

Оценка фитостимулирующего действия *Vischeria*-содержащих комплексов при выращивании ячменя в модельных экспериментах

Ю.М. БАЧУРА

В модельных экспериментах установлено стимулирующее действие суспензий микроводорослей родов *Vischeria*, *Chlorella*, цианобактерий рода *Nostoc* и их комплексов на рост и развитие проростков ячменя. Эффективность разбавленных суспензий микроводорослей, цианобактерий и их комплексов оказалась выше, чем эффективность применения исходных суспензий данных микроорганизмов. Оптимальные результаты получены при применении разбавленных в соотношении 1:2 суспензий микроорганизмов родов *Vischeria* и *Nostoc* и разбавленных в соотношении 2:1 суспензий микроводорослей родов *Vischeria* и *Chlorella*.

Ключевые слова: цианобактерии, микроводоросли, стимуляторы роста, фитоэффект, ячмень.

Model experiments have established the stimulating effect of microalgae suspensions of the genera *Vischeria*, *Chlorella*, cyanobacteria of the genus *Nostoc*, and their complexes on the growth and development of barley seedlings. The effectiveness of diluted suspensions of microalgae, cyanobacteria, and their complexes was higher than the effectiveness of using the original suspensions of these microorganisms. The optimal results were obtained when using suspensions of microorganisms of the genera *Vischeria* and *Nostoc* diluted in a 1:2 ratio, and suspensions of microalgae of the genera *Vischeria* and *Chlorella* diluted in a 2:1 ratio.

Keywords: cyanobacteria, microalgae, growth stimulants, phytoeffect, barley.

Введение. Микроводоросли и цианобактерии почв являются ценным возобновляемым генетическим ресурсом. Вследствие значительного вклада альгоцианобактериальной флоры в функционирование наземных экосистем в последнее время актуален поиск путей их прикладного использования, среди которых и возможности применения ее представителей в растениеводстве [1]–[11]. Микроводоросли и цианобактерии улучшают ряд физико-химических свойств почвы, повышают содержание органического вещества и азота, обогащают почву биологически активными веществами, обеспечивают защиту растений от патогенных микроорганизмов, тем самым способствуют формированию устойчивых агроэкосистем и повышению экологической безопасности сельского хозяйства [6], [7], [12]–[15]. Целью данного исследования являлось изучение фитостимулирующего действия альгоцианобактериальных и микроводорослевых *Vischeria*-содержащих комплексов в модельных экспериментах с ячменем.

Материалы и методика исследований. Для получения *Vischeria*-содержащих комплексов использовали культуры типичных для альгоцианобактериальной флоры почв представителей: 1) эвритечной водоросли, способной существовать в широком диапазоне экологических условий, *Vischeria magna* (J.B. Petersen) Kryvenda, Rybalka, Wolf & Friedl 2018, 2) водоросли-космополита устойчивой к воздействию неблагоприятных факторов *Chlorella vulgaris* Beijerinck, 1890, 3) цианобактерии-азотфиксатора *Nostoc* Vaucher ex Bornet et Flahault, 1886 [16].

Микроорганизмы культивировали методом водных культур на основной среде Болда (Bold basal medium – BBM) и среде Болда без азота при температуре (20 ± 3) °C при 10/14-часовом чередовании световой и темновой фаз и освещении 3500–4000 лк с барботированием в дневное время. Определение количества клеток водорослей проводили с помощью камеры Горяева [17]. Плотность суспензии *Nostoc* составила 25,6 млн клеток на 1 мл культуры, *Chlorella* – 42,7–45,1 млн клеток на 1 мл культуры, *Vischeria* – 29,7–29,8 млн клеток на 1 мл культуры.

