

Состояние цианобактерии *Nostoc linckia* в условиях загрязнения среды никелем и нефтепродуктами и перспективы её использования в качестве биосорбента

© 2011. А. И. Фокина¹, к.б.н., ст. преподаватель, С. С. Злобин¹, аспирант, Г. И. Березин¹, аспирант, Ю. Н. Зыкова², аспирант, С. Ю. Огородникова^{1,3}, к.б.н., с.н.с., Л. И. Домрачева^{2,3}, д.б.н., профессор, А. Л. Ковина², к.б.н., доцент, Е. А. Горностаева⁴, студент,

¹Вятский государственный гуманитарный университет,

²Вятская сельскохозяйственная академия,

³Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН,

⁴Вятский государственный университет,

e-mail: ecolab2@gmail.com

Изучены изменения в популяционной плотности и жизнеспособности цианобактерии *Nostoc linckia* под влиянием никеля и нефтепродуктов. Показано, что, несмотря на значительную гибель клеток в условиях загрязнения среды, исследуемый штамм ностока обладает высокой адсорбционной активностью к изучаемым поллютантам.

Changes in population density and viability of the cyanobacteria *Nostoc linckia* under the influence of nickel and oil products are investigated. It is shown that in spite of lots of cells dying in polluted environment *Nostoc* strain under investigation is characterized by a high adsorption activity to the investigated pollutants.

Ключевые слова: цианобактерии, жизнеспособность клеток, токсиканты, биосорбция

Key words: cyanobacteria, cell viability, toxicants, biosorption

Способность отдельных групп микроорганизмов к связыванию, деструкции и детоксикации различных поллютантов является теоретической основой использования их в биоремедиационных целях и, в частности, в качестве биосорбентов. Известно также, что одни из микроорганизмов обладают широким спектром действия, другие проявляют специфичность к определённому загрязнителю.

Антропогенная нагрузка на окружающую среду приводит к активной циркуляции в водных и почвенных экосистемах широкого спектра токсикантов минеральной и органической природы. Поэтому для эффективных биотехнологических методов очистки экосистем предполагается использование микроорганизмов с высокой устойчивостью к воздействию токсикантов и высокой скоростью наращивания биомассы. Перспективными объектами в этом плане считают дрожжи [1, 2], плесневые грибы [3 – 7], псевдомонады [8], актиномицеты и актинобактерии [9, 10], водоросли [11 – 13], у которых эффективность сорбции достигает 80% и более. Большим биоремедиационным потенциалом обладают и фотосинтезирующие прокариоты – цианобактерии: см обзоры [14, 15].

Цель данной работы – изучить изменения состояния популяции цианобактерии (ЦБ) *Nostoc linckia* под влиянием никеля (Ni) и нефтепродуктов и оценить биосорбционные возможности этого организма.

Объекты и методы

Объектом исследования была ЦБ *Nostoc linckia* (Roth.) Born et Flah., шт. 271, выделенная А. Л. Ковиной из дерново-подзолистой почвы в окрестностях г. Кирова и поддерживаемая в альгологически чистой культуре музея фототрофных микроорганизмов на кафедре ботаники, физиологии растений и микробиологии им. Э. А. Штиной Вятской ГСХА.

В качестве поллютантов использованы никель (Ni) в виде соли ($\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) и нефтепродукты (НП) – смазочная охлаждающая жидкость «Алтек» (этиленгликоль, пропиленгликоль, бура техническая, 3-этанол-амин) в концентрациях 2 и 20 мг/л, а также их смесь. Выбор данных поллютантов обусловлен тем, что они являются одними из основных компонентов сточных вод машиностроительных предприятий, где есть гальванические цеха. В концентрации 20 мг/л они

обычно поступают для внутренней очистки на предприятии.

Культуру ЦБ в контрольном и опытном вариантах выращивали в жидкой среде Громова № 6 без азота в течение двух недель в люминесценте при постоянной температуре (+25 °С) и круглосуточном освещении (3000 лк). Титр ЦБ при постановке опыта составлял $7 \cdot 10^6$ клеток/мл. Подсчёт численности клеток ностока проводили в камере Горяева, а учёт численности бактерий-спутников – путём посева соответствующих разведений культуральной жидкости на среду МПА в 4-кратной повторности [16]. Жизнеспособность клеток ЦБ определяли по активности дегидрогеназы тетразолюно-топографическим методом [17].

Интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) в культуре *N. linckia* анализировали по цветной реакции тиобарбитуровой кислоты с малоновым диальдегидом (МДА), образующимся в процессе ПОЛ. Данная методика [18] была ранее модифицирована нами для ЦБ [19].

Содержание хлорофилла а в клетках ЦБ определяли спектрофотометрически. За основу была взята методика [20], которая была доработана нами для ЦБ. Для анализа отбирали 1 мл суспензии ЦБ, добавляли 2 мл ацетона, гомогенизировали. Из гомогената экстракт хлорофилла отделяли центрифугированием. Содержание хлорофилла а рассчитывали по формулам, приведённым в монохроматической методике с подкислением.

Остаточное содержание Ni определяли методами инверсионного вольтамперометрического анализа (ИВА) и атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС), а также нефтепродуктов (НП) методом ИВА в культуральной жидкости проведено на базе научно-исследовательской экоаналитической лаборатории ВятГГУ. Пробоподготовку гомогенизированной биомассы ностока осуществляли аналогично сточным водам для инверсионного анализа и очищенным сточным водам для определения нефтепродуктов.

Сущность метода ИВА Ni основана на адсорбционном концентрировании диметилглиоксиматных комплексов на поверхности рабочего электрода. Аналитическим сигналом является появление пика катодного восстановления адсорбированного комплекса, положение которого характеризует данное вещество (в зависимости от условий для никеля может находиться при потенциале 1000 ± 200 мВ), а его высота пропорциональна концентрации никеля в растворе [21]. Измерения проводи-

ли на вольтамперометрическом анализаторе «Экотест-ВА» с датчиком «Модуль-ЕМ 04».

Параллельно проводили измерения концентрации Ni методом ААС на спектрометре «Спектр-5». В атомно-эмиссионной спектроскопии металлические атомы возбуждаются за счёт энергии пламени. При возвращении в основное состояние они излучают свет с характеристической длиной волны. Это излучение выделяется монохроматором, и впоследствии измеряется его интенсивность, которая пропорциональна концентрации измеряемого элемента. В атомно-абсорбционном анализе измеряют поглощение, определяемое отношением интенсивностей излучения, прошедшего через пламя без пробы и после распыления в него исследуемого раствора [22].

Определение содержания нефтепродуктов основано на выделении эмульгированных и растворённых нефтяных компонентов из почвы экстракцией четырёххлористым углеродом, хроматографическом отделении углеводородов от соединений других классов в колонке с оксидом алюминия и количественном их определении по интенсивности поглощения C-H связей метиленовых (-CH₂-) и метильных (CH₃-) групп в инфракрасной области спектра (2930 ± 70 см⁻¹). Данный метод позволяет делать эффективную оценку нефтяного загрязнения, осуществлять непосредственный мониторинг загрязнений нефтяными углеводородами без потери каких-либо фракций. Измерение аналитического сигнала проводили на приборе «КН-2М» [23].

Результаты и обсуждение

Исследования показали, что *Nostoc linckia* по-разному реагирует на действие испытываемых поллютантов. Так, внесение Ni раздельно и в сочетании с НП в питательную среду приводит к существенному замедлению роста ЦБ по сравнению с контролем. Численность клеток в этих вариантах составляет всего от 3,5 до 8,3% по сравнению с контролем. Однако при внесении НП титр ЦБ снижается не столь значительно и составляет 56,8 и 82,4% в зависимости от концентрации НП (табл. 1).

За время экспозиции численность клеток в популяции ЦБ в контрольном варианте выросла более чем в 35 раз, под влиянием НП (2 и 20 мг/л) – в 20 и 29 раз соответственно, тогда как в присутствии Ni (2–5 варианты) численность клеток увеличивалась очень

Таблица 1

Влияние поллютантов на интенсивность роста культуры *Nostoc linckia*

Вариант, доза	Титр клеток/мл · 10 ⁶	Снижение титра, % к контролю
1. Контроль	250,0±0,44	
2. Ni, 2 мг/л	8,8±1,40	3,5
3. Ni, 20 мг/л	18,8±4,0	7,5
4. (Ni+НП), 2 мг/л	10,0±2,5	4,0
5. (Ni+НП), 20 мг/л	20,8±2,52	8,3
6. НП, 2 мг/л	141,9±18,4	56,8
7. НП, 20 мг/л	206,0±32,4	82,4

