

УДК 606:636.085

UDC 606:636.085

03.00.00 Биологические науки

Biological sciences

ИНТЕНСИФИКАЦИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ХЛОРЕЛЛЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НАНОЧАСТИЦ ЖЕЛЕЗА

INTENSIFICATION OF CULTIVATION OF CHLORELLA WITH THE USE OF IRON NANOPARTICLES

Плутахин Геннадий Андреевич
к. б. н., доцент, профессор
SPIN-код: 6914-5940
Scopus ID: 55102866400

Plutakhin Gennady Andreevitch
Cand.Biol.Sci.
SPIN-code: 6914-5940
Scopus ID: 55102866400

Мачнева Надежда Леонидовна
к. б. н. старший преподаватель
SPIN-код: 6931-4477

Machneva Nadezhda Leonidovna
Cand. Biol. Sci., senior lecturer
SPIN-code: 6931-4477

Трохимчук Николай Николаевич
студент
Кубанский государственный аграрный университет имени И. Т. Трубилина, Краснодар, Россия

Trokhimchuk Nikolai Nikolaevich
student
Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

Изучено влияние наночастиц восстановленного железа и его оксида Fe₂O₃, добавленных в питательную среду Тамия, на скорость роста *Chlorella vulgaris* ИФР №С-111. В диапазоне концентраций добавок 0-0,1 г/л оксид ингибировал рост микроводоросли уже при содержании его в среде 6,25*10⁻³ г/л. С увеличением же концентрации восстановленного железа в первые сутки во всем диапазоне наблюдали рост концентрации клеток микроводоросли. При максимальной концентрации железа 0,1 г/л плотность хлореллы превышала контроль на 70 %, а через 48 часов на 150 %. Микроскопия не показала морфологических изменений клеток хлореллы. Ускорение размножения клеток микроводоросли стало результатом интенсификация фотосинтетических процессов, на что указывает характер параметров замедленной флуоресценции (ЗФ) хлорофилла и формы индукционных кривых. Максимальный уровень ЗФ во всех опытных образцах после 24-х часов культивирования значительно превышал контрольный, а фотосинтетическая активность возрастала с увеличением концентрации наночастиц. После 48 часов максимальной активность была при концентрации наножелеза 0,0125 мг/л, затем уменьшалась. Это показывает, что при интенсивном росте хлореллы быстрее исчерпывался потенциал питательной среды, что приводило к снижению фотосинтетических процессов

The influence of reduced iron nanoparticles and its oxide Fe₂O₃ on the growth rate of *Chlorella vulgaris* IFR # S-111 added to the Tamiya nutrient medium is studied. In the range of concentration of additives 0-0,1 g/l (gram per litre) an oxide inhibited the growth of microalga already when its content in the environment 6,25*10⁻³ g/l. With the increase of reduced iron concentration in the first twenty-four hours in the whole range the growth of the cell concentration of microalga was observed. With a maximum iron concentration of 0,1 g/l the density of a chlorella exceeded the control for 70%, and in 48 hours for 150%. The microscopy hasn't shown morphological changes of a chlorella cells with addition of the nanoparticles to nutrient medium. Accelerated reproduction of the microalga cells became the result of the intensification of the photosynthetic processes, as indicated by the nature of the parameters of delayed fluorescence (DF) of chlorophyll and shapes of the induction curves. The maximum level of DF in all experimental samples after 24 hours of cultivation was significantly higher than the control, and photosynthetic activity increased with increasing concentration of nanoparticles. In 48 hours the maximum activity was observed at concentration of nano iron 0,0125 mg/l, then decreased. It shows that with an intensive growth of a chlorella the potential of nutrient medium was quicker exhausted that led to decrease in intensity of photosynthetic processes

Ключевые слова: ХЛОРЕЛЛА, НАНОЧАСТИЦЫ ЖЕЛЕЗА, ЗАМЕДЛЕННАЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ ХЛОРОФИЛЛА

Keywords: CHLORELLA, IRON NANOPARTICLES, DELAYED FLUORESCENCE OF CHLOROPHYLL

Doi: 10.21515/1990-4665-126-054

Введение

Интенсивное развитие в современном мире нанотехнологий, базирующихся на использовании структуры веществ, обладающих полезными функциями и имеющими размеры в пределах ста нанометров, является характерной чертой XXI столетия. Высокая химическая и биологическая активность, способностью проникать через биологические барьеры определяют уникальность наноматериалов. Исследование их свойств и механизмов действия дает возможность широкого применения в сельском хозяйстве и медицине. Одним из перспективных направлений в сельскохозяйственном производстве является использование наноматериалов для получения нетрадиционных кормовых добавок (4; 5).

К живым кормовым добавкам из класса протококковых относится микроскопическая одноклеточная зеленая водоросль хлорелла (*Chlorella vulgaris*). Она богата ценными питательными веществами, среди которых в легкоусваиваемом виде незаменимые аминокислоты, жиры, витамины, макро- и микроэлементы. Кроме того она стимулирует иммунитет и обладает антибактериальными свойствами. Последнее свойство определяется природным антибиотиком хлореллином, синтезируемым хлореллой и активным как против грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов.

