

А.Н. Чернов, ✉
Д.М. Афордоань, ¹
Е.А. Прищепенко,
Р.Р. Газизов

Татарский научно-исследовательский институт агрохимии и почвоведения — обособленное структурное подразделение, Казань, Российская Федерация

✉ rt-kazan@mail.ru

Поступила в редакцию:
30.07.2022

Одобрена после рецензирования:
29.08.2022

Принята к публикации:
29.09.2022

Albert N. Chernov¹, ✉
Daniel M. Afordoanyi¹,
Elena A. Prishepenko¹,
Rasim R. Gazizov¹

Tatar Research Institute of Agrochemistry and Soil Science — a separate structural unit, Kazan, Russian Federation

✉ rt-kazan@mail.ru

Received by the editorial office:
30.07.2022

Accepted in revised:
29.08.2022

Accepted for publication:
29.09.2022

Характеристика цитотоксичности трепелов Зикеевского месторождения в отношении клеток легочного эпителия крупного рогатого скота

РЕЗЮМЕ

Актуальность. В последние годы возрастает интерес к изучению трепела, массовая доля цеолита в котором доходит до 50%. Целью настоящего исследования явилась оценка цитотоксического воздействия трепела Зикеевского месторождения на клетки легкого эмбриона коровы (ЛЭК).

Методы. Для характеристики цитотоксичности были отобраны 6 фракций трепела (карьер добычи — Зикеевское месторождение Жиздринского района Калужской области) с размерами частиц: № 1 — 0,03 мм, № 2 — 0,03–0,06 мм, № 3 — 0,09–0,15 мм, № 4 — 0,15–0,3 мм, № 5 — 0,3–0,5 мм. Для определения цитотоксичности готовили суспензии цеолитов на поддерживающей среде DMEM в концентрациях 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 мкг/мл. В качестве модели для определения токсичности трепелов была выбрана перевиваемая клеточная линия ЛЭК (эпителий легкого эмбриона коровы), полученная из Коллекции культур клеток позвоночных (ИЦиГ РАН, Россия). Клетки выращивали на среде DMEM с добавлением 10% 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. Жизнеспособность клеток оценивали по активности митохондриальной дегидрогеназы по стандартной методике. Статистическая обработка данных производилась при помощи ПО "GraphPad Prism 6.0" (США). Эксперименты проводились в 5 повторах, за статистически достоверный уровень принимали $p \leq 0,05$.

Результаты. Было выявлено, что концентрации всех фракций трепелов до 100 мкг/мл не оказывают цитотоксического эффекта на исследуемые клетки. Значительное цитопатогенное действие проявляется в диапазоне концентраций 300–1000 мкг/мл; оно находится в положительной корреляции с размером трепеловых частиц — доля некротических клеток при обработке монослоев максимальными концентрациями составляет до 99,7±2,9%, что может быть связано с механическим воздействием крупных частиц минерала на клеточные структуры.

Ключевые слова: минерал, трепел, цитотоксичность, культура клеток, крупный рогатый скот.

Для цитирования: Чернов А.Н., Афордоань Д.М., Прищепенко Е.А., Газизов Р.Р. Характеристика цитотоксичности трепелов Зикеевского месторождения в отношении клеток легочного эпителия крупного рогатого скота. *Аграрная наука*. 2022; 363 (10): 23-26. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-363-10-23-26>

© Чернов А.Н., Афордоань Д.М., Прищепенко Е.А., Газизов Р.Р.

Characteristics of cytotoxicity of native zeolite against cattle epithelial cells

ABSTRACT

Relevance. In recent years, there has been an increasing interest in the study of trepel, the mass fraction of zeolite in which reaches 50%. The purpose of this study was to assess the cytotoxic effect of the Zikeevsky field trepel on the cells of the cow embryo lung (CEL).

