

МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 628.351

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СТОЧНЫХ ВОД ТЕКСТИЛЬНОГО ПРЕДПРИЯТИЯ НА МИКРООРГАНИЗМЫ БИОЛОГИЧЕСКИХ ОЧИСТНЫХ СООРУЖЕНИЙ

Е.В. Алексеев

Национальный исследовательский Московский государственный
строительный университет, Москва

Оценка токсичности сточных вод текстильного предприятия была выполнена с использованием мезосапробных организмов-индикаторов *Spirostomum ambiguum* и *Paramaecium caudatum*. Изучено влияние на организмы-индикаторы основных видов производственных сточных вод и электрохимических процессов очистки воды. Установлено, что очищенные промывочные воды после электрохимической обработки не угнетают процессы биологической очистки. Предварительно очищенные сильнозагрязненные сточные воды не могут быть очищены на биологических очистных сооружениях без дополнительной очистки или разбавления менее загрязненными водами.

Ключевые слова: *сточные воды, электрохимическая очистка, биологическая очистка, токсичность, организмы-индикаторы.*

Введение. Существующие условия приема сточных вод промышленных предприятий в централизованные системы водоотведения населенных мест и наблюдения за их составом предусматривают определение большого количества показателей, затрат времени и средств. Не исключая нормативных требований по правилам пользования коммунальными системами водоотведения, перспективным направлением представляются поиск и разработка экспресс-методов для предварительной оценки влияния на биологические очистные сооружения подключаемых потоков сточных вод. В качестве объекта исследований было выбрано текстильное предприятие с электрохимической системой предварительной очистки сточных вод.

Сточные воды текстильных предприятий отличаются высоким содержанием стойких химических веществ, таких, как синтетические красители, поверхностно-активные вещества (ПАВ), смолы,

производные нефтепродуктов и неорганические соли. Для предварительной очистки этих сточных вод перед сбросом в централизованную систему канализации применяют разные физико-химические процессы, в том числе электрохимические методы (Алексеев, 2007; Usha et al., 2014; Stergiopoulos et al., 2014).

Высокая эффективность электрохимических методов коагулирования и флотации обусловлена комплексом физических и химических воздействий на загрязняющие вещества (Ajjam, Ghanim, 2012; Butler, 2013). Одновременно с извлечением дисперсных примесей воды происходит глубокая деструкция растворенных веществ.

Однако процессы электрохимической очистки сточных вод могут привести к образованию промежуточных продуктов, обладающих высокой токсичностью или недоступных для биодеградации (Vilaseca et al., 2010; Алексеев, 2015). Поэтому формальное выполнение требований даже по большому числу показателей, установленных для приема сточных вод на централизованные биологические очистные сооружения, не отражает действительные свойства сточных вод по отношению к биоценозу таких очистных сооружений. Кроме этого, активный ил биологических очистных сооружений может ассимилировать стойкие органические и металлоорганические вещества и выносить их в поверхностные водоемы в составе допустимого выноса ила в форме взвешенных веществ. В том числе, этим обусловлены результаты исследований поверхностных вод природных водоемов (Данилов, 2014; Мейсурова, 2015).

Цель исследований – изучение возможности использования биотестирования для предварительной оценки условий приема промышленных сточных вод в централизованные системы водоотведения, как альтернативы определению большого числа химических и других показателей на примере основных потоков сточных вод текстильного предприятия. Это особенно важно при недостаточном разбавлении промышленных стоков бытовыми сточными водами до поступления на централизованную биологическую очистку.

Материал и методика. Объектом исследований были выбраны характерные виды сточных вод текстильного предприятия: промывочные воды после процессов отварки и крашения тканей, а также сильнозагрязнённые сточные воды от процессов отварки и крашения тканей. Предварительная очистка этих сточных вод осуществлялась на двухступенчатой электрохимической установке, включающей ступени электрохимического коагулирования и электрохимической флотации.

Исследование токсичности сточных вод проводилось до и после электрохимической очистки. Сравнение исходной воды с очищенной позволяет сделать вывод, насколько снижается токсичность воды, а также судить о том, появляются ли в процессе очистки продукты промежуточных реакций более токсичные, чем до очистки.

