ГЕНЕТИКА ВОДОРОСЛЕЙ

Л.Н.Цоглин,
М.Г.Владимирова,
В.Е.Семененко

АВТОСЕЛЕКЦИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В УСЛОВИЯХ ПРОТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ

(Институт физиологии растений
имени К.А.Тимирязева
АН СССР, Москва, СССР)

Интенсификация процесса биосинтеза при практическом использовании микроводорослей проводится в основном тремя путями: оптимизацией внешних условий, подбором наиболее продуктивных форм и селекцией новых штаммов, обладающих большей фотосинтетической активностью. Часто возникает ситуация, при которой отсутствует возможность изменения параметров культивирования. В этих условиях для получения максимальной продуктивности важнейшее значение приобретает правильный выбор культур. Отсутствие твердых критериев и разнообразие штаммов микроводорослей создают значительные трудности для отбора наиболее продуктивной формы на заданные условия культивирования.

Рассмотрение закономерностей роста сложной популяции, состоящей из смеси различных форм, позволило (Цоглин и др., 1967, 1970) сформулировать вывод о существовании в этих условиях автоселекции и предложить метод автоматического конкурсного отбора высокопродуктивных форм микроводорослей, основанный на выращивании многокомпонентной популяции (получаемой в результате смешения различных форм, из которых нужно отобрать наиболее продуктивную для заданного сочетания параметров культивирования) в проточном режиме.

В настоящее время в селекционной практике для выделения малых количеств продуктивных мутантов используется метод многократных разведений суспензии, растущей в накопительном режиме (Ваулина, 1969) Однако при проточном культивировании со стабилизацией плотности

суспензии, позволяющем вести выращивание в диапазоне максимальных скоростей роста и обеспечить постоянство заданных внешних параметров, процессы отбора коренным образом отличаются от селекции при накопительном культивировании.

Скорость протока при турбидостатном культивировании многокомпонентной популяции определяется суммарным приростом числа клеток, а вынос клеток отдельных составляющих зависит только от их относительной концентрации. В свою очередь изменение относительной концентрации зависит от разности между количеством прирастающих клеток каждого штамма и их выносом при потоке. В результате происходит уменьшение численности штаммов, для которых скорость прироста ниже скорости выноса. Это приводит к возрастанию скорости протока, и процесс продолжается до полного выделения в культиваторе наиболее продуктивной формы.

Процесс автоселекции при турбидостатном культивировании микроводорослей в общих чертах подобен отбору форм бактерий на проточке (Bryson, 1952; Novick, 1955; Herbet e.a., 1956, Moser, 1957; Northrop a. Kunitz, 1957), но имеет ряд существенных отличий, связанных со спецификой фотосинтезирующих микроорганизмов. Математический анализ динамики роста сложной популяции при стабилизации протока на различных плотностях дает следующие системы уравнений:

$$\left.\begin{aligned} dN_1 &= N_1\mu_1 dt - \sum_{i=1}^{m} N_i\mu_i dt \cdot \frac{N_1}{N_{общ}} \\ dN_2 &= N_2\mu_2 dt - \sum_{i=1}^{m} N_i\mu_i dt \cdot \frac{N_2}{N_{общ}} \\ dN_m &= N_m\mu_m dt - \sum_{i=1}^{m} N_i\mu_i dt \cdot \frac{N_m}{N_{общ}} \end{aligned}\right\} \text{Для экспоненциальной стадии} \qquad (1)$$

и несколько более сложную для линейной стадии:

$$\left.\begin{aligned} dN_1 &= \frac{N_1}{N_{общ}}\mu_1 dt \cdot \sum_{i=1}^{m} N_{ai}\frac{N_i}{N_{общ}} - \frac{N_1}{N_{общ}} \cdot \sum_{i=1}^{m}\left(\frac{N_i}{N_{общ}}\mu_i dt \cdot \sum_{i=1}^{m} N_{ai}\frac{N_i}{N_{общ}}\right) \\ dN_2 &= \frac{N_2}{N_{общ}}\mu_2 dt \cdot \sum_{i=1}^{m} N_{ai}\frac{N_i}{N_{общ}} - \frac{N_2}{N_{общ}} \cdot \sum_{i=1}^{m}\left(\frac{N_i}{N_{общ}}\mu_i dt \cdot \sum_{i=1}^{m} N_{ai}\frac{N_i}{N_{общ}}\right) \\ dN_m &= \frac{N_m}{N_{общ}}\mu_m dt \cdot \sum_{i=1}^{m} N_{ai}\frac{N_i}{N_{общ}} - \frac{N_m}{N_{общ}} \cdot \sum_{i=1}^{m}\left(\frac{N_i}{N_{общ}}\mu_i dt \cdot \sum_{i=1}^{m} N_{ai}\frac{N_i}{N_{общ}}\right) \end{aligned}\right\} \qquad (2)$$

В этих уравнениях через $N_{1\ldots m}$ обозначена численность штаммов, входящих в популяцию от 1-го до m-го в момент времени t; $\mu_{1\ldots m}$ – удельные коэффициенты размножения; $N_{общ}$ – плотность, на которой ведется проточное культивирование.