Methods. To characterize cytotoxicity, 6 fractions of trepel were selected (mining quarry — Zikeevskoye deposit of Zhizdrinsky district of Kaluga region) with particle sizes: no. 1 — 0.03 mm, no. 2 — 0.03–0.06 mm, no. 3 — 0.09–0.15 mm, no. 4 — 0.15–0.3 mm, no. 5 — 0.3–0.5 mm. To determine cytotoxicity, zeolite suspensions were prepared on a DMEM maintenance medium in concentrations 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 micrograms/ml. As a model for determining the toxicity of trepeles, a transplanted cell line of CEL (epithelium of the lung embryo of a cow) obtained from a Collection of vertebrate cell cultures (ICiG RAS, Russia) was selected. The cells were grown on a DMEM medium with the addition of 10% fetal bovine serum ("HyClone", USA), penicillin and streptomycin (100 IU/ml each), 20 mM glutamine ("Sigma-Aldrich", USA) in 96-well tablets ("Costar", USA) at +37 °C in an atmosphere of 5% CO₂. Cell viability was assessed by the activity of mitochondrial dehydrogenase according to the standard method. Statistical data processing was performed using "GraphPad Prism 6.0" software (USA). The experiments were carried out in 5 repeats, $p \leq 0.05$ was taken as a statistically significant level.

Results. It was found that concentrations of all fractions of trepeles up to 100 micrograms/ml do not have a cytotoxic effect on the studied cells. A significant cytopathogenic effect is manifested in the concentration range of 300–1000 micrograms/ml; is in a positive correlation with the size of trepel particles — the proportion of necrotic cells when processing monolayers with maximum concentrations is up to 99.7±2.9%, which may be due to the mechanical effect of large mineral particles on cellular structures.

Key words: mineral, trepel, cytotoxicity, cell culture, cattle.

For citation: Chernov A.N., Afordoanyi D.M., Prishepenko E.A., Gazizov R.R. Characteristics of cytotoxicity of native zeolite against cattle epithelial cells. *Agrarian science*. 2022; 363 (10): 23-26. <https://doi.org/10.32634/0869-8155-2022-363-10-23-26> (In Russian).

© Chernov A.N., Afordoanyi D.M., Prishepenko E.A., Gazizov R.R.

Введение / Introduction

В последнее десятилетие достаточно интенсивно ведутся исследования по изучению возможности применения природных минералов с уникальными кристалло-структурными характеристиками в качестве удобрений и мелиорантов [1]. Известно, что цеолиты, трепелы, диатомиты, опоки и различные глины способны оказывать положительное влияние на агрохимические свойства почвы, оптимизируя их минеральный состав и кислотно-основные режимы, что значительно повышает урожайность сельскохозяйственных культур и качество получаемой продукции [2]. Природные минералы также активно используются в качестве действующих агентов в сорбционных технологиях, получивших широкое распространение в практике очистки жидких сред, газовых выбросов и почвы от опасных загрязняющих веществ [3, 4].

В последние годы возрастает интерес к изучению трепела, массовая доля цеолита в котором доходит до 50% (в зависимости от месторождения). Ранее данный минерал не получал широкого применения в мелиоративной практике по причине своего полимерного состава [5], однако в настоящее время в многочисленных исследованиях содержатся данные о влиянии трепела на переход радионуклидов в сельскохозяйственные культуры, их урожайность, агрохимические свойства почвы; оценена экономическая целесообразность применения трепела в растениеводстве [6].

Известно, что применение цеолитсодержащих компонентов приводит к повышению стрессоустойчивости, оказывает иммуномодулирующий, антигистаминный, антианемический эффекты, нормализует минеральный обмен. Доказано, что пероральное использование трепела оказывает выраженный энтеросорбционный и дезинтоксикационный эффект, наглядно показана возможность применения трепела в лечении гнойно-септических заболеваний [7].

Показана польза трепела для растений при использовании в качестве удобрений [8–10]. Минералы показывают свою эффективность для профилактики заболеваний [11].

Однако полноценного изучения путей и звеньев воздействия трепела на функционирование различных систем организма не проводилось, не изучено проявление цитотоксического эффекта данного минерала и не определены его токсические дозы.