В настоящее время сельскохозяйственному производству требуются кормовые добавки, которые обогащают рационы и придают им новые свойства (7; 8; 10; 13; 15; 16). Это делает актуальным поиск новых технологических решений ускоренного наращивания биомассы хлореллы, повышения ее ценности и продуктивности (9). Доля энергетических процессов фотосинтеза является определяющей в ускорении ростовых процессов у растений и водорослей, так как интенсивность фотосинтетических процессов определяет урожайность культуры.

Важная роль в биосинтезе основного компонента хлоропластов растений и водорослей хлорофилла принадлежит железу. Железо также входит в состав ферментов фотосинтетической электрон-транспортной цепи – цитохромов, ферредоксина, железосерных центров. Достаток железа в клетках способствует интенсификации синтеза железосодержащих ферментов, стимулируя фотосинтетическую активность хлореллы. Это положение стало нашей рабочей гипотезой и обоснованием для использования в питательной среде для культивирования хлореллы наночастиц железа.

Методики исследований

Объектом исследования стала *Chlorella vulgaris* ИФР №С-111, выращиваемая на питательной среде Тамия, содержащей различные концентрации наночастиц железа нулевой валентности, полученное методом водородного восстановления при температуре 350 ... 420 °С со средним размером частиц 80 нм (1), или его оксида Fe₂O₃. Нанодисперсный порошок оксида железа имел размеры 30...80 нм и был получен с помощью плазменного метода (6).

Культивирование хлореллы проводили в культиваторе КВМ-05 в течение 24 и 48 часов, в питательную среду добавляли наночастицы согласно методике (2). Микроскопию хлореллы проводили в камере Горяева в проходящем свете и методом люминесцентной микроскопии на микроскопе фирмы «Carl ZEISS» модель AXIO Imager A1.

Оценку концентрации клеток хлореллы и наночастиц железа во всех экспериментах проводили путем измерения оптической плотности ее суспензии в пенициллиновых флаконах измерителем ИПС-03, длина волны измеряющего света 560 нм. При необходимости перевод значений оптической плотности суспензии хлореллы в концентрацию, выражаемую в количестве клеток в одном кубическом сантиметре, проводился согласно фор-

муле: $N = kD$ где N – количество клеток, k – коэффициент пропорциональности (полученный нами равен 1134000), D – оптическая плотность.

Физиологическое состояние водоросли и ее фотосинтетическую активность оценивали по параметрам замедленной флуоресценции хлорофилла F_0 (интенсивность быстрой флуоресценции), F_m (максимальная интенсивность $3F$) и V/N на флуориметре «Фотон-10» в 9-ти повторах. Отношение V/N отражает интенсивность фотосинтетических процессов, протекающих одновременно на световой и темновой стадиях – чем выше значение V/N , тем активнее протекает фотосинтез.

Объемное культивирование хлореллы проводили в 100 л стеклянном культиваторе в режиме постоянного освещения.

Результаты и обсуждение

Интенсивность фотосинтеза в хлорелле определяет урожайность культуры. В ее фотосинтетические электрон-транспортные цепи входят ферменты, содержащие железо: цитохромы, ферредоксин, железосерные центры. Для их синтеза необходимо наличие достаточного количества этого элемента в цитоплазме.

Скорость транспорта ионов Fe^{3+} в клетку хлореллы определяют сидерофоры - низкомолекулярные вещества, связывающие ионы и переносящие их через мембрану (14). Активация транспорта внутрь клетки железа может интенсифицировать синтез железосодержащих ферментов и в связи с этим фотосинтетическую активность хлореллы (12). Таким альтернативным путем транспорта железа внутрь клетки может быть перенос его через мембрану в его форме наночастиц. Низкая токсичность металлов в ультрадисперсной форме, пролонгированность действия на биосистемы являются предпосылками для использования их в качестве биостимуляторов роста хлореллы (3; 11).

В связи с этим нами было исследовано влияние наночастиц железа двух форм: нулевой валентности и его оксида на скорость роста хлореллы. Для проведения опыта был использован культиватор КВМ-05 и гостированная методика определения токсичности вод. Оптическую плотность клеток и наночастиц определяли на измерителе оптической плотности ИПС-03, фотосинтетическую – активность измерением параметров замедленной флуоресценции (флуориметр «Фотон 10»).

Нанопорошок нейтрального железа был получен водородным восстановлением твердых гидроксидов железа в атмосфере восстановительного газа при температуре 350–420 °С (1). Посредством электронного микроскопа с полевой эмиссией JSM 7500F были получены фотографии нанопорошка железа, средний размер которых составил 80 нм. Нанодисперсный порошок оксида железа имел размер частиц 30–80 нм (6). Оба порошка имели черный цвет, без запаха.

Так как и суспензии наночастиц были черными, при их добавлении в культуральную среду хлореллы увеличивалась общая оптическая плотность, что естественно должно было мешать определению концентрации клеток использованным нами оптическим методом. Для надежного определения концентрации хлореллы была выбрана максимальная концентрация наножелеза, равная по оптической плотности поглощению света самой хлореллой в момент начала эксперимента (0,01 ое). Она для обоих образцов составила 0,1 г/л, далее ее уменьшали последовательным разведением в 2 раза до величины 0,00625 г/л.

