Научная статья УДК 634.1:631.52

doi: http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i3pp71-76

Маркерный отбор по генам *Rvi6*, *Md-ACS1*, *Md-ACO1* перспективных для селекции образцов генофонда яблони

Елена Владимировна Ульяновская, Евгения Анатольевна Чернуцкая, Татьяна Валерьевна Богданович, Илья Владимирович Степанов

Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия, г. Краснодар, Россия, e-mail: ulyanovskaya e@mail.ru

Аннотация. В статье представлены данные молекулярно-генетического анализа коллекционных сортов яблони (Malus × domestica Borkh.) и нового гибридного материала различного генетического и эколого-географического происхождения по гену Rvi6 устойчивости к парше (Venturia inaequalis (Cooke) G. Winter) и целевым аллелям генов Md-ACS1, Md-ACO1, обусловливающих повышенную лежкость плодов. При выполнении научно-исследовательской работы использован метод СТАВ с модификацией ранее в СКФНЦСВВ для более полной очистки проб ДНК при экстракции. В работе использовали SCAR-маркеры: Rvi6 – VfC; Md-ACS1, Md-ACO1. Эксперимент проводили с участием 26 образцов яблони, среди них 11 новых отечественных сортов, 2 сорта зарубежной селекции и 13 гибридных форм селекции СКФНЦСВВ. С помощью маркерного отбора выделены носители гена Rvi6 устойчивости к парше: Надежное, Михсан, Гайто Газданов и 5 гибридов, большинство из которых созданы с участием сорта Modi. Ценное для селекции аллельное сочетание Md-ACO1-1/1 выявлено у сорта Red Delicious Кіпд Roat. Выделены носители сочетания генов Rvi6, Md-ACS1-2/2: сорт Надежное и гибридная форма 17/1-7-26 из семьи Champion × Modi; данные генотипы отечественной селекции перспективны для включения в дальнейший селекционный процесс.

Ключевые слова: яблоня; ген; ДНК-анализ; устойчивость к парше; лежкость плодов

Для цитирования: Ульяновская Е. В., Чернуцкая Е. А., Богданович Т. В., Степанов И. В. Маркерный отбор по генам *Rvi6*, *Md-ACS1*, *Md-ACO1* перспективных для селекции образцов генофонда яблони // Аграрный научный журнал. 2024. № 3. С. 71–76. http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i3pp71-76.

AGRONOMY

Original article

Marker selection for genes Rvi6, Md-ACS1, Md-ACO1 promising for breeding of apple gene pool samples

Elena V. Ulyanovskaya, Evgenia A. Chernutskaya, Tatyana V. Bogdanovich, Ilya V. Stepanov

North Caucasian Federal Scientific Center of Horticulture, Viticulture, Wine-making, Russia, Krasnodar, Russia, e-mail: ulyanovskaya e@mail.ru

Abstract. The article presents data of molecular-genetic analysis of collection varieties of apple (Malus × domestica Borkh.) and new hybrid material of various genetic and ecological-geographical origin on the gene Rvi6 resistance to scab (Venturia equalinais (Cooke) G. Winter) and target alleles of the Md-ACS1, Md-ACO1 genes, which cause increased fruit density. During the research work, the CTAB method was used with a modification earlier in the NCFSCHVW for more complete purification of DNA samples during extraction. SCAR-markers were used: Rvi6 – VfC; Md-ACS1, Md-ACO1. The experiment was carried out with the participation of 26 samples of apple trees, among them: 11 new domestic varieties, 2 varieties of foreign breeding and 13 hybrid forms of breeding NCFSCHVW. With the help of marker selection, carriers of the gene Rvi6 resistant to scab have been selected: Nadezhnoye, Mikhsan, Gayto Gazdanov and 5 hybrids, most of which are created with the participation of the variety Modi. An allele combination of Md-ACO1-1/1 has been found in Red Delicious King Roat. Combinations of Rvi6, Md-ACS1-2/2 genes have been identified: Nadezhnoye and hybrid form 17/1-7-26 from the Champion × Modi family; these genotypes of domestic breeding are promising for inclusion in the further breeding process.

