

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ *CHLORELLA* В СВЯЗИ С ДЛИТЕЛЬНЫМ ИНТЕНСИВНЫМ КУЛЬТИВИРОВАНИЕМ ВОДОРΟΣЛЕЙ

М. Г. Владимирова, М. И. Таутс, О. И. Феоктистова
и В. Е. Семененко

В результате многочисленных исследований ученых разных стран в настоящее время несомненна перспективность практического использования таких автотрофных фотосинтезирующих организмов, как одноклеточные зеленые водоросли. Изучение фотосинтетической продуктивности *Chlorella*, *Scenedesmus* и других водорослей позволяет создавать методы получения в больших масштабах биомассы этих организмов (Myers, 1953; Tamiya 1957; Ничипорович, 1961; Пиневич, 1961; Чесноков, 1962).

Сейчас известны два типа промышленного культивирования водорослей:

1) выращивание водорослей под открытым небом, так называемое массовое культивирование, и

2) индустриальный метод высокоинтенсивного культивирования водорослей в специальных аппаратах (танках, ферментерах и пр.) по типу современных микробиологических производств, но с использованием источников света.

Последний способ более перспективен для промышленного производства ценных метаболитов (см. Клячко-Гурвич и Семененко, 1966), а также при разработке биологических систем обеспечения жизни людей в условиях длительных космических полетов (Myers, 1954; Still, 1960; Biget, 1962; Семененко, Владимирова и Ничипорович, 1962; Ничипорович, 1963). Кроме того, он представляет особый интерес, поскольку открывает пути введения процесса фотосинтеза в промышленное инженерно-биологическое производство, где до сих пор используются только гетеротрофные микроорганизмы.

Названные два типа культивирования водорослей характеризуются различными способами получения больших количеств биомассы.

В массовых культурах водорослей под открытым небом высокие выходы биомассы получают в основном за счет использования больших площадей, и расчет продуктивности культуры ведется на единицу поверхности (на 1 м^2). При выращивании же водорослей в закрытых помещениях, в специальных культиваторах или реакторах оценкой продуктивности культуры является также расчет на единицу объема сус-

пензии (на 1 л). В первом случае при расчете продуктивности культуры не учитываются такие факторы, как глубина слоя, общий объем суспензии и, следовательно, реальное количество клеток водорослей, определивших полученную с 1 м² поверхности продукцию. Продуктивность культур водорослей под открытым небом оказывается весьма незначительной — не выше 0,2 г/л в сутки (в расчете на единицу объема суспензии), что свидетельствует о слабом размножении водорослей в этих условиях и по существу об экстенсивном ведении культуры. Для промышленных же целей требуется более продуктивная культура водорослей, т. е. такая, которая: 1) может обеспечить высокую скорость размножения клеток и дать за короткий срок высокие выходы биомассы; 2) способна длительно функционировать в заданном режиме, сохраняя высокие показатели продуктивности¹.

Исследователи еще далеко не всегда создают условия для интенсивного роста водорослей и не используют их потенциальные возможности.

В таблице приведены данные различных авторов о продуктивности культур водорослей, полученные при выращивании их под открытым небом и в лаборатории. Как показывают представленные результаты, продуктивность в расчете на 1 л суспензии у культур водорослей, выращенных под открытым небом, очень низкая, а лабораторные культуры различного масштаба (включая и приближающиеся к полупроизводственным) обладают различной степенью интенсивности роста и биосинтеза биомассы. В таблице приводятся также результаты, полученные нами при лабораторном выращивании различных культур водорослей. Приводятся также данные о продуктивности водорослей в условиях непрерывного управляемого проточного культивирования, а равно при применении высоких (искусственно сконцентрированных) исходных плотностей суспензии клеток (Мелешко, 1964).

Следует указать, что наиболее точной характеристикой степени интенсификации процесса культивирования водорослей, очевидно, был бы коэффициент размножения или коэффициент удвоения числа клеток в культуре, так как в противном случае могут быть сделаны неправильные выводы, однако данных, которые позволили бы сделать подобный расчет, в большинстве работ не приводится.

Во всяком случае, очевидно, что в определенных условиях может быть получена достаточно интенсивная культура водорослей, обеспечивающая высокие выходы биомассы с 1 л суспензии. Однако практически наибольший интерес представляют, естественно, не кратковременные опыты, а длительная интенсивная культура. В связи с этим мы приводим сведения о длительности того или иного эксперимента, из которых видно, что интенсивность роста культур была невысокой.

