Сравнение двух методов отбора агрессивных для подсолнечника изолятов *Phoma macdonaldii* Boerema

Н.М. Арасланова,

кандидат сельскохозяйственных наук

Т.С. Антонова,

доктор биологических наук

С.Л. Саукова,

кандидат биологических наук

ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК

Россия, 350038, г. Краснодар, ул. им. Филатова, д. 17
Тел.: (861) 275-86-53

E-mail: araslanova-nina@mail.ru

Для цитирования: Арасланова Н.М., Антонова Т.С., Саукова С.Л. Сравнение двух методов отбора агрессивных для подсолнечника изолятов *Phoma macdonaldii* Boerema // Масличные культуры. – 2019. – Вып. 3 (179). – С. 85–91.

Ключевые слова: подсолнечник, фомоз, изоляты, метаболиты, культуральный фильтрат, фитотоксичность, семена, корень, гипокотиль, агрессивность.

Надёжным и экологически безопасным способом защиты подсолнечника от возбудителя фомоза является селекция устойчивых сортов и гибридов. Для искусственного заражения растений подсолнечника в селекции на устойчивость к *Phoma macdonaldii* Boerema необходимо использовать агрессивные изоляты гриба. Целью нашей работы являлось сравнение агрессивности изолятов *Ph. macdonaldii* для подсолнечника двумя методами и выбор наиболее подходящего из них для использования в селекции устойчивого материала. Исследования проводили в лаборатории иммунитета и молекулярного маркирования ФГБНУ ФНЦ ВНИИМК в период с 2014 по 2018 гг. Сравнивали: поражение поверхности отчленённых семядольных листьев 10-дневных проростков подсолнечника после двухдневного пребывания их на колониях разных изолятов гриба и токсичность метаболитов культурального фильтрата для семян и проростков подсолнечника (биопроба). Анализ агрессивности изолятов возбудителя фомоза 1-ым методом показал вариабельность этого признака. Большая часть изолятов *Ph. macdonaldii* проявила

слабую и среднюю степень агрессивности. Из общего количества изученных изолятов (более 60 шт.) были выделены 9 с максимальным (4) баллом степени агрессивности. Для подтверждения степени агрессивности пяти изолятов *Ph. macdonaldii* применили метод биопробы. В результате сравнительной оценки агрессивности изолятов *Ph. macdonaldii* двумя методами получены сходные результаты. Подтверждена агрессивность выделенных 1-ым методом изолятов возбудителя фомоза. Оба метода могут быть использованы для оценки агрессивности изолятов гриба. Однако зависимость токсичности фильтрата от субстрата, на котором были выращены изоляты, а также высокая трудоёмкость метода биопробы делает его менее привлекательным для использования в скрининге агрессивных изолятов. Выделены изоляты № 25, 11, 14 как наиболее агрессивные, смесь которых можно использовать в качестве инокулята и для создания инфекционного фона при селекции подсолнечника на устойчивость к фомозу.

UDC 632.4:633.854.78

Comparison of two selection methods of aggressive for sunflower races of *Phoma macdonaldii* Boerema.

N.M. Araslanova, PhD in agriculture

T.S. Antonova, doctor of biology

S.L. Saukova, PhD in biology

V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops

17, Filatova str., Krasnodar, 350038, Russia

Tel.: (861) 275-86-53

E-mail: araslanova-nina@mail.ru

Key words: sunflower, *Phoma*, isolate, metabolites, culture filtrate, phytotoxicity, seeds, root, hypocotyl, aggressiveness.

Guaranteed and ecologically safe method of sunflower plants protection from *Phoma* pathogen is breeding of resistant varieties and hybrids. It is necessary to use aggressive isolates of a fungus for artificial inoculation of sunflower plants with *Phoma macdonaldii* Boerema in breeding for resistance to this disease. The purpose of our work was to compare aggressiveness of isolates of *Ph. macdonaldii* for sunflower which we determined with two different methods and to select the most relevant for breeding of resistant material. The researches were conducted in the laboratory of immunity and molecular marking of V.S. Pustovoi All-Russian Research Institute of Oil Crops from 2014 to 2018. We compared infection on a surface of cut-off cotyledonary leaves of 10-days sunflower seedlings after two-days placing on colonies of the different fungus isolates and toxicity of metabolites of cultural filtrate for sunflower seeds and seedlings (bio assay). Assay of *Phoma* isolates aggressiveness by the first method showed variability of this trait. The most of *Ph. macdonaldii* isolates demonstrated weak and middle level of aggressiveness. We selected nine isolate from more than 60

