

УДК 633.111:577.2

DOI: 10.31367/2079-8725-2019-66-6-55-59

ВЫЯВЛЕНИЕ ГЕНА КОРОТКОСТЕБЕЛЬНОСТИ RHT-B1 В ОБРАЗЦАХ ОЗИМОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ

Н. Т. Купрейшвили, техник-исследователь лаборатории маркерной селекции, kupreshvilin@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-1726-4390;

Н. Н. Вожжова, кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник лаборатории маркерной селекции, nvozhzh@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-2046-4000;

Д. М. Марченко, кандидат сельскохозяйственных наук, зав. отделом селекции озимой пшеницы, ORCID ID: 0000-0002-5251-3903;

Е. В. Ионова, доктор сельскохозяйственных наук, руководитель центра фундаментальных научных исследований, заместитель директора по научной работе, ORCID ID: 0000-0002-2840-6219

ФГБНУ «Аграрный научный центр «Донской»,
347740, Ростовская обл., г. Зерноград, Научный городок, 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

Приведены результаты оценки коллекционного материала озимой мягкой пшеницы по наличию аллелей гена короткостебельности Rht-B1. Выявление образцов, несущих в себе гены короткостебельности, необходимо для использования в селекции сортов озимой пшеницы степного экотипа, имеющих высокую технологичность при уборке. Поиск, идентификация и создание нового высокопродуктивного и короткостебельного исходного материала озимой мягкой пшеницы являются в настоящее время актуальными. Целью нашего исследования являлось выявление аллелей гена короткостебельности Rht-B1 у коллекционных образцов озимой мягкой пшеницы. Исследования проводили в лаборатории маркерной селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской» в 2017 г. Применяли следующие методы исследований: выделение ДНК СТАВ-методом, оценка количества и качества выделенной ДНК на спектрофотометре, выполнение полимеразной цепной реакции, проведение электрофореза на агарозных гелях, детекция ампликонов в ультрафиолете системой гель-фотодокументирования. В результате проведенных исследований при помощи SSR-маркеров было изучено 162 короткостебельных образца озимой мягкой пшеницы различного эколого-географического происхождения. Выявлено 7 образцов озимой мягкой пшеницы с аллелем Rht-B1a, такие как Гром, Краплина, Степовичка и др. Идентифицировано 13 образцов озимой мягкой пшеницы с аллелем Rht-B1b (Rht1), такие как 1765/13, 1816/15, GK Margit и др. Определено 9 образцов озимой мягкой пшеницы с аллелем Rht-B1e (Rht11), такие как GK Margit, Менестрель, 1004/14 и др. Рекомендовано в селекции на короткостебельность использовать образцы озимой мягкой пшеницы, несущие в себе аллели Rht-B1b и Rht-B1e.

Ключевые слова: озимая мягкая пшеница, ген короткостебельности, Rht-B1, коллекционные образцы, ПЦР, электрофорез.

Для цитирования: Купрейшвили Н. Т., Вожжова Н. Н., Марченко Д. М., Ионова Е. В. Выявление гена короткостебельности Rht-B1 в образцах озимой мягкой пшеницы // Зерновое хозяйство России. 2019. № 6(66). С. 55–59. DOI: 10.31367/2079-8725-2019-66-6-55-59.



IDENTIFICATION OF SHORT-STEM GENE RHT-B1 IN THE WINTER SOFT WHEAT SAMPLES

N. T. Kupreyshvily, technician-researcher of the laboratory of the marker breeding, kupreshvilin@mail.ru, ORCID ID: 0000-0002-1726-4390;

N. N. Vozhzhova, Candidate of Agricultural Sciences, senior researcher, head of the laboratory of cell breeding, nvozhzh@gmail.com, ORCID ID: 0000-0002-2046-4000;

D. M. Marchenko, Candidate of Agricultural Sciences, leading researcher, head of the department for winter wheat breeding and seed production, ORCID ID: 0000-0002-5251-3903;

E. V. Ionova, Doctor of Agricultural Sciences, head of the center of fundamental researches, deputy director on science, ORCID ID: 0000-0002-2840-6219

