

Возможные пути интенсификации массового культивирования цианобактерий

© 2017. Н. А. Кудряшов¹, аспирант, Л. И. Домрачева^{1,2}, д. б. н., профессор, Е. О. Великородчанина³, студент,

¹ Вятская государственная сельскохозяйственная академия, 610017, Россия, г. Киров, Октябрьский проспект, 133,

² Институт биологии Коми научного центра Уральского отделения РАН, 167982, Россия, г. Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,

³ Вятский государственный университет, 610000, Россия, г. Киров, ул. Московская, 36, e-mail: dli-alga@mail.ru

На примере культивирования двух видов цианобактерий (ЦБ) *Nostoc paludosum* и *Fischerella muscicola* показано, что манипулируя с уровнем освещённости и составом питательной среды можно добиться существенного повышения выхода цианобактериальной биомассы. Переход к культивированию от люминостата с освещённостью 1000 лк к культивированию в биореакторе с освещённостью 4000 лк повышает скорость размножения ЦБ в 1,8 раза для *N. paludosum* и в 3,5 раза для *F. muscicola*. При этом в биореакторе авторской конструкции освещение осуществляется разными спектрами с помощью красных, синих, зелёных и белых светодиодных лент. Режим культивирования данных видов ЦБ в модифицированной питательной среде Громова № 6 без азота также позволяет значительно повысить выход цианобактериальной биомассы. Среди приёмов, основанных на увеличении содержания макро- и микроэлементов, концентрации агар-агара и насыщения среды культивирования углекислым газом в виде сухого льда, наиболее эффективным оказался приём дополнительного снабжения фотосинтезирующих ЦБ углеродом. Это привело к возрастанию их темпов размножения почти в 4 раза при концентрации добавляемого углекислого газа 25 г/л. Из двух испытуемых культур ЦБ наиболее отзывчивой на уровень освещённости оказалась *F. muscicola*, а на изменение состава питательной среды ЦБ реагировали по-разному.

Ключевые слова: цианобактерии, освещённость, макроэлементы, микроэлементы, агар-агар, углекислый газ.

Possible ways to intensify mass cultivation of cyanobacteria

N. A. Kudryashov¹, L. I. Domracheva^{1,2}, E. O. Velikoredchanina³,

¹ Vyatka State Agricultural Academy, 133 Oktyabrskiy Prospect, Kirov, Russia, 610017,

² Institute of Biology of the Komi Science Centre of the Ural Division RAS, 28 Kommunisticheskaya St., Syktyvkar, Komi Republic, Russia, 167982,

³ Vyatka State University, 36 Moskovskaya St., Kirov, Russia, 610000, e-mail: dli-alga@mail.ru

The example of cultivation of two species of cyanobacteria (CB) *Nostoc paludosum* and *Fischerella muscicola* showed that manipulating the level of illumination and the composition of the nutrient medium can cause a significant increase in the yield of cyanobacterial biomass. Transition to cultivation from a luminostate with illumination of 1000 lux to cultivation in a bioreactor with illumination of 4000 lux raises reproduction rate of the CB by 1.8 times for *N. paludosum* and by 3.5 times for *F. muscicola*. At the same time, in the bioreactor of the author's design, lighting is performed by different spectra with the help of red, blue, green and white LED strips. The regime of cultivation of these CB species in the modified Gromov No. 6 nutrient medium without nitrogen also allows a significant increase in the yield of cyanobacterial biomass. Among the methods based on the increase in the content of macro- and microelements, the concentration of agar-agar and the saturation of the medium of carbon dioxide in the form of dry ice, the most effective was reception of additional supply of photosynthetic CB with carbon. Adding 25 g of carbon dioxide in the form of dry ice to 1 L of nutrient medium leads to an increase in their reproduction rates by almost 4 times. Of the two CB tested cultures, *F. muscicola* was the most responsive to the level of illumination, and the CB reacted differently to changes in the composition of the nutrient medium.

Keywords: cyanobacteria, illumination, macroelements, microelements, agar-agar, carbon dioxide.

Бурное развитие биотехнологии постоянно требует включения новых эффективных микробов-продуцентов в производственный цикл для получения как микробной биомассы, так и широкого спектра биологически активных веществ. Большой интерес в этом плане представляют цианобактерии (ЦБ), особенно их гетероцистные формы, обладающие способностью к азотфиксации. Привлекательность этой группы организмов в качестве биотехнологического объекта обусловлена такими особенностями их развития, как биохимическое и физиологическое разнообразие, широкий набор экзометаболических, включающий антибиотики, ростовые вещества, ферменты, витамины и т. д. [1–4]. Использование ЦБ в биотехнологии связывают также со способностью отдельных штаммов аккумулировать некоторые соединения, участвовать в деградации нефти и нефтепродуктов. ЦБ также рассматриваются как перспективный источник альтернативной энергии [5]. Независимость в развитии от органических форм углерода и связанного азота позволяет использовать для их культивирования максимально простые минеральные среды. Опыт массового культивирования ЦБ, достаточно давно существующий в странах Юго-Восточной Азии, постепенно внедряется и в России [6].

Серия исследований, проводимых на кафедре биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА в течение многих лет, показала, что различные альгологически чистые культуры ЦБ, выделенные из почв Кировской области, обладают антагонистическими, ростстимулирующими, биотестовыми, биосорбционными и биоремедиационными способностями [7–11].

В перспективе возможно создание биопрепарата многофункционального действия на основе данной группы фотосинтезирующих микроорганизмов. Однако, чтобы обеспечить получение необходимого количества ЦБ, требуется совершенствование методов их массового культивирования, особенно в осенне-зимний период, когда популяции ЦБ переходят в состояние глубокого покоя и вегетируют очень слабо.

Цель данной работы – поиск путей интенсификации массового культивирования ЦБ путём регуляции режима освещения и изменения состава питательной среды.

