DOI CrossRef:10.30917/ATT-VK-1814-9588-2020-2-5

УДК: 619, 579, 543

Основные направления научной деятельности ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ»)

Киш Л.К.
Kish L.K.

Киш Л.К., кандидат ветеринарных наук, директор ФГБУ "ВГНКИ", l.kish@vgnki.ru
Гергель М.А., заместитель директора, руководитель Испытательного центра, m.gergel@vgnki.ru
Макаров Д.А., старший научный сотрудник отдела безопасности кормов и кормовых добавок, makarov@vgnki.ru
Букова Н.К., доктор биологических наук, профессор, ученый секретарь, bukova@vgnki.ru
Иванова А.Н., начальник отдела научного планирования и аналитической работы, a.ivanova@vgnki.ru

Ключевые слова: ВГНКИ, контроль качества лекарственных средств для ветеринарного применения и кормов, государственный контроль, пищевая безопасность

Резюме: В статье рассмотрены основные направления научно-исследовательской деятельности одного из ведущих подведомственных учреждений Россельхознадзора, успешно функционирующего на протяжении почти 90 лет. Научная деятельность Учреждения, имеющая прикладной характер, неразрывно связана с практическими задачами, от решения которых зависит выполнение в полном объеме ветеринарно-санитарных, противозoonотических и лечебно-профилактических мероприятий на территории Российской Федерации.

Авторы обращают особое внимание на диверсификационную научную деятельность ФГБУ "ВГНКИ", позволяющую обеспечить комплексность решения поставленных перед Учреждением задач, наглядно продемонстрировав виды разрабатываемых методик и актуальность их практического использования. ФГБУ "ВГНКИ" является уникальным научно-исследовательским учреждением Россельхознадзора, которое обеспечивает функционирование в Российской Федерации системы государственного контроля качества, эффективности и безопасности лекарственных средств для ветеринарного применения, кормов и

Principal aspects of scientific researches in FGBI "VGNKI"

Kish L.K., Gergel M.A., Makarov D.A.,
Bukova N.K., Ivanova A.N.

FGBI «The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed» (VGNKI)

Key words: VGNKI, quality control of veterinary drugs and feeds, government control, food safety

Abstract: The article is devoted to the main directions of scientific activities of one of the leading institutions of the Rosselkhoz nadzor, which has been successfully operating for 90 years. The scientific activity of the Institution, which has an applied nature, is inseparably linked with practical tasks, which depend on the full implementation of veterinary and sanitary, anti-zoonotic and therapeutic and preventive measures on the territory of the Russian Federation.

The authors pay special attention to the diversification of scientific activities of the FGBI "VGNKI", which makes it possible to provide a comprehensive solution to the tasks set for the Institution, clearly demonstrating the types of methods being developed and the relevance of their practical usage. FGBI "VGNKI" is a unique research institution of the Rosselkhoz nadzor, which ensures the functioning of the system of governmental control and state supervision of the quality, effectiveness and safety of medicines for veterinary usage, feeds and feed additives for animals in the Russian Federation. Highly qualified staff allows the Institution to conduct scientific research at the highest international level and on the most priority issues in the field of veterinary medicine.

The institution has developed a unique methodological complex that includes more than 200 methods and state standards that are used for the annual performance of at least 40 thousand laboratory tests on governmental tasks.

Based on mass spectrometric detection arbitrage analysis methods allow to identify detected agents with high accuracy and monitor the safety of food products and feeds in accordance with world best practices. The institution has developed interstate standards that are used in the Russian Federation and other countries of the Customs Union, which include methods for analyzing 360 major xenobiotics from 39 different groups.

The Institute has developed methods based on inductively coupled plasma mass spectrometry that allows determining organic and inorganic forms of mercury, arsenic, and arsenic-containing animal growth stimulators in food raw materials and feeds. Methods are being developed for determining chemical pollutants in livestock products using liquid or gas chromatography with mass spectrometric detection using innovative immunochemical biochips technology.

A topical problem of scientific activity of the Institute is the monitoring of antibiotic resistance of zoonotic bacteria isolated from the biomaterial of productive animals, food, feeds, and environmental objects to the main groups of antibacterial agents used in veterinary medicine. In addition, molecular genetic techniques will be developed for rapid isolation of the most common determinants of resistance to antimicrobial drugs used in veterinary medicine.