Таблица 2

Влияние поллютантов на жизнеспособность клеток *Nostoc linckia* (%)

Вариант, доза	Доля клеток	
	Живые	Мёртвые
1. Контроль	96,48±4,32	3,52
2. Ni, 2 мг/л	83,53±15,4	16,47
3. Ni, 20 мг/л	2,94	97,06±2,72
4. (Ni+НП), 2 мг/л	88,21±5,2	11,79
5. (Ni+НП), 20 мг/л	2,27	97,73±1,96
6. НП, 2 мг/л	89,6±8,6	10,4
7. НП, 20 мг/л	89,67±7,8	10,33

незначительно – от 1,2 до 2,9 раза по сравнению с первоначальным титром.

Таким образом, выявлен сильнейший ингибирующий эффект Ni на интенсивность размножения испытываемой ЦБ.

Более того, определение жизнеспособности клеток тетразольно-топографическим методом показало, что высокие концентрации Ni при сохранении внешней структуры клеток приводят тем не менее к почти полной гибели популяции ЦБ (табл. 2, варианты 3 и 5).

Пересчёт титра клеток с учётом их жизнеспособности убедительно показывает токсичность Ni для *N. linckia*. С увеличением концентрации токсиканта возрастает и ингибирующий эффект (табл. 3).

Специфика и природных, и альгологических чистых штаммов ЦБ состоит в том, что они представляют собой микрокосмы, обильно заселённые бактериями-спутниками, ко-

торые играют существенную роль в адаптации ЦБ к внешним условиям [24, 25]. Определение численности бактерий-спутников в культуральной жидкости *N. linckia* показало, что по сравнению с контролем этот показатель выше только в одном варианте – Ni, 20 мг/л (табл. 4). При этом интоксикация питательной среды разными поллютантами характеризуется сходной реакцией гетеротрофных бактерий: чем выше доза токсиканта, тем больше количество бактерий. Данный факт можно объяснить по-разному. Одно из объяснений сводится к тому, что с увеличением концентрации токсиканта повышается процентное содержание мёртвых клеток *N. linckia* (табл. 2) и это создает благоприятную среду для размножения бактерий-спутников. Возможно и другое объяснение: в процессе возрастания концентрации токсикантов интенсифицируется отбор бактерий, устойчивых к применяемым соеди-

Таблица 3

Титр клеток *Nostoc linckia* с учётом их жизнеспособности

Вариант, доза	Численность клеток · 10 ⁶ в 1 мл
1. Контроль	241,2
2. Ni, 2 мг/л	7,35
3. Ni, 20 мг/л	0,55
4. (Ni+НП), 2 мг/л	8,82
5. (Ni+НП), 20 мг/л	0,47
6. НП, 2 мг/л	127,14
7. НП, 20 мг/л	184,72

Таблица 4

Влияние поллютантов на численность бактерий-спутников в культуре ЦБ *N. linckia*

Вариант опыта	Доза токсикантов, мг/л	Численность бактерий-спутников, 10^3 КОЕ/мл
1. Контроль	0	184±36
2. Ni	2	21±4,5
3. Ni	20	373±25
4. НП	2	15±3,0
5. НП	20	47±7,7
6. Ni+НП	2	41±7,1
7. Ni+НП	20	150±36

нениям. В частности, среди свободно живущих бактерий выявлены Ni-резистентные штаммы, механизм устойчивости которых определяется защитным действием магниевого насоса бактериальных клеток [26] или способностью продуцировать сидерофоры в присутствии Ni [27].

Вычисленные коэффициенты корреляции показывают, что в вариантах с отдельным внесением Ni и нефтепродуктов зависимость между численностью бактерий и дозами токсикантов очень высокая (рис. 1, 2).

Поведение гетеротрофных бактерий в среде с внесением Ni и НП одновременно показывает, что при малой дозе величина коэффициента корреляции примерно такая же, как в случае с отдельным внесением токсикантов (рис. 1–3). Однако если увеличение концентрации Ni и нефтепродуктов приводит к дальнейшему возрастанию коэффициента корреляции (до 0,9) и, таким образом, наблюдается классическая реакция «доза–эффект», то при внесении смеси Ni+НП эта реакция сильно сглажена.