В эксперименте использовали альгоцианобактериальные комплексы *Vischeria-Nostoc* (V:N) и альгокомплексы *Vischeria-Chlorella* (V:Ch) на основе исходных (ИК) и разбавленных (2:1 – РК1, 1:1 – РК2, 1:2 – РК3) культур данных микроорганизмов и контрольные варианты: 1) опыт I (ИК/РК культура микроорганизма 1); 2) опыт II (1 часть ИК/РК культуры микроорганизма 1:3 части ИК/РК культуры микроорганизма 2, 1V:3N, 1V:3Ch); 3) опыт III (1 часть ИК/РК культуры микроорганизма 1:2 части ИК/РК культуры микроорганизма 2, 1V:2N, 1V:2Ch); 4) опыт IV (1

часть ИК/РК культуры микроорганизма 1:1 часть ИК/РК культуры микроорганизма 2, 1V:1N, 1V:1Ch); 5) опыт V (2 части ИК/РК культуры микроорганизма 1:1 часть ИК/РК культуры микроорганизма 2, 2V:1N, 2V:1Ch); 6) опыт VI (3 части ИК/РК культуры микроорганизма 1:1 часть ИК/РК культуры микроорганизма 2, 3V:1N, 3V:1Ch); 7) опыт VII (ИК/РК культура микроорганизма 2); 8) контроль I (BBM); 9) контроль II (дистиллированная вода).

Тестовой культурой служил ячмень (*Hordeum vulgare L.*) сорта Водар белорусской селекции. Семена отбирали по размерам, замачивали на 1 час в жидкостях в соответствии с указанными выше вариантами опыта и раскладывали в пластиковые емкости (40 семян для каждого варианта опыта; в четырехкратной повторности). В стаканы приливали по 5 мл жидкости при постановке эксперимента и по 2 мл жидкости на 3 сутки эксперимента. Эксперименты проводили при естественном освещении при температуре 22 ± 3 °C. В ходе экспериментов определяли энергию прорастания и всхожесть семян, измеряли морфометрические показатели проростков ячменя в соответствии с ГОСТом 12038-84 [18]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программ Statistica и Microsoft Excel.

Результаты исследований и их обсуждение. В серии экспериментов с альгоцианобактериальными комплексами *Vischeria-Nostoc* наиболее активное прорастание семян ячменя наблюдали при увлажнении фильтров исходными и разбавленными в соотношении 1:1 супензиями *Vischeria*, *Nostoc* и их комплексами, наименее активное – при использовании комплексов на основе разбавленных в соотношении 2:1 супензий микроорганизмов. Средние показатели длины корней, побегов и массы проростков ячменя в большинстве опытных вариантов были выше, чем в контрольных (таблица 1).

Таблица 1 – Сравнение средних длин корней, побегов и средней массы проростков ячменя (эксперименты с комплексами *Vischeria-Nostoc*)

Эксперименты	Варианты опытов									
	Длина корней									
ИК	2V:1N	3V:1N	1V:1N	1V:3N	Visch	<i>H₂O</i> д.	1V:2N	Nost	BBM	
PK1	1V:2N	3V:1N	Nost	<i>H₂O</i> д.	1V:3N	Visch	BBM	2V:1N	1V:1N	
PK2	Visch	1V:1N	3V:1N	<i>H₂O</i> д.	1V:3N	2V:1N	1V:2N	BBM	Nost	
PK3	Visch	1V:2N	1V:3N	1V:1N	Nost	2V:1N	<i>H₂O</i> д.	BBM	3V:1N	
Длина побегов										
ИК	Visch	2V:1N	Nost	1V:3N	1V:2N	1V:1N	BBM	3V:1N	<i>H₂O</i> д.	
PK1	1V:2N	3V:1N	Nost	BBM	1V:3N	<i>H₂O</i> д.	1V:1N	Visch	2V:1N	
PK2	3V:1N	Visch	1V:1N	1V:3N	2V:1N	BBM	Nost	1V:2N	<i>H₂O д.</i>	
PK3	Visch	1V:2N	1V:3N	1V:1N	2V:1N	Nost	<i>H₂O д.</i>	BBM	3V:1N	
Масса проростков										
ИК	2V:1N	Visch	Nost	BBM	1V:3N = 3V:1N	1V:2N = 1V:1N	<i>H₂O д.</i>			
PK1	1V:3N = 3V:1N = Nost				Visch = <i>H₂O д.</i>	1V:2N = BBM	2V:1N	1V:1N		
PK2	3V:1N = BBM		1V:2N = Visch		2V:1N = 1V:1N	Nost	1V:3N = <i>H₂O д.</i>			
PK3	1V:3N = Visch		1V:2N	1V:1N	2V:1N = <i>H₂O д.</i>		Nost = BBM	3V:1N		

