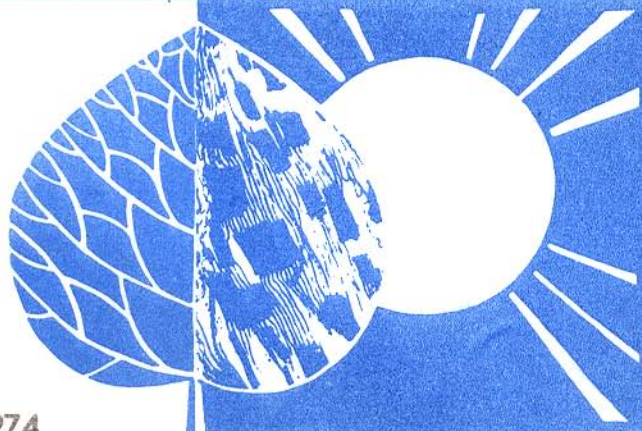


АКАДЕМИЯ НАУК СССР
НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
БИОЛОГИЧЕСКИХ
ИССЛЕДОВАНИЙ

ИТОГИ
ИССЛЕДОВАНИЯ
МЕХАНИЗМА
ФОТОСИНТЕЗА



ПУЩИНО • 1974

ЛИТЕРАТУРА

1. Бутенко Р.Г. Культура изолированных тканей и физиология морфогенеза растений. М., "Наука", 1964.
2. Корнюшенко Г.А., Сапожников Д.И. В сб.: "Методы комплексного изучения фотосинтеза". (Методический сборник). Л., 1969, стр. 181.
3. Кузнецова Л.Г., Полевая В.С., Доман Н.Г., ДАН СССР, 200, 6, 1463 (1971).
4. Edelman I., Hanson A.D., *Planta*, 102, 11 (1972).
5. Заботин А.И. В сб.: "Методы исследования фотофосфорилирования". Пушкино-на-Оке, 1970, стр. 182.
6. San Pietro A., Lang H.M., *J. Biol. Chem.*, 231, 211 (1958).
7. Davey M.R., Fowler M.W., Street H.E., *Phytochemistry*, 10, 2559 (1971).
8. Stobart A.K., McLaren Y., Thomas D.R., *Phytochemistry*, 6, 11, 1467 (1967).
9. Sunderland N., Wells B., *Ann. Bot.*, 32, 327 (1968).
10. Sjolund R.D., Weier T.E., *Amer. J. Bot.*, 58, 172 (1971).
11. Trevor Chandler T.M., de Marsae N.T., de Konchkovsky Ya., *Canad. J. Bot.*, 50, 2265 (1972).
12. Номенклатура ферментов. Рекомендация Междунар. биохим. союза. М., 1966.

ТЕМПЕРАТУРНАЯ ИНДУКЦИЯ СВЕГОЗАВИСИМОЙ БЕЛОКСИНТЕЗИРУЮЩЕЙ СИСТЕМЫ *CHLORELLA*, СОПРОВОЖДАЮЩАЯСЯ УВЕЛИЧЕНИЕМ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКОГО АППАРАТА

В.Е.Семененко, М.Г.Зверева, Т.И.Касаткина, Л.Н.Цоглин
Институт физиологии растений им. К.А.Тимирязева АН СССР,
Москва;

Институт фотосинтеза АН СССР, Пушкино

Изучение молекулярных механизмов саморегулирования функциональной активности хлоропласта, начиная с регуляции активности генов и биосинтеза ферментов и кончая механизмами регулирования действия ферментов и биомембран, явля-

ется необходимой предпосылкой для целенаправленного поиска путей и способов управления продуктивностью и качественной направленностью биосинтеза фотосинтезирующих клеток.

Удобной моделью для изучения механизмов эндогенной регуляции фотосинтеза являются одноклеточные водоросли в силу высокой пластичности их обмена и относительно простой организации хлоропластно-цитоплазматических взаимоотношений.

В предыдущих сообщениях /1,2/ детально описан эффект разобнения клеточных функций *Chlorella* sp. K при действии экстремальной температуры (ЭТ), который состоит в блокировании процесса деления клеток при сохранении высокой функциональной активности фотосинтетического аппарата. Было показано, что происходящие при переходе от оптимальной (37°C) к экстремальной (43°C) температуре физиолого-биохимические сдвиги resultируются быстрым и существенным изменением химического состава биомассы: в течение 4-6 час содержание углеводов увеличилось в расчете на клетку почти в 4 раза, что обусловило возрастание их количества (в % от сухого веса) до 48%, а содержание белка в силу "разведения" его углеводами соответственно падало до 18%. Это дало возможность рассматривать данное экстремальное воздействие как способ направления биосинтетических потенций клетки на преимущественный синтез углеводов /2/ и предложить метод двухфазного проточного культивирования для непрерывного получения высокоуглеводной биомассы хлореллы /3/. Одновременно было показано, что происходящее в этих условиях разобненное с клеточным размножением интенсивное накопление биомассы и гипертрофированный рост клеток обусловлены не только сохранением, но повышением функциональной активности фотосинтетического аппарата клетки хлореллы в период, пока хлоропласт не оказывается полностью забитым плотно упакованными гранами ассимилятов. Именно в этот период при расчете показателей на клетку наблюдаются: 1) увеличение интенсивности фотосинтетического поглощения клетками CO₂; 2) увеличение количества хлорофилла а и б в расчете на клетку; 3) возрастание количества углекислоты, поглощаемой в единицу времени на единицу

