

А.Н. Чернов, ✉
Д.М. Афордоanyi,
Е.А. Прищепенко

Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения — обособленное структурное подразделение Казанского научного центра Российской академии наук, Казань, Российская Федерация

✉ rt-kazan@mail.ru

Поступила в редакцию:
26.04.2022

Одобрена после рецензирования:
02.07.2022

Принята к публикации:
18.08.2022

Характеристика цитотоксичности нативного цеолита в отношении эпителиальных клеток крупного рогатого скота

РЕЗЮМЕ

Актуальность. Особое внимание исследователей привлекают цеолиты — минералы семейства алюмосиликатов щелочных и щелочноземельных металлов. Учитывая то, что состав цеолитов чрезвычайно variabelen, в том числе и по содержанию микроэлементов, большинство отечественных цеолитовых туфов не оценено с точки зрения возможной цитотоксичности. Целью настоящего исследования явилась характеристика цитотоксичности нативного клиноптилолита в отношении эпителиальных клеток крупного рогатого скота.

Методы. Для характеристики цитотоксичности были отобраны 5 фракций нативного клиноптилолита (карьер добычи — Дрожжановский район Республики Татарстан) с размерами частиц: № 1 — 0,2 мм, № 2 — 0,24 мм, № 3 — 0,8 мм, № 4 — 0,8–2,5 мм, № 5 — 2,5–5,0 мм. В качестве моделей для определения токсичности цеолитов были выбраны две перевиваемые клеточные линии: LEK (эпителий легкого эмбриона коровы) и TR (эпителий трахеи эмбриона коровы), полученные из Коллекции культур клеток позвоночных (ИЦИГ РАН, Россия). Проводили МТТ-тест. Жизнеспособность клеток оценивали по активности митохондриальной дегидрогеназы по стандартной методике. Статистическая обработка данных производилась при помощи программного обеспечения «GraphPad Prism 6.0» (США). Эксперименты проводились в 5 повторах, за статистически достоверный уровень принимали $p \leq 0,05$.

Результаты. Было выявлено, что концентрации до 300 мкг/мл всех фракций цеолитов не оказывают цитотоксического эффекта на исследуемые клетки. Цитопатогенное действие проявляется в диапазоне концентраций 400–1000 мкг/мл и находится в прямой корреляции с размером цеолитовых частиц — доля клеток в состоянии апоптоза составляет до $35,23 \pm 2,3\%$, что, вероятно, связано с механическим воздействием крупных частиц рассматриваемых пород на клеточные структуры. Сведения о цитотоксическом воздействии разных типов цеолитов на клетки организма продуктивных животных в дальнейшем лягут в основу их токсикологической оценки и позволят выработать стратегию их безопасного применения.

Ключевые слова: минерал, цеолит, цитотоксичность, культура клеток, крупный рогатый скот

Для цитирования: Чернов А.Н., Афордоanyi Д.М., Прищепенко Е.А. Характеристика цитотоксичности нативного цеолита в отношении эпителиальных клеток крупного рогатого скота. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-40-43>

© Чернов А.Н., Афордоanyi Д.М., Прищепенко Е.А.

Characteristics of cytotoxicity of native zeolite against cattle epithelial cells

ABSTRACT

Relevance. Special attention of researchers is attracted by zeolites — minerals of the family of aluminosilicates of alkaline and alkaline earth metals. Considering that the composition of zeolites is extremely variable, including the content of trace elements, most zeolite tufts of Russian Federation are not evaluated in terms of possible cytotoxicity. The aim of this study was to characterize the cytotoxicity of native clinoptilolite against epithelial cells of cattle.