Вместе с тем, как уже указывалось ранее (Владимирова и Семеновко, 1962; Владимирова, Семеновко и Ничипорович, 1962), физиологические характеристики культур водорослей оказываются совершенно различными в зависимости от условий культивирования. Более того, иногда, например, в случае отбора штаммов по продуктивности, при оценке фотосинтетической активности культур, при подборе оптимальной среды были получены совершенно противоположные результаты: одни — при выращивании водорослей в условиях интенсивной культуры и другие — в условиях, не обеспечивающих их активный рост.

¹ Вопросы к.п.д. утилизации лучистой энергии, которые особенно важны, когда речь идет о применении искусственных источников света, являются предметом специального рассмотрения и здесь не затрагиваются.

Сравнительная характеристика продуктивности водорослей при различных методах культивирования в расчете на единицу объема суспензии клеток (по данным различных авторов)

Видовое название	Условия культивирования	Среднесуточная продуктивность, г сух. вещества/л	Длительность культивирования, сутки	Автор, год
Под открытым небом				
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	В полиэтиленовых трубах	0,10	40	Фирма Little, 1953
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	В бассейнах	0,20	60	Капазава а. оth., 1958
<i>Chlorella vulgaris</i>	»	0,07—0,14	—	Русина, 1951
То же	»	0,07—0,20	—	Чесноков, 1962
<i>Chlorella «Citr 5»</i>	»	0,15—0,24	60	Пиневич, 1961 Tamiya, 1957
В лаборатории				
<i>Chlorella vulgaris</i>	В колбах, непрерывное освещение 18—21·10 ³ лк, барботаж воздухом с 5% CO ₂	0,067*	15	Pratt, 1940
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	В кольцевых камерах на прямом солнечном свете, освещенность 10,8·10 ³ лк	2,70	20	Myers a. oth., 1951
То же	В сосудах на прямом солнечном свете, барботаж воздухом с 5% CO ₂	0,71*	42	Davis a. oth., 1953
<i>Scenedesmus obliquus</i>	В плоских кюветах, освещенность 10·10 ³ лк, барботаж воздухом с 5% CO ₂	0,035	20	Krauss a. Thomas, 1954
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	В сосудах, освещенность 10·10 ³ лк, барботаж воздухом с 1% CO ₂	0,34	10	Владимирова, Семененко, Ничипорович, 1962
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	»	1,2	10	То же
<i>Chlorella sp. K.</i>	»	1,3*	7	»
То же	В реакторе ротационного типа, освещенность 10×10 ³ лк, барботаж воздухом с 1% CO ₂	3,60*	3	»
В специальных условиях				
<i>Chlorella sp. K.</i>	В реакторе ротационного типа	9,0—10,0**	—	Семененко, Владимирова, Ничипорович, 1962
То же	В проточной культуре с автоматической стабилизацией числа клеток и состава питательной среды	25,0—27,0	15	Оригинальные данные
<i>Chlorella sp.</i>	В герметической установке с замкнутым воздушным контуром при начальной высокой (млрд.) плотности суспензии	20,5**	2	Мелешко, 1964

* Пересчет на сухой вес по плотности суспензии клеток.

** Пересчет на сухой вес по количеству поглощенной CO₂.

Поэтому, изучая те или иные вопросы длительной культуры, мы учитывали возможность изменения физиологических свойств водорослей в зависимости от методов культивирования.

Известно, что длительную культуру водорослей можно проводить в проточной среде (Phillips a. Myers, 1954; Myers, 1959; Семененко, Владимирова и Ничипорович, 1962; Maler, 1964) методом ресуспензирования клеток в свежую питательную среду (Tamiya, 1957) и методом внесения в ту же культуральную жидкость дополнительного количества питательных солей (Krauss a. Thomas, 1954; Kanazawa a. oth., 1958) при частичном отборе прирастающей биомассы.

Изучение физиологических особенностей водорослей при длительной культуре проводилось в условиях интенсивной лабораторной культуры с дальнейшим пересевом части суспензии, отобранной в период активного роста, на свежую питательную среду (или на жидкость из-под культуры от предыдущего цикла выращивания) и последующим выращиванием ее до заданной плотности.

