

БИОТЕХНОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ И ЖИВОТНЫХ

УДК 635.252:631.147

DOI: 10.18384/2712-7621-2020-4-120-128

ПРИМЕНЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ СРЕДСТВ СТЕРИЛИЗАЦИИ ДЛЯ ВВЕДЕНИЯ В КУЛЬТУРУ *IN VITRO* ЧЕСНОКА (*ALLIUM SATIVUM* L.)

Муравьёва И. В.¹, Азопкова М. А.¹, Поляков А. В.^{1,2}

¹ *Федеральный научный центр овощеводства (филиал Всероссийский научно-исследовательский институт овощеводства)
140153, Московская область, Раменский район, д. Верея, стр. 500, Российская Федерация*

² *Московский государственный областной университет
141014, Московская область, г. Мытищи, ул. В. Волошиной, д. 24, Российская Федерация*

Аннотация.

Цель. Исследование эффективности различных дезинфицирующих препаратов для стерилизации растительного материала чеснока при введении в культуру *in vitro*.

Процедура и методы. Стерилизацию растительного материала проводили по двухступенчатой схеме. Были использованы хлорсодержащие и четвертичные аммонийные соединения, водорастворимые гранулы «Главхлор», концентрированные жидкие препараты «Део-бактер» и «Мегацид». Препараты применяли в концентрациях от 1 до 3% по действующему веществу и экспозиции 20 минут.

Результаты. Исследования показали, что препарат «Главхлор» при стерилизации растительного материала чеснока позволяет получить до 90% свободных от инфекции эксплантов, а препарат «Мегацид» позволяет снизить уровень контаминации на 7–29%. Использование препарата «Део-бактер» оказалось малоэффективным.

Теоретическая и/или практическая значимость. Доказано, что препарат «Главхлор» можно использовать в качестве альтернативного средства для стерилизации растительного материала при введении в культуру *in vitro*.

Ключевые слова: чеснок, воздушная луковичка, эксплант, стерилизация, донце

USE OF MODERN STERILIZATION AGENTS FOR *IN VITRO* GARLIC CULTURE (*ALLIUM SATIVUM* L.)

I. Muravyova¹, M. Azopkova¹, A. Polyakov^{1,2}

¹ All-Russian Research Institute of Vegetable Production, Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institute "Federal Scientific Center of Vegetable Production" stroenie 500, 140153 Vereya, Ramenskii raion, Moscow region, Russian Federation

² Moscow Region State University
24 Very Voloshinoi ul., 141014 Mytishchi, Moscow region, Russian Federation

Abstract.

Aim. The purpose is to study the effectiveness of various disinfectants for the sterilization of the garlic plant material under introduction *in vitro* culture.

Methodology. Sterilization of the plant material was carried out according to a two-stage scheme. Chlorine-containing and quaternary ammonium compounds, as well as water-soluble 'Glavchlor' granules and concentrated liquid preparations 'Deo-bakter' and 'Megacid' were used. The preparations were used in a concentration from 1% to 3% of the active substance and for an exposure time of 20 minutes.

Results. Studies have shown that the preparation 'Glavchlor' when sterilizing the plant material of garlic, allows one to obtain up to 90% of infection-free explants, and the drug 'Megacid' can reduce the level of contamination by 7% – 29%. The use of the drug 'Deo-bakter' proved to be ineffective.

Research implications. It is proved that 'Glavchlor' can be used as an alternative means for sterilization of plant material under introduction *in vitro* culture.

Keywords: garlic, air bulb, explant, sterilization

Введение

Чеснок является исключительно вегетативно размножаемым растением. В связи с этим проблема инфицированности посадочного материала этого культурного вида растения стоит особенно остро. Стандартные схемы получения посадочного материала чеснока предусматривают двух- или трёхлетнюю, трудоёмкую и энергозатратную, технологию производства. Поэтому рынок постоянно испытывает недостаток, а зачастую, и отсутствие, высококачественного посадочного материала этой культуры. Для скорейшего насыщения отечественного рынка высококачественным посадочным ма-

териалом чеснока, отвечающим современным требованиям производства, необходимо совершенствование всех этапов биотехнологического процесса [2].

