

# ИДЕНТИФИКАЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКОГО РАЗНООБРАЗИЯ КУЛЬТУРНЫХ РАСТЕНИЙ И ИХ ДИКИХ РОДИЧЕЙ ДЛЯ РЕШЕНИЯ ФУНДАМЕНТАЛЬНЫХ И ПРИКЛАДНЫХ ПРОБЛЕМ

Научная статья  
УДК 633.13:577.2  
DOI: 10.30901/2227-8834-2025-1-191-201



## Изучение полиморфизма гена *Cs1F6*, ассоциированного с биосинтезом $\beta$ -D-глюканов, у образцов диплоидного овса *Avena strigosa* Schreb. коллекции ВИР

Н. А. Швачко<sup>1</sup>, Т. В. Семилет<sup>1</sup>, В. С. Попов<sup>1</sup>, Е. В. Блинова<sup>1</sup>, И. Г. Лоскутов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, Санкт-Петербург, Россия

<sup>2</sup> Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

Автор, ответственный за переписку: Татьяна Вячеславовна Семилет, t.semilet@vir.nw.ru

**Актуальность.** Овес является одной из самых распространенных и важных зерновых культур в мировом сельскохозяйственном производстве. Поиск новых высокоурожайных и высококачественных генотипов продолжает оставаться актуальным, особенно в условиях глобальной тенденции изменения климата, когда большинство местных сортов овса могут стать экономически неэффективными.

**Материалы и методы.** Материалом для данного исследования послужили 50 местных сортов диплоидного культурного вида овса *Avena strigosa* Schreb. из коллекции ВИР, имеющих разнообразное географическое происхождение. Материал изучался в условиях научно-производственной базы «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» в 2023–2024 гг. В результате изучения определены главные хозяйственно ценные признаки и биохимические свойства зерновок. Полевое изучение коллекции овса проводили на основе методических указаний по изучению коллекции ВИР, биохимические показатели определяли по общепринятым методикам. У контрастных образцов овса выполнены молекулярно-генетические исследования (изолирование ДНК, постановка полимеразной цепной реакции и секвенирование по методу Сэнгера). Проведен анализ аллельного состояния генов, ассоциированных с биосинтезом  $\beta$ -глюканов.

**Результаты и заключение.** Приведены данные исследования содержания растворимых полисахаридов  $\beta$ -глюканов у образцов *A. strigosa* коллекции ВИР. Изучен биохимический состав зерновок диплоидного овса и определено процентное содержание  $\beta$ -глюканов. С помощью современных молекулярно-генетических методов исследования проведено изучение ключевого гена биосинтеза данной группы веществ – *Cs1F6*. Секвенирование по методу Сэнгера кодирующей части гена не выявило перестроек в последовательности нуклеотидов гена.

**Ключевые слова:** овес песчаный, генотипирование, молекулярные маркеры, анализ *in silico*, растворимые полисахариды

**Благодарности:** исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (№ 23-76-00005, <https://rscf.ru/project/23-76-00005/>).

Авторы благодарят рецензентов за вклад в экспертную оценку этой работы.

**Для цитирования:** Швачко Н.А., Семилет Т.В., Попов В.С., Блинова Е.В., Лоскутов И.Г. Изучение полиморфизма гена *Cs1F6*, ассоциированного с биосинтезом  $\beta$ -D-глюканов, у образцов диплоидного овса *Avena strigosa* Schreb. коллекции ВИР. *Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции*. 2025;186(1):191-201. DOI: 10.30901/2227-8834-2025-1-191-201

# IDENTIFICATION OF THE DIVERSITY OF CULTIVATED PLANTS AND THEIR WILD RELATIVES FOR SOLVING FUNDAMENTAL AND APPLIED PROBLEMS

Original article

DOI: 10.30901/2227-8834-2025-1-191-201

## Studying polymorphism of the gene *CsIF6* associated with $\beta$ -D-glucan biosynthesis in diploid oat accessions of *Avena strigosa* Schreb. from the VIR collection

Nataliya A. Shvachko<sup>1</sup>, Tatyana V. Semilet<sup>1</sup>, Vitaliy S. Popov<sup>1</sup>, Elena V. Blinova<sup>1</sup>, Igor G. Loskutov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, St. Petersburg, Russia

<sup>2</sup> St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

**Corresponding author:** Tatyana V. Semilet, t.semilet@vir.nw.ru

**Background.** Oat is one of the most widespread and important cereal crops in the global agricultural production. Searching for new high-yielding and high-quality genotypes remains relevant, especially in the context of the global trend of climate change, when most local oat varieties may become economically ineffective.

**Materials and methods.** The material for this study included 50 local varieties of the diploid cultivated oat species *Avena strigosa* Schreb. from the VIR collection, having diverse geographical origins. The material was studied under the conditions of Pushkin and Pavlovsk Laboratories of VIR in 2023–2024. As a result of the study, main valuable agronomic traits and biochemical properties of grains were identified. The field testing of the oat collection was carried out on the basis of the guidelines for the study of the VIR collection; biochemical indicators were assessed using conventional techniques. Molecular genetic research methods (DNA isolation, polymerase chain reaction, and Sanger sequencing) were applied to contrasting oat accessions. The allelic state of the genes associated with the biosynthesis of  $\beta$ -glucans was analyzed.

**Results and conclusion.** The data are presented on the content of  $\beta$ -glucans, a group of soluble polysaccharides, in *A. strigosa* accessions from the VIR collection. The biochemical composition of diploid oat grains was studied, and the percentage of  $\beta$ -glucans was calculated. Using modern molecular genetic research methods, the allelic state of the key gene for the biosynthesis of this group of compounds, *CsIF6*, was identified. Sanger sequencing of the gene's coding part did not reveal any rearrangements in the nucleotide sequence of this gene.

**Keywords:** bristle oat, genotyping, molecular markers, *in silico* analysis, soluble polysaccharides

**Acknowledgments:** the study was supported by a grant from the Russian Science Foundation (No. 23-76-00005, <https://rscf.ru/project/23-76-00005/>).

The authors thank the reviewers for their contribution to the peer review of this work.

