

Комплексная оценка токсичности речных и сточных вод, формируемых на загрязнённой промышленными отходами территории

© 2021. Т. А. Мусихина¹, к. г. н., зав. кафедрой,
А. А. Юрлов¹, аспирант, Е. А. Земцова¹, к. х. н., доцент,
В. Ю. Филатов², к. х. н., зам. директора по экологии,

¹Вятский государственный университет,
610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, д. 36,

²ООО «ГалоПолимер Кирово-Чепецк»,
613040, Россия, г. Кирово-Чепецк, Пожарный переулок, д. 7,
e-mail: mta_mta@mail.ru

В промышленной зоне вблизи г. Кирово-Чепецка происходит загрязнение реки Елховки не только за счёт сбросов промышленных сточных вод, но и за счёт выноса загрязняющих веществ (ЗВ), в том числе соединений ртути, из подземных горизонтов по причине ненадлежащего размещения промышленных отходов на её водосборной площади и выноса ЗВ из донных отложений, что подтверждается статистическими данными и результатами ранее выполненных экологических исследований. Химический анализ показал наличие соединений ртути как в сточных водах, так и в пробах воды, отобранных в верхнем течении реки Елховки.

При исследовании токсичности воды изучено влияние отобранных проб воды на выживаемость биотест-организма (*Daphnia magna* Straus), всхожесть семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и горчицы сарепской (*Brassica juncea* L.). Для определения влияния исследуемых вод был проведён цитогенетический анализ меристемы корешков проростков семян сосны обыкновенной, которые используются как биомаркеры кумулятивного негативного воздействия на окружающую среду. При цитогенетических исследованиях применялся анафазно-телофазный метод анализа и микроядерный тест микропрепаратов. Выявлено токсическое действие на тест-объекты речных вод во всех исследуемых створах в районе выхода загрязнённых ртутными отходами грунтовых вод, выноса ртути из донных отложений и выпуска ртутьсодержащих стоков. Выявлены цитогенетические нарушения в проростках семян сосны обыкновенной при воздействии речных и сточных вод. Результаты оценки токсичности дают основание говорить о наличии негативного влияния ртутьсодержащих сточных и речных вод на тест-объекты и необходимости проведения мероприятий по снижению уровня ртутных загрязнений.

Ключевые слова: размещение отходов, сброс сточных вод, качество воды, цитогенетические исследования, биотические показатели, тест-объекты.

Comprehensive assessment of the toxicity of river and waste waters, formed on the territory contaminated by industrial waste

© 2021. T. A. Musikhina¹ ORCID: 0000-0003-4714-0572[†]

A. A. Iurlov¹ ORCID: 0000-0003-0795-2154[†] E. A. Zemtsova¹ ORCID: 0000-0001-5480-4723[†]

V. Yu. Filatov² ORCID: 0000-0001-8501-0223[†]

¹Vyatka State University,

36, Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000,

²LLC "Halopolymer Kirovo-Chepetsk",

7, Pozharnyy Pereulok, Kirovo-Chepetsk, Russia, 613040,

e-mail: mta_mta@mail.ru

The Elkhovka river is polluted in the industrial zone near the city of Kirovo-Chepetsk. This environmental problem is associated with the pollution of a water body due to improper disposal of waste in the catchments of watercourses, removal of pollutants, including mercury compounds, from underground horizons and bottom sediments, as well as industrial wastewater discharges. Mercury compounds in quantities exceeding the current quality standards were detected in the study of water samples from three sites in the upper reaches of the Elkhovka river and discharged wastewater.

The influence of the selected samples on the survival rate of the biotest of zooplankton – crustaceans (*Daphnia magna* Straus), on seed germination of *Pinus sylvestris* L. and *Brassica juncea* L. was studied.

The selected samples were evaluated for toxic-genetic characteristics. A cytogenetic analysis of the root meristem of *P. sylvestris* seedlings, used as biomarkers of the cumulative negative impact on the environment, was carried out. The anaphase-telophase method of analysis and micronucleus test of micropreparations were used in cytogenetic studies.

