

ВЫЯВЛЕНИЕ НОВЫХ SNPS В ГЕНАХ/ЛОКУСАХ УСТОЙЧИВОСТИ К ФУЗАРИОЗУ И ХИТИНАЗАМ

Налбандян Арпине Артаваздовна*, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник

Руденко Татьяна Сергеевна, младший научный сотрудник

Фомина Анастасия Сергеевна, младший научный сотрудник

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Всероссийский научно-исследовательский институт сахарной свеклы и сахара им. А.Л. Мазлумова»

396030, Воронежская обл., Рамонский район, п. ВНИИСС, д. 86 8(47340)53327, e-mail: arpnal@rambler.ru

Ключевые слова: сахарная свёкла, фузариоз, ген устойчивости, однонуклеотидный полиморфизм, ПЦР

Цель работы – апробация специфических праймеров *FusA1F/R*, *2Ch300F/R* и *7Ch310F/R* для изучения гена *SE2*, ответственного за экспрессию кислой хитиназы при стрессовых ситуациях, и локусов, обеспечивающих устойчивость селекционного материала сахарной свеклы к фузариозной гнили. Материалом для исследования служили растения сахарной свеклы отечественной и зарубежной селекции. Для подтверждения связи гена *SE2*, локализованного на хромосоме 3 и контролирующего стабильный уровень работы кислой хитиназы, с устойчивостью сахарной свёклы к корневой гнили, проведено типирование десяти образцов сахарной свёклы с использованием молекулярно-генетического маркера *FusA1*. Были выявлены по 2 ДНК-фрагмента длиной 600 п.н. и 400 п.н. во всех исследуемых генотипах, кроме растений дикой свеклы (*Beta corolliflora* Zoss.). В результате проведенных исследований гена *SE2* идентифицированы восемь однонуклеотидных замен (3 Т/С, 2 С/Г, А/Г, Г/А, С/Т) и 3 однонуклеотидные вставки (нуклеотид А) в растениях иностранного гибрида Шаннон по сравнению с устойчивым генотипом. В локусах, кодирующих защитные белки (участки второй и седьмой хромосом) и участвующих в формировании устойчивости к фузариозной гнили, также выявлены SNPs в материалах отечественной селекции и иностранных гибридах. Для анализа и выравнивания секвенированных последовательностей в работе использовали инструмент *Geneious Prime*.

Введение

Сахарная свекла является важнейшей технической культурой в Российской Федерации для получения сахара, содержание которого в ее корнеплодах достигает 20%. Создание гибридов свеклы с комплексом хозяйственно-ценных признаков невозможно без наличия разнообразного исходного материала, устойчивого к биотическим и абиотическим стрессорам. К значительному снижению урожайности корней, уменьшению содержания сахара и чистоты его выхода приводят также и заболевания сахарной свеклы, вызываемые грибами рода *Fusarium* [1-3]. У культуры известны устойчивые к *F. oxysporum* линии, но генетическая система, которая контролирует развитие болезни, до сих пор неясна. До настоящего времени не сообщалось о генах-кандидатах или конкретных локусах количественных признаков (QTL) устойчивости к фитопатогену. Тем не менее, в недавних исследованиях с помощью подхода генов-ортологов было выявлено два аллельных варианта предполагаемых генов устойчивости к *Fusarium oxysporum*. Были идентифицированы 2 однонуклеотидные замены (SNP), на 2 и 7 хромосомах, которые позволяют на ранних этапах определять условно устойчивые и чувствительные генотипы

[4, 5]. Кроме прямой устойчивости, растения формируют и опосредованный ответ на воздействие неблагоприятных биотических факторов. Известно, что растения для противостояния различным патогенным организмам, продуцирующим хитин, экспрессируют хитиназу для разрушения хитина и нейтрализации фитопатогена [6]. На сегодня гены-кандидаты для этой культуры не идентифицированы, но гены кислых хитиназ, могут играть ключевую роль для идентификации истинно генов устойчивости к *Fusarium* у сахарной свеклы. Активность ферментов хитиназы (ЕС 3.2.1.14) коррелирует с патогенной инфекцией и, следовательно, играет важную роль в формировании защитных реакций растений в корне, листьях против *F. oxysporum*. У сахарной свеклы описаны две формы кислой хитиназы (SE1 и SE2). Форма SE2 проявляет высокую экзохитиназную активность, способствует гидролизу хитоолигосахаридов [7-9].