Agricultural Research Center "Donskoy",
347740, Rostov region, Zernograd, Nauchny Gorodok, 3; e-mail: vniizk30@mail.ru

The current paper has presented the estimation results of the collection material of winter soft wheat according to the presence of alleles of short-stem gene Rht-B1. Identification of the samples with short-stem genes is of great necessity in the development of winter wheat varieties of the steppe ecotype with high adaptability to harvesting. Search, identification and development of a new highly productive and short-stem source material of winter soft wheat is of great relevance nowadays. The purpose of our study was to identify alleles of short-stem gene Rht-B1 in the collection samples of winter soft wheat. The study was carried out in the laboratory of the marker breeding of the FSBSI "Agricultural Research Center "Donskoy" in 2017. There were used the following research methods: a DNA extraction by the CTAB-method, estimation of the quantity and quality of the extracted DNA on a spectrophotometer, fulfillment of polymerase chain reaction and agarose gel electrophoresis, detection of amplicons in ultraviolet by gel photodocumentation system. As a result, due to the use of SSR-markers there were studied 162 short-stem samples of winter soft wheat of various ecological and geographical origin. There were identified 7 winter soft wheat samples with the Rht-B1a allele, such as "Grom", "Kraplina", "Stepovichka", etc. and 13 winter soft wheat samples with the Rht-B1b (Rht1) allele, such as "1765/13", "1816/15", "GK Margit", etc. There were identified 9 winter soft wheat samples with the Rht-B1e (Rht11) allele, such as "GK Margit", "Minestrel", "1004/14", etc. It was recommended to use winter soft wheat samples with the Rht-B1b and Rht-B1e alleles when breeding for short stems.

Keywords: winter soft wheat, short-stem gene, Rht-B1, collection samples, PCR, electrophoresis.

Введение. Пшеница занимает одно из ведущих мест в мире среди других зерновых культур. По данным ФАО, доля пшеницы в мировом производстве зерновых культур по состоянию на 2017 г. составляет 25,9%, а Российская Федерация занимает третье место в мире по ее валовому сбору после Китая и Индии (FAO, 2019).

После открытия у пшеницы генов короткостебельности наступила так называемая зеленая революция – период, когда создавались низкорослые сорта, снижающие потери урожая при уборке. Тогда же стали активно изучать их молекулярное строение, плеiotропное влияние и происходящие под влиянием этих генов биохимические процессы.

Немаловажным направлением исследований является изучение распространения генов короткостебельности среди современных сортов, возделываемых в различных климатических зонах (Чеботарь, 2008; Divashuk et al., 2013; Guedira et al., 2010; Knopf et al., 2008).

Знание генетической природы признака «высота растения», по мнению А. Ф. Мережко, является необходимым для выявления доноров низкорослости, уменьшающих длину стебля, не ухудшая при этом продуктивность зерна, и значительно облегчает и ускоряет селекцию на данный признак (Мережко, 1994).

Российские селекционеры уделяют свое внимание поиску, идентификации и созданию нового высокопродуктивного и короткостебельного исходного материала озимой пшеницы и других зерновых культур (Самофалова, 2016; Медведев и др., 2017; Дьячук и др., 2018).

Для селекции сортов озимой пшеницы степного экотипа, обладающих коротким стеблем и урожайностью, а также технологичностью при уборке, необходимо выявлять образцы с генами короткостебельности на ранних этапах селекционного процесса. Ранее наличие таких генов в коллекционном материале озимой мягкой пшеницы ФГБНУ «АНЦ «Донской» не оценивалось.

Таким образом, целью исследования являлось выявление аллелей гена короткостебельности Rht-B1 у коллекционных образцов озимой мягкой пшеницы.

Материалы и методы исследований. Объектом исследования являлись 162 короткостебельных коллекционных образца озимой мягкой пшеницы ФГБНУ «АНЦ «Донской» различного эколого-географического происхождения.

Пробоподготовка образцов осуществлялась при помощи гомогенизатора Bertin Precellys 24. Геномная ДНК выделялась из зерен пшеницы СТАВ-методом (Murray and Thompson, 1980).