The presence of toxic effects of river and waste waters on test objects was revealed in all the investigated sections in the area of drainage of groundwater contaminated with mercury waste and discharge of mercury-containing waste. Cytogenetic disturbances in seedlings of *P. sylvestris* seeds under the influence of river and waste waters were revealed. The results of assessing the toxicity of river and waste waters in the area of discharge of groundwater contaminated with waste give grounds to speak of the presence of a negative impact of mercury-containing waste on test objects and the need to take measures to reduce the level of mercury pollution.

Keywords: waste disposal, wastewater discharge, water quality, cytogenetic studies, biotic indicators, test objects.

Размещение промышленных отходов в районе г. Кирово-Чепецка обуславливает загрязнение расположенных вблизи водных объектов за счёт дренажа загрязнённых грунтовых вод. Химический состав речной воды в районе исследования во многом формируется за счёт выноса загрязняющих веществ из донных отложений, сброса сточных вод и разгрузки грунтовых вод, в химическом составе которых содержатся соединения ртути, алюминия и железа [1]. Одним из наиболее опасных ингредиентов является ртуть, которая вследствие специфичности физико-химических свойств является хорошим мигрантом в окружающей среде (ОС), а её соединения обладают достаточно разнообразным спектром токсического воздействия на биоту [2, 3]. В воде ртуть представлена в нескольких формах: водорастворимой (недиссоциированные молекулы и ионы), нерастворимой, а также в составе комплексных соединений [4]. Бактерии в донном иле рек преобразуют неорганические соединения ртути в более токсичные соединения, такие как этил- и метилртуть, которые обладают большей биодоступностью, легче проникая через клеточные мембраны. В тканях гидробионтов ртуть накапливается преимущественно в метилированной форме, способной вызвать острый токсический эффект [4, 5]. Также отмечается, что ртуть приводит к снижению всхожести и ингибированию роста ряда растений [6]. Важнейшее значение в экологической патологии представляет локальное ртутное загрязнение, связанное с химическими объектами по производству хлора [2]. На исследуемой территории в 90-е годы потери ртути от производства хлора складывались из твёрдых отходов в виде сульфида ртути (98,6%), выбросов в атмосферу (1,3%) и сбросов в водотоки (0,1%) [7]. Общее количество ртути, циркулирующее в электролизерах, по данным на 2011 г., составляло около 120 т [8]. Размещённые отходы накоплены в количестве более 100 тыс. т в виде ртутьсодержащих шла-

мов [7, 9]. Толщина слоя загрязнённых ртутью грунтов составляет в среднем 3,5–5,0 м. За последние 20 лет со сточными водами в Елховку сброшено около 40 кг ртути, её среднегодовой за период 2012–2016 гг. сброс фиксируется на уровне 0,002–0,004 т/год [10].

Содержание растворённых форм ртути в воде р. Елховки в разные фазы водного режима в 2018 г. изменялось в пределах 0,00001–0,00077 мг/дм³ и превышало рыбохозяйственные нормативы. Такие значения могут быть обусловлены поступлением ртутьсодержащих сточных, грунтовых, ливневых и талых вод прилегающей к производству территории и за счёт вымывания ртути из донных отложений в русле р. Елховки [3, 11].

Все вышеперечисленные виды негативного воздействия химического производства на ОС, так или иначе, влияют на состояние водных объектов в районе исследования, что отмечалось ранее [1, 3, 7–12].

Цель работы заключалась в комплексной оценке токсичности вод реки Елховки с использованием биотест-организмов различных систематических групп: ракообразных *Daphnia magna* Straus; семян сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris* L.) и горчицы сарептской (*Brassica juncea* L.).