Разрушение свекловичной ткани различными микроорганизмами может приводить к такому заболеванию как кагатная гниль, основными его возбудителями являются плесневые грибы рода *Fusarium*. Этими грибами может быть вызван фузариоз во время хранения сахарной свёклы. Также большую проблему для



Рис. 1 – Фрагмент локализация SNPs в образцах F119170 (F405), Шаннон (Ш405) и *B. corolliflora* Zoss. (FD). BvSE2 – контроль

сахарной свёклы представляют фузариозное увядание и фузариозная корневая гниль, их вызывают *F.oxysporum* и *F.solani* [10-14].

Гены устойчивости к фитоболезням или R-гены, играющие первостепенную роль в формировании иммунного ответа, мало изучены. И конструирование молекулярно-генетических маркеров к ним для обнаружения резистентных форм затруднено, так как устойчивость к большинству болезням достигается полигенным наследованием (QTL), то есть находится под мониторингом нескольких генов, локализованных на разных хромосомах/группах сцепления [15].

Материалы и методы исследований

Материалом для исследования являлись растения МС-линий сростноплодных опылителей ОП, гибрида Льговской ОСС и зарубежной селекции: Митика, Шаннон, Кариока (Lion Seeds, Италия) сахарной свеклы российской и иностранной селекции. Семена *Beta vulgaris* L. выращивали при температуре +20°C. Для серий экспериментов по проведению ПЦР использовали зеленую массу из листового аппарата пяти растений сахарной свеклы. Когда растения достигали фазы 2 пар настоящих листьев, в почву вносили по 5 мкл споровой суспензии *Fusarium oxysporum*, в концентрации 35 тыс. КОЕ/мл [16]. Выделяли геномную ДНК оптимизированным SDS-методом [17]. Качество нуклеиновой кислоты было оценено электрофорезом в 1,7%-ном агарозном геле с бромистым этидием. ДНК растворяли в 10 мМ трис-HCl-буфера, pH 8,0, содержащем 0,1 мМ ЭДТА. Классическая полимеразно-цепная реакция была проведена на амплификаторе «Genius» (Великобритания). Условия проведения ПЦР-реакции оптимизировали в соответствии с характеристиками исполь-

зуемых праймеров. В работе был использован следующие специфические праймеры:

FusA1F/R: F:5'AGCTACCTTTGGTAACGGGC3'
 R:5'GCAGTGCTTAAGCTGGCATC3'

2Ch300F/R: F: 5'AGTGATTTTTGTGTTATTCCTA3'
 R: 5'ATTCCAATCTTCATACTTCTCA3'

7Ch310F/R: F: 5'TGAAAAAGCTACTTGTGAGGA3'
 R: 5'TCTATGGAAGATCTGCATCTAA3'

Дизайн праймеров был разработан в программе Primer BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) [18]. Секвенирование ПЦР-фрагментов осуществляли на генетическом анализаторе Applied Biosystems 3500 (Thermo Fisher Scientific Inc., США).

Результаты исследований

Для изучения гена SE2 (контролирует экспрессию кислой хитиназы), находящегося на 3 хромосоме проведен ПЦР-анализ 10 генотипов сахарной свёклы с использованием молекулярно-генетического маркера FusA1 F/R. Для более детального изучения и выявления новых SNPs некоторые ампликоны были просеквенированы.

Результаты прочтения нуклеотидных последовательностей обнаруженных ДНК-фрагментов были проанализированы в программе GeneiousPrime. В результате выравнивания нуклеотидных последовательностей изучаемых образцов с геном контрольного генотипа (GenBank, Acc. No HQ709091.1, на рис. BvSE2) в гибриде Шаннон (на рис. Ш405) было обнаружено 8 SNPs (3 T/C, 2 C/G, A/G, G/A, C/T) и 3 однонуклеотидные вставки (нуклеотид А). С ним сравнивали также растения дикой свеклы *B. corolliflora* Zoss. (на рис. FD) и F₁19170 (на рис. F405), которые являются материалами, устойчивыми к фузариозной гнили. Известно, что расте-