Для идентификации аллелей гена Rht-B1 использовали молекулярные маркеры Rht-B1a (BF+WR1), Rht-B1b (BF+MR1) и Rht-B1e (NH.BF.2/Me.R).

Амплификацию ДНК проводили в реакционной смеси по предложенным авторами протоколам и при необходимости модифицировали (Ellis et al., 2002; Li et al., 2012). Для проведения ПЦР использовали реакционные смеси объемом 20 микролитров.

Условия проведения ПЦР представлены в таблице 1.

1. Условия ПЦР-реакции для выявления аллелей гена короткостебельности Rht-B1 1. Conditions of PCR to identify alleles of the short-stem gene Rht-B1

Наименование аллеля	Условия реакции
Rht-B1a, Rht-B1b (Rht1)	1) 94 °C – 5 мин; 2) 7 циклов (94 °C – 30 с, 65 °C – 30 с (каждый цикл температура снижается на 1 °C), 72 °C – 1 мин 20 с); 3) 30 циклов (94 °C – 15 с, 58 °C – 15 с, 72 °C – 50 с); 4) 72 °C – 2 мин
Rht-B1e (Rht11)	1) 95 °C – 15 мин; 2) 38 циклов (95 °C – 30 с, 62 °C – 30 с, 72 °C – 30 с); 3) 72 °C – 5 мин

Количество реактивов, входящих в реакционную смесь, указано в таблице 2.

2. Реакционные смеси для проведения ПЦР при определении аллелей гена Rht-B1 2. Reaction mixtures to conduct PCR to identify alleles of the short-stem gene Rht-B1

Реактивы	Rht-B1a, Rht-B1b (Rht1)	Rht-B1e (Rht11)
10x ПЦР-буфер	2,5	2
MgCl ₂ (25 mM)	2	2
Смесь dNTPs (25 mM)	0,2	0,2
Праймер F	1	0,8
Праймер R	1	0,8
Taq-полимераза (5 ед/мкл)	0,2	0,2
H ₂ O (деионизация)	11,1	12
ДНК (50–100 нанограмм)	2	2

Амплифицированные фрагменты ДНК разделяли с помощью электрофореза на 2% агарозном геле в 0,5x TBE-буфере. Гели окрашивали бромистым этидием. Анализ полученных данных осуществляли в программе Bio-Rad Image Lab 5.1.

Результаты и их обсуждение. В 2017 г. в лаборатории маркерной селекции ФГБНУ «АНЦ «Донской» проводили идентификацию аллелей гена короткостебельности Rht-B1 у коллекционных низкорослых образцов озимой мягкой пшеницы.

В результате скрининга образцов озимой мягкой пшеницы по аллелям гена Rht-B1 был получен ряд электрофореграмм агарозных гелей (рис. 1–3).

Аллель Rht-B1a, обуславливающий «дикий» тип растений по высоте, был выявлен у образца № 6 –

Дон 107 (Россия, АНЦ «Донской»). У остальных образцов, представленных на фрагменте электрофореграммы (рис. 1), он отсутствовал.

Всего было идентифицировано 7 образцов, несущих аллель Rht-B1a, список которых представлен в таблице 3.

Аллель гена короткостебельности Rht-B1b определен в образцах 1765/13 (Россия, АНЦ «Донской»), GK Margit (Венгрия), Алексеич (Россия, НЦЗ им. П. П. Лукьяненко) и 1005/14 (Россия, АНЦ «Донской»). У других образцов, представленных на фрагменте электрофореграммы (рис. 2), этот аллель не был идентифицирован.

Всего было выявлено 13 образцов с аллелем Rht-B1b (Rht1), список которых представлен в таблице 3.