Для цитирования / For citation

Основные направления научной деятельности ФГБУ «Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов» (ФГБУ «ВГНКИ») / Киш Л.К. [и др.] // Ветеринария и кормление. – 2020. - №2 – С. 21-24.

Principal aspects of scientific researches in FGBI «The Russian State Center for Quality and Standardization of Veterinary Drugs and Feed» (VGNKI) / Kish L.K. [et al.] // Veterinaria i kormlenie. – 2020. - №2 – P. 21-24.

кормовых добавок для животных. Высококвалифицированный персонал позволяет Учреждению проводить научные изыскания на мировом уровне и по наиболее приоритетным проблемным вопросам в сфере ветеринарии.

Учреждением разработан уникальный методический комплекс, включающий более 200 методик и ГОСТов, применяющихся при ежегодном выполнении не менее 40 тыс. исследований по государственным работам. Арбитражные методы анализа, основанные на масс-спектрометрическом детектировании, позволяют с высокой точностью идентифицировать обнаруживаемые агенты и, таким образом, осуществлять мониторинг безопасности пищевой продукции и кормов в соответствии с передовой мировой практикой. Учреждением разработаны межгосударственные стандарты, применяющиеся в Российской Федерации и других странах Таможенного союза, в которые вошли методы для проведения анализа на 360 основных ксенобиотиков из 39 групп.

Учреждением разработаны методики на основе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, которые позволяют определять в пищевом сырье и кормах органические и неорганические формы ртути, мышьяка и мышьяк-содержащие стимуляторы роста животных.

Разрабатываются методики определения химических загрязнителей животноводческой продукции с использованием жидкостной или газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием с применением инновационной технологии иммунохимических биочипов.

Актуальной темой научной деятельности ФГБУ "ВГНКИ" является проведение мониторинга антибиотикорезистентности зоонозных бактерий, изолированных из биоматериала продуктивных животных, пищевых продуктов, кормов, объектов окружающей среды к основным группам антибактериальных средств, используемых в ветеринарии и медицине. Кроме того, будут разработаны молекулярно-генетические методики для экспресс-выделения наиболее часто встречающихся детерминант резистентности к антимикробным препаратам, применяемым в ветеринарии.

ФГБУ "Всероссийский государственный Центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов" (ФГБУ "ВГНКИ") является ведущей организацией в сфере государственного контроля за обращением лекарственных средств для ветеринарного применения и около 90 лет (год образования – 1931) эффективно осуществляет функции, возложенные руководством государственной ветеринарной службы.

Результаты научно-исследовательской работы Учреждения позволили успешно пройти ведомственную оценку научной деятельности подведомственных Россельхознадзору организаций и отнести ФГБУ "ВГНКИ" к организациям-лидерам в своей референтной группе "Животноводство и ветеринарные науки" и получить I категорию научных организаций по III профилю "Научно-технические услуги".

Научная деятельность Учреждения выполняется с участием более 140 научных сотрудников, среди которых 10 докторов, 74 кандидата наук, 5 профессоров, 8 доцентов, лауреат Государственной премии Российской Федерации, лауреат премии Совета Министров СССР. Заместитель директора по науке, д.вет.н. А.Е. Метлин и советник, д.вет.н., проф., академик РАН А.Н. Панин принимают участие в работе групп экспертов Всемирной организации здравоохранения животных (МЭБ), А.Н. Панин является также экспертом комиссии ФАО/ВОЗ по антимикробной резистентности.

Научно-исследовательская деятельность ФГБУ "ВГНКИ" осуществляется в соответствии с пунктом "г" приоритетных направлений Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации: "переход к высокопродуктивному и экологически чистому агро- и аквахозяйству, разработка и внедрение систем рационального при-

менения средств химической и биологической защиты сельскохозяйственных растений и животных, хранение и эффективную переработку сельскохозяйственной продукции, создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания", а также Федеральной целевой программой "Национальная система химической и биологической безопасности Российской Федерации".