Выращивание проводили в сосудах, камерах, реакторах на среде Тамия с нитратным азотом и тройной дозой железа (Кузнецов и Владимирова, 1964) при круглосуточном освещении различными источниками света и продувании воздухом, обогащенным до 1,5—2% CO_2 (см. Владимирова и Семененко, 1962).

Для опытов брали различные виды *Chlorella* из коллекции водорослей лаборатории фотосинтеза Института физиологии растений АН СССР.

В процессе длительной интенсивной культуры помимо необходимой стабилизации условий освещения, температуры, правильного сочетания этих факторов, снабжения CO_2 и т. д. большое значение приобретает также изучение тех условий, которые складываются естественным образом непосредственно в суспензии (состояние среды, эндогенные изменения в клетках, состояние самой культуры). Поэтому, каким бы методом ни велась длительная культура, в любом случае необходимо изучать такие явления, как сезонная периодичность в развитии культуры, появление и воздействие на клетки прижизненных выделений (метаболитов), состав питательного раствора и т. д.

Тут прежде всего возникает один общий вопрос: могут ли водоросли в силу своих биологических особенностей длительное время функционировать в таком напряженном темпе, какой необходим в условиях интенсивной культуры?

Была проведена серия опытов различной длительности на различных вариантах интенсивной культуры хлореллы. Некоторые из результатов приведены на рис. 1, из которого видно, что при периодическом пересеве на свежую питательную среду культуры *Chlorella* sp. K., *Chl. pyrenoidosa* 82 и *Chl.* 19 Н/В могут культивироваться, интенсивно размножаясь длительное время, без какого-либо периода покоя.

Серьезным препятствием, особенно при длительном культивировании, может оказаться отмечаемая многими авторами сезонная ритмика в развитии водорослей (Горюнова и Насонова, 1958; Kessler a. oth., 1962, 1963), познание которой несомненно имеет большое значение для интересующего нас вопроса.

Поскольку в большинстве случаев проявление сезонной периодичности связывают с действием экологических факторов (изменения состава вод, температуры, освещенности), то естественно было бы ожидать снятие этого фактора при выращивании водорослей в константных условиях. Действительно, в недавней работе В. Н. Шапошникова с сотрудниками (1964), проводившейся при постоянных условиях среды,

света и температуры, в интенсивной культуре многих протококковых водорослей не было обнаружено сезонных изменений продуктивности. В то же время, как уже упоминалось, С. В. Горюнова и М. В. Насонова (1958), выращивая водоросли в колбах на слабом свете в довольно стабильных условиях, получили четкую зависимость интенсивности роста и продуктивности водорослей от времени года. Таким образом, вопрос о том, есть ли сезонная периодичность в лабораторных культу-

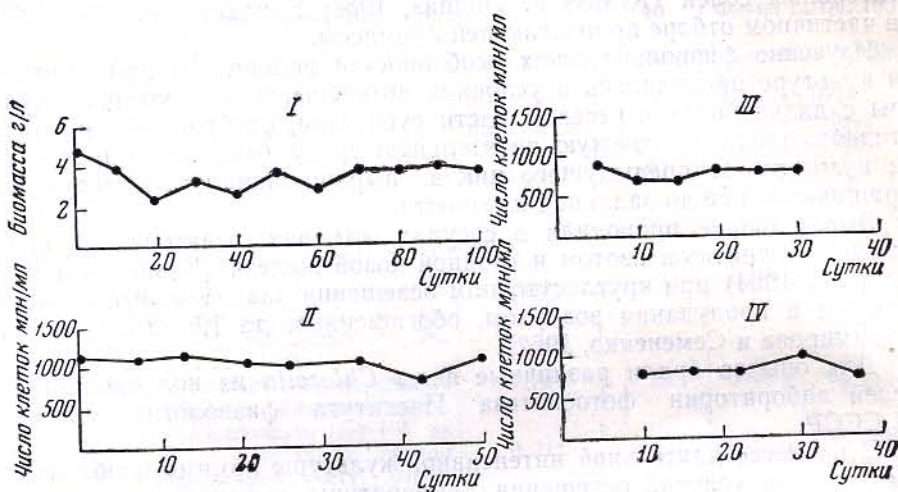


Рис. 1. Характеристика продуктивности различных штаммов хлореллы при длительном интенсивном культивировании (по данным анализа на 5-е сутки культивирования в каждом цикле):
 I, II — *Chlorella* sp. K; III — *Chl.* sp. 19 н/в; IV — *Chl. pyrenoidosa* 82 Chick. I — выращивание в камере; II, III, IV — выращивание в реакторе ротационного типа

рах водорослей, остался нерешенным. Кроме того, пока совершенно неясно, проявляется ли это свойство водорослей в условиях непрерывного ряда последовательных пассажей культуры, поскольку все названные исследования были проведены над водорослями, ежемесячно бравшимися в опыт из коллекции.