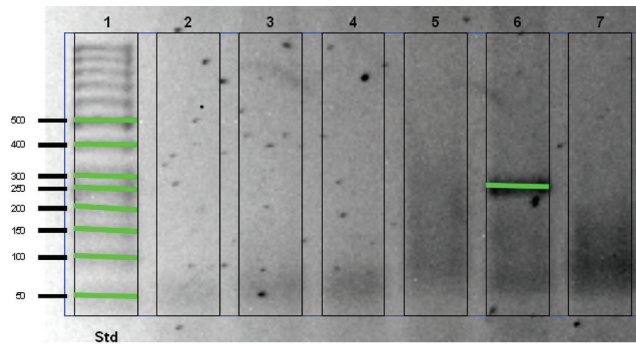


Рис. 1. Фрагмент электрофореграммы скрининга образцов озимой мягкой пшеницы по аллелю короткостебельности Rht-B1a с маркером BF+WR1: 1 – маркер молекулярного веса (M) Thermo Scientific GeneRuler 50 bp (50–1000 п. н.); 2 – H₂O деионизированная (отрицательный контроль); 3 – Кипчак; 4 – Станичная; 5 – Донской сюрприз; 6 – Дон 107; 7 – Лидия

Fig. 1. Electrophoregram fragment of winter soft wheat screening according to the short-stem allele Rht-B1a with marker BF+WR1: 1 – marker of a molecular weight (M) Thermo Scientific GeneRuler 50 bp (50–1000 p. n.); 2 – H₂O deionized (negative control); 3 – “Kipchak”; 4 – “Stanichnaya”; 5 – “Donskoy syurpriz”; 6 – “Don 107”; 7 – “Lidiya”

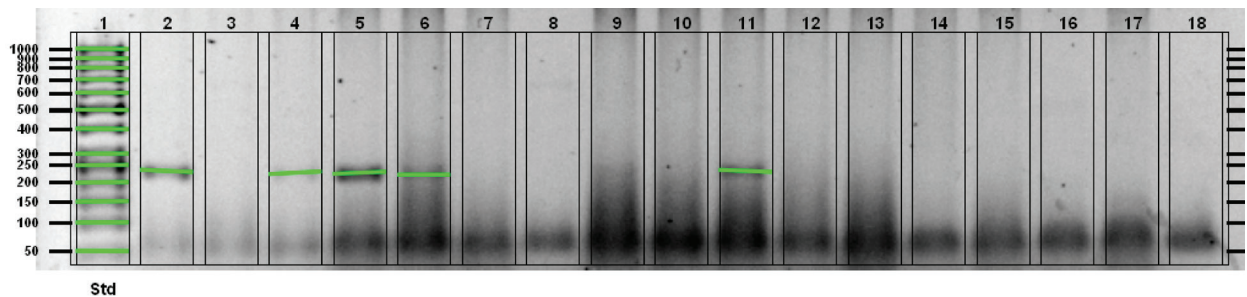


Рис. 2. Фрагмент электрофореграммы скрининга образцов озимой мягкой пшеницы по аллели короткостебельности Rht-B1b с маркером BF+MR1: 1 – маркер молекулярного веса Thermo Scientific GeneRuler 50 bp (50–1000 п. н.); 2 – Степной Янтарь (озимая твердая пшеница, положительный контроль); 3 – H₂O деионизированная (отрицательный контроль); 4 – 1765/13 (Россия, АНЦ «Донской»); 5 – GK Margit (Венгрия); 6 – Алексеич (Россия, НЦЗ им. П. П. Лукьяненко); 7 – Каролина 5; 8 – ASW142; 9 – GK Cipo (Венгрия); 10 – Ротакс (Германия); 11 – 1005/14; 12 – 1074/14; 13 – 1182/14; 14 – 1309/14; 15 – 1441/14; 16 – 1545/14; 17 – 1580/14; 18 – 1626/14

Fig. 2. Electrophoregram fragment of winter soft wheat screening according to the short-stem allele Rht-B1b with marker BF+MR1: 1 – marker of a molecular weight Thermo Scientific GeneRuler 50 bp (50–1000 p. n.); 2 – “Stepnoy Yantar” (winter durum wheat, positive control); 3 – H₂O deionized (negative control); 4 – “1765/13” (Russia, ARC “Donskoy”); 5 – “GK Margit” (Hungary); 6 – “Alekseich” (Russia, RCG named after P. P. Lukiyanenko); 7 – “Karolina 5”; 8 – “ASW142”; 9 – “GK Cipo” (Hungary); 10 – “Rotaks” (Germany); 11 – “1005/14”; 12 – “1074/14”; 13 – “1182/14”; 14 – “1309/14”; 15 – “1441/14”; 16 – “1545/14”; 17 – “1580/14”; 18 – “1626/14”