Так как наночастицы в водных растворах способны к химическим превращениям, а их оптические характеристики в водной суспензии могли изменяться в процессе культивирования хлореллы, то возникла необходимость корректировки изменения в оптической плотности суспензии хлореллы, вызванные наночастицами. Для этого провели эксперимент, в котором во флакончиках культиватора в течение 24 часов были только суспен-

зии наночастиц. Результаты проведенных исследований для максимальной концентрации наножелеза представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Оптические плотности наночастиц железа в начале и через 24 часа культивирования

Время культивирования	Восстановленное железо, ое	Оксид железа Fe ₂ O ₃ , ое
0 часов	0,090±0,002	0,094±0,003
24 часа	0,004±0,0002	0,021±0,001

Суспензии, содержавшие наночастицы восстановленного железа, через 24 часа становились прозрачными, и их оптическая плотность даже при максимальной стартовой концентрации была близка к нулю. При культивировании наночастиц оксида железа в тех же условиях через 24 часа оптическая плотность составила 0,021 ое., что только в 2 раза меньше стартовой. По-видимому, эта форма, по сравнению с восстановленным железом, была более устойчивой к условиям окружающей среды. Таким образом, при добавлении к среде при культивировании микроводоросли восстановленного железа получаемая оптическая плотность через сутки будет отражать только концентрацию клеток хлореллы.

Динамика изменения оптической плотности суспензии хлореллы при культивировании в среде с добавлением наночастиц оксида железа представлена на рисунке 1.

Добавление наночастиц оксида железа даже в минимальной концентрации 0,0625 г/л привело к снижению оптической плотности суспензии по отношению к контролю на 23,5 %. Увеличение концентрации наножелеза в культуральной среде также приводило к снижению количества клеток хлореллы. При максимальной концентрации наножелеза (0,1 г/л) концентрация суспензии была в 2 раза снижена по отношению к контролю. Таким образом, при всех концентрациях наночастиц оксида железа происходит ингибирование размножения одноклеточной водоросли хлореллы.

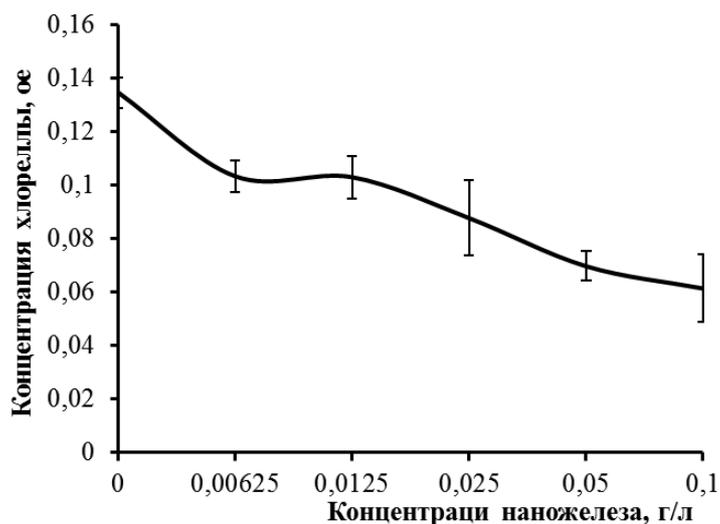


Рисунок 1 – Зависимость оптической плотности суспензии хлореллы от концентрации наночастиц оксида железа через 24 часа культивирования

При культивировании суспензии хлореллы в течение 24 часов во всех использованных концентрациях наночастиц восстановленного железа плотность суспензии хлореллы возрастала даже при минимальном содержании добавки (рисунок 2).

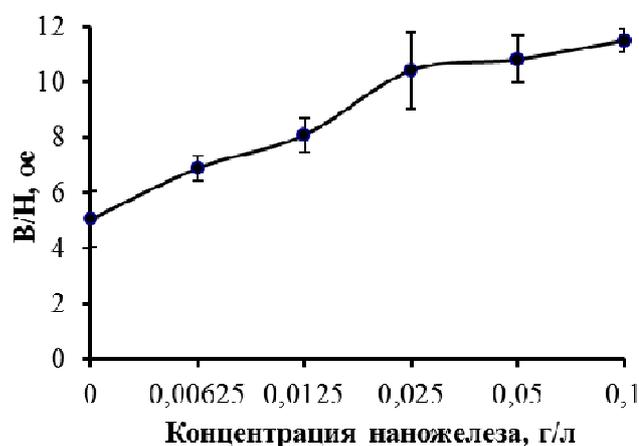


Рисунок 2 – Зависимость оптической плотности суспензии хлореллы от концентрации наночастиц восстановленного железа через 24 часа культивирования

Зависимость носила монотонный характер и при максимальной концентрации железа 0,1 г/л плотность хлореллы превышала контроль на 70 %. Следует отметить, что вариации в содержании хлореллы были ниже при низких концентрациях железа.

Таким образом, через 24 часа культивирования отмечалось положительное влияние наночастиц нейтрального железа на рост хлореллы, поэтому эксперимент был продолжен еще на одни сутки.