Для изучения влияния электрохимических процессов на микроорганизмы биологических очистных сооружений были применены экспрессные методы. Экспрессные методы определения токсичности комплекса химических соединений в воде более других подходят к исследованию проб воды после электрохимической обработки, так как позволяют исследовать большое количество проб с меньшими затратами времени. При этом могут улавливаться токсические вещества и регистрироваться их антиметаболическое действие при изменении состава сточных вод. Возможность одновременного исследования большого количества проб позволяет также проводить токсикологические наблюдения на разных стадиях электрохимической обработки воды.

Для токсикологических тестов необходимы организмы активного ила, которые быстро бы реагировали на изменение среды и давали возможность наблюдать за ними на клеточном уровне. Подвижность микроорганизмов позволила бы установить вредное действие неизвестных соединений на физиологию микроорганизмов. Поэтому наиболее подходящими тест-объектами оказываются простейшие и колумеллы активного ила биологических очистных сооружений.

Применение в качестве организмов-индикаторов *Spirostomum ambiguum* имеет ряд преимуществ, по сравнению с другими видами простейших. Во-первых, это очень крупные клетки до 2 мм в длину. Они легко подсчитываются в объеме воды даже под лупой и обладают малой скоростью движения. У *Spirostomum ambiguum* выше чувствительность к токсическим веществам, а размеры клеток позволяют точнее улавливать порог токсичности по морфологическим изменениям. Во-вторых, из *Spirostomum ambiguum* можно получить постоянные цитохимические препараты, на которых качественные изменения выявляются четче, чем на мелких инфузориях. Эффективность снятия токсических свойств с очищаемой электрохимическими методами воды зависит и от остатков ионных детергентов после электрофлотации. Для выявления токсичности ионных детергентов после очистки могут иметь большое значение и физиологические тесты на простейших, в частности на *Paramecium caudatum*. При этом может учитываться активность движения клеток.

Spirostomum ambiguum и *Paramecium caudatum* присутствуют в биоценозе активного ила, что дает возможность проверить

токсичность промежуточных и остаточных продуктов после электрохимической очистки в воде, направляемой на дальнейшую биологическую очистку при малом ее разведении бытовыми сточными водами.

Инфузории *Spirostomum ambiguum* культивировались на среде содержащей 20 мг/л KCl, 25 мг/л MgCl₂·6H₂O, 37,5 мг/л NaHCO₃ и 15 мг/л NaCl. Культивация проводилась в пробирках емкостью 15 мл. На каждые 10 мл среды добавлялось 15 мг сухих пивных дрожжей (Доронин, 1974).

Культура *Paramecium caudatum* ставилась по Цингеру (Иванов и др., 1981; Зоология беспозвоночных, 2008), когда питание инфузорий осуществлялось за счет молочнокислых бактерий. Культивация осуществлялась в пробирках емкостью 15 мл.

Исследуемая вода, прошедшая очистку на отдельных ступенях электрохимической установки, либо полную электрохимическую очистку, добавлялась в различных концентрациях в развивающуюся культуру того или другого вида инфузорий. Для развития поставленной культуры с различными разведениями исследуемой пробы воды в пробирку вносилось 25 *Spirostomum ambiguum*, либо 50 *Paramecium caudatum*. Исследования действия химических компонентов, содержащихся в пробе, на численность размножающихся особей, на их морфологию и цитохимию производились на 2-х, 4-х и 6-суточных культурах.

Для каждой пробы применялось пять разведений в культуральной среде, подобранных так, что первое разведение почти полностью содержало исследуемую воду, а последнее было разбавлено в 20 раз культуральной средой. Одновременно с пробирками, содержащими различные концентрации воды, прошедшей электрохимическую обработку, ставились контрольные чистые культуры. Через двое, четверо и шестеро суток из каждой пробирки отбиралась проба, в которой подсчитывалось количество клеток на 1 мл и из которой отбирались инфузории для морфологических и цитохимических исследований.

Морфологические и цитохимические исследования проводились на постоянных препаратах. Для морфологических исследований была применена окраска исследуемых инфузорий гемалауном Майера и квасцовым гематоксилином по Караччи (Ромейс, 1954; Золотарев и др., 2013). Цитохимическими реакциями выявляли ДНК и РНК, кальций и дегидрогеназы в клетках простейших.