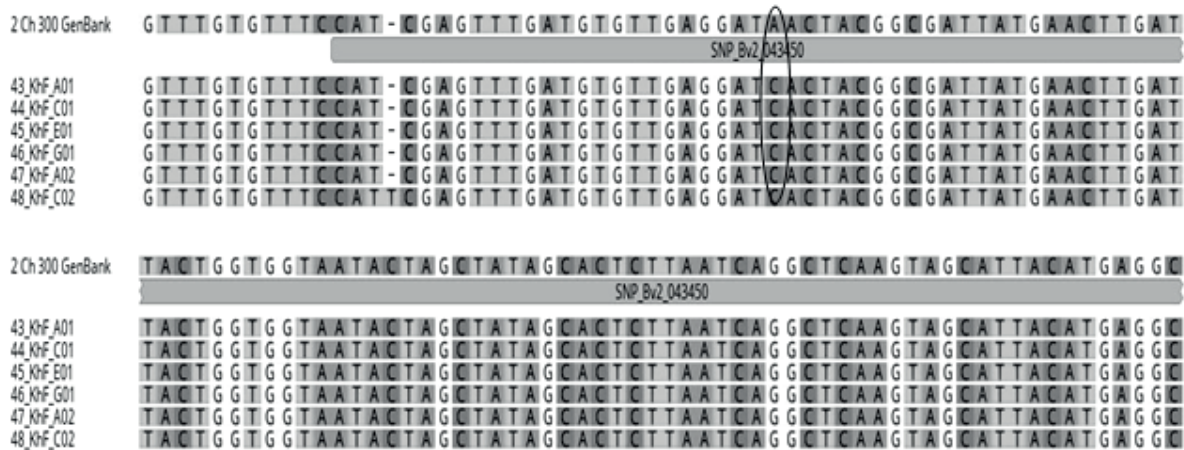


Рис. 2 – Фрагмент выравнивания нуклеотидных последовательностей полученных ДНК-фрагментов

Дорожки: 2Ch 300 – генотип № HQ709091.1 (GenBank, NCBI), 43 – МС (Львовская ОСС), 44 – Оп 2х (Львовская ОСС), 45 - Оп 4х (Львовская ОСС), 46 – Митика, 47 – Кариока, 48 – гибрид Львовской ОСС.

ния гибрида Шаннон и в полевых условиях проявляли признаки зараженности. Также в данных генотипах были выявлены новые SNP. На рисунке 1 показан фрагмент генетического анализа по Сэнгеру, где продемонстрировано положение выявленных однонуклеотидных замен и инсерций.

Можно предположить, что идентифицированные однонуклеотидные замены являются nonsynonymous (миссенс-мутации), то есть кодируют другую аминокислоту, приводя к замещениям в аминокислотном составе белка. Следствием может быть экспрессия функционально иного пептида и инактивация исходного.

Группа итальянских ученых [5] определила два локуса, которые играют роль в формирование устойчивости к фузариозной гнили у растений сахарной свеклы. Находятся они на второй и седьмой хромосоме: гены Bv2_043450_zhxc (кодирует белок устойчивости к заболеванию At3g14460, NCBI) и Bv7_171470_ojty (кодирует предполагаемый белок устойчивости к заболеванию At4g27190, NCBI), соответственно. К данным локусам нами были сконструированы праймеры: 2Ch300 F/R и 7Ch310 F/R. ДНК 10 генотипов сахарной свеклы была амплифицирована с использованием данных праймеров, полученные ампликоны секвенированы по Сэнгеру. В результате прочтения нуклеотидной последовательности шести секвенированных фрагментов, идентифицированы: одна однонуклеотидная замена (A/C) на участке, амплифицированном с праймером 2Ch300 F/R (рис. 2).

43 SNPs идентифицировано на участке, амплифицированном с праймером 7Ch310 F/R. Высокополиморфным (изменчи-

вым) оказался тетраплоидный опылитель Львовской селекции, практически все точечные мутации и делеции определены в растениях его генотипа (рис. 3). В полевых условиях данные растения также были подвержены фузариозной гнили.

Являются ли эти однонуклеотидные замены значимыми или silent-мутациями (нейтральными), обнаруживаемые как вариации в геноме, пока не совсем ясно и требует дальнейших как молекулярно-генетических, так и полевых исследований.