studied ones having maximal (4) score of aggressiveness level. To prove the aggressiveness level of five *Ph. macdonaldii* isolates we conducted bio assays. After comparative estimation of aggressiveness of *Ph. macdonaldii* isolated by two methods we received the similar results. The aggressiveness of *Phoma* isolated selected by the first method was proved. Both methods can be used for estimation of fungus isolates aggressiveness. However, dependence of filtrate toxicity on a substrate where isolates were cultivated and high labor intensity of the bio assay method make it to be less attractive for usage in a screening of the aggressive isolates. As the most aggressive we selected isolates No 25, 11, 14. Their mixture can be used as inoculant and for creation of infectious backgrounds for sunflower breeding for resistance to *Phoma*.

Введение. Возбудитель фомоза *Phoma macdonaldii* (Boerema et al., 2004), с телеоморфной стадией развития *Leptosphaeria lindquistii* (Frezzi, 1968), поражает подсолнечник в России и других странах: Франции, Сербии, Югославии, Румынии, Болгарии, Аргентине, Канаде, Китае. Потери урожая при благоприятных для патогена условиях могут составлять от 30 до 70 % [1; 2]. Интенсивному распространению фомоза на юге России могли способствовать такие факторы, как расширение посевных площадей, занятых подсолнечником, применение севооборотов короткой ротации, изменение климата, импорт инфицированного семенного материала [3]. В силу перечисленных причин на полях происходит накопление растительных остатков, инфицированных патогеном, и формирование биотипов гриба высокой агрессивности. В сложившейся ситуации могут изменяться не только сроки появления симптомов болезни, но и интенсивность её течения, что влечёт за собой снижение урожая. Надёжным и экологически безопасным способом защиты подсолнечника от возбудителя фомоза является селекция устойчивых сортов и гибридов. Для отбора генотипов подсолнечника, устойчивых к поражению возбудителем фомоза необходимо использовать высоко агрессивные его изоляты.

Для дифференциации моноспоровых культур гриба по агрессивности обычно используют следующие методы: 1 – определение скорости колонизации отдельных органов растения (площади поражённой поверхности) [4]; 2 – по ток-

сичности метаболитов культурального фильтрата патогена для прорастающих семян (биопроба) [5].

Цель нашей работы: сравнить агрессивность изолятов *Ph. macdonaldii* для подсолнечника двумя разными методами и выбрать наиболее подходящий из них для использования при отборах селекционного материала, устойчивого к фомозу.

Материалы и методы. Выделение возбудителя фомоза из фрагментов растений подсолнечника и получение моноспоровых культур проводили с использованием общепринятой методики экспериментальной микологии на овсяной агаризованной среде (ОА). Видовую принадлежность определяли по систематике Boerema et al. (2004) [6]. Все выделенные изоляты представляли собой род *Phoma*, вид *macdonaldii* Boerema [7].

Ранее нами было установлено влияние на агрессивность изолятов субстрата, на котором их выращивали, возраста культуры и различных концентраций мицелиального инокулюма. Мы использовали следующие условия для дифференциации изолятов *Ph. macdonaldii* по размеру поражённой поверхности отсечённых семядольных листьев: культуральная среда – овсяный агар (ОА), температура – 25 °С, период контакта отсечённых семядолей и гипокотили с колониями гриба – двое суток [8]. Критерием агрессивности в ранних исследованиях служил процент поражённой поверхности отсечённых семядольных листьев 10-дневных растений подсолнечника сорта ВНИИМК 8883, гибрида Альтаир и линии ВК 653, помещённых на двое суток на поверхность 14-дневных моноспоровых культур, выращенных на питательной среде ОА. В чашки Петри с моноспоровыми культурами гриба помещали 8–9 отчленённых семядольных листьев одного генотипа подсолнечника. Исследования проводили в двух повторностях для каждого генотипа. В контрольном варианте семядольные листья раскладывали на питательную среду без колоний гриба. Вычисляли

средний процент поражённой поверхности семядольных листьев трёх генотипов подсолнечника.