Keywords: apple tree; gene; DNA analysis; scab resistance; keeping quality of fruits

For citation: Ulyanovskay E. V., Chernutskaya E. A., Bogdanovich T. V., Stepanov I. V. Marker selection for genes *Rvi6*, *Md-ACS1*, *Md-ACO1* promising for breeding of apple gene pool samples. *Agrarnyy nauchnyy zhurnal = Agrarian Scientific Journal*. 2024;(3):71–76.(In Russ.). http://dx.doi.org/10.28983/asj.y2024i3pp71-76.

71

АГРАРНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ



[©] Ульяновская Е. В., Чернуцкая Е. А., Богданович Т. В., Степанов И. В., 2024

Введение. Создание сортов яблони, обладающих стабильно высокой, генетически обусловленной устойчивостью к парше — важнейший приоритет современной мировой селекции [2, 3, 6, 9, 10, 15, 16]. Кроме того, желательно совмещение у новых сортов устойчивости к грибным заболеваниям и коммерчески значимых показателей плодов яблони [14].

В условиях усиливающегося влияния на плодовое растение яблони негативного воздействия комплекса абиотических стрессовых факторов и биопатогенов, серьезных проблем экологии и охраны окружающей среды, изменения технологических требований к культивированию сортов для получения стабильной и качественной продукции, а также наличия санкций ряда государств возрастает роль отечественной селекции. Ускорить процесс создания адаптивных, устойчивых к основным грибным заболеваниям сортов яблони с высокими качественными показателями и коммерческой привлекательностью плодов для развития отечественного садоводства позволяет использование современных методов оценки исходного и селекционного материала, в том числе методов ДНК-маркирования. Использование данного метода в ряде научных учреждений России перспективно для усиления эффективности процесса селекции многолетней культуры [1, 7, 12]. Потенциал использования технологии ДНК-маркирования для эффективного выявления особенно ценных для селекции генотипов яблони, структурирования, развития и пополнения идентифицированных коллекций целевых носителей и комплексных доноров приоритетных агробиологических признаков значителен.

Цель исследований — маркерный отбор перспективных генотипов яблони на основе изучения аллельного полиморфизма генов Md-ACS1, Md-ACO1 (качество плодов), Rvi6 (устойчивость к $Venturia\ inaequalis\ (Cooke)\ G.$ Winter) для повышения эффективности процесса селекции.

Материалы и методы. Научные исследования проводили в лабораторных и полевых условиях в Северо-Кавказском федеральном научном центре садоводства, виноградарства, виноделия (СКФНЦСВВ, г. Краснодар) согласно программам и методикам по сортоизучению и селекции [4, 5, 8, 11]. Объекты исследований − 26 генотипов яблони (Malus × domestica Borkh.) разного генетического и эколого-географического происхождения. Среди изученных образцов генофонда 11 новых отечественных сортов, 2 сорта зарубежной селекции и 13 гибридных форм селекции СКФНЦСВВ. В том числе среди сортов российской селекции 7 получены в СКФНЦСВВ, 2 селекции СОСС (Ставропольской ОСС) и СКФНЦСВВ, 2 селекции СКФНЦСВВ, ВНИИСПК (Всероссийский НИИ селекции плодовых культур) и СОСС. Образцы яблони для выполнения ДНК-анализа отбирали в коллекционных и селекционных насаждениях; использовали ЦКП «Исследовательско-селекционная коллекция генетических ресурсов садовых культур», который расположен в ОПХ «Центральное» г. Краснодара. Сады 2004—2017 гг. посадки, подвой М9, схема посадки 4×1,5×1,5 м.

Метод СТАВ, усовершенствованный ранее в СКФНЦСВВ для более полной очистки проб ДНК от полифенольных соединений на основе применения поливинилпирролидона в 1%-й концентрации в лизирующем буфере, использовали для экстракции ДНК [13]. ПЦР проходила при следующих условиях: концентрация реактивов ПЦР смеси — буфер 1X, dNTP = 0.24 мМ, Taq 1U, SSR-праймеры (прямой и обратный) — 0.16 мкМ каждого, тотальная ДНК — 40 нг. Продукты амплификации SCAR-маркеров идентифицировали в 2%-м агарозном геле.

Для идентификации в образцах яблони наличия искомых генов и аллелей генов были использованы SCAR-маркеры, сцепленные с ними (таблица 1).