Methods. To characterize cytotoxicity, 5 fractions of native clinoptilolite (mining quarry — Drozhzhanovsky district of the Republic of Tatarstan) with particle sizes were selected: No. 1 — 0.2 mm, No. 2 — 0.24 mm, No. 3 — 0.8 mm, No. 4 — 0.8–2.5 mm, No. 5 — 2.5–5.0 mm. Two transferable cell lines were selected as models for determining the toxicity of zeolites: LEK (epithelium of the lung of a cow embryo) and TR (tracheal epithelium of a cow embryo) obtained from a Collection of vertebrate cell cultures (ICiG RAS, Russia). MTT-test was carried out. Cell viability was assessed by the activity of mitochondrial dehydrogenase according to a standard method. Statistical data processing was performed using “GraphPad Prism 6.0” software (USA). The experiments were carried out in 5 repetitions, $p \leq 0.05$ was taken as a statistically reliable level.

Results. It was found that concentrations up to 300 micrograms/ml of all fractions of zeolites do not have a cytotoxic effect on the studied cells. The cytopathogenic effect manifests itself in the concentration range of 400–1000 micrograms/ml and is in direct correlation with the size of zeolite particles — the proportion of cells in the state of apoptosis is up to $35.23 \pm 2.3\%$, which is probably due to the mechanical effect of large particles of the rocks in question on cellular structures. Information about the cytotoxic effects of different types of zeolites on the cells of the body of productive animals will later form the basis of their toxicological assessment and will allow us to develop a strategy for their safe use.

Key words: mineral, zeolite, cytotoxicity, cell culture, cattle

For citation: Chernov A.N., Afordoanyi D.M., Prishpenko E.A. Characteristics of cytotoxicity of native zeolite against cattle epithelial cells. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-361-7-8-40-43> (In Russian).

© Chernov A.N., Afordoanyi D.M., Prishpenko E.A.

Albert N. Chernov, ✉
Daniel M. Afordoanyi,
Elena A. Prishpenko

Tatar Scientific Research Institute of Agrochemistry and Soil Science — separate structural subdivision of the Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences

✉ rt-kazan@mail.ru

Received by the editorial office:
26.04.2022

Accepted in revised:
02.07.2022

Accepted for publication:
18.08.2022

Введение/Introduction

Важным условием роста производимой продукции животноводства является наличие устойчивой кормовой базы. В настоящее время для удовлетворения потребностей организма сельскохозяйственных животных как в макро-, так и в микроэлементах широко применяются нетрадиционные источники минеральных веществ, в частности агроминералы. Большой интерес представляют цеолиты, запасы которых в РФ исчисляются миллиардами тонн; при скармливании они повышают продуктивность животных [1].

Федеральным законом, который вступил в действие 1 января 2020 г., № 280-ФЗ от 3 августа 2018 г. «Об органической продукции и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации» предусмотрено выполнение определенных требований при производстве органической продукции. Анализ российского рынка показал, что доля органической продукции составляет около 20%, 5% из которых приходится на продукцию животного происхождения. Стремительно набирает обороты в плане получения органической продукции и молочная отрасль [2, 3, 4].

Для получения органической продукции животноводства ключевым может быть создание высокоэффективных кормовых добавок из природного сырья, кремний-содержащих минералов — цеолитов [4].

Немаловажным аспектом, регламентирующим применение сорбентов в сельскохозяйственной практике, является характеристика их токсического воздействия на организм продуктивных животных. Отечественными учеными был проведен значительный объем токсикологических исследований разных типов цеолитовых пород большинства разведенных месторождений [5]. Цитотоксические эффекты могут быть обусловлены несколькими факторами: так, например, высокую канцерогенную активность некоторых цеолитов связывают с их морфологией, фиброгенную и мутагенную активность, повышенную естественную радиоактивность — с особенностями месторождений. Установлено, что токсичность цеолитов напрямую зависит от размеров их частиц: нано- и микрочастицы оказывают большее повреждающее действие на живой организм ввиду их соизмеримости с размерами клеток [6]. Интересны и некоторые свойства цеолитов, способствующие сохранению биоценоза [7]. Цеолит известен и своими антимикробными свойствами [8–12].

Учитывая то, что состав цеолитов чрезвычайно вариателен, в том числе и по содержанию микроэлементов, большинство отечественных цеолитовых туфов не оценено с точки зрения возможной цитотоксичности.

