

АННА ИВАНОВНА ФОКИНА

кандидат биологических наук, доцент кафедры химии Института естественных наук, Вятский государственный гуманитарный университет (Киров, Российская Федерация)
annushka-fokina@mail.ru

АННА СЕРГЕЕВНА ОЛЬКОВА

кандидат технических наук, доцент кафедры экологии Института естественных наук, Вятский государственный гуманитарный университет (Киров, Российская Федерация)
morgan-abend@mail.ru

ЕКАТЕРИНА ИГОРЕВНА ЛЯЛИНА

ассистент кафедры химии, аспирант Института естественных наук, Вятский государственный гуманитарный университет (Киров, Российская Федерация)
lyalina.ekaterina@inbox.ru

ЛАРИСА ВЯЧЕСЛАВОВНА ДАРОВСКИХ

кандидат педагогических наук, доцент кафедры экологии Института естественных наук, Вятский государственный гуманитарный университет (Киров, Российская Федерация)
larisa.darovskich@mail.ru

ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТЕЙ БИОАККУМУЛЯЦИИ МЕДИ ПРЕДСТАВИТЕЛЯМИ АВТОТРОФНЫХ И ГЕТЕРОТРОФНЫХ ОРГАНИЗМОВ*

Предложена методика инверсионного вольтамперометрического определения содержания меди в цианобактериях и дафниях. С ее помощью установлено, что чем продолжительнее экспозиция культуры цианобактерий с раствором сульфата меди (II), тем больше меди концентрируется на поверхности клеток. Практически полное извлечение ионов меди Cu^{2+} из раствора за 14 суток говорит о том, что культура может быть пригодна для разработки биосорбента. С увеличением доли глутатиона в растворе увеличивается накопление ионов меди Cu^{2+} цианобактериями, а дафниями уменьшается, что отражается на результатах биотестирования, проводимого с использованием данных организмов. Острой токсичностью по отношению к дафниям обладают растворы с минимальным, а для цианобактерий – растворы с максимальным содержанием глутатиона.

Ключевые слова: биоаккумуляция, медь, цианобактерии, дафнии, тест-организмы

Аккумулировать металлы способны практически все живые организмы. В ряде случаев металлы могут накапливаться организмами в значительных количествах [1], [4], [6], [13], [22]. Научно-практическая значимость исследования аккумуляции металлов организмами отмечена многими авторами [2], [3], [5], [11], [17], [18], [19], [21], [25], [26], [27], [28]. Научные данные о накоплении тяжелых металлов (ТМ) различными организмами и их адаптации к такой нагрузке служат фундаментальной основой, необходимой для интерпретации результатов биотестирования. Исследование механизмов и закономерностей биоаккумуляции металлов позволяет оценивать качество окружающей среды, находить чувствительных организмов-биоиндикаторов, разрабатывать биологические способы очистки сред от ТМ.

Целью работы было исследование биоаккумуляции меди автотрофными (*Nostoc linckia*) и гетеротрофными (*Daphnia magna*) организмами и применение полученных результатов в ин-

терпретации данных биотестирования и поиске нового биосорбента.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследуемыми организмами были культуры *Nostoc linckia* (Roth.) Born. et Flah № 271 из коллекции кафедры биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской государственной сельскохозяйственной академии (г. Киров) и *Daphnia magna* Straus, культивируемые в аккредитованной экоаналитической лаборатории Вятского государственного гуманитарного университета (г. Киров). В экспериментах с *N. linckia* использовали суспензию цианобактерий с титром $1,16 \cdot 10^8$ кл/см³. Опыты с *D. magna* проводили по общепринятой методике: посадка 10 особей раков (возраст не более 24 ч.) в 100 см³ тестируемой среды.

Выявление возможности использования микрорганизмов в качестве биосорбента Cu^{2+} . Исследовали зависимость между накоплением меди культурой ЦБ и продолжительностью контакта организмов с раствором соли металла. Суспен-

зию культуры вносили в раствор CuSO_4 с концентрацией ионов меди Cu^{2+} 2 и 20 мг/дм³. Через 1 и 14 суток выделяли ионы меди Cu^{2+} , сорбированные на поверхности клеток (десорбция раствором ЭДТА с поверхности клеток), поглощенные внутрь клетки и удерживаемые лиофильными компонентами (экстракция этанолом) и лиофобными веществами (экстракция четыреххлористым углеродом (ЧХУ)).

