

Анна Валерьевна Любимова<sup>1✉</sup>, Дмитрий Иванович Еремин<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>НИИ сельского хозяйства Северного Зауралья – филиал Тюменского научного центра СО РАН, п. Московский, Тюменский р-н, Тюменская обл., Россия

<sup>1</sup>ostapenkoav88@yandex.ru

<sup>2</sup>soil-tyumen@yandex.ru

## ОЦЕНКА ПРАЙМЕРОВ К ВЫСОКОЭФФЕКТИВНЫМ ГЕНАМ *Rc* С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ГЕНЕТИЧЕСКОЙ КОЛЛЕКЦИИ ОВСА СИБИРСКОЙ СЕЛЕКЦИИ

Корончатая ржавчина овса, вызываемая облигатным паразитом *Puccinia coronata Corda f. sp. Avenae Erikss*, оказывает значительное влияние на производство овса, приводя к снижению урожайности зерна и ухудшению качества получаемой продукции. Один из наиболее эффективных способов борьбы с эпифитотиями корончатой ржавчины – создание генетически устойчивых сортов. Сделать этот процесс более эффективным и направленным позволяют методы молекулярного маркирования. Цель исследований – оценка эффективности праймеров к высокоэффективным генам устойчивости к корончатой ржавчине с использованием генетической коллекции овса сибирской селекции. Материалом для исследования послужили образцы овса посевного селекции НИИСХ Северного Зауралья – филиала ТюмНЦ СО РАН, а также сорта – источники высокоэффективных генов устойчивости к корончатой ржавчине из коллекции ВИР. Для подбора оптимальных условий для амплификации были использованы 3 различных режима, 4 реакционных смеси, температурный градиент 55,0–70,0 °С. Для каждого из праймеров была определена температура плавления. Продукты амплификации разделяли в 2 % агарозном и 8 % полиакриламидном геле. Были получены продукты амплификации, визуализирующиеся на геле в виде четких бэндов. Ни для одного из сортов – источников генов *Rc* не было получено продуктов амплификации, отличающих их от образцов без данных генов. Это свидетельствует об их неэффективности для оценки генетической коллекции образцов сибирской селекции. Для успешного проведения маркер-ассоциированной селекции овса на устойчивость к корончатой ржавчине в Западной Сибири необходима оценка эффективности других известных праймеров к генам *Rc*, а также создание собственных маркерных систем.

**Ключевые слова:** овес посевной (*Avena sativa* L.), корончатая ржавчина овса (*Puccinia coronata Corda f. sp. Avenae Erikss*), гены устойчивости *Rc*, полимеразная цепная реакция, праймер, генетическая коллекция, маркер-ассоциированная селекция

**Для цитирования:** Любимова А.В., Еремин Д.И. Оценка праймеров к высокоэффективным генам *Rc* с использованием генетической коллекции овса сибирской селекции // Вестник КрасГАУ. 2023. № 12. С. 67–76. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-12-67-76.

**Благодарности:** работа выполнена по госзаданию № 122011300103-0 и при поддержке Западно-Сибирского межрегионального научно-образовательного центра мирового уровня.

Anna Valerievna Lyubimova<sup>1✉</sup>, Dmitry Ivanovich Eremin<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Research Institute of Agriculture of the Northern Trans-Urals – branch of the Tyumen Scientific Center SB RAS, Moskovsky pos., Tyumen District, Tyumen Region, Russia

<sup>1</sup>ostapenkoav88@yandex.ru

<sup>2</sup>soil-tyumen@yandex.ru

## EVALUATION OF PRIMERS TO HIGHLY EFFECTIVE *Pc* GENES USING THE SIBERIAN OAT GENETIC SELECTION

Crown rust of oats, caused by the obligate parasite *Puccinia coronata* Corda f. sp. *avenae* Erikss has a significant impact on oat production, leading to a decrease in grain yield and a deterioration in the quality of the resulting product. One of the most effective ways to combat crown rust epiphytotic is to create genetically resistant varieties. Molecular labeling methods can make this process more efficient and targeted. The purpose of research is to evaluate the effectiveness of primers for highly effective crown rust resistance genes using a genetic collection of Siberian oats. The material for the study was samples of oats cultivated by the Research Institute of Agriculture of the Northern Trans-Urals – a branch of the Tyumen Scientific Center SB RAS, as well as source varieties of highly effective genes for resistance to crown rust from the collection of the All-Russian Research Institute. To select optimal conditions for amplification, 3 different modes, 4 reaction mixtures, and a temperature gradient of 55.0–70.0 °C were used. The melting temperature was determined for each primer. Amplification products were separated in 2 % agarose and 8 % polyacrylamide gels. Amplification products were obtained, visualized on the gel in the form of clear bands. For none of the source varieties of *Pc* genes, amplification products were obtained that distinguished them from samples without these genes. This indicates their ineffectiveness for assessing the genetic collection of samples of Siberian selection. To successfully carry out marker-associated selection of oats for resistance to crown rust in Western Siberia, it is necessary to evaluate the effectiveness of other known primers for *Pc* genes, as well as the creation of our own marker systems.

