

Научная статья

УДК 636.3.033

doi: 10.55170/1997-3225-2024-9-4-86-90

АНАЛИЗ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНА КАЛЬПАСТАТИНА (CAST) У ОВЕЦ ЮЖНОЙ МЯСНОЙ ПОРОДЫ

Анастасия Дмитриевна Соловьева^{1✉}, Татьяна Евгеньевна Денискова^{2✉}

^{1, 2} Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста, Дубровицы, Подольск, Московская область, Россия

¹anastasiya93@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2628-9554>

²horarka@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5809-1262>

Резюме. Цель работы: изучить полиморфизм гена кальпастатина (CAST), определяющего особенность проявления продуктивно-биологических характеристик, у овец южной мясной породы. Биологическим материалом для изучения полиморфизма гена CAST служили выщипы ушной раковины у 154 голов овец южной мясной породы, включая баранов (n=80), баранчиков (n=23) и ярок (n=51). ДНК из биологического материала овец была выделена с помощью коммерческого набора «ДНК-Экстран-2» (ООО «Синтол», Россия) согласно инструкции, представленной фирмой-производителем. При выполнении исследований было использовано оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им Л. К. Эрнста. Анализ полиморфизма гена CAST проводили с помощью метода ПЦР-ПДРФ. ПЦР амплификацию проводили на термоциклере Applied Biosystems SimpliAmp («Thermo-Fisher Scientific, Inc.», США). Рестрикция проводилась с использованием эндонуклеазы рестрикции MspI (ООО «SibEnzyme») в термостате при 37°C. Разделение рестрицированных фрагментов выполняли в 2% агарозном геле, окрашенном бромидом димидиума. Полиморфизм гена CAST представлен аллелями M и N, частота встречаемости которых составила 0,92 и 0,08. Желательный генотип NN был обнаружен только у группы генотипных баранов (2,5%). Оценка генетической структуры исследуемого поголовья показала, что среди исследуемых животных наиболее часто встречаются животные с генотипом CAST^{MM} (83,8% в среднем, от 78,43% у ярок до 87,5 % у баранов), на долю генотипов CAST^{MN} и CAST^{NN} приходится по 15% (от 10% у баранов до 21,56% у ярок) и 1,29% в среднем по всей выборке соответственно. В результате проведенного исследования выявлено впервые наличие полиморфизма в гене CAST у овец южной мясной породы, что создает предпосылки для внедрения этого ДНК-маркера в селекционную работу с южной мясной породой овец.

Ключевые слова: овцы, южная мясная порода, генотипы, генетический полиморфизм, кальпастатин.

Для цитирования: Соловьева А. Д., Денискова Т. Е. Анализ полиморфизма гена кальпастатина (CAST) у овец южной мясной породы // Известия Самарской государственной сельскохозяйственной академии. 2024. Т 9, № 4. С. 86-90. doi: 10.55170/1997-3225-2024-9-4-86-90

Благодарности: Работа проведена в рамках выполнения задания Министерства науки и высшего образования РФ по теме FGGN-2024-0015.

Original article

CALPASTATIN GENE POLYMORPHISM ANALYSIS (CAST) IN SHEEP OF SOUTHERN MEAT BREED

Anastasia D. Solovyova^{1✉}, Tatyana E. Deniskova^{2✉}

^{1, 2} Federal Research Center of Animal Husbandry – Academician L. K. Ernst VIZ., Dubrovitsy, Podolsk, Moscow region, Russia

¹anastasiya93@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0003-2628-9554>

²horarka@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0002-5809-1262>

Abstract. The aim of the work is to study the polymorphism of the calpastatin gene (CAST), which determines the feature of the manifestation of productive and biological characteristics in sheep of the Southern Meat breed including rams (n=80), young rams (n=23) and ewes (n=51). DNA from the biological material of sheep was isolated using a commercial DNA-Extran-2 kit (Syntol LLC, Russia) according to the instructions provided by the manufacturer. The equipment of the Center for Biological Resources and Bioengineering of Agricultural Animals (L. K. Ernst Federal Science Center for Animal Husbandry) was used in this research. The CAST gene polymorphism analysis was conducted based on the PCR-RFLP method. PCR amplification was performed on an Applied Biosystems SimpliAmp thermal cycler (Thermo-Fisher Scientific, Inc., USA). Restriction was performed using MspI restriction endonuclease (SibEnzyme LLC) in a thermostat at 37°C. Separation of the restricted fragments was performed in a 2%