Одними из наиболее важных результатов научно-исследовательской деятельности Учреждения являются новые методики и ГОСТы, при разработке которых ФГБУ "ВГНКИ" учитывает требования международных и российских нормативных документов, регламентирующих безопасность пищевой продукции и кормов.

В совокупности, с 2003 г. ФГБУ "ВГНКИ" в области безопасности пищевой продукции и кормов разработан уникальный методический комплекс, включающий 90 методик и более 100 ГОСТов, лежащих в основе ежегодного выполнения Учреждением 40 000 лабораторных исследований по различным направлениям государственных работ.

Уникальность разработанных методик ФГБУ "ВГНКИ" обусловлена тем, что в их основе лежат подтверждающие (арбитражные) методы анализа, основанные на масс-спектрометрическом детектировании, позволяющие однозначно идентифицировать определяемые вещества. Такой подход соответствует требованиям международных руководящих документов в этой области (Codex Alimentarius, директива ЕС 2002/657) и позволяет осуществлять полноценные программы мониторинга безопасности пищевой продукции и кормов в соответствии с мировой практикой.

Разработанные методики охватывают практически весь спектр основных ксенобиотиков, выявляемых в пищевой продукции животного происхождения, позволяя проводить анализ 360 соединений из 39 групп.

Впервые в Российской Федерации и на территории Таможенного союза Учреждением были разработаны межгосударственные стандарты на подтверждающие (арбитражные) методы для определения остаточного содержания антибиотиков тетрациклиновой группы, сульфаниламидов, амфениколов, пенициллинов, нитроимидазолов, бета-адреностимуляторов, диоксинов, полихлорированных бифенилов, нитрофуранов, анаболических стероидов, хинолонов, аминогликозидов, нестероидных противовоспалительных средств, антгельминтиков, анаболических стероидов и производных стильбена, β-адреностимуляторов, мышьяк-содержащих стимуляторов роста животных в продовольственном сырье с использованием масс-спектрометрических методов.

Введение в действие таких нормативных документов позволило поднять на качественно новый уровень контроль безопасности пищевых продуктов и кормов.

Для стимуляторов роста и некоторых групп химиотерапевтических препаратов были также разработаны скрининговые иммунохимические методы определения, в результате чего была создана двухуровневая система контроля химической безопасности продовольствия, заключающаяся в следующем: на первом уровне региональные лаборатории проводят анализ образцов продукции скрининговыми методами, а на втором ФГБУ "ВГНКИ" проводит подтверждающие исследования положительных проб арбитражным методом.

При разработке скрининговых методик были созданы и запатентованы оригинальные способы синтеза ряда иммуногенов, позволившие получить специфичные иммунореактивы и создать на их основе эффективные иммунохимические методики для экспрессного определения анаболических стимуляторов роста животных и химиотерапевтических лекарственных средств в кормах и продукции животноводства. Разработаны и аттестованы иммунохимические методики определения содержания линкомицина, тилозина в продукции животного происхождения. Создана тест-система ИФА для определения остаточного со-

держания семикарбазида в молоке, меде, рыбе и мясе. Диапазон измерений массовой доли СЕМ составляет от 0,5 до 62,5 мкг/кг.

Также запатентован способ эффективного и высокочувствительного определения трифенилметановых красителей в продукции аквакультуры.

Особую важность представляет собой разработанный и аттестованный метод измерения массовой доли карнитина. Предложенный способ может использоваться для измерения массовой доли L-карнитина и D-карнитина (в том числе при совместном присутствии) методом хиральной ВЭЖХ с флуоресцентным детектированием и используется для выявления продукции, содержащей D-карнитин и обладающей токсическим эффектом в кормах, комбикормах, кормовых добавках, ветеринарных лекарственных средствах. Подана заявка на получение патента по этой методике. Кроме того, в последние годы Учреждением разработаны и аттестованы единственные в стране методики на основе масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой. Применение таких методик позволяет определять в пищевом сырье и кормах органические и неорганические формы ртути, мышьяка и мышьяксодержащие стимуляторы роста животных.

В настоящее время Учреждение продолжает создание методик определения наиболее актуальных химических загрязнителей животноводческой продукции, большинство которых будет основано на принципе жидкостной или газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием, и некоторые будут скрининговыми, в том числе и с применением инновационной технологии иммунохимических биочипов.