Обсуждение

Болезнь, вызываемая различными фитопатогенами *Fusarium* sp., пагубно влияет на урожайность и качество поражаемых культур, и при определенных климатических условиях может достигать масштабов эпидемии. Картографические исследования на основе маркеров идентифицировали некоторые локусы количественных признаков на зерновых (QTL) устойчивости к *Fusarium* sp., расположенные на всех хромосомах видов. Тем не менее, данные локусы, согласно авторам, носят в основном аддитивный характер [19]. Исследования на экотипах *Arabidopsis thaliana* более информативны с точки зрения идентификации конкретных локусов, ответственных за устойчивость к *Fusarium* sp. Сегрегационный анализ выявил шесть доминантных локусов устойчивости (RFO1-RFO6). Клонирование гена RFO1 показало, что он идентичен ранее обнаруженному гену *Arabidopsis thaliana* WAKL22 (wall-associated kinase-like kinase), который кодирует рецептор-подобную киназу [20]. Данных по устойчивости сахарной свеклы к семейству фитопатогенных грибов *Fusarium* sp.

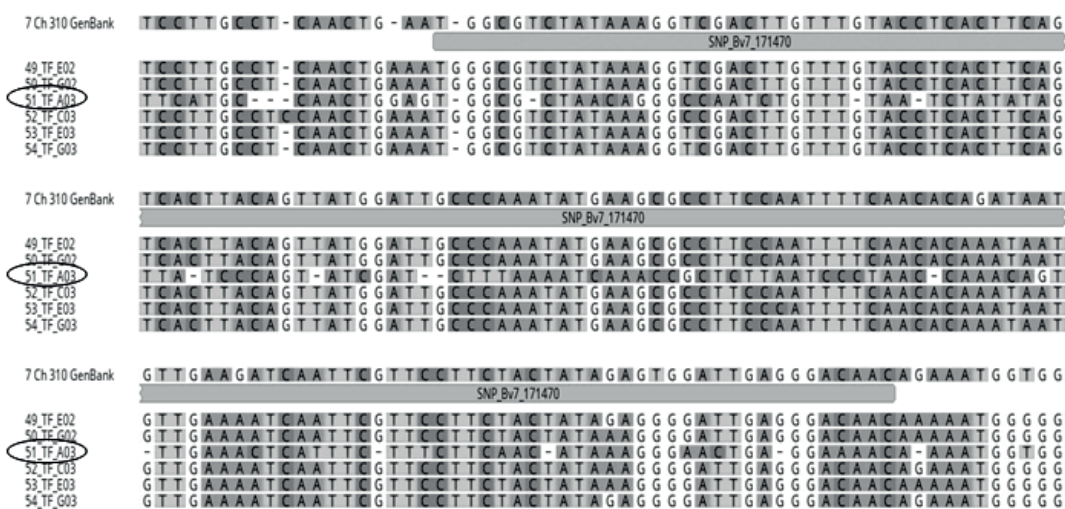


Рис. 3 – Фрагмент выравнивания нуклеотидных последовательностей полученных ДНК-ампликонов

Дорожки: 7Ch 310 – генотип № HQ709091.1 (GenBank, NCBI), 49 – МС (Льговская OCC), 50 – Оп 2х (Льговская OCC), 51 - Оп 4х (Льговская OCC), 52 – Митика, 53 – Кариока, 54 – гибрид Льговской селекции.

очень мало. И изучается она больше по работе киназ, участвующих в формировании иммунного ответа на стресс. Работа Biancardi с соавторами по выявлению однонуклеотидных замен – это начальный шаг для более детального анализа молекулярно-генетических механизмов устойчивости к биотическим стрессам, в частности, к *Fusarium oxysporum* [5].

В нашей работе приведены два идентифицированных маркера SNP: SNP_Bv2_043450 и SNP_Bv7_171470 в генах Bv2_043450_zhxc и Bv7_171470_ojty, соответственно, выявленные в исходных материалах сахарной свеклы селекции ВНИИСС и гибридах иностранной селекции. Данные генотипы можно включать в селекционный процесс при получении новых устойчивых материалов.