Примечание: варианты опытов приведены от максимального выявленного показателя к минимальному, контрольные варианты выделены курсивом

Наибольшее влияние на морфометрические показатели проростков ячменя оказали супензии водоросли рода *Vischeria* и ее комплексы. При применении исходных культур микроорганизмов максимальные показатели длины и массы проростков отмечены в вариантах опыта с супензиями *Vischeria* и с комплексами с преобладанием *Vischeria* в их составе.

По отношению к контролю с водой по длине проростков ячменя положительные фитоэффекты установлены при применении исходных культур микроорганизмов и их комплексов во всех вариантах опыта (рисунок 1а); максимальные фитоэффекты отмечены при использовании комплексов состава 2V:1N – 19,48 %, наименее выраженное стимулирующее действие показали комплексы состава 1V:2N (5 %). При использовании разбавленных в соотношении 2:1 супензий водорослей и цианобактерий оптимальное фитостимулирующее действие на длину проростков ячменя оказали комплексы состава *Vischeria-Nostoc* состава 1V:2N и 3V:1N – 32,99 % и 27,71 % соответственно; комплексы состава 1V:2N, 2V:1N и разбавленная

сусpenзия *Vischeria* были неэффективны. В эксперименте с разбавленными в соотношении 1:1 сусpenзиями микроорганизмов максимальные фитоэффекты отмечены при использовании комплекса 3V:1N и разбавленной сусpenзии водоросли (13,53 % и 16,61 %); незначительные отрицательные фитоэффекты зафиксированы в вариантах опыта с комплексом 1V:2N и разбавленной культурой ностока. В эксперименте с наиболее разбавленными сусpenзиями микроорганизмов (1:2) в целом установлено максимальное фитостимулирующее действие сусpenзий водорослей рода *Vischeria*, цианобактерий рода *Nostoc* и их комплексов на длину проростков ячменя по отношению к контролю с водой – фитоэффекты варьировали от 32,12 % до 113,59 % (исключение – вариант опыта с комплексом 3V:1N).

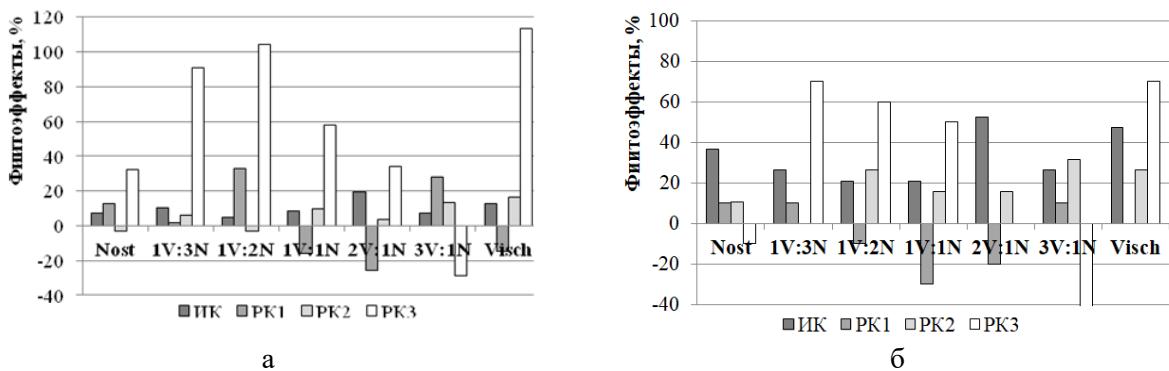


Рисунок 1 – Сравнение фитоэффектов по длине (а) и массе (б) проростков ячменя при применении комплексов *Vischeria-Nostoc* по отношению к контролю с дистиллированной водой