хлорофилла, содержащегося в клетках (ассимиляционное число); 4) увеличение скорости биосинтеза (прирост количества) углеводов; 5) локализация в хлоропластах направленно накапливающихся в клетках продуктов.

При этом оказалось, что перечисленные изменения, свидетельствующие об активации фотосинтетического аппарата, во-первых, сопровождаются увеличением количества белка, рассчитываемого на клетку; во-вторых, имеет место прямая пропорциональная зависимость между индуцированным экстремальной температурой приростом количества белка в клетках и увеличением интенсивности фотосинтеза и скорости биосинтеза углеводов (рис. I).

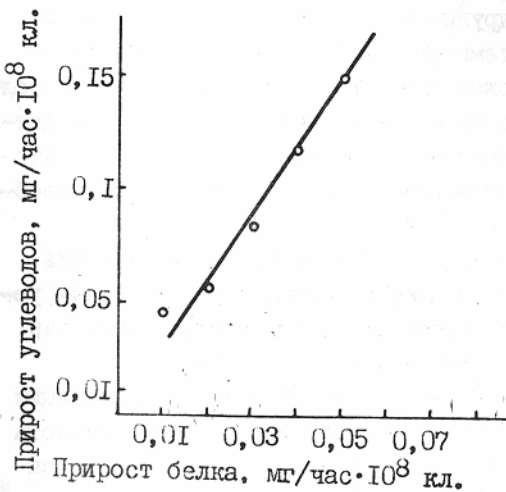


Рис. I. Зависимость скорости синтеза углеводов от индуцируемого экстремальной температурой прироста количества белка в клетке.

Перечисленные факты привели нас к предположению /2/, что возрастание функциональной активности фотосинтетического аппарата и скорости локализованного в хлоропласте биосинтеза определяется не только повышением активности предшествующих хлоропластных ферментов в силу, возможно, их большей теплоустойчивости, но связано также с дерепрессирующим действием ЭТ в силу специфической термолабильности репрессора

(или репрессоров), контролирующих синтез энзиматических белков хлоропласта. Предполагалось, что под воздействием ЭТ происходит нарушение регуляторного механизма, ограничивающего в нормальных условиях уровень энзиматических белков фотосинтетического аппарата и работающего по принципу метаболической регуляции.

Таким механизмом, как предполагалось /2/, может быть аллостерическая регуляторная связь (рис. 2) между репрессором хлоропластной ДНК и лигандом — метаболитом фотосинтеза, выполняющим функции корепрессора. Специфическое дерепрессирующее действие ЭТ могло состоять в запрещении связи метаболита-эффектора с репрессором вследствие конформационных нарушений аллостерического центра последнего.

Здесь допустимы и другие механизмы, например возможность прямого действия температуры на связь репрессора с оператором, что также может привести к индукции синтеза белков. Возможно также, что рассматриваемая картина осложняется некоторым "синхронизирующим" действием ЭТ и др. Все это — сложные вопросы, к экспериментальному решению которых необходимо подходить с разных сторон.

Приводимые ниже результаты опытов позволили выявить некоторые закономерности, которые являются обязательным условием существования рассматриваемого механизма, хотя они еще недостаточны, чтобы считать его доказанным.

Если постулируемые механизмы имеют место и активация фотосинтетического аппарата и увеличение скорости прироста (биосинтеза) углеводов при ЭТ является следствием реализации активности вновь (дополнительно) синтезируемых при этом энзиматических белков, то следовало ожидать ряд характерных перестроек как на уровне функции фотосинтетического аппарата, в частности в характеристических параметрах световой кривой фотосинтеза, так и в соотношениях синтеза веществ, в частности в структуре белкового комплекса, и в соотношении синтеза РНК и белка, и белка и углеводов.