Разрабатываются методики определения полибромированных и полифторированных загрязнителей продукции животноводства. Данные соединения в последние годы рассматриваются международным сообществом как серьёзная проблема загрязнения окружающей среды и пищевой продукции. Создаются методики определения неоникотиноидов и глифосата в меде, широкое использование данных пестицидов в сельском хозяйстве наносит непоправимый урон пчеловодству и приводит к загрязнению продукции.

Отдельный интерес представляет собой разрабатываемая в настоящее время методика комплексного определения ксенобиотиков в пищевом и кормовом сырье на основе сверхэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием высокого разрешения, которая позволит проводить широкомасштабный скрининг присутствия в образце множества различных групп фармакологически активных веществ.

Особую практическую значимость представляет методика определения в водных организмах различных групп фикотоксинов, вызывающих острые отравления.

Запланирована разработка методики определения широкого списка пестицидов (включая фунгициды, инсектициды и акарициды), полихлорированных нафталинов, фталатов, гербицида глифосата и продуктов его метаболизма в продукции животноводства, различных применяемых в аквакультуре красителей, ряда антибактериальных и антипротозойных препаратов, а также новых гормональных стимуляторов роста - селективных модуляторов андрогенных рецепторов (SARMS).

Особую важность представляет собой планируемая разработка методики определения соединений, нарушающих работу эндокринной системы. Данные вещества принадлежат к различным химическим группам и могут попадать в продукцию животноводства из окружающей среды вследствие её промышленного загрязнения, а также из упаковки.

Также одним из широкого спектра направлений научной деятельности ФГБУ "ВГНКИ" является разработка экспресс-метода контроля подлинности лекарственных средств для ветеринарного применения с использованием

ИК-спектроскопии и разработка экспресс-метода контроля подлинности лекарственных препаратов для ветеринарного применения в жидких лекарственных формах с использованием КР-спектроскопии.

В области молекулярно-биологических исследований уже более 14 лет ФГБУ "ВГНКИ" осуществляет разработку и внедрение в лабораторную практику методик, ГОСТов, методических указаний для реализации государственного контроля и мониторинга кормов и сельскохозяйственной продукции на наличие ГМО. Методики ФГБУ "ВГНКИ" используются для эффективного осуществления государственного контроля и мониторинга за оборотом ГМО.

ФГБУ "ВГНКИ" предложена новая концепция проведения лабораторного контроля сырья, кормов, зерна и продуктов его переработки, содержащих генетически-модифицированные компоненты. Разработана стратегия проведения исследований, основанная на применении риск-ориентированного и матричного подходов к исследованиям. Их применение повышает эффективность обнаружения ГМО, позволяет выявлять незарегистрированные генно-модифицированные линии, а также снизить общее количество исследований.

К настоящему времени Учреждением разработаны 8 методик и методических рекомендаций, один межгосударственный и два национальных ГОСТа, позволяющие реализовать комплексный подход к ГМО-анализу наиболее значимых сельскохозяйственных (сои, кукурузы, рапса) и продовольственных (рис, картофель) культур.

Наряду с разработкой новых методик обнаружения ГМО растительного происхождения, ФГБУ "ВГНКИ" запланирована разработка ПЦР-методик выявления генетически модифицированных микроорганизмов – продуцентов аминокислот, витаминов, ферментов, активно используемых в производстве кормовых добавок. Также особый интерес представляет разработка методик выявления ГМО животного происхождения, в частности, генетически модифицированного лосося, разрешенного к использованию в пищу в США, Канаде и странах ЕС.

Наряду с разработкой новых методик обнаружения ГМО растительного происхождения, ФГБУ "ВГНКИ" запланирована разработка методик выявления генетически модифицированных микроорганизмов, в том числе продуцентов аминокислот, витаминов, ферментов, активно используемых в производстве кормовых добавок, и микроорганизмов, а также иммунобиологических лекарственных средств (например, векторные вакцины).