Процесс отбора на линейной стадии усложняется наличием в популяции слоев суспензии, работающих в режиме светового ограничения. Это приводит к уменьшению величин μ_i и замедлению автоселекции. При анализе мы приняли, что на линейной стадии роста в суспензии работает только часть клеток N_a, имеющая удельный коэффициент размножения, соответствующий экспоненциальной стадии, и дающая такой же прирост, как и вся популяция в целом. Величина N_a равна численности популяции в конце экспоненциальной стадии роста. Поскольку средние размеры клеток штаммов, входящих в сложную популяцию, и степень их пигментации могут иметь значительное различие, то N_a в процессе отбора не остается постоянной, а меняется от определенной начальной величины до значения, соответствующего выделившемуся штамму.

Рассмотрение процессов автоселекции на линейной стадии представляет значительный интерес, поскольку здесь происходит отбор форм по их популяционным качествам, т.е. форм, имеющих наибольшую продуктивность в оптически плотных суспензиях. Динамику процессов можно получить путем решения системы уравнений (2) на ЭВМ; аналитическое же решение системы представляет значительную трудность (Цоглин и др., 1967).

Для упрощения мы приняли N_a за постоянную величину. Это позволило получить общее решение для экспоненциальной и линейной стадий роста:

$$n_j = n_{0j} \frac{\ell^{n_a \mu_j t}}{\sum_{i=1}^{m} \ell^{n_a \mu_i t} n_{0i}} \qquad \begin{array}{l} n_a = 1 \text{ для экспоненциального} \\ \quad \text{участка роста,} \\ n_a < 1 \text{ для линейного участка.} \end{array} \qquad (3)$$

В этом уравнении n_j обозначает относительную концентрацию интересующего штамма, определяемую как отношение числа клеток данного штамма к общей численности популяций ($N_j / N_{общ}$); n_{0i} – относительные концентрации форм от 1-й до i -й в начальный момент проточного культивирования; n_a – коэффициент замедления, определяемый как отношение числа клеток, при котором начинается линейная стадия кривой роста, к общей плотности популяции; μ_j – удельный коэффициент размножения интересующего штамма; μ_i – удельные коэффициенты размножения каждого из штаммов, входящих в популяцию; ℓ – основание натурального логарифма.

При стабилизации плотности суспензии в точке, соответствующей линейной стадии кривой роста, приведенное уравнение дает приближен-

ную картину разделения, поскольку в уравнении не учитывается изменение коэффициента n_a в процессе отбора.

Для определения степени ошибки, получаемой при расчетах процесса на линейной стадии, были проведены построения для нескольких различных сочетаний штаммов в сложной популяции по точным соотношениям и приближенному уравнению. Расчеты проводились на ЭВМ „Минск-20" и показали, что максимальное расхождение составляет не более 15%, т.е. приближенное уравнение в большинстве случаев обеспечивает необходимую точность.

На рис.1 приведена номограмма процессов разделения трех штаммов при протоке на плотности, соответствующей экспоненциальной стадии роста. Кривые рассчитаны по уравнению (3) и построены для случаев n_{01} = 0,01; 0,05; 0,15; 0,3. Культуры имеют удельные коэффициенты размножения, соответственно равные: $\mu_1 = 0{,}2\ \frac{1}{ч}$; $\mu_2 = 0{,}1\ \frac{1}{ч}$; $\mu_3 = 0{,}05\ \frac{1}{ч}$. Восходящие кривые описывают процесс образования в культиваторе монокультуры штамма, имеющего наибольшее μ $(0{,}2\ \frac{1}{ч})$. Нисходящие кривые отражают выход из популяции менее продуктивных штаммов. Ясно, что даже в наихудшем из выбранных случаев при минимальном засеве продуктивного штамма (n_{01} = 0,01) и максимальном засеве формы, имеющей $\mu_2 = 0{,}1\ \frac{1}{ч}$ (n_{02} = 0,98) процесс разделения идет достаточно быстро и относительная концентрация первого штамма через 150 ч достигает 90%.