Исследование влияния восстановленного глутатиона на токсичность раствора CuSO_4 и накопление меди ЦБ и дафниями. Брали три типа растворов сульфата меди (с содержанием меди 1 мг/дм³) в смеси с глутатионом (GSH) в мольных соотношениях Cu:GSH, равных 1:0, 1:1 и 1:4. Токсичность растворов по отношению к ЦБ исследовали биолюминесцентным и тетразольно-топографическим методами [7], [8]. При биотестировании с использованием дафний руководствовались методикой, основанной на определении смертности и изменении плодовитости раков [20].

Содержание меди в организмах после их экспозиции в различных средах определяли методом инверсионного вольтамперометрического анализа (ИВА) с помощью адаптированной нами методики определения меди на приборе марки «Экотест-ВА» с дисковым вращающимся электродом.

Для определения металла в биомассе организмов последние отделяли от тестируемой среды: цианобактерий – центрифугированием, дафний – отлавливанием на специальный сачок.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Адаптация метода ИВА для определения меди в цианобактериях и дафниях. Вследствие маленькой биомассы тест-организмов и небольшого в соответствии с этим содержания накапленного металла, метод определения меди должен обладать высокой чувствительностью. Таким методом является ИВА, но аттестованной методики определения меди в изучаемых нами организмах нет. За основу взята методика определения металла в природных водах [15]. Разделение соединений меди, в состав которых входит накапливаемый организмом металл, на фракции проводили по методике, предложенной С. Г. Васильевой [3]. В дафниях определяли общее содержание ме-

талла, не разделяя на фракции. Этап пробоподготовки фракций ЦБ и биомассы дафний (минерализация до влажных солей), предложенный разработчиком методики, усовершенствовали добавлением концентрированного раствора H_2O_2 , что позволило ускорить данный этап работы.

Применимость методики определения меди в цианобактериях и дафниях проверили методом «введенено-найдено» (табл. 1 и 2). Добавку вносили в пробу перед минерализацией [14].

Таблица 1
Проверка правильности количественного определения меди во фракциях цианобактерий *Nostoc linckia* 271

Фракция	Введено, мкг/дм ³	Найдено, мкг/дм ³
Экстракт ЭДТА	60,0	70,0 ± 21,0
Лиофильная фракция	10,0	9,3 ± 2,8
Лиофобная фракция	4	3,6 ± 1,1

Примечание. Количество введенной добавки брали, исходя из количества меди, определенного в каждой фракции ЦБ.

Таблица 2
Проверка правильности количественного определения меди в биомассе раков *D. magna*

Введено Cu^{2+} , мкг/дм ³	Найдено Cu^{2+} , мкг/дм ³
10	9,4 ± 2,9

Примечание. Количество введенной добавки брали, исходя из количества меди, определенного в дафниях.

Полученные данные свидетельствуют о возможности применения методики для определения меди в исследуемых объектах.

Выявление возможности использования ЦБ в качестве биосорбента ионов меди Cu^{2+} . Результаты определения содержания меди (II) в различных фракциях ЦБ после экспозиции организмов с медьсодержащими растворами представлены в табл. 3.

Ионы меди Cu^{2+} обнаружены в лиофильной фракции уже через сутки, причем в большем количестве там, где концентрация металла в растворе была выше. Это может быть связано как с поступлением металла в клетку по градиенту концентраций, так и с нарушением токсикологических барьеров вследствие токсического эффекта меди. Концентрация Cu^{2+} в лиофобной

Содержание меди во фракциях ЦБ после экспозиции культуры с растворами сульфата меди в течение 1 и 14 суток ($\text{X} \cdot 10^{-3}$, мг/г ЦБ) и суммарная степень извлечения металла из раствора (%)

Концентрация ионов меди, мг/дм ³	Через 1 сутки				Через 14 суток			
	Спирт	ЧХУ	ЭДТА	Степень извлечения	Спирт	ЧХУ	ЭДТА	Степень извлечения
2	2,56 ± 0,13	1,05 ± 0,05	4,18 ± 0,21	1,52 ± 0,07	<<	1,47 ± 0,03	7,84 ± 0,39	1,82 ± 0,08
20	17,23 ± 0,86	2,51 ± 0,13	94,0 ± 4,7	21,87 ± 1,09	0,94 ± 0,08	2,83 ± 0,14	520,0 ± 5,1	100 ± 5

Примечание. «<<» – меньше предела обнаружения.