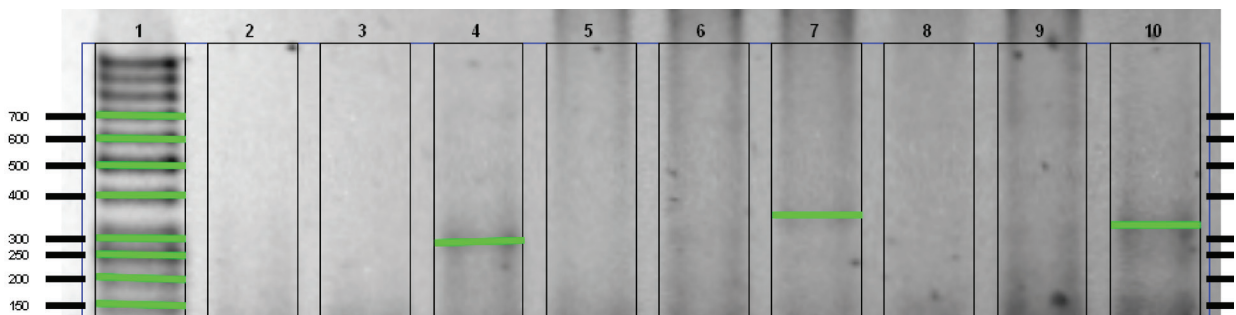


Рис. 3. Фрагмент электрофореграммы скрининга образцов озимой мягкой пшеницы по аллели короткостебельности Rht-B1e с маркером NH.BF.2/Me.R: 1 – маркер молекулярного веса (M) Thermo Scientific GeneRuler 50 bp (50–1000 п. н.); 2 – H₂O деионизированная (отрицательный контроль); 3 – Samurai; 4 – GK Margit; 5 – CIMMYT № 74; 6 – CIMMYT № 73; 7 – Менестрель; 8 – 718/13; 9 – 791/13; 10 – 1004/14

Fig. 3. Electrophoregram fragment of winter soft wheat screening according to the short-stem allele Rht-B1e with marker NH.BF.2/Me.R: 1 – marker of a molecular weight (M) Thermo Scientific GeneRuler 50 bp (50–1000 p. n.); 2 – H₂O deionized (negative control); 3 – “Samurai”; 4 – “GK Margit”; 5 – “CIMMYT no. 74”; 6 – “CIMMYT no. 73”; 7 – “Menestrel”; 8 – “718/13”; 9 – “791/13”; 10 – “1004/14”

Аллель гена короткостебельности Rht-B1e выявлен в образцах GK Margit (Венгрия), Менестрель (Сербия) и 1004/14 (Россия, АНЦ «Донской»). У других образцов, представленных на фрагменте электро-

фореграммы (рис. 3), этот аллель не был идентифицирован.

Всего было определено 9 образцов озимой мягкой пшеницы с аллелем Rht-B1e (Rht11) (табл. 3).

3. Образцы озимой мягкой пшеницы с идентифицированными аллелями гена короткостебельности Rht-B1

3. The winter soft wheat samples with identified alleles of the short-stem gene Rht-B1

№ п/п	Аллели гена Rht-B1		
	Rht-B1a	Rht-B1b (Rht1)	Rht-B1e (Rht11)
1	Дон 107	1765/13	Курень
2	Гром	Алексеич	1237/13
3	Дагмар	1005/14	1863/15
4	1062/09	1038/15	1813/07
5	Краплина	1483/15	Madyarka
6	Степовичка	1584/15	Yang mai 13
7	Tum	1596/15	GK Margit
8	–	1647/15	Менестрель
9	–	1677/15	1004/14
10	–	1792/15	–
11	–	1816/15	–
12	–	GK Margit	–
13	–	410/15	–

Поскольку из литературных источников известно, что аллель Rht-B1a является «диким» типом короткостебельности и незначительно снижает высоту растений, использование в селекции линий с таким генотипом не позволит получить гибриды с очень коротким стеблем (Ellis et al., 2002).