Заключение

В результате изучения молекулярных вариаций гена SE2, ответственного за экспрессию кислой хитиназы, идентифицированы восемь однонуклеотидных замен (3 (Т/С, 2 С/Г, А/Г, Г/А, С/Т) и 3 вставки (нуклеотид А) в растениях гибрида сахарной свеклы Шаннон (чувствительный генотип). Вышеперечисленные SNPs, предположительно, приводят к преодолению устойчивости (вследствие замещения аминокислотной единицы в белковой молекуле), что, в свою очередь, приводит к ослаблению работы адаптационных механизмов растений. В локусах (хромосомы 2 и 7), участвующих в формировании устойчивости к фузариозной гнили, также выявлены SNPs в материалах отечественной селекции и иностранных гибридах. Большим

разнообразием характеризовался тетраплоидный опылитель селекции Льговской OCC (каталожный номер 35). Таким образом, сконструированные нами праймеры Fus1F/R, 2Ch300 F/R и 7Ch310 F/R можно рекомендовать для начальной оценки селекционного материала *Beta vulgaris* L. на устойчивость к фузариозным гнилям. Это имеет важное теоретическое и практическое значение, так как позволяет на ранних этапах селекционного процесса отбирать толерантные к данной болезни генотипы.

Библиографический список

1. Kagami, H. Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) / H. Kagami, M. Kurata, H. Matsuhira // *Methods Mol. Biol.* - 2015. - Vol. 1223. - P. 335–347.
2. Evaluating Inoculation Methods to Infect Sugar Beet with *Fusarium oxysporum* f. *betae* and *F. secorum* / X. Lai, A. Qi, Y. Liu, L. Del Río Mendoza, Z. Liu, Z. Lin, M. Khan // *Plant Dis.* - 2020. - Vol. 104(5). - P. 1312-1317. - doi: 10.1094/PDIS-09-19-1895-RE.
3. Genetic and Genomic Tools to Assist Sugar Beet Improvement: The Value of the Crop Wild Relatives / F. Monteiro, L. Frese, S. Castro, M. Duarte, O. Paulo, J. Loureiro, M. Romeiras // *Front Plant Sci.* - 2018. - Vol. 9. – P. 74. - doi.org/10.3389/fpls.2018.00074
4. Disease Resistance Gene Analogs (RGAs) in Plants / M. Sekhwal, Li. Pingchuan, I. Lam, X. Wang, S. Cloutier, F. You // *Int. J. Mol. Sci.* - 2015. - Vol.16. - P. 19248-19290. - doi: 10.3390/ijms160819248
5. Molecular markers for improving control of soil-borne pathogen *Fusarium oxysporum* in sugar beet / D. C. Lucchi, P. Stevanato, L. Hanson, J. Mc Grath, L. Panella, M. D. Biaggi, C. Broccanello,