По массе проростков ячменя при использовании исходных культур водорослей и цианобактерий по отношению к контролю с водой также установлены положительные фитоэффекты (21,05–52,63 %); максимум отмечен в варианте опыта с комплексом *Vischeria-Nostoc* состава 2V:1N (рисунок 1б). Применение разбавленных в соотношении 2:1 сусpenзий микроорганизмов позволило установить фитостимулирующее действие комплексов состава 1V:3N, 3V:1N и разбавленных культур ностока (по 10 %). В эксперименте с разбавленными в соотношении 1:1 сусpenзиями водорослей и цианей фитоэффекты варьировали от 10,53 % до 31,58 %; максимум отмечен при использовании комплекса 3V:1N. В эксперименте с наиболее разбавленными сусpenзиями микроорганизмов максимальное стимулирующее действие показали комплексы состава 1V:3N, 1V:2N и разбавленная сусpenзия *Vischeria* (60–70 %).

По отношению к контролю со средой в эксперименте с исходными культурами водорослей и цианобактерий во всех вариантах опыта отмечены положительные фитоэффекты по длине проростков ячменя (рисунок 2а); максимальные фитоэффекты установлены при использовании комплексов *Vischeria-Nostoc* состава 2V:1N – 20,31 %, наименее выраженное стимулирующее действие показали комплексы состава 1V:2N (5,72 %). В экспериментах с разбавленными в различном соотношении культурами микроводорослей и цианобактерий в большинстве вариантов опыта выявлено стимулирующее действие сусpenзий микроорганизмов и их комплексов на ячмень. В эксперименте с разбавленными в соотношении 2:1 сусpenзиями *Vischeria* и *Nostoc* оптимальным оказалось использование комплексов состава 1V:2N и 3V:1N – фитоэффекты составили 31,84 % и 26,60 %; комплексы 1V:1N и 2V:1N и разбавленная сусpenзия *Vischeria* оказали ингибирующее действие на рост ячменя. При использовании сусpenзий микроорганизмов, разбавленных в соотношении 1:1, их влияние было в основном положительным; максимальные фитоэффекты установлены при использовании комплекса 3V:1N и разбавленной сусpenзии *Vischeria* (14,32 % и 17,42 %). В эксперименте с культурами водорослей и цианобактерий, разбавленных в соотношении 1:2, фитоэффекты составили 30,97–111,74 %, максимум отмечен в варианте с разбавленной сусpenзией *Vischeria*.

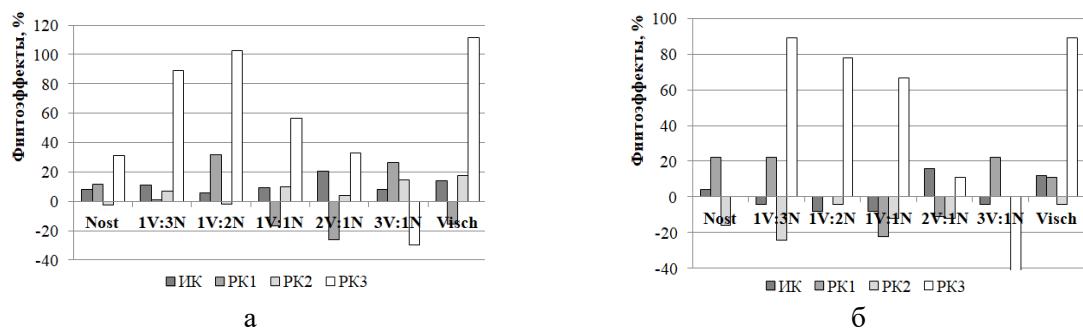


Рисунок 2 – Сравнение фитоэффектов по длине (а) и массе (б) проростков ячменя при применении комплексов *Vischeria-Nostoc* по отношению к контролю с питательной средой

