной, салициловой, паракумаровой, феруловой, кофейной), азелаиновой и фталевой кислотой. Во всех исследованных образцах преобладали яблочная и глюконовая кислоты, их доля в общем содержании органических кислот составляла 50% и более. Их доля для образцов диких видов овса составила 20 и 19% (от общего содержания органических кислот), соответственно, для пленчатых форм культурного овса – 24 и 23%, для голозерного овса – 40 и 11%. Кроме того, в образцах диких видов овса существенное содержание имели азелаиновая (12%) и щавелевая кислоты (10%). В образцах пленчатого овса молочная кислота составляла 16%. Содержание остальных органических кислот в отдельности не превышало 10 %.

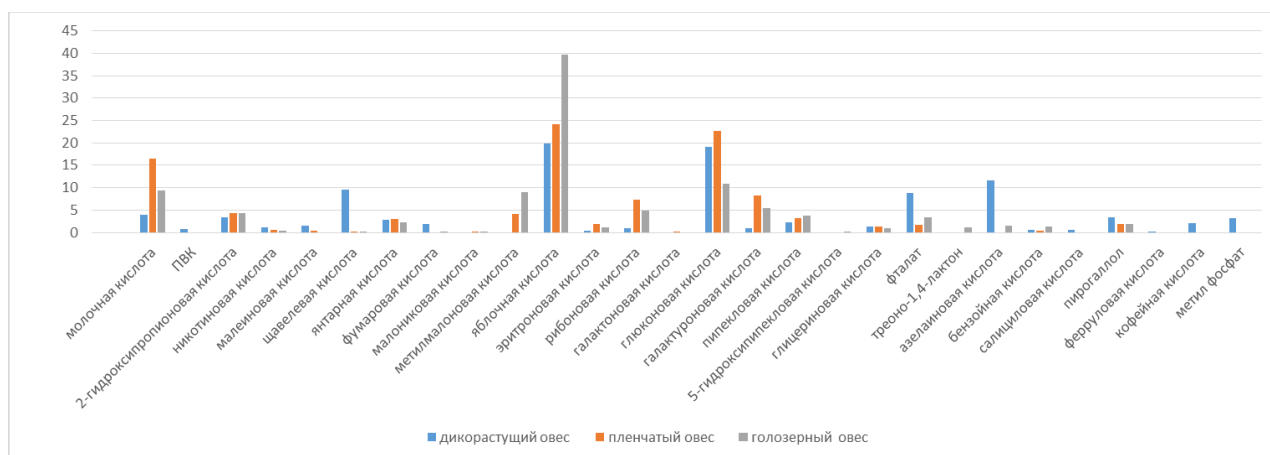


Рисунок 2. Органические кислоты зерновок диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания всех идентифицированных органических кислот).

Из свободных аминокислот были идентифицированы а-аланин, глицин, этаноламин, пролин, серин, оксопролин, орнитин, аспарагин, аспарагиновая кислота, глутамин, глутаминовая кислота, в том числе незаменимые аминокислоты: треонин, лейцин, валин, лизин, тирозин, триптофан и фенилаланин. В образцах диких видов овса превалировали глицин и аспарагин (54 и 21% от общего содержания аминокислот). В образцах пленчатого овса 76% содержания аминокислот приходилось на глутамин. У голозерного овса основными аминокислотами оказались глицин и тирозин (22 и 50%, соответственно).

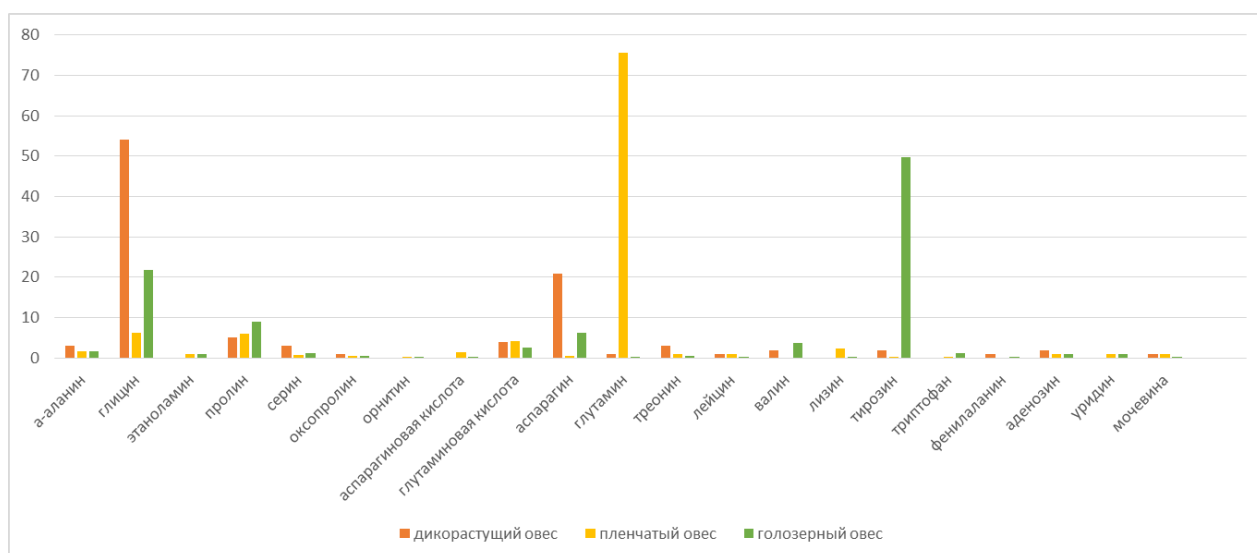


Рис 3. Свободные аминокислоты зерновок диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания всех идентифицированных аминокислот).

Были идентифицированы следующие жирные кислоты: пеларгоновая, ундециловая, пеларгоновая, лауриновая, тридециловая, пальмитиновая, линолевая, олеиновая, вакценовая, стеариновая, эйкозановая, бегеновая, лигноцериновая, гидроксиктадекановая, кислоты. А также ацилглицеролы (ДАГ, МАГ-1 C16:0, МАГ-1 C18:0, МАГ-2 C18:2, МАГ-2 C18:3).

Для всех изученных образцов зерновок овса основными жирными кислотами были пальмитиновая, линолевая и олеиновая (см.рис.4) МАГ 2 C18:2 преобладали у образцов диких видов и голозерного овса превалирующими были ацилглицеролы (6 и 6%, соответственно), а в группе пленчатого овса – МАГ-2 C18:3 (8%). У образцов диких видов овса идентифицирован и α-токоферол.

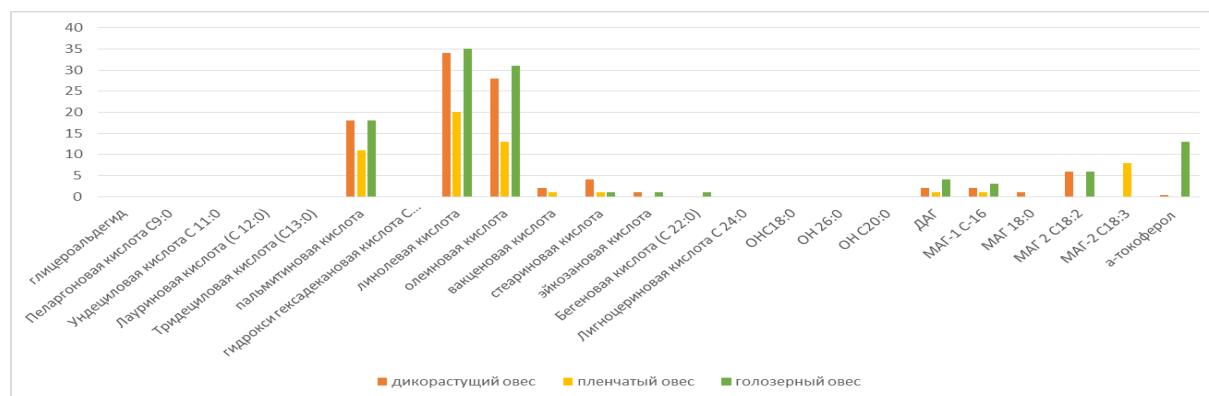


Рисунок 4. Жирные кислоты, ацилглицеролы и α-токоферол зерновок диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания всех идентифицированных жирных кислот).

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).

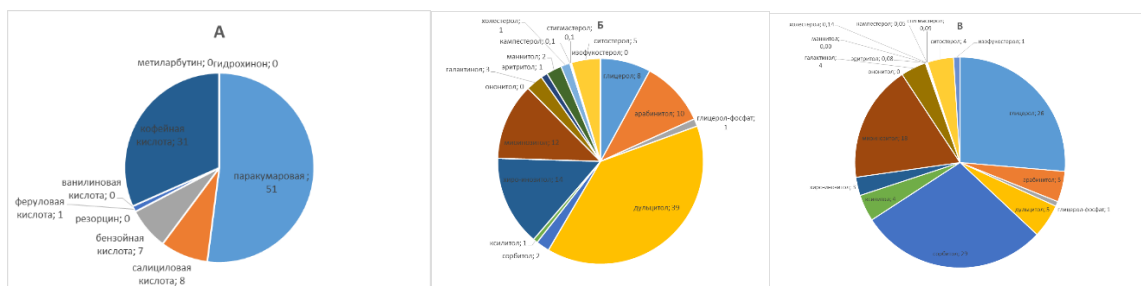


Рисунок 4. Многоатомные спирты, идентифицированные в зерновках диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания многоатомных спиртов).

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 метилабутин (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.

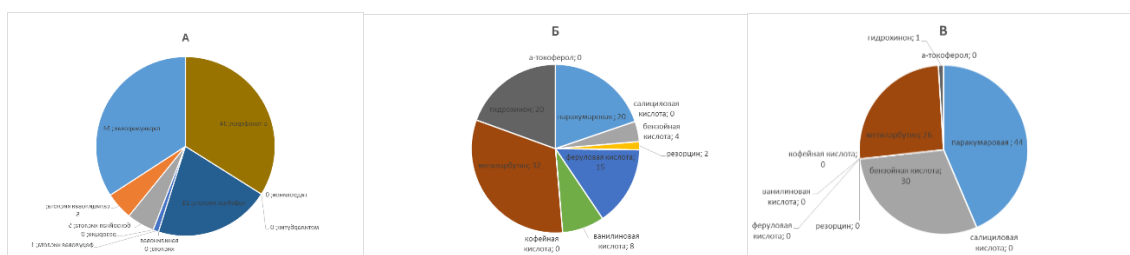


Рисунок 4. Фенольные соединения, идентифицированные в зерновках диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания ФСС).

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 была 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).

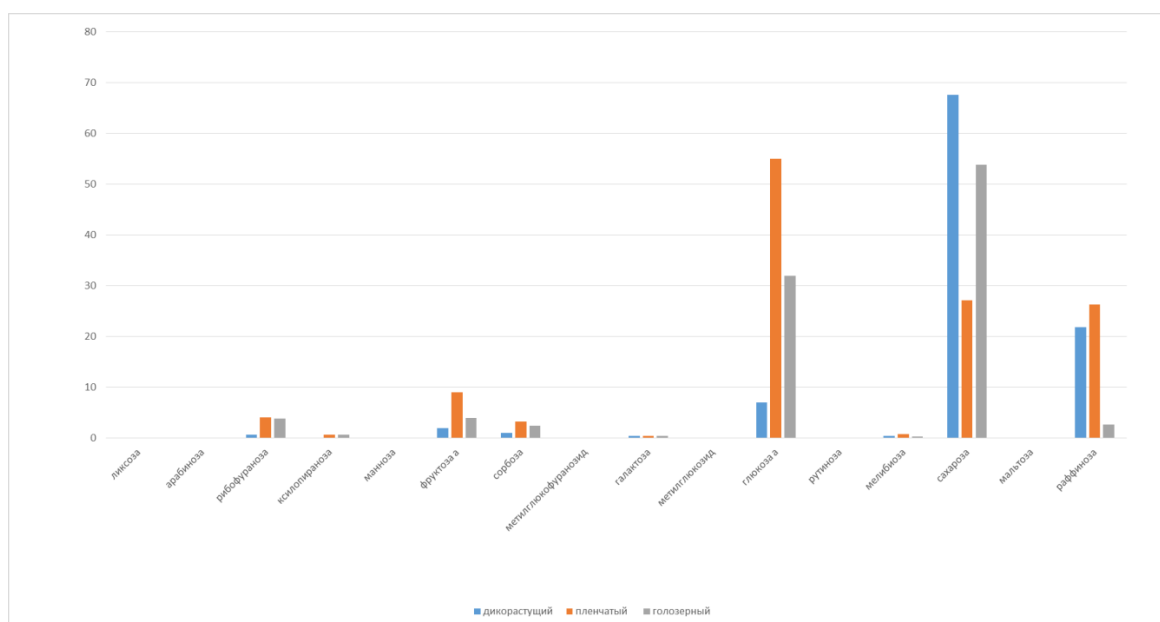


Рисунок 6. Сахара, идентифицированные в зерновках диких видов, пленчатого и голозерного овса. (в % от общего содержания сахаров).

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-гидроксипипеколовой. 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 α -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 α -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, оксибензойными 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*, β -ситостерола – *A. sterilis*, изофукостерола – *A. insularis* (гексаплоиды).

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

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

Проанализированы образцы культурных видов овса с разным уровнем пloidности – *A. strigosa* (диплоид), *A. abyssinica* (тетраплоид), *A. sativa* subsp. *sativa* (пленчатый) и *A. sativa* subsp. *nudisativa* (голозерный) (гексаплоид). Сравнительный детальный анализ основных групп метаболитов образцов зерновок овса разной пloidности показал, что у диплоидных образцов самое высокое содержание свободных аминокислот, многоатомных спиртов, моносахаров и гликозидов, ацилглицеролов и фитостеролов. У тетраплоидных образцов высокие показатели органических кислот, фенольных соединений и олигосахаров. Гексаплоидные образцы отличаются высоким содержанием жирных кислот, ацилглицеролов и фитостеролов.

Метаболомные профили (МП) образцов разной пloidности различались как по качественному, так и по количественному составу. У диплоидных и гексаплоидных образцов овса в группе органических кислот преобладали яблочная и глюконовая, у тетраплоидных – галактуронозная и яблочная кислоты. В МП диплоидных овсов не идентифицированы азелаиновая и рибоновая кислоты, тетраплоидных – только азелаиновая кислота.

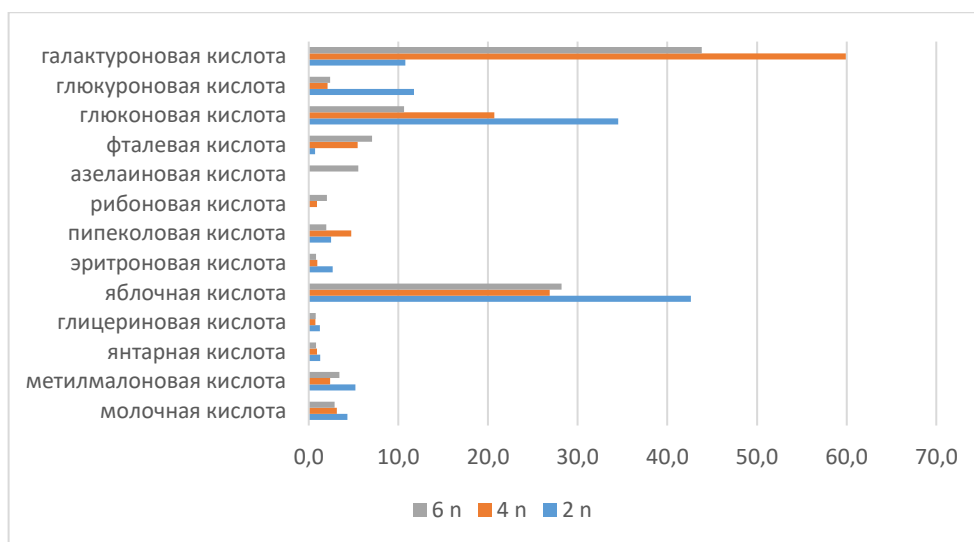


Рисунок 7. Представленность органических кислот в МП зерновок овса разной пloidности.

В группе свободных аминокислот МП овса преобладали глицин и аспарагин, самые высокие значения данных кислот наблюдались у диплоидных образцов. У тетраплоидных кроме вышеперечисленных отмечены высокие значения небелковой пипеколиновой аминокислоты.