Через 48 часов концентрация микроводоросли в опытных образцах при минимальном содержании наночастиц нейтрального железа в два раза превышала контроль, и уже при концентрации 0,0125 г/л начинала выходить на стационарный уровень (рисунок 3). При содержании наночастиц 0,1 г/л плотность выросшей хлореллы была выше контроля в 2,5 раза.

Погрешности (представлены на рисунке), были значительно ниже, чем при суточном культивировании. При минимальной концентрации наночастиц погрешность составила 10,4 %, затем падала, и при максимальной концентрации была равна всего лишь 0,5 %. Это, по-видимому, связано с выходом скорости роста клеток хлореллы на стационарный уровень.

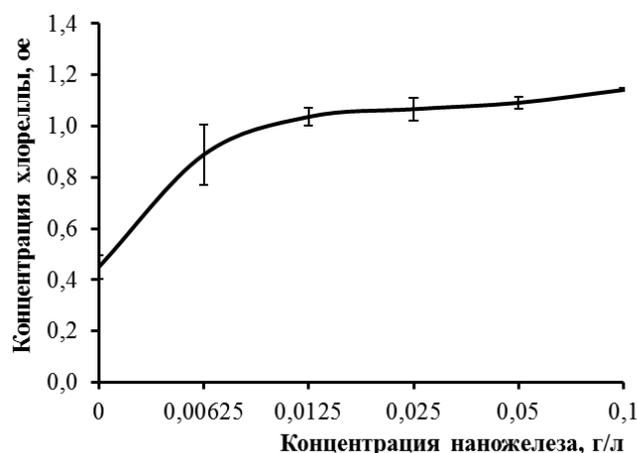


Рисунок 3 – Зависимость оптической плотности суспензии хлореллы от концентрации наночастиц восстановленного железа через 48 часов культивирования

Представленные выше результаты позволили предположить интенсификацию фотосинтетических процессов в микроводоросли, в результате чего она размножалась быстрее. Доказательством этому стали полученные нами параметры ЗФ суспензии хлореллы и ее индукционные кривые.

Интенсивность быстрой флуоресценции F_0 пропорциональна содержанию хлорофилла в исследуемых образцах. В наших экспериментах кривые зависимости оптических плотностей суспензий и интенсивностей F_0 от концентрации наночастиц железа были полностью идентичными (результаты не представлены). Самыми же показательными параметрами являются отношения интенсивности ЗФ при насыщающем освещении к интенсивности при низком освещении В/Н. Величина этого отношения отражает интенсивность фотосинтетических процессов, протекающих одновременно как на световой, так и на темновой стадиях – чем выше значение В/Н, тем лучше физиологическое состояние исследуемого фотосинтезирующего объекта, в нашем случае хлореллы (2). Изученная зависимость этого параметра от концентрации наночастиц через 24 часа от начала культивирования представлена на рисунке 4.

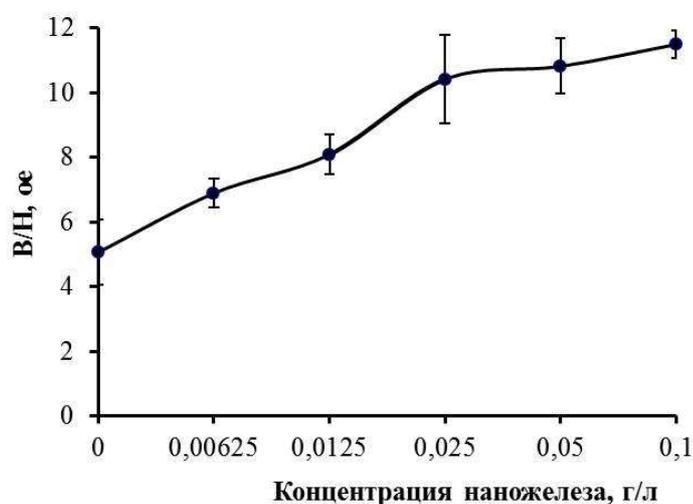


Рисунок 4 – Зависимость В/Н суспензии хлореллы от концентрации наночастиц восстановленного железа на 24 часа от начала опыта

Как следует из рисунка, значения В/Н возрастали при увеличении концентрации добавки и были достаточно высоки для всего диапазона концентраций. Даже при минимальном содержании наночастиц соотношение В/Н превышало контроль на 36 %, а при максимальной их concentra-

ции – 127 %. Таким образом, фотосинтез в первые сутки культивирования значительно активнее протекал в присутствии наночастиц железа.

На рисунке 5 представлены результаты по зависимости В/Н от концентрации наножелеза, полученные через 48 часов культивирования. При низких концентрациях наночастиц В/Н достаточно велико при высокой погрешности в оценке этого соотношения. Дальнейшее увеличение концентрации привело к значению параметра близкое к контролю при значительном уменьшении погрешности. По-видимому снижение величины отношения В/Н отражает исчерпание ресурсов самих фотосинтезирующих клеток в результате обеднения состава питательной среды.