1. Если синтезируемые при ЭТ белки ответственны за активацию фотосинтетического аппарата и синтез углеводов, то

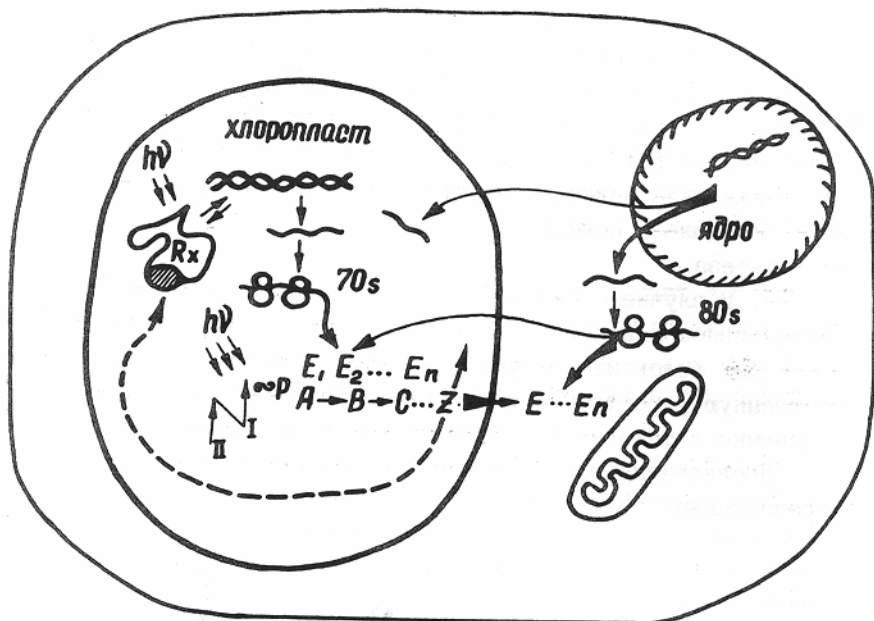


Рис. 2. Принципиальная схема динамической (метаболической) авторегуляции фотосинтеза на уровне синтеза ключевых ферментов хлоропласта. Пунктиром показана регуляторная связь метаболита-эффектора (Z) с фоточувствительным аллостерическим репрессором (Rx).

при увеличении интенсивности света прирост углеводов относительно прироста белков должен быть больше, чем при низкой освещенности.

2. Поскольку белки, участвующие в осуществлении процесса фотосинтеза, относятся к числу светоиндуцируемых /4/, так же как и РНК хлоропластов /4,5/, а рассматриваемый механизм предполагает, что при ЭТ нарушается система динамической регуляции, ограничивающей синтез белка при избыточном накоплении продуктов фотосинтеза /2/, то эффект действия света на белоксинтезирующую систему на фоне ЭТ должен превышать эффект его действия при оптимальной температуре.

3. Индукция белка должна сопровождаться перестройкой, а возможно, и дополнительным синтезом РНК.

4. Если среди синтезируемых при ЭТ белков возрастает количество ферментов, участвующих в цикле восстановления углерода, то должно иметь место возрастание уровня плато световой кривой фотосинтеза. Если при этом происходит увеличение также пула белков, участвующих в электронтранспортной цепи, то должен повышаться и угол наклона световой кривой фотосинтеза.

5. В случае, если при ЭТ имеет место специфическое (селективное или преимущественное) дерепрессирование светозависимой белоксинтезирующей системы, следовало ожидать существенную перестройку в структуре белкового комплекса по сравнению с таковым при оптимальной температуре.

Проведенные эксперименты ставили своей целью проверку перечисленных положений.

Методика

Опыты ставили на культуре *Chlorella* sp.K, которая относится к числу термофильных штаммов (оптимальная температура 36-38°C, экстремальная, разобщающая клеточные функции - 43-44°C /1,6/) и является типичным "углеводным" штаммом хлореллы /7,8/. Культивирование проводили в условиях интенсивной проточной культуры на установке, описанной ранее /9/, с использованием разработанного в нашей лаборатории турбидиметрического аппарата для автоматического измерения, регистрации и регулирования плотности суспензии (РПС) /10/.

Схема постановки опытов описана ранее /2/. В общем виде она преследует цель определения динамики функциональных и биохимических перестроек в клетках *Chlorella* при разобщении клеточных функций ЭТ.

В процессе опытов учитывались и анализировались следующие параметры:

динамика роста (по изменению численности клеток) и фотосинтетическая продуктивность (по накоплению биомассы) культуры /II/;

рост клеток - по изменению их веса;

интенсивность и световые кривые фотосинтеза измерялись непосредственно в реакторе в течение всего эксперимента по поглощению CO_2 (с помощью оптикоакустического инфракрасного газоанализатора /9,12/) и по выделению кислорода (амперометрическим методом с помощью платиново-серебряного электрода);

общий белок - микрометодом Кьельдаля после сжигания с серной кислотой в присутствии селена;

общие углеводы - после 3-часового гидролиза в 2%-ной соляной кислоте по восстанавливающей активности их с 2,3,5-трифенилтетразолийхлоридом /13/;

общее количество РНК - по Шмидту и Тангаузеру в модификации Спирина /14/.