Таким образом, испытываемые поллютанты оказывают сильное действие как на культуру ЦБ *N. linckia*, так и на состояние популяций бактерий-спутников. Но действие это различно: применяемые токсиканты в любой концентрации вызывают угнетение развития фототрофной бактерии и увеличение процентного содержания в её популяции мёртвых клеток, что особенно чётко проявляется во всех вариантах с внесением Ni. В то же время с ингибированием развития *N. linckia* происходит активизация размножения бактерий-спутников.

Сопоставление результатов количественного учёта численности клеток ЦБ и бактерий-спутников, а также определения жизнеспособности клеток ностока с результатами синхронного химического анализа (ПОЛ, содержание хлорофилла, поглощение Ni и НП) показывает, что происходят существенные измене-



Рис. 1. Зависимость численности бактерий-спутников *N. linckia* от дозы внесения никеля

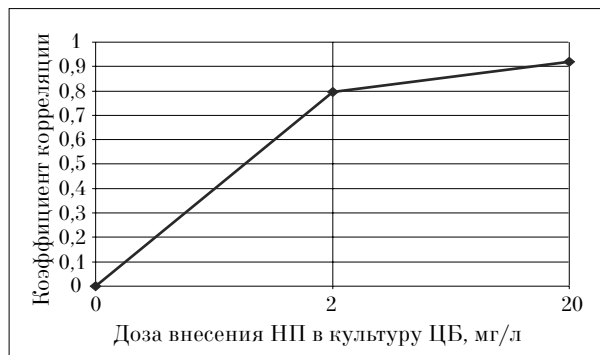


Рис. 2. Зависимость численности бактерий-спутников *N. linckia* от дозы внесения нефтепродуктов (НП)

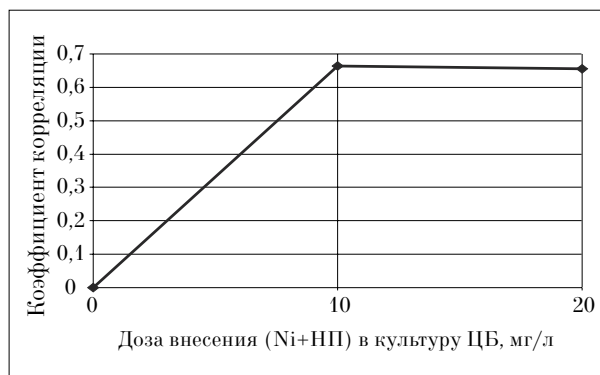


Рис. 3. Зависимость численности бактерий-спутников *N. linckia* от дозы внесения никеля и нефтепродуктов

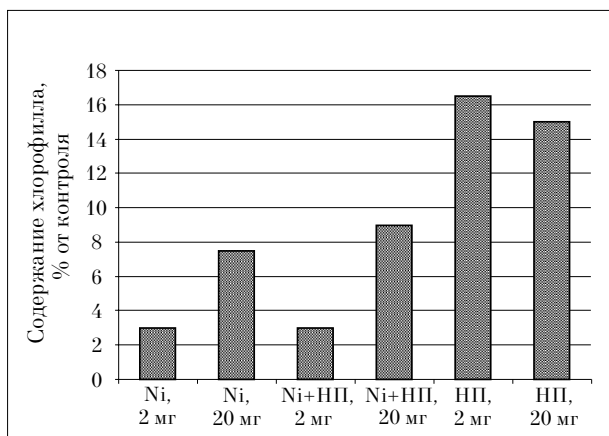


Рис. 4. Содержание хлорофилла а в культуре *N. linckia* при внесении токсикантов, % от контроля

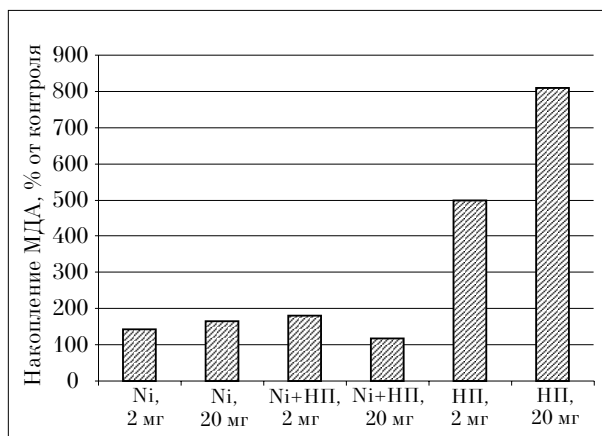


Рис. 5. Накопление МДА в культуре *N. linckia* под влиянием никеля и нефтепродуктов % от контроля

ния в протекании физиологических процессов у *N. linckia*. Так, содержание хлорофилла а по сравнению с контролем снижается во всех вариантах (рис. 4). Наиболее значительное снижение отмечается в случаях внесения в питательную среду Ni в любых концентрациях и Ni в сочетании с НП.