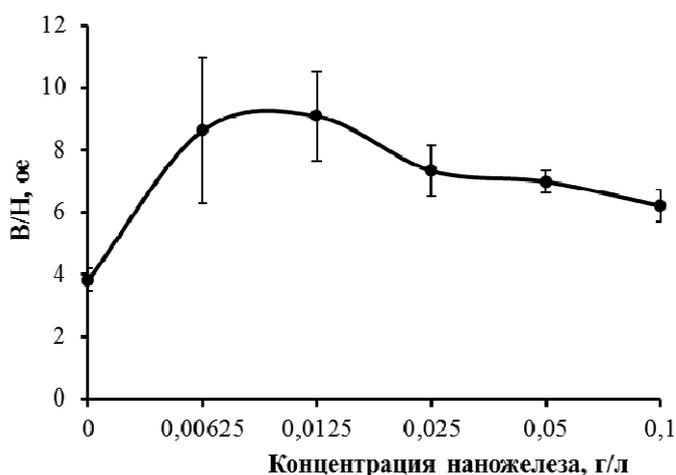


Рисунок 5 – Зависимость В/Н суспензии хлореллы от концентрации наночастиц восстановленного железа на 48 часов от начала опыта

Дополнительную информацию влияния наночастиц железа на фотосинтетические процессы дают индукционные кривые ЗФ суспензии хлореллы. Для времени культивирования 24 и 48 час они представлены на рисунках 6 и 7.

Все индукционные кривые ЗФ имеют примерно одинаковую форму. В момент включения света интенсивность флуоресценции возрастает до определенного значения, затем по истечении 1,3 сек возрастает до макси-

мума, спадающего через 1,8 сек после включения света. Затем интенсивности ЗФ возрастает и через 5 сек для всех индукционных кривых наблюдается второй максимум. В дальнейшем интенсивность ЗФ снижается до стационарного значения. Такая зависимость индукционных кривых от времени характерна для всех физиологически активных фотосинтезирующих листьев растений и суспензий микроводорослей.

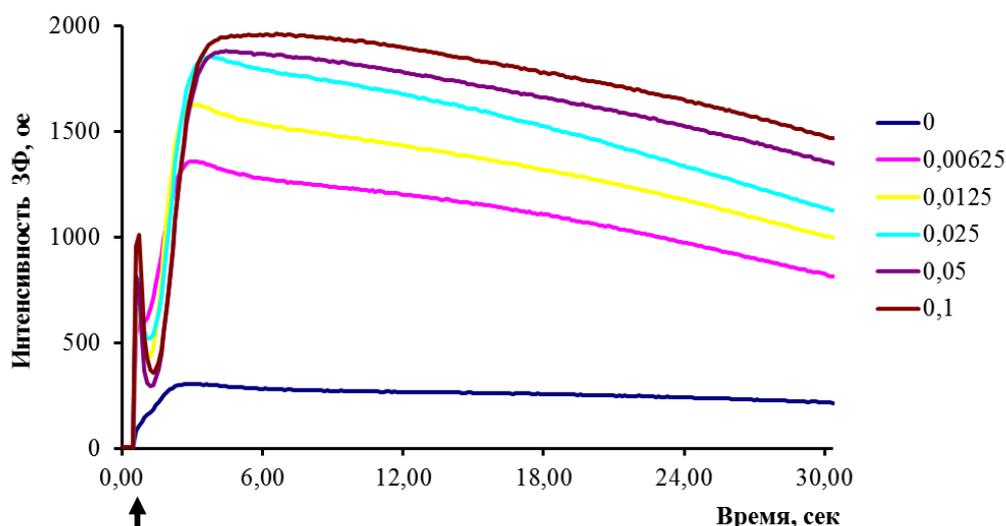


Рисунок 6 – Индукционные кривые ЗФ суспензии хлореллы при разных концентрациях наночастиц восстановленного железа (мг/л) после 24 часов от начала опыта (стрелкой указан момент включения света)

Во всех опытных образцах максимальный уровень ЗФ после 24-х часов культивирования значительно превышает контрольный. Даже при минимальной концентрации наночастиц железа (0,00625 г/л) он, являясь самым низким среди опытных образцов, превышает контроль в 5 раз. При максимальном содержании наножелеза отмечаются самые высокие значения интенсивности, превышающие максимальное значение контроля почти в 10 раз.

Через 48 часов культивирования индукционные кривые ЗФ хлореллы у всех опытных образцов так же были выше контроля (рисунок 13), а максимальное значение интенсивности флуоресценции было выше 3000 ое. При концентрации наножелеза 0,025 г/л интенсивность ЗФ максимальна –

3100 ое. Максимальное же содержание наножелеза привело к уменьшению уровня ЗФ до 2600 ое.