В связи с вышеизложенным целью настоящего исследования явилась оценка цитотоксического воздействия трепела Зикеевского месторождения на клетки легкого эмбриона коровы (ЛЭК).

Материал и методы исследования / Materials and method

Для характеристики цитотоксичности были отобраны 6 фракций трепела (карьер добычи — Зикеевское месторождение Жиздринского района Калужской области) с размерами частиц: № 1 — 0,03 мм, № 2 — 0,03–0,06 мм, № 3 — 0,09–0,15 мм, № 4 — 0,15–0,3 мм, № 5 — 0,3–0,5 мм. Для определения цитотоксичности готовили суспензии цеолитов на поддерживающей среде DMEM в концентрациях 50, 100, 200, 300, 400, 500, 1000 мкг/мл; последние подвергали автоклавированию при 2 атм в течение 1 ч. Наиболее крупную фракцию трепела предварительное подвергали механической гомогенизации.

Культура клеток. В качестве модели для определения токсичности трепелов была выбрана перевиваемая клеточная линия ЛЭК (эпителий легкого эмбриона

коровы), полученная из Коллекции культур клеток позвоночных (ИЦиГ РАН, Россия). Клетки выращивали на среде DMEM с добавлением 10% 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 °С в атмосфере 5% CO₂. Клетки культивировались при исходной концентрации 10³ кл. на лунку в течение 48 ч до достижения 90–95%-ной конfluenceности монослоя, после чего сывороточную питательную среду заменяли на суспензии трепелов на основе поддерживающей среды в исследуемых концентрациях. Срок экспозиции образцов цеолитов с клеточными монослоями составил 24 ч. Отрицательным контролем служили интактные клеточные монослои.

МТТ-тест. Метаболическую активность эпителиальных клеток оценивали посредством колориметрического МТТ-теста, основанного на способности восстанавливать тетразолиевый краситель до нерастворимого формаза, имеющего фиолетовое окрашивание. Трепелсодержащие суспензии в лунках заменяли на раствор МТТ в среде DMEM (5 мг/мл) и инкубировали при +37 °С в течение 4 ч. После аспирации раствора красителя в лунки вносили по 200 мкл ДМСО, инкубируя в темноте в течение 15 мин для полного растворения кристаллов формаза. Значения оптической плотности регистрировали на ИФА-ридере при длине волны 570 нм. Долю жизнеспособных клеток рассчитывали по соотношению оптической плотности в опытных и контрольных лунках.

Статистическая обработка данных производилась при помощи пакета программного обеспечения "GraphPad Prism 6.0" (США). Эксперименты проводились в 3 повторностях, за статистически достоверный уровень принимали $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение / Results and discussion