Целью настоящего исследования явилась характеристика цитотоксичности нативного клиноптилолита в отношении эпителиальных клеток крупного рогатого скота.

Материалы и методы/Materials and methods

Для характеристики цитотоксичности были отобраны 4 фракции цеолита с размерами частиц: № 1 — 0,2 мм, № 2 — 0,24 мм, № 3 — 0,8 мм, № 4 — 0,8–2,5 мм, из одного из действующих в Республики Татарстан месторождения — Татарско-Шатрашанского.

Используемая в опытах порода имела следующий химический состав (%): SiO₂ общ. — 53,62; Al₂O₃ — 5,95; Fe₂O₃ — 1,78; CaO — 16,16; MgO — 2,14; K₂O — 1,22; P₂O₅ — 0,08; Na₂O — 0,02; Zn — 0,003; Cr — 0,010; Ni — 0,004; Co — 0,001; Mo — 0,00015; Cu — 0,002; Pb — 0,0014; As — 0,00015; Cd — 0,005; Hg — 0,000006. Минеральный состав был следующим (%): клиноптило-

лит — 22; опал-кристобалит — 23,3; монтмориллонит — 13; кальцит — 12.

Для определения цитотоксичности готовили суспензии цеолитов на поддерживающей среде DMEM в концентрациях 50, 100, 150, 200, 300, 400, 500, 1000 мкг/мл. Для недопущения контаминации культур клеток суспензии цеолитов подвергали автоклавированию при 2 атм в течение 1 ч.

В качестве моделей для определения токсичности цеолитов были выбраны две перевиваемые клеточные линии: LEK (эпителий легкого эмбриона коровы) и TR (эпителий трахеи эмбриона коровы), полученные из Коллекции культур клеток позвоночных (ИЦиГ РАН, Россия). Клетки выращивали на среде DMEM с добавлением 10%-ной фетальной бычьей сыворотки («HyClone», США), пенициллина и стрептомицина (по 100 МЕ/мл), 20 мМ глутамина («Sigma-Aldrich», США) в 96-луночных планшетах («Costar», США) при +37 °C в атмосфере 5% CO₂. Клетки выращивались при первоначальной посевной концентрации 103 кл. на лунку в течение 24 ч до достижения 95%-ной конфлюэнтности монослоя, после чего ростовую среду заменяли на суспензии цеолита в соответствующих концентрациях. Срок инкубации клеточных монослоев с образцами цеолитов составлял 24 ч. В качестве отрицательного контроля использовали интактные клеточные монослои.

Жизнеспособность клеток оценивали по активности митохондриальной дегидрогеназы по стандартной методике [13], основанной на восстановлении тетразолиевого красителя МТТ (3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолий бромид). Цеолитовые суспензии в лунках заменяли на раствор МТТ в среде DMEM (5 мкг/мл) и инкубировали при +37 °C в течение 4 ч. После удаления раствора МТТ в лунки вносили по 200 мкл ДМСО, выдерживая в темноте в течение 15 мин для растворения кристаллов формазана. Показания оптической плотности считывали на ИФА-ридере при длине волны 570 нм. Долю живых клеток определяли по соотношению оптической плотности в опытных и контрольных лунках.

Статистическая обработка данных производилась при помощи программного обеспечения «GraphPad Prism 6.0» (США). Эксперименты проводились в пятикратной повторяемости, за статистически достоверный уровень принимали $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение/Results and discussion