В настоящее время имеется несколько теоретических работ, рассматривающих автоселекцию с той или иной точки зрения (Дарг и др., 1967, Цоглин и др., 1967; Швытов, 1969). Однако при проведении математического анализа неизбежно делается ряд допущений, которые могут повлиять на окончательное решение и привести к результатам, отличным от действительной динамики развития многокомпонентной популяции.

Во всех перечисленных работах принималось, что культуры в начальной стадии при малых плотностях развиваются по строго экспоненциальному закону с постоянными удельными коэффициентами размножения, и заранее оговаривалось отсутствие взаимного влияния различных форм. О ценности любой математической модели можно говорить лишь после определения степени ее соответствия экспериментально полученному процессу. В то же время имеющаяся по этому вопросу экспериментальная работа (Лисовский и др., 1969) не ставит задачу сравнения теоретических решений с опытом, а лишь доказывает в принципе существование автоматического отбора продуктивных штаммов на заданные условия.

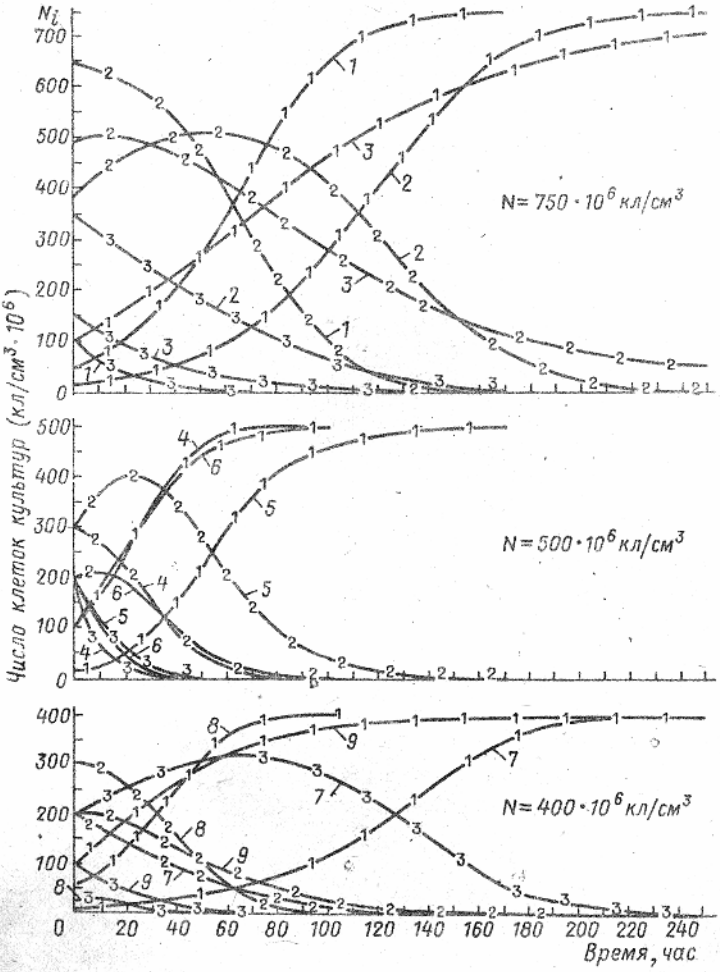

Рис.1. Разделение культур в популяции, состоящей из трех штаммов при различных сочетаниях μ и концентраций засевов.

Для определения степени соответствия математических моделей автоселекции истинным процессам, протекающим в сложной популяции, были поставлены эксперименты, в которых использовались три культу-

ры: Chlorella sp.K, Chlorella CO-10 и Scenedesmus obliquus 125. Культуры для проведения экспериментов взяты из коллекции, имеющейся в нашей лаборатории (Владимирова и Игнатьевская, 1966), и неоднократно ранее применялись нами в различных физиолого-биохимических исследованиях.

Культура Chlorella sp. K получена проф.К.В.Косиковым (Стрешнинская и др., 1967) селекционным путем как устойчивая к высоким концентрациям солей в среде и после сравнительных испытаний в стандартных условиях (Владимирова и Семененко, 1962) была отобрана нами наряду с другими штаммами как высокопродуктивная термофильная форма (Владимирова и др., 1966). Культура имеет широкий диапазон светового и температурного оптимума фотосинтетической продуктивности: при освещенностях $230 \cdot 10^3$ - $700 \cdot 10^3$ эрг/см^{2}с - от 36 до 42^{0}С. Эта форма характеризуется низким содержанием хлорофилла и его высокой фотосинтетической активностью, обладает высокими бактериостатическими свойствами, имеет устойчиво высокую продуктивность (26-30 г/л суспензии в сутки) при длительном выращивании (Семененко и др., 1966), отличается накоплением значительных количеств крахмала (до 50%) при воздействии таких экстремальных факторов, как температура 48^{0}С (Семененко и др., 1967, 1969) и голодание по азоту (Клячко-Гурвич, 1964).