Метод биопробы основан на способности токсинов, продуцируемых патогеном, подавлять рост растений [5]. Критериями агрессивности в этом случае служили количество непроросших и аномально проросших семян подсолнечника, а также длина hypocотилия и корня внешне здоровых проростков. В опыте использовали восприимчивый сорт ВНИИМК 8883 и толерантный гибрид Альтаир. Модифицированную жидкую питательную овсяную среду (О) готовили следующим образом: 150–200 г овсяных зерен варили в одном литре воды в течение 20 минут, сцеживали отвар и добавляли в него 20 г глюкозы. Для картофельно-глюкозной среды вместо овса использовали 200 г картофеля. Отвар разливали в колбы и автоклавировали при 1,2 атм. 30 минут. Равные высечки 14-дневных моноспоровых колоний гриба помещали по отдельности в колбы объёмом 150 мл, заполненные на 1/3 жидкой картофельно-глюкозной (КГ) либо овсяной (О) средой и инкубировали 30 суток при температуре 25 °С. После этого выросшие колонии гриба удаляли, а культуральную жидкость фильтровали через бумажные фильтры. Семена подсолнечника предварительно промывали в проточной воде, затем в 0,01%-ном растворе KMnO_4 и замачивали в равных объёмах фильтратов на сутки, раскладывали на увлажнённую фильтровальную бумагу по 50 штук в каждой повторности и свёртывали её в рулоны. На один вариант – четыре повторности. В качестве контрольного варианта семена замачивали в стерильной воде. Семена проращивали в рулонах при температуре 22–25 °С. На пятые сутки учитывали количество непроросших и сгнивших семян, измеряли длину здорового hypocотилия и главного корня. Для оценки достоверности различий по количеству непроросших семян использовали дисперсионный анализ [9].

Результаты и обсуждение. В результате проведённых исследований установлена вариабельность агрессивности изолятов *Ph. macdonaldii*. Через двое суток контакта отсечённых семядольных листьев с культурами изолятов наблюдались различия между ними по площади колонизированного участка листа, что хорошо видно на восприимчивом сорте ВНИИМК 8883. Выделился изолят № 14, который колонизировал всю поверхность семядольных листьев подсолнечника этого сорта (рис. 1).

№ 14 № 4 № 36

Рисунок 1 – Поражение отчленённых семядольных листьев проростков подсолнечника сорта ВНИИМК 8883, помещённых на колонии моноспоровых изолятов *Phoma macdonaldii* № 14, 4 и 36, 2018 г. (ориг.)

При характеристике агрессивности каждого изолята *Ph. macdonaldii* учитывали влияние генотипа подсолнечника, для этого им заражали сорт, гибрид и линию. По усреднённому размеру поражённой площади семядольных листьев трёх генотипов подсолнечника, провели ранжирование изученных изолятов по 4-балльной шкале, характеризующей степень агрессивности:

- 1 – очень слабая (поражено не более 10 % площади семядольного листа);
- 2 – слабая (поражено от 11 до 30 % площади семядольного листа);
- 3 – средняя (поражено от 31 до 50 % площади семядольного листа);
- 4 – сильная (поражено более 50 % площади семядольного листа).

Большая часть изолятов *Ph. macdonaldii* проявила слабую и среднюю степень агрессивности. Из общего количества изученных изолятов (более 60) бы-

ли выделены девять с максимальным баллом (4) степени агрессивности (рис. 2).

Рисунок 2 – Распределение по баллам степени агрессивности общего количества изученных изолятов *Phoma macdonaldii* через двое суток контакта семядольных листьев подсолнечника с моноспоровыми колониями изолятов гриба (1 – очень слабая; 2 – слабая; 3 – средняя; 4 – сильная)

Для подтверждения известной степени агрессивности пяти изолятов *Ph. macdonaldii* провели испытание этих изолятов по токсичности метаболитов их культуральных жидкостей для семян и проростков подсолнечника восприимчивого сорта ВНИИМК 8883 и толерантного гибрида Алтайр. Культуральная жидкость представляла собой фильтрат жидкой питательной среды, на которой культивировали исследуемый изолят гриба. Он содержал токсичные метаболиты жизнедеятельности гриба [5].