Сравнение результатов по снижению титра клеток *N. linckia* и содержания в них хлорофилла в присутствии Ni показывает их практическую тождественность (табл. 5). Вероятно, разрушение фотосинтезирующего пигмента под действием Ni становится одной из причин гибели популяции ЦБ.

Изучение действия стрессовых факторов на антиоксидантные системы эукариотных водорослей показывает, что могут наблюдаться следующие изменения в структуре и функционировании клетки: вздутие тилакоидов, аккумуляция липидных глобул, увеличение содержания веществ, реагирующих с тибарбитуровой кислотой и H₂O₂, возрастание содержания глутатиона [28].

Установлено, что под влиянием никеля и нефтепродуктов происходит возрастание интенсивности окислительных процессов и накопление продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида в культуре *N. linckia* (рис. 5). В большей степени возрастание

интенсивности ПОЛ вызывают нефтепродукты, по-видимому, это связано с особенностями химического состава нефтепродуктов и направленности процессов их биодеструкции. Так, входящие в состав НП углеводороды, этиленгликоль и пропиленгликоль подвергаются биотрансформации, которая прежде всего идет по пути окисления. Нередко в ходе окислительной деструкции токсикантов образуются активные промежуточные продукты, которые инициируют образование активных форм кислорода (супероксидный радикал и др.), вызывающих окислительное повреждение биологических молекул, в том числе и липидов [29].

Ранее нами было показано, что поллютанты разной химической природы (хлорид натрия, ацетат свинца, сульфат меди, третлан бензин) вызывают активацию процессов ПОЛ в культуре *N. linckia* [30]. В большей степени возрастание интенсивности ПОЛ вызывал сульфат меди.

Определение содержания Ni и НП показало, что за 14 суток экспозиции ЦБ *N. linckia* в загрязнённой среде содержание токсикантов в культуральной жидкости существенно изменилось (табл. 6).

В анализе содержания Ni впервые сравнивали два метода его обнаружения: ИВА и ААС. Выявлено, что оба метода дают сопоставимые

Таблица 5
Снижение численности клеток *N. linckia* и содержания в них хлорофилла а под действием никеля (% к контролю)

Вариант	Титр клеток	Содержание хлорофилла а
Ni, 2 мг/л	3,5	3,0
Ni, 20 мг/л	7,5	7,5
(Ni+НП), 2 мг/л	4,0	3,0
(Ni+НП), 20 мг/л	8,3	9,0

Таблица 6

Остаточное содержание никеля и нефтепродуктов в культуральной жидкости *N. linckia*

Вариант, доза (мг/л)	Методы определения		
	НП, ИВА*, мг/л	Ni, ИВА, мг/л	Ni, ААС*, мг/л
Контроль, 0	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
Ni, 2	Не определяли	1,32 ± 0,60	1,307±0,366
НП, 2	0,04 ± 0,01	Не определяли	Не определяли
Ni, 2 + НП, 2	0,14 ± 0,04	1,38 ± 0,62	1,175±0,329
Ni, 20	Не определяли	11,75 ± 2,29	8,225±2,333
НП, 20	0,15 ± 0,04	Не определяли	Не определяли
Ni, 20 + НП, 20	0,88 ± 0,22	11,13 ± 2,67	9,150±2,521

Примечание: *ИВА – инверсионный вольтамперометрический анализ; ** ААС – атомно-абсорбционный способ.

Таблица 7

Уровень извлечения никеля из культуральной жидкости биомассой *N. linckia* (%)

Вариант, доза	Метод ИВА	Метод ААС
Ni, 2 мг/л	34,0	34,65
Ni, 20 мг/л	41,25	58,87
(Ni+НП), 2 мг/л	31,0	41,25
(Ni+НП), 20 мг/л	44,35	54,25

результаты, хотя метод ААС даёт повышенные показатели поглощения. Некоторые расхождения в результатах можно объяснить тем, что для инверсионного определения приемлемы низкие концентрации, поэтому перед анализом исследуемые растворы были разбавлены в 250 раз. При разбавлении неизбежна ошибка анализа, чем и объясняется некоторая разница результатов анализа двумя методами [34].