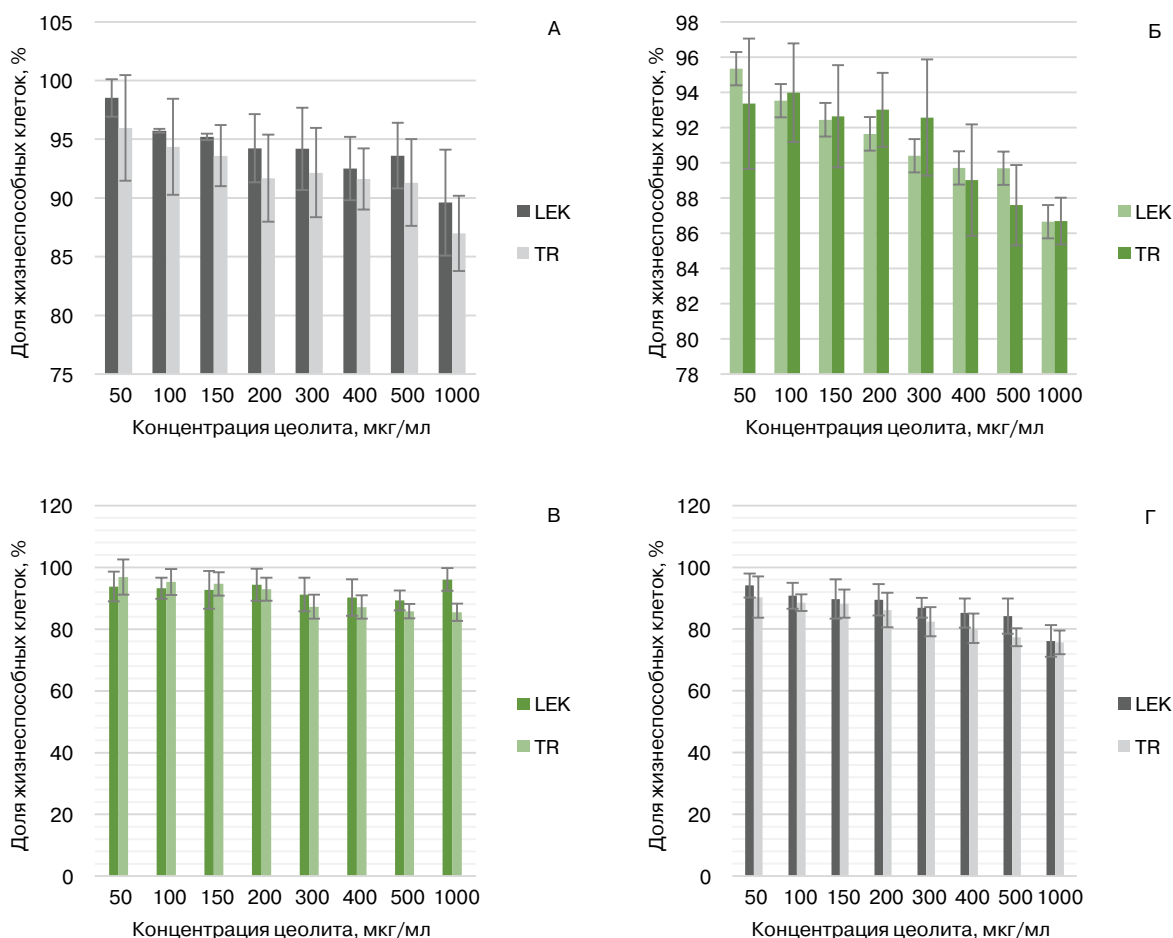
МТТ-тест позволил охарактеризовать различия во влиянии исследуемых фракций клиноптилолита на метаболическую активность клеток эпителия легкого и трахеи эмбриона крупного рогатого скота. Результаты представлены в виде гистограммы, в которой жизнеспособность клеток, культивируемых в питательных средах с добавлением цеолитовых суспензий, выражена в процентах по отношению к контролю (рис. 1, А — Г).

Из представленных диаграмм видно, что концентрации 50–300 мкг/мл не являются цитотоксическими для цеолитов фракций № 1–4; при обработке концентрациями в диапазоне 400–1000 мкг/мл доля апоптотических клеток увеличивается от 10,4±2,1% (фракция № 1) до 23,85±3,17% (фракция № 4) по сравнению с интактными клеточными образцами ($p < 0,01$).

При сопоставлении показателей, полученных при обработке цеолитовыми суспензиями клеток линий LEK и TR, статистически значимых различий между ними зарегистрировано не было, что может быть объяснено общностью их морфологии.