Клетки Chlorella sp.K имеют размеры 3-5 мкм при хранении в коллекции на косом агаре; в условиях интенсивного выращивания основная масса клеток имеет размер 2-4 мкм, при изменении условий — от 1 до 13 мкм. Число автоспор в норме 2-4, в зависимости от условий культивирования 8-16, при воздействии высоких освещенностей 32 и даже (как в описываемом ниже опыте) 64.

Культура Chlorella CO-10 получена Н.Накамура (Япония) как мезофильная форма с оптимумом 25^{0}С (Nakamura, 1961). При сравнительных испытаниях (26-27^{0}С) культура дала достаточно высокие показатели продуктивности (Владимирова и др., 1966); в то же время Янковским (Jankowski, 1964) были отмечены термофильные свойства этой культуры, что в дальнейшем подтвердилось и в наших опытах. По биохимическому составу культура отличается в норме от Chlorella sp.K в сторону более высокого содержания липидов, а изменение биосинтеза на среде без азота не направлено в сторону накопления крахмала (Жукова и др., 1969). На среде без азота и в старых, долго хранящихся культурах (как на агаре, так и в жидкой среде) наблюдается интенсивное выделение оранжево-красного пигмента в среду. Клетки имеют размер от 3 до 5 мкм, число автоспор 2-4-8.

Культура Scenedesmus obliquus 125 получена из коллекции Прата (ЧССР) (Baslerová a. Dvořáková, 1962), обладает высокой продуктивностью при 26-27°С (Владимирова и др., 1966) и сохраняет хороший рост при 36°С. Удобна тем, что не дает ценобиев и в условиях интенсивной культуры практически не меняет морфологию клетки в отличие, например, от S. quadricauda, S. bijugatus и видов Ankistrodesmus, дающих высокую продуктивность по накоплению биомассы, но резко меняющих морфологию с образованием атипичных и уродливых форм.

Таким образом, выбранные для опытов культуры различались по морфологическим и по физиолого-биохимическим признакам. Последнее в случае необходимости могло быть использовано для идентификации отселектированной при проточном культивировании формы.

Опыты проводились на установке для интенсивного проточного выращивания микроводорослей с автоматической стабилизацией плотности суспензии по принципу турбидостата (Семененко и др., 1966). Реактор - термостатированная камера с плоскопараллельными стенками и освещением с одной стороны от ксеноновой лампы ДКСТВ-6000. Освещенность на поверхности реактора равнялась $350 \cdot 10^3$ эрг/см^2 с. Температуру суспензии поддерживали на уровне 36±0,3°С. Газовоздушную смесь подавали с коэффициентом вентиляции 300 л/ч на 1 л суспензии с концентрацией CO_2 1,7%. В качестве питательной среды использовали среду Тамийя с нитратным азотом.

Для проведения теоретических расчетов процессов разделения на различных стадиях были сняты кривые роста и определены удельные коэффициенты размножения культур в заданных условиях. Для этого выбранные формы после предварительного подращивания в сосудах при освещении люминесцентными лампами поочередно засевали в культиватор и выращивали до плотностей линейного участка кривой роста.

Кривые роста, представленные на рис.2, позволяют определить основные характеристики культур и свидетельствуют о значительной инерционности при достижении коэффициентом μ максимального значения. Кривые показывают, что выбранные штаммы при заданном режиме культивирования имеют различные длительности лаг-фаз. Рост форм по экспоненциальному закону (прямые линии на рис.2,б) в начальный период происходит в соответствии с удельным коэффициентом размножения, свойственным культуре в тех условиях выращивания, из которых взят засев. Только через некоторое время, определяемое, очевидно, с темновой стадией развития микроводорослей, происходит резкое изменение скорости прироста числа клеток, и культуры начинают разви-

ваться с постоянным коэффициентом μ, соответствующим данным внешним условиям.