**Keywords:** oats (*Avena sativa* L.), crown rust of oats (*Puccinia coronata* Corda f. sp. *avenae* Erikss), *Pc* resistance genes, polymerase chain reaction, primer, genetic collection, marker-assisted selection

**For citation:** Lyubimova A.V., Eremin D.I. Evaluation of primers to highly effective *Pc* genes using the Siberian oat genetic selection // Bulliten KrasSAU. 2023;(12): 67–76. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-12-67-76.

**Acknowledgments:** the work was carried out under the state order № 122011300103-0 and with the support of the West-Siberian interregional scientific and educational center of the world level.

**Введение.** Овес посевной (*Avena sativa* L.) – зерновая культура, широко используемая как корм для животных и птицы, а в последнее время приобретающая все большую популярность и в питании человека. Зерно овса обладает сбалансированным аминокислотным составом, богато жирными кислотами и β-глюканами, благодаря чему широко используется в диетическом и функциональном питании [1, 2].

Большое влияние на производство этой культуры оказывает возбудитель корончатой ржавчины овса – *Puccinia coronata* Corda f. sp. *avenae* Erikss. Это заболевание приводит к снижению урожайности зерна до 20 % и более, а также ухудшает качество получаемой крупы. Защита от данного паразита требует комплексного подхода, включающего удаление альтернативных хозяев рода *Rhynchospora* L., которые способствуют не только размножению патогена, но и эволюции новых рас; внесение прикорневых фунгицидов и создание сортов с генетической устойчивостью к патогену [3, 4].

У овса идентифицировано более 100 генов устойчивости к корончатой ржавчине [5]. В каче-

стве доноров генов расоспецифической устойчивости широко используют дикие популяции *A. sterilis* L., от которых интродуцирована почти половина из описанных генов: *Pc35*, *Pc36*, *Pc38-77*, *Pc97*, *Pc98*, *Pc101*, *Pc103*, *Pc104*. Кроме того, источниками генов устойчивости выступают такие виды, как *A. magna* Murphy et Terr., *A. strigosa* Schreb., *A. longiglumis* Durieu, *A. murphyi* Ladiz, *A. barbata* Pott. ex Link [3, 4].

Значительно повысить эффективность селекционного процесса, в том числе и на устойчивость к заболеваниям, позволяют методы молекулярного маркирования. Маркер-ассоциированная селекция (marker-assisted selection) основывается на применении ДНК-маркеров, сцепленных с целевым геном или локусом [6, 7]. Овес в генетическом плане изучен меньше, чем пшеница и ячмень. Как отмечает А.В. Бакулина с соавт., несмотря на большое разнообразие описанных в литературе генов *Pc*, лишь для небольшого числа из них определена хромосомная локализация и указаны сцепленные ДНК-маркеры [3]. Эффективность ДНК-маркера на конкретной картирующей популяции не озна-

чает, что он будет также эффективен на другом селекционном материале [8].

**Цель исследований** – оценка эффективности некоторых праймеров к высокоэффективным генам устойчивости к корончатой ржавчине с использованием генетической коллекции овса сибирской селекции.

**Материалы и методы.** Исследования проводили на базе лаборатории геномных исследований в растениеводстве Тюменского научно-центра СО РАН в 2022 г. Материалом для исследования послужили селекционные линии и сорта овса полевой селекции НИИСХ Север-

ного Зауралья – филиала ТюмНЦ СО РАН, а также сорта – источники высокоэффективных генов устойчивости к корончатой ржавчине из коллекции Федерального исследовательского центра «Всероссийский институт генетических ресурсов растений имени Н.И. Вавилова» (ВИР). В качестве отрицательного контроля использовались восприимчивые к корончатой ржавчине сорта овса – Neklan и Kasztan (табл. 1).

На основе литературных источников были подобраны праймеры к высокоэффективным генам устойчивости к корончатой ржавчине овса (табл. 2) [9].