На этапе введения в культуру при стерилизации растительного материала необходимо максимально снизить уровень инфицированности. Для стерилизации материала применяют различные химические соединения и препараты на их основе. По действующему веществу стерилизующие препараты делятся на хлор-, кислород-, спиртосодержащие, четвертичные аммонийные (ЧАС), фенольные и некоторые другие соединения. Наиболее часто исполь-

зуют препараты, содержащие в качестве действующего вещества активный хлор. Соединения хлора обладают сильным окислительным действием. При взаимодействии с водой большинство хлорсодержащих соединений образуют хлорноватую кислоту с отщепляющимся атомарным кислородом, благодаря которому происходит разрушение клеток микроорганизмов. По спектру противомикробной активности хлорсодержащие препараты характеризуются выраженным фунгицидным, бактерицидным, вирулицидным, а также спороцидным эффектом. К положительным свойствам относится достаточно быстрое время воздействия на микроорганизмы. В группу хлорсодержащих препаратов входит гипохлорит натрия – натриевая соль хлорноватистой кислоты (NaOCl), которая выпускается как в чистом виде, так и в виде различных торговых брендов для дезинфекции: «Белизна» и некоторые другие. Гипохлорит натрия производят в жидком виде различной концентрации (от 9 до 17%), недостатком является неустойчивость при хранении.

В биотехнологической практике работы с растениями не нашли широкого применения твёрдые водорастворимые соединения на основе хлора, хотя в медицинской и ветеринарной области их используют для стерилизации материалов и инструментов. Чаще всего применяется натриевая соль дихлоризоциануровой кислоты (ДХЦК, ДХЦА). Как правило, это водорастворимые гранулы или таблетки различных торговых марок: «Главхлор», «Ока-таб», «Дезхлор» и др.

В настоящее время широкое применение в качестве стерилизаторов на-

ли четвертичные аммонийные соединения (ЧАС) – это органические соли с четвертичным атомом азота в качестве характерной химической группы. Антимикробное действие ЧАС имеет множественный характер, они проникают через стенки клеток, нарушают физиологические процессы, вызывают распад белков, тем самым ингибируют рост микроорганизмов и развитие спор. Положительными свойствами соединений являются низкая летучесть, высокая моющая способность и низкая токсичность. К отрицательным свойствам следует отнести недостаточную активность в отношении грамотрицательных бактерий и простых вирусов, низкую спороцидность [1]. К таким препаратам относятся «Део-бактер» с содержанием алкилдиметилбензиламмонийного хлорида (АДБАХ) 18% и «Мегацид», содержащий N,N-бис(3-аминопропил)додециламин 6% и дицилдиметиламмоний хлорид 4%.

Хозяйственное мыло – это смесь водорастворимых натриевых или калиевых солей высших жирных кислот до 72% и щелочей до 20%. Высокое содержание щелочей обуславливает антимикробное действие, а жирные кислоты – моющую способность. Положительным качеством хозяйственного мыла является его низкая токсичность и высокая моющая способность. Хозяйственное мыло используется на предварительном этапе обеззараживания материала для освобождения его от загрязнений и частичной дезинфекции.

Обязательным компонентом процесса стерилизации является этиловый спирт. Он обладает выраженным бактерицидным и вирулицидным действием, обусловленным денатурацией

белков микроорганизмов, но не имеет спороцидного эффекта. 70% -ным этиловым спиртом дезинфицируют растительный материал, руки и инструменты.

В отделе биотехнологии ВНИИО – филиала ФГБНУ ФНЦО разработана методика получения *in vitro* посадочного материала чеснока озимого (*Allium sativum* L.), согласно которой для стерилизации растительного материала используется многоступенчатая технология [4]. Она включает в себя применение в качестве стерилизующих агентов растворов хозяйственного мыла, перманганата калия, 70%-ного спирта, «Белизны». Многоступенчатая технология позволяет использовать различные стерилизующие агенты, последовательно уничтожая патогенные микроорганизмы. В целом процесс стерилизации можно разделить на два этапа:

1. Промывка растительного сырья с использованием моющих средств. На этом этапе растительный материал преимущественно освобождается от поверхностных минеральных и биологических загрязнений.