**For citation:** Shvachko N.A., Semilet T.V., Popov V.S., Blinova E.V., Loskutov I.G. Studying polymorphism of the gene *CsIF6* associated with  $\beta$ -D-glucan biosynthesis in diploid oat accessions of *Avena strigosa* Schreb. from the VIR collection. *Proceedings on Applied Botany, Genetics and Breeding*. 2025;186(1):191-201. DOI: 10.30901/2227-8834-2025-1-191-201

## Введение

Для формирования высокой урожайности растений необходимо создание адаптивных сортов с высоким потенциалом продуктивности и качества. Успешное и эффективное решение этих проблем, стоящих перед селекцией, возможно лишь при наличии соответствующего генотипированного исходного материала. Большое значение здесь приобретает выделение и создание источников и доноров хозяйственно ценных признаков и тщательность изучения компонентов для гибридизации с использованием методов генетики, биохимии и молекулярной биологии (Loskutov, Rines, 2011). До сих пор потенциал ряда культур, особенно зерновых, в отношении компонентного состава получаемых продуктов не до конца исчерпан, недостаточно используется в перерабатывающей промышленности (Toole et al., 2012). При том что такая зерновая культура, как овес, обладает большим количеством биохимических компонентов, имеющих диетические и лечебные свойства (Redaelli et al., 2013). Кроме белка, зерно овса богато другими химическими соединениями, в частности жирами, которые отличаются хорошей усвояемостью организмом, обладая сбалансированным жирнокислотным составом (Shvachko et al., 2021). Вязкость овсяных и ячменных отваров обусловлена наличием в зерне повышенного количества  $\beta$ -глюканов, которые относятся к пищевым волокнам и благотворно влияют на важные функции желудочно-кишечного тракта, широко используются в пищевой промышленности для диетических и лечебных целей (Redaelli et al., 2009). Во все времена человек возделывал зерновые культуры, богатые питательными веществами, незаменимыми при сбалансированном рационе. Особо важное значение имеют растворимые полисахариды. Многие из этих соединений представляют собой мономеры D-глюкозы, связанные линейно или разветвленные через  $\alpha$ - или  $\beta$ -гликозидные связи.  $\beta$ -глюканы являются ценными функциональными полисахаридами, распространенными в природе. В большом количестве данные вещества содержатся в клеточных стенках грибов, дрожжей, бактерий и зерновых культур. Благодаря таким уникальным свойствам, как растворимость в воде, вязкость, молекулярная масса и др., они широко используются в различных пищевых продуктах, а также в медицине для улучшения здоровья человека (Lante et al., 2023; Noorbakhsh Varnosfaderani et al., 2024). Содержащиеся в зерновках  $\beta$ -глюканы имеют схожую молекулярную структуру, но они отличаются друг от друга наличием и числом связей, соотношением между  $\beta$ -(1-4) и  $\beta$ -(1-3), размером молекул, а также соотношением целлотриозильных и целлотетраозильных звеньев (Hazen et al., 2002; Izydorczyk, Dexter, 2008). Среди зерновых культур больше всего полисахаридов содержится в ячмене и овсе (Lante et al., 2023; Sushytskyi et al., 2023). У овса, в отличие от ячменя, растворимые полисахариды содержатся в толстых клеточных стенках эндосперма. Содержание  $\beta$ -глюканов варьирует у образцов рода *Avena* L. с разной ploidy: в диплоидном овсе значения колеблются от 2,85% до 6,77%, в тетраплоидном – от 3,58% до 5,12%, а в гексаплоидных видах овса – 2,88–5,90% (Redaelli et al., 2013). По данным В. С. Попова с соавторами (Popov et al., 2022), среднее содержание  $\beta$ -D-глюканов у образцов *A. sativa* L. из коллекции ВИР составляет 3,60%, у *A. byzantine* K. Koch – 3,40%, *A. abyssinica* Hochst. – 2,46%, *A. strigosa* Schreb. – 2,97%, а разброс изученных показателей набора из 50 представителей рода *Avena* варьировал от 3 до 5%.

Механизм биосинтеза  $\beta$ -глюканов овса остается до конца не исследованным в связи с различной ploidy и большим размером генома. На сегодняшний день изучены (1,3)(1,4)- $\beta$ -D-глюканы (mixed-linkage glucans, MLG). Они представляют собой линейные полисахариды, состоящие из мономерных  $\beta$ -D-глюкопиранозильных остатков, связанных через их атомы C(O)3 и C(O)4 (Zhang et al., 2021). Одно из семейств генов, ассоциированных с биосинтезом растворимых полисахаридов, – целлюлозо-синтаза-подобные гены *Csl* (*Cellulose synthase-like*). Jing Zhang с соавторами (Zhang et al., 2021) изучили гены *Csl*, последовательности которых приведены в базах данных GenBank (NCBI): *AsCslF3* (accession number: MG543996), *AsCslF4* (MG543997), *AsCslF6* (MG543998), *AsCslF8* (MG543999), *AsCslF9* (MG544000), *AsCslH* (HQ128579) и *AsCslJ* (MK905204). Гены *Csl* ассоциированы с накоплением MLG в разных органах растений (корень, стебель, лист) в зависимости от условий окружающей среды (содержания влаги и уровня освещенности) (Havrlentová et al., 2023). Среди указанных выше генов наиболее изучена роль гена *CslF6* в биосинтезе 1,3- $\beta$ -глюканов у зерновых на разных стадиях развития (Burton et al., 2008; Vega-Sánchez et al., 2012). Стоит отметить, что уровень экспрессии гена *CslF6* остается постоянным на разных стадиях развития зерновок овса (Havrlentová et al., 2023).

В настоящей работе представлены результаты изучения кодирующей части гена *CslF6* у образцов диплоидного культурного вида овса *A. strigosa* из мировой коллекции ВИР, различающихся по содержанию  $\beta$ -глюканов.