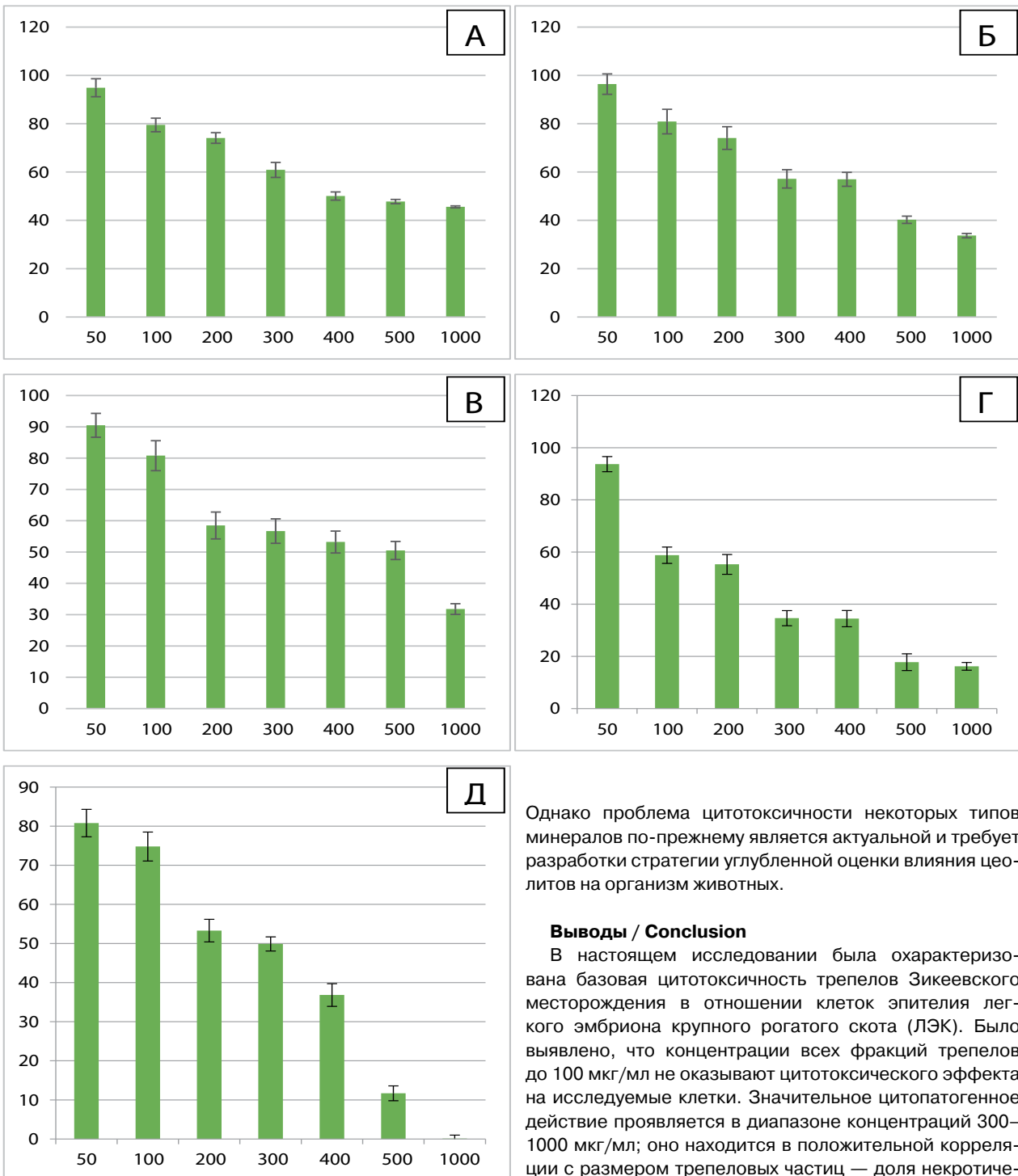
Посредством МТТ-теста были охарактеризованы изменения, связанные с воздействием рассматриваемых фракций трепела на метаболическую активность эпителиальных клеток крупного рогатого скота. Результаты представлены в виде диаграмм, в которых жизнеспособность клеток, культивируемых в присутствии трепеловых суспензий, выражена в процентах по отношению к контролю (рис. 1А–Д).

Из представленных диаграмм можно сделать вывод, что концентрации, не превышающие 50–100 мкг/мл, не обладают значимой цитотоксичностью для образцов № 1, 2, 3 — в них процент неапоптотических клеток составил в среднем 80,5±3,7%. При инкубации с трепелами в концентрациях 400–1000 мкг/мл доля апоптотических клеток существенно возрастала, находясь в диапазоне 66,2±5,4% — 88,7±4,9%. Данный эффект сопровождался положительной корреляцией между диаметром частиц и цитотоксическим воздействием образцов трепелов: наибольшей цитотоксичностью характеризовался образец № 5 с диаметром частиц до 0,5 мм. Доля апоптотических клеток в лунках с максимальной концентрацией трепела (1000 мкг/мл) достигла 99,7±2,9%. Принимая во внимание размер частиц данной фракции, это может быть связано с их механическим воздействием на клетки.