Объекты и методы исследования

Приём биотестирования используют как основной методический подход при разработке регламентов на определение химических веществ. Работ, посвящённых биотестированию водной среды, опубликовано достаточно, их цель во многом определяется необходимостью оценки токсичности химических соединений и препаратов для разработки нормативов допустимого сброса сточных вод, а также определения класса опасности отходов. Гораздо меньше публикаций касается биотестирования природных вод, когда можно получить интегральную оценку

токсического загрязнения водного объекта. В этом случае требуется учитывать факторы среды, например, фазы водного режима и гидрохимические характеристики водного объекта. Особого внимания заслуживают варианты методик биотестирования, позволяющие наряду с данными по выживаемости (всхожести) проводить токсико-генетические оценки, когда они проводятся по мутагенности – частоте выявления мутантов в сравнении с контролем. Эти методы близки к цитогенетическим, когда исследуют традиционные показатели: частоту хромосомных aberrаций, митотический индекс и т. п. [13]. В нашем случае из всех исследуемых на выживаемость (всхожесть) тест-объектов цитогенетические исследования наиболее приемлемо было провести на семенах сосны обыкновенной, поскольку хвойные деревья, как правило, обладают высокой ёмкостью удерживания, и учёт хромосомных aberrаций в клетках корневой меристемы проростков отражает техногенное воздействие на растения [14].

Для проведения химического анализа и биотестирования были отобраны пробы воды на 4 участках р. Елховки: № 1 – в 50 м выше по течению от выпуска сточных вод (начальный створ), № 2 – выпуск сточных вод в реку (в 6,8 км от устья), № 3 – в 50 м ниже по течению от выпуска сточных вод, № 4 – в 400 м ниже по течению от выпуска сточных вод (замыкающий створ).

Следует отметить, что, кроме выпуска ртутьсодержащих сточных вод, на этом участке реки также разгружаются загрязнённые грунтовые воды, образуя естественные выходы в р. Елховку, и происходит миграция ртути из донных отложений [3]. Зимний период для отбора проб воды увязан с тем, что в эту фазу водного режима (зимняя межень) сток реки формируется в основном за счёт подземного питания, а сточные воды имеют наименьшую кратность разбавления речными водами. Миграция ртути из донных отложений в зимнюю межень, согласно данным работы [3], минимальна. То есть можно говорить о том, что речной сток ниже по течению от выпуска стоков, а, следовательно, и химический состав воды р. Елховки, во время исследований во многом формировался за счёт подземной разгрузки грунтовых вод с территории, загрязнённой отходами промзоны и сброса сточных вод.

Измерение массовой концентрации общей и растворённой ртути в отобранных пробах осуществляли атомно-абсорбционным методом с зеемановской коррекцией неселективно-

го поглощения на анализаторе ртути РА-915 М согласно ПНД Ф 14:1:2:4:271-2012.

Оценку токсичности вод выполняли в соответствии с научными разработками и нормативами в сфере биотестирования [15–17] с использованием тест-объектов: ракообразных *D. magna*; семян сосны обыкновенной (*P. sylvestris*) и горчицы сарептской (*B. juncea*).

Для определения выживаемости в пробы воды объёмом 100 см³ из анализируемых источников помещали по 10 дафний в возрасте до 24 ч. Продолжительность биотестирования составляла 96 ч. По прошествии указанного времени в пробах подсчитывали количество живых особей [16].

Проращивание семян проводили в чашках Петри на двухслойной фильтровальной бумаге при 26 °С. Для определения всхожести проращивали 500 семян (по 100 шт. в каждом варианте опыта). Семена увлажняли дистиллированной водой (контроль) и водой четырёх отобранных проб. Одновременно определяли цитогенетические характеристики проростков семян сосны обыкновенной при воздействии всех отобранных проб, для чего было изготовлено 54 давленных микропрепарата и проанализировано 6623 клетки. При цитогенетических исследованиях корешки проростков семян фиксировали и помещали на хранение согласно общепринятым методикам [18–20]. После этого изготавливали давленные микропрепараты и производили их окрашивание ацетогомотоксилином по общепринятой методике [21–23]. При анализе микропрепаратов применяли традиционные анафазно-телофазный метод учёта хромосомных aberrаций и микроядерный тест [24–27].

Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью программы Microsoft Office Excel с использованием критерия Стьюдента для оценки выживаемости *D. magna* и критерия χ^2 (хи-квадрат) в четырёхпольных таблицах [28–30] для расчёта статистической значимости различий всхожести, митотических индексов, чисел клеток с патологиями митоза без профаз и с микроядрами, в сравнении с контрольным опытом с использованием дистиллированной воды. Разбавления исследуемых вод не проводили.

Результаты и обсуждение

Исследование химического состава сточных вод показало наличие ртути (валовая

и растворимая формы) во всех отобранных пробах. В сточных водах содержание для её валовой формы отмечено на уровне 12 ПДК_{х.п.} (ПДК, установленная для водных объектов хозяйственно-питьевого водоснабжения, согласно СанПиН 1.2.3685-21), для водорастворимой – на уровне 73 ПДК_{р.х.} (ПДК, установленная для водных объектов рыбохозяйственного значения согласно приказу Министерства сельского хозяйства РФ № 552 от 13 декабря 2016 г). В пробе № 4 (закрывающий створ) содержание ртути в валовой форме отмечается на уровне 6 ПДК_{х.п.}, а водорастворимой формы – на уровне 39 ПДК_{р.х.}. Содержание ртути в пробах № 1 (начальный створ) и № 3 (50 м ниже выпуска сточных вод) колеблется между показателями пробы № 2 и пробы № 4. Для пробы № 1 содержание ртути находилось на уровне 10 ПДК_{х.п.} (валовая форма) и 63 ПДК_{р.х.} (водорастворимая форма), для пробы № 3 – на уровне 9 ПДК_{х.п.} (валовая форма) и 57 ПДК_{р.х.} (водорастворимая форма).

Результаты определения выживаемости тест-объекта *D. magna* (табл. 1) показали, что под воздействием проб как сточных, так и речных вод, отмечали статистически значимое относительно контроля (дистиллированная вода) снижение выживаемости (при $P = 0,95$).

Наибольшая гибель тест-объектов отмечалась в пробе № 2 (ртутьсодержащие сточные воды), отобранной на выпуске в р. Елховку. Острого токсического воздействия на дафнии ни по одной из проб воды не выявлено (табл. 1).

Показатели всхожести тест-объектов горчицы сарептской и сосны обыкновенной представлены в таблице 2.

При воздействии всех проб выявлено статистически значимое снижение всхожести семян горчицы сарептской, при этом наихудшие показатели отмечены под воздействием пробы № 4 из створа, который расположен в 400 м ниже сбросов сточных вод, на этом расстоянии, вероятно, имеется разгрузка загрязнённых грунтовых вод в р. Елховку (табл. 2).

Всхожесть семян сосны обыкновенной также снизилась по отношению к контролю во всех пробах. Наибольшее снижение всхожести отмечено при воздействии пробы № 4 (закрывающий створ на р. Елховке).

Следует отметить, что семенная кожура большинства видов растений имеет низкую проницаемость для тяжёлых металлов, в том числе и ртути. Вероятно, выявленная более высокая чувствительность семян сосны обыкновенной объясняется особенностью строения семенной кожуры голосеменных растений и большей биодоступностью органических соединений ртути.

Результаты расчёта митотических индексов, чисел клеток с патологиями митоза без профаз и с микроядрами, попарное сравнение контроля и опыта представлены в таблице 3.

Митотическая активность снижается по сравнению с контролем под влиянием сточных вод. Статистически значимое уменьшение митотической активности отмечается при

Таблица 1 / Table 1

Показатели отклика *Daphnia magna* Straus / Response rates of *Daphnia magna* Straus

№ пробы / No. sample	Выживаемость, % / Survival, %
1	93,3±3,3
2	83,3±2,2
3	93,3±3,3
4	96,7±5,8

Таблица 2 / Table 2

Всхожесть тест-объектов / Germination of test objects

№ пробы No. sample	Всхожесть семян, % / Germination of seeds, %	
	горчица сарептская <i>Brassica juncea</i> L.	сосна обыкновенная <i>Pinus sylvestris</i> L.
1	95 $\chi^2 = 2,79; p \leq 0,1$	31 $\chi^2 = 0,82; p \leq 0,5$
2	93 $\chi^2 = 4,69; p \leq 0,05$	26 $\chi^2 = 2,83; p \leq 0,1$
3	92 $\chi^2 = 5,70; p \leq 0,05$	31 $\chi^2 = 0,82; p \leq 0,5$
4	90 $\chi^2 = 7,79; p \leq 0,01$	17 $\chi^2 = 10,7; p \leq 0,005$