Для изучения сезонных изменений в длительной культуре хлореллы сравнивали в течение года продуктивность водорослей при выращивании циклами в интенсивной и неинтенсивной культурах. Инокулятом для каждого последующего цикла служила культура из предыдущего. В условиях интенсивной культуры каждый цикл составлял 7 дней, за этот период накапливалось в среднем 3—4 г/л биомассы; в условиях неактивной культуры цикл длился 14 дней, на протяжении которых накапливалось не более 0,2 г/л биомассы. Всего было проведено 36 циклов в интенсивной культуре и 20 циклов в неинтенсивной.

Для контроля в аналогичных условиях выращивали культуру того же штамма водоросли, взятую из коллекции.

Культивирование проводили в кондиционированной камере на Станции искусственного климата Института физиологии растений АН СССР, где круглый год обеспечивались постоянная температура окружающей среды, постоянное круглосуточное освещение и стабильное продувание или встряхивание (в зависимости от варианта) культуры.

Изучались две культуры водорослей: *Chlorella* sp. K., сравнительно

долго поддерживаемой в лаборатории, и *Chl. vulgaris* — природного штамма, специально выделенного непосредственно перед началом исследования, поскольку можно было предполагать потерю сезонной чувствительности водорослей в результате селекции штамма и длительного поддержания его в лаборатории.

Основные результаты приведены на рис. 2, где видно, что сезонная ритмика в темпе роста и накопления биомассы, несмотря на постоянство условий, совершенно четко проявилась у обеих культур в условиях неинтенсивного роста, и оказалась полностью снятой в условиях интенсивной культуры как у лабораторного, так и у природного штаммов. В контрольном варианте (периодический высев из коллекции) были получены аналогичные результаты (Феоктистова, 1965).

Таким образом, эти данные, с одной стороны, еще раз подтверждают, что условия культивирования могут предопределить различные физиологические свойства, а с другой стороны, свидетельствуют о том, что наличие сезонной ритмики в развитии водорослей определяется не изменчивостью или стабильностью внешних условий, а внутренними эндогенными процессами, и при длительном культивировании ее можно избежать, что обеспечивает возможность интенсивного размножения культуры.

В длительной культуре помимо сезонных изменений могут проявляться и такие свойства водорослей, как самоингибирование, которое может определяться двумя факторами. С одной стороны, физико-химическими изменениями самой среды, вызванными жизнедеятельностью водорослей (изменения состава солей и pH, приводящие к избыточному содержанию какого-либо из компонентов, нарушение ионного равновесия и в результате появление эффекта самоингибирования); с другой стороны, накоплением прижизненных выделений, описанных Праттом (Pratt, 1940, 1942, 1943; Pratt, Fong, 1940) и некоторыми другими авторами.

Ни в том, ни в другом виде явление самоингибирования в приведенных выше опытах не могло быть обнаружено, поскольку культура в состоянии активного роста пересевалась на свежую питательную среду. В имевшихся условиях культивирования торможения роста и выход культуры на плато определялись не избыточным накоплением какого-либо элемента, а, напротив, истощением необходимых элементов минерального питания из обычной среды Тамийя: железа и азота (Кузнецов и Владимирова, 1964; Владимирова и Кузнецов, 1964). После внесения этих элементов в суспензию наблюдался дальнейший рост водорослей.