Ингибирующее воздействие культуральных фильтратов на прорастание семян восприимчивого сорта ВНИИМК 8883 отмечалось у всех изолятов гриба. На рисунке 3 представлены проростки сорта ВНИИМК 8883 с аномальным развитием, после воздействия культурального фильтрата изолята *Ph. macdonaldii* № 14.

Количество нежизнеспособных семян этого сорта вследствие обработки их культуральными фильтратами было значительно больше, чем у толерантного гибрида Алтайр. Аномальное развитие корня (отсутствие боковых корней, отгнивший главный корень) также чаще отмечалось у проростков сорта, чем у гибрида. На контрольном варианте с водой у обоих генотипов было отмечено неболь-

шое количество нежизнеспособных семян: у сорта – 5, а у гибрида – 2, что можно объяснить наличием семенной инфекции.

Рисунок 3 – Аномально развитые проростки подсолнечника восприимчивого сорта ВНИИМК 8883 после воздействия на семена культурального фильтрата изолята № 14 *Phoma macdonaldii* (ориг.)

Токсичность культурального фильтрата зависела от субстрата, на котором выращивались изоляты. Фильтрат, полученный от культивирования некоторых изолятов на овсяной среде (О), был более токсичен для прорастающих семян подсолнечника по сравнению с фильтратом от культивирования на картофельно-глюкозной (КГ) среде. Отличительной особенностью при культивировании на разных средах было то, что у всех изученных изолятов гриба на среде КГ сформировалась большая мицелиальная масса, а на О образовалось большее количество пикнид. Угнетение прорастания семян сорта ВНИИМК 8883 наблюдалось после воздействия всех культуральных фильтратов с наивысшим баллом степени агрессивности, полученных на обеих питательных средах по сравнению с контрольным вариантом – водой. Однако, изученные изоляты, выращенные на КГ среде, практически не различались между собой по общему количеству нежизнеспособных семян сорта ВНИИМК 8883, что подтверждают результаты статистики, приведённые в таблице.

Таблица

Влияние культурального фильтрата изолятов *Phoma macdonaldii* на прорастание семян подсолнечника

Сорт, гибрид	Изолят	*Количество семян, штук							
		непроросших		аномально проросших		сгнивших		всего, нежизнеспособных	
		КГ	*О	КГ	О	КГ	О	КГ	О
ВНИИМК 8883	4	11	12	4	5	0	0	15	17
	5	5	6	2	4	7	0	14	10
	11	1	8	8	5	8	1	17	14
	14	5	7	8	6	3	2	16	15
	25	4	8	6	8	5	2	15	18
	Контроль – вода	2	1	0	0	3	4	5	5
НСР ₀₅									3,9
Альтаир	4	1	1	2	2	1	1	4	4
	5	2	1	1	2	2	1	5	4
	11	1	0	1	3	1	2	3	5
	14	1	2	3	1	1	2	5	5
	25	1	0	2	2	1	4	4	6
	Контроль – вода	0	0	0	0	2	1	2	1
НСР ₀₅									0,7

* – Общее количество семян в каждом варианте 100 штук

** КГ – картофельно-глюкозная среда;

***О – овсяная среда

Прорастание семян гибрида Альтаир в большей степени ингибировали фильтраты изолятов № 11, 14 и 25, выращенных на О среде. Изолят № 4, независимо от субстрата, отличался наибольшим ингибирующим действием на прорастание семян сорта ВНИИМК 8883: на КГ среде не проросло 11 семян, а на овсяной среде – 12, что значительно превысило другие варианты (таблица).

Таким образом, метаболиты всех изученных изолятов, выращенных на обеих средах, в большей степени угнетали прорастание семян сорта ВНИИМК 8883, чем гибрида Альтаир. По количеству нежизнеспособных семян сорта и гибрида из пяти изолятов выделился изолят № 25, выращенный на О среде – 18 и 6 штук соответственно.

Изоляты различались по характеру воздействия культуральных фильтратов на прорастание семян и рост корня подсолнечника. Если на прорастание семян обоих генотипов в большей степени влияли метаболиты культуральных фильтратов изолятов, полученных на ов-

сяной среде, то на длину гипокотилиа и корня проростков – выращенных на КГ среде. Размеры гипокотилиа сорта и гибрида в вариантах были значительно меньше по сравнению с контролем (рис. 5, 6). Наиболее угнетающее действие на рост гипокотилиа и на сорте, и на гибриде оказали изоляты под номерами 25, 5 и 14, которые были выращены на КГ среде (рис. 5 и 6).