Материалы и методы

Для проведения опытов были выбраны 2 штамма нитчатых гетероцистных форм ЦБ

из коллекции фототрофных микроорганизмов кафедры: *Nostoc paludosum* № 18 и *Fischerella muscicola* № 300.

В первой серии опытов проводили сравнение интенсивности роста данных ЦБ при различных режимах освещения. Для этого их культивировали в жидкой питательной среде Громова № 6 без азота при освещении 1000 люкс (в люминостате) и 4000 люкс (в биореакторе) в течение 5 недель. Биореактор авторской конструкции представляет собой зеркальный параллелепипед размерами 600 x 400 x 500 мм (отражающей стороной внутрь) со светодиодными лентами (красной, синей, зеленой и белой) [12]. Продолжительность освещения – 12 часов. Первоначальный объём цианобактериального инокулята для каждой культуры был одинаковым. В процессе роста ЦБ, как обычно, формируют плёночные разрастания. Поэтому при снятии опыта для количественного учёта популяций ЦБ биоплёнки в течение двух минут разбивали на гомогенизаторе. В дальнейшем определение титра культур проводили в камере Горяева в 6-кратной повторности.

Во второй серии опытов проводили манипуляции с составом питательной среды. В контрольном варианте для выращивания ЦБ использовалась жидкая питательная среда Громова № 6 без азота следующего состава: $\text{CaCl}_2 - 0,15$ г, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,2$ г, $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,2$ г, $\text{NaHCO}_3 - 0,2$ г. Раствор микроэлементов – 1 мл. Дистиллированная вода – 1 л. Модификацию питательной среды проводили в нескольких направлениях: путём увеличения концентрации макро- и микроэлементов, добавлением различного количества агар-агара в стандартную среду Громова, а также насыщением питательной среды углекислым газом.

Во всех вариантах первоначальный объём цианобактериального инокулята, вносимого в культуральную смесь, был 1 мл с титром клеток $3,75 \cdot 10^8$. Продолжительность культивирования составляла 5 и 8 недель.

При снятии опыта для количественного учёта клеток ЦБ биоплёнки, как и в первой серии опытов, в течение двух минут разбивали на гомогенизаторе. Определение титра гомогенизированных культур проводили в камере Горяева в 6-кратной повторности.

Результаты и обсуждение

Влияние интенсивности освещения на рост цианобактерий. Количественный учёт численности клеток ЦБ при культивиро-

вании в люминостате и биореакторе показал, что увеличение интенсивности освещения существенно стимулирует скорость роста как *N. paludosum*, так и *F. muscicola* (табл. 1). Численность клеток ностока увеличилась в 1,6 раза, фишереллы – в 3,5 раза. Морфологический анализ состояния популяций показал, что все клетки имеют практически одинаковый размер и интенсивность окраски, что свидетельствует о нахождении культур в экспоненциальной фазе.

Таким образом, увеличение интенсивности освещения и разнообразие спектров освещения, которые осуществляются в биореакторе, приводит к интенсификации роста биомассы ЦБ, при этом наиболее ярко выраженный эффект проявляется у *F. muscicola*. Выявленные особенности вегетации ЦБ позволяют получать достаточное количество цианобактериального инокулята для проведения различных опытов, а в перспективе – основу для создания биопрепаратов, применяемых в поздне-осенний и зимний периоды, которые, как правило, являются «глухой» порой для размножения ЦБ.

Влияние концентрации макроэлементов на рост цианобактерий. В состав питатель-

ной среды Громова № 6 без азота входят такие макроэлементы, как кальций, калий, магний и фосфор. Отсутствие азота в среде обусловлено тем, что оба вида исследуемых ЦБ являются азотфиксаторами, используя для своего роста и развития молекулярный азот, превращение которого в аминокислоты и белки происходит в особых клетках – гетероцистах. В ходе проводимого опыта состав питательной среды меняли таким образом, что концентрация данных макроэлементов была увеличена в 1,5; 2; 4; 5 и 10 раз. При снятии опыта через 5 недель было установлено, что в контрольном варианте темпы роста *N. paludosum* были выше, чем у *F. muscicola* (рис. 1). Эта же тенденция опережающего роста ностока сохранялась и во всех вариантах.

При 8-недельном культивировании возрастание численности клеток *N. paludosum* в 1,8–2,0 раза отмечено в варианте с повышением концентрации макроэлементов в 1,5–2,0 раза. Для *F. muscicola* подобное повышение концентрации фактически не сказывается на интенсивности размножения. Для обоих видов ЦБ дальнейшее насыщение питательной среды макроэлементами (4–5–10-кратные дозы) не эффективно и приводит к снижению численности клеток (рис. 2).

Таблица 1

Влияние интенсивности освещения на скорость роста цианобактерий

Вид цианобактерий	Численность клеток, • 10 ⁸ /мл	
	1000 люкс (люминостат)	4000 люкс (биореактор)
<i>Nostoc paludosum</i>	2,7±0,5	4,8±1,1
<i>Fischerella muscicola</i>	4,9±0,9	17,2±2,8