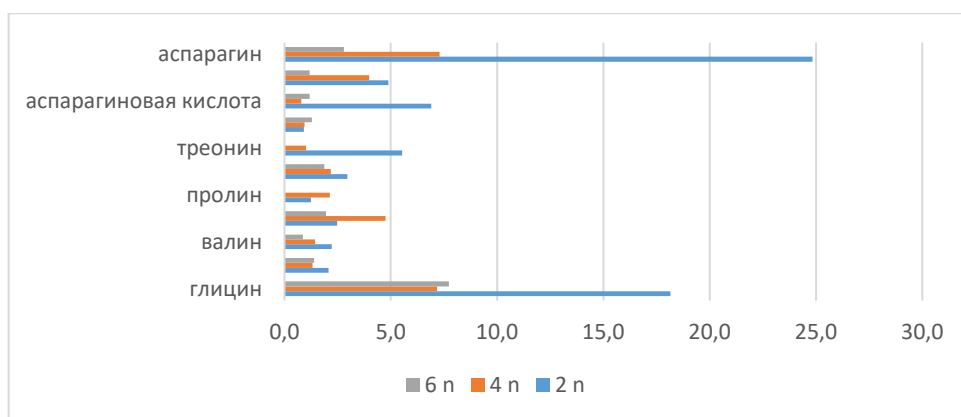


Рисунок 8. Свободные аминокислоты МП зерновок овса разной ploидности.

Из многоатомных спиртов у диплоидных и тетраплоидных образцов овса преобладающими оказались глицерол и мио-инозитол. В зерновках гексаплоидного овса одинаково высоким оказалось содержание глицерола, дульцитола, мио-инозитола и сорбитола.

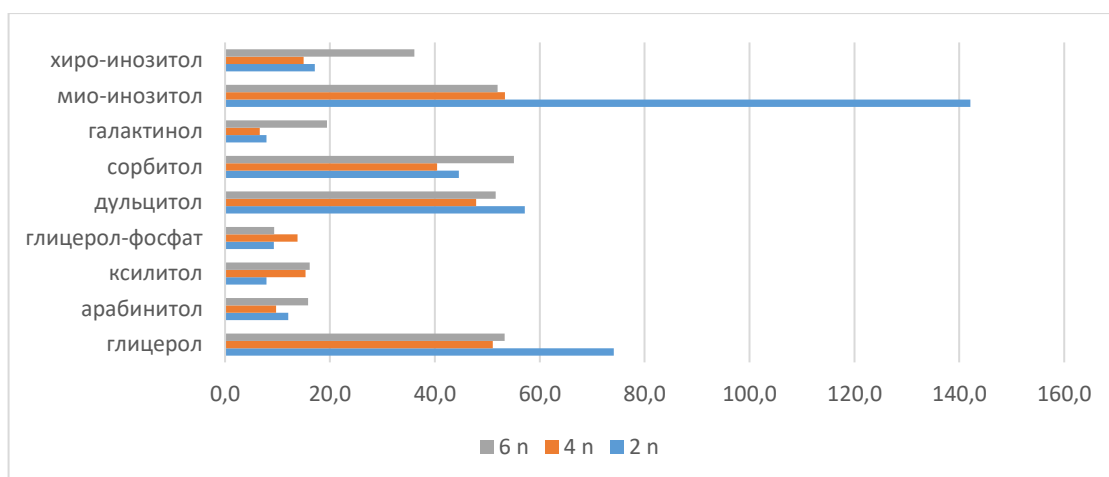


Рисунок 9. Многоатомные спирты МП зерновок овса разной ploидности.

Фитостеролы в МП представлены изофукостеролом и ситостеролом. Из них наиболее характерным для всех изученных образцов оказался ситостерол, самое высокое его содержание определено для гексаплоидных образцов.

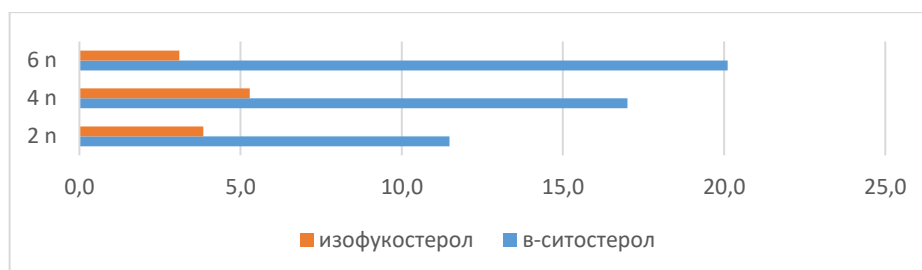


Рисунок 10. Фитостеролы МП зерновок овса разной ploидности.

В группе моносахаров в МП овса кроме глюкозы и фруктозы, также отмечены высокие показатели рибозы. У гексаплоидных овсов идентифицирована арабиноза, не обнаруженная у ди и тетраплоидного овса, а у тетра и гексаплоидных образцов выявлена гулоза.

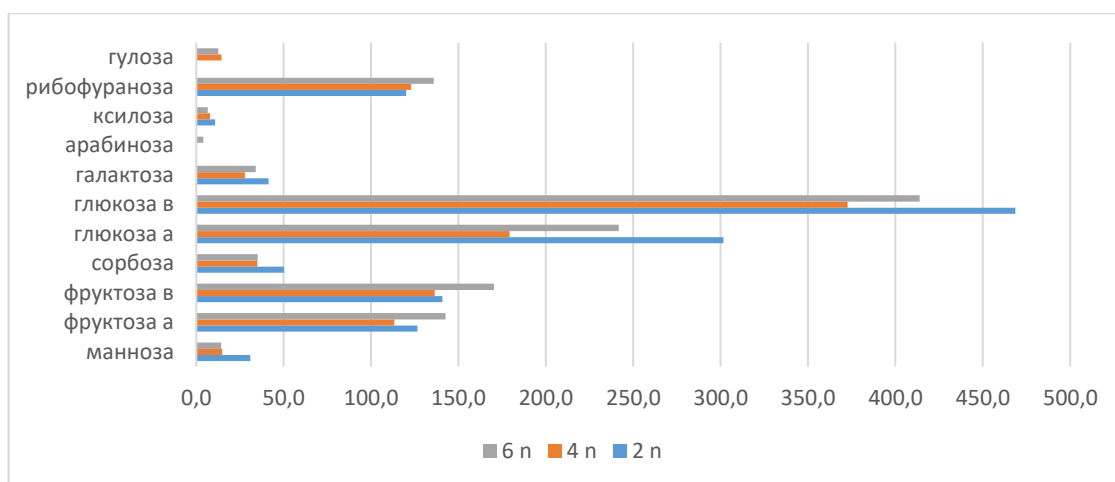


Рисунок 11. Моносахара МП зерновок овса разной ploидности.

У всех изученных образцов в МП преобладали такие олигосахара как сахароза и тураноза,

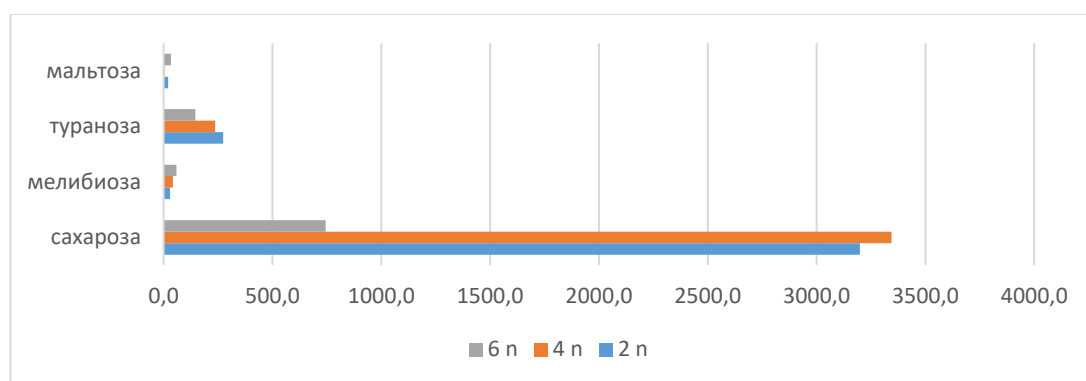


Рисунок 12. Олигосахара МП зерновок овса разной ploидности.

У всех исследованных нами образцов в МП зерновок преобладали три жирных кислоты: пальмитиновая, вакценовая и линолевая. В МП ди и тетраплоидов не определялась пеларгоновая екислота. В группе ацилглицеролов наибольшим содержанием отличались МАГ1 16:0 и МАГ-218:2

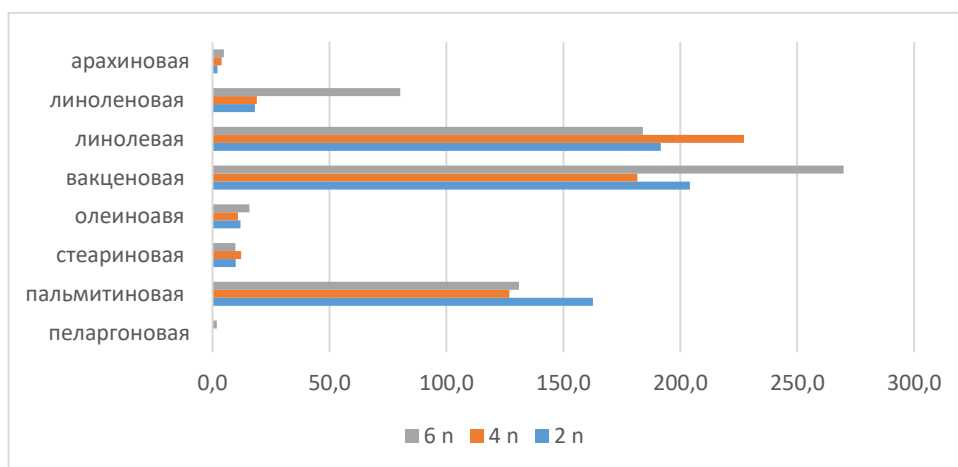


Рисунок 13. Жирные кислоты МП зерновок овса разной ploидности

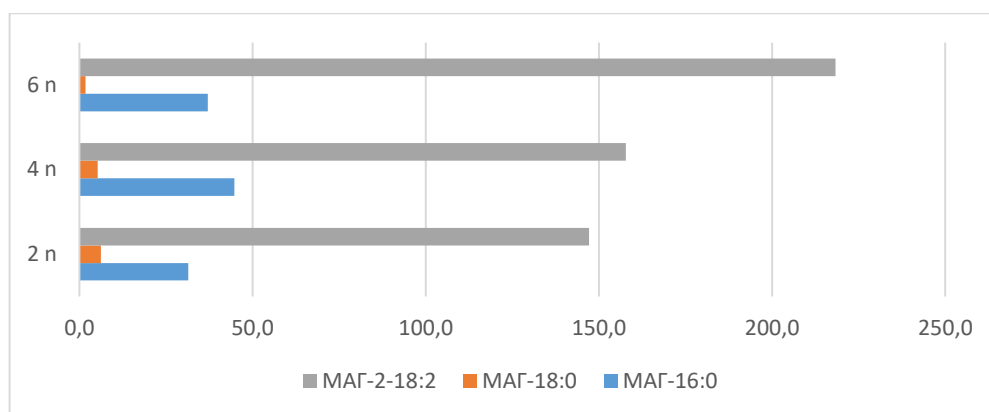


Рисунок 14. Ацилглицеролы МП зерновок овса разной плоидности.

Группа фенолсодержащих соединений (ФСС) представлена кампестеролом, бензойной и никотиновой кислотой с преобладанием в МП всех изученных образцов кампестерола.

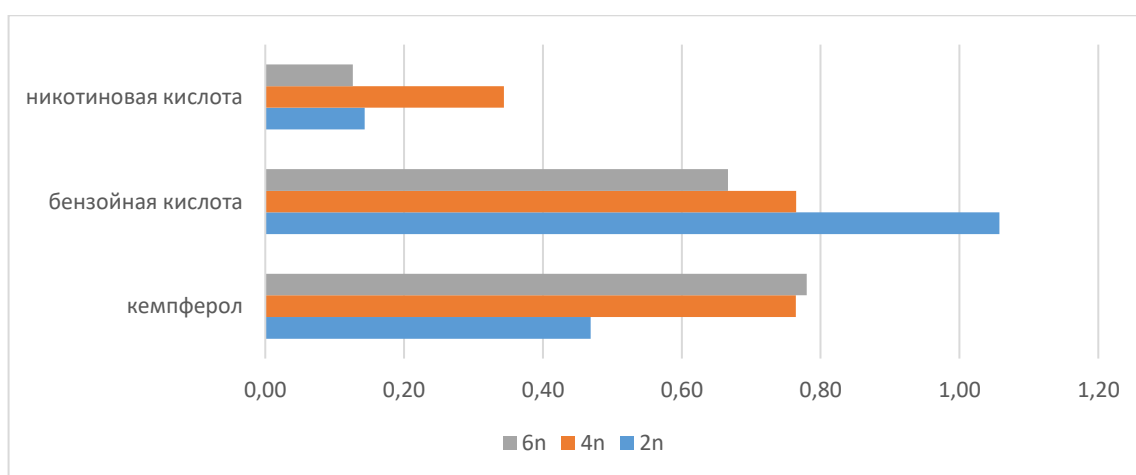


Рисунок 15. ФСС МП зерновок овса разной плоидности.

Таким образом, диплоидный вид *A. strigosa* отличался повышенным содержанием органических кислот (глюкуроновая, яблочная и глюконовая кислоты), свободных аминокислот (глицин, аспарагин и аспарагиновая кислота), многоатомных спиртов (глицин, дульцитол и аспарагин), моносахаров (глюкоза а и в), олигосахаров (тураноза), жирных кислот (пальмитиновая и вакценовая) и фенолсодержащих соединений (бензойная кислота). Тетраплоидный вид *A. abyssinica* выделялся повышенным содержанием органической галактуроновою кислоты, пипекотиновой аминокислоты, глицерола, сахаров гулозы и сахарозы, линолевой жирной кислоты, ацилглицеролов МАГ 16:0 и никотиновой кислоты. Гексаплоидный вид *A. sativa* имел повышенные показатели по метилмалоновой, азелаиновой и фталевой органическим кислотам, многоатомным спиртам (глицеролу, дульцитолу, мио-инозитолу и сорбитолу), ситостеролу, сахарам (арабинозе, мальтозе, мелибиозе), вакценовой, олеиновой и линолевой жирным кислотам, ацилглицеролам МАГ-218:2, фенолсодержащему соединению кемпферолу.

Проанализированы образцы овса: российские и французские местные (сборы 20-х годов XX столетия), примитивные селекционные (сборы 30-40-х годов XX столетия), современные селекционные сорта (сборы конца XX и начала XXI столетия). Местные сорта-популяции – сорта, не имеющие сортового названия, которые на протяжении длительного времени возделывались и спонтанно отбирались на данной территории. Примитивные селекционные – это сорта с сортовыми названиями, полученные в результате научного целенаправленного отбора продуктивных линий из местных сортов популяций.

Современные селекционные сорта – это сорта всегда с сортовыми названиями, полученные в результате гибридизации с последующим отбором наиболее продуктивных линий.

Местные образцы отличались более низким содержанием органических кислот, свободных аминокислот и жирных кислот, многоатомных спиртов, фитостеролов, ацилглицеролов, сахаров и фенолсодержащих соединений. Однако в этих образцах оказалось более высокое содержание нуклеозидов, что может отражать активность обмена пуриновых и пиримидиновых соединений. В зерновках сортов, полученных в ходе примитивной селекции, оказались более высокими показатели общего содержания органических кислот, свободных аминокислот, многоатомных спиртов и сахаров. Зерновки селекционных сортов отличались высокими показателями свободных жирных кислот, что может быть связано с более интенсивным участием их в процессах обмена веществ, в том числе синтезе триглицеридов и др., а может отражать направление селекционных работ. Кроме того, для зерновок овса селекционных сортов установлен самый низкий показатель фенолсодержащих соединений, что может указывать на снижение синтеза соединений, отвечающих за стрессоустойчивость. Также в них выявлено самое низкое содержание органических кислот по сравнению с остальными группами образцов. Низкие показатели органических кислот у образцов зерновок культурных форм овса по сравнению с дикими отмечены нами ранее.

Российские местные, примитивные селекционные и селекционные сорта отличаются более высокими показателями органических кислот по сравнению с французскими. Местные и селекционные французские сорта по сравнению с российскими содержат больше многоатомных спиртов в зерновках. Все образцы российских сортов овса содержат больше моносахаров, а селекционные российские и олигосахаров по сравнению с французскими. Зерновки местных и примитивных селекционных российских сортов отличаются более высокими показателями нуклеозидов.

Среди кислот во всех образцах преобладает яблочная, фосфорная и метилфосфорная кислоты.

Доминирующей свободной аминокислотой для всех образцов является тирозин. Кроме того, для образцов французских местных, французских примитивных селекционных характерно более высокое содержание α-аланина, а для российских селекционных сортов – α-аланина и глицина.

Основными жирными кислотами для всех исследованных образцов являются пальмитиновая, олеиновая и линолевая кислоты. Доминирующими ацилглицеролами – MAG 1-C16:0 и MAG 1-C18:0. Наиболее низким общее содержание жирных кислот оказалось у образцов российских примитивных селекционных сортов.