Таблица 3 / Table 3

Цитогенетические характеристики меристемы корней проростков семян сосны обыкновенной относительно контроля / Cytogenetic characteristics of the meristem of the roots of *Pinus sylvestris* L. seedlings relative to the control

№ пробы No. sample	Митотический индекс Mitotic index		Патологии митоза без профаз Mitotic pathologies without prophase		Микроядра Micronuclei	
	%	χ^2	%	χ^2	%	χ^2
1	7,6±0,9	0,06 $p \leq 1$	10,2±3,7	1,21 $p \leq 0,5$	0,20±0,03	0,83 $p \leq 0,5$
2	4,8±0,5	6,36 $p \leq 0,025$	18,2±6,5	6,35 $p \leq 0,025$	0,28±0,05	1,59 $p \leq 0,25$
3	8,15±0,21	1,12 $p \leq 0,5$	29,4±5,8	13,83 $p \leq 0,001$	0,30±0,04	2,21 $p \leq 0,25$
4	5,18±0,33	4,46 $p \leq 0,05$	17,3±3,6	4,24 $p \leq 0,05$	0,11±0,01	0,51 $p \leq 0,5$

воздействии сточной воды и воды реки из нижнего по течению замыкающего створа № 4 – в 400 м от выпуска. Патологии митоза увеличиваются под влиянием воды из всех проб, при этом статистически значимое увеличение обнаружено под влиянием сточных вод и воды р. Елховки в нижерасположенных от места сброса сточных вод створах – пробы № 3 и № 4.

Количество микроядер относительно контроля статистически незначимо увеличивается под воздействием всех проб воды.

По результатам цитогенетических исследований можно предположить, что обнаруженное негативное влияние на тест-объекты обуславливается наличием ртути в анализируемых пробах воды, что согласуется с ранее проведёнными исследованиями о влиянии ртути на различные биологические виды [31].

Выводы

1. Выживаемость дафний снизилась под воздействием всех исследуемых проб. При этом наихудшие показатели выживаемости отмечены под влиянием пробы № 2 (ртутьсодержащие сточные воды). Острогo токсического воздействия на дафнии ни по одной из проб воды не выявлено.

2. Снижение всхожести семян горчицы сарептской и сосны обыкновенной отмечается под воздействием всех проб, при этом более значимое воздействие отмечено для пробы № 4 (речная вода в замыкающем створе).

3. Вода в замыкающем створе р. Елховки (проба № 4) в большинстве исследований наиболее токсична, что подтверждает тот факт, что на расстоянии до 400 м вниз по те-

чению от выпуска ртутьсодержащих сточных вод происходит дополнительное поступление химических загрязнений путём разгрузки загрязнённых подземных вод и выносом загрязнений из донных отложений.

4. Наряду со снижением всхожести семян, цитогенетическая характеристика меристемы корней проростков семян сосны обыкновенной показывает наличие негативного воздействия воды всех отобранных проб. Статистически значимые отклонения показателей митотической активности наблюдаются под влиянием сточных вод (проба № 2), по патологии митоза – под влиянием сточных вод (проба № 2) и воды р. Елховки в ниже расположенных от места сброса створах (пробы № 3 и № 4). Обнаруженное негативное влияние на тест-объекты, вероятно, обусловлено наличием ртути в пробах воды.

5. Полученные данные по исследуемому участку р. Елховки могут быть использованы при уточнении оценки накопленного экологического вреда на исследуемой территории, в частности, влияния разгрузки подземных вод с загрязнённых отходами территорий и выноса ртути из донных отложений р. Елховки в зоне санитарной охраны хозяйственно-питьевого водозабора; при регламентации сбросов промышленных ртутьсодержащих сточных вод, а также при составлении программы наблюдений в рамках экологического мониторинга в районе исследования.