Известно, что трепелы, как и любые природные цеолиты, при контакте со слизистыми оболочками способны вступать в процессы деалюминации и кислотного выщелачивания, а при пролонгированном воздействии

Рисунок 1. Метаболическая активность эпителиальных клеток эмбриона коровы при 24-часовой инкубации с различными фракциями трепелов: А — образец № 1 (0,03 мм), Б — образец № 2 (0,03–0,06 мм), В — образец № 3 (0,09–0,15 мм); Г — образец № 4 (0,15–0,3 мм), Д — образец № 5 (0,3–0,5 мм). По оси X отображены концентрации трепела в суспензии (мкг/мл), по оси Y — доля живых клеток относительно отрицательного контроля (%).

Fig. 1. Metabolic activity of cow embryo epithelial cells during 24 hour incubation with various fractions of trepeles: А — sample No. 1 (0.03 mm), Б — sample no. 2 (0.03–0.06 mm), В — sample no. 3 (0.09–0.15 mm); Г — sample no. 4 (0.15–0.3 mm), Д — sample no. 5 (0.3–0.5 mm). The X axis shows the concentrations of trepeles in suspension (mcg/ml), the Y axis shows the proportion of living cells relative to negative control (%).



Однако проблема цитотоксичности некоторых типов минералов по-прежнему является актуальной и требует разработки стратегии углубленной оценки влияния цеолитов на организм животных.

Выводы / Conclusion

В настоящем исследовании была охарактеризована базовая цитотоксичность трепелов Зикеевского месторождения в отношении клеток эпителия легкого эмбриона крупного рогатого скота (ЛЭК). Было выявлено, что концентрации всех фракций трепелов до 100 мкг/мл не оказывают цитотоксического эффекта на исследуемые клетки. Значительное цитопатогенное действие проявляется в диапазоне концентраций 300–1000 мкг/мл; оно находится в положительной корреляции с размером трепеловых частиц — доля некротических клеток при обработке монослоев максимальными концентрациями составляет до $99,7 \pm 2,9\%$, что может быть связано с механическим воздействием крупных частиц минерала на клеточные структуры.

Сведения о цитотоксических эффектах разных образцов трепелов на клетки организма продуктивных животных в дальнейшем будут использованы для их комплексной токсикологической оценки и позволят выработать стратегию их безопасного применения.

на эпителий выступают в роли раздражителей малой или умеренной силы, вызывающих катаболические изменения на клеточном уровне [12]. Можно утверждать, что концентрации рассматриваемого нами диапазона (50–100 мкг/мл) не индуцируют значимых структурно-функциональных отклонений, не несут патогенетического значения и, таким образом, могут быть рассмотрены в качестве компонентов минеральных удобрений.

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

Материалы подготовлены в рамках ГЗ № FMEG-2021-0003, регистрационный номер: 121021600147-1.