Линии озимой мягкой пшеницы, несущие в своем генотипе один или оба аллеля Rht-B1b и Rht-B1e, обладают сниженной высотой стебля и могут быть рекомендованы в качестве источников короткостебельности для использования в селекционных про-

граммах, направленных на снижение высоты растений.

Выводы. В результате проведенного исследования были определены аллели гена короткостебельности Rht-B1 у 162 образцов озимой мягкой пшеницы. Выявлено 7 образцов с аллелем Rht-B1a, 13 образцов с аллелем Rht-B1b (Rht1) и 9 образцов с аллелем Rht-B1e (Rht11). Рекомендуем в селекционной работе на снижение высоты растений использовать идентифицированные образцы с аллелями Rht-B1b и Rht-B1e.

Библиографические ссылки

1. Дьячук Т. И., Кибкало И. А., Поминов А. В. и др. Перспективные линии в селекции тритикале для условий Поволжья // Зерновое хозяйство России. 2018. № 5(59). С. 39–43. DOI: 2079-8725-2018-59-5-39-43.
2. Медведев А. М., Пома Н. Г., Осипов В. В. и др. Поиск источников короткостебельности в целях создания устойчивых к полеганию сортов озимой тритикале для Центрального Нечерноземья // Зерновое хозяйство России. 2017. № 3(51). С. 43–46.
3. Мережко А. Ф. Проблема доноров в селекции растений. СПб.: ВИР, 1994. 128 с.
4. Самофалова Н. Е. Мечта и явь академика И. Г. Калиненко в создании озимой твердой пшеницы // Зерновое хозяйство России. 2016. № 1(43). С. 1–9.
5. Чеботарь С. В. Аллельная характеристика генов короткостебельности в генетическом пуле сортов озимой мягкой пшеницы Украины // Генетичні ресурси рослин. 2008. Т. 6. С. 96–103.
6. Divashuk M., Bepalova L., Vasilyev A., Fesenko I., Puzynaya O., Karlov G. Reduced height genes and their importance in winter wheat cultivars grown in southern Russia // Euphytica. 2013. Vol. 190, no. 1. Pp. 137–144. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0789-7>.
7. Ellis M., Spielmeier W., Gale K., Rebetzke G., Richards R. "Perfect" markers for the Rht-B1b and Rht-D1b dwarfing genes in wheat // Theoretical and Applied Genetics. 2002. Vol. 105, no. 6-7. Pp. 1038–1042. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1048-4>.
8. FAO Global Statistical Yearbook // Book FAO Global Statistical Yearbook / Editor, 2019. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
9. Guedira M., Brown-Guedira G., Van Sanford D., Sneller C., Souza E., Marshall D. Distribution of Rht Genes in Modern and Historic Winter Wheat Cultivars from the Eastern and Central USA // Crop Science. 2010. Vol. 50, no. 5. Pp. 1811–1822. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.10.06.0626>.
10. Knopf C., Becker H., Ebmeyer E., Korzun V. Occurrence of Three Dwarfing Rht Genes in German Winter Wheat Varieties // Cereal Research Communications. 2008. Vol. 36, no. 4. Pp. 553–560. <https://doi.org/10.1556/CRC.36.2008.4.4>.
11. Li A., Yang W., Guo X., Liu D., Sun J., Zhang A. Isolation of a gibberellin-insensitive dwarfing gene, Rht-B1e, and development of an allele-specific PCR marker // Molecular Breeding. 2012. Vol. 30, no. 3. Pp. 1443–1451. <https://doi.org/10.1007/S11032-012-9730-y>.
12. Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular-weight plant DNA // Nucleic Acids Research. 1980. Vol. 8, no. 19. Pp. 4321–4325. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>.