Рис. 1. Динамика изменения жизнеспособности эпителиальных клеток крупного рогатого скота при обработке суспензиями цеолитов: А — № 1 (0,2 мм), Б — № 2 (0,24 мм), В — № 3 (0,8 мм), Г — № 4 (0,8–2,5 мм)

Fig. 1. Dynamics of changes in the viability of epithelial cells of cattle when treated with zeolite suspensions: А — No. 1 (0.2 mm), Б — No. 2 (0.24 mm), В — No. 3 (0.8 mm), Г — No. 4 (0.8–2.5 mm)



Сведения о цитотоксическом воздействии разных фракций цеолитов на клетки организма продуктивных животных в дальнейшем лягут в основу их токсикологической оценки и позволят выработать стратегию их безопасного применения.

Выводы/Conclusion

При проведенном исследовании была изучена базовая цитотоксичность цеолита Дрожжановского района Республики Татарстан в отношении культуры клеток легкого и трахеи эмбриона крупного рогатого скота (LEK,

TR). Установлено, что фракции цеолита №1–4 могут быть использованы для производства кормовых добавок. Было выявлено, что концентрации до 300 мкг/мл-всех фракций цеолитов не оказывают цитотоксического эффекта на исследуемые клетки.

Цитопатогенное действие проявляется в диапазоне концентраций 400–1000 мкг/мл и находится в прямой корреляции с размером цеолитовых частиц — доля клеток в состоянии апоптоза составляет до $35,23 \pm 2,3\%$, что, вероятно, связано с механическим воздействием крупных частиц рассматриваемых пород на клеточные структуры.

Все авторы несут ответственность за свою работу и представленные данные.

Все авторы внесли равный вклад в эту научную работу. Авторы в равной степени участвовали в написании рукописи и несут равную ответственность за плагиат. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

All authors bear responsibility for the work and presented data.

All authors have made an equal contribution to this scientific work. The authors were equally involved in writing the manuscript and bear the equal responsibility for plagiarism. The authors declare no conflict of interest.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Работа проведена в рамках Государственного задания № FMEG-2021-0003, регистрационный номер: 121021600147-1.

FUNDING

The work was carried out within the framework of State Assignment No. FMEG-2021-0003, registration number: 121021600147-1.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Лаврентьев, А. Ю. Цеолиты в кормлении молодняка сельскохозяйственных животных и птицы / А. Ю. Лаврентьев, Е. Ю. Немецва, Н. К. Кириллов. — Чебоксары : Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова, 2018. — 212 с. — ISBN 978-5-7677-2771-1. — EDN YXUBML.
2. Маликова, М. Г. Применение премиксов на основе цеолита из местных ресурсов в рационах коров / М. Г. Маликова, Ф. М. Шагалиев // Научное обеспечение инновационного АПК регионов РФ : материалы Международной научно-практической конференции : сборник. — 2018. — С. 829-835.
3. Любин, Н. А. Цеолиты Сиуч-Юшанского месторождения в улучшении физиологических функций и повышении продуктивных качеств молочных коров : монография / Н. А. Любин, В. В. Ахметова. — Ульяновск : УлГТУ, 2018. — 170 с.
4. Дежatkina, С. В. Физиолого-биохимический статус коров при введении в их рацион кремнийсодержащей добавки / С. В. Дежatkina, Ш. Р. Зялалов, М. Е. Дежatkina // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. — 2021. — № 1(53). — С. 170-174. — DOI 10.18286/1816-4501-2021-1-170-174. — EDN DTEBEV.
5. Герасимова, М. В. Изучение токсичности цеолитов Куликовского месторождения в остром опыте / М. В. Герасимова, С. А. Цыбанков // Молодежь XXI века: шаг в будущее : материалы XIX региональной научно-практической конференции. В 3-х томах, Благовещенск, 23 мая 2018 года. — Благовещенск: Дальневосточный государственный аграрный университет, 2018. — С. 23-24. — EDN LYFOOL.
6. Зонхоева, Э. Л. Природные цеолиты Забайкалья: свойства и применение / отв. ред. А. М. Плюснин. — Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2018. — 192 с.
7. Чернов, А.Н. Некоторые свойства цеолитов для сохранения биocenosis / А.Н. Чернов, Е.А. Прищепенко, Д.М. Афорданы, Р.Р. Газизов // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. — 2021. — Т. 247. — № 3. — С. 293-297.
8. Dutta P., Wang B. Zeolite-supported silver as antimicrobial agents // Coordination Chemistry Reviews. — 2019. — Т. 383. — С. 1-29.
9. Czel G. et al. Antimicrobial effect of silver nanoparticles plated natural zeolite in polyurethane foam // Express Polymer Letters. — 2021. — Т. 15. — № 9. — С. 853-864.
10. Özogul F. et al. Effect of natural zeolite (clinoptilolite) on in vitro biogenic amine production by Gram positive and Gram negative pathogens // Frontiers in microbiology. — 2018. — Т. 9. — С. 2585.
11. Yao, G., Lei, J., Zhang, W., Yu, C., Sun, Z., Zheng, S. and Komarneni, S., 2019. Antimicrobial activity of X zeolite exchanged with Cu 2+ and Zn 2+ on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Environmental Science and Pollution Research, 26(3), pp.2782-2793.
12. Hrenovic, J., Milenkovic, J., Ivankovic, T. and Rajic, N., 2012. Antibacterial activity of heavy metal-loaded natural zeolite. Journal of hazardous materials, 201, pp.260-264.
13. Mosmann, Tim. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays (англ.) // Journal of Immunological Methods : journal. — 1983. — December (vol. 65, no. 1-2). — P. 55-63. — ISSN 0022-1759. — doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4. — PMID 6606682.