По массе проростков ячменя относительно контроля с питательной средой выявлено как стимулирующее, так и ингибирующее влияние культур фотосинтезирующих микроорганизмов (рисунок 2б). Наиболее выраженные фитоэффекты отмечены при использовании супензий водорослей и цианей, разбавленных в соотношении 1:2, – фитоэффекты варьировали от 11,11 % до 88,89 %, оптимальные результаты получены при использовании комплекса *Vischeria-Nostoc* состава 1V:2N и микроводоросли рода *Vischeria*.

При проведении серии экспериментов с *микроводорослевыми комплексами Vischeria-Chlorella* наиболее активное прорастание семян ячменя наблюдали при увлажнении фильтров исходными и разбавленными в соотношении 1:1 комплексами *Vischeria-Chlorella*, менее активное – при использовании комплексов на основе супензий, разбавленных в соотношении 2:1 и 1:2. Супензии микроводорослей *Vischeria, Chlorella* и их комплексы оказали выраженный стимулирующий эффект на рост и развитие проростков ячменя в эксперименте – длина и масса проростков ячменя практически во всех опытных вариантах превышала аналогичные показатели в контрольных вариантах (таблица 2). Оптимальные результаты по длине и массе проростков ячменя показали комплексы *Vischeria-Chlorella* состава 1V:1Ch и 1V:2Ch.

Фитоэффекты по длине проростков ячменя относительно контроля с водой были положительными (исключение: разбавленная в соотношении 2:1 супензия водоросли рода *Chlorella*) (рисунок 3а). В эксперименте с исходными культурами водорослей фитоэффекты варьировали от 27,82 % до 48,07 %; максимальное стимулирующее действие показали комплексы *Vischeria-Chlorella* состава 1V:2Ch. При использовании разбавленных в различном соотношении супензий водорослей фитоэффекты варьировали от 7,99 % до 82,07 %. Максимальное стимулирующее действие в экспериментах с разбавленными в соотношении 2:1 и 1:2 супензиями водорослей показали комплексы 1V:1Ch (82,07 % и 60,18 %), в экспериментах с разбавленными в соотношении 1:1 супензиями – комплексы состава 1V:2Ch (42,27 %).

Таблица 2 – Сравнение средних длин корней, побегов и средней массы проростков ячменя (эксперименты с комплексами *Vischeria-Chlorella*)