Молекулярно-генетические методы активно применяются при проведении подтверждения качества и безопасности лекарственных средств для животных. Разработаны и применяются ГОСТы и методики на основе ПЦР, позволяющие контролировать контаминацию иммунобиологических лекарственных препаратов, сывороток, культур клеток микоплазмами и чужеродными вирусами, определять подлинность штаммов, входящих в состав ряда вакцин для животных. Разрабатываются и совершенствуются методы ПЦР-диагностики инфекционных болезней животных.

Сотрудниками Учреждения впервые были проведены молекулярно-генетические исследования разнообразия циркулирующих на территории Российской Федерации штаммов вируса репродуктивно-респираторного синдрома свиней и парвовируса свиней, коронавируса кошек, цирковируса попугаев, вируса алеутской болезни норок. Также впервые были охарактеризованы птичьих изоляты возбудителя орнитоза *Chlamydophila psittaci*, получены данные об обнаружении на территории России вируса болезни Шмалленберга.

В настоящее время в ФГБУ "ВГНКИ" выполняется научная работа по сравнительному изучению отечественных наборов для ПЦР-диагностики, в которой впервые изучаются показатели качества и характеристики тест-сис-

тем для выявления вирусов АЧС и гриппа, поднимаются вопросы контроля диагностических наборов, используемых в государственных программах мониторинга заболеваний животных.

Запланирована разработка комплекса методик выявления возбудителей болезней объектов аквакультуры на основе ПЦР. Данные методики позволят снизить риски, связанные с распространением на территории Российской Федерации болезней объектов аквакультуры, что усилит экспортный потенциал кормов для аквакультуры, повысит контроль биобезопасности импортируемой продукции.

В целях обеспечения эпизоотического благополучия Российской Федерации в отношении спонгиозоформных энцефалопатий, включая губкообразную энцефалопатию крупного рогатого скота, ФГБУ "ВГНКИ" проводит исследования кормов и муки животного происхождения на наличие тканей жвачных и плотоядных животных методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Учреждением разработана ПЦР тест-система для определения видовой принадлежности тканей жвачных животных в кормах и рыбной муке. На её основе создана эффективная система контроля всех партий поступающих в страну кормов и рыбной муки в целях исключения фальсификации продукции, что позволило предотвратить завоз и распространение по территории Российской Федерации опасных прионных заболеваний животных.

С целью совершенствования системы контроля качества пищевой продукции ФГБУ "ВГНКИ" для определения видовой принадлежности мяса животных и рыб была разработана методика на основе секвенирования участка митохондриального генома по методу Сенгера. Данная методика и разработанный на её основе межгосударственный стандарт предназначены для исследования однокомпонентной продукции и используются для проведения рутинных исследований в соответствии с областью аккредитации ФГБУ "ВГНКИ".

Для исследования многокомпонентной рыбной продукции, в том числе образцов с высокой степенью деградации ДНК, разработана методика видовой идентификации на основе массивного параллельного секвенирования, предусматривающая определение нуклеотидных последовательностей нескольких фрагментов генома рыб в одном образце. В ходе разработки методики был создан собственный каталог референсных последовательностей целевых фрагментов для 115 видов промысловых рыб, составленный с учетом биологического разнообразия, а также предложен алгоритм биоинформатического анализа и соответствующие скрипты для автоматизации обработки выходных данных эксперимента.

Отдельной темой научной деятельности ФГБУ "ВГНКИ" является проведение мониторинга антибиотикорезистентности зоонозных бактерий родов *Escherichia*, *Salmonella*, *Enterococcus*, *Campylobacter*, выделяемых из биоматериала продуктивных животных, пищевых продуктов и кормов к основным используемым в ветеринарии и важным для медицины группам антибактериальных средств. Исследование фенотипической устойчивости проводится методом определения минимальных подавляющих концентраций, гармонизированным с международными требованиями, а исследование генетических детерминант резистентности – молекулярно-генетическими методами, в том числе полногеномным секвенированием ряда мультирезистентных изолятов. Анализ данных проводится с использованием инновационной. Данные по более чем 800 изолятам находятся в свободном доступе на сайте базы.