Таблица 3

фракции в течение 14 суток практически не изменяется. К концу опыта резко уменьшается содержание металла в лиофильной фракции, а возрастает в той ее части, которая выделяется с поверхности клеток раствором ЭДТА. Это может указывать на выведение ионов из внутриклеточного пространства и накопление их на поверхности клеток. Это один из признаков адаптации культуры к негативному воздействию ионов меди: идет активный транспорт токсиканта из клетки.

Значения степеней извлечения меди из раствора в варианте с концентрацией ионов меди Cu^{2+} 20 мг/дм³ возрастают от 21 % в течение суток и до 100 % в течение двух недель. Такие результаты говорят о высоком сорбционном потенциале культуры *Nostoc linckia 271*, что, несомненно, указывает на возможность ее применения в качестве биосорбента. При создании технологической схемы очистки среды от Cu^{2+} или изготовления активной добавки следует учесть динамику содержания меди в различных фракциях клеток, так как Cu^{2+} удерживаются компонентами различных фракций с разной силой. Например, при определенных условиях перемешивания, уровне pH, нагревании может произойти десорбция.

Влияние восстановленного глутатиона на накопление Cu организмами. На процесс биоаккумуляции металлов влияют многие факторы. В первую очередь, имеет значение биологический вид организмов. Не менее важны концентрация металла в среде обитания, а также его химическая форма. Большинство металлов являются активными комплексообразователями и в окружающей среде могут присутствовать в комплексах с органическими компонентами. Эффективностью и емкостью связывания металлов организмами можно варьировать путем проведения реакций комплексообразования, в результате которых образующиеся соединения обладают новыми свойствами, способствующими поглощению металлов. Отмечено влияние комплексообразования на накопление металлов живыми организмами [9], [10], [23], [27]. Медь обладает высокой комплексообразующей способностью, поэтому токсический эффект зависит от наличия и концентрации потенциальных лигандов. В роли такого лиганда может выступать глутатион.

Глутатион (GSH) – это уникальный пептид, содержащийся в клетках не только всех эукариотических организмов, но и многих прокариотов. Это соединение является признанным биогенным протектором внутриклеточного действия [16]. В рамках исследования нами была поставлена практическая задача – оценить экзогенное влияние глутатиона как активного биолиганда на биоаккумуляцию меди. Моделировали воздействие ионов меди в присутствии восстановленного глутатиона (GSH) на автотрофную культуру *N. linckia* и гетеротрофных *D. magna*.

При исследовании трех типов тестируемых сред, содержащих сульфат меди в смеси с глутатионом (GSH) в мольных соотношениях Cu:GSH, равных 1:0, 1:1 и 1:4 (содержание меди во всех вариантах 1 мг/дм³), выявлено, что глутатион увеличивает накопление меди в культуре ЦБ: чем выше доля глутатиона, тем больше меди обнаружено в клетках (рис. 1). В опыте с дафниями наблюдается тенденция к уменьшению содержания меди в организмах с увеличением доли глутатиона в тестируемом растворе (рис. 2).

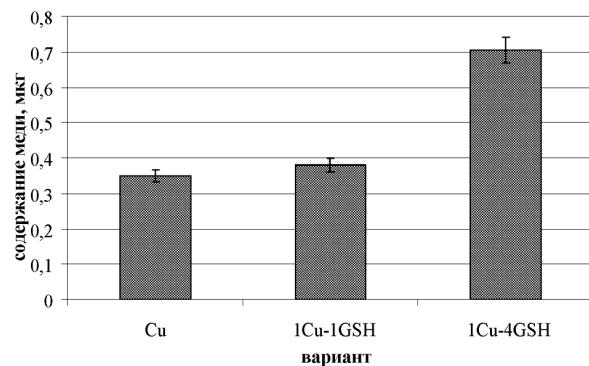


Рис. 1. Содержание меди в клетках *Nostoc linckia 271*. Варианты обозначены согласно соотношению Cu:GSH