2. Этап стерилизации в ламинарном боксе, включающий в себя обработку этиловым спиртом для обезжиривания и усиления проникновения стерилизующих веществ внутрь растительного материала и стерилизацию сильнодействующим агентом.

Подобной схемы стерилизации придерживаются многие учёные в России и за её пределами [1; 3; 4; 5]. Индийские учёные в 2018 г. при создании протокола регенерации нескольких сортов местного чеснока для введения в культуру использовали трёхэтапную подготовку материала, которая предусматривала применение 20% раствора

гипохлорита натрия [6]. В 2013 г. D.S. Scotton и др. [9] при введении в культуру апексов корней предварительно простерилизованных зубков чеснока использовали 2,5% раствор гипохлорита натрия в течение 20 минут. В 2014 г. J. Gyll [7] и др. для изучения влияния различных фитогормонов на размножение чеснока, а также E.I. Metwally [8], исследуя образование адвентивных побегов на корневых апексах и меристемных зонах чеснока, использовали для стерилизации 5%-ный раствор гипохлорита натрия.

Польскими учёными [10] было исследовано сочетание хлор- и кислородсодержащих препаратов и показана высокая эффективность их совместного применения. В качестве хлорсодержащего агента был использован препарат ACE с содержанием гипохлорита натрия 4,85% и 30%-ная перекись водорода. Комбинация этих препаратов позволила получить до 100 % стерильных эксплантов медвежьего лука (*Allium ursinum* L.).

Цели, материалы и методы исследования

Целью наших исследований являлась оптимизация условий стерилизации растительного материала чеснока посевного при использовании препаратов с разными механизмами действия на патогенную микрофлору при введении *in vitro*. Для решения были поставлены следующие задачи:

1. Изучить влияние препаратов с различным действующим веществом: хлорсодержащих и четвертичных аммонийных соединений (ЧАС).

2. Выявить оптимальную комбинацию препаратов при двухэтапной стерилизации.

Таблица 1 / Table 1

Влияние комбинаций различных препаратов (в концентрации 1% по д.в.) на инфицированность эксплантов чеснока / Effect of combinations of various preparations at an active substance concentration of 1% on the infection of garlic explants

Стерилизующий агент	n	Обнаружено инфицированных воздушных луковичек								
		всего			грибами			бактериями		
		шт.	%	±Sp	шт.	%	± Sp	шт.	%	± Sp
Предварительная обработка хозяйственным мылом в концентрации 3% по д.в.										
Белизна, контроль	54	44	81,5	5,3	15	27,8	6,1	29	53,7	6,8
Главхлор	57	23	40,4	6,5	8	14,0	4,6	15	26,3	5,8
Део-бактер	55	40	72,7	6,0	11	20,0	5,4	29	52,7	6,7
Предварительная обработка препаратом Мегацид в концентрации 3 % по д.в.										
Белизна	54	40	74,1	6,0	12	22,2	5,7	28	51,9	6,8
Главхлор	52	17	32,7	6,5	6	11,5	4,4	11	21,2	5,7
Део-бактер	51	22	43,1	6,9	6	11,8	4,5	16	31,4	6,5

Материалом служили воздушные луковички чеснока озимого сорта «Гладиатор» и зубки ярового чеснока сорта «Испанец». Освобождение от сухих чешуй воздушных луковичек проводили в ламинарной боксе после всех этапов стерилизации, а зубков – перед обработкой моющим средством.

Для стерилизации использовали растворы хлорсодержащих препаратов: «Белизна» (производитель «ПЭТ ФОРМ», Россия) в концентрации 1% по д.в., «Главхлор» (ООО «Авантсепт-Медикал», Россия) в концентрации 1% и 3% по д.в.; четвертичных аммонийных соединений «Мегацид» (ООО «Самарово», Россия) в концентрации 1% и 3% по д.в. и «Део-бактер» (ООО «Део», Россия) в концентрации 3%; хозяйственное мыло 72% (ГК «МНЖК») в концентрации 10 г мыла на 1 л воды. Экспозиция во всех вариантах составляла 20 минут.