FUNDING

The materials were prepared within the framework of State order No. FMEG-2021-0003, registration number: 121021600147-1.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Самсонова Н.Е. Кремний в растениях и животных организмах. *Агрохимия*. 2019; 1: 86-96.
2. Куликова А.Х., Яшин Е.А., Черкасов М.С. Эффективность цеолита, в том числе модифицированного, в качестве удобрения кукурузы. *Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии*. 2020; 3 (51): 76-84.
3. Томсон А.Э., Соколова Т.В., Пехтерева В.С., Сосновская Н.Е. Роль природных органических и органоминеральных дисперсных материалов при получении чистой растениеводческой продукции. *Проблемы трансформации естественных ландшафтов в результате антропогенной деятельности и пути их решения: сборник научных трудов по материалам Международной научной экологической конференции, посвященной Году науки и технологий*. Краснодар, 2021: 274-276.
4. Суюндукова М.Б., Суюндукоев Я.Т., Сафин Х.М., Семенова И.М., Хасанова Р.Ф. Природные цеолиты как элемент экологизации земледелия Башкирского Зауралья. *Достижения науки и техники АПК*. 2018; 32 (4): 25-30.
5. Мерзлова О.А., Агеева Т.Н. Экономическая эффективность применения трепела в качестве известкового мелиоранта на загрязненных радионуклидами землях. *Мелиорация*. 2021; 1 (95): 50-60.
6. Лазаревич С.С., Ермоленко А.В., Шипилов Ю.В., Мисючик А.А. Влияние трепела на урожайность и радиологическое качество продукции сельскохозяйственных культур. *Вестник БГСХА*. 2011; (2): 70-75.
7. Колотилова М.Л., Иванов Л.Н. Цеолитсодержащий трепел в экспериментальной гепатологии. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2005; (3): С. 12-15.
8. Greger M., Landberg T., Nazarian S. Plant uptake of silicon nanoparticles. *7th Inter. Conf. Silicon Agricult. Proced. Abstracts*. 2017; 40.
9. Yamaji N., Mitani-Vano N., Sakurai G. A Cooper ative system of silicon transportin plants. *7th Inter. Conf. Silicon Agricult. Proced. Abstracts*. 2017; 36.
10. Shelimanova E., Lyashenko A., Mikhalevich V. Complex processing of agriculture waste with production of energy, organic and organic-mineral granulated fertilizer. *Научный вiсник нубiп України. Серiя: технiка та енергетика АПК*. 2016; (256): 191-199.
11. Tamanaï-Shacoori Z., Chandad F., Rebillard A., Cillard J., Bonnaure-Mallet M. Silver-zeolite combined to polyphenol-rich extracts of *Ascophyllum nodosum*: potential active role in prevention of periodontal diseases. *PLoS One*. 2014; (9): 105-125.
12. Гайдаш А.А., Апчел В.Я., Ивченко Е.В., Белый В.И., Бакакин В.В. Влияние цеолитовых туфов на организм при пероральном поступлении. *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2016; 1 (53): 115-123.

REFERENCES

1. Samsonova N.E. Silicon in plants and animal organisms. *Agrochemistry*. 2019; (1): 86-96. (In Russian)
2. Kulikova A.H., Yashin E.A., Cherkasov M.S. The effectiveness of zeolite, including modified, in the qualities of corn fertilizer. *Vestnik Ul'yanovskoy gosudarstvennoy sel'skhoz'yaystvennoy akademii*. 2020; 3 (51): 76-84. (In Russian)
3. Thomson A.E., Sokolova T.V., Pekhtereva V.S., Sosnovskaya N.E. The role of natural organic and organomineral dispersed materials in obtaining pure crop production. *Problemy transformacii estestvennykh landshaftov v rezul'tate antropogennoy deyatel'nosti i puti ih resheniya: sbornik nauchnykh trudov po materialam Mezhdunarodnoy nauchnoy ekologicheskoy konferencii, posvyashchennoy Godu nauki i tekhnologii*. Krasnodar, 2021; 274-276. (In Russian)
4. Suyundukova M.B., Suyundukov Y.T., Safin H.M., Semenova I.M., Hasanova R.F. Natural zeolites as an element of ecologization of agriculture of the Bashkir Trans-Urals. *Dostizheniya nauki i tekhniki APK*. 2018; 32 (4): 25-30. (In Russian)
5. Merzlova O.A., Ageeva T.N. Economic efficiency of the use of trepel as a lime meliorant on lands contaminated with radionuclides. *Melioraciya*; 2021; 1 (95): 50-60. (In Russian)
6. Lazarevich S.S., Ermolenko A.V., Shipilov Yu.V., Misyuchik A.A. The influence of trepel on yield and radiological quality of agricultural crops. *Vestnik BSKHA*. 2011; (2): 70-75. (In Russian)
7. Kolotilova M.L., Ivanov L.N. Zeolite-containing trepel in experimental hepatology. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya*. 2005; (3): 12-15. (In Russian)
8. Greger M., Landberg T., Nazarian S. Plant uptake of silicon nanoparticles. *7th Inter. Conf. Silicon Agricult. Proced. Abstracts*. 2017; 40.
9. Yamaji N., Mitani-Vano N., Sakurai G. A Cooper ative system of silicon transportin plants. *7th Inter. Conf. Silicon Agricult. Proced. Abstracts*. 2017; 36.
10. Shelimanova E., Lyashenko A., Mikhalevich V. Complex processing of agriculture waste with production of energy, organic and organic-mineral granulated fertilizer. *Naukovij visnik nubip Ukraini. Seriya: tekhnika ta energetika APK*. 2016; (256): 191-199.
11. Tamanaï-Shacoori Z., Chandad F., Rebillard A., Cillard J., Bonnaure-Mallet M. Silver-zeolite combined to polyphenol-rich extracts of *Ascophyllum nodosum*: potential active role in prevention of periodontal diseases. *PLoS One*. 2014; (9): 105-125.
12. Gajdash A.A., Apchel V.Y., Ivchenko E.V., Belyj V.I., Bakakin V.V. The effect of zeolite tufts on the body when taken orally. *Vestnik Rossijskoj voenno-medicinskoj akademii*. 2016; 1 (53): 115-123. (In Russian)