Таблица 1

**Анализ образцов овса полевой**

№ п/п	Шифр	Сорт / линия	Ген <i>Pc</i>	№ п/п	Шифр	Сорт / линия
1	B1	PC 38	<i>Pc 38</i>	18	C5	Тоболяк
2	B2	Нарпс (PC 39)	<i>Pc 39</i>	19	C6	Радужный
3	B3	Гибрид (к-15020)	<i>Pc 38</i>	20	C7	Сириус
4	B4	Гибрид (к-15021)	<i>Pc 39</i>	21	C8	ТМ 07-95-16
5	B5	AC Goslin	<i>Pc 48</i>	22	C9	ТМ 11-6-1
6	B6	Камбулинский	<i>Pc 48</i>	23	C10	ТМ 11-41
7	B7	PC 68	<i>Pc 68</i>	24	C11	14-67-3
8	B8	AC Francis	<i>Pc 68</i>	25	C12	14-50-30
9	B9	PC 58	<i>Pc 58</i>	26	C13	16-58-10
10	B10	AC Medalion	<i>Pc 38, 39, 68</i>	27	C14	16-46-9
11	B11	Astor		28	C15	16-33-11
12	B12	Neklan	Восприимчивый	29	C16	16-67-2
13	B13	Kasztan	Восприимчивый	30	C17	16-8-19
14	C1	Мегион		31	C18	16-58-4
15	C2	Талисман		32	C19	16-43-15
16	C3	Отрада		33	C20	16-46-16
17	C4	Фома				

Примечание: B1–B13 – образцы, предоставленные из коллекции ВИР, C1–C20 – образцы из коллекции НИИСХ Северного Зауралья.

Таблица 2

**Праймеры к генам *Pc*, использованные для оценки коллекции овса полевой**

Ген / Праймер	Последовательность
1	2
<i>Pc38</i> GMI_ES17_c4223_141	F-GATGCCCAAGCACTTCTCC R-GAAGAAGGTACAATGATAGGAGCTG
<i>Pc38</i> GMI_DS_LB_459	F-GTCTGAGCAGCTAGGGATCG R-TGCCCAAGTTCAGTTCAGTG
<i>Pc38</i> Xcdo673	F-GCCATTGGTATTGCGAGAGG R-ACGAGCGTCAGTCGGTCACT
<i>Pc48</i> GMI_ES01_c10310_366	F-CTGGTACGACCGTTCTGTCA R-CCTTCTTCGATCATCGGCTA

Окончание табл. 2

1	2
Pc48 GMI_ES_LB_9185	F-CATCTCTGGATTTGAGGGTGA R-CTTGGGCTCATTGATCTGGT
Pc68 GMI_DS_LB_8147	F- GGCACCATACGAGGTAGTTTATG R- TGTGGGTAGATTTTTGTGACCA
Pc68 GMI_ES02_c11450_462	F-GGGCGATTTCTTGTAGTGGA R-TCTCAGATGGTGAGGTTAGTATCG
Pc68 GMI_DS_A3_340_378	F-AAAGTGGCAACAAGGGATGAC R-GCGGTATTTTGTCTGATTTGC
Pc71 GMI_ES01_c3435_183	F- CAAGCTCTGTGAAGATGTTGC R- AAAGCGACGAATTTCAAGCA
Pc71 GMI_ES15_c14779_89	F-GATACTACAGACGAGGCATCCA R-CAAGATCACAACTGGCCTCA

Дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) для исследований выделяли из 5-дневных проростков с помощью набора для выделения «ЦитоСорб», Синтол. Для подбора условий полиме-

разной цепной реакции (ПЦР) использовали концентрированную и разведенную в 10 раз ДНК.

При подборе оптимальных условий амплификации применяли несколько реакционных смесей (табл. 3).

Таблица 3

## Состав смесей для амплификации, мкл

Показатель	Смесь 1	Смесь 2	Смесь 3	Смесь 4
10×буфер	2,5	2,0	2,5	2,0
MgCl <sub>2</sub>	1,5	2,0	1,5	0,8
dNTP	2,0	0,5	1,0	1,6
primerF	0,6	0,25	1,5	0,5
primerR	0,6	0,25	1,5	0,5
Taq.Polymerase	0,2	0,5	0,5	0,2
H <sub>2</sub> O	15,6	13,5	9,0	12,4
ДНК	2,0	1,0	2,5	2,0
Объем 1 образца, мкл	25,0	20,0	20,0	20,0

Разделение фрагментов амплификации проводили в 2 % агарозном и 8 % полиакриламидном гелях (ПААГ). В состав ПААГ входили: акриламид 30 % – 13,3 мл; вода бидистиллированная – 26,4 мл; персульфат аммония 3 % –

4 мл; буфер 5×TBE (маточный раствор трис-борат-ЭДТА (Tris-Borat-EDTA)) – 10 мл; ТЕМЕД (тетраметилэтилендиамин)– 15 мкл.

Для проведения амплификации использовали несколько режимов (табл. 4).