Специально проведенный эксперимент на культуре Chlorella sp.K с выращиванием в накопительном режиме (рис.3) показал, что изме-

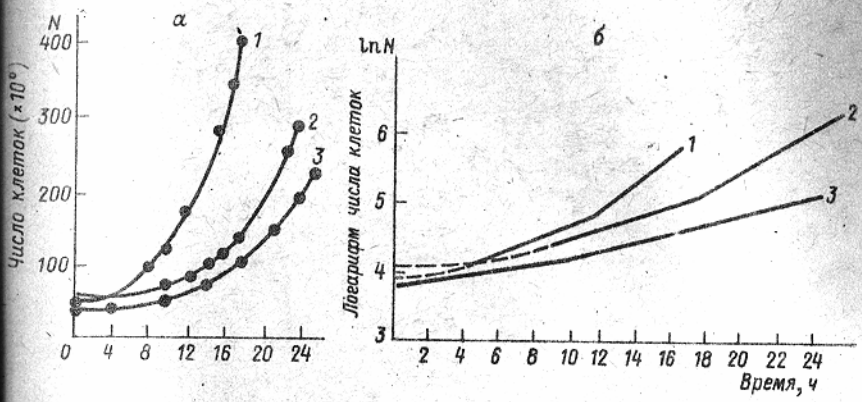

Рис.2. Динамика роста культур микроводорослей.
а - в линейном масштабе, б - в логарифмическом. 1-Chl.sp.K 2 - Chl.CO-10, 3 - Scen.obl.125.

нение μ связано не только с процессом пересева из малоактивных условий в условия интенсивного роста, но и с любым резким изменением параметров культивирования, влияющим на скорость роста суспензии. В нашем эксперименте при засеве культуры Chlorella sp.K в реактор после 4-часовой лаг-фазы в течение 5 ч наблюдалось изменение числа клеток с коэффициентом μ равным 0,09 $\frac{1}{ч}$, что соответствует условиям роста в сосудах при

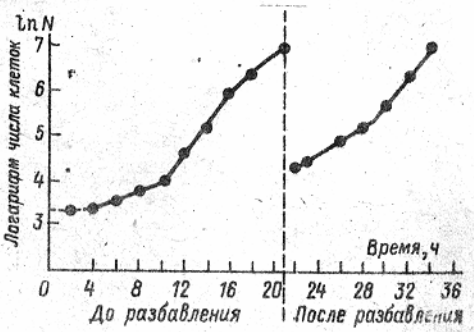

Рис.3. Изменение коэффициента μ при пересеве культуры и после резкого разбавления.

люминесцентном освещении, из которых был взят засев. Затем произошло изменение коэффициента μ до 0,21 $\frac{1}{ч}$. Культура выращивалась до плотности в 1012·10^6 кл/см^3, после чего было проведено резкое разбавление суспензии до плотности равной 80·10^6 кл/см^3. Поскольку при высоких плотностях возникает световое ограничение, сказывающееся на росте культуры, то, как и предполагалось, после разбавления скорость роста популяции характеризовалась пониженным коэффициентом μ = 0,16 $\frac{1}{ч}$. После 5-6-часового периода коэффициент удельного размножения достиг своей стабильной, максимальной для данных условий, величины.

Наблюдения показали, что в период, когда культура развивается с пониженным коэффициентом μ, происходит значительное увеличение размеров клетки, а скачкообразное изменение μ связано с резким увеличением как числа делящихся клеток, так и количества автоспор в них.

Проведенные эксперименты с раздельным накопительным выращиванием культур позволили определить их основные ростовые характеристики (таблица).

Культура	Длит. лаг-фазы, ч	Время от конца лаг-фазы до изменен. μ, ч	$\mu_1, \frac{1}{ч}$	$\mu_2, \frac{1}{ч}$	Относит. средний размер клеток
Chlorella sp. K	4	7	0,095	0,21	1,00
Chlorella CO-10	9	9	0,085	0,155	1,55
Scenedesmus obliquus 125	0	10	0,042	0,09	2,55

В первом эксперименте с популяцией, состоящей из смеси штаммов, засев был произведен со следующим соотношением культур: Chlorella sp.K – 9·10^6 кл/см^3 (8,8%); Chlorella CO-10 – 56·10^6 кл/см^3 (55%); Scenedesmus obliquus 125 – 37·10^6 кл/см^3 (36,2%). Суммарное число клеток в засеве 102·10^6 кл/см^3.

Учитывая, что отбор в основном зависит от отношения концентраций наиболее близких по продуктивности штаммов, засев Chlorella CO-10 был выбран наиболее высоким. К тому же такая значительная разница в концентрациях близких по продуктивности культур сделала бы заметнее взаимное влияние между ними, если бы таковое имелось. Проточное культивирование велось при концентрации биомассы (сухой вес) 3 мг/см^3, что соответствует плотности экспоненциальной стадии роста.