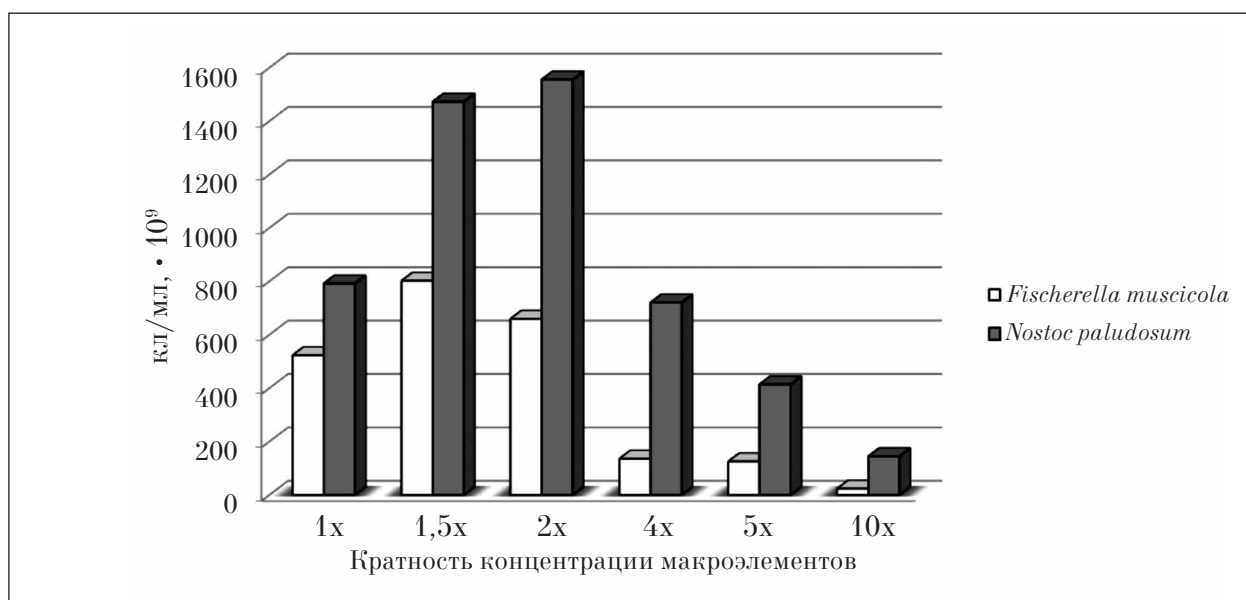


Рис. 1. Влияние концентрации макроэлементов питательной среды на интенсивность размножения цианобактерий при 5-недельном культивировании

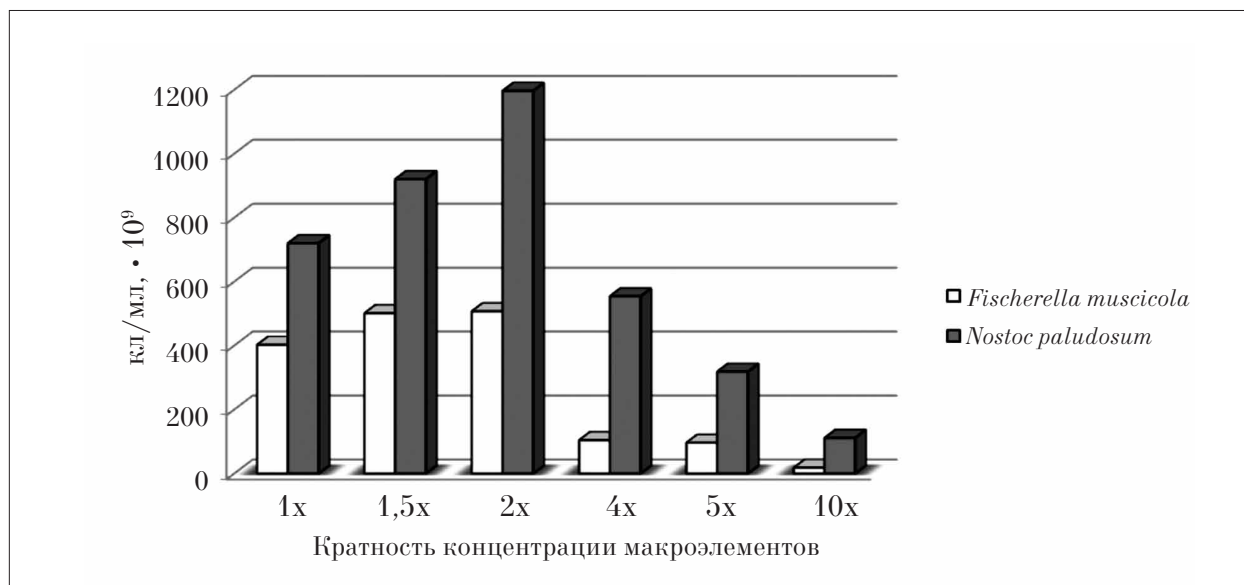


Рис. 2. Влияние концентрации макроэлементов питательной среды на интенсивность размножения цианобактерий при 8-недельном культивировании

Таким образом, повышение концентрации макроэлементов в 1,5–2,0 раза приводит к существенной интенсификации роста популяции *N. paludosum* также в 1,5–2,0 раза, но практически не сказывается на интенсивности роста *F. muscicola*.

Влияние концентрации микроэлементов на рост цианобактерий. Как правило, микроэлементы добавляются в питательную среду при выращивании микроорганизмов в виде катионов неорганических солей. Чаще всего нет необходимости специально вносить их в среду, так как большинство микроэлементов являются примесью солей макроэлементов или попадают в среду с частицами пыли, из стеклянной посуды или в составе водопроводной воды. Однако для жизнедеятельности ЦБ, как и для большинства азотфиксаторов, необходимо определённое количество микроэлементов.

Так, в состав среды Громова входят следующие соли, содержащие микроэлементы: $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,005 г; $MnSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,45 г; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ – 0,0197 г; H_3BO_3 – 0,41 г; $(NH_4)_2MoO_4 \cdot 4H_2O$ – 0,25 г; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 2,375 г; $CaCl_2$ – 0,3 г; $Co(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ – 0,02 г; ЭДТА – 2,5 г на 1 л дистиллированной воды.

Влияние возрастающих доз микроэлементов на интенсивность роста изучаемых видов ЦБ изучали в опыте с повышением их концентрации от 1,5 до 10 раз (рис. 3–4). Отзывчивостью на внесение микроэлементов обладают и *N. paludosum*, и *F. muscicola* при обоих сроках культивирования в диапазоне концентраций от 2-кратного до 10-кратного увеличения, по сравнению с контролем. Результаты опыта

показывают, что рациональнее всего для обоих видов ЦБ использовать 2-кратное увеличение концентрации микроэлементов при 8-недельном культивировании, что даёт увеличение численности популяций ЦБ практически в 2,5 раза.