Таблица 4

## Использованные режимы амплификации

Режим	Этап	Температура, °С	Длительность	Количество циклов
1	2	3	4	5
1	Денатурация	94	3 мин	45
		94	30 с	
	Отжиг	36	1 мин	
	Элонгация	72	2 мин	

1	2	3	4	5
2	Денатурация	98	2 мин	35
		98	15 с	
	Отжиг	56	15 с	
	Элонгация	72	15 с	
3		72	5 мин	34
	Денатурация	95	3 мин	
		95	30 с	
	Отжиг	60	30 с	
	Элонгация	72	1 мин	
	72	5 мин		

**Результаты и их обсуждение.** На начальном этапе для проведения ПЦР использовали только ДНК сортов-источников генов *Pc* с целью увидеть продукт амплификации, свидетельствующий о наличии целевого гена в сортах-донорах. На электрофореграммах восприимчивых сортов, выступающих в качестве отрицательного контроля, целевой фрагмент должен был отсутствовать.

Важным этапом в повышении чувствительности и специфичности ПЦР является правильный подбор концентрации ионов магния и температуры плавления/отжига праймеров [10–13]. В настоящее время существует большой выбор

программного обеспечения для расчетов теоретических величин данных показателей, но зачастую подбирать оптимальные условия амплификации приходится эмпирическим путем. В нашем случае для подбора наиболее подходящих условий для каждого из праймеров были использованы различные буферные смеси и режимы амплификации.

В результате проведения амплификации со смесями 1 и 2 при режиме 1 четких отличий между образцами, имеющими в своем генотипе целевой ген, и образцами без него не выявлено (рис.1).

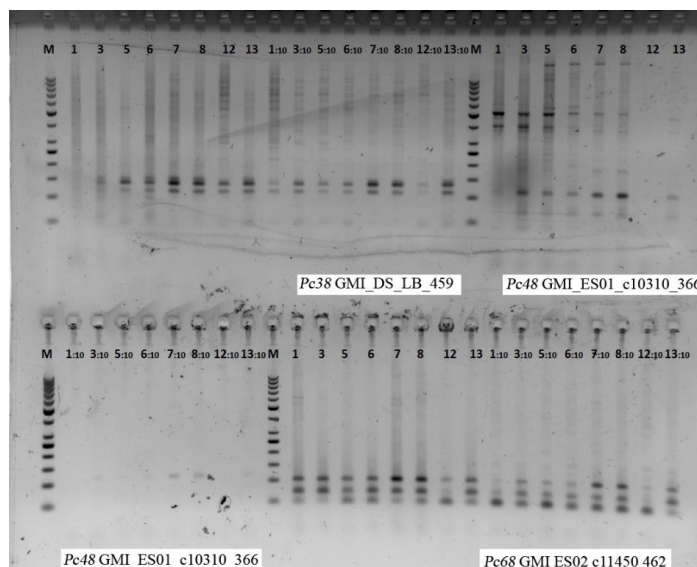


Рис. 1. Продукты амплификации, полученные при использовании ДНК образцов В1–В13 и смеси 2, режим амплификации 1. 1–13 – порядковые номера образцов В1–В13. Подписи на рисунке обозначают ген устойчивости и используемый праймер, :10 – ДНК в 10-кратном разведении

Для оптимизации режима амплификации была рассчитана приблизительная температура плавления праймеров по формуле

$$T_m (°C) = 2 \times (nA + nT) + 4 \times (nG + nC),$$

где nA – количество нуклеотидов аденина; nT – количество нуклеотидов тимина; nG – количество нуклеотидов гуанина; nC – количество нуклеотидов цитозина в праймере [14]. Исходя из полученных значений, был модифицирован ре-

жим амплификации. Для праймеров GMI\_ES17\_c4223\_141, GMI\_ES01\_c10310\_366 и GMI\_DS\_LB\_8147  $T_m$  составила 56,5 °С, GMI\_DS\_A3\_340\_378 – 58,0 °С, время отжига –

30 с. Остальные значения режима амплификации остались прежними. Использовали смеси 1 и 2. Разделение фрагментов амплификации проводили в 2 % агарозном геле и 8 % ПААГ.

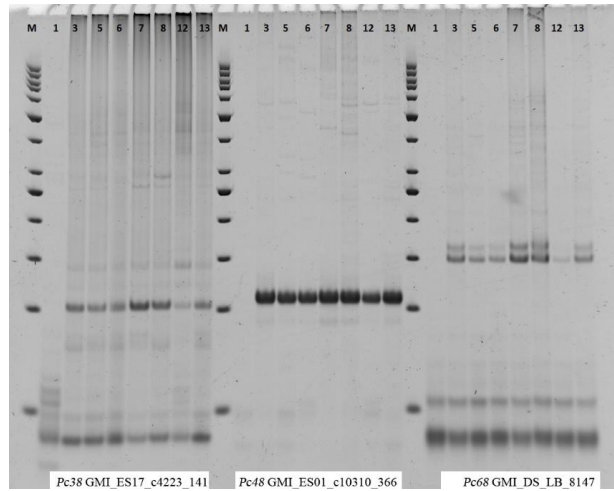


Рис. 2. Продукты амплификации, полученные при использовании ДНК образцов В1–В13, смеси 2,  $T_m = 56,5$  °С. Гель – ПААГ 8 %. 1–13 – порядковые номера образцов В1–В13. Подписи на рисунке обозначают ген устойчивости и используемый праймер

Благодаря более высокой разрешающей способности полиакриламидного геля по сравнению с агарозным разделением продуктов амплификации в 8 %-м ПААГ позволило отличить несколько фрагментов с близкой молекулярной массой. Однако эти бэнды также были характерны для всей выборки образцов.