Тем не менее по полученным результатам чётко прослеживается определённая тенденция в поведении ЦБ на поглощение Ni из культуральной среды – чем выше первоначальная концентрация токсиканта, тем полнее его извлечение из среды биомассой ЦБ (табл. 6).

Таким образом, уровень биосорбции токсикантов из жидкой среды ЦБ *N. linckia* может достигать почти 60%. Учитывая, что культура ЦБ первоначально развивалась в загрязнённой среде, реально предположить, что уровень биосорбции может быть существенно выше, если биомассу ЦБ, выращенную без добавления токсикантов, использовать как фильтр, пропуская через неё загрязнённую жидкость.

Выводы

1. При культивировании ЦБ *N. linckia* в среде с добавлением никеля и нефтепродуктов происходят существенные изменения в количественных параметрах популяции, её жизнеспособности, содержании хлорофилла а и величины ПОЛ.

2. Из двух испытанных токсикантов никель обладает более репрессивным действием по сравнению с нефтепродуктами.

3. Наличие токсикантов не угнетает развитие бактерий-спутников ностока.

4. Благодаря высокому уровню сорбционной активности *N. linckia* по отношению к никелю и нефтепродуктам данный штамм ЦБ можно рассматривать как перспективный объект для разработки методов цианобактериальной очистки жидкостей от токсикантов.

Литература

- Vadkertiova R., Slavikova E. Metal tolerance of yeast isolated from water, soil and plant environments // J. Basic Microbiol. 2006. V. 46. № 2. P. 145–152.
- Лозовая О.Г., Касаткина Т.П., Подгорский В.С. Поиск сорбентов тяжёлых металлов среди дрожжей различных таксономических групп // Микробиол. ж. 2004. Т. 66. № 2. С. 92–101.
- Ровбель Н.М., Гончаров И.А., Бабицкая В.Г., Соколова Т.В., Томсон А.Э. Биосорбция ионов тяжёлых металлов грибами *Alternaria alternate* и *Aspergillus carbonarius* // Микробиология и биотехнология на рубеже 21 столетия: Матер. международной конф. Минск. 2000. С. 78–79.
- Slaba M., Dlugonski J. Selective recovery of Zn²⁺ from waste slag from a metal-processing plant by the microscopic fungus *Verticillium marquandii* // Biotechnol. Lett. 2000. V. 22. № 21. P. 1699–1704.
- Massaccesi G., Romero M.C., Bucsinzky A.M. Cadmium removal capacities of filamentous soil fungi isolated