Влияние концентрации агар-агара на рост цианобактерий. Агар-агар – полисахарид, который в микробиологической практике используется для получения плотных питательных сред в концентрациях от 1,5 до 3%, полужидких от 0,3 до 0,7%. Выпускаемые для агрономической практики микробные биопрепараты в качестве наполнителей содержат различные вещества, но очень редко агар-агар. Исключением является препарат «Ризоверм», разработанный на кафедре биологии растений, селекции и семеноводства, микробиологии Вятской ГСХА [13]. Созданный препарат на основе клубеньковых бактерий отличается от существующих на рынке полужидкой консистенцией, которая позволяет его расфасовывать в удобные пластиковые контейнеры, он легко разводится водой и наносится на семена. Подобная идея положена в основу создания биопрепарата на основе ЦБ. Вследствие этого проведены опыты, определяющие эффективность роста ЦБ при концентрациях агар-агара от 0,025 до 2,5% (рис. 5, 8).

Максимальная численность клеток *N. paludosum* и *F. muscicola* зарегистрирована при 8-недельном культивировании с концентрацией агар-агара 0,05%.

Проведение данных опытов показало, что при выращивании в жидкой питательной

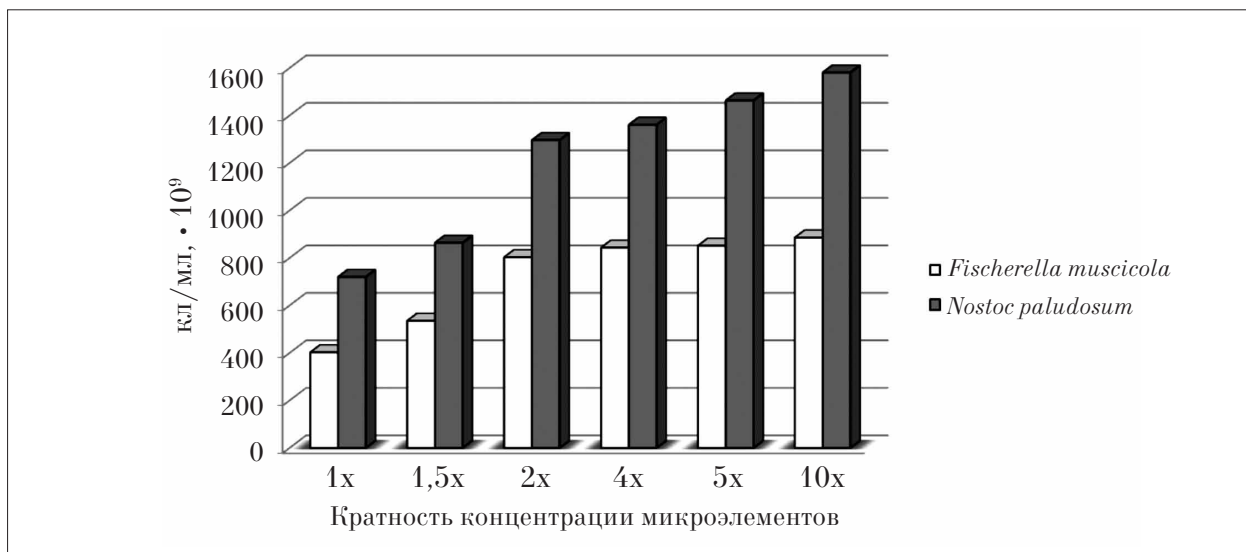


Рис. 3. Влияние концентрации микроэлементов на интенсивность размножения цианобактерий при 5-недельном культивировании

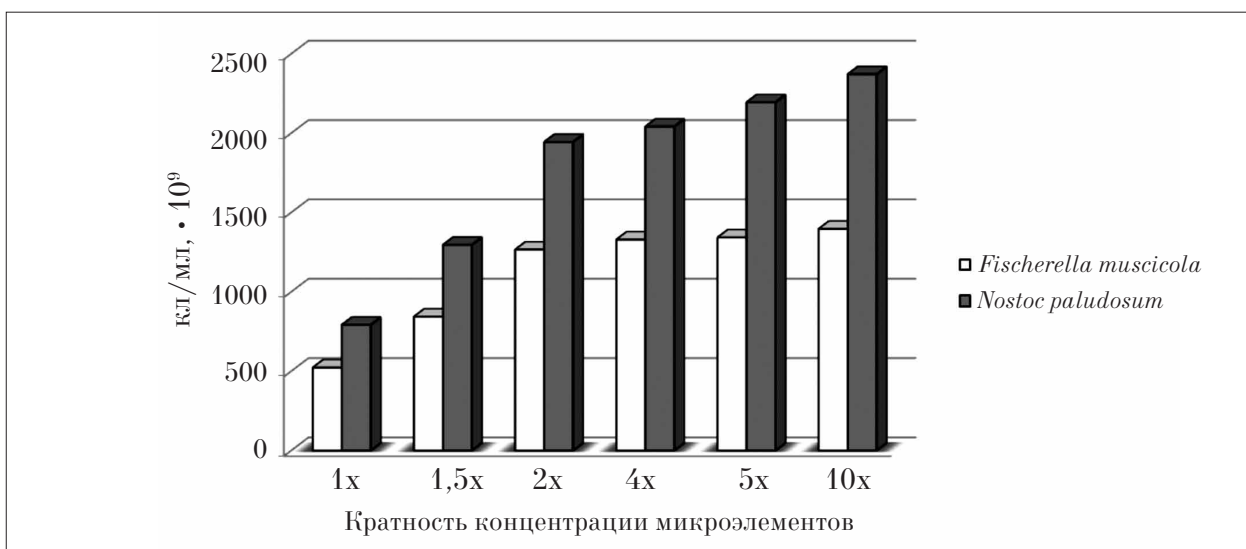


Рис. 4. Влияние концентрации микроэлементов питательной среды на интенсивность размножения при 8-недельном культивировании