agarose gel stained with dimidium bromide. The polymorphism of the CAST gene is represented by alleles M and N, the frequency of which were 0.92 and 0.08. The desired NN genotype was found only in a group of rams from gene pool herd (2.5%). An assessment of the genetic structure of the studied livestock showed that among the studied animals, sheep with the CAST^{MM} genotype are most common (83.8% on average, from 78.43% in ewes to 87.5% in rams), the CAST^{MN} and CAST^{NN} genotypes account for 15% (from 10% in rams to 21.56% in ewes) and 1.29% on average per sample, respectively. In this study, we identified the presence of polymorphism in the CAST gene in Southern Meat breed for the first time that creates the prerequisites for the introduction of this DNA marker into breeding work with the Southern Meat sheep breed.

Keywords: sheep, Southern Meat breed, genotypes, genetic polymorphism, calpastatin

For citation: Solovieva, A. D. & Deniskova, T. E. (2024). Calpastatin gene polymorphism analysis (cast) in sheep of the southern meat breed. *Izvestiia Samarskoi gosudarstvennoi selskokhoziaistvennoi akademii (Bulletin Samara state agricultural academy)*. 9, 4, 86-90. doi: 10.55170/1997-3225-2024-9-4-86-90

Acknowledgements: The work was carried out within the framework of the assignment of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation on the topic AP-2024-0015.

Одним из приоритетных направлений в животноводстве, в том числе и овцеводстве, способствующих интенсивному развитию отрасли, является активное внедрение современных методов молекулярно-генетической диагностики, которая позволяет определить и установить желательные генотипы в генах-кандидатах, ассоциированных с хозяйственно – полезными признаками.

Известно, что качество мяса во многом зависит от нежности, цвета, количества соединительной ткани, расщепления миофибриллярного белка и содержания внутримышечного жира. Нежность мяса во многом определяется генетическими факторами самого животного. Одним из генетических компонентов, влияющих на нежность мяса, является ген кальпастина [1].

Кальпастин – это регуляторный белок, высокоспецифичный эндогенный ингибитор μ - и m -кальпаинов (кальций-зависимой нейтральной протеиназы), который не оказывает влияния на другие протеазы (папаин, катепсины В и D, бромелайн, трипсин, химотрипсин, пепсин, плазмин и др.). Этот ингибитор кальпаинов был впервые обнаружен в соединительных тканях. Название "кальпастин" было впервые предложено в 1979 году Такаши Мурачи [2,3]. Определение полиморфизма гена кальпастина в мясном овцеводстве является решающим фактором среди молекулярно-генетических маркеров [4].

Система кальпаин-кальпастин включает m -кальпаин (CAPN1), μ -кальпаин (CAPN2) и кальпастин и играет ключевую роль в развитии скелетных мышц, участвует в миграции миобластов, белковом метаболизме, апоптозе, росте и развитии мышц, а также в отложении жира [5]. Ген кальпастина ингибирует активность кальпаина и важен для регулирования нежности мяса после забоя, веса при рождении и скорости роста до отъема. У овец существует обратная зависимость между уровнем кальпастина в мышцах после забоя и нежностью мяса. Ген CAST оказывает значительное влияние на массу тела при рождении и толщину жира [6].

В базе Национального центра биотехнологической информации NCBI указано, что ген CAST расположен в локусе 5q15 хромосомы 5 (NC_040256.1) генома овцы (*Ovis aries* L.), состоящего из 29 экзонов. Первая идентификация гена кальпастина у овец была проведена Палмером и со авторами [7] с использованием метода ПЦР-RFLP. Полиморфизм был обнаружен в амплифицированном фрагменте длиной 622 п.н. из экзона и интрона 1 гена CAST с помощью эндонуклеазы MspI, которая расщепляет нуклеотидную последовательность в следующем специфическом участке: 5'...C↓CGG...3'. Таким образом, были идентифицированы два полиморфных варианта, которые появляются в результате наличия или отсутствия точечной мутации (SNP) и изменения CCGG на CCAG [5, 8].