Из фитостеролов наиболее представленными в зерновках исследованных форм овса является *ситостерол*, а в образцах российских местных и селекционных французских наблюдается высокое содержание *изофукостерола*.

Среди моносахаров доминировала глюкоза, среди олигосахаров – сахароза. Наибольшее содержание глюкозы и раффинозы наблюдалось в российских примитивных селекционных, а сахарозы во французских селекционных сортах.

Превалирующими фенолсодержащими соединениями для местных и примитивных селекционных французских сортов являются альфа токоферол, для примитивных селекционных российских и селекционных сортов – хинная кислота.

Во всех изученных образцах зерновок овса из числа нуклеозидов доминировал уридин.

В ходе проведенного исследования были выделены наиболее информационно ценные признаки (fucosterol, chiro-inositol, xylitol, undecylic, threonic, glutamic, ribonic, phosphoric acids и sorbose, fructose, glucose -3-phosphate, myo-inositol), позволившие достоверно разделить взятые в исследование образцы овса с разной степенью селекционной проработки и различного происхождения. Группа российских примитивных селекционных сортов достоверно отличалась от других по наибольшему количеству биохимических

параметров (malic, treonic, ribonic, gluconic, tridecylic acids; fructose); следующей разнообразной группой были российские местные и французские примитивные селекционные (chiro-inositol, fucosterol, fructose, и phosphoric, glutamic acids, valine, соответственно). Сравнение метаболомных профилей групп сортов овса - местных, примитивных, а также современных – российской и французской селекции, взятых в исследование, показывает особенности направления работ различных селекционных школ, обусловленных спецификой методических приемов, интенсивностью селекции и принципов отбора генотипов, во многом зависящих от методов их идентификации.

Таким образом, полученные результаты показывают, что при проведении селекционных работ на улучшение биохимических показателей зерновки овса (по составу жирных кислот, ацилглицеролов, фитостеролов, полиолов и др.), необходимо использовать ресурсы генетического разнообразия российских местных и примитивных селекционных сортов, собранных и созданных в 1920-1930-е годы XX столетия, которые до настоящего времени сохраняются и поддерживаются в мировой коллекции ВИР.

Далеко не все дикие родичи культурного овса изучены, однако именно они являются источниками многих хозяйственно-ценных признаков, в том числе устойчивости к абиотическим и биотическим факторам среды. В ВИРе постоянно проводится исследование этих форм растений. В текущем исследовании в изучение взяты образцы зеленой массы овса и родственных видов злаков: *A. sativa* L., *A. wiestii* Steud. (диплоид, средиземноморский экотип), *A. macrostachya* Balansa ex Coss. & Durieu (тетраплоидный многолетний перекрестноопыляемый злак, происхождением из предгорий Алжира) и *A. barbata* Pott ex Link (тетраплоид, азиатско- средиземноморский экотип), а также *Deschampsia altaica* (Schischk.) O. D. Nikif. (сибирско-центральноазиатский луговой и скально-осыпной вид из родства *Deschampsia* aggr. *cespitosa* (L.) P. Beauv. типовой секции (подтриба *Airinae* Fr., трибы *Poeae* R. Br.).

Материалом для исследования служила гомогенизированная зеленая масса растений (стебли, листья и семена), собранная в стадии полной спелости семян. Изучены: содержание сухого вещества, белка, сахаров (моно- и олигосахара), аскорбиновой кислоты, общее содержание кислот, основные растительные пигменты (хлорофиллы α и β , каротины, каротиноиды, β -каротин, антоцианы). Они играют основную роль в преобразовании энергии света в макроэргические связи АТФ, в накоплении первичных продуктов обмена в растительных тканях (моно-, дисахара, органических кислоты, аминокислоты), образовании молекулярного кислорода, защите растений от воздействия «вредных» излучений и др.

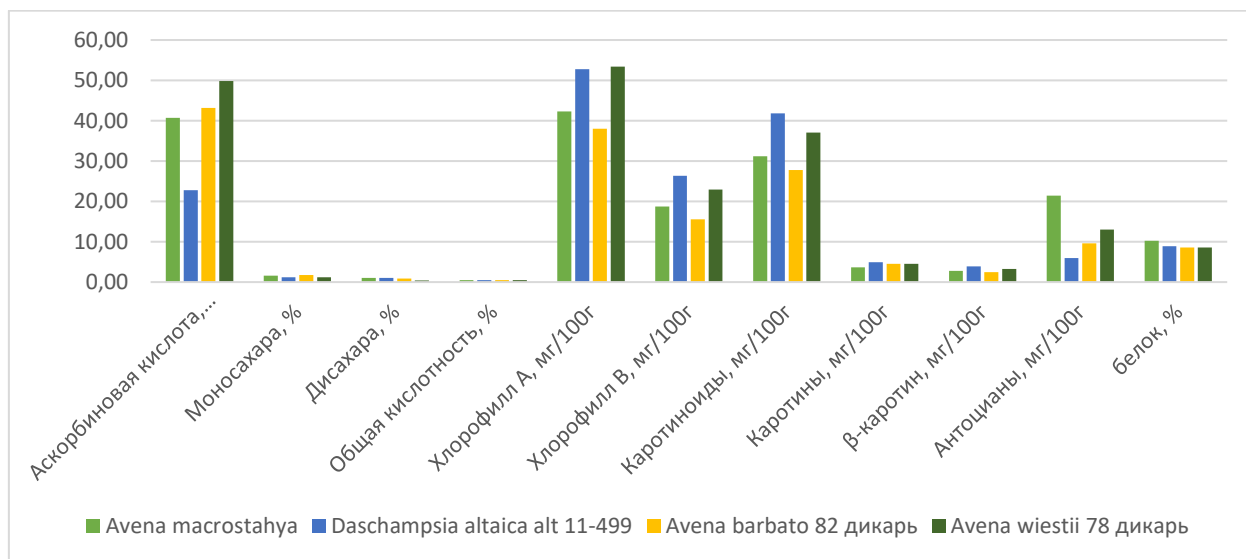


Рисунок 16. Показатели зеленой массы изученных образцов

Значительным разбросом значений характеризовались показатели аскорбиновой кислоты (от 15 до 51 мг/100г), минимальные значения установлены для *D. altaica*, максимальные для *A. wiestii*, что превышает значения аскорбиновой кислоты для листового салата (Жирнова, 2019). Аскорбиновая кислота (АК) участвует в основных обменных процессах растительных клеток (фотосинтез, дыхание и др.) обладает антиоксидантной активностью, участвует в защитных реакциях растения в ответ на воздействие неблагоприятных факторов среды (Рогожина, Рогожин, 2004). В нашем исследовании содержание АК связано сильной обратной корреляционной связью с показателями сахаров (-0,7), что объясняется особенностями синтеза АК.

Установлено, что значения дисахаров, суммы сахаров, общей кислотности, каротинов и в-картина у образцов видов, взятых в исследование, практически совпадали и были равны в среднем: 0,98; 2,49; 0,50 %, 3,91 и 2,90 мг/100 г.

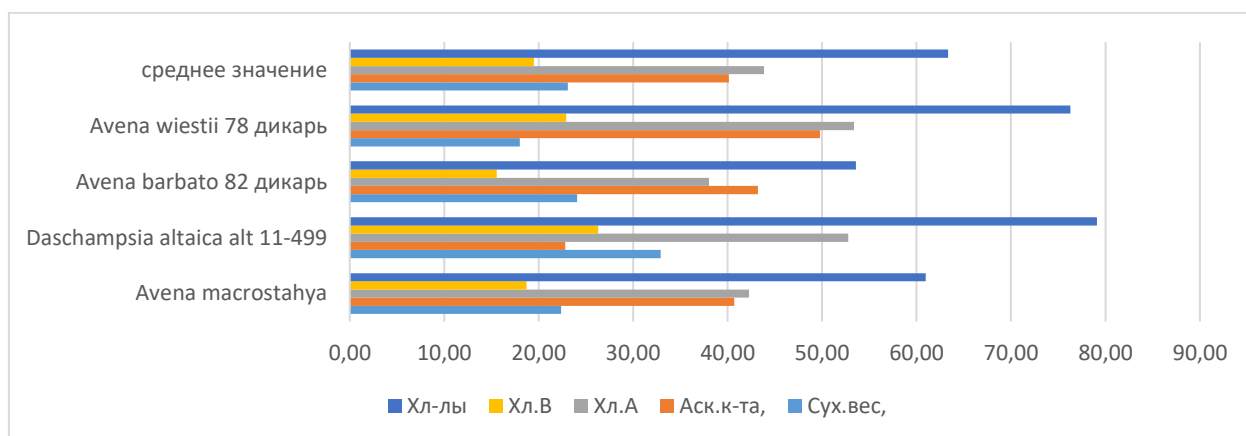


Рисунок 17. Средние значения содержания сухого веса (%), хлорофиллов, аскорбиновой кислоты (мг/100г).

Другой группой наиболее распространенных растительных пигментов являются тетратерпены (каротиноиды, каротины, в том числе β каротин). Каротиноиды выполняют в растениях светособирающую, светозащитную и структурную функции. Для образцов *D. altaica* установлены наиболее высокие показатели каротиноидов (41,78) каротинов (4,90) и β -каротина (3,87 мг/100г). Самое низкое содержание каротиноидов (27,75) и β каротина (2,44) – для *A. barbata*, а каротинов (3,63 мг/100г) – для *A. macrostahya*.

Антоцианы – это один из наиболее распространенных и многочисленных по разнообразию классов вторичных метаболитов, которые относятся к флавоноидным соединениям. Они придают плодам, листьям и цветкам окраску самых разнообразных оттенков (от розовой до черно-фиолетовой), кроме того, антоцианы являются факторами защиты и накапливаются растением под неблагоприятным воздействием среды. Самые высокие значения антоцианов определены для образцов *A. macrostahya* (21,46), а самые низкие (5,97 мг/100г) для *D. altaica*

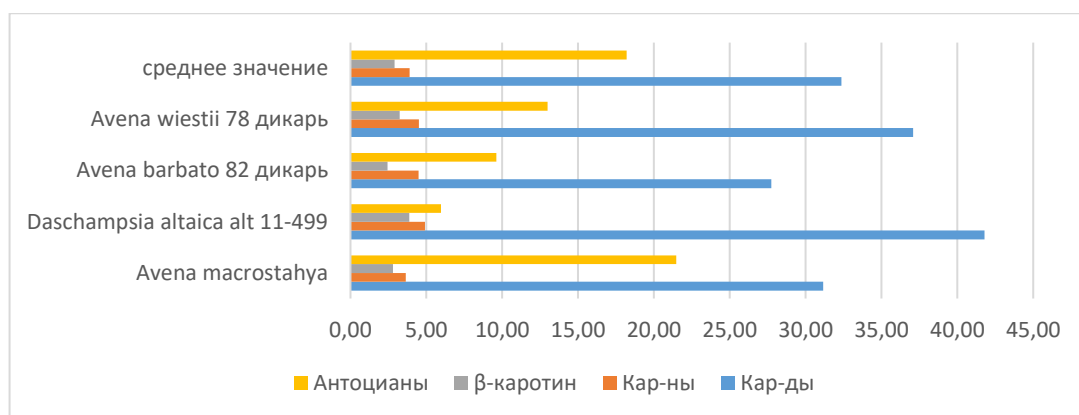


Рисунок 18. Средние значения содержания антоцианов, каротиноидов, каротинов, β каротина (мг/100г).

Образцы *Deschampsia altaica* отличались более высокими значениями сухого веса, хлорофиллов, в том числе хлорофилла в и каротиноидов (32,92%; 26,31 и 79,10 мг/100 г); *Avena wiestii* – аскорбиновой кислоты (49,80) и хлорофилла А (53,37 мг/100 г), *Avena barbata* – моносахаров (1,75%), *Avena macrostahya* – белка (5,62-12,14%) и антоцианов (21,46 мг/100 г). Самые низкие значения суммы хлорофиллов, в том числе хлорофилла α и β, каротиноидов отмечены для образцов *Avena barbata* (38,4; 15,56; 53,59, 27,75 мг/100 г), аскорбиновой кислоты и антоцианов (22,8; 5,97 мг/100 г) – для *Deschampsia altaica*, сухого веса (18,00%) – для *Avena wiestii*, моносахаров (1,23%) – для *Deschampsia altaica* и *Avena wiestii* белка (8,59%) – для *Avena barbata* и *Avena wiestii*.

Органические кислоты

Всего идентифицировано 14 органических кислот. Основными органическими кислотами для всех образцов зеленой массы были яблочная (70,4-504,8 мг/100 г) и фосфорная (126,0-297,9 мг/100 г) кислоты. У образцов *Deschampsia altaica* и *Avena wiestii* высокие значения отмечены для аконитовой кислоты (348,2 и 214,5 мг/100 г).

Образцы *Deschampsia altaica* достоверно отличались от остальных более низкими значениями фосфорной, яблочной кислот и более высокими аконитовой.

Сахара

Содержание соединений первичного метаболизма характеризуют такие показатели как общая кислотность, содержание моно и олигосахаров, выраженное в %. Наибольшие показатели общей кислотности и суммы сахаров установлены для образцов *A. macrostahya* и *A. barbata* (2,61 и 0,50 мг/100г), минимальные показатели для *A. wiestii* (1,66 и 0,45 мг/100г).

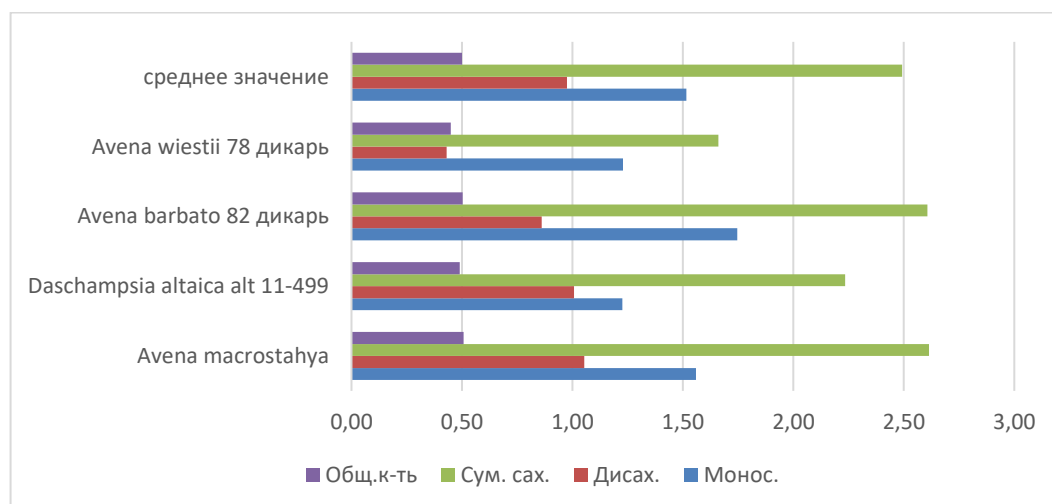


Рисунок 19. Средние значения показателей общей кислотности, моносахаров и олигосахаров (% и мг/100г).

Всего в зеленой массе идентифицировано 14 сахаров, из них 10 относятся к группе моносахаров и 4 к олигосахарам. Основными моносахарами установлены глюкоза (268,84-2389,15) и фруктоза (195,73-351,80 мг/100 г), олигосахарами – сахароза (1401,65-9222,06), а для *Deschampsia altaica* и *Avena macrostachya* – и раффиноза (49,44 и 13,56 мг/100 г, соответственно). Образцы *Deschampsia altaica* достоверно отличались высокими показателями сахарозы и раффинозы (9222,06 и 9029,64 мг/100 г) по сравнению с остальными.

Фенольные соединения

Идентифицировано 9 летучих фенольных соединений, содержание которых между образцами наблюдались существенные отличия. В зеленой массе *Avena macrostachya* лучше всего были представлены шикимовая (54,56) и хинная (127,06) кислоты, *Deschampsia altaica* – синаповая кислота (20,13) и токоферол (25,17), *Avena barbata* – хинная кислота (22,53) и токоферол (47,18), *Avena wiestii* – хинная кислота (54,34 мг/100г).

Изложенное выше показывает, что основные отличия в составе ФС зеленой массы изученных образцов связано с составляющими шикиматного пути – основного пути образования биологически активных соединений в растениях и связанного с ним биосинтеза фенилпропаноидов, оксикоричных спиртов и метилированных фенолов.

В зеленой массе *Avena macrostachya* достоверно выше показатели шикимовой (54,56) и хинной (127,06) кислот, а *Avena barbata* – а-токоферола (47,18 мг/100 г).