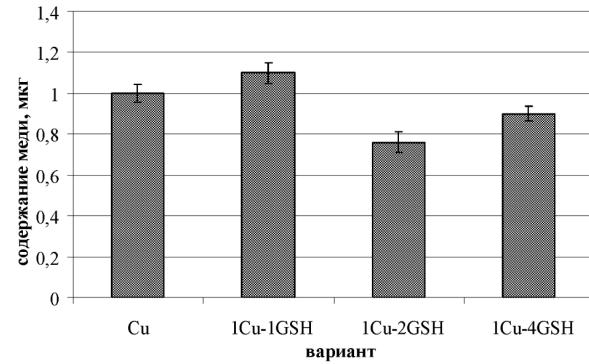


Рис. 2. Содержание меди в *Daphnia magna*. Варианты обозначены согласно соотношению Cu:GSH

Такие результаты объясняются тем, что клеточная мембрана ЦБ представляет собой бислой фосфолипидных молекул, ориентированных гидрофобными концами молекул внутрь бислоя, а гидрофильными наружу. Глутатион облегчает поступление в клетку меди за счет связывания ее ионов в прочный комплекс, который обладает липофильными свойствами и поэтому может быстро пересечь клеточную мембрану, в то время как сами ионы меди Cu^{2+} таким свойством не обладают.

Составляющей хитинового покрова *D. magna* является полисахарид хитозан, который содержит большое количество свободных аминогрупп, что позволяет ему связывать и прочно удерживать Cu^{2+} . Глутатион не только снижает активную концентрацию меди в растворе, но и уменьшает

ее количество на поверхности организмов, тем самым снижая накопление.

Установлено, что растворы с соотношением Cu:GSH 1:0 и 1:1 обладают острой токсичностью по отношению к дафниям, организмы погибли в течение первых суток экспозиции. Вариант 1:4 по показателям плодовитости и смертности приближается к контролю. В случае с ЦБ наблюдается сильная негативная взаимосвязь (коэффициент корреляции Пирсона составляет -0,8) между степенью накопления меди внутри клеток и жизнеспособностью культуры. Увеличение доли GSH в растворе приводит к увеличению накопления меди внутри клеток, уменьшению жизнеспособности, соответственно, результаты биотестирования с использованием ЦБ указывают на то, что растворы с большей добавкой глутатиона обладают большей токсичностью [12].

Таким образом, глутатион по отношению к дафниям обладает протекторным действием, а для ЦБ усиливает токсичность за счет усиления биодоступности меди. Явление усиления биодоступности может быть использовано для разработки цианобактериальных препаратов, насыщенных таким микроэлементом, как медь. Знания о биопротекторных свойствах позволяют разрабатывать системы защиты от медных загрязнений.

* Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Президента РФ МК-3964.2015.5.

ВЫВОДЫ

1. Адаптирована методика определения содержания меди в природных водах методом инверсионной вольтамперометрии для определения указанного металла в биомассе цианобактерий и дафний.

2. Установлен высокий биоаккумуляционный потенциал цианобактерий *Nostoc linckia* по отношению к меди. Чем продолжительнее экспозиция культуры ЦБ с раствором сульфата меди, тем больше меди концентрируется на поверхности клеток. За 14 суток из раствора с концентрацией Cu^{2+} 20 мг/дм³ цианобактериальной супензией было извлечено почти 100 % ионов металла. Это указывает на перспективность ЦБ *Nostoc linckia* как основы для создания биосорбента.