Фракция белков, растворимых в 0,067 М фосфатном буфере с pH 7,4, после количественного извлечения их из клеток, определялась по Лоури и по поглощению при 280 нм на спектрофотометре СФ-4, предварительно проградированном по белкам, извлеченным из этого же штамма хлореллы /15/. Количественные соотношения в клетке между комплексами растворимых белков, выпадающих в осадок, - при двухступенчатом высаливании сульфатом аммония: до 30% от насыщения (фракция А) и от 30 до 80% от насыщения сульфатом аммония (фракция Б).

Перестройки в составе индивидуальных белков - методом вертикального дискового электрофореза в полиакриламидном геле (ПААГ) /16/ и с помощью колоночной гель-хроматографии на сефадексе Г-200 /17/.

Результаты и обсуждение

При действии ЭТ имеет место, как отмечалось /1,2/, достаточно активный прирост в культуре *Chlorella sp.* К биомассы, несмотря на блокирование деления клеток. Отчетливый эффект такого, разобщенного с клеточным делением фотобиосинтеза хорошо виден из рис. 3.

В этот период имеет место гипертрофированный рост клеток, вес которых через 10-20 час в несколько раз превышает вес

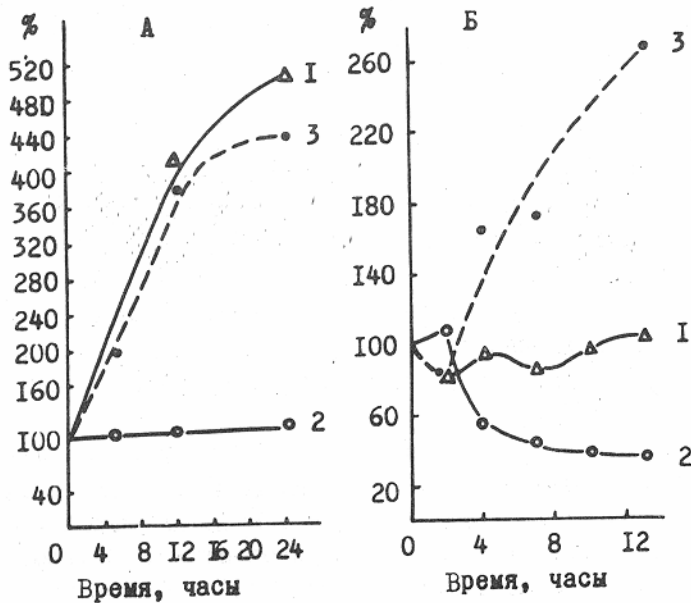


Рис. 3. Характеристика процесса разобщения клеточных функций размножения и фотобiosинтеза *Chlorella* sp. К под влиянием экстремальной температуры в условиях накопительного (А) и проточного (Б) культивирования. Изменение при 44°С по отношению к 36°С: I - содержания биомассы (мг/мл); 2 - числа клеток (млн/мл); 3 - веса индивидуальных клеток (мг/клетку).

клеток в контроле. При этом в накопительном режиме (рис.3А) число клеток в популяции остается неизменным, но происходит накопление биомассы. В условиях проточной культуры, где плотность биомассы автоматически стабилизируется, количество ее (в единице объема суспензии) поддерживается на одном уровне (рис. 3Б), а число клеток, находящихся в реакторе, снижается.

Исследование абсолютной скорости биосинтеза (прирост

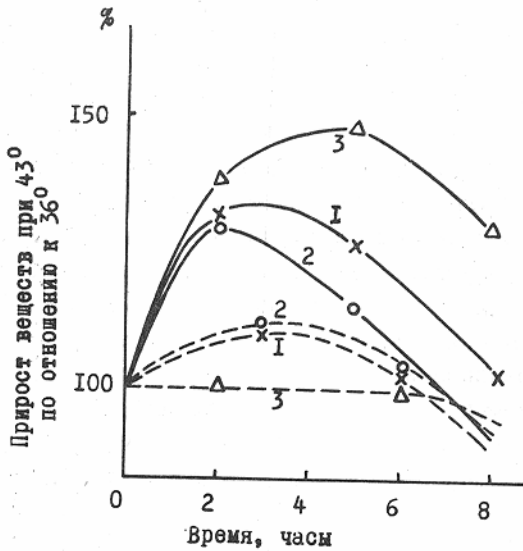


Рис. 4. Изменение абсолютной скорости прироста веществ (в расчете на объем суспензии) при $43,5^{\circ}\text{C}$ по отношению к 36°C . Пунктирные линии - при $50 \text{ тыс. эрг/см}^2\text{сек}$; сплошные - при $300 \text{ тыс. эрг/см}^2\text{сек}$. I - сухой вес биомассы; 2 - белок; 3 - углеводы. Проточное культивирование со стабилизацией плотности биомассы.