- from industrially polluted sediments, in La Plata // Word J. Microbiol. And Biotechnol. 2002. V. 18. № 9. P. 817–820.
6. Куимова Н.Г., Жилин О.В., Павлова Л.М. Аккумуляция и биоминерализация благородных металлов микромицетами // Микол. и фитопатол. 2008. Т. 42, № 4. С. 342–353.
7. Vahabi K., Karimi S., Khodadadi S., Ahmadi H. Arsenic bioremediation by *Penicillium canescens* // Plant Pathol. 2008. V. 90. № 3. С. 603–604.
8. Andreoni V., Colombo M., Colombo A., Vecchio A., Finoli C. Cadmium and zinc removal by growing cells of *Pseudomonas putida* strain B14 isolated from a metal-impacted soil // Ann. Microbiol. 2003. V. 53. № 2. P. 135–148.
9. Ledeau T., Bagot D., Jezequel K., Fabre B. Cadmium biosorption by free and immobilized microorganisms cultivated in a liquid soil extract medium: Effects of Cd, pH and techniques of culture // Sci. Total Environ. 2002. 291. № 1-3. P. 73–83.
10. Костина Л.В., Куюкина М.С., Ившина И.Б. Изучение устойчивости актинобактерий к солям ванадия // Вестн. Перм. ун-та. 2004. № 2. С. 114–117.
11. Franklin N.M., Stauber J.L., Apte S.C., Lim R.P. Effect of initial cell density on the bioavailability and toxicity of copper in microalgal bioassays // Environ. Toxicol. and Chem. 2002. 21. № 4. P. 742–751.
12. Raize O., Argaman Y., Yannai S. Mechanisms of biosorption of different heavy metals by brown marine macroalgae // Biotechnol. and Bioeng. 2004. V. 48. № 4. P. 451–458.
13. Morin S., Duong T.T., Boutry S., Coste M. Modulation de la toxicite des metaux vis- -vis du developpement des biofilms de cours deau // Criptogamie. Algal. 2008. 29. № 3. P. 201–216.
14. Фокина Ф.И., Домрачева Л.И., Широких И.Г., Кондакова Л.В., Огородникова С.Ю. Микробная детоксикация тяжёлых металлов (обзор) // Теор. и прикл. экол. 2008. № 1. С. 4–11.
15. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Попов Л.Б., Зыкова Ю.Н. Биоремедиационные возможности почвенных цианобактерий (обзор) // Теор. и прикл. экол. 2009. № 1. С. 8–18.
16. Практикум по микробиологии. Под ред. А.И. Нетрусова. М.:Издательский центр «Академия», 2005. 608 с.
17. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Ашихмина Т.Я., Огородникова С.Ю., Ольгова А.С., Фокина А.И. Применение тетразольно-топографического метода определения гидрогеназной активности цианобактерий в загрязнённых средах // Теор. и прикл. экология. 2008. № 2. С. 23–28.
18. Лукаткин А.С. Холодовое повреждение теплолюбивых растений и окислительный стресс. Саранск:Изд-во Мордов. ун-та, 2002. 208 с.
19. Огородникова С.Ю., Зыкова Ю.Н., Березин Г.И., Домрачева Л.И., Калинин А.А. Комплексная оценка состояния цианобактерии *Nostoc paludosum* Kütz. при воздействии различных поллютантов // Теор. и прикл. экология. 2010. № 3. С. 47–51.
20. Standard procedure for the determination of chlorophyll a by spectroscopic methods. International Council for the Exploration of the Sea. Copenhagen K. Denmark. 2000. 17p.
21. Сборник методик измерений массовой концентрации ионов меди, свинца, кадмия, цинка, висмута, марганца, никеля и кобальта методом вольтамперометрии на вольтамперометрическом анализаторе «Экотест-ВА». М.: ООО «Эконикс-Эксперт», 2004. 61 с.
22. Методика выполнения измерений массовых долей токсичных металлов в пробах природных, питьевых и сточных вод атомно-абсорбционным методом. ФР.1.31.2007.03683. Москва. 13 с.
23. Методика измерения массовой доли нефтепродуктов в питьевых, природных и очищенных сточных водах методом ИК-спектрометрии. Количественный химический анализ почв. ПНД Ф 14.1:2.4.168-2000. 22 с.
24. Штина Э.А., Панкратова Е.М. Взаимодействия азотфиксирующих синезелёных водорослей с микроорганизмами-спутниками. // Актуальные проблемы биологии синезелёных водорослей. М.: Изд-во Наука, 1974. С. 61–77.
25. Панкратова Е.М., Трефилова Л.В. Симбиоз как основа существования цианобактерий в естественных условиях и в конструируемых системах // Теор. и прикл. экология. 2007. № 1. С. 4–15.
26. Tripathi V.N., Strivastova S. Ni²⁺-uptake in *Pseudomonas putida* strain S4: A possible role of Mg²⁺-uptake pump // J. Biosci. 2006. V. 31. № 1. P. 61–67.
27. Neelam T., Meenu S. Enhancement of plant growth and decontamination of nickel-spil soil using PGPR // J. Basic. Microbiol. 2009. V. 49. № 2. P. 195–204.
28. Tian Jiyuan, Yu Juan Changes in ultrastructure and of antioxidant system of alga (*Dunaliella salina*) during accumulation to enhanced ultraviolet-B radiation // J. Photochem. and Photobiol. 2009. V. 97. № 3. P. 152–160.
29. Юрин В. М. Основы ксенобиологии. Минск: Новое знание, 2002. 267 с.
30. Огородникова С.Ю., Зыкова Ю.Н., Березин Г.И., Домрачева Л.И., Калинин А.А. Реакция различных видов цианобактерий рода *Nostoc* на действие токсикантов // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Матер. междунар. научно-практической конф., посвящённой 100-летию со дня рождения проф. Э.А. Штиной. Киров: Вятская ГСХА. 2010. С. 216–221.
31. Выдра Ф., Штулик К., Юлакова Э. Инверсионная вольтамперометрия. М.: Мир, 1980. 278 с.