3. На примере модельных водных сред, содержащих сульфат меди (II), с разной добавкой глутатиона показано, что с увеличением доли биолиганда относительно концентрации металла накопление ионов меди цианобактериями увеличивается, а дафниями – уменьшается. Модельные водные среды с минимальным содержанием глутатиона обладали острой токсичностью по отношению к дафниям, а для цианобактерий, напротив, – токсичнее оказались растворы с максимальной долей глутатиона.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Богачева А. С. Чувствительность цианобактерий к токсическому действию солей тяжелых металлов: Автoref. дисс. ... канд. биол. наук. СПб., 2011. 24 с.
- Ваганов А. С. Накопление тяжелых металлов тканями и органами промысловых видов рыб различных экологических групп Куйбышевского водохранилища: Дисс. ... канд. биол. наук. Ульяновск, 2012. 120 с.
- Васильева С. Г. Накопление V, Li и Со клетками цианобактерии рода *Spirulina*: Автoref. дисс. ... канд. биол. наук. М., 2012. 21 с.
- Василенская Н. В., Лукина Ю. М. Влияние техногенного загрязнения на динамику роста и мезоструктуру листьев *Betula czerepanovii* Orlova // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Сер. «Естественные и технические науки». 2011. № 8 (121). С. 14–18.
- Голтвяnsкий А. В. Биоаккумуляция ионов металлов клетками *Dunaliella viridis* Teod. (Chlorophyta) // Альгология. 1999. Т. 9. № 2. С. 33.
- Голтвяnsкий А. В. Биоаккумуляция ионов металлов клетками зеленых водорослей и получение биомассы, обогащенной микроэлементами: Дисс. ... канд. биол. наук. Харьков, 2002. 125 с.
- Домрачева Л. И., Кондакова Л. В., Огородникова С. Ю., Олькова А. С., Фокина А. И. Применение тетразольно-топографического метода определения дегидрогеназной активности цианобактерий в загрязненных средах // Биологический мониторинг природно-техногенных систем. Сыктывкар, 2011. С. 113–120.
- Домрачева Л. И., Фокина А. И., Огородникова С. Ю., Зыкова Ю. Н., Кондакова Л. В. Адаптационные реакции микроорганизмов на стрессовые воздействия // Особенности урбоэкосистем подзоны южной тайги Европейского Северо-Востока. Киров, 2009. С. 180–232.
- Душников В., Рассин И. Фиторемедиация: зеленая революция: Доклад / Ратгерский университет. Нью-Джерси, 1999. С. 48–49.
- Ильин В. Б. Тяжелые металлы в системе почва – растение. Новосибирск: Наука. Сиб. отд-ние, 1991. 151 с.
- Карамушка В. И., Грузина Т. Г., Ульбэр З. Р. Особенности биосорбции тяжелых металлов из смешанных растворов клетками *Spirulina platensis* // Коллоидный журнал. 1998. Т. 60. № 3. С. 327–330.
- Лялина Е. И., Фокина А. И., Олькова А. С., Сивкова С. А., Катаргина В. С., Черезова К. О., Зорыгина В. С., Кузнецова Е. О. Отклик тест-организмов различной систематической принадлежности на действие ионов меди (II) в присутствии глутатиона // Материалы XII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Книга 2. Киров, 2014. С. 210–215.
- Немова Н. Н., Богдан В. В., Шкаревич Г. А. Амфиподы как индикаторы характера воздействия антропогенных факторов на прибрежные акватории Белого моря // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Сер. «Естественные и технические науки». 2012. № 4 (125). С. 7–12.
- РМГ 76-2004 ГСИ. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа. М.: Стандарт-информ, 2006. 81 с.

15. 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.
16. Смирнов Л. П., Суховская И. В. Роль глутатиона в функционировании систем антиоксидантной защиты и биотрансформации (обзор) // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Сер. «Естественные и технические науки». 2014. № 6 (143). С. 34–40.
17. Фокина А. И. Влияние свинца на структуру фототрофных микробных комплексов почвы: Автореф. дисс. ... канд. биол. наук. Сыктывкар, 2008. 23 с.
18. Фокина А. И., Злобин С. С., Березин Г. И., Зыкова Ю. Н., Огородникова С. Ю., Домрачева Л. И., Ковина А. Л., Горностаева Е. А. Состояние цианобактерий *Nostoc paludosum* в условиях загрязнения среды никелем и нефтепродуктами и перспективы ее использования в качестве биосорбента // Теоретическая и прикладная экология. 2008. Т. 1. С. 4–10.
19. Фокина А. И., Домрачева Л. И., Зыкова Ю. Н., Березин Г. И., Злобин С. С. Микроорганизмы как биосорбенты поллютантов // Особенности урбоэкосистем подзоны южной тайги Европейского Северо-Востока / Под ред. Т. Я. Ашихминой, Л. И. Домрачевой. Киров: Изд-во ВятГГУ, 2012. С. 232–253.
20. ФР 139.2007.03222. Методика определения токсичности воды и водных вытяжек из почв, осадков сточных вод, отходов по смертности и изменению плодовитости дафний. М.: Акварос, 2007. 48 с.
21. Чубков В. Ф. Микроны запасают металлы // Химия и Жизнь. 1982. № 11. С. 53–55.
22. Шашурина Е. А., Доронкин Ю. В., Лупова Е. И. Экологический мониторинг территорий и миграция цецидия-137 в цепи почва – продукты пчеловодства // Ученые записки Петрозаводского государственного университета. Сер. «Естественные и технические науки». 2011. № 2 (115). С. 21–23.
23. Aristilde L., Xu Y., Morel F. Weak Organic Ligands Enhance Zinc Uptake in Marine Phytoplankton // Environ. Sci. Technol. 2012. № 46 (10). P. 5438–5445.
24. Gummuluru S., Krishnamurti R., Megharaj M., Naidu R. Bioavailability of Cadmium–Organic Complexes to Soil Alga—An Exception to the Free Ion Model // J. Agric. Food Chem. 2004. № 52 (12). P. 3894–3899.
25. Kaysen G., Koeckritz T., Maret B. Bioleaching zur Reinigung schwermetallbelasteter Boden mit Thiobacillus spp. // Wasser und Boden. 2001. Vol. 53. № 1–2. P. 54–58.
26. Kumar N., Dushenkov V., Motto H., Raskin I. Phytoextraction: The Use of Plants To Remove Heavy Metals from Soils // Environ. Sci. Technol. 1995. № 29 (5). P. 1232–1238.
27. Ledin M., Krantz-Rücker C., Allard B. Microorganisms as metal sorbents. Comparison with other soil constituents in multi-compartment systems // Soil Biol. and Biochem. 1999. Vol. 31. № 12. P. 1639–1648.
28. Quintela C., Tavares T. Lead (II) and Iron (II) removal from aqueous solution: Biosorption by a bacteril biofilm // Resour. and Environ. Biotechnol. 2002. Vol. 3. № 4. P. 193–202.