Рисунок 5 – Длина гипокотилиа проростков подсолнечника сорта ВНИИМК 8883 после воздействия на семена культурального фильтрата изолятов *Phoma macdonaldii*, выращенных на картофельно-глюкозной и овсяной средах

Рисунок 6 – Длина гипокотилиа проростков подсолнечника гибрида Альтаир после воздействия на семена культурального фильтрата изолятов *Phoma macdonaldii*, выращенных на картофельно-глюкозной и овсяной средах

Длина главного корня у проростков варьировала в зависимости от генотипа подсолнечника, а также от среды, на которой культивировали изоляты *Ph.*

macdonaldii. Сильное угнетающее действие на рост главного корня у проростков сорта ВНИИМК 8883 оказали культуральные фильтраты изолятов № 5, 11 и 25, выращенные на КГ среде и № 11, 14 – на овсяной среде (рис. 7).

Рисунок 7 – Длина главного корня проростков сорта ВНИИМК 8883 после воздействия на семена культурального фильтрата изолятов *Phoma macdonaldii*, выращенных на картофельно-глюкозной и овсяной средах

Большее угнетающее действие на рост корня проростков гибрида оказали культуральные фильтраты изолятов № 11 и № 14, полученные на КГ среде, и № 14 – на овсяной среде (рис. 8).

Рисунок 8 – Длина главного корня проростков гибрида Альтаир после воздействия на семена культурального фильтрата изолятов *Phoma macdonaldii*, выращенных на картофельно-глюкозной и овсяной средах

Полученные результаты биопробы (определение агрессивности гриба по токсичности его метаболитов на прорас-

тание семян, рост главного корня и гипокотили) совпали с полученными данными по оценке этого признака по размеру поражённой площади семядольного листа после двухдневного контакта с культурами *Ph. macdonaldii*. Отмечена сильная зависимость токсичности фильтрата изученных изолятов для прорастающих семян подсолнечника от субстрата, на котором были выращены их культуры. У одних изолятов ингибирующее влияние токсинов в большей степени проявлялось на картофельно-глюкозной среде, а у других – на овсяной.

Выводы. В результате сравнительной оценки агрессивности изолятов *Ph. macdonaldii* двумя методами получены сходные результаты. Подтверждена агрессивность выделенных первым методом изолятов возбудителя фомоза. Оба метода могут быть использованы для оценки агрессивности изолятов гриба. Однако зависимость токсичности фильтрата от субстрата, на котором были выращены изоляты, а также высокая трудоёмкость этого метода делает его менее привлекательным для использования в скрининге агрессивных изолятов.

Для создания высоко агрессивного инокулята или инфекционных фонов при селекции подсолнечника на устойчивость к фомозу рекомендовано использовать смесь изолятов № 25, 11, 14.

Список литературы

1. Peres A., Lefol C. *Phoma macdonaldii* Boerema: e'le'ments de biologie et mise au point d'une me'thode de contamination artificielle en conditions controle'es // Proceedings of the Fourteenth International Sunflower Conference 2. – Beijing, China, 1996. – P. 687–693.
2. Wu and H.Z. Du, X.L. Zhang, F. Luo and L. Fang. Occurrence of *Phoma macdonaldii*, the causal agent of sunflower black stem disease, in sunflower fields in China // Plant Disease. – Nov. 2012. – Vol. 96. – No 11. – P. 1696. – [Электронный ресурс]. – URL: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-05-12-0485-PDN> (дата обращения: 15.03.2017).

3. Бородин С.Г., Котлярова И.А. Грибные болезни подсолнечника в Краснодарском крае // Болезни и вредители масличных культур (сб. науч. раб.). – Краснодар, 2006. – С. 3–10.

4. Хохряков М.К. Методические указания по экспериментальному изучению фитопатогенных грибов // Научные труды ВИЗР. – 1979. – 68 с.

5. Берестецкий О.А. Изучение фитотоксических свойств микроскопических грибов // Методы экспериментальной микологии. – Киев: Наукова думка, 1982. – С. 321–333.