## Материал и методы

Материалом для данного исследования послужили 50 местных образцов диплоидного культурного вида овса *A. strigosa* из коллекции ВИР, имеющих разнообразное географическое происхождение. Коллекция *A. strigosa* представлена тремя подвидами: *A. strigosa* subsp. *strigosa* (Schreb.) Thell. (овес щетинистый, или песчаный) с узким длинным зерном, *A. strigosa* subsp. *brevis* Husn. (овес песчаный короткий) и *A. strigosa* subsp. *nudibrevis* (Vavilov) Kobyl. et Rod. (овес песчаный голозерный) (Loskutov, 2007). Морфологически данный вид отличается раскидистой или полужатой (редко – сжатой) одностронней метелкой с двух-трехцветковыми (реже одноцветковыми) колосками. Стебли прямостоячие с голыми узлами. Зерно мелкое, длинное и узкое, преимущественно темной окраски, или короткое, широкое, белое (Rodionova et al., 1994). Материал изучался в полевых условиях научно-технической базы (НПБ) «Пушкинские и Павловские лаборатории ВИР» в 2023–2024 гг. В результате изучения определены главные хозяйственно ценные признаки образцов и биохимические свойства зерновок.

Для анализа аллельного состояния гена *CslF6* у образцов диплоидного вида овса *A. strigosa* ( $2n = 14$ ) мировой коллекции ВИР выбрали 8 из 50 изученных местных образцов, контрастных по содержанию в зерновке  $\beta$ -глюканов (табл. 1).

Полевое изучение образцов овса проводили на основе методических указаний по изучению коллекции ВИР (Loskutov et al., 2012).

Биохимические показатели устанавливали по общепринятым методикам и рассчитывали на сухое вещество (Ermaikov et al., 1987). Содержание белка определяли по методу Кьельдаля на приборе UDK 159 Velp Scientifica (Италия). Содержание белка рассчитывали по азоту (коэффициент перерасчета – 5,7). Определение содержания

Таблица 1. Образцы *Avena strigosa* Schreb., использованные в исследованииTable 1. The *Avena strigosa* Schreb. accessions used in the evaluation

№ по каталогу ВИР	Происхождение	Подвид и разновидность <i>Avena strigosa</i> Schreb.	Название образца	Особенность
5199	Испания	subsp. <i>strigosa</i> var. <i>strigosa</i>	Местный	Зерновка пленчатая, удлиненная, цветковая чешуя серого цвета
9286	Украина	subsp. <i>strigosa</i> var. <i>strigosa</i>	Местный	Зерновка пленчатая, удлиненная, цветковая чешуя серого цвета
2167	Германия	subsp. <i>brevis</i> var. <i>semiglabra</i>	Местный	Зерновка пленчатая, короткая, цветковая чешуя серого цвета
4480	Великобритания	subsp. <i>brevis</i> var. <i>candida</i>	Местный	Зерновка пленчатая, короткая, цветковая чешуя белого цвета
5278	Португалия	subsp. <i>brevis</i> var. <i>nigricance</i>	Местный	Зерновка пленчатая, короткая, цветковая чешуя черного цвета
5288	Португалия	subsp. <i>brevis</i> var. <i>candida</i>	Местный	Зерновка пленчатая, короткая, цветковая чешуя белого цвета
4968	Великобритания	subsp. <i>nudibrevis</i>	Pilcorn Oat	Зерновка голая
14674	из Турции	subsp. <i>nudibrevis</i>	Kleiner Nackhafer	Зерновка голая

крахмала проводили методом Эверса с помощью автоматического поляриметра SAC-i (ATAGO, Япония) (коэффициент перерасчета – 181,3). Содержание масла определяли по массе сухого обезжиренного остатка в аппарате Сокслета, применяя в качестве растворителя петролейный эфир (40–70°C). Для определения содержания β-глюканов использовали весовой метод (Popov et al., 2021).

Поиск аннотированных последовательностей гена *CslF6* у *A. strigosa* осуществлялся в базах данных NCBI (National Center for Biotechnology Information, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Разработка праймеров и подбор условий для ПЦР выполнены с помощью программы Integrated DNA (<https://www.idtdna.com/pages/tools/oligoanalyzer>). Программа UGENE v.40.0 (Okonechnikov et al., 2012) позволила провести сравнение нуклеотидных последовательностей, полученных после секвенирования по Сэнгеру, с референсной из базы данных. Выравнивание нуклеотидных и аминокислотных последовательностей осуществляли с использованием программы MULTALIN v5.4.1.

Экстракция ДНК осуществлялась с помощью набора «ДНК-Экстран-3» («Синтол», Россия) согласно протоколу производителя. Проверка качества и количества выделенной ДНК проводилась с помощью спектрофотометрии на приборе NanoPhotometer NanoDrop (Implen, Germany) и методом электрофореза в горизонтальном агарозном геле (2%). Ступенчатая ПЦР (touchdown PCR) подразумевала увеличение температуры отжига выше оптимума (60°C) и уменьшение с каждым циклом на 0,5°C. Результаты амплификации анализировали с помощью электрофореза в горизонтальном агарозном геле. Элюция продуктов амплификации осуществлялась из реакционной смеси набором компании diaGene (Россия) согласно протоколу производителя. Полученные фрагменты ДНК секвенировали методом Сэнгера с использованием набора реагентов Thermo Fisher для секвенирования BigDye Terminator 3.1 Cycle Sequencing Kit на генетическом анализаторе 3500xl (Applied Biosystems®, США).

## Результаты

### Полевое изучение

Полевое изучение набора образцов песчаного овса показало разнообразие этих образцов по хозяйственно ценным признакам, по продолжительности межфазных периодов и периода вегетации в целом. Образец к-4480 из Великобритании характеризовался ускоренным прохождением фаз развития. В целом за два года изучения продолжительность вегетации у него составила 80 дней. Дольше других созревали образцы к-9286 из Украины (в среднем 85 дней) и образцы голозерного подвида к-4968 и к-14674 (87 дней).

По высоте растений образцы относятся к высокорослым (130 см и выше), за исключением образца к-14674 из Турции со средней высотой 120 см. Максимальная высота растений отмечена у местного образца (к-2167) из Германии – 172 см. Устойчивость к полеганию у образцов была различной. Неустойчивость к полеганию наблюдалась у образца к-9286 из Украины, а также у голозерных образцов к-4968 из Великобритании и к-14674 из Турции. В средней степени полегали образцы к-2167, к-4480, к-5199, к-5278. Устойчивым к полеганию за два года изучения был образец к-5288 из Португалии.

Оценка устойчивости к болезням на естественном инфекционном фоне показала, что все образцы не поражаются корончатой ржавчиной и в слабой степени поражаются вирусом желтой карликовости ячменя (ВЖКЯ).