Для поиска условий проведения амплификации и референсных аллелей по задействованным в проекте маркерам использовали базу данных HiDRAS и публикации оригинаторов маркеров. Обработку данных осуществляли в программе GeneMarker V3.0.1.

Результаты исследований. К достаточно сложной задаче следует отнести работу по совмещению в создаваемом генотипе яблони высокого качества плодов и иммунитета к парше. Зачастую лучшие образцы мирового сортимента яблони по качеству и длительности лежкости плодов (например, сорт Fuji и его многочисленные яркоокрашенные клоны) не обладают иммунитетом к парше, а иммунные к парше сорта не имеют такого качества плодов. Поэтому ускорить селекционную работу в данном направлении помогает создание признаковых, особенно идентифицированных, субколлекций.



ГРАРНЫЙ НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

Таблица 1 – Краткая характеристика маркеров генов яблони *Rvi6*, *Md-ACS1*, *Md-ACO1* Table 1 – Brief characteristics of apple gene markers *Rvi6*, *Md-ACS1*, *Md-ACO1*

Ген	Маркер	Температура отжига, °С	Диапазон длин фраг- ментов, п.н	Целевой фрагмент	Последовательность праймеров, 5'-3'	
Rvi6	VfC	58	286, 646, 484	286	F: GGTTTCCAAAGTCCAATTCC R: GTTAGCATTTTGAGTTGAC	
Md-ACO1		65	522, 584	522	TCCCCCAATGCACCACTCCA GATTCCTTGGCCTTCATAGCTTC	
Md-ACSI		58	513, 651	651	AGAGAGATGCCATTTTTGTTCGTAC CCTACAAACTTGCGTGGGGATTATAAGTGT	

Полученные данные фенотипирования по основным хозяйственно-значимым признакам позволили сформировать выборку из 26 образцов яблони для ДНК-анализа с максимальным набором значимых агробиологических показателей и повышенным потенциалом адаптивности к стрессовым абиотическим факторам региона возделывания. Среди исследуемых образцов созданные в СКФНЦСВВ гибриды, полученные в результате гибридизации высококачественных зарубежных и отечественных генотипов осеннего, зимнего и позднезимнего срока созревания (Liberty × Renuartsiv, Кармен × Gemeni, Champion × Modi и др.).

Изучение коллекционных сортов и новых селекционных образцов яблони показало, что SCAR-маркер VfC1F+VfC2, сцепленный с геном Rvi6, идентифицирован в геноме 3 новых отечественных сортов: Надежное, Михсан, Гайто Газданов и 5 гибридов из семей: $12/1-21-63 \times Modi$, Champion \times Modi, $12/1-20-56 \times Fujion$ (таблица 2). Следует отметить, что большинство гибридов (80 %), выделенных по хозяйственным признакам и имеющих ген Rvi6, получены с участием отцовской родительской формы Modi.

Таблица 2 – Результаты ДНК-анализа целевых аллелей искомых маркеров генов яблони *Rvi6*, *Md-ACS1*, *Md-ACO1* Table 2 – Results of DNA analysis of target alleles of the desired apple gene markers *Rvi6*, *Md-ACS1*, *Md-ACO1*

№	Название генотипа	Родительские формы	Rvi6	Наличие аллелей <i>Md-ACS1</i>	Наличие аллелей <i>Md-ACO1</i>
1	17/1-6-2	Кармен × Gemeni	_	1/1	1/2
2	17/1-6-32	Champion × Modi	_	1/1	1/2
3	17/1-6-57	Liberty × Renuartsiv	_	1/2	1/2
4	17/1-6-65	12/1-21-63 × Modi	+	1/2	1/2
5	17/1-6-74	12/1-21-63× Modi	+	1/2	1/2
6	17/2-6-9	12/1-21-24 × Arksharm	_	1/1	1/2
7	17/2-6-2	Champion × Modi	+	1/1	1/2
8	17/1-7-2	12/1-21-24 × Arksharm	_	1/1	1/2
9	17/1-7-3	12/1-21-24 × Arksharm	-	1/2	1/2
10	17/1-7-16	12/1-20-56 × Fujion	+	1/2	1/2
11	17/1-7-18	12/1-20-56 × Fujion	-	1/2	1/2
12	17/1-7-26	Champion × Modi	+	2/2	1/2
13	17/1-7-27	Champion × Modi	-	1/1	1/2
14	Багрянец Кубани	Клон сорта Кубанское багряное	_	1/2	1/2
15	Ренет Платона	Клон сорта Ренет Симиренко	_	1/2	1/2
16	Прикубанское	Red Delicious × Opalescent	_	2/2	1/2
17	Памяти есаулу (Rosemary × Prima) × Кандиль краснодарский		-	1/2	1/2
18	Fuji (к)	Ralls Janet × Red Delicious	_	2/2	1/1