Сплошные линии на рис.4 показывают экспериментально полученный процесс достаточно быстрого разделения форм водорослей при проточном культивировании многокомпонентной популяции на экспоненциальной стадии роста. Пунктирными линиями нанесены кривые, построенные теоретически по соотношению (3). Как видно из рис.4, конечный

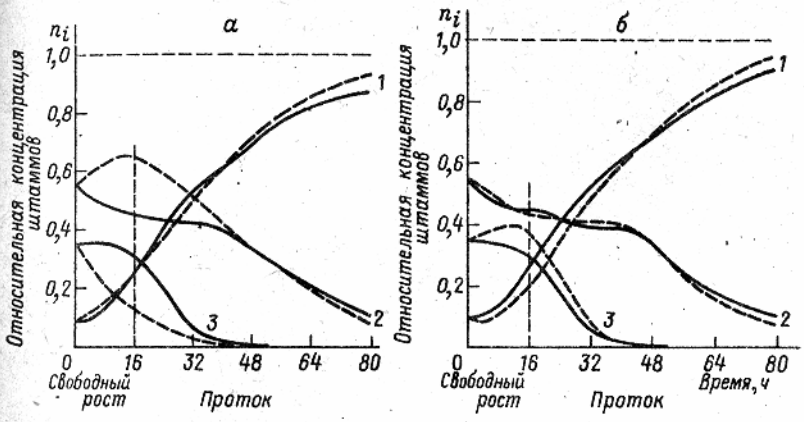

Рис.4. Процесс автоселекции микроводорослей на экспоненциальной стадии роста.

а - без учета изменений ростовых характеристик в начальный период культивирования, *б* - с внесением соответствующих поправок. *1* - Chl.sp.K, *2* - Chl.CO-10, *3* - Scen.obl.125. Пунктир - расчетные линии, сплошная - экспериментальные линии.

результат эксперимента с достаточной точностью совпадает с расчетным. Максимальное расхождение в конце опыта составляет 6%. Однако для культур Chlorella CO-10 и Scenedesmus obliquus 125 (*2* и *3* на рис.4,*а*) расхождение теоретических и экспериментальных кривых значительно и вызвано, очевидно, тем, что при расчете не учитывалось изменение удельного коэффициента размножения в начале культивирования и различная длительность лаг-фаз. Это доказывается тем, что теоретические кривые, построенные с учетом указанных изменений ростовых свойств культур, с достаточной точностью совпадают с экспериментальными (рис.4,*б*).

Следующий эксперимент со стабилизацией плотности суспензии на уровне линейной стадии роста также показал достаточно высокую совпадаемость теоретических и экспериментальных кривых при учете длительностей лаг-фаз и изменений μ в начальный период культивирования (рис.5). Засев произведен со следующим соотношением концентраций штаммов: Chlorella sp.K - $10 \cdot 10^6$ кл/см^3 (17%); Chlorella CO-10 - $33 \cdot 10^6$ кл/см^3 (55%); Scenedesmus obliquus 125 - $17 \cdot 10^6$ кл/см^3 (28%). Суммарная плотность засева $60 \cdot 10^6$ кл/см^3.

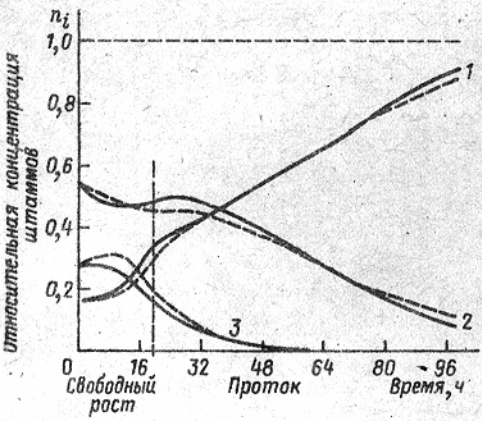

Рис.5. Процесс автоселекции микроводорослей при плотности, соответствующей линейной стадии роста.
1 - Chl.sp.K, 2 - Chl.CO-10
3 - Scen.obl.125. Пунктир - расчетные линии, сплошная - экспериментальные линии.

Культиватор переведен в режим турбидостата при концентрации биомассы (сухой вес) 7,2 мг/см^3, при этом число клеток равнялось $408 \cdot 10^6$ кл/см^3. Через 104 ч в реакторе произошло практически полное разделение культур, и образовавшаяся популяция на 94% состояла из Chlorella sp.K.

Построение теоретических кривых (пунктир на рис5 велось по приближенному для линейной стадии роста соотношению (3). На участке от 0 до 14 ч, когда плотность популяции была мала, построение велось по уравнению отбора экспоненциальной стадии (n_a = 1). Затем, от 14 до 22 ч, в уравнение был введен переменный уменьшающийся коэффициент n_a и после 22 ч этот коэффициент был принят постоянным (равным 0,5), так как плотность суспенции в эксперименте стабилизировалась на уровне двойной плотности конца экспоненциальной стадии.