ОБ АВТОРАХ:

Альберт Николаевич Чернов,
доктор биологических наук, заведующий отделом животноводства и ветеринарии, главный научный сотрудник Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения — обособленное структурное подразделение Федерального исследовательского центра Казанский научный центр Российской академии наук, 2/31 ул. Лобачевского, Казань, 420111, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-9007-5641>
Тел.: 927-403-63-00
E-mail: rt-kazan@mail.ru

Дэниел Мавуэна Афорданы,
кандидат биологических наук, научный сотрудник Татарский НИИХП — обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Татарский НИИСХ — обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, 2/31 ул. Лобачевского, Казань, 420111, Российская Федерация

Тел. 917-236-39-46;
E-mail: daforadoan@gmail.com

Елена Александровна Прищепенко,
кандидат сельскохозяйственных наук, руководитель Татарский НИИХП — обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Татарский НИИСХ — обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, 2/31 ул. Лобачевского, Казань, 420111, Российская Федерация

Тел. 8(843)2778274;
E-mail: niixp2@mail.ru

REFERENCES

1. Lavrentiev, A. Yu. Zeolites in the feeding of young farm animals and poultry / A. Yu. Lavrentiev, E. Yu. Nemtseva, N. K. Kirillov. Cheboksary : I.N. Ulyanov Chuvash State University, 2018. — 212 p. — ISBN 978-5-7677-2771-1. — EDN YXUBML. (In Russian)
2. Malikova, M. G. The use of zeolite-based premixes from local resources in cow diets / M. G. Malikova, F. M. Shagaliev // Scientific support of innovative agro-industrial complex of the regions of the Russian Federation : materials of the International scientific and practical conference : collection. — 2018. — pp. 829-835. (In Russian)
3. Lyubin, N. A. Zeolites of the Siuch-Yushansky deposit in improving physiological functions and improving the productive qualities of dairy cows : monograph / N. A. Lyubin, V. V. Akhmetova. — Ulyanovsk : UIGAU, 2018. — 170 p. (In Russian)
4. Dezhatkina, S. V. Physiological and biochemical status of cows when introducing a silicon-containing additive into their diet / S. V. Dezhatkina, Sh. R. Zialalov, M. E. Dezhatkina // Bulletin of the Ulyanovsk State Agricultural Academy. — 2021. — № 1(53). — Pp. 170-174. — DOI 10.18286/1816-4501-2021-1-170-174. — EDN DTEBEV. (In Russian)
5. Gerasimova, M. V. Studying the toxicity of zeolites of the Kulikovo deposit in acute experience / M. V. Gerasimova, S. A. Tsybankov // Youth of the XXI century: a step into the future : Materials of the XIX regional scientific and practical conference. In 3 volumes, Blagoveshchensk, May 23, 2018. — Blagoveshchensk: Far Eastern State Agrarian University, 2018. — pp. 23-24. — EDN LIFE. (In Russian)
6. Zonkhoeva, E. L. Natural zeolites of Transbaikalia: properties and application / ed. by A.M. Plyusnin. — Ulan-Ude: Publishing House of the BNC SB RAS, 2018. — 192 p. (In Russian)