Эксперименты	Варианты опытов									
	Длина корней									
ИК	Visch	1V:2Ch	2V:1Ch	1V:3Ch	1V:1Ch	3V:1Ch	Chlor	<i>H₂O</i> д.	BBM	
PK1	1V:1Ch	1V:3Ch	2V:1Ch	1V:2Ch	3V:1Ch	Visch	<i>H₂O</i> д.	Chlor	BBM	
PK2	1V:2Ch	1V:1Ch	Visch	1V:3Ch	Chlor	3V:1Ch	2V:1Ch	<i>H₂O</i> д.	BBM	
PK3	1V:1Ch	Chlor	3V:1Ch	Visch	2V:1Ch	1V:2Ch	1V:3Ch	<i>H₂O</i> д.	BBM	
Длина побегов										
ИК	1V:2Ch	1V:1Ch	Chlor	2V:1Ch	1V:3Ch	Visch	3V:1Ch	BBM	<i>H₂O</i> д.	
PK1	1V:1Ch	1V:3Ch	2V:1Ch	1V:2Ch	Visch	3V:1Ch	<i>H₂O</i> д.	Chlor	BBM	
PK2	1V:2Ch	Visch	1V:3Ch	Chlor	1V:1Ch	3V:1Ch	2V:1Ch	BBM	<i>H₂O</i> д.	
PK3	1V:1Ch	Visch	2V:1Ch	3V:1Ch	1V:3Ch	Chlor	1V:2Ch	<i>H₂O</i> д.	BBM	
Масса проростков										
ИК	1V:2Ch	1V:1Ch = Chlor	2V:1Ch = 3V:1Ch = Visch		1V:3Ch		BBM	<i>H₂O</i> д.		
PK1	1V:1Ch	2V:1Ch	1V:3Ch = 1V:2Ch	3V:1Ch = Visch	Chlor	<i>H₂O</i> д.	BBM			
PK2	1V:2Ch = Visch	1V:3Ch = 1V:1Ch	3V:1Ch	2V:1Ch	Chlor = BBM		<i>H₂O</i> д.			
PK3	2V:1Ch = 3V:1Ch	1V:1Ch	1V:3Ch	1V:2Ch = Chlor = Visch	<i>H₂O д.</i>	BBM				

Примечание: варианты опытов приведены от максимального выявленного показателя к минимальному, контрольные варианты выделены курсивом

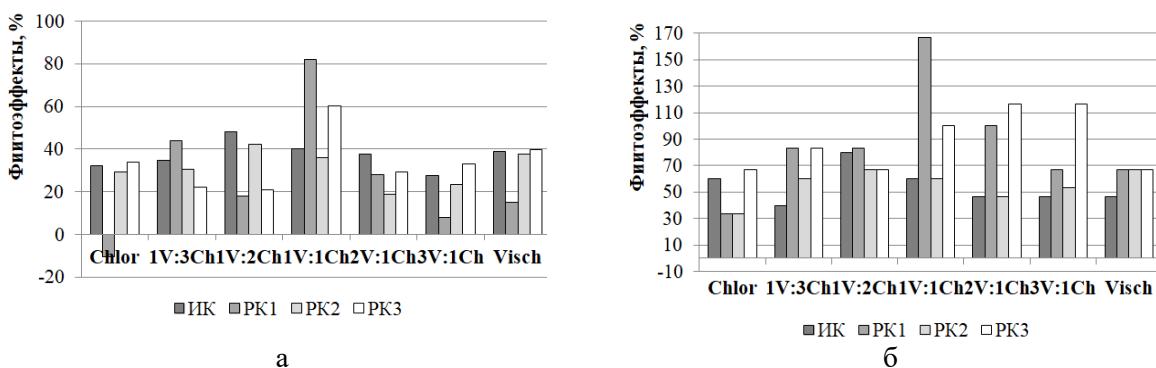


Рисунок 3 – Сравнение фитоэффектов по длине (а) и массе (б) проростков ячменя при применении комплексов *Vischeria-Chlorella* по отношению к контролю с дистиллированной водой

По массе проростков ячменя относительно контроля с дистиллированной водой как в эксперименте с исходными, так и в экспериментах с разбавленными культурами водорослей родов *Vischeria* и *Chlorella* установлено положительное влияние супензий микроорганизмов и их комплексов на рост и развитие проростков ячменя – фитоэффекты составили 33,33–166,67 % (рисунок 3б). Оптимальные результаты выявлены при использовании комплексов *Vischeria-Chlorella* состава 1V:1Ch на основе супензий водорослей, разбавленных в соотношении 2:1 (166,7 %), а также комплексов состава 2V:1Ch и 3V:1Ch на основе супензий микроводорослей, разбавленных в соотношении 1:2 (116,67 %).