ДНК выявлялась двумя способами. Первый из них – реакция Фельгена с использованием реактива Шиффа и продолжительностью

гидролиза в HCl при 60°C в течение 6 мин (Пирс, 1962). Второй – метод выявления нуклеиновых кислот с применением акридинового оранжевого. При изучении простейших с помощью люминисцентного микроскопа, ДНК выявляется по зеленому цвету, в то время как РНК – флуоресцирует красным цветом. Следовательно, последняя реакция являлась смешанной для нуклеиновых кислот и одновременно с ДНК выявлялась РНК (Пирс, 1962).

Для совместного выявления ДНК и РНК применялся также метод с применением метиленового зеленого – пиронина. В результате реакции получается голубовато-зеленый хроматин (ДНК и цитоплазма, содержащая РНК, окрашивается в красный цвет) (Лилли, 1969).

Во всех цитохимических методах инфузории переносились через промежуточные среды на предметном стекле для микропрепаратов, так как в результате фиксации покровным стеклом, замораживания и мгновенного перенесения в ацетоноспиртовую смесь они оказывались приклеенными к стеклу.

Для выявления кальция в клетках простейших использовался метод с применением ализаринового красного «S» (Пирс, 1962).

Для выявления сукцинатдегидрогеназы применялся тетразолиевый метод. Метод позволяет выявить места локализации в клетке сукцинатдегидрогеназы и ее активность по интенсивности окрашивания. Особенности реакции на сукцинатдегидрогеназу в данном случае была фиксация инфузорий в ацетоне непосредственно на замораживающем столике после срыва покровного стекла. Время фиксации 3 минуты. Для удержания ацетона в зоне фиксируемого объекта применялся круг, вырезанный из фильтровальной бумаги, в который по каплям добавлялся ацетон. Для реакции было взято 15 мг нитро-синего тетразолия, растворенного в 45 мл 0,1М фосфатного буфера (рН=7,6), в который было добавлено 45 мл 0,1М сукцината натрия. Реакция проводилась в термостате при 37°C, срок инкубирования составлял 10 минут. Места локализации сукцинатдегидрогеназы выявлялись по синему окрашиванию. Контрольные препараты окрашивались в отсутствие сукцината, при этом окраска не развивалась.

Для описания степени цитохимической окраски микропрепаратов применялись следующие сравнительные обозначения: (++++) – окраска соответствует норме, (+++) – видимое на глаз снижение окраски по сравнению с контролем, (++) – окраска снижена значительно, (+) – незначительная окраска структур на микропрепарате, (o) – отсутствие окраски на выявляемое вещество.

Результаты и обсуждение. Исследования промывочных сточных вод после процесса отварки ацетатного шелка проводились после первой и второй ступеней промывки с последующей

электрохимической очисткой той и другой воды. Показатели исследуемых вод приведены в табл. 1.

Исследование на токсичность промывочных вод после первой ступени промывки показало, что до электрохимической очистки выживаемость парameций в культурах возможна только при разведении исследуемой воды в 2,5 раза и более. В отличие от *Paramecium caudatum* нормальное развитие культур *Spirostomum ambiguum* наблюдалось только при десятикратном разведении исследуемой воды.

Помимо этого морфологические исследования клеток *S. ambiguum* показывают, что, несмотря на выживание *S. ambiguum* при десятикратном разведении проб, у них наблюдается укорочение клетки под влиянием вредных веществ, содержащихся в воде.

Таблица 1

Показатели исходных и очищенных промывочных сточных вод от процессов отварки ацетатного шелка

Показатели	Исходные сточные воды		Сточные воды после электрохимической очистки	
	I-ая ступень промывки	II-ая ступень промывки	I-ая ступень промывки	II-ая ступень промывки
pH	7,5	7,3	7,2	7,2
Общая жесткость, мг-экв/л	2,8	4,2	4	4,00
Взвешенные вещества, мг/л	50	18	10	3,60
БПК _п , мгО ₂ /л	200	60	32	9,60
ХПК, мгО/л	400	115	64	18,40
Неионогенные ПАВ, мг/л	32	8	4,8	1,28
Анионные ПАВ, мг/л	42	10	5,88	1,40

Цитологические препараты при окраске гематоксилином показывают нарушения в осморегуляторном аппарате и некоторое увеличение, по сравнению с нормой, сократительной вакуоли.