References

1. D'yachuk T. I., Kibkalo I. A., Pominov A. V. i dr. Perspektivnye linii v selekcii tritikale dlya uslovij Povolzh'ya [Promising lines in the triticale breeding in the Volga region] // *Zernovoe hozyajstvo Rossii*. 2018. № 5(59). S. 39–43. DOI: 2079-8725-2018-59-5-39-43.
2. Medvedev A. M., Poma N. G., Osipov V. V. i dr. Poisk istochnikov korotkostebel'nosti v celyah sozdaniya ustojchivyh k poleganiyu sortov ozimoy tritikale dlya Central'nogo Nechernozem'ya [Search for sources of short-stem in order to create the lodging resistant winter triticale varieties for the Central Non-Chernozem Region] // *Zernovoe hozyajstvo Rossii*. 2017. № 3(51). S. 43–46.
3. Merezsko A. F. Problema donorov v selekcii rastenij [The problem of donors in plant breeding]. SPb.: VIR, 1994. 128 s.
4. Samofalova N. E. Mechta i yav' akademika I. G. Kalinenko v sozdanii ozimoy tverdoj pshenicy [The dream and reality of the academician I. G. Kalinenko in the development of winter durum wheat] // *Zernovoe hozyajstvo Rossii*. 2016. № 1(43). S. 1–9.
5. Chebotar' S. V. Allel'naya harakteristika genov korotkostebel'nosti v geneticheskom pule sortov ozimoy myagkoj pshenicy Ukrainy [Allelic characteristics of short-stem genes in the genetic pool of varieties of winter soft wheat of Ukraine] // *Genetichni resursi roslin*. 2008. T. 6. S. 96–103.
6. Divashuk M., Bepalova L., Vasilyev A., Fesenko I., Puzymaya O., Karlov G. Reduced height genes and their importance in winter wheat cultivars grown in southern Russia // *Euphytica*. 2013. Vol. 190, no. 1. Pp. 137–144. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0789-7>.
7. Ellis M., Spielmeier W., Gale K., Rebetzke G., Richards R. "Perfect" markers for the Rht-B1b and Rht-D1b dwarfing genes in wheat // *Theoretical and Applied Genetics*. 2002. Vol. 105, no. 6-7. Pp. 1038–1042. <https://doi.org/10.1007/s00122-002-1048-4>.
8. FAO Global Statistical Yearbook // Book FAO Global Statistical Yearbook / Editor, 2019. Available at: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>.
9. Guedira M., Brown-Guedira G., Van Sanford D., Sneller C., Souza E., Marshall D. Distribution of Rht Genes in Modern and Historic Winter Wheat Cultivars from the Eastern and Central USA // *Crop Science*. 2010. Vol. 50, no. 5. Pp. 1811–1822. <https://doi.org/10.2135/cropsci2009.10.06.0626>.
10. Knopf C., Becker H., Ebmeier E., Korzun V. Occurrence of Three Dwarfing Rht Genes in German Winter Wheat Varieties // *Cereal Research Communications*. 2008. Vol. 36, no. 4. Pp. 553–560. <https://doi.org/10.1556/CRC.36.2008.4.4>.
11. Li A., Yang W., Guo X., Liu D., Sun J., Zhang A. Isolation of a gibberellin-insensitive dwarfing gene, Rht-B1e, and development of an allele-specific PCR marker // *Molecular Breeding*. 2012. Vol. 30, no. 3. Pp. 1443–1451. <https://doi.org/10.1007/S11032-012-9730-y>.
12. Murray M. G., Thompson W. F. Rapid isolation of high molecular-weight plant DNA // *Nucleic Acids Research*. 1980. Vol. 8, no. 19. Pp. 4321–4325. <https://doi.org/10.1093/nar/8.19.4321>.

Поступила: 18.11.19; принята к публикации: 27.11.19.

Критерии авторства. Авторы статьи подтверждают, что имеют на статью равные права и несут равную ответственность за плагиат.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Авторский вклад. Купрейшвили Н. Т. – подготовка опыта, выполнение лабораторных опытов и сбор данных; Вожжова Н. Н. – концептуализация исследования, анализ данных и их интерпретация, подготовка рукописи; Марченко Д. М. – подготовка опыта; Ионова Е. В. – концептуализация исследования.

Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.