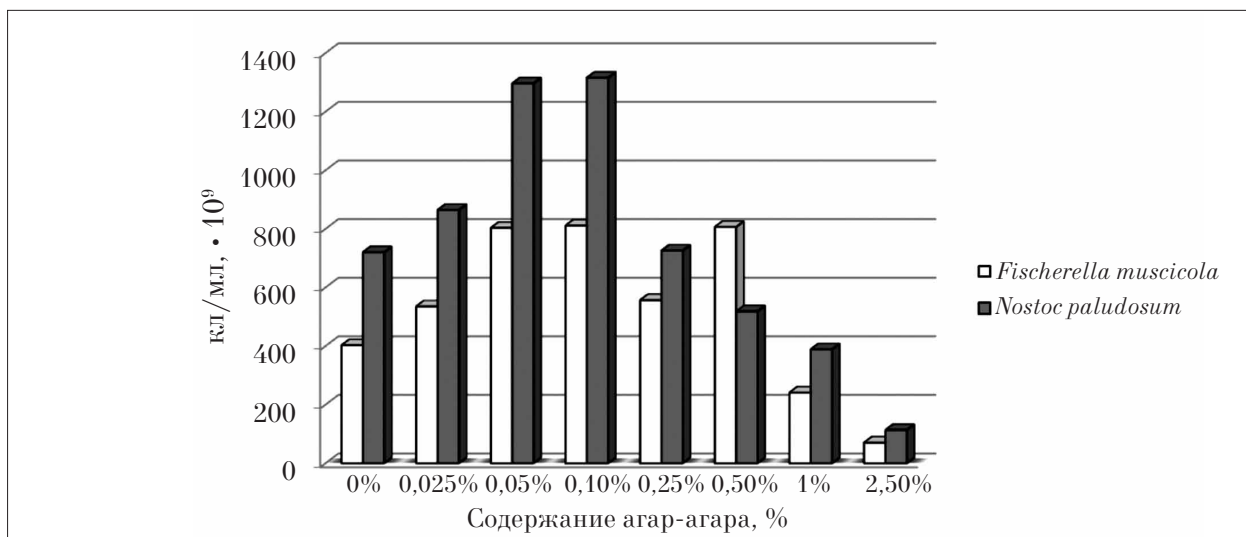


Рис. 5. Влияние концентрации агар-агара на интенсивность размножения при 5-недельном культивировании

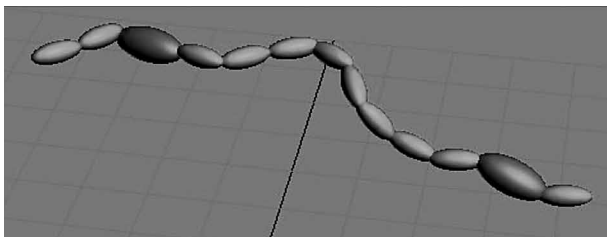


Рис. 6. Модель нити цианобактерий

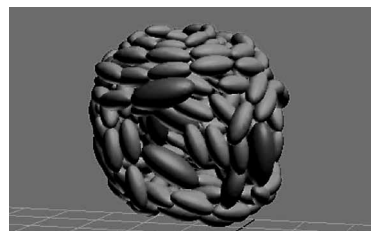


Рис. 7. Модель колонии цианобактерий

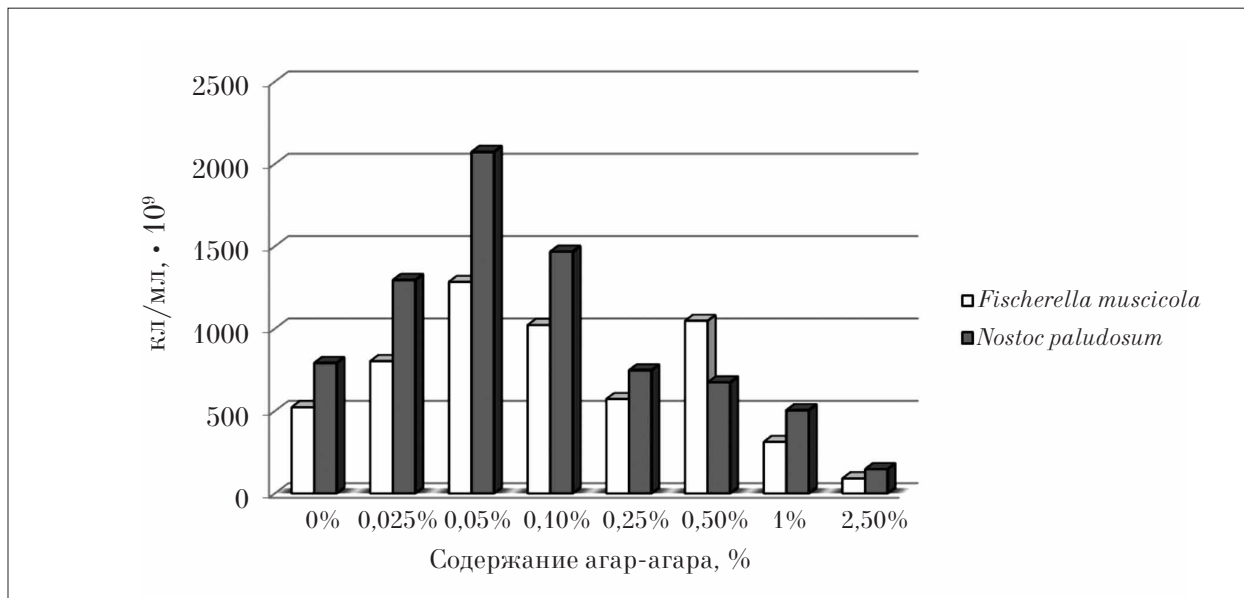


Рис. 8. Влияние концентрации агар-агара на интенсивность размножения цианобактерий при 8-недельном культивировании