на единицу объема) показало (рис. 4), что при ЭТ увеличивается (по сравнению с $36-37^{\circ}\text{C}$) прирост как суммарной, продуцируемой индивидуальной клеткой биомассы (кривые I), так и белков (кривые 2), и углеводов (кривые 3). Однако оказалось, что эффект действия ЭТ на двух существенно отличающихся уровнях освещенности различается по соотношению прироста белков и углеводов. Если при $50 \cdot 10^3 \text{ эрг/см}^2\text{сек}$ прирост белков (пунктирная кривая 2) больше прироста углеводов (пунктирная кривая 3), то при таком же переходе от оптимальной температуры к экстремальной, но на фоне освещенности, равной $300 \cdot 10^3 \text{ эрг/см}^2\text{сек}$, наблюдаются обратные соотношения (сплош-

ные кривые 2 и 3), несмотря на то, что общий прирост белка больше, чем в первом случае. Если исходить из тривиального положения о том, что биологический синтез обусловлен действием белков, и учесть, что прирост углеводов, как подчеркивалось выше, при ЭТ пропорционально связан с приростом белков (рис. 1, результат, полученный при высоких освещенностях клеток), то отмеченное перераспределение в соотношении прироста углеводов и белков при действии ЭТ на фоне высоких освещенностей допускает как одну из возможных интерпретаций предположение о том, что синтезируемые при ЭТ белки получают на ярком свете большие (энергетически) возможности для реализации своей энзиматической активности в виде синтезируемых углеводов. То есть индуцируемые ЭТ белки (по крайней мере, часть из них) специфичны для цикла восстановления CO_2 через рибулозо-1,5-дифосфат (РДФ) и биосинтеза углеводов.

Дальнейшее изучение вопроса показало, что вызываемый ЭТ дополнительный синтез белка сопровождается одновременным увеличением количества содержащейся в клетке РНК (табл. 1).

Таблица 1

Изменение содержания в клетке *Chlorella* вр.К белка, РНК и углеводов при действии ЭТ на двух уровнях освещенности

Температура, °C	Интенсивность света, эрг/см ² сек. 10 ³	Время действия температуры, час	Изменение содержания веществ в клетке, %			
			вес клетки	белок	углеводы	РНК
36	50	29,0	100	100	100	100
43		15,5	164	146	223	165
36	300	25,5	100	100	100	100
43		15,5	505	403	590	267

При этом оказалось, что эффект действия ЭТ значительно больше, если переход от оптимальной температуры к ЭТ осуществлялся на фоне большей освещенности.

Последнее обстоятельство особенно интересно, так как оно могло указывать на то, что вызываемые ЭТ события специфически затрагивают светозависимую (светоиндуцируемую) белоксинтезирующую систему, которая, как сейчас убедительно доказано, локализована в хлоропласте /4,5/ и ответственна за синтез энзиматических белков фотосинтетического аппарата /4/. Действительно, как видно из табл. 2, увеличение освещенности вызывает повышение содержания РНК в клетке *Chlorella* sp.K.

Таблица 2
Изменение содержания в клетках *Chlorella* sp.K белков, РНК и углеводов, вызываемое светом при оптимальной и экстремальной температурах

Интенсивность света, эрг/см ² сек 10 ³	Температура, °C	Изменение содержания веществ в клетке, %			
		вес клетки	белок	углеводы	РНК
50	36	100	100	100	100
300		92	90	141	130
50	43	100	100	100	100
300		283	247	374	211

Однако на фоне ЭТ аналогичный переход от освещенности в $50 \cdot 10^3$ эрг/см²сек к освещенности, равной $300 \cdot 10^3$ эрг/см²сек, приводит к значительно большему эффекту, что снова допускает интерпретацию действия ЭТ как фактора, нарушающего ограничивающий механизм в светозависимой белоксинтезирующей системе.

О том, что ЭТ (разобщающая клеточные функции *Chlorella* sp.K) специфически активизирует светозависимую белоксинте-

зирующую систему и синтез белков именно фотосинтетического аппарата, могут говорить данные, показывающие, что найденное увеличение синтеза белка и РНК сопровождается соответствующим увеличением функциональной активности фотосинтетического аппарата (рис. 5), перестройкой в характере световых кривых фотосинтеза и самой динамикой этой перестройки.