Большинство образцов имели длинную метелку (больше 19 см). Метелка средней длины была у образцов к-9286 и к-14674. Большое число зерен в метелке (больше 60 шт.) отмечалось у образцов к-2167, к-4480, к-5199, к-4968 и к-14674. Образцы характеризовались низкими показателями массы зерна с метелки. Наиболее продуктивная метелка была у образца к-2167 из Германии – 1,76 г.

Диплоидный вид *A. strigosa* отличается от других видов культурного овса более мелким зерном. Самое мел-

кое зерно было у образцов голозерного подвида subsp. *nudibrevis* (к-4968) – 8,1 г, а также к-14674 – 8,3 г. Наиболее крупное зерно (21,9 г) за два года изучения отмечено у образца к-5288 из Португалии, относящегося к подвиду subsp. *brevis*. По массе зерна с 1 м<sup>2</sup> выделился образец к-5199 из Испании. В среднем за два года его урожайность составила 327 г/м<sup>2</sup>. Самая низкая урожайность наблюдалась у голозерных образцов (94–101 г/м<sup>2</sup>). У остальных образцов получено от 141 г/м<sup>2</sup> до 284 г/м<sup>2</sup>.

#### Биохимический анализ

Биохимическое изучение набора образцов песчаного овса показало их разнообразие по содержанию биохимических компонентов. В результате биохимического анализа выявлены образцы *A. strigosa* с высоким содержанием белка (выше 17%), крахмала (выше 53%), масла (выше 7%) и β-глюканов (выше 5%). К высокобелковым образцам относятся к-5278 из Португалии и образцы голозерного подвида – subsp. *nudibrevis* – к-4968 из Великобритании и к-14674 из Турции. Голозерные образцы отличались от других высоким содержанием крахмала (53,6% и 53,87%), масла (7,05 и 5,27%) и β-глюканов (5,25 и 5,75%) (табл. 2).

#### Анализ *in silico*

При проведении анализа *in silico* осуществлялось изучение структуры гена *CslF6* и конструирование праймеров к кодирующей части. В качестве референсной для гена *CslF6* использовалась последовательность, аннотированная в базе данных NCBI под номером MN53302.1: *Avena strigosa* cultivar PI131641 *cellulose synthase-like F6* (*CslF6*) gene, *CslF6-A* Genome allele, complete cds. Длина размещенной последовательности – 5517 пн, кодирующая часть соответствует диапазонам 31...353, 2009...2753, 3430...5196 и включает в себя три экзона. Зрелой мРНК соответствуют диапазоны < 31...353, 2009...2753, 3430... 5196>.

К кодирующей части гена осуществляли дизайн праймеров для дальнейшего секвенирования по методу Сэнгера и определения аллельного состояния гена у 8 образцов *A. strigosa* коллекции ВИР (табл. 3).

Выделение тотальной ДНК осуществлялось с помощью набора «ДНК-Экстран-3» («Синтол», Россия). После экстракции проводилась проверка препаратов тотальной ДНК на спектрофотометре NanoPhotometer NanoDrop (табл. 4).

На следующем этапе осуществлялась постановка полимеразной цепной реакции с праймерами к гену *CslF6*

Таблица 2. Данные биохимического анализа образцов *Avena strigosa* Schreb.

Table 2. Biochemical analysis data for the *Avena strigosa* Schreb. accessions

№ по каталогу ВИР	Происхождение	Подвид и разновидность <i>Avena strigosa</i> Schreb.	Название образца	Содержание белка, %	Содержание крахмала, %	Содержание масла, %	Содержание β-глюканов, %
5199	Испания	subsp. <i>strigosa</i> var. <i>strigosa</i>	Местный	16,54	44,17	4,04	2,01
9286	Украина	subsp. <i>strigosa</i> var. <i>strigosa</i>	Местный	16,76	41,52	4,38	2,18
2167	Германия	subsp. <i>brevis</i> var. <i>semiglabra</i>	Местный	16,31	44,18	4,36	4,69
4480	Великобритания	subsp. <i>brevis</i> var. <i>candida</i>	Местный	14,89	46,25	4,72	4,52
5278	Португалия	subsp. <i>brevis</i> var. <i>nigricance</i>	Местный	18,06	47,3	4,47	2,34
5288	Португалия	subsp. <i>brevis</i> var. <i>candida</i>	Местный	16,08	43,52	3,86	2,18
4968	Великобритания	subsp. <i>nudibrevis</i>	Pilcorn Oat	17,67	53,6	7,05	5,25
14674	из Турции	subsp. <i>nudibrevis</i>	Kleiner Nackhafer	18,15	53,87	5,27	5,75

Таблица 3. Список праймеров, использованных в работе

Table 3. List of the primers used in the evaluation

Прямой праймер	t отжига, °C	Обратный праймер	t отжига, °C	Продукт, п. о.
CslF6F1-AATGAGGCGCCCGC	56,6	CslF6R1-CGGTAGGGGTAGAGAAGGA	55	284
CslF6F2-GGTGCTGATCTTCGTTCTGCTG	57,9	CslF6R2-TTGCGGTGGTTCTCGGA	56,8	722
CslF6F3-TGCTGCTGAACC ACCCGA	59,8	CslF6R3-AAGAGCCTCTCC GTC AGGTTGA	60	950
CslF6F4-TGACGGAGAGGCTCTTCCA	57,9	CslF6R4-TGCTTGCCTCCTGGACTAT	55,9	781
CslF6F5-CAACCGCATCTTCTCGACG	56,4	CslF6R5-AGCTTGGATGTGAGC TTGAAG	55,3	1011

**Таблица 4. Анализ концентрации ДНК образцов *Avena strigosa* Schreb.****Table 4. DNA content analysis for the *Avena strigosa* Schreb. accessions**

Номер по каталогу ВИР	Концентрация, нг/мкл
1267	104
4480	57,50
5199	14,1
5278	28,25
5288	23,80
9286	22,1
4968	21,55
14674	33,5

(рис. 1). Полученные ампликоны элюированы из реакционной смеси и подготовлены к секвенированию по методу Сэнгера.

Прочтение последовательностей кодирующих частей гена проводилось с праймерами к гену *CsIF6*: *CsIF6F1* / *CsIF6R1* – 1-й экзон (продукт 284); *CsIF6F2* / *CsIF6R2* – 2-й экзон (722 пн); *CsIF6F3* / *CsIF6R3*, *CsIF6F4* / *CsIF6R4*, *CsIF6F5* / *CsIF6R5* – 3-й экзон (рис. 2, 3).