Рисунки 1-5 показывают, что применение приближенной формулы при расчете процессов отбора на линейной стадии не приводит к значительным ошибкам. Максимальное расхождение в нашем опыте в конце

культивирования составляло 9%. Естественно, эта величина не является постоянной и зависит от форм, входящих в популяцию, и условий культивирования. Ошибка в определении необходимого времени выделения по приближенной формуле получается в бо́льшую сторону, т.е. процесс выделения на линейном участке идет несколько быстрее расчетного.

Необходимо отметить, что в наших экспериментах при проточном культивировании стабилизировалась концентрация биомассы. В установившемся режиме при турбидостатном выращивании монокультуры средний размер клеток не меняется и, соответственно, при стабильной концентрации биомассы остается постоянным число клеток. Выбранные же нами штаммы имеют значительное различие в средних размерах клеток (см.таблицу). Это привело к увеличению численности популяции по мере выделения культуры Chlorella sp.K, имеющей наименьший средний размер клетки. Увеличение численности популяции в экспериментах (рис.6) в обоих случаях хорошо согласуется с процессами разделения культур.

Сравнительно высокая совпадаемость экспериментальных и теоретических кривых говорит о том, что различия в размерах клеток и их оптической плотности не влияют на процесс автоселекции. Полученные результаты свидетельствуют также об отсутствии заметного взаимного влияния между выбранными культурами в условиях интенсивного роста в проточном режиме.

Естественно, что результаты, полученные с использованием трех культур, не позволяют утверждать отсутствие взаимного влияния вообще. Но, поскольку заметное влияние метаболитов на рост микроводорослей обнаруживается либо при многократном использовании питательной среды, либо на очень высоких плотнос-

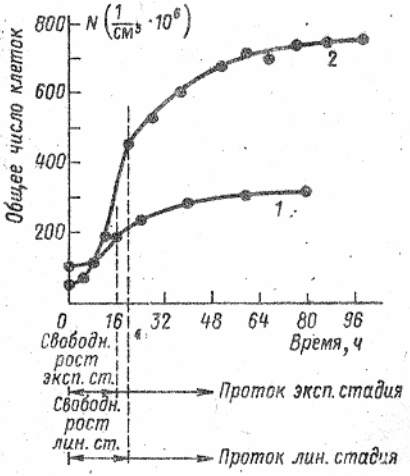

Рис.6. Изменение числа клеток в процессе автоселекции при проточном культивировании со стабилизацией концентрации биомассы.

тях (Таутс, 1964, 1968), то при практическом использовании метода автоселекции с применением проточного культивирования возможное взаимовлияние различных форм через физиологически активные вещества, вероятно, не может являться ограничивающим фактором.

Таким образом, проведенные эксперименты доказывают возможность применения метода проточного культивирования для выделения продуктивных форм микроводорослей на заданные условия культивирования и свидетельствуют о том, что выведенные теоретические соотношения могут быть использованы в практической работе.

Из представленных выше результатов вытекает, что при длительном проточном культивировании не может произойти самопроизвольное ухудшение ростовых свойств, связанное с изменением популяционного состава. Наоборот, возможно только выделение форм или мутантов, имеющих лучшие ростовые характеристики и, тем самым, повышенную продуктивность культуры.

Summary

The dynamics of the growth and of the relative numbers of different algae cells has been examined in the population consisting of Chlorella sp.K, Chlorella CO-10 and Scenedesmus obliquus. A good agreement has been observed in the theoretically calculated dynamics of the autoselection and the data obtained in the experiments.

Указатель литературы

Ваулина Э.Н. Селекция продуктивных форм водорослей. - В кн.: Генетические основы селекции микроорганизмов. М.,1969,с.228-238.

Владимирова М.Г., Игнатьевская М.А. Изучение влияния условий хранения культур хлореллы в коллекции на последующую их продуктивность. - "Микробиология", 1966,т.35,вып.3, с.538-548.

Владимирова М.Г., Семененко В.Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. М., 1962. 48 с.

Владимирова М.Г., Игнатьевская М. А., Райков Н.И. Характеристика продуктивности штаммов одноклеточных водорослей в условиях интенсивной лабораторной и полупроизводственной культуры. - В кн.: Управляемый биосинтез. М., 1966,с.86-93.

Дарг В.А., Ковров Б.Г., Лисовский Г.М. Вероятность сохранения мутантной клетки в непрерывной культуре микроорганизмов. - В кн.: Проблемы создания замкнутых экологических систем. М., 1967, с.208-216.