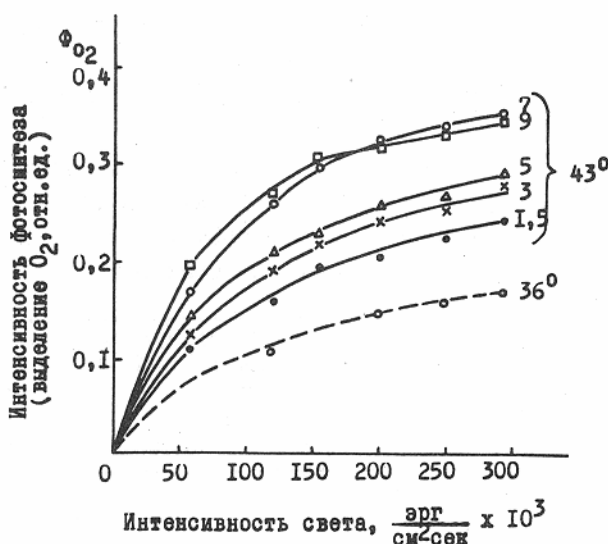


Рис. 5. Динамика изменения световых кривых фотосинтеза *Chlorella* sp. K при действии ЭТ. Цифры на кривых обозначают продолжительность действия ЭТ.

Как видно из рис. 5, при действии ЭТ увеличивается как угол наклона световых кривых фотосинтеза, так и плато насыщения. При этом существенно, что указанный характер изменения световых кривых фотосинтеза происходит не в результате однократного и быстрого перехода (что могло бы быть, если бы наблюдаемый эффект определялся Q_{10}), а постепенно развивается во времени, измеряемом несколькими часами. Это может

Указывать на то, что причина активации фотосинтетического аппарата сопряжена с образованием белков, продолжительность синтеза которых определяется сопоставимым по длительности периодом времени.

Наиболее прямой путь для доказательства причинной связи между активацией фотосинтетического аппарата и синтезом белков состоит в непосредственном изучении индивидуальных белков белкового комплекса. Однако экспериментальное изучение связи между указанными явлениями осложняется тем, что в данном случае речь идет о белках, которые синтезируются не *de novo*, а уже существуют в клетке, то есть о возможной индукции дополнительного синтеза присутствующих в клетке ферментов. В связи с этим было проведено специальное исследование по разрушению клеток *Chlorella sp.K* и количественному извлечению из них нативных белков (рис. 6). Это дало

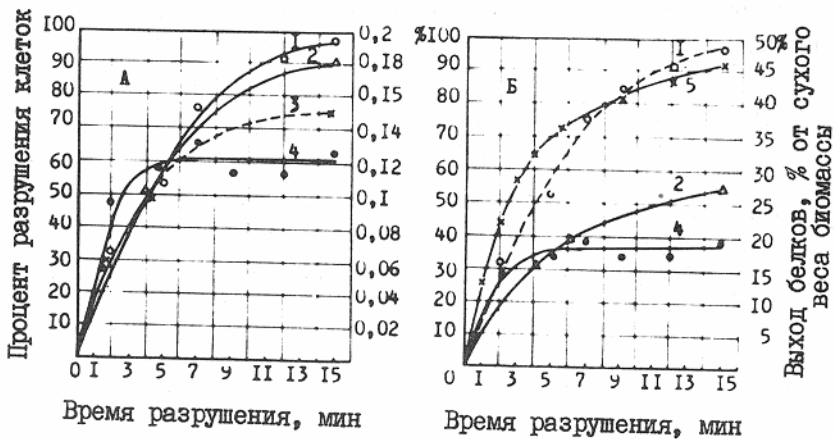


Рис. 6. Зависимость выхода растворимого и структурного белка от степени дезинтеграции клеток хлореллы. 1 - процент разрушенных клеток; 2 - выход структурного белка (мг на 10^8 кл); 3 - хлорофилла (E_{670} на 10^8 кл); 4 - растворимого белка (мг на 10^8 кл); 5 - сумма растворимого и структурного белка.

возможность анализировать перестройку в количественных соотношениях внутриклеточного содержания отдельных групп комплекса растворимых белков и перестройку в составе индивидуальных белков.

Выше было показано (табл. I), что при действии ЭТ наблюдается значительное увеличение в клетках содержания общего белка, сопровождающееся увеличением РНК. Как видно из табл. 3, при переходе от оптимальной температуры к ЭТ возрастает фракция суммы растворимых белков, и что особенно существенно, увеличение количества растворимых белков происходит не за счет равномерного возрастания количества всех белков, входящих в состав этой фракции, а в значительной мере за счет специфического увеличения одной из ее частей. А именно фракции белков, выпадающих в осадок при 30% насыщении сульфатом аммония (табл. 3, фракция А), количество которой возросло почти в 3,5 раза против фракции Б, которая увеличилась только на 165%, что явно свидетельствует об избирательной перестройке в комплексе растворимых белков при действии ЭТ.