По отношению к контролю со средой во всех экспериментах по длине проростков ячменя установлено стимулирующее действие супензий водорослей на морфометрические показали ячменя по отношению к контролю. При использовании исходных супензий *Vischeria* и *Chlorella* фитоэффекты варьировали от 32,91 % до 53,96 %; оптимальные результаты установлены при использовании комплексов состава 1V:2Ch. В экспериментах с разбавленными культурами водорослей фитоэффекты составили 27,11–158,82 %. Наибольшую эффективность показали супензии водорослей, разбавленные в соотношении 2:1 и 1:2, и их комплексы; оптимальные результаты получены в вариантах опыта с комплексами *Vischeria-Chlorella* состава 1V:1Ch (158,82 % и 127,7 % соответственно).

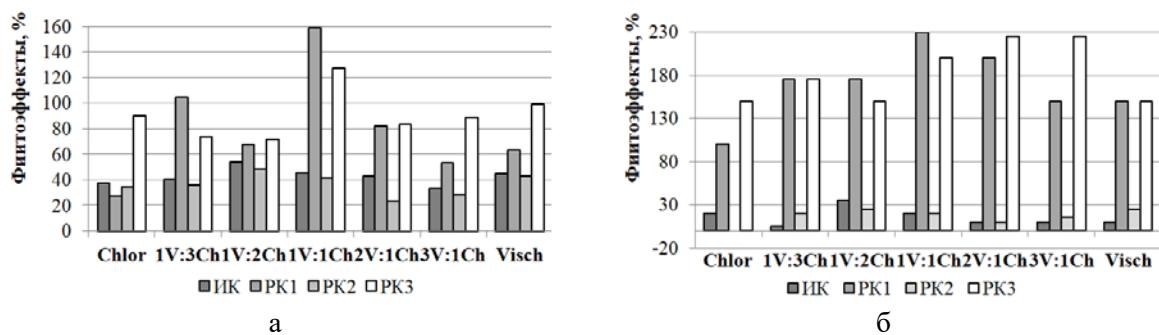


Рисунок 4 – Сравнение фитоэффектов по длине (а) и массе (б) проростков ячменя при применении комплексов *Vischeria-Chlorella* по отношению к контролю с питательной средой

По массе проростков ячменя относительно контроля со средой выявлена тенденция, аналогичная фитоэффектам по длине проростков. Максимальное фитостимулирующее действие установлено в экспериментах с супензиями микроводорослей, разбавленными в соотношении 2:1 и 1:2, и комплексами на их основе: фитоэффекты варьировали от 100 % до 230 %, оптимальные результаты показали комплексы *Vischeria-Chlorella* состава 1V:1Ch на основе разбавленных в соотношении 2:1 культур микроорганизмов. Значительные фитоэффекты выявлены в вариантах опыта с комплексами состава 2V:1Ch и 3V:1Ch на основе разбавленных в соотношении 1:2 культур микроводорослей (225 %).

По итогам экспериментов с *Vischeria*-содержащими альгоцианобактериальными и микроводорослевыми комплексами установлено стимулирующее действие супензий микроорганизмов на рост и развитие ячменя. Эффективность разбавленных супензий микроводорослей, цианобактерий и их комплексов оказалась выше, чем эффективность применения исходных супензий данных микроорганизмов. Оптимальные результаты получены при применении разбавленных в соотношении 1:2 супензий микроорганизмов родов *Vischeria* и *Nostoc* (комплекс состава 1V:2N и супензия *Vischeria* – фитоэффекты по длине проростков составили (102,57–113,59) %, по массе проростков – (60–88,89) %), разбавленных в соотношении 2:1 супензий водорослей родов *Vischeria* и *Chlorella* (комплекс 1V:1Ch – фитоэффекты по длине проростков составили (82,07–158,82) %, по массе проростков – (166,67–230) %). Результаты исследований могут быть использованы в области биотехнологии и сельского хозяйства для разработки и внедрения технологий на основе микроводорослей и цианобактерий, способных существенно повышать эффективность и конкурентоспособность отечественного органического земледелия, делая его важным инструментом решения глобальных продовольственных и экологических проблем. Исследования выполнены в рамках задания государственной программы научных исследований «Биотехнологии-2» (№ 20240440).