References

1. Farbeeva E.A., Khodyashev M.B., Filatov V.Yu., Khodyashev N.B., Tangaeva E.A., Nozdryukhin A.D. The use

of carbon sorbents in the technology of wastewater treatment from mercury // Voronezh State University of Engineering Technologies Bulletin. 2018. V. 80. No. 4. P. 322–329 (in Russian). doi: 0.20914/2310-1202-2018-4-322-329

2. Avcin A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strochkova L.S. Mikroelement deviations of man: etiology, klassifikation, organ pathology // Medicine. Moskva: AMS USSR, 1991. P. 393–394 (in Russian).

3. Bogomolov A.V., Filatov V.Yu., Dyakov M.S., Khodyasheva E.M., Khodyashev M.B. Special features of the technogenic bottom sediments impact on the water bodies mercury pollution character // Water sector of Russia: problems, technologies, managment. 2020. No. 5. P. 94–106 (in Russian). doi: 10.35567/1999-4508-2020-5-6

4. Vasilkov G.V., Grishchenko L.I., Engashev G.V., Kanaev A.I., Larkova Z.I., Osetrov V.S. Fish diseases: A handbook / Ed. V.S. Osetrova. Moskva: Agropromizdat, 1989. 288 p. (in Russian).

5. Fedyushina O.Yu. Mercury in freshwater hydrobionts // Geochemistry of Living Matter: Materialy mezhdunarodnoy molodezhnoy shkoly-seminara. Tomsk: Tomsk Polytechnic University Publishing house, 2013. P. 180–182 (in Russian).

6. Skugoreva S.G. The effect of mercury(II) nitrate on seed germination, growth and development of barley seedlings // Actual problems of biology and ecology: Tezisy dokladov XII molodezhnoy nauchnoy konferentsii Instituta biologii Komi NTs UrO RAN. Syktyvkar, 2005. P. 221–222 (in Russian).

7. Albegova A.V., Vorozhova T.A. Assessment of environmental mercury pollution in the area of the city of Kirovo-Chepetsk // Regional and municipal problems of use of nature: Materialy 4-y mezhregionalnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Kirovo-Chepetsk: Kirovo-Chepetskaya tipografiya, 1996. P. 46 (in Russian).

8. Skugoreva S.G. Assessment of contamination of soils and wild plants with heavy metals // Regional and municipal problems of use of nature: Materialy 10-y Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Kirov, 2008. P. 73–75 (in Russian).

9. Burkov N.A. Assessment of the penetration of mercury, lead and cadmium into the environment // Regional and municipal problems of use of nature: Materialy 4-y mezhregionalnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Kirovo-Chepetsk: Kirovo-Chepetskaya tipografiya, 1996. P. 14 (in Russian).

10. Fuks S.I., Filatov V.Yu., Khitrin S.V., Devyaterikova S.L. Study of the possibility of reducing mercury contamination of the soil layer at the industrial zone of the chemical enterprise // Theoretical and Applied Ecology. 2020. No. 4. P. 55–60 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2020-4-055-060

11. Ashikhmina T.Ya., Lemeshko A.P., Kantor G.Ya., Dabakh E.V. Comprehensive survey of the territory in the area of radioactive waste storage of the Kirovo-Chepetsk branch of the office “Privolzhskiy territorial district” of

Federal State Unitary Enterprise “ROSRAO” // Modern radioecological situation in the Kirov region. Object monitoring of the state of the subsoil and its role in solving practical problems of the state corporation “ROSATOM” for the rehabilitation of radiation-hazardous objects of the Federal State Unitary Enterprise “ROSRAO”: Nauchno-prakticheskaya konferentsiya. Kirov: Loban, 2009. P. 63–76 (in Russian).