С целью расширения программы мониторинга антибиотикорезистентности планируется изучение детерминант устойчивости на уровне конкретных микробиомов (в объектах окружающей среды, связанных с животноводством, в кишечнике животных и птиц из различных хозяйств и т.п.),

разработка методов определения остатков антимикробных средств в объектах окружающей среды, а также оценка распространённости микозов животных и рисков возникновения резистентности к антимикотическим средствам. Кроме того, будут разработаны молекулярно-генетические методики для экспресс-выявления наиболее часто встречающихся детерминант резистентности к антимикробным препаратам, применяемым в ветеринарии.

Результатом научной работы, проведенной в Учреждении по мониторингу качества спермы быков-производителей, стало широкое обсуждение проблемы контроля племенного материала с целью предупреждения распространения инфекционных болезней.

На сегодняшний день утверждены и внедрены в практику методические рекомендации, устанавливающие более 20 методик идентификации наиболее распространенных мутаций крупного рогатого скота голштинской, бурой швицкой, абердин-ангусской и симментальской пород, связанных с моногенными наследственными заболеваниями.

Одной из приоритетных задач стратегического развития научной деятельности Учреждения является подготовка высококвалифицированных кадров посредством очной аспирантуры и соискательства по 4 специальностям (одна биологическая и три ветеринарных), в том числе в рамках действующего диссертационного совета.

Таким образом, в настоящее время ФГБУ "ВГНКИ" является крупным учреждением, осуществляющим научно-исследовательскую и научно-производственную деятельность для реализации государственной политики в области обеспечения качества лекарственных средств для животных и кормов, а также безопасности продукции животного происхождения на территории РФ. Благодаря высокопрофессиональному коллективу и оснащённости современным оборудованием, Учреждение определяет высокие стандарты и задает направления развития ветеринарных лабораторий по всей стране, а также решает комплекс вопросов, возникающих по обеспечению биологической, эпизоотической и продовольственной безопасности России.

Литература/References

1. Проблемы резистентности к антибиотикам возбудителей болезней, общих для человека и животных / А.Н. Панин [и др.] Ветеринария и зоотехния: ветеринария. №5, 2017, С. 18
1. Problems of resistance to antibiotics of pathogens common to humans and animals / A. N. Panin [et al.] // Veterinary science and animal science: veterinary science. -No. 5, 2017, p. 18
2. Reduction of veterinary antimicrobial use in the Netherlands. The Dutch success model / D.C. Spekman [et al.] // Zoonoses Public Health. 2015, Apr; 62 (Suppl 1): P. 79-87.
3. The Rising Tide of Antimicrobial Resistance in Aquaculture: Sources, Sinks and Solutions / Joy E.M. Watts [et al.] // Marine drugs, 2017, Vol. 15(6). P. 158.
4. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2016 // EFSA and ECDC // EFSA Journal 2018; 16(2): 5182.
5. The National Antimicrobial Resistance Monitoring System: NARMS Integrated Report, 2015 / M.D. Laurel [et al.] // U.S. Department of Health and Human Services, FDA, 2017., P. 34.
6. Антибиотикочувствительность листерий, выделенных из пищевых продуктов / Г.С. Скитович [и др.] // Ветеринария сегодня. 2017; (2): С. 13-16.
6. Antibiotic sensitivity of *Listeria* isolated from food products / G. S. Skitovich [et al.] // veterinary medicine today. 2017; (2): P. 13-16.
7. Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности в Российской Федерации на период до 2030 года. Утверждена распоряжением Правительства Российской Федерации от 25 сентября 2017 г. № 2045-п.
7. Strategy for preventing the spread of antimicrobial resistance in the Russian Federation for the period up to 2030. Approved by order of the Government of the Russian Federation No. 2045-R of September 25, 2017.
8. Арсенюк А.Ю. Исследование процесса L-трансформации в популяции сальмонелл методами электронной и лазерной интерференционной микроскопии / А.Ю. Арсенюк, И.Б. Павлова, П.С. Игнатьев // Сельскохозяйственная биология. - 2013. - № 6. - с. 192-201
8. Research of the L-transformation process in *Salmonella* populations using electron and laser interference microscopy / A. Yu. Arsenyuk, I. B. Pavlova, P. S. Ignatiev // Agricultural biology. - 2013. - No. 6. - P. 192-201