Таблица 3
Перестройка в составе фракции растворимых белков при действии на клетку *Chlorella* sp.К ЭТ

Растворимый белок (фосф. буфер, pH 7,4)	Количество белка, мг/10 ⁸ клеток		Белок 43°C Белок 36°C · 100%
	36°C	43°C (8 час)	
Суммарный	0,337	0,815	242
Фракция А	0,098	0,340	347
Фракция Б	0,239	0,308	165

Детальное изучение белка фракции А с помощью дискового электрофореза в ПААГ, гельфильтрации через колонки с сефадексом Г-200 и измерения его энзиматической активности показали, что во фракции А локализован один из ключевых ферментов фотосинтетического аппарата - рибулозо-1,5-дифосфаткар-

боксилаза (РДФК) и эта фракция белка должна быть идентифицирована, очевидно, как белок "фракция Г".

Из электрофореграмм (рис. 7) видно, что белок фракции А в отличие от белка фракции Б практически не изменяет своей

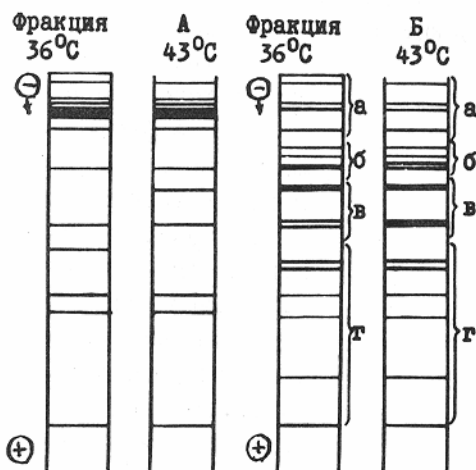


Рис. 7. Электрофореграммы белков фракций А и Б *Chlorella* вр. К при оптимальной (36°C) и экстремальной (43,5°C) температурах.

структуры при действии ЭТ, несмотря на существенное возрастание его количества. В этой фракции локализован содержащийся в большом количестве малоподвижный компонент с молекулярным весом порядка 500000, который определялся из уравнения

$$\lg M = 6,698 - 0,987 \frac{V_e}{V_0}$$

по данным гельфильтрации через сефадекс Г-200. Относительная доля этого белка, как видно из количественной обработки электрофореграмм на интегрирующем денситометре "Хромоскан", составляет более 85% (рис. 8).

Измерение энзиматической активности белка по карбоксилированию РДФ, которое было проведено в совместной работе с Н.Г.Доманом и И.Г.Чернядьевым, показало (рис. 9), что в состав именно этой фракции белка входит РДФК.

Представленные физиолого-биохимические данные, характе-

ризирующие феноменологию событий, развивающихся при действии ЭТ (разобщающей клеточные функции хлореллы), указывают, очевидно, на специфическую термолабильность систем, контролирующих синтез ферментов хлоропласта, что мы видели на примере белка "фракции I" и что следует также из характера изменения световых кривых фотосинтеза при действии ЭТ.

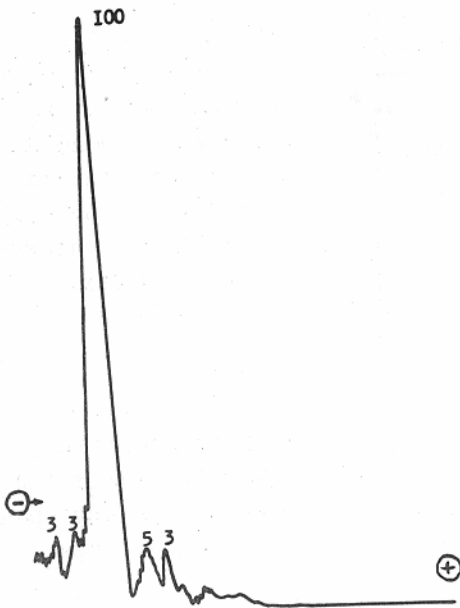


Рис. 8. Денситограмма белков фракции А, разделенных с помощью диск-электрофореза в ПААГ. Цифрами отмечены процентные соотношения площадей отдельных пиков.