Возобновление роста водорослей при внесении недостающих элементов (а также при внесении полного набора солей среды Тамийя) указывает одновременно и на отсутствие ингибирующего действия прижизненных выделений. Отметим, однако, что при рассматриваемых ус-

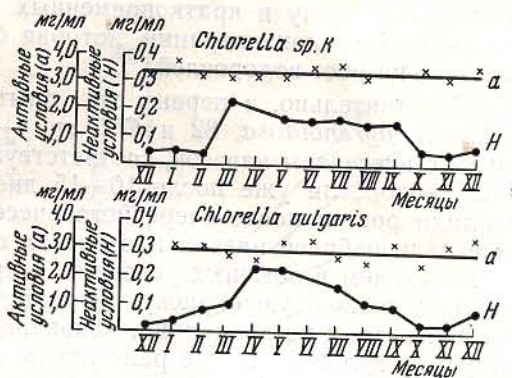


Рис. 2. Характеристика сезонных изменений в продуктивности культур *Chlorella sp. K* (лабораторного штамма) и *Chl. vulgaris* (природного штамма) при длительном их выращивании (в течение года) в условиях, обеспечивающих активный (а) и слабый (н) неактивный рост водорослей

ловнях по ходу роста водорослей в среде накапливаются органические вещества (до 200—250 мг/л за цикл культивирования) и проявляются бактерицидные свойства водорослей (Владимирова, 1961; Владимирова и Базаитова, 1961; Таутс, 1964). Аналогичные данные для культур водорослей получены многими другими исследователями.

В отличие от кратковременных опытов, при длительном выращивании водорослей до высоких плотностей суспензии и особенно при многократном использовании одной и той же культуральной жидкости изменения, появляющиеся, видимо, в небольших количествах и не улавливаемые поэтому в кратковременных опытах, могут постепенно оказываться в такой концентрации, которая будет оказывать ингибирующее действие на рост водорослей.

Действительно, в первых же опытах длительного выращивания *Chlorella pyrenoidosa*, 82 и *Chl. sp.* 1—14 в камерах в одном объеме среды с внесением навесок, соответствующих полному набору солей Тамийя, водоросли уже после 10—15 дней культивирования заметно замедлили рост и после очередного внесения солей вышли на плато при значительно более низких плотностях суспензии (500—600 млн. клеток на 1 мл), чем в обычных условиях, а среда к этому времени приобрела яркую буро-желтую окраску. Выращивание на таком фильтрате водорослей, взятых из коллекций, показало, что и в этом случае рост ингибируется, культура также рано прекратила рост и вышла на плато уже при плотности 370 млн. клеток против 1100 млн. на 1 мл, при которой вышла на плато культура в контрольном варианте на свежей питательной среде.

Анализы материалов специальных длительных опытов по выращиванию *Chlorella sp.* К. на многократно используемом фильтрате центрифужной жидкости, полученной от предшествовавших циклов культивирования, показали, что основным фактором ингибирования, возникающим в длительной культуре при обогащении среды солями (соответствующими по составу и концентрации полной среде Тамийя), является совокупность таких факторов, как накопление высоких концентраций иона K^+ и высокое значение рН среды. Так, культура нормально развивалась при высоком содержании калия в среде и рН, близком к нейтральному, но угнеталась тем же количеством этого элемента при более высоких значениях рН, которые сами по себе, однако, не являются угнетающими в обычных условиях культивирования на свежей среде Тамийя (Таутс, 1964). Следует отметить, что в опытах не была исключена возможность того, что ингибирующее действие ионов калия при высоком значении рН среды является следствием его физиологического действия на водоросли в том смысле, что в результате неблагоприятных условий среды водоросли выделяли в среду ингибирующие рост продукты жизнедеятельности.

После соответствующей корректировки среды было проведено 11 циклов выращивания хлореллы на одной и той же культуральной жидкости без какого-либо видимого изменения в темпе прироста биомассы и с одного литра среды при ее периодическом обогащении элементами питания было получено более 100 г сухого веса биомассы водорослей. При этом, как и в кратковременных культурах, в среде медленно и постепенно шло нарастание органического вещества, которое тем не менее не угнетало роста культуры.

На рис. 3 полученные результаты представлены в виде

$$K_{инг} = \frac{\Delta N_{контр}}{\Delta N_{опыт}}$$

Кривая I, идущая на уровне $K_{инг}$, равном единице,

указывает на отсутствие фактора ингибирования. Кривая II указывает на резкое возрастание фактора ингибирования в рассмотренных выше опытах при разбалансе среды, достигшем критической величины на пятом цикле культивирования. Кривая III указывает на другой случай автоингибирования роста водорослей, рассматриваемый ниже.