Литература

1. Овсянников, Ю. А. Теоретические основы эколого-биосферного земледелия / Ю. А. Овсянников. – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2000. – 264 с.
2. Харламова, М. А. Биотехнологический потенциал микроводорослей в растениеводстве / М. А. Харламова, А. А. Краснова // Агрехимический вестник. – 2020. – Т. 24, № 1. – С. 58–63.
3. Трефилова, Л. В. Использование цианобактерий в агробиотехнологии : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.07; 03.00.23 / Л. В. Трефилова ; СГУ. – Саратов, 2008. – 26 с.
4. Шалыго, Н. В. Микроводоросли и цианобактерии как биоудобрение / Н. В. Шалыго // Наука и инновации. – 2019. – № 3 (193). – С. 22–26.
5. Chamizo, S. Cyanobacteria inoculation improves soil stability and fertility on different textured soils : gaining insights for applicability in soil restoration / S. Chamizo [et al.] // Original Research. – 2018. – Vol. 6, art. 49. – P. 101–114.
6. Дидович, С. В. Биотехнологический потенциал почвенных цианобактерий (обзор) [Электронный ресурс] / С. В. Дидович [и др.] // Вопросы современной альгологии. – 2017. – № 2 (14). – Режим доступа : <http://algology.ru/1170>. – Дата доступа : 15.05.2020.
7. Цоглин, Л. Н. Биотехнология микроводорослей / Л. Н. Цоглин, Н. А. Пронина. – М., 2012. – 182 с.
8. Доброжан, С. Н. Использование некоторых видов синезеленых азотфикссирующих водорослей в качестве биологического удобрения / С. Н. Доброжан [и др.] // Альгология. – 2014. – Т. 24, № 3. – С. 426–429.
9. Singh, H. Cyanobacteria and agricultural crops / H. Singh, J. Singh Khattar, A. Singh Ahluwalia // International Journal of Plant Research. – 2014. – Vol. 27, is. 1. – P. 37–44.
10. Paudel, Y. P. Role of blue green algae in rice productivity / Y. P. Paudel [et al.] // Agriculture and Biology Journal of North America. – 2012. – Vol. 3, is. 8. – P. 332–335.
11. Лукьянов, В. А. Прикладные аспекты применения микроводорослей в агроценозе / В. А. Лукьянов, А. И. Стифеев. – Курск : КГСХА, 2014. – 181 с.
12. Зенова, Г.М. Почвенные водоросли / Г. М. Зенова, Э. А. Штина. – М. : МГУ, 1990. – 80 с.
13. Штина, Э. А. Экология почвенных водорослей / Э. А. Штина, М. М. Голлербах. – М., 1976. – 143 с.
14. Голлербах, М. М. Почвенные водоросли / М. М. Голлербах, Э. А. Штина. – М. : Наука, 1969. – 228 с.
15. Большев, Н. Н. Водоросли и их роль в образовании почв / Н. Н. Большев. – М. : МГУ, 1968. – 84 с.
16. Бачура, Ю. М. Почвенные водоросли и цианобактерии антропогенно-преобразованных почв (на примере Гомельского региона) / Ю. М. Бачура. – Чернигов : Десна Полиграф, 2016. – 148 с.
17. Гайсина, Л. А. Современные методы выделения и культивирования водорослей : учеб. пособ. / Л. А. Гайсина, А. И. Фазлутдинова, Р. Р. Кабиров. – Уфа, 2008. – 152 с.
18. Семена сельскохозяйственных культур. Методы определения всхожести : ГОСТ 12038-84. – Введ. 01.01.2002. – М. : Изд-во стандартизации, 2001. – 30 с.