Цитохимические исследования *P. caudatum* не позволяют выявить при разбавлении пробы в 2,5 раза отклонений от нормы, в то время как у *S. ambiguum* даже при 20-кратном разбавлении пробы отмечается снижение содержания кальция (+++) и сукцинатдегидрогеназы (+++).

Исследование той же воды, прошедшей очистку на электрохимической установке, показывает, что выживаемость культур *P. caudatum* происходит уже при разведении 1:1, а *S. ambiguum* при разведении 1:2,5.

Морфологические исследования *P. caudatum*, взятых из культур с предельными разведениями, показывают, что они не несут отклонений, те же исследования на *S. ambiguum* указывают на некоторое

уменьшение клеток по размерам без структурных изменений органелл. Цитохимическими исследованиями не отмечено различий контроля и опыта.

Промывочные воды после второй ступени оказались менее токсичными. Так, при всех разведениях культуры *P. caudatum* развивались нормально. Цитохимические сдвиги отмечены у *P. caudatum* только при разведении 1мл культуральной среды в 9 мл исследуемой воды. У *P. caudatum* при этом отмечено снижение кальция в цитоплазме (+++), снижена активность сукцинатдегидрогеназы (++) и наблюдается менее интенсивная окраска на РНК (+++).

Исследование проб воды с помощью *S. ambiguum* показывает, что уже разведение пробы в 2,5 раза полностью снимает токсикогенный эффект, клетки *S. ambiguum* по размерам равны контрольным и в пик не найдено цитохимических отклонений.

Двухступенчатая электрохимическая очистка полностью снимает токсичность для исследуемых тест-организмов. Как *P. caudatum*, так и *S. ambiguum* хорошо развиваются в культурах при всех разведениях исследованных проб и не несут морфологических и цитохимических отклонений.

Таким образом, электрохимическая очистка сточных вод после первой ступени промывки ацетатного шелка вод от процесса отварки снижает токсичность воды примерно в 10 раз по *S. ambiguum* - пробе. Электрохимическая очистка вод после второй ступени промывки полностью снимает токсичность для простейших, обитающих в активном иле, использованных в качестве тест-объектов.

Таблица 2

Показатели исходных и очищенных промывных сточных вод от процессов крашения и печати дисперсными красителями

Показатели	Исходная вода	После электрохимической очистки	
		I-ая ступень очистки	II-ая ступень очистки
рН	7	7,4	7,4
Интенсивность окраски по разбавлению	40	8,0	4,0
Общая жесткость, мг-экв/л	2,4	2,4	2,4
Взвешенные вещества, мг/л	55	8,3	1,1
БПК _п , мгО ₂ /л	120	21,6	16,8
ХПК, мгО/л	250	50,0	35,0
Неионогенные ПАВ, мг/л	10	1,5	1,6
Анионные ПАВ, мг/л	16	2,6	2,2

Исследования промывочных вод после крашения и печати

дисперсными красителями проводились на исходной воде и прошедшей две ступени электрохимической очистки, включающей процессы коагулирования и флотации. Показатели исследуемых вод по ступеням очистки приведены в табл. 2.

Предварительные исследования показали, что при разведениях, включая 1:20, как *P. caudatum*, так и *S. ambiguum* во всех пробах не развивались.

Исследование на токсичность воды после очистки на первой ступени электрохимической очистки показало, что *P. caudatum* выживают при разведении 1:10. Развитие культуры идет при этом нормально с наличием всех фаз кривой роста. Цитохимические отклонения у *P. caudatum* отмечаются при разведении 1:2,5. Снижено в клетках количество кальция (+++), почти не выявляется сукцинатдегидрогеназа (+), значительно понижено содержание РНК (++). По всем этим причинам пороговое разведение, при котором нет резких цитологических изменений, устанавливается 1:10.

S. ambiguum показывают, что разведение 1:10 для них даже несколько маловато, так как клетки несут морфологические и цитохимические отклонения. Наблюдается укороченность клеток и нарушение регуляции вакуолярного аппарата, приводящее к увеличению сократительной вакуоли примерно в 2 раза. Цитохимические отклонения, по сравнению с нормой, заключаются в уменьшении окраски на РНК (+++), снижении количества кальция (+++) и дегидрогеназы (++).