Температурный эффект дополнительного синтеза ферментов хлоропласта, сопровождающийся возрастанием его функциональной активности, может быть обусловлен конформационными изменениями репрессоров, обеспечивающих при взаимодействии с метаболитом - корепрессором - динамическую регуляцию синтеза ферментов хлоропласта и поддержание их количества на необходимом уровне, то есть нарушением канала метаболитной авторегуляции биосинтеза хлоропласта. Существование такого канала сейчас показано с помощью неметаболизируемых аналогов глюкозы

/18/ и может объяснить факты (количество которых все увеличивается) неспецифической индукции синтеза белков хлоропласта, в частности РДФК, под влиянием различных факторов (условия азотного питания, возраст листа /19/, влияние цитокини-

нов /20/, солевых растворов с высокой ионной силой /21/).

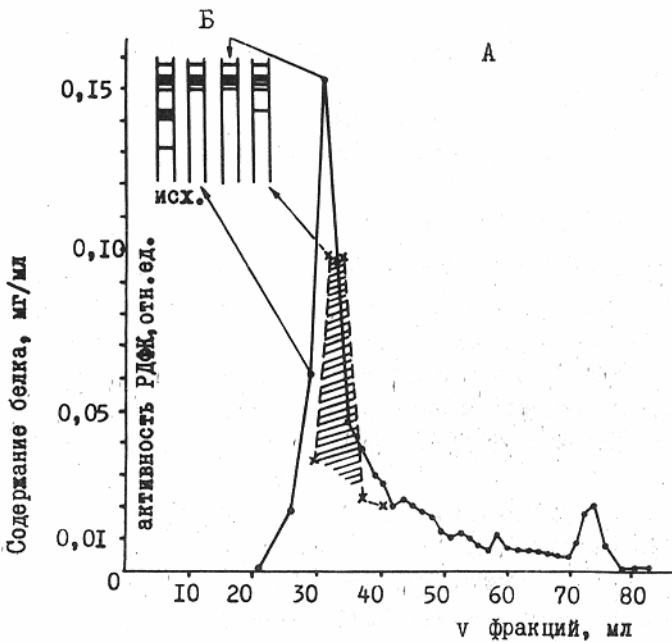


Рис. 9. Профиль гельфильтрации белка фракции А через колонку сефадекса Г-200 и локализация в нем (заштрихованная часть) РДФК (А). Б - схемы электрофореграмм отдельных фракций профиля гельфильтрации. Длина колонки - 60 см, диаметр - 1,5 см.

ЛИТЕРАТУРА

1. Семененко В.Е., Владимирова М.Г., Орлеанская О.Б., Физиол. раст., 14, 4, 612 (1967).
2. Семененко В.Е. и др., Физиол. раст., 16, 2, 210 (1969).
3. Семененко В.Е., Цоглин Л.Н. В сб.: "Материалы VI рабочего совещания по вопросу круговорота веществ в замкнутой системе". Киев, "Наукова думка", 1969, стр. 94.
4. Smillie R.M., Scott N.S. In: "Progr. Molec. Subcell. Biol.", v. 1. 1969, p. 136.

5. Ingle I., *Plant Physiol.*, 43, 1850 (1968).
6. Владимирова М.Г. и др. В сб.: "Управляемый биосинтез". М., "Наука", 1966, стр. 93.
7. Семененко В.Е., Зверева М.Г., *Физиол. раст.*, 19, 2, 229 (1972).
8. Клячко-Гурвич Г.Л., *Физиол. раст.*, 11, 6, 978 (1964).
9. Семененко В.Е. и др. В сб.: "Управляемый биосинтез". М., "Наука", 1966, стр. 75.
10. Цоглин Л.Н. и др. Там же, стр. 324.
11. Владимирова М.Г., Семененко В.Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. М., Изд-во АН СССР, 1962.
12. Семененко В.Е., Синицкий И.Г., Цоглин Л.Н. В сб.: "Материалы УП Всесоюзного рабочего совещания по вопросу круговорота веществ в замкнутой системе на основе жизнедеятельности низших организмов". Киев, "Наукова думка", 1972, стр. 26.
13. Методы химии углеводов. Под ред. Н.К.Кочеткова. М., "Мир", 1967, стр. 54.
14. Спирин А.С., *Биохимия*, 23, 656 (1958).
15. Семененко В.Е., Касаткина Т.И., *Физиол. раст.*, 19, 1 (1972).
16. Маурер Г. Диск-электрофорез. М., "Мир", 1971.
17. Детерман Г. Гель-хроматография. М., "Мир", 1970.
18. Семененко В.Е., Афанасьева В.П., *Физиол. раст.*, 19, 5, 1074 (1972).
19. Андреева Т.Ф., Авдеева Т.А., *Физиол. раст.*, 17, 2, 225 (1970).
20. Feierabend I., *Planta*, 84, 11 (1969).
21. Семененко В.Е. и др. В сб.: "Материалы УП Всесоюзного рабочего совещания по вопросу круговорота веществ в замкнутой системе на основе жизнедеятельности низших организмов". Киев, "Наукова думка", 1972, стр. 134.