Свободные аминокислоты

Идентифицировано 19 свободных аминокислот. У всех образцов наблюдались высокие значения а-аланина (71,99-175,33) и глутамина (52,20-94,34 мг/100 г). Образцы *Avena barbata* достоверно отличались от других показателями серина (123,97), *Avena macrostachya* – нуклеозида уридина (1409,42 мг/100 г). Более высокими значениями ароматических аминокислот фенилаланина (33,42) и тирозина (11,59;10,62 мг/100 г), которые могут быть промежуточными звеньями в шикиматном пути биосинтеза биологически активных соединений фенольной природы, характеризовалась зеленая масса диких образцов овса *Avena barbata* и *Avena wiestii*. У *Deschampsia altaica* отмечалось значительное количество антистрессового фактора: пипеколиновой кислоты (18,38 мг/100 г).

Свободные жирные кислоты

Основными свободными жирными кислотами для всех исследованных образцов из 13 идентифицированных являлись олеиновая (119,23-386,25), линолевая (67,39-156,98), пальмитиновая (72,74-182,30) и гидроксигексакозановая (60,39-273,89 мг/100 г) кислоты. Зеленая масса *Deschampsia altaica* достоверно отличалась большим количеством олеиновой (386,25) и гидроксигексакозановой (273,89) кислот, а дикорастущие формы *Avena barbata* – единственного выявленного ацилглицерола: МАГ-1 С16:0 (11,5 мг/100 г), соединения отвечающего за стрессоустойчивость растения.

Полиолы

Зеленая масса образцов овса, взятых в исследование, значительно отличалась по количественной представленности полиолов. Всего было идентифицировано 8 соединений. Для дикорастущих форм *Avena barbata* и *Avena wiestii* основными многоатомными спиртами были инозитолы (118,53 и 53,05) и галактинол (119,57 и 30,83 мг/100 г), для *Deschampsia altaica* – маннитол (184,32) и галактинол (134,27), а для *Avena macrostachya* – только маннитол (111,99 мг/100 г). Зеленая масса *Deschampsia altaica* достоверно отличалась от других образцов высокими показателями маннитола, *Avena barbata* – инозитола, дикорастущие формы *Avena barbata* и *Avena wiestii* – галактинола.

Фитостеролы

Группа фитостеролов была представлена только *ситостеролом*, наиболее распространенным в растениях. Максимальное значение (422,39) установлено для

Deschampsia altaica, *Avena barbata* и *Avena wiestii* отличались минимальными значениями *ситостерола* (56,92 и 116,78 мг/100 г).

Производные (лактонные формы, фосфаты, метил и метилен производные)

Для зеленой массы изученных образцов установлены низкие показатели лактонной формы треоновой кислоты (треоно-1,4 лактона), наиболее высокие показатели отмечены для *Avena wiestii* (2,48 мг/100 г).

Показатели глицерол-3 фосфата одного из ключевых соединений обмена сахаров в растении были выше в тканях *Avena barbata* (73,88 мг/100 г).

Показателями метил и метилен производных сахаров (метилен пентофуранозида и метил глюкофуранозида) отличались дикорастущие формы *Avena barbata* и *Avena wiestii* (50,81 и 37,71; 7,57 и 9,62 мг/100 г, соответственно). В зеленой массе *Avena macrostachya* и *Deschampsia altaica* наблюдались более высокие значения гликозида арбутина и гликозидного остатка (-D-глюкопиранозида), который может быть остатком активной формы гликозида, разрушенного при пробоподготовке (13,66 и 13,89; 855,15 и 339,16 мг/100 г).

Проведенная предварительная оценка биохимических показателей диких родичей овса дает возможность выделить из изученной выборки образцы *D. altaica* как имеющие по сравнению с другими образцами, взятыми в исследование, высокие показатели сухого веса, каротинов, каротиноидов, β каротина, суммы хлорофиллов, хлорофилла α и β , а также олигосахаров. *A. macrostachya* с высокими показателями суммы сахаров, олигосахаров, общей кислотности и антоцианов. *A. barbata* – показателями суммы сахаров (за счет высокого содержания моносахаров в зеленой массе) и общей кислотности. Высокие значения аскорбиновой кислоты и хлорофилла α наблюдались в зеленой массе *A. wiestii*. Для более полной оценки хозяйственно ценных признаков диких родичей овса *A. sativa* и выделения из изучаемой выборки источников, перспективных для улучшения хозяйственно-ценных показателей культурного овса необходимо провести более детальное изучение их биохимического состава, в том числе метаболомного профиля.

На следующем этапе исследовательской работы проведен сравнительный анализ метаболомных профилей зерновок овса и их недельных проростков с разной степенью пloidности (2, 4, 6n). Целью опыта было изучение изменений в метаболитной сети на разных фазах развития растения на примере дикорастущих форм овса. В результате проведенного эксперимента выделены формы с максимальными показателями соединений, отвечающих за устойчивость растения к стрессам и пищевую ценность.

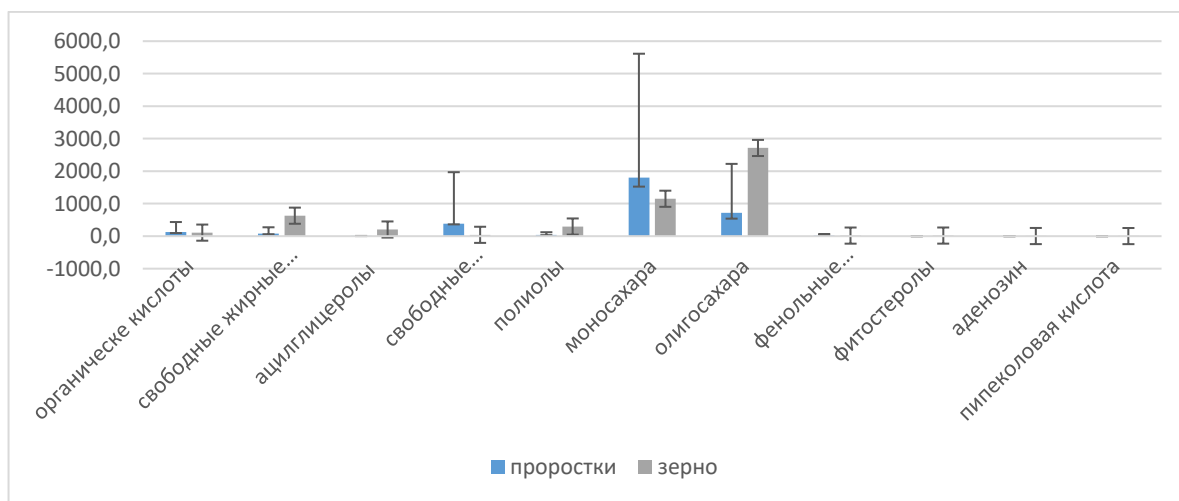


Рисунок 20. Метаболомный профиль проростков и зерна изученных образцов.

Установлено, что общее содержание органических кислот, свободных аминокислот в проростках было более высоким, а качественный состав разнообразнее по сравнению с зерновками овса. В первом случае доминирующими были кислоты цикла Кребса (ЦТК) и

шикиматного пути (яблочная, аконитовая, хинная кислоты), во втором – яблочная и уроновые кислоты, продукты окисления соответствующих моносахаров, составные части биополимеров растительного происхождения, которые являются ценными показателями при выборе сырья для продуктов функционального питания человека. Свободные аминокислоты проростков и зерновок были представлены в основном нейтральными неполярными и полярными формами. В проростках среди свободных аминокислот превалировал аспарагин, его содержание намного (примерно в 10 раз) превышало количество других свободных аминокислот. Аспарагин тесно связан с ЦТК, его предшественником является оксалоацетат. В зерновках – глицин, одна из самых распространенных аминокислот, входящая в состав белков и биологически активных соединений. Пипеколиновая кислота, фактор устойчивости растения к стрессу, был выявлен только в зерновках.

Общее содержание моносахаров было выше в проростках, чем в зерновках овса. Качественный состав был практически одинаковым. Доминирующим соединением установлена глюкоза, один из самых распространенных моносахаров не только в растениях, но и любом живом организме.

Количественные показатели и качественный состав свободных жирных кислот, полиолов, олигосахаров были выше и разнообразнее в зерновках овса. В группе свободных жирных кислот превалировали вакценовая, линолевая и пальмитиновая кислоты, полиолов – изомеры инозитола, олигосахаров – сахароза. В зерновках овса количество ацилглицеролов было выше и разнообразнее состав (превалировал моноацилглицерол линолевой кислоты МАГ-2 18:2). В тканях проростков был идентифицирован только один моноацилглицерол пальмитиновой кислоты (МАГ-1 16:0).

Показатели фенольных соединений были практически одинаковыми и для зерновой, и для проростков овса, но представлены они были разными соединениями. В проростках данная группа была представлена шикимовой и хинной кислотами, а в зерновках – метилированным фенолом, входящим в состав витамина Е, α -токоферолом. Кроме, вышеперечисленных групп соединений в зерновках были выявлены фитостеролы с превалированием в-ситостерола и нуклеозид аденозин.

Таким образом, было показано, что проростки и зерно в стадии полной спелости отличаются как по качественной представленности метаболомных профилей, так и по количественным показателям отдельных соединений и их групп, что может быть связано с различной интенсивностью синтеза первичных и вторичных метаболитов на разных этапах развития овса.

Проростки диплоидных образцов отличались более высоким общим содержанием свободных аминокислот, незаменимых аминокислот (валина, лизина, лейцина, треонина), тетраплоидных – аспарагина, свободных жирных, сахарной кислот, мио-инозитола, моно и олигосахаров, гексаплоидных – органических кислот, яблочной и галактурановой кислот, галактинола, фенольных соединений, диплоидных и тетраплоидных – моноацилглицерола пальмитиновой кислоты, тетраплоидных и гексаплоидных – полиолов.

Общее содержание органических кислот, фитостеролов, аденозина, у зерновок овса разной плоидности было практически одинаковым, однако они различались по количеству отдельных веществ. В диплоидных образцах зерновок было повышенное содержание свободных аминокислот, полиолов, моносахаров, глицериновой, глюконовой кислот, глицина, глутамина, аспарагина, изомеров инозитола, тетраплоидных – уроновых, линолевой пипеколиновой кислот, α -токоферола, гексаплоидных – свободных жирных кислот, ацилглицеролов, азелаиновой, вакценовой, линоленовой кислот, моноацилглицерола пальмитиновой кислоты, ди и тетраплоидные – олигосахаров, тетра и гексаплоидные – фитостеролов,

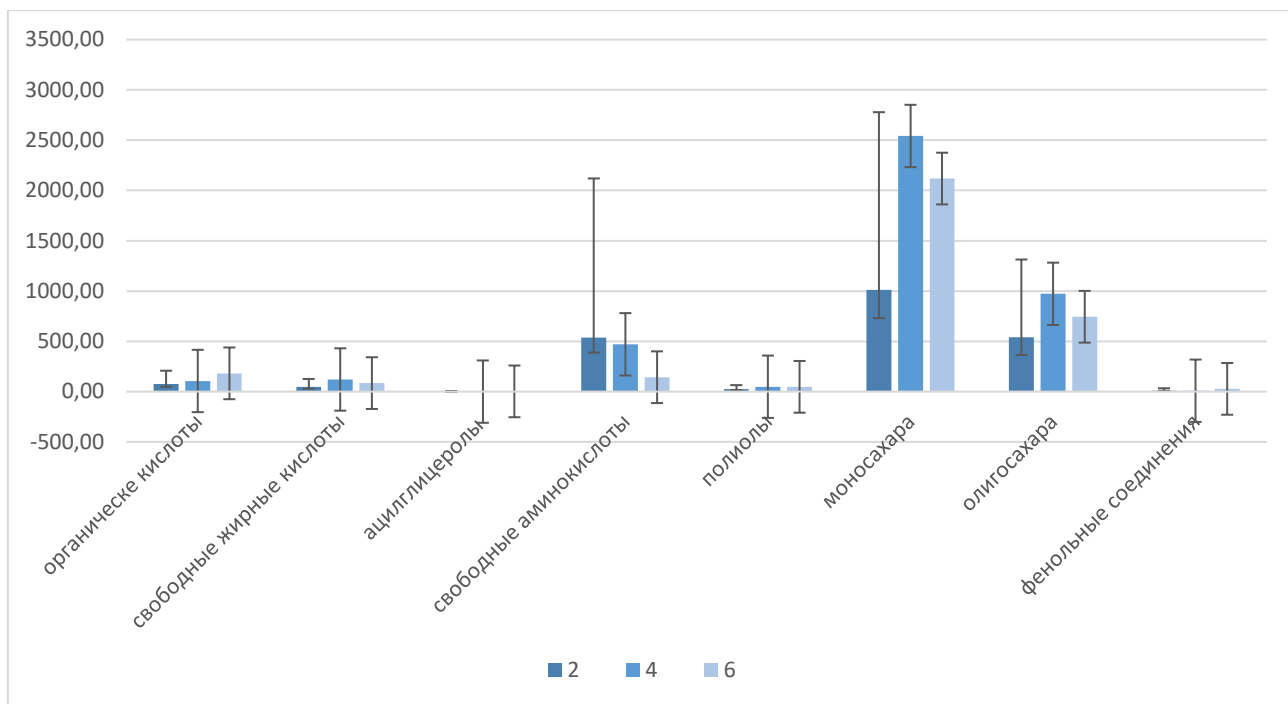


Рисунок 21. Метаболомный профиль проростков изученных образцов с разным уровнем пloidности.

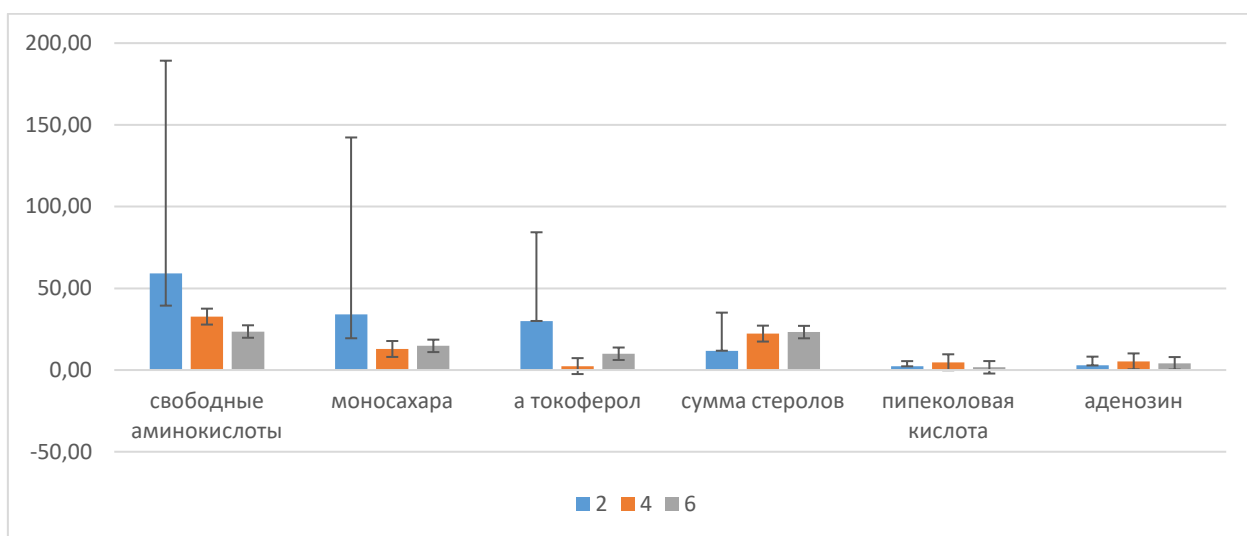


Рисунок 22. Метаболомный профиль зерновок изученных образцов с разным уровнем пloidности.

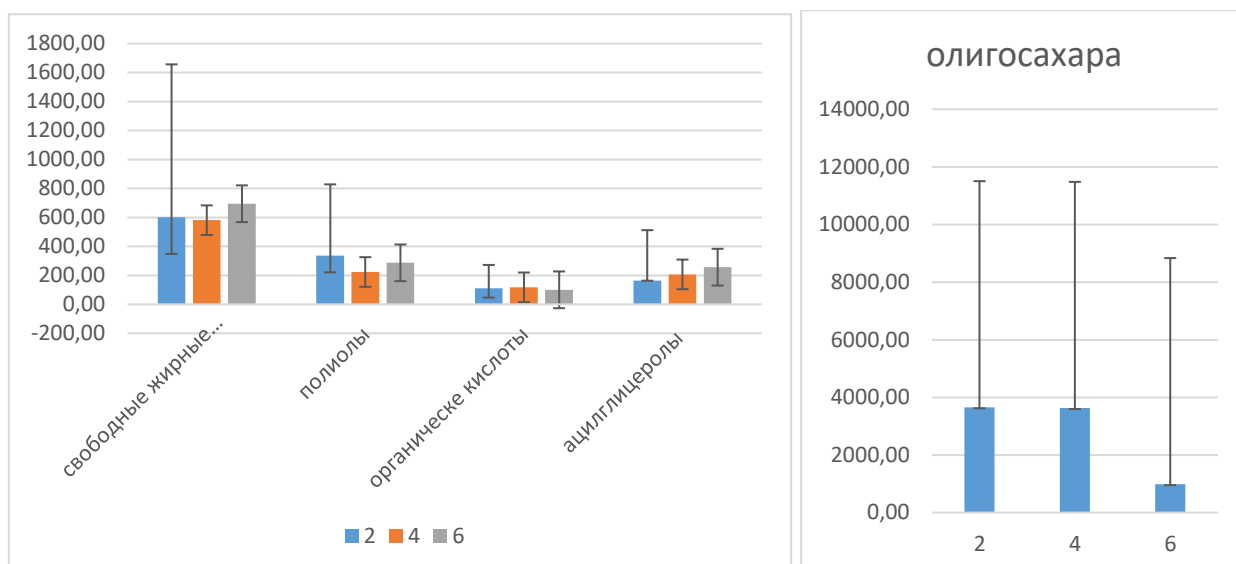


Рисунок 23. Метаболический профиль и олигосахара изученных образцов разного уровня плоидности.