7. Chernov, A.N. Some properties of zeolites for preservation of biocenosis / A.N. Chernov, E.A. Prishchepenko, D.M. Afordanyi, R.R. Gazizov // Scientific notes of the Kazan State Academy of Veterinary Medicine named after N.E. Bauman. — 2021. — Vol. 247. — No. 3. — pp. 293-297. (In Russian)
8. Datta P., Van B. Silver on a zeolite basis as antimicrobial agents // Reviews of coordination chemistry. — 2019. — p. 383. — p. 1-29.
9. Czel G. et al. Antimicrobial effect of silver nanoparticles deposited on natural zeolite in polyurethane foam // Express polymer letters. — 2021. — Vol. 15. — No. 9. — pp. 853-864.
10. Özogul F. et al. The influence of natural zeolite (clinoptilolite) on the production of biogenic amines in vitro by gram-positive and gram-negative pathogens // Frontiers of Microbiology. — 2018. — Vol. 9. — p. 2585.
11. Yao, G., Lei, J., Zhang, U., Yu, K., Song, Z., Zheng, S. and Komarneni, S., 2019. Antimicrobial activity of X-zeolite exchanged Cu 2+ and Zn 2+ for Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Environmental Science and Pollution Research, 26(3), pp.2782-2793.
12. Khrenovich, J., Milenkovich, J., Ivankovich, T. and Raich, N., 2012. Antibacterial activity of natural zeolite enriched with heavy metals. Journal of Hazardous Materials, 201, pp.260-264.
13. Mosmann, Tim. Express colorimetric analysis of cell growth and survival: application to the analysis of proliferation and cytotoxicity // Journal of Immunological Methods : journal. — 1983. — December (volume 65, No. 1-2). — pp. 55-63. — ISSN 0022-1759. — doi:10.1016/0022-1759(83)90303-4. — PMID 6606682.

ABOUT THE AUTHORS:

Albert Nikolaevich Chernov,
Doctor of Biological Sciences, Head of the Department of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Chief Researcher Tatar Scientific Research Institute of Agrochemistry and Soil Science is a separate structural subdivision of the Federal Research Center Kazan Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, 2/31, Lobachevsky str., Kazan, 420111, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-9007-5641>
Tel.: 927-403-63-00
E-mail: rt-kazan@mail.ru

Daniel Mavuen Afordanyi,
Candidate of Biological Sciences, researcher Tatar Research Institute of Agricultural Sciences — a separate structural unit of the FITC KazNC RAS, Tatar Research Institute of Agricultural Sciences — a separate structural unit of the FITC KazNC RAS, 2/31, Lobachevsky str., Kazan, 420111, Russian Federation
Tel. 917-236-39-46;
E-mail: daforadoan@gmail.com

Elena Aleksandrovna Prishchepenko,
Candidate of Agricultural Sciences, Head Tatar Research Institute of Agricultural Sciences — a separate structural unit of the FITC KazNC RAS, Tatar Research Institute of Agricultural Sciences — a separate structural unit of the FITC KazNC RAS, 2/31, Lobachevsky str., Kazan, 420111, Russian Federation
Tel. 8(843)2778274;
E-mail: niixp2@mail.ru