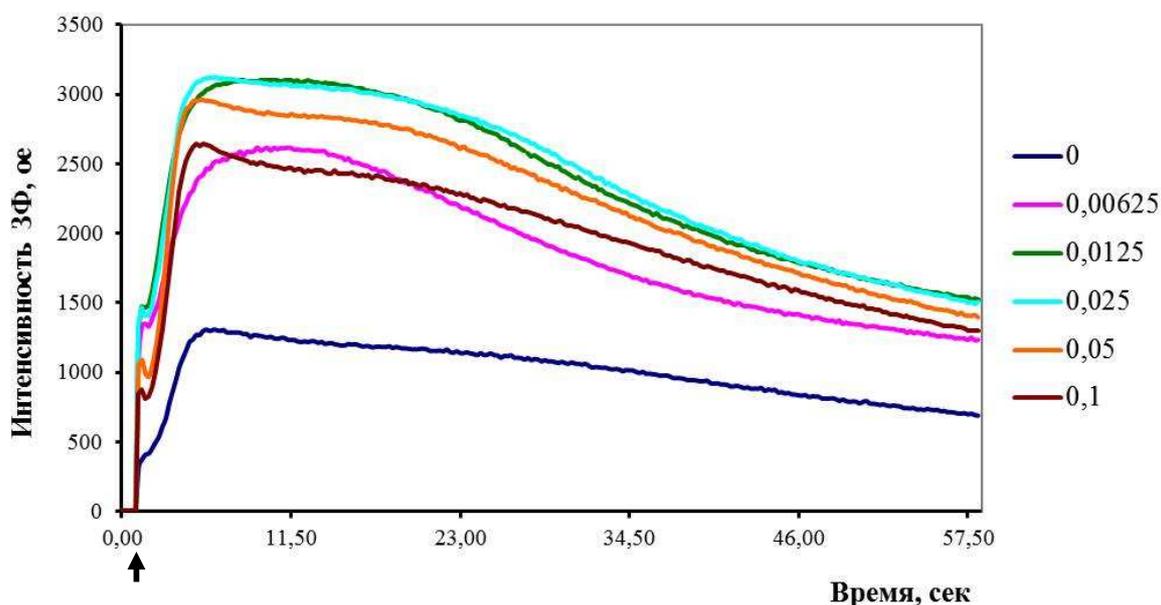


Рисунок 7 – Индукционные кривые ЗФ суспензии хлореллы при разных концентрациях наночастиц восстановленного железа (мг/л) после 48 часов от начала опыта (стрелкой указан момент включения света)

Это еще раз свидетельствует о том, что исчерпание потенциала питательной среды при интенсивном росте хлореллы приводит к снижению интенсивности фотосинтетических процессов.

Для оценки возможного влияния наножелеза на морфологические характеристики культуры хлореллы проводили люминесцентную микроскопию и микроскопию суспензии в проходящем свете. Как и все хлорофиллсодержащие клетки, хлорелла люминесцирует при возбуждении фиолетовым светом, при этом цвет люминесценции красный. На рисунке 8 представлены фотографии культуры, выращенной при максимальной концентрации наночастиц восстановленного железа после 48 часового ее культивирования. Как следует из рисунка, морфологические характеристики хлореллы контрольного и опытного образцов идентичны, разница наблюдается только в концентрации клеток хлореллы. Аналогичные результаты получены для всех концентраций наночастиц.