Результаты исследований

При исследовании стерилизующего эффекта комбинации препаратов было отмечено, что применение чет-

вертичных аммонийных соединений на первом этапе дезинфекции снижает уровень инфицированности эксплантов на 7,4–29,6 %. Так, при использовании хозяйственного мыла в сочетании с «Белизной» уровень инфицированности составил 81,5 %, а при использовании препарата «Мегацид» – 74,1%. В комбинации препаратов: мыло и «Део-бактер», а также «Део-бактер» и «Мегацид» применение препарата «Мегацид» снизило инфицированность с 72,7% до 43,1%, соответственно. Необходимо отметить, что использование этого препарата позволило уменьшить долю эксплантов, поражённых бактериями. При использовании хозяйственного мыла уровень бактериального загрязнения составил 52,7%, а при использовании препарата «Мегацид» – 31,4%. Применение препарата «Главхлор» показало его высокую эффективность как при использовании в сочетании с раствором мыла, так и при использовании с препаратом «Мегацид», что позволяет применять этот препарат в качестве основного стерилизующего агента при

Таблица 2 / Table 2

Влияние различных стерилизующих препаратов в концентрации 3% по д.в. на инфицированность эксплантов чеснока озимого / Effect of various sterilizing agents at an active substance in concentration of 3% on the infection rate of winter garlic explants

Стерилизующий агент	n	Обнаружено инфицированных воздушных луковичек								
		всего			грибами			бактериями		
		шт.	%	± Sp	шт.	%	± Sp	шт.	%	± Sp
Белизна, контроль	200	64	32,0	3,3	52	26,0	3,1	12	6,0	1,7
Главхлор	298	37	12,4	1,9	29	9,7	1,7	8	2,7	0,9
Део-бактер	300	86	28,7	2,6	30	10,0	1,7	56	18,7	2,2
Мегацид	300	230	76,7	2,4	36	12,0	1,9	194	64,7	2,8

Таблица 3 / Table 3

Влияние стерилизующих препаратов на инфицированность эксплантов чеснока ярового с предварительной обработкой раствором препарата «Мегацид» в концентрации 3% по д.в. / Effect of sterilizing preparations on the infection rate of spring garlic explants with pretreatment with a solution of the preparations “Megacid” at an active substance concentration of 3%

Стерилизующий агент, концентрация % по д.в.	n	Обнаружено инфицированных эксплантов								
		всего			грибами			бактериями		
		шт.	%	± Sp	шт.	%	± Sp	шт.	%	± Sp
Белизна 1, контроль	120	56	46,6	4,6	35	29,1	4,1	21	17,5	3,5
Главхлор, 3	110	11	10,0	2,9	11	10,0	2,9	0	0,0	0,0
Део-бактер, 3	120	42	26,6	4,4	14	11,7	2,9	28	14,9	3,9

введении в культуру воздушных луковичек чеснока. Уровень инфицированности в двух комбинациях составил 32,7–40,4% (табл. 1).

При дальнейшем изучении действия дезинфицирующих препаратов была подтверждена высокая стерилизующая способность препарата «Главхлор». При его использовании в среднем инфицированность воздушных луковичек составила 12,4 %, в то время как при использовании препарата «Белизна» – 32%. Использование препарата «Део-бактер» не дало достоверных различий по сравнению с контролем, а применение препарата «Мегацид» показало результат значительно ниже контрольных (табл. 2).

Высокая эффективность препарата «Главхлор» подтвердилась в последующих опытах. При использовании в качестве эксплантов донца зубка чеснока ярового для введения в культуру применение препарата «Главхлор» в концентрации 3% по д.в. и экспозиция 20 минут в качестве основного стерилизующего агента позволило получить 90% неинфицированных эксплантов, при этом не наблюдалось бактериальной заражённости (табл. 3).

Закключение

Выявлена высокая эффективность хлорсодержащего препарата «Главхлор» (водорастворимые гранулы, ООО «Авантсепт-Медикал,

Россия) при стерилизации растительного материала чеснока для введения в культуру *in vitro*. Использование препарата «Главхлор» в концентрации 3 % по д.в. и экспозиции 20 минут с предварительной обработкой препаратом «Мегацид» (жидкий концентрат, производитель ООО «Самарово»,

Россия) в концентрации 3 % по д.в. и экспозиции 20 минут позволяет получить 90% свободных от инфекции эксплантов и эффективно проводить культивирование в условиях *in vitro*.