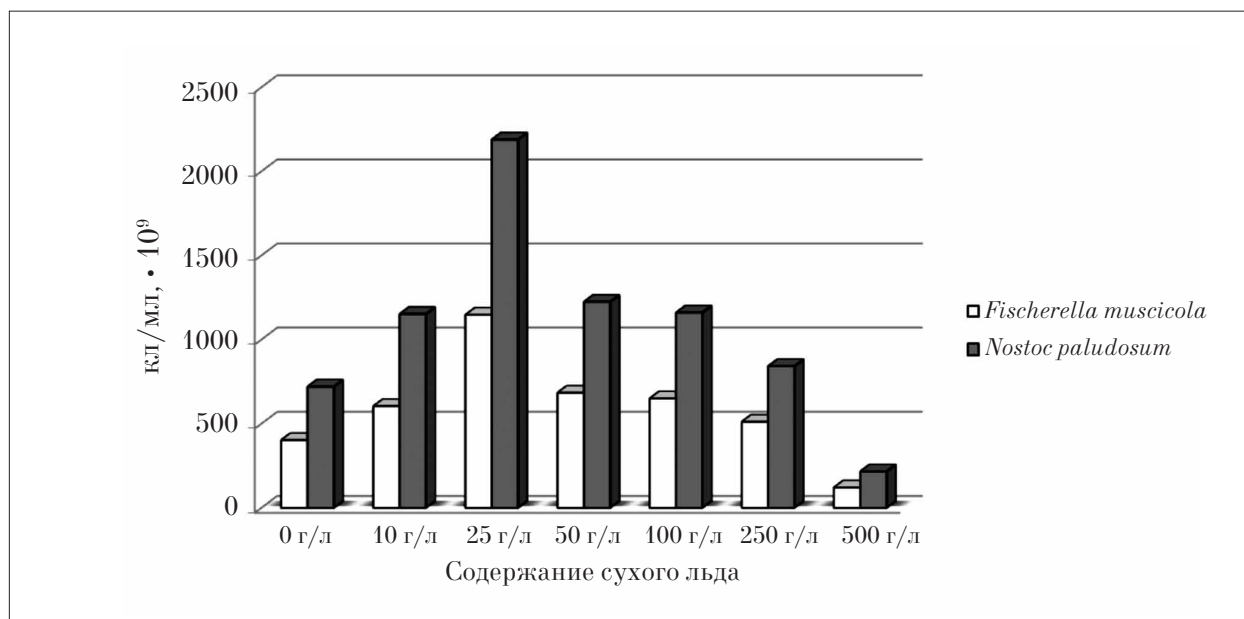


Рис. 9. Влияние сухого льда на интенсивность размножения при 5-недельном культивировании

среде ЦБ образуют плёночные разрастания в основном на стенках колб, после отделения биоплёнок и их гомогенизации появляются отдельные нити (рис. 6).

При выращивании на полужидких питательных средах ЦБ образуют колонии в виде шаров, которые, в свою очередь, состоят из накрученных самих на себя цепочек ЦБ (рис. 7).

Использование полужидкой питательной среды с концентрацией агар-агара 0,05% оказалось наиболее благоприятным для культивирования ЦБ. Эта концентрация агар-агара позволяет ЦБ образовывать колонии в виде шариков с удвоением численности клеток ЦБ, по сравнению с контролем, при 5-недельной экспозиции (рис. 5).

По итогам 8 недель наибольший прирост даёт вариант с 0,05% агара. Колонии представляют собой плотно скрученные комки ЦБ, которые практически не разбиваются при гомогенизации. Для того, чтобы их разбить, приходилось увеличивать время гомогенизации до 20 минут. Разница между контролем и данным вариантом составила 2,5 раза для *F. muscicola* и 2,6 раза для *N. paludosum* (рис. 8).

Влияние концентрации углекислого газа на рост цианобактерий. При интенсивном выращивании ЦБ остро стоит проблема углеродного обмена. При классическом способе культивирования углекислый газ поглощается питательной средой из воздуха, но при интенсификации процессов этот способ не эффективен. Растворение сухого льда в питательной среде реша-

ет эту проблему. Растворяясь, сухой лёд, частично переходит в растворенный углекислый газ, частично в угольную кислоту и частично в карбонаты и гидрокарбонаты. В серии опытов было показано, что насыщение питательной среды диоксидом углерода в концентрации 25 г/л приводит к стремительному увеличению численности обеих популяций ЦБ.

По итогам 5 недель культивирования в этом варианте наблюдалось увеличение численности клеток в 2,9 раз для *F. muscicola* и в 3 раза для *N. paludosum* (рис. 9). Колонии ЦБ представляли собой шары из скрученных нитей ЦБ диаметром 1,5–2 см, которые легко разбиваются на отдельные нити.

По итогам 8 недель культивирования самым результативным также оказался вариант с растворением 25 г сухого льда. Он превосходит контроль в 3,8 раза. При растворении 50 г и более количество клеток увеличивается не столь значительно. А при растворении 500 г происходит угнетение развития ЦБ (рис. 10). Вероятнее всего это связано с повышением кислотности питательной среды в результате образования из диоксида углерода угольной кислоты, при диссоциации которой образуется ионы H^+ .