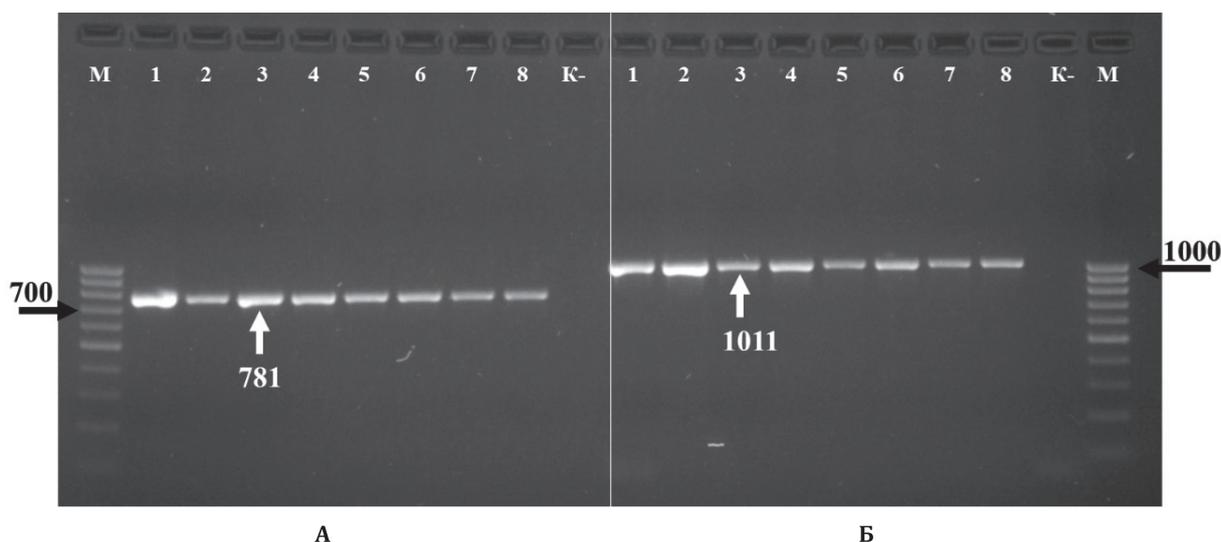
При выравнивании на референсный геном *A. strigosa* (NCBI GeneBank: PI131641) и анализе полученных данных в программе UGENE (см. рис. 2 и 3) не обнаружено мутаций в кодирующей части гена *CsIF6*. Таким образом, можно предположить, что изменение содержания  $\beta$ -глюканов овса связано с изменениями в других генах семейства *Csl*, которые на данный момент остаются не аннотированными.

## Обсуждение результатов

Изучение диплоидного культурного вида овса песчаного показало, что эта забытая культура, имевшая достаточно большие площади посевов в первой половине XX века, обладает рядом интересных хозяйственно ценных признаков и свойств (Rodionova et al., 1994; Loskutov, 2007). Недостаток урожайности из-за малой крупности зерна компенсируется устойчивостью к болезням и уникальными биохимическими показателями: высоким содержанием белка, крахмала, масла и  $\beta$ -глюканов.

Многие исследования направлены на изучение биохимических свойств, в том числе  $\beta$ -D-глюканов, у зерновых культур, так как зерно содержит большое количество этих природных полисахаридов, востребованных в функциональном питании. У овса большая часть  $\beta$ -D-глюканов расположена в толстых клетках субэпидермального слоя зерновки (Sykut-Domańska et al., 2015). Ранее при изучении голозерных и пленчатых образцов было показано, что содержание  $\beta$ -D-глюканов в голозерных формах *A. sativa* выше по сравнению с пленчатым овсом (Redaelli et al., 2009). В. С. Попов с соавторами (Popov et al., 2022) установили, что образцы гексаплоидных видов овса *A. sativa* и *A. byzantina* характеризуются более высоким содержанием  $\beta$ -D-глюканов, чем представители тетраплоидных и диплоидных диких видов. Аллогексаплоидные виды овса ( $2n = 6x = 42$ ; AACDD) являются сложными объектами для молекулярно-генетических исследований из-за сложности организации генома и наличия копий генов, поэтому генетическая регуляция механизмов биосинтеза данной группы веществ остается неизученной.

Гены семейства *Csl* ассоциированы с биосинтезом растворимых полисахаридов. Данное семейство включает в себя гены *CsIA*, *CsIB*, *CsIC*, *CsID*, *CsIE*, *CsIF*, *CsIG*, *CsIH*. Ген *CsIC* кодирует фермент, ассоциированный с синтезом ксилоглюкана. Гены *CsIF*, *CsIH* являются ключевыми