- M. Bertaggia, L. Sella, G. Concheri // *Euphytica*. - 2017. - Vol. 213. – P. 71. - doi 10.1007/s10681-017-1859-7
6. Larson, R. L. Characterization of protein changes associated with sugar beet (*Beta vulgaris*) resistance and susceptibility to *Fusarium oxysporum* / R. L. Larson, A. L. Hill, A. Nuñez // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. - 2007. -Vol. 55(19). - P. 7905–7915. - DOI 10.1021/jf070876q
7. Nagpure, A. Chitinases: in agriculture and human healthcare / A. Nagpure, B. Choudhary, R. Gupta // *Critical Reviews in Biotechnology*. - 2014. - Vol. 34. – Iss. 3. - P. 215-232. - doi: 10.3109/07388551.2013.790874
8. Field performance of chitinase transgenic silver birches (*Betula pendula*): resistance to fungal diseases / H. Pasonen, Y. Seppänen, A. Degefu, K. Rytönen, A. Pappinen // *Theor Appl Genet*. - 2004. - Vol. 109(3). - P. 562-570. - DOI: 10.1007/s00122-004-1650-8
9. Two sugar beet chitinase genes, BvSP2 and BvSE2, analysed with SNP Amplifluor-like markers, are highly expressed after *Fusarium* root rot inoculation and field susceptibility trial / R. Yezhebeyeva, A. Abekova, K. Konysbekov, S. Bastaubayeva, A. Kabdrahmanova, A. Absattrova, Y. Shavrukov // *Peer J*. - 2018. - Vol. 6. - P. 2-19. - doi: 10.7717/peerj.5127
10. Major latex protein-like encoding genes contribute to *Rhizoctonia solani* defense responses in sugar beet / L. Holmquist, F. Dörfors, J. Fogelqvist, J. Cohn, T. Kraft, C. Dixelius // *Molecular Genetics and Genomics*. - 2021. - Vol. 296. - P. 155–164. - doi.org/10.1007/s00438-020-01735-0
11. Sources of resistance to diseases of sugar beet in related *Beta* germplasm / M. C. Luterbacher, M. J. C. Asher, W. Beyer, G. Mandolino, O. E. Scholten, L. Frese, E. Biancardi, P. Stevanato, W. Mechelke, O. Slyvchenko // *Euphytica*. - 2005. - Vol. 141. - P. 49–63.
12. Urbach, J. The NBS-LRR architectures of plant R-proteins and metazoan NLRs evolved in independent events / J. Urbach, F. Ausubel // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. - 2017. - Vol. 114. - P. 1063-1068. - doi: 10.1073/pnas.1619730114
13. Abd-El-Khair, H. Evaluation of five sugar beet varieties for root-knot nematode and root-rot fungal infection / H. Abd-El-Khair, A. Abd-El-Fattah, El-Nagdi // *Archiv fur Phytopathologie und Pflanzenschutz*. - 2013. - Vol. 46(18). - P. 2163–2173. - doi: 10.1080/03235408.2013.785660
14. Abo-Elnaga, H. Differentiation in protein patterns in *Fusarium* sp. causing root rot and damping off diseases in sugar beet and wheat and their relation to pathogenicity / H. Abo-Elnaga, K. Amein // *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*. - 2011. - Vol. 5. - P. 683–692.
15. Major latex protein-like encoding genes contribute to *Rhizoctonia solani* defense responses in sugar beet / L. Holmquist, F. Dörfors, J. Fogelqvist, J. Cohn, T. Kraft, C. Dixelius // *Mol Genet Genomics*. - 2021. - Vol. 296(1). - P. 155-164. - doi:10.1007/s00438-020-01735-0
16. Nalbandyan, A. A. Study of the acid chitinase SE2 gene in sugar beet genotypes / A. A. Nalbandyan, A. S. Hussein, T. P. Fedulova, T. S. Rudenko, N. R. Mikheeva, G. A. Selivanova // *Agrarian science*. - 2021. - Vol. 348(4). - P. 88–90. - doi.org/10.32634/0869-8155-2021-348-4-88-90
17. A modified SDS-based DNA extraction method from raw soybean / Y. Xia, F. Chen, Y. Du, Ch. Liu, G. Bu, Y. Xin, B. Liu // *Bioscience Reports*. - 2019. – Iss. 39. - P. 20182271. - doi.org/10.1042/BSR20182271
18. Nowicki, M. Massively Parallel Implementation of Sequence Alignment with Basic Local Alignment Search Tool Using Parallel Computing in Java Library / M. Nowicki, D. Bzhalava, P. Bała // *J Comput Biol*. - 2018. - Vol. 25(8). - P. 871-881. - doi: 10.1089/cmb.2018.0079
19. Identification and mapping of expressed genes associated with the 2DL QTL for fusarium head blight resistance in the wheat line Wuhan 1 / X. Hu, H. Rocheleau, C. McCartney, C. Biselli, P. Bagnaresi, M. Balcerzak, G. Fedak, Z. Yan, G. Valè, S. Khanizadeh, T. Ouellet // *BMC genetics*. - 2019. - Vol. 20(1). – P. 47. – URL:https://doi.org/10.1186/s12863-019-0748-6
20. Shen, Y. *Arabidopsis thaliana* resistance to *Fusarium oxysporum* 2 implicates tyrosine-sulfated peptide signaling in susceptibility and resistance to root infection / Y. Shen, A. C. Diener // *PLoS Genet*. - 2013. - Vol. 9(5). – P. e1003525. - doi: 10.1371/journal.pgen.1003525.