Fokina A. I., Institute of Natural Sciences, Vyatka State University for the Humanities (Kirov, Russian Federation)

Ol'kova A. S., Institute of Natural Sciences, Vyatka State University for the Humanities (Kirov, Russian Federation)

Lyalina E. I., Institute of Natural Sciences, Vyatka State University for the Humanities (Kirov, Russian Federation)

Darovskikh L. V., Institute of Natural Sciences, Vyatka State University for the Humanities (Kirov, Russian Federation)

ON REGULARITIES OF COPPER BIO-ACCUMULATION BY REPRESENTATIVES OF AUTOTROPHIC AND HETEROTROPHIC ORGANISMS

The technique of inversion voltammetry aimed at the definition of the amount and content of copper in live organisms is improved. It was established that the longer was the exposition of cyanobacteria culture to copper sulfate solution the bigger was the amount of copper concentrated on the cells' surface. A practically total extraction of copper ions from the solution within 14 days demonstrated that the culture can be used for the new biosorbent development. It was revealed that with the increase of glutathione concentration in solution the accumulation of ions of heavy metals increases as well, and it decreases with the presence of water fleas. This in turn affects the results of biotesting solutions with the identical content of copper but various content of glutathione. The solutions with the minimum content of glutathione are acute toxic to water fleas and solutions with the maximum content are toxic to cyanobacteria. It indicates that organisms of various systematic accessory can react differently in the presence of toxicants.

Key words: bioaccumulation, copper, cyanobacteria, Daphnia, test organisms

REFERENCES

1. Bogacheva A. S. *Chuvstvitel'nost' tsianobakteriy k toksicheskemu deystviyu soley tyazhelykh metallov*: Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk [Sensitivity to the toxic effects of cyanobacteria salts of heavy metals]. St. Petersburg, 2011. 24 p.
2. Vaganov A. S. *Nakoplenie tyazhelykh metallov ikanyami i organami promyslovykh vidov ryb razlichnykh ekologicheskikh grupp Kuybyshevskogo vodokhranilishcha*: Diss. ... kand. biol. nauk [Accumulation of heavy metals material and organs of fish species of different ecological groups Kuibyshev reservoir]. Uljanovsk, 2012. 120 p.
3. Vasileva S. G. *Nakoplenie V, Li i Co kletkami tsianobakteriy roda Spirulina*: Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk [Collect V, Li and Co cells cyanobacterium Spirulina genus]. Moscow, 2012. 21 p.
4. Vasilevskaya N. V., Lukina Yu. M. Influence of technogenic pollution on growth and leaf mesostructure *Betula czerepanovii* Orlova [Vliyanie tekhnogenogo zagryazneniya na dinamiku rosta i mezostrukturu list'ev *Betula czerepanovii* Orlova]. Uchenye zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya "Estestvennye i tekhnicheskie nauki" [Proceedings of Petrozavodsk State University. Natural & Engineering Sciences]. 2011. № 8 (121). P. 14–18.
5. Goltyanskiy A. V. Bioaccumulation of metal ions cells *Dunaliella viridis* Teod. (Chlorophyta) [Bioakkumulyatsiya ionov metallov kletkami *Dunaliella viridis* Teod. (Chlorophyta)]. *Al'gologiya*. 1999. Vol. 9. № 2. P. 33.
6. Goltyanskiy A. V. Bioakkumulyatsiya ionov metallov kletkami zelenykh vodorosley i poluchenie biomassy, obogashchennoy mikroelementami: Diss. ... kand. biol. nauk [Bioaccumulation of metal ions cells of green algae and biomass rich in trace elements]. Harkov, 2002. 125 p.