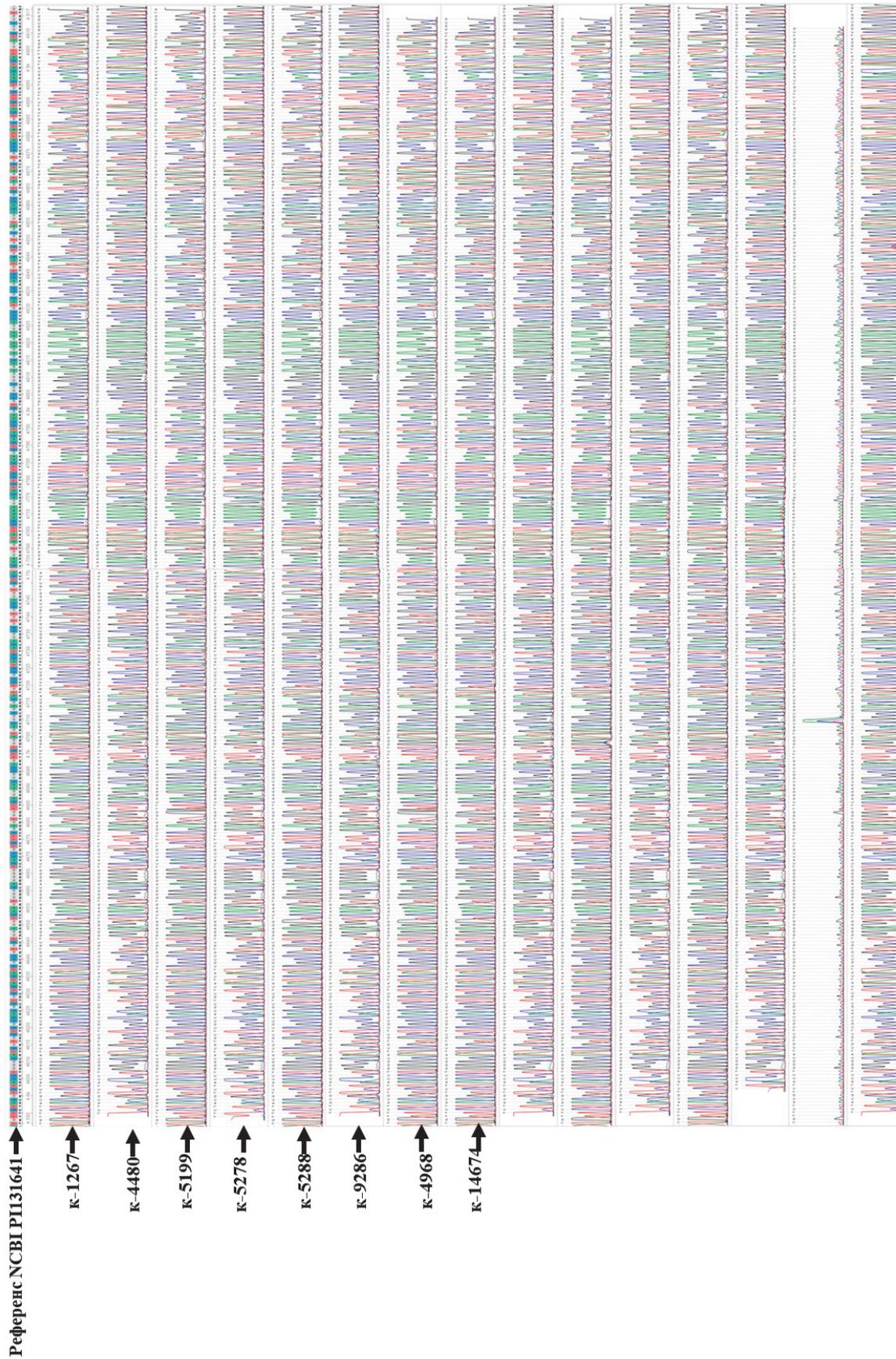
**Рис. 1. Электрофореграммы продуктов амплификации ДНК образцов *Avena strigosa* Schreb. с праймерами к гену *CsIF6*: А – *CsIF6F4* / *CsIF6R4* (781 пн); В – *CsIF6F5* / *CsIF6R5* (1011 пн) (М – маркер молекулярного веса St 100, «Биолабмикс», Россия; образцы овса коллекции ВИР: 1 – к-1267; 2 – к-4480; 3 – к-5199; 4 – к-5278; 5 – к-5288; 6 – к-9286; 7 – к-4968; 8 – к-14674; К – отрицательный контроль)**

**Fig. 1. Electropherograms of DNA amplification products for the *Avena strigosa* Schreb. accessions with primers to the *CsIF6* gene: А – *CsIF6F4* / *CsIF6R4* (781 bp); В – *CsIF6F5* / *CsIF6R5* (1011 bp) (М – molecular weight marker St 100, Biolabmix, Russia; oat accessions from the VIR collection: 1 – к-1267; 2 – к-4480; 3 – к-5199; 4 – к-5278; 5 – к-5288; 6 – к-9286; 7 – к-4968; 8 – к-14674; К – negative control)**



**Рис. 2.** Выравнивание второго экзона гена *CsIF6* образцов *Avena strigosa* Schreb. коллекции ВИР относительно референсной последовательности из базы данных NCBI GeneBank: P1131641

**Fig. 2.** Alignment of the second exon of *CsIF6* in the *Avena strigosa* Schreb. accessions from the VIR collection versus the reference sequence from the NCBI GeneBank: P1131641



**Рис. 3.** Выравнивание фрагмента третьего экзона гена *CsIF6* образцов *Avena strigosa* Schreb. коллекции ВИР относительно референсной последовательности из базы данных NCBI GeneBank: P1131641

**Fig. 3.** Alignment of a fragment of the third exon of *CsIF6* in the *Avena strigosa* Schreb. accessions from the VIR collection versus the reference sequence from the NCBI GeneBank: P1131641

в биосинтезе  $\beta$ -глюканов. На сегодняшний день хорошо изучена и аннотирована последовательность *CsIF6* у овса с различной плоидностью (Richmond, Somerville, 2000; Burton et al., 2006; Farrokhi et al., 2006; Cocuron et al., 2007).

В недавнем исследовании (Zhang et al., 2021) установлено, что на накопление  $\beta$ -D-глюканов в листьях овса влияет интенсивность света. Промоторы регулируют экспрессию гена в зависимости от интенсивности света, и таким образом ген *AsCsIF6* является ключевым в биосинтезе  $\beta$ -D-глюканов. Отмечается повышение содержания данных полисахаридов в ответ на увеличение интенсивности света. Кроме того, авторы при анализе структуры генов выявили консервативные участки *CsIF* не только у образцов овса, но и у других зерновых (рис и ячмень). Филогенетический анализ показал, что гены *CsIF*, *CsIH*, *CsIJ* являются ортологами (Zhang et al., 2021).

В нашем исследовании проводился анализ последовательности гена *CsIF6* у контрастных образцов *A. strigosa* с процентным содержанием растворимых полисахаридов от 2% до 5%. При выравнивании полученных сиквенсов на референсную последовательность перестроек (замен, делеций, вставок) обнаружено не было. На основании полученных данных мы предполагаем, что увеличение содержания  $\beta$ -глюканов ассоциировано с экспрессией других генов – *CsIF* и *CsIH*. Для выявления регуляторной биосинтеза  $\beta$ -глюканов необходимо расширить выборку и проанализировать аллельное состояние данного гена, в том числе и у гексаплоидных образцов овса коллекции ВИР. Выявление аллельных вариантов гена *CsIF6* позволит создавать сорта овса с высоким содержанием полисахаридов и, следовательно, ценными питательными свойствами.