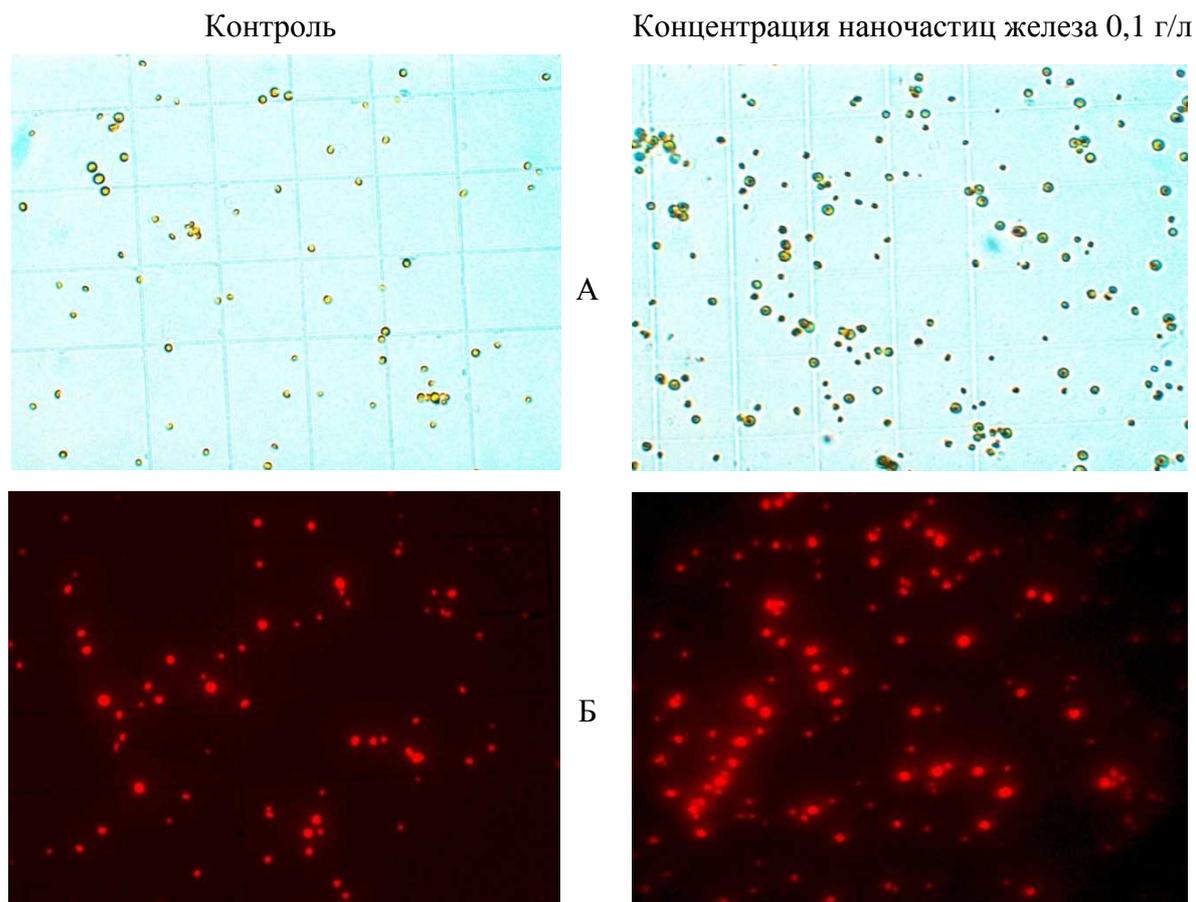


Рисунок 8 – Светлопольная (А) и люминесцентная (Б) микроскопия хлореллы

Изучая динамику роста клеток на выбранной среде, проводимую в процессе культивирования хлореллы в 100 л ферментере, получили типичную логистическую кривую роста популяции микроорганизмов. Стационарного состояния численность клеток хлореллы достигала на шестые – седьмые сутки на обычной питательной среде и на третьи – четвертые сутки на питательной среде с добавлением наночастиц восстановленного железа.

Заключение

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что наножелезо является эффективным стимулятором фотосинтетических процессов у микроводорослей, в результате чего скорость роста культуры увеличивается почти в два раза.

Литература

1. Барышев, М. Г. Исследование электрических и магнитных свойств нанопорошка железа / М. Г. Барышев, Н. С. Васильев // XLIV Школа ПИЯФ РАН, ГАТЧИНА по Физике Конденсированного Состояния ФКС. – Гатчина, 2010. – С. 45.
2. Григорьев, Ю. С. Методика определения токсичности проб поверхностных пресных, грунтовых, питьевых, сточных вод, водных вытяжек из почвы, осадков сточных вод и отходов по изменению оптической плотности культуры водоросли хлорелла (*Chlorella vulgaris* Beijer) / Ю. С. Григорьев. – Москва. – 2004.
3. Дорогов, М. Е. Использование ультрадисперсных порошков железа в растениеводстве / М. Е. Дорогов, А. А. Назарова, А. В. Кузин [и др.]. // Сб. науч. тр. профессорско-преподавательского состава РГАТУ им. П. А. Костычева: Материалы научно-практической конференции 2008 г. – Рязань: Изд-во РГАТУ, 2008. – С. 90-92.
4. Иваницева, Ю. Н. Эколого-биологические эффекты нанопорошков кобальта, меди и оксида меди в системе растения – животные : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.08 / Иваницева Юлия Николаевна – Балашиха, 2012. – 21 с.
5. Коваленко, Л. В. Биологически активные нанопорошки железа / Л. В. Коваленко, Г. Э. Фолманис. – М.: Наука. – 2006. – С. 126.
6. Кульзенева, М. П. Фармакологические свойства нанодисперсных препаратов железа и их применение при железодефицитной анемии поросят : Автореф. дис. канд. вет. наук : 06.02.03 / Кульзенева М. П.. Краснодар, 2010
7. Мачнева, Н. Л. Разработка пробиотической кормовой добавки для использования в птицеводстве / Н. Л. Мачнева [и др.] // Молодой ученый. 2015. № 13 (93). С. 252-255
8. Мачнева, Н. Л. Эффективность использования функциональной кормовой добавки в перепеловодстве / Н. Л. Мачнева [и др.] // Молодой ученый. 2015. № 13 (93). С. 246-249.
9. Мельников, С. С. Оптимизация условий выращивания хлореллы / С. С. Мельников и др. // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. Серыя біялагічных навук. 2014. № 3. С. 52-56.
10. Петенко А. И. Биохимические и микробиологические аспекты получения биопродуктов и фармпрепаратов и эффективность их применения в птицеводстве // А. И. Петенко [и др.] // Труды Кубанского государственного аграрного университета. 2015. № 52. С. 212-218.
11. Потапова, Л. В. Практические рекомендации по использованию порошка ультрадисперсного железа при возделывании масличных крестоцветных культур / Л. В. Потапова, Д. В. Виноградов – Рязань: РГАТУ, 2008. – 8 с.
12. Рубин, А. Б. Принципы регуляции и модельные системы первичных процессов фотосинтеза / А. Б. Рубин. – М.: Итоги науки и техники. ВИНТИ АН СССР. Сер. Биофизика. – 1987. – Т. 22. – 210 с.
13. Федоренко, К. П. Влияние обработки электрохимически активированными водными растворами и концентрации в них кислорода на скорость прорастания ячменя / К. П. Федоренко [и др.] // Молодой ученый. 2015. № 13 (93). С. 342-345.
14. Babikin, M. M. Genetic control of iron homeostasis in cyanobacterium *Synechococcus* sp. PPC 6803 / M. M. Babikin, N. V. Korobova, V. V. Zinchenko // The International Conference Physiology and Biotechnology of Microalgae, Moscow, October 16-19. – 2012. – p. 15.
15. Koshchayev, A. G Perspectives of use a polystrain feed probiotic in poultry / A. G. Koshchayev, Y. A. Lysenko, O. V. Koshchayeva // Advances in Agricultural and Biological Sciences. 2015. T. 1. № 2. С. 44-52.