На второй ступени электрохимической очистки происходит дальнейшее снижение токсичности обрабатываемой воды. *P. caudatum* хорошо развиваются при разведении 1:1, хотя выживаемость их отмечена и при первом разведении 1:10. Однако при этом наблюдается подавление активности сукцинатдегидрогеназы (o), слабое окрашивание на РНК (+) и на Са (++). Поэтому, учитывая цитохимический показатель, следует считать оптимальным разведение 1:1.

Инфузории *S. ambiguum*, в культуры которых добавлена вода после второй ступени очистки, развиваются хорошо только при 10-кратном разведении исследуемой воды. В этом случае они не несут ни морфологических, ни цитохимических отклонений.

Таким образом, как и в предыдущих случаях, исследования показывают, что в процессе электрохимической очистки сточных вод приведенного состава не отмечается присутствие промежуточных продуктов реакции токсичных для мезосапробных организмов. опыты этой серии показывают также, что снижение токсичности сточной воды происходит на каждой ступени очистки. Очищенная вода без дополнительного разбавления может подаваться на сооружения

биологической очистки, включая аэротенки, где происходит значительное разведение очищаемыми сточными водами.

Исследования сильнозагрязнённых сточных вод, содержащих красители, ПАВ и другие препараты проводились на смеси концентрированных стоков от процессов отварки и крашения тканей из синтетических волокон текстильного предприятия. Показатели исследуемых вод до поступления на двухступенчатую электрохимическую очистку и прошедших локальную очистку приведены в табл. 3.

Токсикологическое изучение сильнозагрязнённых сточных вод показало, что при всех разбавлениях неочищенных вод развития таких инфузорий, как *P. caudatum*, так и *S. ambiguum* в культурах не происходит.

Таблица 3

Показатели сильнозагрязнённых сточных вод
красильно-отделочного производства текстильного предприятия

Показатели	До очистки	После двухступенчатой электрохимической очистки
рН	7,2	7,4
Интенсивность окраски по разбавлению	1500	75,0
Общая жесткость, мг-экв/л	2,3	2,2
Взвешенные вещества, мг/л	1100	0,5
БПК _п , мгО ₂ /л	1700	161,0
ХПК, мгО/л	4500	468,0
Неионогенные ПАВ, мг/л	80	5,6
Анионные ПАВ, мг/л	150	42

После очистки в режиме двухступенчатой электрохимической обработки токсичность воды значительно снижается. Для *P. caudatum* разведение 1:10 оказывается минимально допустимым, культура хорошо развивается, отдельные клетки не несут морфологических и цитохимических отклонений.

S. ambiguum выживают также при разведении 1:10, но развитие культуры подавлено. Количество клеток незначительно. *S. ambiguum* несут морфологические отклонения, заключающиеся в нарушении работы осморегуляторного аппарата, сократительная вакуоль сильно раздута, клетки укорочены в 2 раза и булавовидные. Цитохимический анализ показывает отрицательную окраску на сукцинатдегидрогеназу (о), в цитоплазме резко снижено количество Са (++) и РНК (++) . Это позволяет заключить, что для концентрированных вод, прошедших электрохимическую очистку, разведение 1:20 более приемлемо.

Заключение. Показано, что в качестве организмов-индикаторов для изучения токсичности сточных вод от различных технологических процессов красильно-отделочных производств и оценки необходимой степени очистки могут применяться *P. caudatum* и *S. ambiguum*.

Последовательное применение методов электрокоагуляции и электрофлотации обеспечивает достаточную эффективность очистки сточных вод текстильных предприятий. Очищенные промывочные воды от основных технологических процессов могут быть отведены в централизованную систему водоотведения. Электрохимическая очистка сильнозагрязнённых сточных вод снижает их токсическое влияние на организмы-индикаторы до уровня неочищенных промывных вод. Биологическая очистка этой категории вод возможна после дополнительной очистки или соответствующего разбавления сточными водами от жилой застройки.

Использование мезосапробных организмов в качестве тест-объектов позволяет существенно быстрее, надежнее и проще получать объективные сведения о возможности подключения к централизованным системам водоотведения потоков сточных вод, а также осуществлять текущий контроль за их состоянием.