### Заключение

Биохимический анализ образцов *A. strigosa* позволил выявить образцы с высокими показателями: к высокобелковым относится пленчатый образец к-5278 из Португалии и образцы голозерного подвида – subsp. *nudibrevis* – к-4968 из Великобритании и к-14674 из Турции. Эти образцы отличались от других высоким содержанием крахмала (53,6% и 53,87%), масла (7,05 и 5,27%) и  $\beta$ -глюканов (5,25 и 5,75%).

Изучение гена *CsIF6* у восьми контрастных по содержанию  $\beta$ -глюканов образцов овса *A. strigosa* из коллекции ВИР не выявил перестроек в экзонах. К кодирующей части сконструированы праймеры, с которыми осуществлялась постановка секвенирования по методу Сэнгера. Анализ полученных прочтений и сравнение с аннотированной последовательностью в базе данных GeneBank не выявили различий в кодирующих последовательностях гена. На основании этого предполагается, что изменение содержания  $\beta$ -глюканов в зерновке образцов изученного вида связано с изменением функционирования других генов семейства *CsI*, которые еще не изучены. Более подробное изучение механизмов синтеза  $\beta$ -глюканов раскроет важные физиологические особенности культурных растений, которые будут обуславливать их активное применение в разных сферах деятельности человека. Исследование генетической и эпигенетической регуляции  $\beta$ -глюканов позволит не только создавать новые сорта овса с повышенным содержанием растворимых полисахаридов, но и в целом дополнит имеющиеся знания о биологии растений.

### References / Литература

- Burton R.A., Jobling S.A., Harvey A.J., Shirley N.J., Mather D.E., Bacic A. et al. The genetics and transcriptional profiles of the cellulose synthase-like *HvCsIF* gene family in barley. *Plant Physiology*. 2008;146(4):1821-1833. DOI: 10.1104/pp.107.114694
- Burton R.A., Wilson S.M., Hrmova M., Harvey A.J., Shirley N.J., Medhurst A. et al. *Cellulose synthase-like CsIF* genes mediate the synthesis of cell wall (1, 3; 1, 4)-beta-D-glucans. *Science*. 2006;311(5769):1940-1942. DOI: 10.1126/science.1122975
- Cocuron J.C., Lerouxel O., Drakakaki G., Alonso A.P., Liepman A.H., Keegstra K. et al. A gene from the *cellulose synthase-like C* family encodes a beta-1,4 glucan synthase. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2007;104(20):8550-8555. DOI: 10.1073/pnas.0703133104
- Ermakov A.I., Arasimovich V.V., Yarosh N.P., Peruanskiy Yu.V., Lukovnikova G.A., Ikonnikova M.I. Methods of biochemical research in plants (Metody biokhimicheskogo issledovaniya rasteniy). A.I. Ermakov (ed.). 3rd ed. Leningrad: Agropromizdat; 1987. [in Russian] (Ермаков А.И., Арасимович В.В., Ярош Н.П., Перуанский Ю.В., Луковникова Г.А., Иконникова М.И. Методы биохимического исследования растений / под ред. А.И. Ермакова. 3-е изд. Ленинград: Агропромиздат; 1987).
- Farrokhi N., Burton R.A., Brownfield L., Hrmova M., Wilson S.M., Bacic A. et al. Plant cell wall biosynthesis: genetic, biochemical and functional genomics approaches to the identification of key genes. *Plant Biotechnology Journal*. 2006;4(2):145-167. DOI: 10.1111/j.1467-7652.2005.00169.x
- Havrlentová M., Dvořáček V., Jurkaninová L., Gregusová V. Unraveling the potential of  $\beta$ -D-Glucans in *Poales*: from characterization to biosynthesis and factors affecting the content. *Life (Basel)*. 2023;13(6):1387. DOI: 10.3390/life13061387
- Hazen S.P., Scott-Craig J.S., Walton J.D. *Cellulose synthase-like* genes of rice. *Plant Physiology*. 2002;128(2):336-340. DOI: 10.1104/pp.010875
- Integrated DNA Technologies. PrimerQuest Tool: [website]. Available from: <https://eu.idtdna.com/primerquest/home> [accessed Nov. 25, 2024].
- Izydorczyk M.S., Dexter J.E. Barley  $\beta$ -glucans and arabinoxylans: molecular structure, physicochemical properties, and uses in food products – a review. *Food Research International*. 2008;41(9):850-868. DOI: 10.1016/j.foodres.2008.04.001
- Lante A., Canazza E., Tessari P. Beta-glucans of cereals: functional and technological properties. *Nutrients*. 2023;15(9):2124. DOI: 10.3390/nu15092124
- Loskutov I.G. Oat (*Avena L.*). Distribution, systematics, evolution, and breeding value (Oves (*Avena L.*). Распространение, систематика, эволюция и селекционная ценность). Санкт-Петербург: ВИР; 2007. [in Russian] (Лоскутов И.Г. Овес (*Avena L.*). Распространение, систематика, эволюция и селекционная ценность. Санкт-Петербург: ВИР; 2007).
- Loskutov I.G., Kovaleva O.N., Blinova E.V. Guidelines for the study and preservation of the world collection of barley and oats (Metodicheskiye ukazaniya po izucheniyu i sokhraneniyu mirovoy kollektsii yachmenya i ovsa). St. Petersburg: VIR; 2012. [in Russian] (Лоскутов И.Г., Ковалева О.Н., Блинова Е.В. Методические указания по изучению и сохранению мировой коллекции ячменя и овса. Санкт-Петербург: ВИР; 2012).