IDENTIFICATION OF NEW SNPs IN GENES/LOCI OF RESISTANCE TO FUSARIOSIS AND CHITINASE

Nalbandyan A. A.^{*}, Rudenko T. S., Fomina A. S.
Federal State Budgetary Scientific Institution "All-Russian Research Institute of
Sugar Beetroot and Sugar named after. A.L. Mazlumov"
Russian Federation, 396030, Voronezh region, Ramonskiy district, VNIIS v., 86 8(47340)53327
^{*}e-mail: arpnal@rambler.ru

Key words: sugar beetroot, fusariosis, resistance gene, single nucleotide polymorphism, PCR

The aim of this work is to test specific primers FusA1F/R, 2Ch300F/R, and 7Ch310F/R to study SE2 gene responsible for expression of acid chitinase in stressful situations, and loci that ensure resistance of sugar beetroot breeding material to *Fusarium* rot. Material for the study was sugar beetroot plants of domestic and foreign selection. To confirm the connection of SE2 gene (localized on chromosome 3) which controls stable level of acid chitinase with resistance of sugar beetroot to root rot, ten samples of sugar beetroot were typed using molecular genetic marker FusA1. Two 600 b.p. and 400 b.p. DNA fragments in all studied genotypes, except wild beetroot plants (*Beta corolliflora* Zoss.) were identified. As a result of the studies of SE2 gene, eight single nucleotide substitutions (3 T/C, 2 C/G, A/G, G/A, C/T) and three single nucleotide insertions (nucleotide A) were identified in plants of Shannon foreign hybrid compared to the resistant genotype. As for loci encoding protective proteins (regions of the second and seventh chromosomes) and involved in formation of resistance to *Fusarium* rot, SNPs were also found in domestic breeding materials and foreign hybrids. The Geneious Prime tool was used to analyze and align the sequenced sequences.

Bibliography:

1. Kagami, H. Sugar beet (*Beta vulgaris* L.) / H. Kagami, M. Kurata, H. Matsuhira // *Methods Mol. Biol.* - 2015. - Vol. 1223. - P. 335–347.
2. Evaluating Inoculation Methods to Infect Sugar Beet with *Fusarium oxysporum* f. *betae* and *F. secorum* / X. Lai, A. Qi, Y. Liu, L. Del Río Mendoza, Z. Liu, Z. Lin, M. Khan // *Plant Dis.* - 2020. - Vol. 104(5). - P. 1312-1317. - doi: 10.1094/PDIS-09-19-1895-RE.
3. Genetic and Genomic Tools to Assist Sugar Beet Improvement: The Value of the Crop Wild Relatives / F. Monteiro, L. Frese, S. Castro, M. Duarte, O. Paulo, J. Loureiro, M. Romeiras // *Front Plant Sci.* - 2018. - Vol. 9. - R. 74. - doi.org/10.3389/fpls.2018.00074
4. Disease Resistance Gene Analogs (RGAs) in Plants / M. Sekhwal, Li. Pingchuan, I. Lam, X. Wang, S. Cloutier, F. You // *Int. J. Mol. sci.* - 2015. - Vol.16. - P. 19248-19290. - doi: 10.3390/ijms160819248
5. Molecular markers for improving control of soil-borne pathogen *Fusarium oxysporum* in sugar beet / D. C. Lucchi, P. Stevanato, L. Hanson, J. Mc Grath, L. Panella, M. D. Biaggi, C. Broccanello, M. Bertaggia, L. Sella, G. Concheri // *Euphytica.* - 2017. - Vol. 213. - R. 71. - doi 10.1007/s10681-017-1859-7
6. Larson, R. L. Characterization of protein changes associated with sugar beet (*Beta vulgaris*) resistance and susceptibility to *Fusarium oxysporum* / R. L. Larson, A. L. Hill, A. Nunˆez // *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* - 2007. -Vol. 55(19). - P. 7905–7915. - DOI 10.1021/jf070876q
7. Nagpure, A. Chitinases: in agriculture and human healthcare / A. Nagpure, B. Choudhary, R. Gupta // *Critical Reviews in Biotechnology.* - 2014. - Vol. 34. - Iss. 3. - P. 215-232. - doi: 10.3109/07388551.2013.790874
8. Field performance of chitinase transgenic silver birches (*Betula pendula*): resistance to fungal diseases / H. Pasonen, Y. Seppänen, A. Degefu, K. Rytönen, A. Pappinen // *Theor Appl Genet.* - 2004. - Vol. 109(3). - P. 562-570. - DOI: 10.1007/s00122-004-1650-8
9. Two sugar beet chitinase genes, BvSP2 and BvSE2, analyzed with SNP Amplifluor-like markers, are highly expressed after *Fusarium* root rot inoculation and field susceptibility trial / R. Yezhebayeva, A. Abekova, K. Konysbekov, S. Bastaubayeva, A. Kabdrakhmanova, A. Absattrova, Y. Shavrukov // *Peer J.* - 2018. - Vol. 6. - P. 2-19. - doi: 10.7717/peerj.5127
10. Major latex protein like encoding genes contribute to *Rhizoctonia solani* defense responses in sugar beet / L. Holmquist, F. Dörfors, J. Fogelqvist, J. Cohn, T. Kraft, C. Dixelius // *Molecular Genetics and Genomics.* - 2021. - Vol. 296. - P. 155–164. - doi.org/10.1007/s00438-020-01735-0
11. Sources of resistance to diseases of sugar beet in related *Beta* germplasm / M. C. Luterbacher, M. J. C. Asher, W. Beyer, G. Mandolino, O. E. Scholten, L. Frese, E. Biancardi, P. Stevanato, W. Mechelke, O. Slyvchenko // *Euphytica.* - 2005. - Vol. 141. - P. 49–63.
12. Urbach, J. The NBS-LRR architectures of plant R-proteins and metazoan NLRs evolved in independent events / J. Urbach, F. Ausubel // *Proc. Natl. Acad. sci. USA.* - 2017. - Vol. 114. - P. 10663-10668. - doi: 10.1073/pnas.161973011413. Abd-El-Khair, H. Evaluation of five sugar beet varieties for root-knot nematode and root-rot fungal infection / H. Abd-El-Khair, A. Abd-El-Fattah, El-Nagdi // *Archiv fur Phytopathologie und Pflanzenschutz.* - 2013. - Vol. 46(18). - P. 2163–2173. - doi: 10.1080/03235408.2013.785660
14. Abo-Elnaga, H. Differentiation in protein patterns in *Fusarium* sp. causing root rot and damping off diseases in sugar beet and wheat and their relation to pathogenicity / H. Abo-Elnaga, K. Amein // *Australian Journal of Basic and Applied Sciences.* - 2011. - Vol. 5. - P. 683–692.
15. Major latex protein-like encoding genes contribute to *Rhizoctonia solani* defense responses in sugar beet / L. Holmquist, F. Dörfors, J. Fogelqvist, J. Cohn, T. Kraft, C. Dixelius // *Mol Genet Genomics.* - 2021. - Vol. 296(1). - P. 155-164. - doi:10.1007/s00438-020-01735-0
16. Nalbandyan, A. A. Study of the acid chitinase SE2 gene in sugar beet genotypes / A. A. Nalbandyan, A. S. Hussein, T. P. Fedulova, T. S. Rudenko, N. R. Mikheeva, G. A. Selivanova // *Agrarian science.* - 2021. - Vol. 348(4). - P. 88–90. - doi.org/10.32634/0869-8155-2021-348-4-88-90
17. A modified SDS-based DNA extraction method from raw soybean / Y. Xia, F. Chen, Y. Du, Ch. Liu, G. Bu, Y. Xin, B. Liu // *Bioscience Reports.* - 2019. - Iss. 39. - R. 20182271. - doi.org/10.1042/BSR20182271
18. Nowicki, M. Massively Parallel Implementation of Sequence Alignment with Basic Local Alignment Search Tool Using Parallel Computing in Java Library / M. Nowicki, D. Bzhalava, P. Bała // *J Comput Biol.* - 2018. - Vol. 25(8). - P. 871-881. - doi: 10.1089/cmb.2018.0079
19. Identification and mapping of expressed genes associated with the 2DL QTL for *Fusarium* head blight resistance in the wheat line Wuhan 1 / X. Hu, H. Rocheleau, C. McCartney, C. Biselli, P. Bagnaresi, M. Balcerzak, G Fedak, Z. Yan, G. Valè, S. Khanizadeh, T. Ouellet // *BMC genetics.* - 2019. - Vol. 20(1). - R. 47. - URL: <https://doi.org/10.1186/s12863-019-0748-6>
20. Shen, Y. *Arabidopsis thaliana* resistance to *Fusarium oxysporum* 2 implicates tyrosine-sulfated peptide signaling in susceptibility and resistance to root infection / Y. Shen, A. C. Diener // *PLoS Genet.* - 2013. - Vol. 9(5). - R. e1003525. - doi: 10.1371/journal.pgen.1003525.