6. Boerema G.H., De Gruyter J., Noordeloos M.E. and Hamers M.E.C. *Phoma* identification manual. Differentiation of specific and infraspecific taxa in culture. – CABI Publishing, United Kingdom. – 2004. – P. 470.

7. Арасланова Н.М., Саукова С.Л., Ивебор М.В., Антонова Т.С. Идентификация видовой принадлежности возбудителя фомоза подсолнечника в Краснодарском крае. Современная микология в России // Мат-лы III Междунар. микологического форума, Москва, 14–15 апреля 2015 г. – М.: Нац. акад. микол., 2015. – Т. 5. – С. 61–62.

8. Арасланова Н.М., Саукова С.Л., Антонова Т.С. Патогенность изолятов возбудителя фомоза для растений подсолнечника // В сб.: Инновационные исследования и разработки для научного обеспечения производства и хранения экологически безопасной сельскохозяйственной и пищевой продукции. Мат-лы Международной научно-практической конференции. ФГБНУ «ВНИИТМТБ», Краснодар, 2015. – С. 71–74. – [Электронный ресурс]. – URL: http://vniitti.ru/conf/conf2015/sbornik_conf2015.pdf.

9. Доспехов Б.А. Методика полевого опыта. – М.: Колос, 1985. – 352 с.

References

1. Peres A., Lefol C. *Phoma macdonaldii* Boerema: e'le'ments de biologie et mise au point d'une me'thode de contamination artificielle en conditions controle'es // Proceedings of the Fourteenth International Sunflower Conference 2. – Beijing, China, 1996. – R. 687–693.

2. Wu and H.Z. Du, X.L. Zhang, F. Luo and L. Fang. Occurrence of *Phoma macdonaldii*, the causal agent of sunflower black stem disease, in sunflower fields in China // Plant Disease. – Nov.

2012. – Vol. 96. – No 11. – P. 1696. – [Elektronnyy resurs]. – URL: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-05-12-0485-PDN> (data obrashcheniya: 15.03.2017).

3. Borodin S.G., Kotlyarova I.A. Gribnye bolezni podsolnechnika v Krasnodarskom krae // Bolezni i vrediteli maslichnykh kul'tur (sb. nauch. rab.). – Krasnodar, 2006. – S. 3–10.

4. Khokhryakov M.K. Metodicheskie ukazaniya po eksperimental'nomu izucheniyu fitopatogennykh gribov // Nauchnye trudy VIZR. – 1979. – 68 s.

5. Berestetskiy O.A. Izuchenie fitotoksicheskikh svoystv mikroskopicheskikh gribov // Metody eksperimental'noy mikologii. – Kiev: Naukova dumka, 1982. – S. 321–333.

6. Boerema G.H., De Gruyter J., Noordeloos M.E. and Hamers M.E.C. *Phoma* identification manual. Differentiation of specific and infraspecific taxa in culture. – CABI Publishing, United Kingdom. – 2004. – P. 470.

7. Araslanova N.M., Saukova S.L., Ivebor M.V., Antonova T.S. Identifikatsiya vidovoy prinadlezhnosti vzbuditelya fomoza podsolnechnika v Krasnodarskom krae. Sovremennaya mikologiya v Rossii // Mat-ly III Mezhdunar. mikologicheskogo foruma, Moskva, 14–15 aprelya 2015 g. – M.: Nats. akad. mikol., 2015. – T. 5. – S. 61–62.

8. Araslanova N.M., Saukova S.L., Antonova T.S. Patogennost' izolyatov vzbuditelya fomoza dlya rasteniy podsolnechnika // V sb.: Innovatsionnye issledovaniya i razrabotki dlya nauchnogo obespecheniya proizvodstva i khraneniya ekologicheskii bezopasnoy sel'skokhozyaystvennoy i pishchevoy produktsii. Mat-ly Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. FGBNU «VNIITMTB», Krasnodar, 2015. – S. 71–74. – [Elektronnyy resurs]. – URL: http://vniitti.ru/conf/conf2015/sbornik_conf2015.pdf.

9. Dospekhov B.A. Metodika polevogo opyta. – M.: Kolos, 1985. – 352 s.

Получено: 29.07.2019 Принято: 16.09.2019

Received: 29.07.2019 Accepted: 16.09.2019