В опытах, результаты которых отражены на кривых I и II, так же как и при выращивании водорослей в длительной культуре на свежей питательной среде, пересевы из цикла в цикл проводились в период активного роста культуры. В тех случаях, когда водоросли выращивали



Рис. 3. Эффект самоингибирования у водорослей в зависимости от длительности и условий культивирования (объяснения см. в тексте)

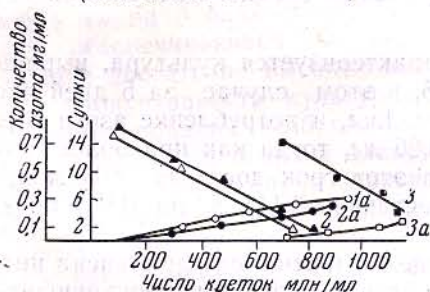


Рис. 5. Характеристика роста и потребление азота культурой *Chlorella* sp. K:

1, 2, 3 — изменение содержания азота в среде в процессе роста культуры; 1а, 2а, 3а — изменение числа клеток в процессе роста культуры

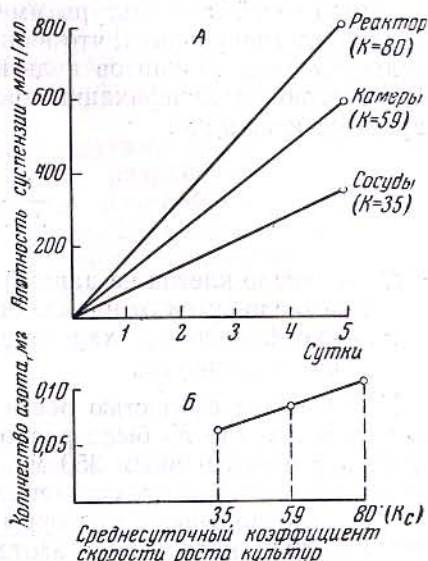


Рис. 4. Вынос азота из среды клетками *Chlorella* sp. K в зависимости от степени интенсификации роста культуры:

А — продуктивность водорослей при различных условиях культивирования; Б — вынос азота из среды, в расчете на 100 млн. клеток; K_c — среднесуточный коэффициент скорости роста культуры

на фильтрах из-под культур, выведенных на плато, быстро (уже на втором цикле) появлялся ингибирующий фактор (кривая III). Поскольку при этом не наблюдалось сколько-нибудь существенного разбаланса элементов минерального питания, можно считать, что в таких стареющих культурах накапливаются выделяемые водорослями вещества, вызывающие в последующем эффект самоингибирования у водорослей. Следовательно, изучая прижизненные выделения при длительном культивировании водорослей, как и в случае сезонной ритмики, мы обнаруживаем полное отсутствие ингибирующего фактора в том случае, когда обеспечен нормальный интенсивный рост водорослей. В тех же случаях, когда интенсивный рост водорослей по каким-либо причинам прекращается (замедление роста при выходе на плато, неблагоприятное воздействие элементов среды), у них наблюдается эффект самоингибирования.

В свете полученных данных особенно важно изучение физиологии минерального питания водорослей, которое нужно для поддержания на оптимальном уровне состава среды и pH. В связи с этим изучался вынос элементов минерального питания из среды при различных условиях культивирования водорослей и в зависимости от состояния культуры.

Остановимся на результатах, полученных при изучении закономерности выноса азота. Опыты, проведенные на двух культурах хлореллы (*Chlorella pyrenoidosa* 82 Chick и *Chl. sp. K.*), показали, что в одних и тех же условиях культивирования закономерности выноса азота одинаковы и обе культуры в расчете на клетку потребляли одинаковое количество азота. В то же время вынос азота из среды в расчете на клетку у одной и той же культуры имеет разную величину в зависимости от условий культивирования, что видно из рис. 4. На рисунке представлены результаты трех вариантов культивирования *Chlorella sp. K.* с различной степенью интенсификации процесса роста, которая может быть охарактеризована как

$$\frac{N_t}{N_0 \cdot t} = K_c,$$

где N_t — число клеток на данный момент;

t — число суток от начала опыта;

K_c — коэффициент, характеризующий среднесуточную скорость роста культуры.