Многие авторы проводили ассоциативные исследования гена CAST с хозяйственно-полезными признаками у различных пород овец. Пакистанские породы овец Балхи и Каджли с гетерозиготным (MN) генотипом по этому гену демонстрировали более высокий прирост в весе от рождения до четырехмесячного и восьмимесячного возраста [9]. У приднепровской породы наблюдается тенденция к увеличению живой массы ягнят-носителей аллеля N в возрасте 90 дней (NN или MN) [10]. У овец иорданской породы Аваси с генотипом MN отмечалось более длинная длиннейшая мышца, более высокий суточный прирост при низком коэффициенте конверсии и большей мышечной массой по сравнению с животными, у которых был генотип MM, но нежность мяса у животных с генотипом MN была ниже, чем у животных с генотипом MM [11]. Овцы западно-сибирской мясной породы с генотипом MN также отличались лучшим среднесуточным приростом массы тела от рождения до отъема

на 6,9% и живой массой на 20% по сравнению с овцами с генотипом *NN* [12]. У овец ставропольской породы с генотипом *NN* был отмечен достоверно более высокий уровень (на 43,4% при $P < 0,01$) метаболической активности липидов мышечной ткани по сравнению с носителями генотипа *MM* [13].

Установление генетического полиморфизма у существующих пород овец является важной задачей, с одной стороны, для местных пород с целью сохранения генетических ресурсов, а с другой стороны, для эффективного использования существующих пород. В Российской Федерации существуют различные породы овец, включая местные породы и другие, предназначенные для конкретных целей, таких как производство молока, мяса и шерсти.

Цель исследований: анализ полиморфизма гена кальпастина (*CAST*) у овец южной мясной породы.

Задачи исследования: оценить генетический полиморфизм у групп овец южной мясной породы по гену кальпастин (*CAST*).

Материал и методы исследования. Исследования проводились на образцах ткани (ушной выщип) генофондных овец южной мясной породы в количестве 154 голов, которые в свою очередь состояли из трех групп: генофондных баранов ($n=80$), генофондных баранчиков ($n=23$) и генофондных ярок ($n=51$).

Образцы ткани были взяты из биобанка «Банк генетического материала домашних и диких видов животных и птицы» (зарегистрирован Минобрнауки РФ № 498808), созданной и поддерживаемой в ФГБНУ ФИЦ животноводства — ВИЖ им. академика Л.К. Эрнста.

При выполнении исследований было использовано оборудование ЦКП «Биоресурсы и биоинженерия сельскохозяйственных животных» ФГБНУ ФИЦ ВИЖ им. Л.К. Эрнста.

Из выбранных образцов была выделена ДНК с помощью коммерческого набора «ДНК-Экстрен-2» (ООО «Синтол», Россия) по стандартному протоколу производителя. Полимеразная цепная реакция проводилась в конечном объеме 15 мкл: 1,5 мкл реакционного буфера с $MgCl_2$, 1,5 мкл dNTPs, 0,4 мкл смеси праймеров, 0,08 мкл SmartTaq ДНК полимеразы («Диалат Лтд.», Россия), 1 мкл ДНК. Амплификацию проводили в следующем температурно-временном режиме: 4 мин при $95^\circ C$ (1 цикл); 45 с при $94^\circ C$, 45 с при $62^\circ C$ и 45 с при $72^\circ C$ (35 циклов); заключительный этап - 7 мин при $72^\circ C$ (1 цикл) (термоциклер Applied Biosystems SimpliAmp («Thermo-Fisher Scientific, Inc.», США). Рестрикция проводилась в конечном объеме 20 мкл: 7,5 мкл H_2O , 2 мкл Buffer Rose, 0,5 мкл эндонуклеаза рестрикции *MspI* (ООО «SibEnzyme»), 10 мкл амплифицированного ПЦР-продукта. Реакцию проводили в термостате при $37^\circ C$.

Анализ полиморфизма гена кальпастина овец (*CAST*) проводили с помощью метода ПЦР-ПДРФ с последующим разделением рестрицированных фрагментов в 2%-м агарозном геле, окрашенном бромидом ди-мидиума, для идентификации генотипа.

Результаты исследований. В рамках исследования полиморфизма ДНК-маркеров овец было выполнено тестирование овец южной мясной породы по гену кальпастин (*CAST*). Для выявления аллельных вариантов в гене *CAST* был проведен анализ у 154 голов овец южной мясной породы. При проведении молекулярного анализа овец южной мясной породы были выявлены все аллельные варианты *CAST^{MM}*, *CAST^{MN}*, *CAST^{NN}* которые приведены на рисунке 1.