74

№	Название генотипа	Родительские формы	Rvi6	Наличие аллелей <i>Md-ACS1</i>	Наличие аллелей <i>Md-ACO1</i>
19	Егоровское	Redfree × Papirovka Tetraploid	_	1/2	1/2
20	Солнечное	Клон сорта Celeste	_	1/2	1/2
21	Делишес Марии	Delicious spur × Kidd's Orange Red	-	2/2	1/2
22	Зимнее утро	Liberty × Scarlett	_	1/2	1/2
23	Михсан	Liberty × Golden Delicious	+	1/1	1/2
24	Надежное	Idared × Balcgard 0247 E	+	2/2	1/2
25	Red Delicious King Roat	Клон сорта Red Delicious	_	1/2	1/1
26	Гайто Газданов	Golden Delicious × Liberty	+	1/1	1/2

Примечание: - наличие наиболее значимых для селекции аллелей генов Md-ACS1 и Md-ACO1 выделено полужирным шрифтом; «+» – выявлено наличие целевых аллелей генов устойчивости к парше; «-» – не выявлено наличие целевых аллелей генов устойчивости к парше

Возможны два варианта аллеля: *Md-ACS1-2* (655 п.н.) и *Md-ACS1-1* (489 п.н.). Для дальнейшей селекции значительную ценность имеет поиск генотипов, гомозиготных по аллелю 2 гена Md-ACSI (вариант Md-ACSI-2/2), а также гетерозиготных (Md-ACSI-1/2). Данные аллельные сочетания обусловливают высокую и повышенную лежкость плодов; особенно перспективно аллельное сочетание Md-ACS1-2/2, выявленное наряду с контрольным сортом Fuji у гибридной формы 17/1-7-26 (Champion × Modi) и сортов Делишес Марии и Надежное. Особенно перспективны для селекции Надежное и 17/1-7-26, обладающие также наличием гена иммунитета к парше Rvi6 и высокими показателями качества плодов, в том числе яркая интенсивная красная покровная окраска, гармоничный кисло-сладкий вкус, округлая (17/1-7-26) или эффектная округло-коническая форма (Надежное), см. рисунок.





Сорт Надежное

Гибрид 17/1-7-26

Генотипы яблони отечественной селекции – носители генов Md-ACS1-2/2 (высокая лежкость плодов), Rvi6 (устойчивость к парше) Apple genotypes of domestic selection – carriers of the genes Md-ACS1-2/2 (high shelf life of fruits), Rvi6 (resistance to scab)

Изучение аллельного разнообразия яблони по гену *Md-ACO1* (лежкость плодов) выявило на-

2024

личие двух вариантов аллеля: Md-ACO1-2 (587 п.н.) и Md-ACO1-1 (525 п.н.). Большинство образцов (24 среди изученных 26) гетерозиготны, имеют аллельный набор 1/2 по гену *Md-ACO1*, что практически не сказывается на уровне синтеза этилена и соответственно на лёжкости плодов. Гомозиготны по аллелю 1 искомого гена сорт Red Delicious King Roat и контроль Fuji.

Заключение. Маркерный отбор по генам Rvi6, Md-ACS1, Md-ACO1 позволил пополнить идентифицированный состав генофонда яблони СКФНЦСВВ, а также выделить перспективные для дальнейшей селекции образцы. Выявлены носители гена Rvi6 устойчивости к парше: Надежное, Михсан, Гайто Газданов и 5 гибридов, большинство из которых созданы с участием Modi. Ценное аллельное сочетание Md-ACO1-1/1 выявлено у сорта Red Delicious King Roat. Согласно полученным данным среди исследуемых образцов наиболее перспективны для включения в селекционный процесс выделенные носители генов Rvi6, Md-ACS1-2/2: новый сорт яблони зимнего срока созревания Надежное и гибридная форма 17/1-7-26 из семьи Champion × Modi.