Как отмечают П.С. Новиков с соавт. (2011), оптимальная температура плавления праймера может отличаться от теоретически рассчитанной. Например, на значение этой величины могут оказывать влияние соседние азотистые основания, участвующие в стэкинг-взаимодействиях [13]. При этом, подбирая оптимальную  $T_m$ ,

необходимо учитывать все возможные динуклеотиды в конкретной последовательности.

Для того чтобы подобрать оптимальную  $T_m$  на примере праймера GMI\_DS\_LB\_459 к гену *Pc38*, нами был использован температурный градиент 55,0–70,0 °С, режим амплификации 2 и реакционная смесь 3. В результате получено множество неспецифичных фрагментов. Однако электрофореграммы продуктов амплификации образцов В1 и В3, в генотипе которых присутствует ген *Pc38*, не отличались от электрофореграмм других образцов, в том числе и от отрицательного контроля (В12 и В13) (рис. 3).

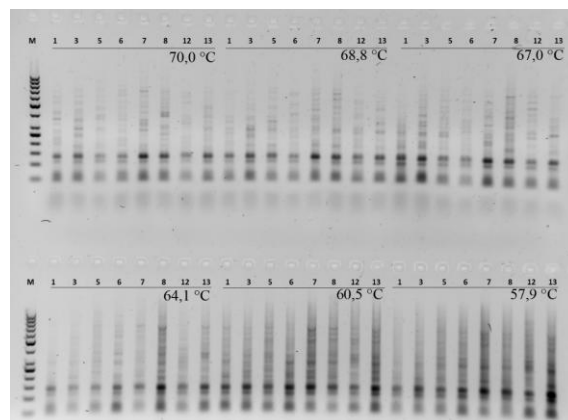


Рис. 3. Продукты амплификации с праймером GMI\_DS\_LB\_459, полученные при использовании ДНК в 10-кратном разведении образцов В1–В13, смесь 3, градиент температур. 57,9–70,0 °С –  $T_m$  праймера

Как видно из рисунка 3, с повышением температуры происходит уменьшение эффективности ПЦР-реакции, о чем свидетельствует снижение окраски бэндов. Схожую картину отмечала Г.Д. Абишева с соавт. при разработке протокола амплификации для выявления бруцелл [10].

Установлено, что использование концентрированной ДНК давало более четкие продукты

амплификации, поэтому в дальнейших исследованиях разведенную ДНК не применяли. Для анализа ДНК образцов использовали смеси 2, 3 и 4, режимы амплификации 2 и 3. Температуру отжига подбирали для каждого праймера индивидуально.

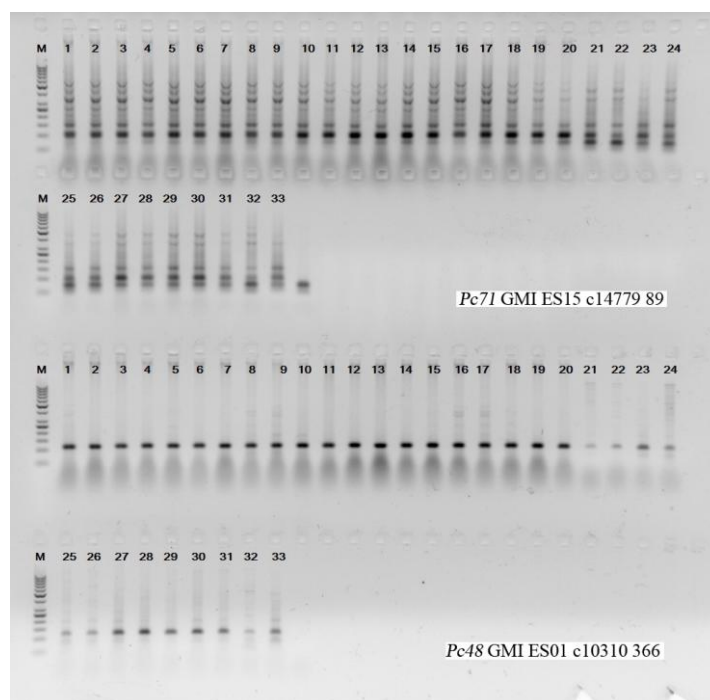


Рис. 4. Продукты амплификации, полученные при использовании ДНК образцов В1–В13 (1–13) и С1–С20 (14–33), смеси 3, режим амплификации 2,  $T_m = 56,0$  °С. 1–13 – порядковые номера образцов В1–В13, 14–33 – образцов С1–С20. Подписи на рисунке обозначают ген устойчивости и используемый праймер