- Loskutov I.G., Rines H.W. *Avena L.* In: C. Kole (ed.). *Wild Crop Relatives: Genomic and Breeding Resources*. Heidelberg; Berlin: Springer; 2011. p.109-184. DOI: 10.1007/978-3-642-14228-4\_3
- Noorbakhsh Varnosfaderani S.M., Ebrahimzadeh F., Akbari Oryani M., Khalili S., Almasi F., Mosaddeghi Heris R. et al. Potential promising anticancer applications of  $\beta$ -glucans: a review. *Bioscience Reports*. 2024;44(1):BSR20231686. DOI: 10.1042/BSR20231686
- Okonechnikov K., Golosova O., Fursov M.; the UGENE team. Unipro UGENE: a unified bioinformatics toolkit. *Bioinformatics*. 2012;28(8):1166-1167. DOI: 10.1093/bioinformatics/bts091
- Popov V.S., Khoreva V.I., Konarev A.V., Shelenga T.V., Blinova E.V., Malyshev L.L. et al. Evaluating germplasm of cultivated oat species from the VIR collection under the Russian northwest conditions. *Plants (Basel)*. 2022;11(23):3280. DOI: 10.3390/plants11233280
- Popov V.S., Perchuk I.N., Khoreva V.I. A gravimetric method for the quantitative determination of soluble  $\beta$ -glucan content in oat grain. *Plant Biotechnology and Breeding*. 2021;4(1):5-12. [in Russian] (Попов В.С., Перчук И.Н., Хорева В.И. Гравиметрический метод количественного определения растворимых  $\beta$ -глюканов в зерне овса. *Биотехнология и селекция растений*. 2021;4(1):5-12). DOI: 10.30901/2658-6266-2021-1-01
- Redaelli R., Del Frate V., Bellato S., Terracciano G., Ciccoritti R., Germeier C.U. et al. Genetic and environmental variability in total and soluble  $\beta$ -glucan in European oat genotypes. *Journal of Cereal Science*. 2013;57(2):193-199. DOI: 10.1016/j.jcs.2012.09.003
- Redaelli R., Sgrulletta D., Scalfati G., De Stefanis E., Cacciatori P. Naked oats for improving human nutrition: genetic and agronomic variability of grain bioactive components. *Crop Science*. 2009;49(4):1431-1437. DOI: 10.2135/cropsci2008.04.0225
- Richmond T.A., Somerville C.R. The cellulose synthase superfamily. *Plant Physiology*. 2000;124(2):495-498. DOI: 10.1104/pp.124.2.495
- Rodionova N.A., Soldatov V.N., Merezko V.E., Yarosh N.P., Kobylansky V.D. Flora of cultivated plants. Vol. 2, Pt. 3. Oat (Kulturnaya flora. T. 2, ch. 3. Oves). Moscow: Kolos; 1994. [in Russian] (Родионова Н.А., Солдатов В.Н., Мережко В.Е., Ярош Н.П., Кобылянский В.Д. Культурная флора. Т. 2, ч. 3. Овес. Москва: Колос; 1994).
- Shvachko N.A., Loskutov I.G., Semilet T.V., Popov V.S., Kovalova O.N., Konarev A.V. Bioactive components in oat and barley grain as a promising breeding trend for functional food production. *Molecules*. 2021;26(8):2260. DOI: 10.3390/molecules26082260
- Sushytskyi L., Synytsya A., Čopíková J., Lukáč P., Rajsiglová L., Tenti P. et al. Perspectives in the application of high, medium, and low molecular weight oat  $\beta$ -d-glucans in dietary nutrition and food technology – A short overview. *Foods*. 2023;7;12(6):1121. DOI: 10.3390/foods12061121
- Sykut-Domańska E., Rzedzicki Z., Zarzycki P., Sobota A., Błaszczak W. Distribution of (1,3)(1,4)- $\beta$ -D-glucans in grains of Polish oat cultivars and lines (*Avena sativa L.*). *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*. 2015;66(1):51-56. DOI: 10.1515/pjfn-2015-0012
- Toole G.A., Le Gall G., Colquhoun I.J., Drea S., Opanowicz M., Bedö Z. et al. Spectroscopic analysis of diversity in the spatial distribution of arabinoxylan structures in endosperm cell walls of cereal species in the HEALTHGRAIN diversity collection. *Journal of Cereal Science*. 2012;56(2):134-141. DOI: 10.1016/j.jcs.2012.02.016
- Vega-Sánchez M.E., Verherbruggen Y., Christensen U., Chen X., Sharma V., Varanasi P. et al. Loss of *Cellulose synthase-like F6* function affects mixed-linkage glucan deposition, cell wall mechanical properties, and defense responses in vegetative tissues of rice. *Plant Physiology*. 2012;159(1):56-69. DOI: 10.1104/pp.112.195495
- Zhang J., Yan L., Liu M., Guo G., Wu B. Analysis of  $\beta$ -d-glucan biosynthetic genes in oat reveals glucan synthesis regulation by light. *Annals of Botany*. 2021;127(3):371-380. DOI: 10.1093/aob/mcaa185

### Информация об авторах

**Наталья Альбертовна Швачко**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, n.shvachko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1958-5008>

**Татьяна Вячеславовна Семилет**, младший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, t.semilet@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7275-3878>

**Виталий Сергеевич Попов**, кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000, Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, vovovitaly@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3274-7662>

**Елена Владимировна Блинова**, кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, e.blinova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8898-4926>

**Игорь Градиславович Лоскутов**, доктор биологических наук, доцент, главный научный сотрудник, заведующий отделом, Федеральный исследовательский центр Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова, 190000 Россия, Санкт-Петербург, ул. Б. Морская, 42, 44, профессор, Санкт-Петербургский государственный университет, 199034 Россия, Санкт-Петербург, Университетская наб., 7–9, i.loskutov@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9250-7225>

**Information about the authors**

**Nataliya A. Shvachko**, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, n.shvachko@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-1958-5008>

**Tatyana V. Semilet**, Associate Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, t.semilet@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7275-3878>

**Vitaliy S. Popov**, Cand. Sci. (Engineering), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, popovitaly@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-3274-7662>

**Elena V. Blinova**, Cand. Sci. (Agriculture), Senior Researcher, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, e.blinova@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-8898-4926>

**Igor G. Loskutov**, Dr. Sci. (Biology), Professor, Chief Researcher, Head of a Department, N.I. Vavilov All-Russian Institute of Plant Genetic Resources, 42, 44 Bolshaya Morskaya Street, St. Petersburg 190000, Russia, Professor, St. Petersburg State University, 7–9 Universitetskaya Emb., St. Petersburg 199034, Russia, i.loskutov@vir.nw.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9250-7225>

**Вклад авторов:** все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

**Contribution of the authors:** the authors contributed equally to this article.

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interests:** the authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 17.10.2024; одобрена после рецензирования 18.12.2024; принята к публикации 03.02.2025.  
The article was submitted on 17.10.2024; approved after reviewing on 18.12.2024; accepted for publication on 03.02.2025.