Список литературы

- Алексеев Е.В.* 2007. Физико-химическая очистка сточных вод. М.: Изд-во АСВ. 248 с.
- Алексеев Е.В.* 2015. Экологические аспекты очистки сточных вод, содержащих биологически стойкие органические вещества // Вода и экология: проблемы и решения. № 4. С. 68-79.
- Данилов И.П.* 2014. Содержание некоторых химических элементов в природных водах озер Тверской области // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. Вып. 25. № 3. С. 90-97.
- Доронин Ю.К.* 1974. Привыкание у одноклеточных организмов // Цитология. Т. 16. № 2. С. 224-232.
- Золотарев А.Г., Пименов Е.В., Девришов Д.А.* 2013. Световая микроскопия микроорганизмов. Практическое руководство. М.: Агровет. 288 с.
- Зоология беспозвоночных* в двух томах, 2008. Т. 1: От простейших до моллюсков и артропод / под ред. В. Вестхайде и Р. Ригера. М.: Т-во научных изданий КМК.
- Лилли Р.* 1969. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. М.: Мир. С.137-146.
- Мейсурова А.Ф.* 2015. Анализ содержания металлов в пробах воды из р. Молога (Тверская обл.) // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. № 4. С. 205-212.
- Иванов А.В., Полянский Ю.И., Стрелков А.А.* 1981. Большой практикум по зоологии беспозвоночных. Простейшие, губки, кишечнополостные, гребневики, плоские черви, немуртины, круглые черви. 3-е изд., перераб.

- и доп. М.: Высшая школа. 504 с.
- Пирс Э. 1962. Гистохимия. М.: Иностранная литература. С. 844-846.
- Ромейс Б. 1954. Микроскопическая техника. М.: Иностранная литература. С. 224-228.
- Ajjam S.K., Ghanim A.N. 2012. Electrocoagulation of textile wastewater with Fe sacrificial anode // The Iraqi Journal For Mechanical And Material Engineering. V. 12. № 2. P. 192-201.
- Butler E.B. 2013. Electrochemical/electroflotation process for dye wastewater treatment. Cleveland State University. 463 p.
- Stergiopoulos D., Dermentzis K., Giannakoudakis P., Sotiropoulos S. 2014. Electrochemical Degradation and removal of indigo carmine textile dye from wastewater // Global NEST Journal. № 16. P. 499-506.
- Vilaseca M., Guti'érrez M.C., L'opez-Grimau V., L'opez-Mesas M., Crespi M. 2010. Biological treatment of a textile effluent after electrochemical oxidation of reactive dyes // Water Environment Research. V. 82. № 2. P. 176-182.
- Usha N. M., Rekha H.B., Mahaveer D. 2014. Contribution of Electrochemical Treatment in Treating Textile Dye Wastewater / World Academy of Science, Engineering and Technology // International Journal of Environmental, Chemical, Ecological, Geological and Geophysical Engineering. V. 8. № 2. P. 130-132.

INFLUENCE OF WASTEWATERS OF TEXTILE FACTORY TO THE MICROORGANISMS AT BIOLOGICAL WASTEWATER TREATMENT FACILITIES

E.V. Alekseev

National Research Moscow State University of Civil Engineering, Moscow

We used mesosaprobic organisms-indicators *Spirostomum ambiguum* and *Paramaecium caudatum* to assess the toxicity of wastewaters of the textile factory. To do so we studied the influence of main types of industrial wastewaters and electrochemical processes of water treatment on the chosen species. Electrochemically purified rinse waters do not inhibit the microorganisms. The highly concentrated wastewaters can not be purified by the microorganisms alone without the preliminary purification by other methods.

Keywords: *wastewaters, electrochemical treatment, biological treatment, toxicity, organisms - indicators.*

Об авторе

АЛЕКСЕЕВ Евгений Валерьевич – доктор технических наук, профессор кафедры «Водоснабжение и водоотведение», ФГБОУ ВО «Национальный исследовательский Московский государственный строительный университет». 129337, Москва, Ярославское ш., д. 26, e-mail: AlekseevE@mgsu.ru.

Алексеев Е.В. Исследование влияния сточных вод текстильного предприятия на микроорганизмы биологических очистных сооружений / Е.В. Алексеев // Вестн. ТвГУ. Сер.: Биология и экология. 2016. № 4. С. 267-268.