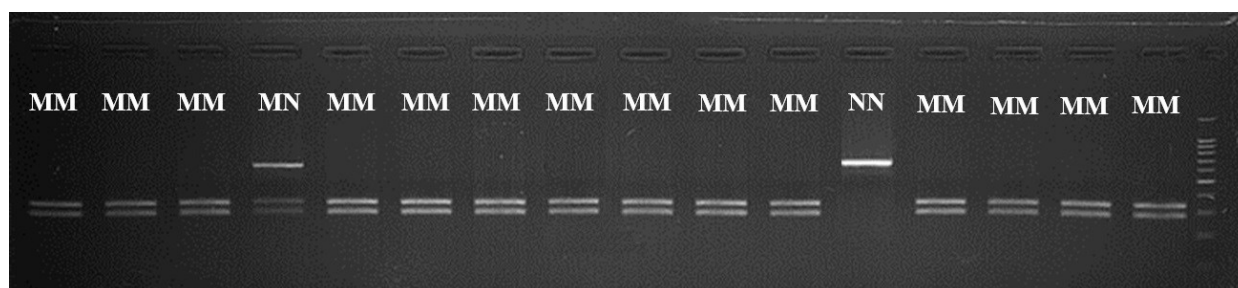


Рис. 1. Электрофорез рестриционного ПЦР- продукта гена *CAST* с использованием рестриционного фермента *MspI* на 2% агарозном геле у овец южной мясной породы (генотипы *NN* – 622 п.о, *MM* – 286 и 336 п.о, *MN* – 286, 336 и 622 п.о.)

Мутация гена *CAST* 287A>C определяет полиморфизм гена. Три генотипа: *NN* (622bp), *MM* (336bp и 286bp), и *MN* (622bp, 336bp и 286bp) были идентифицированы после реакции рестрикции с использованием рестриционного фермента *MspI*.

Результаты анализа частот встречаемости аллелей и генотипов гена кальпастин (*CAST*) в популяции овец южной мясной породы приведены в таблице 1.

Таблица 1

Частота встречаемости аллелей и генотипов гена *CAST* у исследованной выборке овец южной мясной породы

Ген	Частота аллелей, %		Частота встречаемости генотипов, %					
	M	N	MM		MN		NN	
	%	%	n	%	n	%	n	%
CAST (n=154)	0,92	0,08	129	83,8	23	15	2	1,29

В таблице 2 приведены данные анализа частот по группам животных.

Таблица 2

Частота встречаемости аллелей по группам животных

Группа овец	Количество овец	Частота аллелей, %		Частота встречаемости генотипов, %					
		M	N	MM		MN		NN	
		%	%	n	%	n	%	n	%
Бараны	80	0,93	0,07	70	87,5	8	10	2	2,5
Баранчики	23	0,91	0,09	19	82,60	4	17,39	-	-
Ярочки	51	0,89	0,11	40	78,43	11	21,56	-	-

Исследование выбранных групп овец южной мясной породы по данным полиморфизма гена *CAST* показали наличие всех трех генотипов *CAST^{MM}*, *CAST^{MN}* и *CAST^{NN}*. В результате анализа было выявлено, что ген кальпастатин (*CAST*) является полиморфным в изучаемой выборке овец. Наибольшей частотой встречаемости характеризовался аллель M (0,92), который встречался в гомозиготном состоянии у 129 (83,8%) особей и в гетерозиготном – у 23 (15%) овец. Частота встречаемости аллеля N и генотипа NN составили 0,08 и 1,29% соответственно. По таблице 2 можно увидеть, что генотип NN встречается только у группы баранов, когда как у группы баранчиков и ярочек данного генотипа не обнаружено. Так же стоит отметить, что аллель M и генотип MM преобладает у всех трех исследуемых групп животных.

Заключение. Полученные впервые результаты анализа полиморфизма гена кальпастатин (*CAST*) у овец южной мясной породы свидетельствуют о наличии разнообразия аллельных вариантов. При изучении полиморфизма гена *CAST* овец южной мясной породы были обнаружены генотипы MM и MN с различной частотой встречаемости. Результаты этой работы, а именно: наличие полиморфизма в таргетном однонуклеотидном полиморфизме в гене *CAST* у овец южной мясной породы, создают предпосылки для внедрения этого ДНК-маркера в селекционную работу с южной мясной породой овец.