Жукова Т.С., Клячко-Гурвич Г.Л., Владирова М.Г. и др. Сравнительная характеристика роста и направленности биосинтеза различных штаммов хлореллы в условиях азотного голодания. II. Накопление углеводов и липидов. - „Физиология растений", 1969, т.11, вып.1, с.96-101.

Клячко-Гурвич Г.Л. Непрерывный биосинтез углеводов у хлореллы. - „Физиология растений", 1964, т.11, вып.6, с.978-987.

Лисовский Г.М., Сыпневская Э.К., Ян Н.А. Экспериментальное моделирование автоселекционных процессов в непрерывной культуре микроводорослей. - В кн.: Биология и культивирование микроорганизмов. Красноярск, 1969, с.89-92.

Семененко В.Е., Владимирова М.Г., Орлеанская О.Б. К физиологической характеристике Chlorella sp.K при высоких экстремальных температурах. I. Разобщающее действие экстремальной температуры на клеточные функции хлореллы. - „Физиология растений", 1967, т.14, вып.6, с.612-625.

Семененко В.Е., Владимирова М.Г., Орлеанская О.Б. и др. К физиологической характеристике Chlorella sp.K при высоких экстремальных температурах. II. Изменение биосинтеза, ультраструктуры и активности фотосинтетического аппарата хлореллы при разобщении клеточных функций экстремальной температуры. - „Физиология растений", 1969, т.16, вып.2, с.210-221.

Семененко В.Е., Владимирова М.Г., Цоглин Л.Н. и др. Непрерывное управляемое проточное культивирование водорослей и физиолого-биохимическая характеристика продуктивности и эффективности утилизации лучистой энергии хлореллы при длительном интенсивном ее выращивании. - В кн.: Управляемый биосинтез. М., 1966, с.75-86.

Стрешнинская Г.М., Пахомова М.В., Косиков К.В. Состав различных штаммов зеленой водоросли хлорелла. - „Прикладная биохимия и микробиология", 1967, т.3, вып.4, с.477-485.

Таутс М.И. Изучение влияния продуктов жизнедеятельности хлореллы на ее рост и продуктивность в условиях интенсивной культуры. - „Физиология растений", 1964, т.11, вып.2, с.247-256.

Таутс М.И. Закономерности появления ингибирующих рост веществ в культуре и воздействие на этот процесс сопутствующей бактериальной микрофлоры. - „Физиология растений", 1968, т.15, вып.4, с.665-673.

Цоглин Л.Н., Владимирова М.Г., Семененко В.С. Математическое и экспериментальное моделирование процесса автоселекции микроводорослей в условиях проточной культуры. - „Физиология растений", 1970, т.17, вып.6, с.1129-1139.

Цоглин Л.Н., Семененко В.Е., Поляков А.А. Теоретическое обоснование принципа автоматического конкурсного отбора продуктивных форм одноклеточных водорослей на основе математического моделирования динамики роста многокомпонентной популяции в проточном режиме. - „Биофизика", 1967, т.XII, вып.4, с.704-714.

Ш в ы т о в И.А. Статистическая модель конкурсного отбора одноклеточных водорослей. - В кн.: Тезисы II Всесоюз. Совещания по управлемому биосинтезу и биофизике популяций. Красноярск, 1969, с.58.

B a s l e r o v á M. a. D v o ř á k o v á J. Algarum, Nepatiarum Muscorumque in culturis collectiv, Praha, 1962. 128 p.

B r y s o n V. The turbidostatic selection. A device for automatic isolation of bacterial variants. - "Science", 1952, vol.116, N.3001, p.48-51.

H e r b e t D., E l s w o r t h R., T e l l i n g R.C. The continious culture of bacteria; a theoretical and experimental study. - "J.Gen. Microbiol.", 1956, vol.14, N.3, p.601-622.

J a n k o v s k i A. Badania nad selekcią glonów dla potrzeb kultur masowych. Krakow, 1964.

M o s e r H. Structure and dynamics of bacterial populations maintained in the chemostat. - In: Cold Spring Harbor Symposia, 1957, vol.XXII, p.121.

N a k a m u r a N. Reportan the present situation of the microalgae research institut of Japan. - "Publ. Jap. Nutrition assaciation", 1961, vol.II, N.I, p.1-15.

N o r t h r o p J.H. a. K u n i t z M. The proportion of mutants in bacterial cultures. - "J. Gen. Physiol.", 1957, vol.41, N.1, p.119-129.

N o v i c k A. Growth of bacteria. - "Ann. Rev. of Microbiol.", 1955, vol.5, N 1, p.97-110.