7. Domracheva L. I., Kondakova L. V., Ogorodnikova S. Yu., Ol'kova A. S., Fokina A. I. The use tetrazole-topographic method for determining the dehydrogenase activity of cyanobacteria in contaminated environments [Применение тетразол'но-топографического метода определения дегидрогеназной активности цианобактерий в загрязненных средах]. *Biologicheskiy monitoring prirodno-tehnogennykh sistem*. Syktyvkar, 2011. P. 113–120.
8. Domracheva L. I., Fokina A. I., Ogorodnikova S. Yu., Zykova Yu. N., Kondakova L. V. Adaptable reactions to stressful effects of microorganisms [Адаптационные реакции микроорганизмов на стрессовые воздействия]. *Osobennosti urboekosistem podzony yuzhnay taygi Evropeyskogo Severo-Vostoka*. Kirov, 2009. P. 180–232.
9. Dushenkov V., Raskin I. *Fitoremediatsiya: zelenaya revolyutsiya: Doklad* [Phytoremediation: green revolution: report]. New Jersey, 1999. P. 48–49.
10. Il'in V. B. *Tyazhelye metally v sisteme pochva – rastenie* [Heavy metals in the soil – plant system]. Novosibirsk, Nauka. Sib. otd-rie Publ., 1991. 151 p.
11. Karamushka V. I., Gruzina T. G., Ul'berg Z. R. Features biosorption of heavy metals from solutions of mixed cells of *Spirulina platensis* [Особенности biosorbsii tyazhelykh metallov iz smeshannykh rastvorov kletkami *Spirulina platensis*]. *Kolloidnyy zhurnal*. 1998. Vol. 60. № 3. P. 327–330.
12. Lyalina E. I., Fokina A. I., Ol'kova A. S., Sivkova S. A., Katargina V. S., Cherezova K. O., Zvorygina V. S., Kuznetsova E. O. Response test organisms belonging to different taxonomic action copper ion (II) in the presence of glutathione [Otklik test-organizmov razlichnykh sistematicheskoy prinadlezhnosti na deystvie ionov medi (II) v prisutstvii glutationa]. *Materialy XII Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem*. Issue 2. Kirov, 2014. P. 210–215.
13. Nemova N. N., Bogdan V. V., Shklyarevich G. A. Amphipods as indicators of the nature of anthropogenic impacts on coastal waters of the White Sea [Amfipody kak indikatory kharaktera vozdeystviya antropogennykh faktorov na pribrezhnye akvatorii Belogo morya]. *Uchenye zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya "Estestvennye i tekhnicheskie nauki"* [Proceedings of Petrozavodsk State University. Natural & Engineering Sciences]. 2012. № 4 (125). P. 7–12.
14. RMG 76-2004 ГСИ. *Vnutrenniy kontrol' kachestva rezul'tatov kolichestvennogo khimicheskogo analiza* [Internal quality control of the results of quantitative chemical analysis]. Moscow, Standartinform Publ., 2006. 81 p.
15. Sbornik metodik izmereniy massovoy kontsentratsii ionov medi, svintsa, kadmiya, tsinka, vismuta, mangantsa, nikelya i kobal'ta metodom vol' tamperometrii na vol' tamperometricheskom analizatore "Ekotest-VA" [The collection of measurement techniques of mass concentration of ions of copper, lead, cadmium, zinc, bismuth, manganese, nickel and cobalt by voltammetry for voltammetric analyzer "Ecotest-VA"]. Moscow, OOO "Ekoniks-Ekspert" Publ., 2004. 61 p.
16. Smirnov L. P., Sukhovskaya I. V. The role of glutathione in the functioning of the antioxidant defense systems and biotransformation (Overview) [Rol' glutationa v funktsionirovaniyu sistem antioksidantnoy zaschchity i biotransformatsii (obzor)]. *Uchenye zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya "Estestvennye i tekhnicheskie nauki"* [Proceedings of Petrozavodsk State University. Natural & Engineering Sciences]. 2014. № 6 (143). P. 34–41.