По полученным нами данным у образцов зеленой массы *Deschampsia altaica* наблюдались более высокие значения соединений, отвечающих за стрессоустойчивость (сахароза, раффиноза, гликозиды, пипеколиновая кислота), антиоксидантную активность (хлорофилл в, каротиноиды), питательную ценность (высокие значения сухого веса, маннитол). *Avena wiestii* антиоксидантную активность (аскорбиновая кислота, хлорофилл а), антистрессовые факторы (фенилаланин, тирозин, галактинол). *Avena macrostachya* антистрессовые факторы (антоцианы, арбутин, шикимовая и хинная кислоты), пищевое или пищевая ценность (высокое содержание белка), *Avena barbata* антистрессовые факторы (а-токоферол, фенилаланин, тирозин, моноацилглицерол пальмитиновой кислоты, галактинол), пищевая ценность (инозитол, высокие значения моносахаров).

Проростки овса отличались более высокими значениями хинной и шикимовой кислот, веществ, по наличию которых можно судить об активности синтеза биологически активных соединений, аспарагина, аминокислоты, значимой для нормального функционирования нервной системы человека, органических кислот, необходимых для функциональной стабильности желудочно-кишечного тракта, моносахаров, основных источников энергии и составляющих большинства процессов обмена веществ в организме человека. В зерне выявлены более значительными были показатели пипеколиновой кислоты, ацилглицеролов, олигосахаров, полиолов, в том числе галактинола, входящих в систему адаптации к неблагоприятным факторам среды; аденозина, обладающего противовоспалительным эффектом и положительно влияющего на пациентов, страдающих хроническими заболеваниями сердечно-сосудистой системы; глицина и изомеров инозитола, необходимых для поддержания стабильной работы центральной нервной системы; свободных жирных кислот, а-токоферола, фитостеролов, уроновых кислот, компоненты снижающие концентрацию холестерина в крови и нормализующие обмен веществ в организме человека в целом.

В диплоидных образцах зерновок были лучше представлены соединения, отвечающие за пищевую ценность. Например, глицериновая кислота – промежуточный продукт гликолиза и биосинтеза ряда аминокислот, глюконовая кислота, положительно влияющая на обмен веществ в организме в целом и др. У тетра- и гексаплоидных форм были в большем количестве выявлены уроновые кислоты, важные для нормального функционирования пищеварительной системы, азелаиновая кислота, обладающая противовоспалительными свойствами, а также вещества, связанные с устойчивостью растения к стрессам окружающей среды (пипеколиновая кислота и ацилглицеролы).

Проростки различной степени пloidности характеризовались не только различными показателями пищевой ценности (незаменимые аминокислоты, инозитолы, уроновые кислоты и др.), но и резистентности к неблагоприятным условиям (тетра и гексаплоидные образцы).

Таким образом, практически для всех образцов установлены хозяйственно-ценные показатели, которые можно использовать в различных селекционных программах при создании сортов с определенным набором целевых соединений (пищевых компонентов) для создания новых продуктов лечебно-профилактического и функционального питания населения РФ.

В результате изучения зеленой массы, проростков и зерна диких и культурных видов овса выделены образцы, качественные и количественные характеристики метаболомных профилей которых подтверждают их перспективность использования в качестве возможных источников для улучшения старых и создания новых сортов овса с высокими показателями устойчивости к стрессовым факторам среды с возможностью использования для расширения линейки продуктов питания биофортификационного или функционального назначения.

Молекулярно-генетические исследования

Род *Avena* L. представлен культурными видами, имеющими большое практическое значение, и дикими видами, интересными как объекты таксономических исследований и источники ценных признаков для использования в селекции. Обширный ареал диких и особенно сорно-полевых видов овса охватывает весь зерновой пояс земного шара, что способствует формированию широкого внутривидового разнообразия признаков в полиплоидном ряду этих видов. По современным данным объем рода *Avena* составляет 26 видов (Лоскутов, 2007; Loskutov, Rines, 2011; Soreng et al., 2015).

Для наиболее точного прояснения подобных сложных случаев необходимы современные молекулярно-филогенетические методы. Кроме того, молекулярно-филогенетический анализ позволяет выявить картину родства на более высоком уровне – предковые таксоны для культурных растений и эволюцию рода в целом. Как правило, даже для современных молекулярно-филогенетических исследований берется 1-3 маркерные последовательности генов ядерного и хлоропластного геномов, не учитывая весь геномный пул последовательностей аллополиплоида. Между тем, многие аллополиплоидные виды, особенно у злаков, происходят от множественной интрогрессивной гибридизации нескольких видов разных секций, причем в результате интрогрессии сохраняются лишь признаки одного из родителей (Kovarík et al., 2005). Поэтому, для точной картины происхождения таксона необходимо получение всего пула маркерных последовательностей в геноме. Новейшие методы секвенирования (Illumina) позволяют решить эту проблему: получить сиквенсы маркерных последовательностей («ДНК-штрихкодов») от всех вариантов предковых таксонов в геноме аллополиплоида, включая даже такие минорные компоненты, которые не выявляются или трудно выявляются путем клонирования. С его помощью можно получить весь пул маркерных последовательностей (как правило, это последовательности ITS1 или ITS2 ядерного генома), соответствующий всем предполагаемым предковым таксонам. В качестве ДНК-штрихкодов ядерных геномов аллополиплоидов чаще используют внутренние транскрибируемые спейсеры генов 45S рРНК последовательности – наиболее эффективный «штрих-код» ядерного генома (Hollongsworth et al., 2011; Wang et al., 2015). Использование NGS-секвенирования достаточно часто позволяет выявить рДНК предковых видов даже тогда, когда большая часть генов одного из родителей утрачена (Song et al., 2014; Родионов и др., 2016).

Появление методов локус-специфичного секвенирования нового поколения (targeted-NGS), привело к возникновению принципиально новых возможностей для исследования процессов полиплоидии и межвидовой гибридизации. Возможность «прочитать» большое количество последовательностей исследуемого участка в геноме данного вида позволяет

выявлять редкие, минорные варианты рДНК, которые позволяют делать предположения о происхождении полиплоида и дают возможность исследовать генетические механизмы, лежащие в основе процессов гомогенизации и потери родительских копий рДНК у гибридов. Долгое время считалось, что геномы диплоидных видов не отличаются значительным внутренним разнообразием. В настоящее время появляется все больше данных о том, что большинство известных диплоидов на самом деле – палеополплоиды, прошедшие раунды вторичной диплоидизации (Rodionov et al., 2020), поэтому анализ геномной конституции диплоидов при помощи NGS может быть полезен для выявления «скрытого родства» видов.

Секвенирование нового поколения (NGS) на платформе Illumina проводили в Центре коллективного пользования «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» Всероссийского исследовательского института сельскохозяйственной микробиологии (ВНИИСХМ).

Мы провели предварительное сравнение видов *Avena* с разной геномной композицией – диплоидов с А-геномом, тетраплоидов с АС-геномами и гексаплоидов с АСD-геномами.

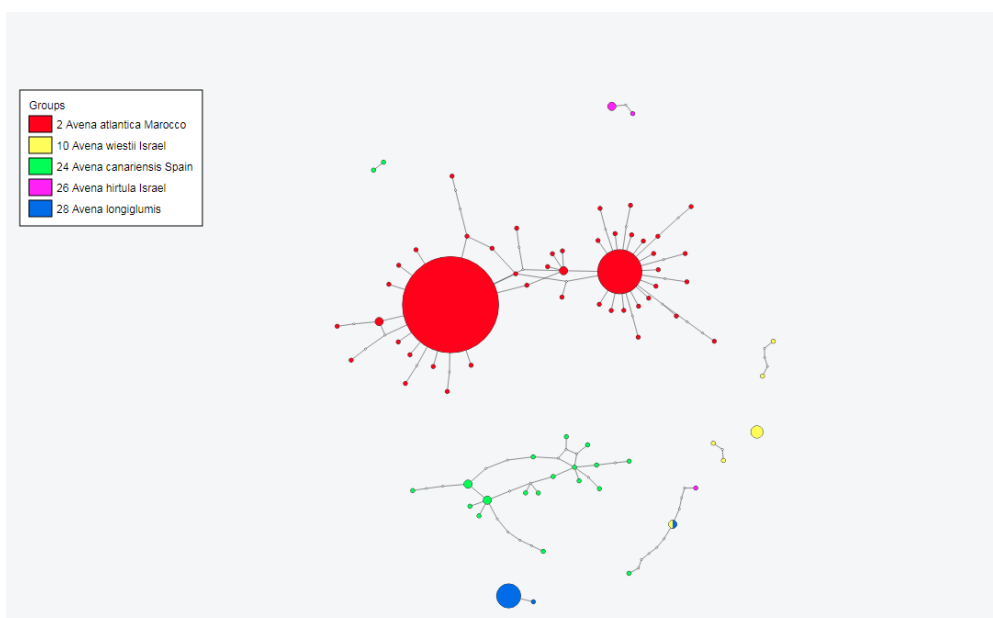


Рисунок 1. Диплоидные дикие виды овса Название?????



Рисунок 2. Тетраплоидные дикие виды овса Название?????

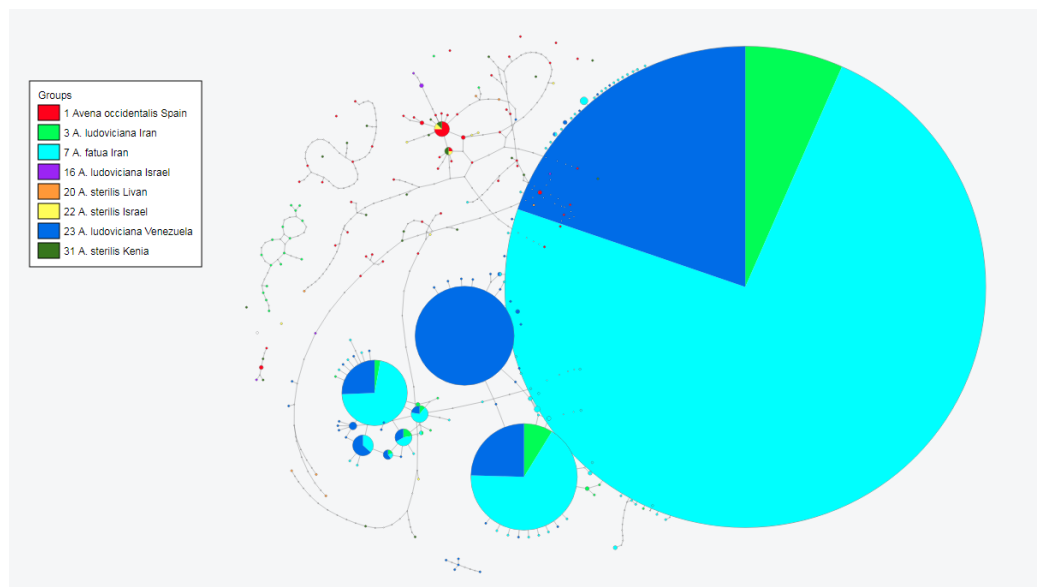


Рисунок 3. Гексаплоидные дикие виды овса Название ????

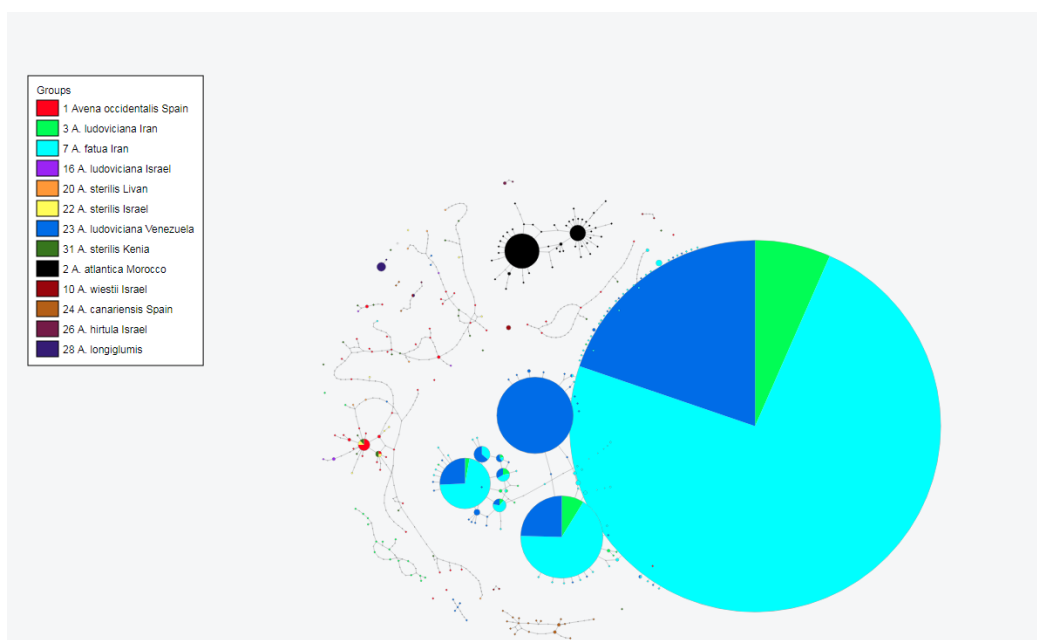


Рисунок 4. Название???

Как видно на рис. 1. диплоидный вид *A. atlantica* (As) состоит из двух субгеномов, что может указывать на событие гомоплоидной гибридизации, то есть гибридизации двух разных родительских видов без удвоения хромосомного набора или на палеополиплоидию (Родионов и др., 2017). При этом *A. wiestii* (As) имеет общий вариант генома с *A. longiglumis* (Al), к ним также прилежат некоторые субгеномы *A. hirtula* (As) и *A. canariensis* (Ac), в минорных количествах. В целом геномы диплоидных видов можно охарактеризовать как достаточно разнородные и разнообразные.

Тетраплоидные виды (Рис. 2) также имеют разнородные геномы. Образцы *A. barbata* (AB) из разных частей ареала имеют схожий, но не единый геном. *A. magna* (AC) состоит из нескольких субгеномов, каждому из которых родственен геном *A. insularis* (AC?), вероятно это подтверждает ранее высказанные гипотезы о геномной конституции *A. insularis*. Геном *A. agadiriana* (AB) хорошо отличается от прочих и не несет в себе варианты других субгеномов.

Гексаплоидные виды (Рис. 3) *A. fatua* (ACD) и *A. ludoviciana* (ACD) из Ирана и Венесуэлы имеют общий геном, состоящий из нескольких вариантов. В то же время, как геном образца *A. ludoviciana* из Израиля родственен геномам *A. occidentalis* и *A. sterilis*. *A. occidentalis* и *A. sterilis* из разных частей ареала образуют общность субгеномов.

При сравнении геномов диплоидных и гексаплоидных видов (Рис. 4) оказалось, что геномы диплоидов достаточно далеко отстоят от геномов гексаплоидов. Это может быть связано с тем, что внутри геномов полиплоидов происходят процессы изогенизации последовательностей ITS в полиплоидном геномном наборе (концертной эволюции), в результате которой субгеномы претерпевают так называемое усреднение, то есть становятся более похожими друг на друга, а не на предполагаемых предков (согласно модели эволюции повторенных генов «рождение-и-смерть» (Родионов и др., 2016)).

Таким образом, данное исследование методом секвенирования нового поколения (NGS) на платформе Illumina показало более высокое разнообразие и разнородность геномов диплоидных видов рода по сравнению с тетраплоидными и гексаплоидными видами. У гексаплоидных видов были обнаружены общие варианты геномов между *A. ludoviciana* (ACD) и *A. fatua* (ACD), при этом вариантов геномов диплоидных видов у них обнаружено не было.