Наименьшей скоростью роста характеризуется культура, выращенная в сосудах, где K_c было равно 35, в этом случае за 5 дней число клеток оказалось равным 350 млн. на 1 мл, и потребление азота в расчете на 100 млн. клеток составило 0,06 мг, тогда как при более интенсивном росте плотность культуры за этот срок достигла 800 млн. на 1 мл, $K_c=80$, а потребление азота составило 0,111 мг на 100 млн. клеток.

Таким образом, и в данном случае в зависимости от степени интенсификации физиологическая характеристика культуры, проявившаяся в особенностях потребления азота, оказывается различной. Это может указывать на отличие по направленности метаболизма у культур при длительном их выращивании с разной степенью интенсификации.

Рассмотрение характера потребления азота из среды по ходу роста культуры водорослей показало, что периоду линейного роста культуры соответствует линейный участок потребления азота (рис. 5). Как известно, по ходу роста культуры существенно меняются физико-химические условия среды — убывающий режим минерального питания, повышение плотности суспензии, и связанные с этим изменения светового режима. Тем не менее потребление азота на клетку на стадии линейного роста культуры остается величиной постоянной и присущей данным условиям культивирования. По всей видимости, те изменения условий, которые происходят в растущей культуре водорослей, не могут быть сравнимы с изменением того комплекса факторов, который определяет степень интенсивности роста культуры и выноса азота на клетку при различных условиях выращивания.

Тот факт, что при данных условиях культивирования по ходу роста культуры практически не меняется характер выноса азота, весьма существенно при разработке длительной культуры, поскольку, во-первых, имеется возможность в процессе длительного культивирования водорослей не проводить постоянного анализа среды, а обогащать ее доста-

PHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF *CHLORELLA* AS RELATED TO ITS
PROLONGED INTENSIVE CULTIVATION

M. G. Vladimirova, M. I. Tauts, O. I. Feoktistova and
V. E. Semenenko

Summary

Seasonal periodicity, autoinhibition and regularities of nitrogen consumption in *Chlorella* cultures were studied under various conditions of cultivation. The obtained data indicate that qualitative physiological dissimilarities develop in the cultures depending on the degree of intensification of their development.

Thus nitrogen assimilation which remains constant under any concrete conditions of cultivation increases regularly with the intensification of cultivation.

Seasonal periodicity, distinctly seen under the conditions of which do not lead to active growth is not observed in intensive cultivation.

The phenomenon of growth autoinhibition which occurs in ageing cultures when reaching a stable level (plateau) is fully eliminated by cultivation under optimum conditions of growth.

It is shown on the example of three strains of *Chlorella* that algae are capable of prolonged functioning under the conditions of intensive cultivation.

The highest productivity (25 g per 1 litre per day) was obtained under conditions of continuous steady-state culture.

ЛИТЕРАТУРА

- Владимирова М. Г. 1961. Динамика развития бактериальной микрофлоры при культивировании хлореллы. «Микробиология», 30, 3, 431.
- Владимирова М. Г. и Базайтова Л. В. 1961. Изучение развития *Chlorella pyrenoidosa* и бактерий группы *Pseudomonas* при их совместном выращивании. «Микробиология», 30, 4, 593.
- Владимирова М. Г. и Кузнецова Е. Д. 1964. Динамика изменений содержания азота и фосфора в среде в различных условиях интенсивности выращивания хлореллы. «Физиология растений», 11, 827.
- Владимирова М. Г. и Семененко В. Е. 1962. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. М., Изд-во АН СССР.
- Владимирова М. Г., Семененко В. Е. и Ничипорович А. А. 1962. Сравнительное изучение продуктивности различных форм одноклеточных водорослей. В кн.: «Пробл. космической биологии», II, 314. М., Изд-во АН СССР.
- Горюнова С. В. и Насонова М. В. 1958. Явление сезонной периодичности роста и развития у одноклеточных зеленых водорослей. «Микробиология», 27, 3, 581.
- Клячко-Гурвич Г. Л. и Семененко В. Е. 1966. Физиолого-биохимические аспекты направленного получения ценных метаболитов в условиях интенсивной культуры водорослей. См. настоящий сборник.
- Кузнецов Е. Д. и Владимирова М. Г. 1964. Железо как фактор, лимитирующий рост хлореллы на среде Тамия. «Физиология растений», 11, 615.
- Мелешко Г. И. 1964. К вопросу о повышении фотосинтетической продуктивности культуры хлореллы в установках для биологической регенерации воздуха. В кн.: «Пробл. космической биологии», 3, 410. М., Изд-во АН СССР.
- Ничипорович А. А. 1961. О производственной культуре одноклеточных водорослей. М., «Знание».
- Ничипорович А. А. 1963. Создание обитаемой среды в будущих космических полетах человека. В кн.: «Космос». М., Изд-во АН СССР.
- Пиневич В. В. 1961. Итоги массового культивирования одноклеточных водорослей. В кн.: «Всес. совещание по культивированию одноклеточных водорослей». Тез. докл. М.
- Пина О. Н. 1961. Массовое культивирование хлореллы при различных способах пемешивания. Там же.