16. Plutakhin, G. A. Quality assessment of chicken meat by analysis-of-variance method / G. A. Plutakhin, A. G. Koshchaev, I. M. Donnik // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. 2016. T. 7. № 3. С. 2293-2299.

References

1. Baryshev, M. G. Issledovanie jelektricheskikh i magnitnykh svojstv nanoporoshka zheleza / M. G. Baryshev, N. S. Vasil'ev // XLIV Shkola PIJaF RAN, GATChINA po Fizike Kondensirovannogo Sostojanija FKS. – Gatchina, 2010. – S. 45.
2. Grigor'ev, Ju. S. Metodika opredelenija toksichnosti prob poverhnostnykh presnykh, gruntovykh, pit'evykh, stochnykh vod, vodnykh vytjazhek iz pochvy, osadkov stochnykh vod i othodov po izmeneniju opticheskoy plotnosti kul'tury vodoros-li hlorella (*Chlorella vulgaris* Beijer) / Ju. S. Grigor'ev. – Moskva. – 2004.
3. Dorogov, M. E. Ispol'zovanie ul'tradispersnykh poroshkov zheleza v rastenievodstve / M. E. Dorogov, A. A. Nazarova, A. V. Kuzin [i dr.]. // Sb. nauch. tr. professorskopredavatel'skogo sostava RGATU im. P. A. Kostycheva: Materialy nauchno-prakticheskoy konferencii 2008 g. – Rjazan': Izd-vo RGATU, 2008. – S. 90-92.
4. Ivanycheva, Ju. N. Jekologo-biologicheskie jeffekty nanoporoshkov kobal'ta, medi i oksida medi v sisteme rastenija – zhivotnye : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 03.02.08 / Ivanycheva Julija Nikolaevna – Balashiha, 2012. – 21 s.
5. Kovalenko, L. V. Biologicheski aktivnye nanoporoshki zheleza / L. V. Kovalenko, G. Je. Folmanis. – M.: Nauka. – 2006. – S. 126.
6. Kul'zeneva, M. P. Farmokologicheskie svojstva nanodispersnykh preparatov zheleza i ih primenenie pri zhelezodeficitnoj anemii porosjat : Avtoref. dis. kand .vet. nauk : 06.02.03 / Kul'zeneva M. P.. Krasnodar, 2010
7. Machneva, N. L. Razrabotka probioticheskoy kormovoj dobavki dlja ispol'zovanija v pticevodstve / N. L. Machneva [i dr.] // Molodoj uchenyj. 2015. № 13 (93). S. 252-255
8. Machneva, N. L. Jefferktivnost' ispol'zovanija funkcional'noj kormovoj do-bavki v perepelovodstve / N. L. Machneva [i dr.] // Molodoj uchenyj. 2015. № 13 (93). S. 246-249.
9. Mel'nikov, S. S. Optimizacija uslovij vyrashhivaniya hlorelly / S. S. Mel'nikov i dr. // Vesci Nacyjanal'naj akad'emii navuk Belarusi. Seryja bijalagichnykh navuk. 2014. № 3. S. 52-56.
10. Petenko A. I. Biohimicheskie i mikrobiologicheskie aspekty poluchenija bioproduktov i farmpreparatov i jefferktivnost' ih primenenija v pticevodstve // A. I. Petenko [i dr.] // Trudy Kubanskogo gosudarstvennogo agrarnogo univer-siteta. 2015. № 52. S. 212-218.
11. Potapova, L. V. Prakticheskie rekomendacii po ispol'zovaniju poroshka ul'tradispersnogo zheleza pri vzdelyvanii maslichnykh krestocvetnykh kul'tur / L. V. Potapova, D. V. Vinogradov – Rjazan': RGATU, 2008. – 8 s.
12. Rubin, A. B. Principy reguljacji i model'nye sistemy pervichnykh processov fotosinteza / A. B. Rubin. – M.: Itogi nauki i tehniki. VINITI AN SSSR. Ser. Biofizika. – 1987. – T. 22. – 210 s.
13. Fedorenko, K. P. Vlijanie obrabotki jelektrohimičeski aktivirovannymi vodnymi rastvorami i koncentracii v nih kisloroda na skorost' prorastanija jach-menja / K. P. Fedorenko [i dr.] // Molodoj uchenyj. 2015. № 13 (93). S. 342-345.
14. Babikin, M. M. Genetic control of iron homeostasis in cyanobacterium *Synechococcus* sp. PPC 6803 / M. M. Babikin, N. V. Korobova, V. V. Zinchenko // The International Conference Physiology and Biotechnology of Microalgae, Moscow, October 16-19. – 2012. – p. 15.