Статья поступила в редакцию 25.09.2020 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Методология биотехнологических исследований цветочно-декоративных культур / под ред. И. В. Митрофановой. Симферополь: Ариал, 2018. 265 с.
2. Поляков А. В., Азопкова М. А., Муравьева И. В. Получение *in vitro* посадочного материала чеснока озимого (*Allium sativum* L.) : Методическое руководство. М.: Всероссийский научно-исследовательский институт овощеводства – филиал федерального государственного бюджетного научного учреждения Федеральный научный центр овощеводства, 2018. 12 с.
3. Поляков А. В. Получение регенерантов овощных культур и их размножение *in vitro* // Методические рекомендации. М.: Всероссийский научно-исследовательский институт овощеводства Российской сельскохозяйственной академии. 2005. 36 с.
4. Прошлое, настоящее и будущее четвертичных аммонийных соединений. Дезинфектология на современном этапе / Опарин П. С., Тюрнева Н. А., Шептунов С. И., Опарина Т. П., Антонива Т. А., Панова М. А. Иркутск: Восточно-Сибирский научный центр Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 2003. 15 с.
5. Саттон Д., Фотергилл А., Ринальди М. Определитель патогенных и условно патогенных грибов. М.: Мир, 2001. 464 с.
6. Ashwini P. Benke, Punam Shelke, V. Mahajan. Three step protocol for regeneration of plantlets in INDIAN Garlic varieties using root meristem. In: Indian Journal Of Agricultural Research, 2018, vol. 52(1), pp. 66–70.
7. Gull I. Comparative effect of different pythohormones on the micropropagation of *Allium sativum*. In: Pak. J. Biochem. Mol. Biol, 2014, vol. 47(1–2), pp. 121–124.
8. Metwally E. I. *In vitro* propagation of garlic (*Allium sativum* L.) through adventitious shoot organogenesis. In: African Journal of Biotechnology, 2014, vol. 13, no. 38, pp. 3892–3900.
9. Scotton D. S., Benedito V. A., Molfetta J. B., Rodrigues B. I. Fp., Tulmann-Neto A., Figueira A. Response of root explants to *in vitro* cultivation of marketable garlic cultivars. In: Horticultura Brasileira, 2013, vol. 31, no. 1, pp. 80–85.
10. Tomaszewska-Sowa M., Figas A., Keutgen N., Keutgen A. J. Establishing an efficient explant superficial sterilization protocol for *in vitro* micropropagation of bear's garlic (*Allium ursinum* L.). In: Herba Polonica, 2015, vol. 61(4), pp. 66–77.

REFERENCES

1. Mitrofanova I. V., ed. *Metodologiya biotekhnologicheskikh issledovaniy tsvetochno-dekorativnykh kul'tur* [Methodology of biotechnological research of flower and ornamental crops]. Simferopol, Arial Publ., 2018. 265 p.
2. Polyakov A. V., Azopkova M. A., Murav'eva I. V. [Obtaining *in vitro* planting material of winter garlic (*Allium sativum* L.)]. In: *Metodicheskoe rukovodstvo* [Methodological guide]. Moscow, Vserossiiskii nauchno-issledovatel'skii institut ovoshchevodstva – filial federal'nogo gosu-