Исследование выполнено за счет средств гранта Российского научного фонда и Кубанского научного фонда № 22-26-20101, https://rscf.ru/project/22-26-20101.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. Идентификация генов устойчивости яблони к мучнистой росе Pl1 и Pl2 и парше Vf и Vm у сортов яблони из коллекций генетических ресурсов крымского полуострова / И. И. Супрун [и др.] // Научные труды Северо-Кавказского зонального научно-исследовательского института садоводства и виноградарства. 2015. Т. 7. С. 15–19. http://kubansad.ru/media/uploads/files/nauchnye trudy skzniisiv/ tom 7/2.pdf
- 2. Лучшие сорта яблони, созданные во ВНИИСПК для современного садоводства / Е. Н. Седов [и др.] // Современное садоводство. 2021. № 2. С. 1–13. https://www.doi.org/10.24411/23126701 2021 0201.
- 3. Новые сорта яблони для современного садоводства / А. Н. Юшков [и др.] // Актуальные проблемы общества, экономики и права в контексте глобальных вызовов: материалы XIII Междунар. науч.-практ. конф., Москва, 07 сентября 2022. СПб.: Печатный цех; 2022. С. 135–139. https://elibrary.ru/download/ elibrary 49504968 10783822.pdf.
 - 4. Программа и методика сортоизучения плодовых, ягодных и орехоплодных культур. Орел, 1999. 606 с.
- 5. Программа Северо-Кавказского центра по селекции плодовых, ягодных, цветочно-декоративных культур и винограда на период до 2030 года. Краснодар, 2013. 202 с.
- 6. Савельева Н. Н., Земисов А. С. Успехи селекции яблони колонновидной в ФГБНУ ФНЦ им. И.В. Мичурина // Селекция и сорторазведение садовых культур. 2020. Т. 7. № 1–2. С. 134–137. https://www.doi. org/10.24411/2500-0454-2020-11235.
- 7. Савельева Н. Н., Лыжин А. С. Маркер-контролируемый скрининг генотипов яблони с иммунитетом к парше // Аграрная наука. 2019. № 3. С. 135–137. https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-3-135-137.
- 8. Современные методологические аспекты организации селекционного процесса в садоводстве и виноградарстве. Краснодар: СКЗНИИСиВ, 2012. 569 с.
- 9. Сорт яблони Крапач результат новой селекционной методологии / З. А. Козловская [и др.] // Плодоводство. 2020. Т. 32. С. 7-15. https://elibrary.ru/download/elibrary 46552833 35725533.pdf.
- 10. Ульяновская Е. В. Летние сорта яблони: Союз, Золотое летнее, Фея, Фортуна // Плодоводство и виноградарство Юга России. 2020. № 65(5). С. 1–18. https://doi.org/10.30679/2219-5335-2020-5-65-1-18.
- 11. Ускоренное создание иммунных к парше сортов яблони с использованием молекулярно-генетических методов исследования / Е. В. Ульяновская [и др.]. Краснодар, 2011. 55 с.
- 12. МАЅ-метод в создании новых сортов яблони в Беларуси / З. А. Козловская [и др.] // Плодоводство и ягодоводство России. 2018. T. 52. C. 16-20. https://www.plodovodstvo.com/jour/article/view/334/334.
- 13. Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA // Nucleic Acids Research. 1980. Vol.10. P. 4321–4325. https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321.
- 14. Saville R., Olivieri L. Integrated management of diseases and insect pests of tree fruit. Cambridge, 2019. 26 p. https://doi.org/10.1201/9780429266690.
- 15. Ten years of VINQUEST: First insight for breeding new apple cultivars with durable apple scab resistance / A. Patocchi et al. // Plant disease. 2020. Vol. 104. No. 8. P. 2074–2081. https://doi.org/10.1094/ PDIS-11-19-2473-SR.
- 16. Comparative transcriptomes analysis of red- and white-fleshed apples in an F1 Population of Malus sieversii f. niedzwetzkyana crossed with M. domestica 'Fuji' / N. Wang et al. // PLoS ONE. 2015. Vol. 10(7). P. e0133468. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133468.