Мы проанализировали геномную конституцию различных диплоидных видов с геномом C: *Avena clauda* (Cp 2x), *A. pilosa* (Cp 2x), *A. ventricosa* (Cv 2x), *A. bruhnsiana* (Cv? 2x), а также в анализ был взят тетраплоидный вид с C-геномом *A. macrostachya* (CmCm 4x). Среди отобранных для анализа диплоидов особое положение занимает *A. bruhnsiana*, в настоящее время в естественных условиях давно не встречающийся. *A. bruhnsiana* произрастал на Апшеронском полуострове (Азербайджан) у прибрежных песков в ненарушенных растительных сообществах с *Avena ventricosa* Balansa ex Cosson на сероземно-бурых почвах. По своим морфологическим характеристикам *A. bruhnsiana* близок к виду *A. ventricosa* (Malzew, 1930; Tzvelev, 1976; Loskutov, Rines, 2011). Сходство этих видов настолько велико, что многие ботаники рассматривают *A. bruhnsiana* в качестве синонима *A. ventricosa* (Ladizinsky, Zohari, 1971; Tzvelev, 1976; Akhalkatsi et al., 2018). Один из первых исследователей систематики рода *Avena* А.И. Мальцев (1930) объединил *A. ventricosa* и *A. bruhnsiana* в один вид *A. ventricosa* Balansa с двумя подвидами, ssp. *ventricosa* и ssp. *bruhnsiana*. По А.И. Мальцеву (1930), Т. Rajhathy (1971), С.Г. Мусаеву и Я.М. Исаеву (1971) различия между этими видами/подвидами, в целом, сводятся к тому, что *A. bruhnsiana* крупнее в размерных характеристиках. Оба вида, *A. ventricosa* и *A. bruhnsiana* – диплоиды с $2n=14$ (Emme, 1930; Ladizinsky, Zohary, 1967; Rajhathy, 1971; Loskutov, Abramova, 2006). По морфологии хромосом, их поведению в мейозе при межвидовой гибридизации и по особенностям дифференциального окрашивания хромосом *A. ventricosa* имеет геном C-типа (Thomas, 1970; Rajhathy 1971; Loskutov, Avramova, 2006; Badaeva et al., 2010). Кариотипы *A. ventricosa* из разных точек ареала одинаковы (Rajhathy, 1971), а среди растений, собранных на Апшеронском полуострове, определяемых по морфологии как *A. bruhnsiana*, по крайней мере часть имеет метацентричную пару хромосом, замещившую исходную субтелоцентричную пару (Rajhathy, 1971; Loskutov, Abramova, 2006). Виды *A. ventricosa* (Cv) и *A. bruhnsiana* при скрещивании с видами другой группы генома C, Cp, *A. clauda* и *A. pilosa* не давали фертильного потомства, что указывает на их репродуктивную изолированность (Nishiyama., Yabuno, 1975). Геномы Cp и Cv различаются по количеству спутничных хромосом: в геномах Cp две пары спутничных хромосом, в геномах Cv – одна. Высказывалось предположение, что *A. bruhnsiana*, возможно, является межвидовым гибридом (Мусаев, Исаев, 1971). Для точного исследования филогенетического положения редкого эндемика *A. bruhnsiana* среди родственных видов мы провели локус-специфичное секвенирование нового поколения (NGS) на платформе Illumina.

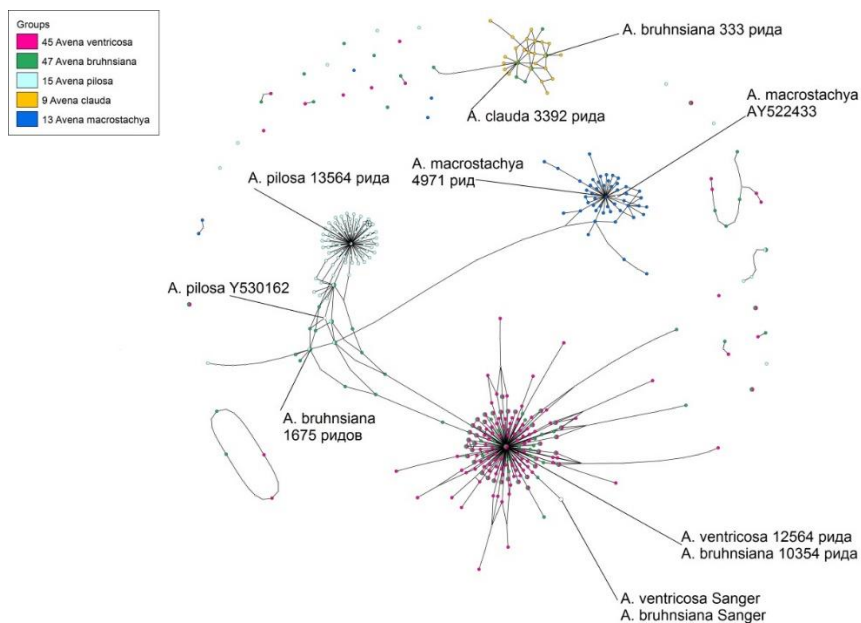


Рисунок 1. Схема, отражающая родство субгеномов диплоидных видов овса с геномами Ср, Сv и тетраплоида (*A. macrostachya*) с геномом CmCm, построенная с помощью программы TCS 2.1.

По данным NGS *A. ventricosa* имеет единственный субгеном (Cv), общий с большей частью генома *A. bruhsiana* (около 20 тысяч прочтений – ридов). Наибольшее количество ридов (12564) *A. ventricosa* едины с самым массовым вариантом последовательностей у *A. bruhsiana* (10354 ридов). Но, кроме этого, у редкого эндемика *A. bruhsiana* есть и два других варианта субгенома (риботипа), не представленные у *A. ventricosa*. Второй по массовости ридов субгеном *A. ventricosa* (1675 ридов) един с некоторыми ридовыми вариантами второго субгенома *A. pilosa* (Ср-геном). Помимо этого варианта есть еще некоторые варианты субгенома, близкие, но не единые со вторым субгеномом *A. pilosa*. Третий, минорный риботип *A. bruhsiana* (333 ридов) неожиданно оказался общим с геномом *A. clauda* (Ср-геном). При этом сам *A. clauda* по результатам анализа NGS ITS1 не родственен остальным видам овса с С-геномами, кроме *A. bruhsiana*, формируя уникальный довольно мономорфный риботип, не связанный с другими. Вероятно, геном *A. clauda* можно охарактеризовать как Сс, явно отличающийся от Ср и Сv.

Avena macrostachya (CmCm, 4x), вид неясного филогенетического положения, эндемик Атласских гор (Алжир), является единственным многолетником в роде *Avena*. По морфологическим признакам его можно отнести к наиболее примитивно организованным овсам (Мальцев, 1930). Некоторые исследователи даже относили его к другому роду, *Helictotrichon* (Holub, 1958). Тем не менее, мы видим его родство, пусть и отдаленное, именно с видами *Avena*, имеющими С-геномы, а именно с *A. pilosa* (Ср-геном) и вторым субгеномом *A. bruhsiana* (Сv-геном). Наши исследования подтверждают мнение ряда систематиков, выделявших ранее *A. bruhsiana* в отдельный таксон, а также показывают автотетраплоидность *A. macrostachya*, который образует достаточно мономорфную группу по данным NGS.

Также мы исследовали группу диплоидных овсов с А-геномами. Варианты генома А различаются по числу акроцентрических хромосом (Fobjanski et al., 1990; Fominaya et al., 1995; Leggett, Markhand, 1995; Лоскутов, 2007). Геномы Ap, Al, Ad видоспецифичны, в то время как As встречается у нескольких диплоидных видов (*A. atlantica*, *A. strigosa* и *A. wiestii*) – эти виды с геномом As имеют разные ареалы, но в эксперименте скрещиваются,

потомство их фертильно (Ladizinsky, Zohary, 1971; Ladizinsky, 2012; Лоскутов, 2001). Сравнение нескольких тысяч SNPs в геномах As этих трех видов показывает лишь незначительные вариации – это генетически близкие эколого-географические расы (Maughan et al., 2019). В предыдущих исследованиях при анализе последовательностей ITS1–гена 5.8S рРНК–ITS2, полученных методом Сэнгера, виды овсов с А-геномами не давали филогенетической картины с хорошим разрешением, объединяясь в единую кладу без разделения на субклады (Тюпа и др., 2009). Вероятно, при прямом секвенировании воспроизводилась самая массовая последовательность в геноме, подверженная внутригеномным процессам конверсии. Поэтому, менее представленные в геноме варианты последовательностей даже у диплоидов не выявлялись. Виды *Avena* с А-геномами это преимущественно средиземноморские и ближневосточные растения (Древнее Средиземноморье), как правило, сорные и сорно-рудеральные. Важно и то, что виды *Avena* с А-геномом являются донорами А-генома для полиплоидных видов, включая широкораспространенный в культуре *A. sativa* L. (Лоскутов, 2007).

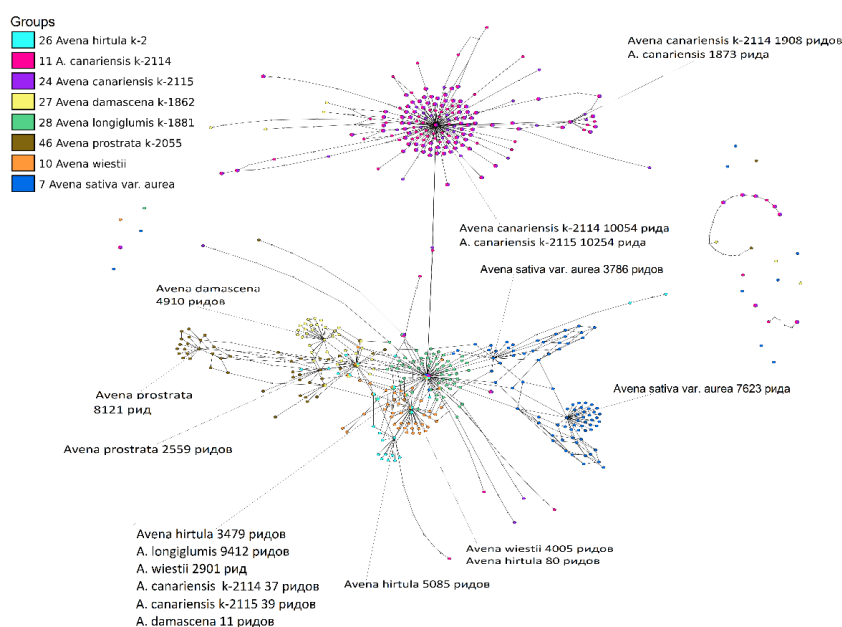


Рисунок 2. Схема, отражающая родство субгеномов диплоидных видов овса с геномами Ad, Al, Ap, и As, а также гексаплоидного *A. sativa* var. *aurea* с геномом ACD, построенная с помощью программы TCS 2.1.

По результатам анализа последовательностей ITS1 методом NGS (Рис. 2) мы видим, что диплоидный *A. canariensis* занимает обособленное положение, лишь очень отдаленно и слабо связанное с остальными диплоидами – носителями А-генома. *A. canariensis* – это эндемик Канарских островов (Испания). Вид характеризуется своеобразным морфотипом – осыпается целыми колосками, имеет нижнюю цветковую чешую с двумя зубцами, что не является характерным признаком диплоидных видов (Baum et al., 1973), а также обладает лодиклами и эпибластом гексаплоидного культурного типа, совершенно не характерными для диплоидных видов (Лоскутов, 2007). *A. canariensis* формирует два не сильно различающихся субгенома, но при этом его минорные последовательности (37 и 39 ридов) неожиданно оказываются едиными с субгеномами *A. hirtula* и *A. wiestii* (As) и самым

массовым субгеномом *A. longiglumis* (Al-геном, 9412 ридов). Ранее *A. canariensis* считался донором А-генома для полиплоидных видов, в частности, широкораспространенного в культуре *A. sativa* (Лоскутов, 2007). На Рис. 2 видно, что последовательности гексаплоидного *A. sativa* var. *aurea* (геном ACD) формируют два довольно крупных субгенома (7623 ридов и 3786 ридов), отдаленно связанных с *A. longiglumis*. При этом, представляется весьма любопытным, что в общем пуле гаплотипов диплоидных видов с разными вариациями А- генома обнаружился минорный компонент (всего 129 ридов) *A. sativa* var. *aurea*. По результатам наших исследований представляется маловероятным, что геном узкого эндемика *A. canariensis* вошел в геномный состав гораздо более широко распространенных видов овса. Возможно также, что его геном трансформировался в процессе эволюции и дал начало другим вариантам А-генома, что доказывает наличие очень малой фракции ридов ITS-последовательностей *A. canariensis* в As и Al-геномах (37 и 39 ридов). Остальные диплоидные виды с А-геномом формируют общую сеть, в которой можно различить некоторые субгеномы. Так, обособленный субгеном формирует *A. longiglumis* (Al-геном, 9412 ридов). С этим субгеномом едины вторые по массовости последовательности *A. hirtula* (3479 ридов), *A. wiestii* (2901 рид), а также минорная фракция *A. damascena* (11 ридов). Наиболее массовые последовательности остальных видов, *A. damascena* (Ad, 4910 ридов), *A. hirtula* (As, 5085 ридов), *A. wiestii* (As, 4005 ридов), *A. prostrata* (Ap, 8121 рид), тоже образуют отдельные субгеномы. Но при этом в каждый из таких субгеномов могут входить минорные варианты других видов с А-геномом. Редкий эндемичный вид *A. prostrata*, отличающийся очень небольшими размерами нижних цветковых чешуй и всего растения, формирует помимо основного еще и второй субгеном, связанный со вторыми по массовости последовательностями *A. hirtula* (As, 2959 ридов), *A. wiestii* (As, 2589 ридов), *A. damascena* (Ad, 3939 ридов). Можно предположить, что, скорее всего, носители Ad, Al, Ap и As-геномов являются в действительности не первичными диплоидами, а палеополиплоидами, некогда прошедшими раунды интенсивной межвидовой гибридизации в регионе максимального биоразнообразия *Avena* (Средиземноморье), причем сами варианты А-геномов, не выявляемые секвенированием по методу Сэнгера, подтверждаются при анализе методом NGS.

Кроме этого, были исследованы виды – важные сельскохозяйственные культуры: *A. sativa*, *A. byzanthina* и межвидовые гибриды – разной степени проработанности.

Гибрид Г/О-511 PR-4Н8-99/08 (*A. macrostachya*) × (K-15193, АЗВМ0584 (голозерный) × ((K-2076, CAV 6880 (*A. murphyi*) × (K-13593, Nackhafer (голозерный) × K-11663, Caesar, голозерный)F2)F2 × ((((*A. fatua* × K-13984, Rhiannon, голозерный)F1 × K-11663, Caesar, голозерный)F2 × (K-12133, Rhea, голозерный × K-14024, Tibor, голозерный)F5)F2 × ((K-7439, местный, голозерный × K-11663, Caesar, голозерный)F2 × (K-14228, Бег 3, голозерный × K-1932, местный, голозерный)F2)F3)F6)F3)F3)F3).

У этого гибрида (Рис. 4) со сложной родословной одним из родительских таксонов в свою очередь выступает гибрид *A. sativa* × *A. macrostachya* PR-4Н8-99/08, у которого, согласно данным цитогенетики (Муравенко, неопубл.) полностью потерян Sm-геном (Рис. 3). Именно поэтому мы не видим никакого участия последовательностей *A. macrostachya* в геномной композиции рассматриваемого гибрида, в то время как в остальных изученных гибридах *A. sativa* × *A. macrostachya* (PR-4Н8-28/08, PR-4Н8-32/08, PR-4Н8-60-08, PR-4Н8-50-08) последовательности *A. macrostachya* присутствуют.

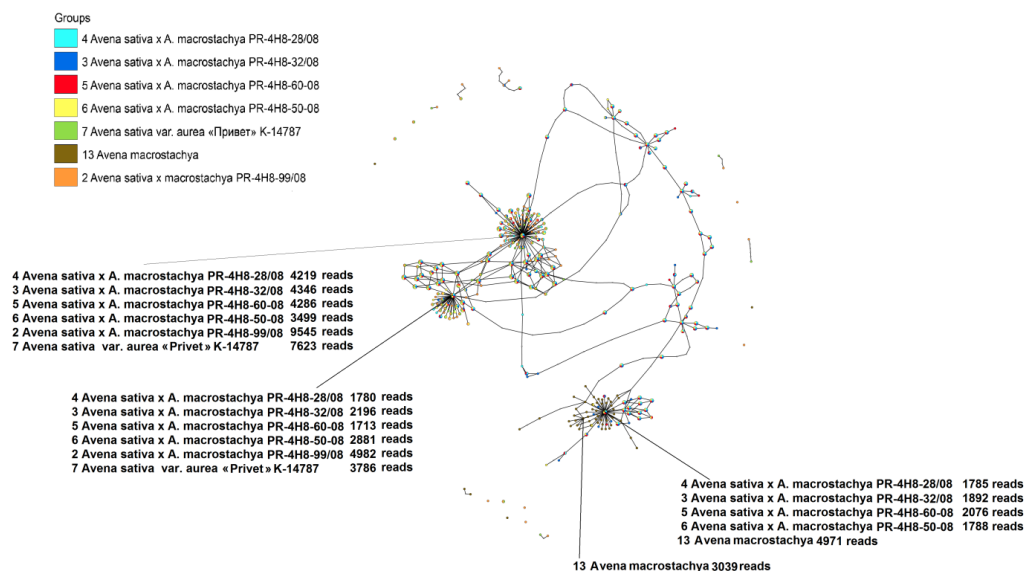


Рис. 3. Схема, отражающая родство субгеномов гибридов *A. sativa* × *A. macrostachya*, построенная с помощью программы TCS 2.1.