- darstvennogo byudzhetnogo nauchnogo uchrezhdeniya Federal'nyi nauchnyi tsentr ovoshchevodstva Publ., 2018. 12 p.
3. Polyakov A. V. [Obtaining regenerants of vegetable crops and their reproduction *in vitro*]. In: *Metodicheskie rekomendatsii* [Methodological recommendations]. Moscow, Vserossiiskii nauchno-issledovatel'skii institut ovoshchevodstva Rossiiskoi sel'skokhozyaistvennoi akademii Publ., 2005. 36 p.
 4. Oparin P. S., Tyurneva N. A., Sheptunov S. I., Oparina T. P., Antoniva T. A., Panova M. A. *Proshloe, nastoyashchee i budushchee chetvertichnykh ammoniinykh soedinenii. Dezinfektsiologiya na sovremennom etape* [Past, present and future of quaternary ammonium compounds. Disinfection at the present stage]. Irkutsk, Vostochno-Sibirskii nauchnyi tsentr Sibirskogo otdeleniya Rossiiskoi akademii meditsinskikh nauk Publ., 2003. 15 p.
 5. Sutton D., Fothergill A., Rinaldi M. Guide to Clinically Significant Fungi. Baltimore, Md. London Williams & Wilkins, 1998.
 6. Ashwini P. Benke, Punam Shelke, V. Mahajan. Three step protocol for regeneration of plantlets in INDIAN Garlic varieties using root meristem. In: Indian Journal Of Agricultural Research, 2018, vol. 52(1), pp. 66–70.
 7. Gull I. Comparative effect of different phytohormones on the micropropagation of *Allium sativum*. In: Pak. J. Biochem. Mol. Biol, 2014, vol. 47(1–2), pp. 121–124.
 8. Metwally E. I. *In vitro* propagation of garlic (*Allium sativum* L.) through adventitious shoot organogenesis. In: African Journal of Biotechnology, 2014, vol. 13, no. 38, pp. 3892–3900.
 9. Scotton D. S., Benedito V. A., Molfetta J. B., Rodrigues B. I. Fp., Tulmann-Neto A., Figueira A. Response of root explants to *in vitro* cultivation of marketable garlic cultivars. In: Horticultura Brasileira, 2013, vol. 31, no. 1, pp. 80–85.
 10. Tomaszewska-Sowa M., Figas A., Keutgen N., Keutgen A. J. Establishing an efficient explant superficial sterilization protocol for *in vitro* micropropagation of bear's garlic (*Allium ursinum* L.). In: Herba Polonica, 2015, vol. 61(4), pp. 66–77.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Муравьёва Ирина Владимировна – младший научный сотрудник отдела биотехнологии и инновационных проектов Всероссийского научно-исследовательского института овощеводства (ВНИИО) – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения (ФГБНУ) Федеральный научный центр овощеводства (ФНЦО);
e-mail: biotech438@mail.ru

Азопкова Марина Александровна – кандидат сельскохозяйственных наук, научный сотрудник отдела биотехнологии и инновационных проектов Всероссийского научно-исследовательского института овощеводства (ВНИИО) – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения (ФГБНУ) Федеральный научный центр овощеводства (ФНЦО);
e-mail: biotech438@mail.ru

Поляков Алексей Васильевич – доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой ботаники и прикладной биологии Московского государственного областного университета, главный научный сотрудник отдела биотехнологии и инновационных проектов Всероссийского научно-исследовательского института овощеводства (ВНИИО) – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения (ФГБНУ) Федеральный научный центр овощеводства (ФНЦО);
e-mail: vita100plus@yandex.ru

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Irina V. Muraveva – Junior Researcher of the Department of Biotechnology and Innovative Projects of All-Russian Research Institute of Vegetable Production, Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institute “Federal Scientific Center of Vegetable Production”;
e-mail: bioteh438@mail.ru

Marina A. Azopkova – Ph.D (Agricultural Industry), Researcher of the Department of Biotechnology and Innovation Projects of All-Russian Research Institute of Vegetable Production, Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institute “Federal Scientific Center of Vegetable Production”;
e-mail: bioteh438@mail.ru

Aleksey V. Polyakov – Dr. Sci. (Biology), Professor, Head of the Department of Botany and Applied Biology of Moscow Region State University, the main researcher of Department of Biotechnology and Innovation Projects of All-Russian Research Institute of Vegetable Production, Branch of the Federal State Budgetary Scientific Institute “Federal Scientific Center of Vegetable Production”;
e-mail: vita100plus@yandex.ru

ПРАВИЛЬНАЯ ССЫЛКА НА СТАТЬЮ

Муравьёва И. В., Азопкова М. А., Поляков А. В. Применение современных средств стерилизации для введения в культуру *in vitro* чеснока (*allium sativum* L.) // Географическая среда и живые системы. 2020. № 4. С. 120–128.
DOI: 10.18384/2712-7621-2020-4-120-128

FOR CITATION

Muraveva I. V., Azopkova M. A., Polyakov A. V. Use of modern sterilization agents for *in vitro* garlic culture (*Allium sativum* L.). In: *Geographical Environment and Living Systems*, 2020, no. 4, pp. 120–128.
DOI: 10.18384/2712-7621-2020-4-120-128