В результате были получены продукты амплификации, визуализирующиеся на геле в виде четких бэндов. Однако, несмотря на применение различных смесей и режимов амплификации, нами не был выявлен полиморфизм при использовании анализируемых праймеров. Ни для одного из сортов – источников генов *Pc* не было получено продуктов амплификации, отличающих их от образцов без данных генов.

Известно, что молекулярные маркеры, разработанные на одной картирующей популяции, могут оказаться неэффективными при использовании их на другой. В связи с этим любые молекулярные маркеры должны быть верифицированы на большом объеме генетически разнообразного материала [8, 15,16]. Праймеры, анализируемые нами в данной статье, были получены на определенных картирующих попу-

ляциях овса и показали высокую эффективность при использовании на этих коллекциях. Однако, как показывают полученные нами результаты, эти ДНК-маркеры не подходят для выявления генов устойчивости к корончатой ржавчине в других популяциях и генетических коллекциях. Помимо оценки эффективности других известных праймеров к генам устойчивости к корончатой ржавчине овса, выходом в данной ситуации может стать создание собственной маркерной системы, включающей в себя анализ информации о нуклеотидных последовательностях участка генома, например с использованием молекулярных маркеров, описанных С.Р. Wight et al. (2015) [17]; конструирование праймеров; подбор условий амплификации и экспериментальную проверку работоспособности полученных праймеров.



### Заключение

1. С использованием генетических коллекций образцов овса сибирской селекции проведена оценка ДНК-маркеров к высокоэффективным генам устойчивости к корончатой ржавчине. Для каждого из праймеров подобраны оптимальные состав реакционной смеси и режим амплификации, позволяющие получать продукты амплификации, визуализирующиеся при разделении в виде четких бэндов.

2. Ни с одним из исследованных праймеров не было получено продуктов амплификации, позволяющих сделать вывод о наличии или отсутствии в анализируемых генотипах определенных генов устойчивости к корончатой ржавчине, что свидетельствует об их неэффективности для оценки генетической коллекции образцов сибирской селекции.

3. Для успешного проведения маркер-ассоциированной селекции овса на устойчивость к корончатой ржавчине в Западной Сибири необходима оценка эффективности других известных праймеров к высокоэффективным генам *Pc*, а также создание собственных маркерных систем.

### Список источников

- Nutritional and Functional Characterization of Different Oat (*Avena sativa* L.) / M.S. Ibrahim [et al.] // *Cultivars. Int. J. Food Prop.* 2020. 23(1). P. 1373–1385. DOI: 10.1080/10942912.2020.1806297.
- The Origin and Resource Potential of Wild and Cultivated Species of the Genus of Oats (*Avena* L.) / I.G. Loskutov [et al.] // *Russian Journal of Genetics.* 2021. Vol. 57. № 6. P. 642–661. DOI: 10.1134/S1022795421060065.
- ДНК-маркеры в селекции овса на устойчивость к корончатой ржавчине (обзор) / А.В. Бакулина [и др.] // *Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции.* 2022. № 183 (1). С. 224–235. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-224-235.
- Chromosomal location of the crown rust resistance gene *Pc98* in cultivated oat (*Avena sativa* L.) / J. Zhao [et al.] // *Theor Appl Genet.* 2020. 133 (4). P. 1109–1122. DOI: 10.1007/s00122-020-03535-x.
- Admassu-Yimer B., Bonman J.M., Esvelt Klos K. Mapping of crown rust resistance gene *Pc53* in oat (*Avena sativa*) // *PLoS ONE.* 2018. 13(12): e0209105. DOI: 10.1371/journal.pone.0209105.
- Sowa S., Paczos-Grzęda E. Identification of molecular markers for the *Pc39* gene conferring resistance to crown rust in oat // *Theor Appl Genet.* 2020. 133(4). P. 1081–1094. DOI: 10.1007/s00122-020-03533-z.
- Хлесткина Е.К. Молекулярные маркеры в генетических исследованиях и в селекции // *Вавиловский журнал генетики и селекции.* 2013. Т. 17, № 4-2. С. 1044–1054.
- Павленко А.А. Отработка методики микросателлитного анализа груши (*Pyrus*) из коллекции ВНИИСПК // *Селекция и сортоведение садовых культур.* 2022. Т. 9, № 1. С. 78–85. DOI: 10.24411/25000454\_2022\_0115.
- Admassu-Yimer B., Esvelt Klos K. PCR-Based High-resolution Melt Markers for *Pc* genes. Part 2: SNPs linked to *Pc38*, *Pc48*, *Pc68*, and *Pc71* // *Oat Newsletter.* 2016. V. 53. № 11.
- Разработка протокола полимеразной цепной реакции с детекцией в агарозном геле для выявления бруцелл / Г.Д. Абишева [и др.] // *Биотехнология. Теория и практика.* 2014. № 1. С. 57–61.
- Оптимизация условий амплификации методом ПЦР в режиме реального времени с применением специфичных праймеров для определения патогенных штаммов *Listeria monocytogenes* с инвазивной активностью / Е.В. Соколова [и др.] // *Сб. тез. VI Междунар. конф. молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов (Кольцово, 22–25 октября 2019 г.) / Новосибир. нац. исслед. гос. ун-т. Кольцово, 2019. С. 623–626.*
- Разнообразие праймеров для ПЦР и принципы их подбора / Р.Р. Гарафутдинов [и др.] // *Биомика.* 2019. Т. 11, № 1. С. 23–70.
- Новиков П.С., Милютин Т.Н., Шейкина О.В. Оптимизация проведения ПЦР-реакции при ISSR-анализе ДНК плюсовых деревьев сосны обыкновенной // *Плодоводство, семеноводство, интродукция древесных растений.* 2011. № 14. С. 79–81.
- Бессолицына Е.А., Копосова О.Н. Подбор праймеров для идентификации *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi* // *Общество. Наука. Инновации (НПК-2019): сб. ст. XIX Всерос. науч.-практ. конф. (Ки-*