76

REFERENCES

- 1. Identification of genes resistant to powdery mildew Pl1 and Pl2 and scab Vf and Vm in apple varieties from collections of genetic resources of the Crimean peninsula / I. I. Suprun et al. Scientific Works of the North Caucasus Zone Research Institute of Horticulture and Viticulture. 2015;7:15–19. http://kubansad.ru/media/uploads/files/nauchnye trudy skzniisiv/tom 7/2.pdf (In Russ.).
- 2. The best apple varieties created in VNIISPK for modern gardening / E. N. Sedov et al. *Modern Gardening*. 2021;(2):1–13. https://www.doi.org/10.24411/23126701_2021_0201 (In Russ.).
- 3. New apple varieties for modern gardening / A. N. Yuskov et al. Current problems of society, economy and law in the context of global challenges: Proceedings of the XIII International Scientific and Practical Conference, Moscow, 07 September 2022. St. Petersburg: Printing Shop; 2022. P. 135–139. https://elibrary.ru/download/elibrary_49504968_10783822.pdf (In Russ.).
 - 4. Program and methodology for the study of fruit, berry and nut crops. Orel; 1999. 606 p. (In Russ.).
- 5. Program of the North Caucasus Center for the selection of fruit, berry, flower and ornamental crops and grapes for the period up to 2030. Krasnodar; 2013. 202 p. (In Russ.).
- 6. Savelyeva N. N., Zemisov A. S. Success of selection of apple colonnade in FSSI "I.V. Michurin FSC". *Selection and Sorting of Garden Crops*. 2020;7(1–2): 134–137. https://www.doi.org/10.24411/2500-0454-2020-11235 (In Russ.).
- 7. Savelieva N. N., Lyzhin A. S. Marker-controlled screening of apple tree genotypes with immunity to scab. *Agrarian Science*. 2019;(3):135–137. https://doi.org/10.32634/0869-8155-2019-326-3-135-137 (In Russ.).
- 8. Modern methodological aspects of the organization of the selection process in horticulture and viticulture. Krasnodar: SKZNIISiV; 2012. 569 p. (In Russ.).
- 9. The variety of apple Krapach is the result of the new breeding methodology / Z. A. Kozlovskaya et al. *Fruitgrowing*. 2020;32:7–15. https://elibrary.ru/download/elibrary_46552833_35725533.pdf (In Russ.).
- 10. Ulyanovskaya E.V. Summer apple varieties: Soyuz, Zolotoye letnee, Feya, Fortuna. *Fruit and Viticulture of the South of Russia*. 2020;65(5):1–18. https://doi.org/10.30679/2219-5335-2020-5-65-1-18 (In Russ.).
- 11. Accelerated creation of immune varieties of apple trees with the use of molecular-genetic research methods / E.V. Ulyanovskaya et al. Krasnodar; 2011. 55 p. (In Russ.).
- 12. MAS-method in the creation of new apple varieties in Belarus / Z. A. Kozlovskaya et al. *Fruit and Berry Growing in Russia*. 2018;52:16–20. https://www.plodovodstvo.com/jour/article/view/334/334 (In Russ.).
- 13. Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular weight plant DNA. *Nucleic Acids Research*. 1980;10;4321–4325. https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321.
- 14. Saville R., Olivieri L. Integrated management of diseases and insect pests of tree fruit. Cambridge; 2019. 26 p. https://doi.org/10.1201/9780429266690.
- 15. Ten years of VINQUEST: First insight for breeding new apple cultivars with durable apple scab resistance / A. Patocchi et al. *Plant Disease*. 2020;104(8): 2074–2081. https://doi.org/10.1094/PDIS-11-19-2473-SR.
- 16. Comparative transcriptomes analysis of red- and white-fleshed apples in an F1 Population of Malus sieversii f. niedzwetzkyana crossed with M. domestica 'Fuji' / N. Wang et al. *PLoS ONE*. 2015;10(7):e0133468. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133468.

Статья поступила в редакцию 21.11.2023; одобрена после рецензирования 20.12.2023; принята к публикации 26.12.2023.

The article was submitted 21.11.2023; approved after reviewing 20.12.2023; accepted for publication 26.12.2023.