Список источников

1. Leal-Gutiérrez J. D. et al. Association of μ -calpain and calpastatin polymorphisms with meat tenderness in a brahman–angus population // *Frontiers in genetics*. 2018. T. 9. C. 56. doi: 10.3389/fgene.2018.00056
2. Yilmaz, O., Cemal, I., Karaca, O., Sevim, S., Ozturk, M., & Ata, N. Calpastatin Gene Polymorphism in Turkish Sheep Breeds. International Scientific Conference (BALNIMALCON- 2013): Challenges of the Balkan Animal Industry and the Role of Science and Cooperation. Namik Kemal University Tekirdağ – Turkey. 20 (5), 675-680 (2014)
3. Degtyarev, D. Y., Skorykh, L. N., Kovalenko, D. V., Emelyanov, S. A., Konik, N. V. Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016. T. 7. №. 4. C. 2137-2139.
4. Selionova, M. I., Chizhova, L. N., Surzhikova, E. S., Podkorytov, N. A., Podkorytov, A. T., Voblikova, T. V. Meat productivity of sheep of the Altai Mountain breed of different genotypes according to the CAST and GDF9 genes // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, 2020. T. 613. №. 1. C. 012130. doi:10.1088/1755-1315/613/1/012130
5. Gregula-Kania, M., Gruszecki, T. M., Junkuszew, A., Juszczuk-Kubiak, E., Florek, M. Association of CAST gene polymorphism with carcass value and meat quality in two synthetic lines of sheep // *Meat science*. 2019. T. 154. C. 69-74. doi: 10.1016/j.meatsci.2019.04.007
6. Armstrong, E., Ciappesoni, G., Iriarte, W., Da Silva, C., Macedo, F., Navajas, E. A., ... & Postiglioni, A. Novel genetic polymorphisms associated with carcass traits in grazing Texel sheep // *Meat science*. 2018. T. 145. C. 202-208. doi: 10.1016/j.meatsci.2018.06.014
7. Palmer, B. R., Roberts, N., Hickford, J. G., Bickerstaffe, R. Rapid communication: PCR-RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene // *Journal Animal Science*. 1998. Vol. 76. Iss. 5. C. 1499-500. doi: 10.2527/1998.7651499x
8. Azari M. A., Dehnavi E., Yousefi S., Shahmohamadi L. Polymorphism of calpastatin, calpain and myostatin genes in native Dalagh sheep in Iran // *Slovak Journal of Animal Science*. 2012. T. 45. №. 1. C. 1-6.
9. Khan S. U. H., Riaz M. N., Ghaffar A., Khan M. F. U. Calpastatin (CAST) gene polymorphism and its association with average daily weight gain in Balkhi and Kajli sheep and Beetal goat breeds // *Pakistan Journal of Zoology*. 2012. T. 44. №. 2.
10. Montes D., Lenis C., Hernández D. Polymorphisms of the calpain and calpastatin genes in two populations of Colombian creole sheep // *Rev. MVZ Cordoba*. 2019. T. 24. №. 1. C. 7113-7118. doi: 10.21897/rmvz.1345
11. Jawasreh K., Jadallah R., Al-Amareen A. et al., Indian J. Growth performance and meat characteristics of the first filial Awassi-Rambouillet callipyge ram lambs // *Veterinary World*. 2019. T. 12. №. 6. P. 783-788. doi:10.14202/vetworld.2019.783-788

12. Afanasyeva A., Sarychev V., Goncharenko G. Phenotypic effects of polymorphism of the calpastatin gene (CAST), associated with growth and development indicators, in West Siberian mutton breed. In: Proceedings of the International Scientific and Practical Conference "Digital agriculture - development strategy". Advances in Intelligent Systems Research. 2019. T.167. С. 116-120.
13. Чижова Л. Н., Карпова Е. Д., Суржикова Е. С., Забелина М. В. Жирнокислотный состав липидов мышечной ткани молодняка овец разных аллельных вариантов гена CAST // Овцы, козы, шерстяное дело. 2021. №2. С.12-15. doi: 10.26897/2074-0840-2021-2-12-15.