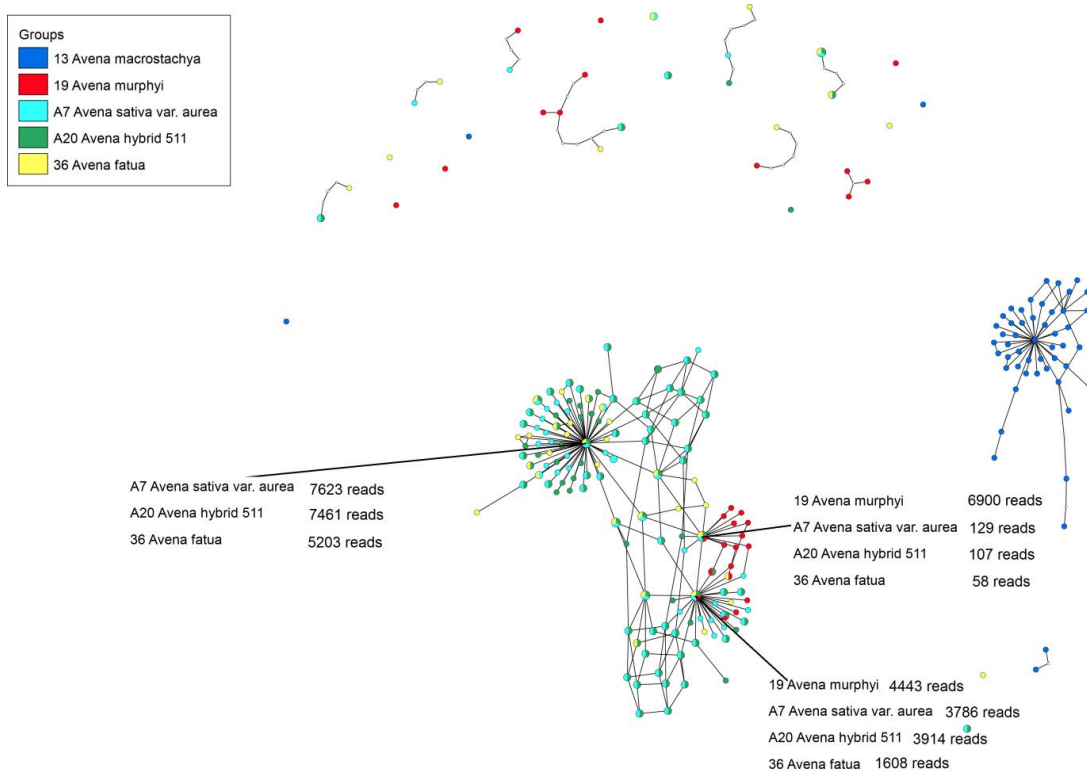


Рис. 4. Схема, отражающая родство субгеномов сложного гибрида Г/О-511, построенная с помощью программы TCS 2.1.

Наиболее массовый субгеном этого гибрида (7461 рид) унаследован от *A. sativa*, субгеном которого представлен 7623 ридами. Также он является общим с самым массовым субгеномом *A. fatua* (5203 рида). Всего в рассматриваемом гибриде имеются 2 наиболее крупных субгенома. Второй по представленности субгеном (3914 ридов) – общий со вторыми по частоте субгеномами *A. sativa* и *A. fatua* (3786 и 1608 ридов), а также со вторым по массовости последовательностей субгеномом *A. murphyi* (4443 рида). Самый частый

вариант субгенома *A. murphyi* (6900 ридов) соответствует минорному компоненту *A. sativa* (129 ридов), *A. fatua* (58 ридов) и рассматриваемого нами гибрида 511 (107 ридов).

Гибрид Г/О-513 К-15075, Flamingsprofi (*A. byzantina*) × ((((*Avena fatua* × К-13984, Rhiannon, голозерный)F1 × К-11663, Caesar, голозерный)F2 × (К-12133, Rhea, голозерный × К-14024, Tibor, голозерный)F5)F2 × ((К-7439, местный, голозерный × К-11663, Caesar, голозерный)F2 × (К-14228, Бег 3, голозерный × К-1932, местный, голозерный)F2)F3)F11)F4 × ((К-14226, Бег 1, голозерный × *A. sterilis*)F5 × (К-2076, CAV 6880 (*A. murphyi*) × (К-13593, Nackhafer (голозерный) × К-11663, Caesar, голозерный)F4)F4)F1.

Этот гибрид со сложной родословной на схеме (Рис. 5) представлен тремя субгеномами, наиболее массовыми из которых являются два. Самый массовый субгеном гибрида № 513 (7623 рида) соответствует *A. sativa* (ACD-геном, 6х), который представлен 5670 ридами и *A. byzantina* (9935 ридов). Второй по массовости прочтений субгеном гибрида № 513 (3510 ридов) аналогичен второму по количеству ридов субгеному *A. sativa* (3786 ридов), а также вторым по массовости субгеномам родительских таксонов: *A. sterilis* (ACD, 6х, 1820 ридов), *A. magna* (AC, 4х, 3598 ридов), *A. murphyi* (AC, 4х, 4443 рида) и третьему по массовости геному *A. byzantina* (2619 ридов). Третий субгеном гибрида № 513 – минорный, там всего 86 ридов, он соответствует наиболее массовому субгеному родительских таксонов *A. magna* (5720 ридов) и *A. murphyi* (6900 ридов), также этот субгеном соответствует минорному компоненту *A. sativa* (129 ридов) и *A. byzantina* (260 ридов). Самый представленный субгеном *A. sterilis* (6138 ридов) на схеме формирует отдельную группу и не входит в геномный набор изученного гибрида. Также совершенно отдельную группу формирует второй субгеном *A. byzantina* (2716 ридов).

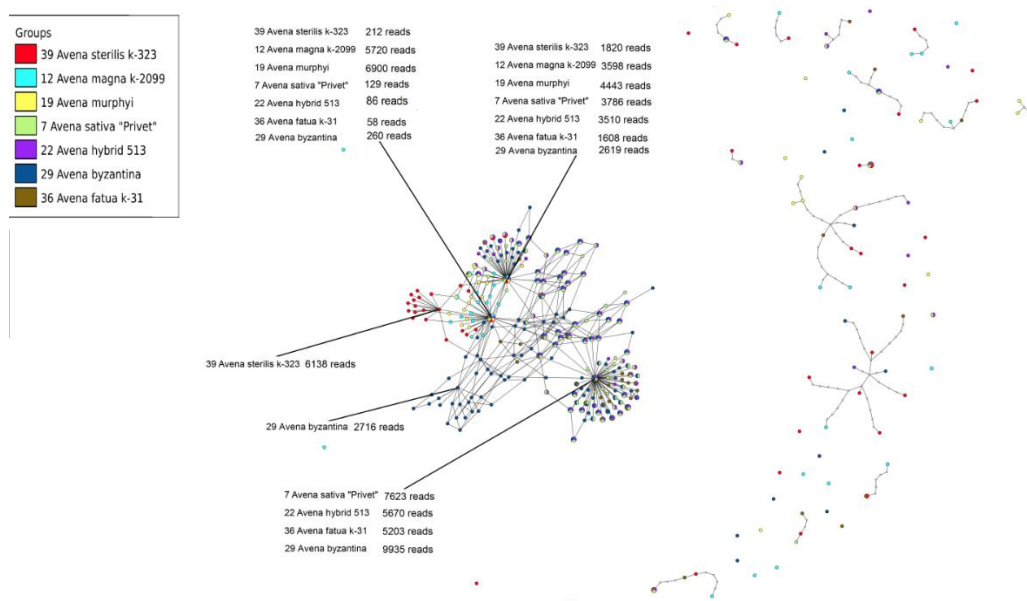


Рис. 5. Схема, отражающая родство субгеномов сложного гибрида Г/О-513, построенная с помощью программы TCS 2.1.

Гибрид Г/О-522 К-1926, D-54 (*A. barbata*) × (К-2076, CAV 6880 (*A. murphyi*) × (К-13593, Nackhafer (голозерный) × К-11663, Caesar, голозерный) (ЛГ16)) F7) F2 × PR-4Н8-99/08 (*A. macrostachya*).

PR-4Н8-99/08 *Avena sativa* × *A. macrostachya* – в гибриде отсутствуют последовательности ITS1 *A. macrostachya* (Cm-геном). Это полностью соответствует цитогенетическим данным (Муравенко и др. – неопубл.), согласно которым в этом гибриде утеряны хромосомы Cm-субгеномов (в C-субгеноме пары хромосом несут минорные сайты 35S рДНК). Вероятно, на представленных схемах субгеномной композиции эти минорные

сайты выявляются в виде отдельно лежащих вариантов последовательностей с крайне небольшим числом ридов (вне главной схемы). Всего мы выявили 3 главных субгенома гибрида № 522 (Рис. 6). Самые представленные в нем последовательности соответствуют геному *A. sativa* (ACD-геном, 6х, 6299 ридов). Второй по численности прочтений (ридов) субгеном гибрида № 522 (4306 ридов) – общий со вторым субгеномом *A. sativa* (3786 ридов), а также со вторым по количеству ридов субгеномом *A. murphyi* (АС, 4х, 4443 рида). Третий субгеном гибрида № 522 является самым малопредставленным (100 ридов), при этом он соответствует самому массовому субгеному одного из родительских таксонов, *A. murphyi* (6900 ридов) и минорному варианту последовательностей еще одного родительского таксона, *A. barbata* (AB, 4х, 235 ридов). Интересно отметить, что наиболее массовые последовательности *A. barbata* (4894 рида) формируют отдельно расположенный на схеме субгеном и не представлены в геномном наборе гибрида. Можно сказать, что подавляющее большинство ITS1-последовательностей из генома *A. barbata* элиминировались в геномном наборе гибрида № 522, вероятно, как следствие «геномного шока» при отдаленном скрещивании.

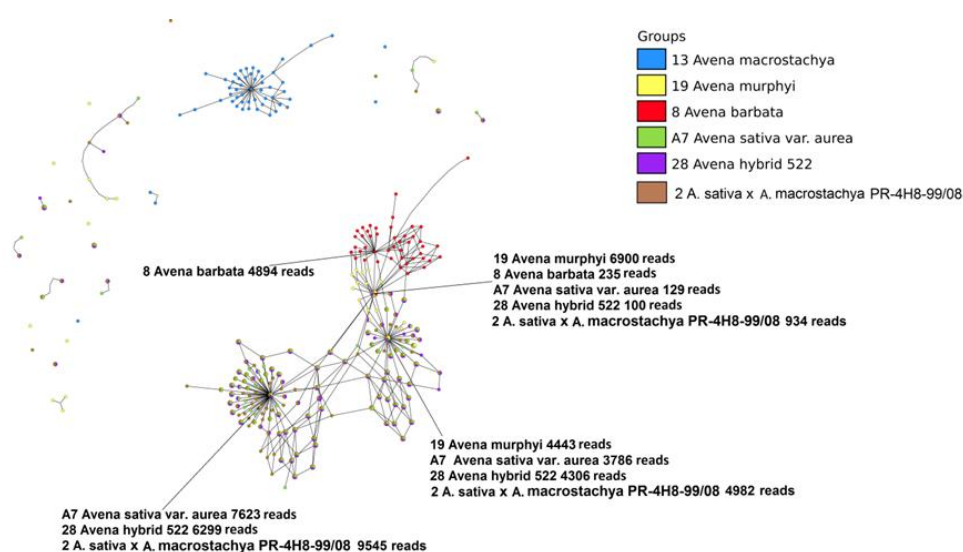


Рис. 6. Схема, отражающая родство субгеномов сложного гибрида Г/О-522, построенная с помощью программы TCS 2.1.

Предварительный вывод из изучения геномной конституции сложных гибридов овса ($ACD \times AC \times AB$) состоит в том, что наиболее представленные (массовые по количеству прочтений маркерных последовательностей) субгеномы у них наследуются от гексаплоидного *A. sativa*. Другие родительские таксоны, такие как *A. byzantina*, *A. sterilis*, *A. magna*, *A. murphyi*, как правило, формируют второй по представленности риботип у гибридов, в который входят также минорные компоненты *A. sativa* (вероятно, оставшиеся от общих предков). Наиболее массовые типы последовательностей у *A. barbata*, *A. byzantina*, *A. sterilis*, *A. magna*, *A. murphyi* часто образуют собственные субгеномы, в которые не входят последовательности гибридов. Вероятно, это связано со значительной специализацией этих родительских таксонов, достаточно далеко отстоящих друг от друга и от группы *A. sativa* на филогенетическом древе (Лоскутов, 2007), в результате чего количество последовательностей этих видов в геномном наборе гибридов закономерно градуально уменьшается (см. Родионов, 2013; Родионов и др., 2017; 2020). Особенно ярко это проявляется при искусственной гибридизации гексаплоидов группы *A. sativa* (*A. sativa* и *A. fatua*, ACD-геном) и *A. macrostachya* (гомотетраплоид CmCm), по ряду признаков считавшимся представителем отдельного рода *Helictotrichon*. В таких гибридах по нашим

данным иногда происходит утрата целых хромосом *A. macrostachya*, из-за чего мы совсем не видим и сиквенсов рДНК этого вида. В результате гибрид *A. sativa* × *A. macrostachya*, используемый для дальнейшей гибридизации с другими видами овса, на самом деле выступает в следующих поколениях гибридизации как “чистый” *A. sativa*.

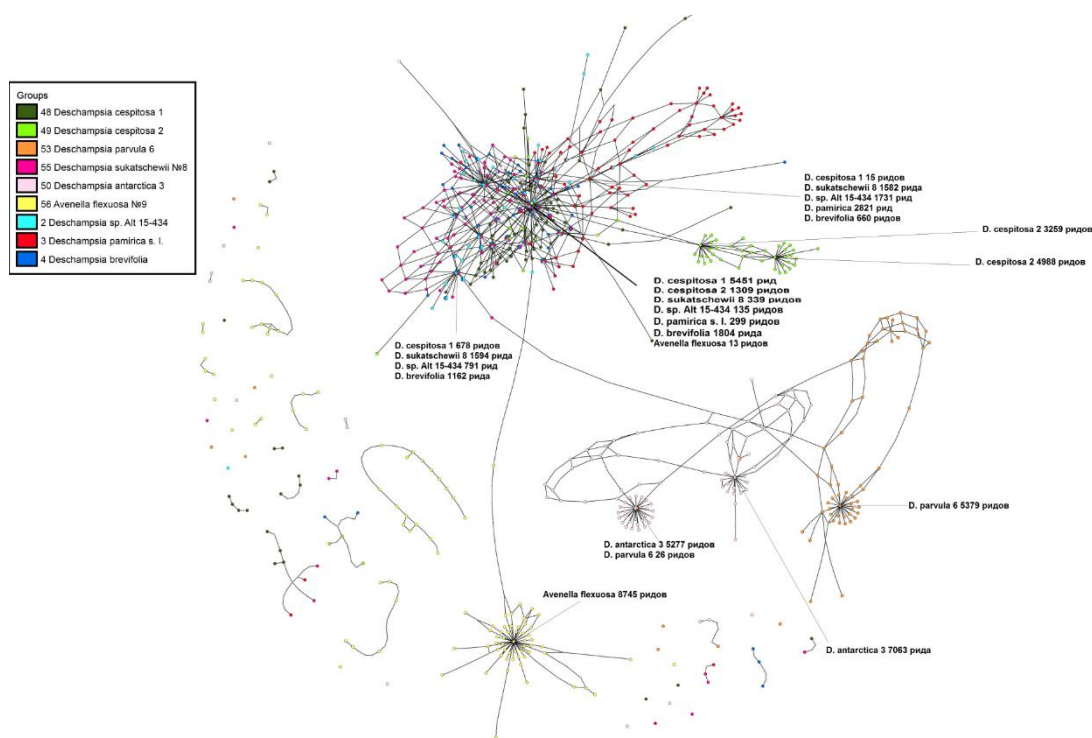


Рис. 7. Схема, отражающая родство субгеномов аллополиплоидных видов родов *Deschampsia* и *Avenella*, построенная с помощью программы TCS 2.