17. Fokina A. I. *Vliyanie svintsa na strukturu fototrofnykh mikrobnykh kompleksov pochvy: Avtoref. diss. ... kand. biol. nauk* [Effect of lead on the structure of the soil microbial complexes phototrofnyh]. Syktyvkar, 2008. 23 p.
18. Fokina A. I., Zlobin S. S., Berezin G. I., Zykova Yu. N., Ogorodnikova S. Yu., Domracheva L. I., Kovina A. L., Gornostaeva E. A. The condition of cyanobacteria *Nostoc* paludosum under pollution by nickel and petroleum products and the prospects for its use as biosorbent [Sostoyanie tsianobakterii *Nostoc paludosum* v usloviyakh zagryazneniya sredy nikel'em i nefteproduktami i perspektivy ee ispol'zovaniya v kachestve biosorbenta]. *Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya*. 2008. Vol. 1. P. 4–10.
19. Fokina A. I., Domracheva L. I., Zykova Yu. N., Berezin G. I., Zlobin S. S. Microorganisms like biosorbents pollutants [Mikroorganizmy kak biosorbenty pollyutantov]. *Osobennosti urboekosistem podzony yuzhnay taygi Evropeyskogo Severo-Vostoka* / Pod. red. T. Ya. Ashikhminoy, L. I. Domrachevoy. Kirov, Izd-vo VyatGGU, 2012. P. 232–253.
20. FR 1.39.2007.03222. *Metodika opredeleniya toksichnosti vody i vodnykh vtyazhek iz pochv, osadkov stochnykh vod, otkhodov po smertnosti i izmeneniyu plodovitosti dafniy* [FR 1.39.2007.03222. Methods of determining the toxicity of water and aqueous extracts from soils, sewage sludge, waste mortality and fertility change in Daphnia]. Moscow, Akvaros Publ., 2007. 48 p.
21. Chubukov V. F. Microbes stockpile metals [Mikroby zapasayut metally]. *Khimiya i Zhizn'*. 1982. № 11. P. 53–55.
22. Shashurina E. A., Doronin Yu. V., Lupova E. I. Environmental monitoring areas and migration of cesium-137 in the chain soil – bee products [Ekologicheskiy monitoring territoriy i migratsiya tseziya-137 v tsepi pochva – produkty pchelovodstva]. *Uchenye zapiski Petrozavodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya "Estestvennye i tekhnicheskie nauki"* [Proceedings of Petrozavodsk State University. Natural & Engineering Sciences]. 2011. № 2 (115). P. 21–23.
23. Aristilde L., Xu Y., Morel F. Weak Organic Ligands Enhance Zinc Uptake in Marine Phytoplankton // *Environ. Sci. Technol.* 2012. № 46 (10). P. 5438–5445.
24. Gummuluru S., Krishnamurti R., Megharaj M., Naidu R. Bioavailability of Cadmium–Organic Complexes to Soil Alga–An Exception to the Free Ion Model // *J. Agric. Food Chem.* 2004. № 52 (12). P. 3894–3899.
25. Kayser G., Koeckritz T., Markert B. Boleaching zur Reinigung schwermetallbelasteter Boden mit *Thiobacillus* spp. // *Wasser und Boden*. 2001. Vol. 53. № 1–2. P. 54–58.
26. Kumar N., Dushenkov V., Mott H., Raskin I. Phytoextraction: The Use of Plants To Remove Heavy Metals from Soils // *Environ. Sci. Technol.* 1995. № 29 (5). P. 1232–1238.
27. Ledin M., Krantz-Rulcker C., Allard B. Microorganisms as metal sorbents. Comparison with other soil constituents in multi-compartment systems // *Soil Biol. and Biochem.* 1999. Vol. 31. № 12. P. 1639–1648.
28. Quintela C., Tavares T. Lead (II) and Iron (II) removal from aqueous solution: Biosorption by a bacteril biofilm // *Resour. and Environ. Biotechnol.* 2002. Vol. 3. № 4. P. 193–202.