References

1. Leal-Gutiérrez, J. D., Elzo, M. A., Johnson, D. D., Scheffler, T. L., Scheffler, J. M., & Mateescu, R. G. (2018). Association of μ -calpain and calpastatin polymorphisms with meat tenderness in a brahman–angus population. *Frontiers in genetics*, 9, 56. doi: 10.3389/fgene.2018.00056.
2. Yılmaz, O., Cemal, I., Karaca, O., Sevim, S., Ozturk, M., & Ata, N. (2013). Calpastatin gene polymorphism in Turkish sheep breeds.
3. Degtyarev, D. Y., Skorykh, L. N., Kovalenko, D. V., Emelyanov, S. A., & Konik, N. V. (2016). Using genetic markers in breeding sheep. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 7(4), 2137-2139.
4. Selionova, M. I., Chizhova, L. N., Surzhikova, E. S., Podkorytov, N. A., Podkorytov, A. T. & Voblikova, T. V. (2020). Meat productivity of sheep of the Altai Mountain breed of different genotypes according to the CAST and GDF9 genes. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 613, 1, 012130). IOP Publishing. doi: 10.1088/1755-1315/613/1/012130.
5. Gregula-Kania, M., Gruszecki, T. M., Junkuszew, A., Juszczuk-Kubiak, E., & Florek, M. (2019). Association of CAST gene polymorphism with carcass value and meat quality in two synthetic lines of sheep. *Meat science*, 154, 69-74. doi: 10.1016/j.meatsci.2019.04.007
6. Armstrong, E., Ciappesoni, G., Iriarte, W., Da Silva, C., Macedo, F., Navajas, E. A., ... & Postiglioni, A. (2018). Novel genetic polymorphisms associated with carcass traits in grazing Texel sheep. *Meat science*, 145, 202-208. doi: 10.1016/j.meatsci.2018.06.014
7. Palmer, B. R., Roberts, N., Hickford, J. G., & Bickerstaffe, R. (1998). Rapid communication: PCR-RFLP for MspI and NcoI in the ovine calpastatin gene. *J. Anim. Sci*, 76(5), 1499-1500. doi: 10.2527/1998.7651499x.
8. Azari, M. A., Dehnavi, E., Yousefi, S., & Shahmohamadi, L. (2012). Polymorphism of calpastatin, calpain and myostatin genes in native Dalagh sheep in Iran. *Slovak Journal of Animal Science*, 45(1), 1-6.
9. Khan, S. U. H., Riaz, M. N., Ghaffar, A., & Khan, M. F. U. (2012). Calpastatin (CAST) gene polymorphism and its association with average daily weight gain in Balkhi and Kajli sheep and Beetal goat breeds. *Pakistan Journal of Zoology*, 44(2).
10. Montes V, D., Lenis V, C., & Hernández H, D. (2019). Polymorphisms of the calpain and calpastatin genes in two populations of Colombian creole sheep. *Revista MVZ Córdoba*, 24(1), 7113-7118. doi: 10.21897/rmvz.1345
11. Jawasreh, K. I., Al-Amareen, A. H., & Aad, P. Y. (2019). Growth performance and meat characteristics of the first filial Awassi-Rambouillet callipyge ram lambs. *Veterinary World*, 12(6), 783. doi: org/10.14202/vetworld.2019.783-788
12. Afanasyeva, A., Sarychev, V., & Goncharenko, G. (2019). Phenotypic effects of polymorphism of the calpastatin gene (CAST), associated with growth and development indicators, in West Siberian mutton breed. *International Scientific and Practical Conference "Digital agriculture-development strategy" (ISPC 2019)*. (pp. 116-120). Atlantis Press.
13. Chizhova, L. N., Karpova, E. D., Surzhikova, E. S., & Zabelina, M. V. (2024). Fatty acid composition of muscle tissue lipids in young sheep of different allelic variants of the CAST gene. *Sheep, goats, wool business*, (2), 12-15. (in Russ). doi: 10.26897/2074-0840-2021-2-12-15.

Информация об авторах

А. Д. Соловьева – младший научный сотрудник;

Т. Е. Денискова – кандидат биологических наук, доцент, ведущий научный сотрудник.

Information about the authors

A. D. Solovyova – Junior Researcher;

T. E. Deniskova – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, leading researcher.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article. The authors declare no conflicts of interests.

Статья поступила в редакцию 26.06.2024; одобрена после рецензирования 19.09.2024; принята к публикации 16.10.2024.

The article was submitted 26.06.2024; approved after reviewing 19.09.2024; accepted for publication 16.10.2024.