В трибу *Aveneae* Dumort. входит также широкораспространенный в Евразии род *Deschampsia* P. Beauv. – щучка. Этот род входит в подтрибу *Airinae* Fr., отличающуюся уникальным филогенетическим положением. По материнской линии (по хлоропластным генам) виды этой подтрибы, и *Deschampsia*, в частности, близки к р. *Festuca* L. из подтрибы *Loliinae* Dumort., триба *Poeae* R. Br. s. str. (“*Poeae* chloroplast type” – Soreng et al., 2015). А по ядерным генам они группируются вместе с трибой *Aveneae* (Quintanar et al., 2007). К тому же род щучка (*Deschampsia*) отличается необычным для триб *Aveneae* и *Poeae* хромосомным числом $2n=26$ и чрезвычайной полиморфностью входящих в этот род видов. Общий объем рода составляет около 60 видов, произрастающих практически во всех внетропических странах обоих полушарий (Цвелев, Пробатова, 2019). При этом вполне возможно, что видов *Deschampsia* гораздо больше из-за происходящих в роде процессов гибридизации. Наши недавние исследования (не опубликовано) выявили случаи межполюсной дизъюнкции среди видов щучек, например, близкое родство арктических и субантарктических видов. Данный феномен пока не может быть точно объяснен, но он обнаружен у довольно большого числа видов растений. Возможно, он связан с большей древностью изучаемых таксонов, чем предполагалось раньше. Данный род считается одним из самых интересных и загадочных среди овсовых злаков, поэтому мы исследовали виды этого рода методом NGS, причем взяли в анализ и субантарктические виды.

Виды группы родства *D. cespitosa*, включая *D. cespitosa* (L.) P. Beauv. из Великобритании и Аляски, алтайские *D. pamirica* Roshev., *D. sukatschewii* (Popl.) Roshev., образец Alt 15-434 (вид неясного родства, требующий специального изучения), родственный арктическим видам и *D. brevifolia* R. Br. из Российской Арктики формируют общую сеть гаплотипов с общими наиболее представленными последовательностями. Но

любопытно, что образец *D. cespitosa* из Аляски обладает еще одним, отдельным от не-антарктических видов *Deschampsia* субгеномом, в который входят как раз самые представленные ITS1-сиквенсы (8247 ридов). Еще один отдельный субгеном выявляется у *D. pamirica*, собранной в Российском Горном Алтае, хотя в него входит минорный компонент общего геномного пула. Аляскинская *D. cespitosa* вероятно проходила в своем эволюционном развитии этапы интрогрессивной гибридизации, накапливая геномы от родственных таксонов. Происхождение субгенома *D. cespitosa* из Аляски, отличающегося от субгеномов остальных щучек, требует дальнейшего изучения. *D. pamirica* – среднеазиатский вид, встречающийся в Горном Алтае на северной границе ареала. Возможно, это обстоятельство обусловило более интенсивные процессы аллополиплоидизации и гибридизации этого вида, причем отличающийся от остальных комплекс риботипов может быть как раз среднеазиатского происхождения.

Кроме видов *Deschampsia* мы включили в анализ и *Avenella flexuosa* (L.) Drejer (ранее *Deschampsia flexuosa* (L.) Trin.) – вид из близкого рода. До недавнего времени в систематике оставался нерешенным вопрос о целесообразности выделения *Avenella* Bluff ex Drejer в отдельный род. На Рис. 7 мы видим, что самые представленные по числу ридов риботипы (8745 ридов) *A. flexuosa* принадлежат к единому субгеному, весьма отдаленному от видов рода *Deschampsia*. Это в целом подтверждает выводы J. Chiapella (2007) о разделении двух родов, полученные на основании анализа сиквенсов, прочитанных методом Сэнгера. Но среди пула ITS1-последовательностей в образце *A. flexuosa* (Великобритания) совершенно неожиданно оказались минорные компоненты (около 20 ридов), родственные видам *Deschampsia cespitosa* s. l. Это может говорить о том, что генетические барьеры межродовой гибридизации, вероятно, не такие строгие. В то же время очень незначительное количество сиквенсов *Deschampsia* в геномном наборе *Avenella flexuosa* может указывать на то, что гибридизация прошла в очень далеком прошлом, возможно, еще до разделения этих родов. Интересно также, что взятые в анализ субантарктические щучки *Deschampsia antarctica* E. Desv. и *D. parvula* (Hook. f.) Desv. (Фолклендские о-ва) образуют совершенно уникальные группы, лишь отдаленно связанные с риботипами *Deschampsia* умеренного пояса, но каждый из видов в своем наборе содержит по два хорошо отличающихся друг от друга субгенома.

Наши результаты расширяют знания об эволюции геномов среди представителей трибы овсовых злаков (*Aveneae*), а также имеют значение для сохранения и использования диких видов овса в селекции.

Все впервые полученные экспериментальные данные, подтверждают высокую эффективность метаболомного подхода, при котором характеристика мирового генофонда рода *Avena* L. по биохимическим признакам, обеспечивает возможность одновременной оценки генетического разнообразия овса с привлечением широкого диапазона различных групп соединений. Это в свою очередь открывает широкие возможности использования комплексного метаболомного подхода с молекулярно-генетическими исследованиями как для решения фундаментальных проблем устойчивости видов и форм овса к биотическим и абиотическим стрессовым факторам среды, для познания процессов, сопровождающих эволюционные, филогенетические и селекционные преобразования видов, так в прикладных целях для поиска и выделения форм, отвечающих по комплексу признаков современным требованиям здорового питания, либо имеющих высокое содержание одного ценного питательного соединения или группы родственных соединений.

Значимость полученных при реализации Научного проекта результатов для достижения заявленных целей и результатов Комплексного проекта

В нашем исследовании, проведенном ранее, была показана связь между рядом свободных аминокислот, ацилглицеролами и др. и содержанием токсинов и ДНК возбудителей фузариоза (Лоскутов и др., 2016). В настоящем исследовании нами выделены образцы, обладающие высокой концентрацией биологически активных веществ, таких как фенольные соединения (оксибензойные и паракумаровые кислоты, фенолы), свободные аминокислоты (триптофан, тирозин, фенилаланин), участвующие в биосинтезе фитогормонов и др. Изучая промежуточные метаболиты (β -амирин, фитостеролы, мевалонная кислота, гликозиды) в синтезе таких факторов иммунитета как авенацины, можно предварительно оценить стрессоустойчивость отдельно взятого образца. Например, по накоплению β -амирина в зерновках, как предшественника авенацинов. Накопление гликозидов также характеризует стрессоустойчивость образца т.к. по их содержанию можно оценить возможность накопления биологически активных вторичных метаболитов.

Изучение культурных видов овса с различным уровнем плоидности показало потенциал ранее неиспользованных в селекции диплоидного и тетраплоидного видов. Установлено, что диплоидный вид *A. strigosa* отличался повышенным содержанием органических кислот (глюкуроновая, яблочная и глюконовая кислоты), свободных аминокислот (глицин, аспарагин и аспарагиновая кислота), многоатомных спиртов (глицин, дульцитол и аспарагин), моносахаров (глюкоза а и в), олигосахаров (тураноза), жирных кислот (пальмитиновая и вакценовая) и фенолсодержащих соединений (бензойная кислота). Тетраплоидный вид *A. abyssinica* выделялся повышенным содержанием органической галактуроновой кислоты, пипеколиновой аминокислоты, глицерола, сахаров гулозы и сахарозы, линолевой жирной кислоты, ацилглицеролов МАГ1 16:0 и никотиновой кислоты. Местные сорта гексаплоидного вида *A. sativa* имели повышенные показатели по метилмалоновой, азелаиновой и фталевой органическим кислотам, многоатомным спиртам (глицеролу, дульцитолу, мио-инозитолу и сорбитолу), ситостеролу, сахарам (арабинозе, мальтозе, мелибиозе), вакценовой, олетновой и линолевой жирным кислотам, ацилглицеролам МАГ-218:2, фенолсодержащему соединению кемпферолу.

Определяя широкий спектр метаболитов, мы имеем уникальную возможность предварительно отобрать образцы, содержащие в достаточном количестве наиболее значимые для формирования адекватного иммунного ответа соединения (фенольные соединения, свободные аминокислоты, многоатомные спирты, сахара), выделить образцы наиболее перспективные для селекции на устойчивость к практически значимым болезням.

Изучение сортов овса с разным уровнем селекционной проработки показал, что российские местные, примитивные селекционные и селекционные сорта отличаются более высокими показателями органических кислот по сравнению с французскими. Местные и селекционные французские сорта по сравнению с российскими содержат больше многоатомных спиртов в зерновках. Все российские сорта овса содержат больше моносахаров, а селекционные российские и олигосахаров по сравнению с французскими. Зерновки местных и примитивных селекционных российских сортов отличаются более высокими показателями нуклеозидов. Весь выделенный материал с характеристиками полевого изучения будет разослан в селекцентры РФ для использования его при создании новых высокопродуктивных и высококачественных сортов овса.

Проведенная предварительная оценка биохимических показателей культурных и диких представителей двух родственных родов *Avena* и *Deschampsia* дает возможность выделить из изученной выборки образцы *Deschampsia altaica* как имеющие по сравнению с другими образцами, взятыми в исследование, высокие показатели сухого веса, каротинов, каротиноидов, β каротина, суммы хлорофиллов, хлорофилла α и β , а также олигосахаров. *A. macrostachya* с высокими показателями суммы сахаров, олигосахаров, общей кислотности и антоцианов. *A. barbata* – показателями суммы сахаров (за счет высокого содержания моносахаров в зеленой массе) и общей кислотности. Высокие значения аскорбиновой кислоты и хлорофилла α наблюдались в зеленой массе *A. wiestii*. Для более полной оценки хозяйственно ценных признаков диких родичей овса *A. sativa* и выделения из изучаемой выборки источников, перспективных для улучшения хозяйственно-ценных показателей культурного овса необходимо провести более детальное изучение их биохимического состава, в том числе метаболомного профиля.

Методической основой примененного нами для выполнения работ по проекту метаболомного подхода является газо-жидкостная хроматографии, в сочетании с масс-спектрометрией на базе хроматографа «Agilent 6850» с квадрупольным масс-селективным детектором Agilent фирмы Аджилент (США). Используемая нами приборная база по своей аналитической разрешающей способности соответствует современному мировому уровню работ в данной области.

В качестве аргументов, подтверждающих высокую разрешающую способность подхода, укажем, что полученный в ходе исследований метаболомный профиль зерновок овса в среднем состоял из порядка 300 компонентов, из которых идентифицировано 107. Последние представляли группы соединений: 28 органических кислот, 18 свободных аминокислот, нуклеозиды (аденозин, уридин), 13 жирных кислот, ацилглицеролы (АГ) (моноацилглицеролы: МАГ-1 C16:0, МАГ-1 C18:0, МАГ-2 C18:3, МАГ-2 C18:2, диацилглицерол – ДАГ), 15 многоатомных спиртов, в том числе четыре фитостерола, 10 фенольных соединений (ФС), моно- и олигосахара (10 и 6, соответственно). Полученные метаболомные профили зерновок овса представляют в настоящее время максимально полную по представленности определенных метаболитов биохимическую характеристику исследуемого генотипа овса.

Метаболомный подход к решению фундаментальных и прикладных вопросов устойчивости сортов овса к биотическим и абиотическим стрессовым факторам среды обеспечивает надежность идентификации метаболитов, статистическую достоверность количественной оценки, выявленной в ходе исследований изменчивости в ответ на воздействие стрессовых факторов среды, включая различия в количественной и качественной изменчивости (в составе и содержании метаболитов, см. выше) у устойчивых и восприимчивых форм овса. Выявлены метаболиты – моноацилглицеролы (МАГ 16:0, МАГ-2 18:2) предположительно связанные с формированием устойчивости овса к биотическим и абиотическим факторам среды.

Понимание фундаментальных процессов, происходящих в организме растения в ходе селекции или окультуривания зависит от методического уровня используемого подхода. В настоящее время наибольшие возможности достижения успеха в данном направлении связаны с метаболомикой. Выявление метаболитов, наличие которых и их содержание зависит от степени селекционной проработки объекта, от принадлежности к дикой форме до высокоспециализированного интенсивного типа сорта – наиболее информативный и современный подход. Эволюционная изменчивость характерна и для многих других соединений, практическая значимость которых не столь очевидна, поскольку они могут представлять собой промежуточные соединения метаболических циклов, имеющих прикладную направленность.

При проведении молекулярно-генетического исследования диких видов рода *Avena* с разным уровнем пloidности были использованы новейшие методы секвенирования (Illumina), что позволило подойти к решению ряда филогенетических проблем: получить сиквенсы маркерных последовательностей («ДНК-штрихкодов») от всех вариантов предковых таксонов в геноме аллополиплоида, включая даже такие минорные компоненты, которые не выявляются или трудно выявляются путем клонирования. С его помощью был получен весь пул маркерных последовательностей (как правило, это последовательности ITS1 или ITS2 ядерного генома), соответствующих всем предполагаемым предковым таксонам. В качестве ДНК-штрихкодов ядерных геномов аллополиплоидов использовали внутренние транскрибируемые спейсеры генов 45S рПНК последовательности – наиболее эффективный «штрих-код» ядерного генома (Hollongsworth et al., 2011; Wang et al., 2015). Использование NGS-секвенирования позволило выявить рДНК предковых видов даже тогда, когда большая часть генов одного из родителей была утрачена (Song et al., 2014; Родионов и др., 2016).

Предварительные данные показали, что при сравнении геномов диплоидных и гексаплоидных диких видов рода *Avena* оказалось, что геномы диплоидов достаточно далеко отстоят от геномов гексаплоидных видов. Это может быть связано с тем, что внутри геномов полиплоидов происходят процессы так называемой «концертной» (согласованной) эволюции, в результате которой субгеномы претерпевают усреднение – становятся более похожими друг на друга, а не на предполагаемых предков, то есть происходит изогенизация последовательностей ITS в полиплоидном геномном наборе (согласно модели эволюции повторенных генов «рождение-и-смерть» (Родионов и др., 2016)).

Таким образом, данное исследование методом секвенирования нового поколения (NGS) на платформе Illumina показало более высокое разнообразие и разнородность геномов диплоидных видов рода по сравнению с тетраплоидными и гексаплоидными видами. У гексаплоидных видов были обнаружены общие варианты геномов между *A. ludoviciana* (ACD) и *A. fatua* (ACD), при этом вариантов геномов диплоидных видов у них обнаружено не было.

Вставить кратко результаты 2020 г. по овсу и по *Deschampsia*

Все впервые полученные экспериментальные данные, подтверждают высокую эффективность комплексного метаболомного подхода с молекулярно-генетическим исследованиями, при котором характеристика мирового генофонда рода *Avena* L. по биохимическим признакам, обеспечивает возможность одновременной оценки генетического разнообразия овса с привлечением широкого диапазона различных групп соединений, как для решения фундаментальных проблем эволюции, так и селекционных в прикладных целях для поиска и выделения форм, отвечающих по комплексу признаков современным требованиям здорового питания.

Участие в научных мероприятиях по тематике Научного проекта за период, на который был предоставлен грант (каждое мероприятие с новой строки, указать названия мероприятий и тип доклада)

Конференция – Foodlife: Генетические ресурсы растений и здоровое питание: потенциал зерновых культур. 2018. С-Петербург. Россия. Секционный доклад

Международная конференция – 1st International Conference of Wheat Landraces FOR HEALTHY FOOD SYSTEMS. Bologna, Italy, 2018. Пленарный доклад, член организационного комитета.

Международная конференция – 7th Baltic Genetics Congress. Riga, Latvia. October 24-27, 2018. Секционный доклад.

Международная конференция – «Хлеба будущего: геномика, генетика, селекция» в честь 125-летия ВИР в рамках Международного конгресса «VIII Съезда ВОГиС», 18-22.06.2019, Санкт-Петербург, Россия. Пленарный доклад, со-председатель организационного комитета.

Международная конференция – VIII Съезд Вавиловского общества генетиков и селекционеров (ВОГиС). Санкт-Петербург, Россия. 2019. Два секционных доклада.

Международная конференция – «Оптимизация селекционного процесса – фактор стабилизации и роста продукции растениеводства Сибири», Красноярск, Россия. Секционный доклад.

Международная конференция – 48-е Комаровские чтения. «Инновации и традиции в современной ботанике». Санкт-Петербург, 2019. Пленарный доклад.

Международная конференция – PlantGen 2019. Fifth Int. Conference Plant Genetics, Genomics, Bioinformatics, and Biotechnology. Novosibirsk, Russia. 2019. Секционный доклад.

Международная конференция – IV Всероссийский съезд по защите растений с международным участием «Фитосанитарные технологии в обеспечении независимости и конкурентноспособности АПК России» 9-11 сентября 2019 С-Петербург. Россия. Секционный доклад.

Международная конференция – International Conference on Wheat Diversity and Human Health «Wheat Health 2019». Istanbul, Turkey. 2019. Секционный доклад.

Международная конференция – «125 лет прикладной ботаники в России» 25 - 28 ноября 2019, С-Петербург. Россия. Два пленарный доклада, член организационного комитета.