12. Olkova A.S., Skugoreva S.G., Adamovich T.A., Ashikhmina T.Ya. Assessment of the state of water objects by biotesting methods in the zone of influence of industrial enterprises (on the example of the Kirovo-Chepetsk chemical plant) // Theoretical and Applied Ecology. 2011. No. 3. P. 46–52 (in Russian). doi: 10.25750/1995-4301-2011-3-046-052

13. Pausheva Z.P. Practicum on plant cytology. Moskva: Agropromizdat, 1988. 271 p. (in Russian).

14. Belousov M.V., Mashkina O.S., Popov V.N. Cytogenetic response of Scots pine (*Pinus sylvestris* Linnaeus, 1753) (Pinaceae) to heavy metals // Comparative cytogenetics. 2012. No. 6 (1). P. 93–106. doi: 10.3897/CompCytogen.v6i1.2017

15. Lisovitskaya O.V., Terekhova V.A. Phytotest: main approaches, problems of laboratory method and actual solution // Ecological Soil Science Reports. 2010. V. 1. No. 13. P. 1–18 (in Russian).

16. The guidelines for determining the method of biotesting of toxicity of waters, bottom sediments, pollutants and drilling fluids. Moskva: REFIA, NIA – Nature, 2002. 132 p. (in Russian).

17. Kranner I., Colville L. Metals and seeds: Biochemical and molecular implications and their significance for seed germination // Environmental and Experimental Botany. 2011. No. 72. P. 93–105. doi: 10.1016/j.envexpbot.2010.05.005

18. Shafikova L.M. Chromosomal aberration of Scots pine growing under technogenic pollution conditions // Asia-Pacific Symposium on Forest Genetic Improvement. Beijing, China. 1994. P. 13.

19. Butorina A.K., Doroshev S.A. Using the cytogenetic characteristics of seedlings Scots pine seeds in environmental monitoring // Ecology of small and medium-sized cities: natural, socio-cultural and economic-political factors: Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Novomoskovsk, 2001. P. 120–121 (in Russian).

20. Pravdin L.F., Budaragin V.A., Krukliis M.V., Shershukova O.P. Methods of karyological study of conifers // Forest Science. 1972. No. 2. P. 67–75 (in Russian).

21. Dubinina L.G. Structural mutations in experiments with *Crepis capillaries* L. Moskva: Nauka, 1978. 188 p. (in Russian).

22. Makovleva O.A. Cytogenetics: methodical instructions for laboratory works. Buzuluk: Humanitarian and technological institute of Buzuluk (branch) OSU, 2013. 135 p. (in Russian).

23. Butorina A.K., Evstratov N. The first detected case of amitosis in pine // *Forest Genetics*. 1996. V. 37. No. 11. P. 137–139.
24. Alov I.A. Pathologies of mitosis // *Bulletin of AMS USSA*. 1965. No. 11. P. 58–66 (in Russian).
25. Butorina A.K., Kalaev V.N. Analysis of sensitivity of different criteria in cytogenetic monitoring // *Russian Journal of Ecology*. 2000. V. 31. No. 3. P. 186–189. doi: 10.1007/BF02762819
26. Kalaev V.N., Karpova S.S. Cytogenetic monitoring: assessment methods of the environmental pollution and of the condition of organism genetic apparatus. Voronezh: Voronezh State University, 2004. 80 p. (in Russian).
27. Butorina A.K., Kalaev V.N., Mironov A.N., Smorodina V.A., Mazurova I.E., Doroshev S.A., Sen'kevich E.V. Cytogenetic variation in populations of Scots pine // *Russian Journal of Ecology*. 2001. V. 32. No. 3. P. 198–202. doi: 10.1023/a:1011366328809
28. Lakin G.F. *Biometrics. Textbook for biologically specialized higher educational*. Moskva: Vysshaya shkola, 1990. 352 p. (in Russian).
29. Glantz S. *Medical and biological statistics*. Moskva: Praktika, 1999. 459 p. (in Russian).
30. Yancev A.V. *Selection of statistical criterions*. Simferopol: Tavricheskiy natsionalnyy universitet, 2012. 138 p. (in Russian).
31. Kriukov V.I. *Genetic monitoring of anthropogenic pollution of environment: Abstract of doctoral dissertation*. Tula, 2000. 48 p. (in Russian).