- Семеновенко В. Е., Владимиров М. Г. и Ничипорович А. А. 1962. Некоторые принципы интенсификации фотосинтетической продуктивности культуры одноклеточных водорослей. В кн.: «Пробл. космической биологии», 2, 326. М., Изд-во АН СССР.
- Таутс М. И. 1964. Изучение влияния продуктов жизнедеятельности хлореллы на ее рост в условиях интенсивной культуры. «Физиология растений», 11, 247.
- Феоктистова О. И. 1965. Изучение сезонной периодичности в развитии *Chlorella* в зависимости от условий культивирования. «Физиология растений», 12, 888.
- Чесноков В. А. 1962. Некоторые физиологические аспекты повышения продуктивности одноклеточных водорослей. «Вестн. ЛГУ», сер. биол., № 9, 113.
- Шапошников В. Н., Пименова М. Н., Максимова И. В., Жданникова Е. И. и Раменская А. А. 1964. О сезонной периодичности развития зеленых водорослей в лабораторных условиях. «Микробиология», 33, 221.
- Algal culture from laboratory to pilot plant, 1953. Ed. J. S. Burlew. «Carn. Inst. Wash. Publ.», No. 600.
- Biget P. L., 1962. Les systemes biologiques regeneratifs d'oxygene. «J. Physiol.», 54, 153.
- Davis E. A., Dedrick J., French C. S. and oth. 1953. Laboratory experiments on *Chlorella* culture at the Carnegie Institute. «Carn. Inst. Wash. Publ.», No. 600, 105.
- Kanazawa T., Fuita Ch. and oth. 1958. Mass culture of unicellular algae using the «open circulation method». «J. Gen. Appl. Microbiol.», 4, 135.
- Kessler E., Laignes W. 1962. Jahresperiodische Aktivität — schwangungen bei einer *Chlorella*. «Naturwissenschaften», 14.
- Kessler E., Czygan F. C., 1963. Seasonal changes in the nitrate reducing activity of a green algae. «Experientia», 19.
- Krauss R. W. and Thomas W. H. 1954. The growth and inorganic nutrition of *Scenedesmus obliquus* in mass culture. «Plant Physiol.», 29, 205.
- Malek I. 1964. Kонтинуали kultivace mikroorganismů. Praha.
- Myers J., Phillips J. N. and Graham Jr. a. J.-R., 1951. On the mass culture of algae. «Plant Physiol.», 26, 539.
- Myers J. 1953. Growth characteristics of algae in relation to the problems of mass culture. «Carn. Inst. Wash. Publ.», No. 600, 37.
- Myers J. 1954. Basic remarks on use of plant as gas exchanqers in closed system. «J. Aviat. Med.», 25, 407.
- Myers J. 1959. On the mass culture of algae. «Plant Physiol.», 34, 345.
- Phillips J. W. and Myers J. 1954. Measurement of algae growth under controlled steady-state conditions. «Plant Physiol.», 29.
- Pratt R. 1940. Influence of the size of the inoculum on the growth of *Chlorella vulgaris*. «Amer. J. Bot.», 27, 52.
- Pratt R., Fong J. 1940. Studies on *Chlorella vulgaris*. «Amer. J. Bot.», 27, 431.
- Pratt R. 1942. Some properties of the growth-inhibitor formed by *Chlorella cells*. «Amer. J. Bot.», 29, 142.
- Pratt R. 1943. Studies on *Chlorella vulgaris*. «Amer. J. Bot.», 30, 32.
- Still E. W. 1960. High altitude chambers and pressure suits and their part in manned flight to the Moon. «J. Brit. Interplanet. Soc.», 17, 239.
- Tamiya H. 1957. Mass culture of algae. «Ann. Rev. plant physiol.», 8, 309.