- ров, 1–26 апреля 2019 г.): в 4 т. / Вятский гос. ун-т. Киров, 2019. Т. 1. С. 13–19.
15. Верификация голубики высокорослой (*Vaccinium corymbosum* L.) с использованием микросателлитных маркеров / А.Н. Юхимук [и др.] // Интродукция, сохранение и использование биологического разнообразия флоры: мат-лы междунар. науч. конф., посвящ. 90-летию Центрального ботанического сада Национальной академии наук Беларуси (Минск, 21–24 июня 2022 г.): в 2 ч. / редколлегия: В.В. Туток [и др.]. Минск: Белтаможсервис, 2022. Ч. 2. С. 199–203.
  16. Мацькив А.О., Конинская Н.Г., Шуркина Е.С. Анализ генетического разнообразия популяций чая на Западном Кавказе // Субтропическое и декоративное садоводство. 2022. № 80. С. 78–85. DOI: 10.31360/2225-3068-2022-80-78-84.
  17. Discovery, localization, and sequence characterization of molecular markers for the crown rust resistance genes *Pc38*, *Pc39*, and *Pc48* in cultivated oat (*Avena sativa* L.) / C.P. Wight [et al.] // Molecular Breeding. 2004. № 14. P. 349–361. DOI: 10.1007/s11032-004-0148-z.
  - 13(12): e0209105. DOI: 10.1371/journal.pone.0209105.
  6. Sowa S., Paczos-Grzęda E. Identification of molecular markers for the *Pc39* gene conferring resistance to crown rust in oat // Theor Appl Genet. 2020. 133(4). P. 1081–1094. DOI: 10.1007/s00122-020-03533-z.
  7. Hlestkina E.K. Molekulyarnye markery v genetycheskikh issledovaniyah i v selekcii // Vavilovskij zhurnal genetiki i selekcii. 2013. Т. 17, № 4-2. S. 1044–1054.
  8. Pavlenko A.A. Otrabotka metodiki mikrosatelitnogo analiza grushi (*Pyrus*) iz kollekcii VNIISPK // Selekcija i sortorazvedenie sado-vyh kul'tur. 2022. Т. 9, № 1. S. 78–85. DOI: 10.24411/25000454\_2022\_0115.
  9. Admassu-Yimer B., Esvelt Klos K. PCR-Based High-resolution Melt Markers for *Pc* genes. Part 2: SNPs linked to *Pc38*, *Pc48*, *Pc68*, and *Pc71* // Oat Newsletter. 2016. V. 53. № 11.
  10. Razrabotka protokola polimeraznoj cepnoj reakcii s detekciej v agaroznom gele dlya vyyavleniya brucell / G.D. Abisheva [i dr.] // Biotehnologiya. Teoriya i praktika. 2014. № 1. S. 57–61.
  11. Optimizaciya uslovij amplifikacii metodom PCR v rezhime real'nogo vremeni s primeneniem specifichnyh prajmerov dlya opredeleniya patogennyh shtammov *Listeria monocytogenes* s invazivnoj aktivnost'yu / E.V. Sokolova [i dr.] // Sb. tez. VI Mezhdunar. konf. molodyh uchenyh: biofizikov, biotehnologov, molekulyarnyh biologov i virusologov (Kol'covo, 22–25 oktyabrya 2019 g.) / Novosib. nac. issled. gos. un-t. Kol'covo, 2019. S. 623–626.
  13. Raznoobrazie prajmerov dlya PCR i principy ih podbora / R.R. Garafutdinov [i dr.] // Biomika. 2019. Т. 11, № 1. S. 23–70.
  14. Novikov P.S., Milyutina T.N., Shejkina O.V. Optimizaciya provedeniya PCR-reakcii pri ISSR-analize DNK plyusovyh derev'ev sosny obyknovennoj // Plodovodstvo, semenovodstvo, introdukcija drevesnyh rastenij. 2011. № 14. S. 79–81.
  15. Bessolicyna E.A., Kuposova O.N. Podbor prajmerov dlya identifikacii *Borrelia garinii*, *Borrelia afzelii*, *Borrelia burgdorferi* // Obschestvo. Nauka. Innovacii (NPK-2019): sb. st. XIX Vseros. nauch.-prakt. konf. (Kirov, 1–26 aprelya 2019 g.): v 4 t. / Vyatskij gos. un-t. Kirov, 2019. Т. 1. S. 13–19.