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:
20 А, ул. Оренбургский тракт, Казань, 420111, Российская Федерация
E-mail: rt-kazan@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9007-5641>

Даниел Мавуена Афордоаны,

кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Лаборатории Молекулярно-Генетических и Микробиологических Методов— ФИЦ КазНЦ РАН, научный сотрудник Татарского НИИАХП — обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН.
20 А, ул. Оренбургский тракт, Казань, 420111, Российская Федерация
<https://orcid.org/0000-0002-0494-3693>.
Тел. 917-236-39-46.
E-mail: daforadoan@gmail.com

Елена Александровна Прищепенко

Кандидат сельскохозяйственных наук, руководитель Татарский НИИАХП — обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Татарский НИИ-ИСХ — обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН: 20 А, ул. Оренбургский тракт, Казань, 420111, Российская Федерация
E-mail: niiaxp2@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9068-3014>

Расим Рашидович Газизов

Кандидат сельскохозяйственных наук, ведущий научный сотрудник отдела воспроизводства почвенного плодородия Татарский НИИ-АХП — обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН, Татарский НИИ-ИСХ — обособленное структурное подразделение ФИЦ КазНЦ РАН: 20 А, ул. Оренбургский тракт, Казань, 420111, Российская Федерация
E-mail: niiaxp2@mail.ru
<https://orcid.org/000-0002-9922-9037>

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: 20 A, st. Orenburg tract, Kazan, 420111, Russian Federation
E-mail: rt-kazan@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9007-5641>

Daniel Mavuena Afordoanyi,

candidate of Biological Sciences, researcher at the laboratory of agrochemical and biological analyses of the Tatar Research Institute of Agrochemistry and Soil Science— FRC Kazan Scientific Center, senior researcher at the Laboratory of Molecular Genetic and Microbiological Methods— FRC Kazan Scientific Center. 20 A, st. Orenburg tract, Kazan, 420111, Russian Federation
<https://orcid.org/0000-0002-0494-3693>.
Tel.: 917-236-39-46.
E-mail: daforadoan@gmail.com.

Elena Aleksandrovna Prishchepenka

Candidate of Agricultural Sciences, head of the Tatar NIIAHP — a separate structural unit of the FITC KazNC RAS, Tatar NIISH — a separate structural unit of the FITC KazNC RAS: 20 A, st. Orenburg tract, Kazan, 420111, Russian Federation
E-mail: niiaxp2@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0002-9068-3014>

Rasim Rashidovich Gazizov

Candidate of Agricultural Sciences, leading researcher of the Department of Soil Fertility Reproduction Tatar NIIAHP is a separate structural unit of the FITC KazNC RAS, Tatar NIISH is a separate structural unit of the FITC KazNC RAS: 20 A, st. Orenburg tract, Kazan, 420111, Russian Federation
E-mail: niiaxp2@mail.ru
<https://orcid.org/000-0002-9922-9037>