Таким образом, результаты проведённых исследований показывают, что среди путей совершенствования массового культивирования ЦБ, помимо повышения уровня освещённости, большое значение имеет оптимизация состава стандартной питательной среды Громова № 6. Наиболее эффективные варианты

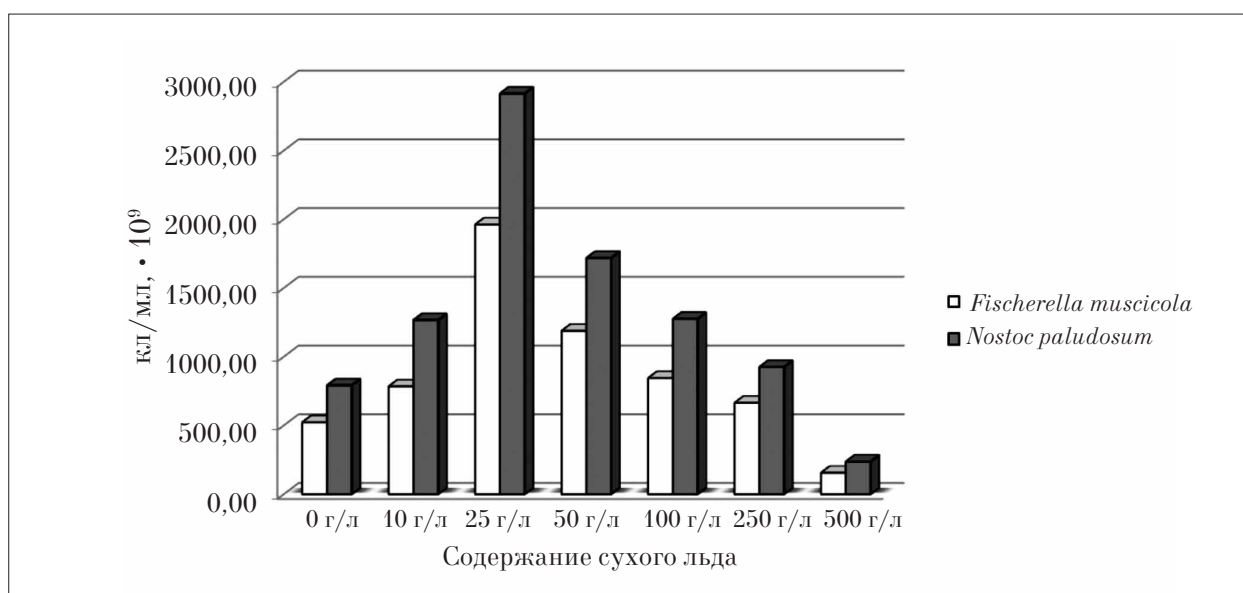


Рис. 10. Влияние сухого льда на интенсивность размножения цианобактерий при 8-недельном культивировании

Таблица 2

Прирост численности клеток в результате оптимизации условий культивирования цианобактерий по сравнению с контролем (%)

Показатель	Время культивирования			
	5 недель		8 недель	
	<i>Fischerella muscicola</i>	<i>Nostoc paludosum</i>	<i>Fischerella muscicola</i>	<i>Nostoc paludosum</i>
Концентрация макроэлементов (разы по отношению к контролю)				
1,5	124,5	127,8	153,3	185,9
2,0	126,1	166,2	126,1	196,4
Концентрация микроэлементов (разы по отношению к контролю)				
1,5	133,0	120,0	161,3	163,6
2,0	199,5	180,0	242,0	245,4
4,0	209,5	189,0	254,1	257,7
5,0	211,5	203,2	266,6	277,1
10,0	220,1	219,5	267,0	299,4
Концентрация агар-агара (%)				
0,025	133,0	120,0	153,5	163,6
0,05	199,5	180,0	245,5	261,8
0,1	219,5	207,0	212,7	210,0
0,25	138,3	100,8	109,6	94,4
0,5	200,3	72,0	200,3	85,0
Концентрация CO ₂ (сухой лед, г/л)				
10	150	160,0	150,0	160,0
25	285,0	304,0	375,0	368,0
50	170	170,0	227,2	217,0
100	161,5	161,1	107,7	161,1
250	71,0	68,9	127,1	116,9

Примечание: жирным шрифтом выделены максимальные значения.

с концентрациями применяемых веществ отражены в таблице 2.

Выводы

В процессе массового культивирования ЦБ большое значение имеет уровень освещённости. Переход от выращивания ЦБ в люминостате при освещённости 1000 лк к биореактору при освещённости 4000 лк приводит к возрастанию темпов размножения у *N. paludosum* почти в 2 раза, а у *F. muscicola* в 3,5 раза.

Манипуляции с изменением концентрации макро- и микроэлементов в составе стандартной питательной среды Громова № 6 без азота показали, что оптимальным для выращивания ЦБ является увеличение концентрации макроэлементов в 1,5 раза, а микроэлементов в 2 раза.

К стимуляции размножения испытуемых видов ЦБ приводит переход в процессе культивирования от плотной питательной среды к полужидкой с концентрацией агар-агара на уровне 0,05%.

Из всех испытанных приёмов модификации среды культивирования наибольший эффект получен от её насыщения углекислотой. При концентрации CO₂ в виде сухого льда, равной 25 г/л, интенсивность размножения ЦБ при 8-недельном культивировании возрастает почти в 3,8 раза, по сравнению с контролем.

Таким образом, изменяя уровень освещённости, концентрацию макро-, микроэлементов и агар-агара, а также дополнительно насыщая питательную среду углекислым газом в виде сухого льда, можно добиться существенного увеличения выхода цианобактериальной биомассы, необходимой для создания биопрепаратов полифункционального действия.