## References

1. Nutritional and Functional Characterization of Different Oat (*Avena sativa* L.) / M.S. Ibrahim [et al.] // Cultivars. Int. J. Food Prop. 2020. 23(1). P. 1373–1385. DOI: 10.1080/10942912.2020.1806297.
2. The Origin and Resource Potential of Wild and Cultivated Species of the Genus of Oats (*Avena* L.) / I.G. Loskutov [et al.] // Russian Journal of Genetics. 2021. Vol. 57. № 6. P. 642–661. DOI: 10.1134/S1022795421060065.
3. DNK-markery v selekcii ovsa na ustojchivost' k koronchatoj rzhavchine (obzor) / A.V. Bakulina [i dr.] // Tr. po prikladnoj botanike, genetike i selekcii. 2022. № 183 (1). S. 224–235. DOI: 10.30901/2227-8834-2022-1-224-235.
4. Chromosomal location of the crown rust resistance gene *Pc98* in cultivated oat (*Avena sativa* L.) / J. Zhao [et al.] // Theor Appl Genet. 2020. 133 (4). P. 1109–1122. DOI: 10.1007/s00122-020-03535-x.
5. Admassu-Yimer B., Bonman J.M., Esvelt Klos K. Mapping of crown rust resistance gene *Pc53* in oat (*Avena sativa*) // PLoS ONE. 2018.

16. Verifikaciya golubiki vysokorosloj (*Vaccinium corymbosum* L.) s ispol'zovaniem mikrosatelitnyh markerov / A.N. Yuhimuk [i dr.] // Introdukcija, sohranenie i ispol'zovanie biologicheskogo raznoobraziya flory: mat-ly mezhdunar. nauch. konf., posvyasch. 90-letiyu Central'nogo botanicheskogo sada Nacional'noj akademii nauk Belarusi (Minsk, 21–24 iyunya 2022 g.): v 2 ch. / Redkollegiya: V.V. Titok [i dr.]. Minsk: Beltamozhservis, 2022. Ch. 2. S. 199–203.
17. Mac'kiv A.O., Koninskaya N.G., Shurkina E.S. Analiz geneticheskogo raznoobraziya populyacij chaya na Zapadnom Kavkaze // Subtropicheskoe i dekorativnoe sadovodstvo. 2022. № 80. S. 78–85. DOI: 10.31360/2225-3068-2022-80-78-84.
18. Discovery, localization, and sequence characterization of molecular markers for the crown rust resistance genes *Pc38*, *Pc39*, and *Pc48* in cultivated oat (*Avena sativa* L.) / C.P. Wight [et al.] // Molecular Breeding. 2004. № 14. P. 349–361. DOI: 10.1007/s11032-004-0148-z.

Статья принята к публикации 07.08.2023 / The article accepted for publication 07.08.2023.

Информация об авторах:

**Анна Валерьевна Любимова**<sup>1</sup>, заведующая лабораторией геномных исследований в растениеводстве, кандидат биологических наук

**Дмитрий Иванович Еремин**<sup>2</sup>, ведущий научный сотрудник лаборатории геномных исследований в растениеводстве, доктор биологических наук, доцент

Information about the authors:

**Anna Valerievna Lyubimova**<sup>1</sup>, Head of the Laboratory of Genomic Research in Plant Growing, Candidate of Biological Sciences

**Dmitry Ivanovich Eremin**<sup>2</sup>, Leading Researcher at the Laboratory of Genomic Research in Plant Growing, Doctor of Biological Sciences, Doccent