Литература

References

1. Андреюк Е.И., Коптева Ж.П., Занина В.В. Цианобактерии. Киев: Наукова думка, 1990. 200 с.
2. Ефимов А.А. Синезелёные водоросли гидротерм Камчатки как источник биологически активных веществ // Роль системообразующего фактора в процессе формирования и развития объединяющих территорий: Материалы Межрегиональной научно-практической конференции. Петропавловск-Камчатский, 2006. С. 158–161.
3. Chakdar H., Jadhav S.D., Dhar D.W., Pabbi S. Potential applications of blue green algae // Journal of Scientific and Industrial Research. 2012. V. 71. P. 13–20.
4. Лукьянов В.А., Стифеев А.И. Прикладные аспекты применения микроводорослей в агроценозе. Курск: Изд-во Курской государственной сельскохозяйственной академии, 2014. 182 с.
5. Abed R.M.M., Dobretsov S., Sudesh K. Applicatoins of cyanobacteria in biotechnology // J. of Appl. Microbiology. 2009. V. 106. № 1. P. 1–12.
6. Домрачева Л.И., Кондакова Л.В., Попов Л.Б., Зыкова Ю.Н. Биоремедиационные возможности почвенных цианобактерий (обзор) // Теоретическая и прикладная экология. 2009. № 1. С. 8–18.
7. Панкратова Е.М., Трефилова Л.В. Симбиоз как основа существования цианобактерий в естественных условиях и в конструируемых системах // Теоретическая и прикладная экология. 2007. № 1. С. 4–14.
8. 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. Киров: Изд-во ВятГГУ, 2012. С. 232–252.
9. Кондакова Л.В., Домрачева Л.И., Огородникова С.Ю., Олькова А.С., Кудряшов Н.А., Ашихмина Т.Я. Биоиндикационные и биотестовые реакции организмов на действие метилфосфонатов и пирофосфата натрия // Теоретическая и прикладная экология. 2014. № 4. С. 63–69.
10. Домрачева Л.И., Трефилова Л.В., Ковина А.Л., Горностаева Е.А., Казакова Д.В., Субботина Е.С. Микробная интродукция и состояние почвенной аборигенной микрофлоры // Теоретическая и прикладная экология. 2015. № 2. С. 55–59.
11. Фокина А.И., Горностаева Е.А., Огородникова С.Ю., Зыкова Ю.Н., Домрачева Л.И., Кондакова Л.В. Адаптационные резервы почвенных природных биоплёнок с доминированием цианобактерий р. *Phormidium* // Сибирский экологический журнал. 2015. № 6. С. 842–851.
12. Кудряшов Н.А., Симакова В.С., Домрачева Л.И. Совершенствование методов культивирования цианобактерий // Водоросли и цианобактерии в природных и сельскохозяйственных экосистемах: Матер. II Междунар. научно-практической конф., посвящённой 105-летию со дня рождения профессора Эмили Адриановны Штиной. Киров: Вятская ГСХА, 2015. С. 186–191.
13. Калинин А.А., Трефилова Л.В., Ковина А.Л. Использование препарата «Ризоверм» под бобовые культуры. Киров: Вятская ГСХА, 2015. 28 с.

1. Andreyuk E.I., Kopteva Zh.P., Zanina V.V. Cyanobacteria. Kiev: Naukova dumka, 1990. 200 p. (in Russian).
2. Efimov A.A. Blue-green algae of the hydrotherm of Kamchatka as a source of biologically active substances // The role of the system-forming factor in the process of formation and development of unifying territories: Materialy Mezhhregionalnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii. Petropavlovsk-Kamchatskiy, 2006. P. 158–161 (in Russian).
3. Chakdar H., Jadhav S.D., Dhar D.W., Pabbi S. Potential applications of blue green algae // Journal of Scientific and Industrial Research. 2012. V. 71. P. 13–20.
4. Lukyanov V.A., Stifeyev A.I. Applied aspects of microalgae application in agroecosis. Kursk: Izd-vo Kurskoy gosudarstvennoy selskokhozyaystvennoy akademii, 2014. 182 p. (in Russian).
5. Abed R.M.M., Dobretsov S., Sudesh K. Applicatoins of cyanobacteria in biotechnology // J. of Appl. Microbiology. 2009. V. 106. No. 1. P. 1–12.
6. Domracheva L.I., Kondakova L.V., Popov L.B., Zykova Yu.N. Bioremediation possibilities of soil cyanobacteria (review) // Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2009. No. 1. P. 8–18 (in Russian).
7. Pankratova E.M., Trefilova L.V. Symbiosis as a basis for the existence of cyanobacteria in natural conditions and in constructed systems // Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2007. No. 1. P. 4–14 (in Russian).
8. Fokina A.I., Domracheva L.I., Zykova Yu.N., Berезin G.I., Zlobin S.S. Microorganisms as biosorbents of pollutants // Features of urboecosystems of the subzone of the southern taiga of the European Northeast. Kirov: Izd-vo VyatGGU, 2012. P. 232–252 (in Russian).
9. Kondakova L.V., Domracheva L.I., Ogorodnikova S.Yu., Olkova A.S., Kudryashov N.A., Ashikhmina T.Ya. Bioindication and biotest reactions of organisms to the action of methylphosphonates and sodium pyrophosphate // Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2014. No. 4. P. 63–69 (in Russian).
10. Domracheva L.I., Trefilova L.V., Kovina A.L., Gornostayeva E.A., Kazakova D.V., Subbotina E.S. Microbial introduction and the state of soil aboriginal microflora // Teoreticheskaya i prikladnaya ekologiya. 2015. No. 2. P. 55–59 (in Russian).
11. Fokina A.I., Gornostayeva E.A., Ogorodnikova S.Yu., Zykova Yu.N., Domracheva L.I., Kondakova L.V. Adaptation reserves of soil natural biofilms with dominance of cyanobacteria r. *Phormidium* // Sibirskiy ekologicheskiy zhurnal. 2015. No. 6. P. 842–851 (in Russian).
12. Kudryashov N.A., Simakova V.S., Domracheva L.I. Perfection of methods of cultivation of cyanobacteria // Algae and cyanobacteria in natural and agricultural ecosystems: Mater. II Mezhdunar. nauchno-prakticheskoy konf., posvyashchennoy 105-letiyu so dnya rozhdeniya professora Emilii Adrianovny Shtinoy. Kirov: Vyatskaya GSKhA, 2015. P. 186–191 (in Russian).
13. Kalinin A.A., Trefilova L.V., Kovina A.L. Use of the drug “Rizoverm” for legumes. Kirov: Vyatskaya GSKhA, 2015. 28 p. (in Russian).