

УДК: 57.032:033

Моделирование динамики макромолекулярного состава микроводорослей в накопительной культуре

А. С. Лелеков^а, Р. П. Тренкеншу

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей
имени А. О. Ковалевского РАН»,
Россия, 299011, г. Севастополь, пр. Нахимова, д. 2

E-mail: ^а a.lelekov@yandex.ru

Получено 29.08.2022.

Принято к публикации 16.01.2023.

В работе методом математического моделирования проведено исследование механизмов влияния света на скорость роста и макромолекулярный состав накопительной культуры микроводорослей. Показано, что даже при единственном лимитирующем факторе рост микроводорослей сопряжен со значительным изменением биохимического состава биомассы. Отмечено, что существующие математические модели, основанные на принципах ферментативной кинетики, не учитывают возможную смену лимитирующего фактора в процессе увеличения биомассы и не позволяют описать динамику относительного содержания ее биохимических компонентов. В качестве альтернативного подхода предложена двухкомпонентная модель, в основе которой положено предположение о двухстадийности фотоавтотрофного роста. Биомассу микроводорослей можно рассматривать в виде суммы двух макромолекулярных составляющих — структурной и резервной. Предполагается пропорциональность всех структурных компонентов биомассы, что значительно упрощает математические выкладки и верификацию модели. Предлагаемая модель представлена системой двух дифференциальных уравнений: скорость синтеза резервных составляющих биомассы определяется интенсивностью света, а структурных компонентов — потоком резервов на ключевой мультиферментный комплекс. Модель учитывает, что часть резервных компонентов расходуется на пополнение пула макроэргов. Скорости синтеза структурных и резервных форм биомассы заданы линейными сплайнами, которые позволяют учесть смену лимитирующего фактора с ростом плотности накопительной культуры. Показано, что в условиях светового лимитирования накопительную кривую необходимо разделять на несколько областей: неограниченного роста, малой концентрации клеток и оптически плотной культуры. Для каждого участка получены аналитические решения предлагаемой модели, которые выражены в элементарных функциях и позволяют оценить видоспецифические коэффициенты. Проведена верификация модели на экспериментальных данных роста биомассы и динамики относительного содержания хлорофилла *a* накопительной культуры красной морской микроводоросли *Porphyridium purpureum*.

Ключевые слова: математическая модель, скорость роста, биохимический состав, интенсивность света, линейные сплайны, коэффициент поглощения света, хлорофилл *a*

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Исследование механизмов управления производственными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса», № гос. регистрации 121030300149-0.

UDC: 57.032:033

Modeling of the macromolecular composition dynamics of microalgae batch culture

A. S. Lelekov^a, R. P. Trenkenshu

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS,
2 Nachimova ave., Sevastopol, 299011, Russia

E-mail: ^a a.lelekov@yandex.ru

Received 29.08.2022.

Accepted for publication 16.01.2023.

The work focuses on mathematical modeling of light influence mechanisms on macromolecular composition of microalgae batch culture. It is shown that even with a single limiting factor, the growth of microalgae is associated with a significant change in the biochemical composition of the biomass in any part of the batch curve. The well-known qualitative models of microalgae are based on concepts of enzymatic kinetics and do not take into account the possible change of the limiting factor during batch culture growth. Such models do not allow describing the dynamics of the relative content of biochemical components of cells. We proposed an alternative approach which is based on generally accepted two-stage photoautotrophic growth of microalgae. Microalgae biomass can be considered as the sum of two macromolecular components — structural and reserve. At the first stage, during photosynthesis a reserve part of biomass is formed, from which the biosynthesis of cell structures occurs at the second stage. Model also assumes the proportionality of all biomass structural components which greatly simplifies mathematical calculations and experimental data fitting. The proposed mathematical model is represented by a system of two differential equations describing the synthesis of reserve biomass compounds at the expense of light and biosynthesis of structural components from reserve ones. The model takes into account that a part of the reserve compounds is spent on replenishing the pool of macroergs. The rates of synthesis of structural and reserve forms of biomass are given by linear splines. Such approach allows us to mathematically describe the change in the limiting factor with an increase in the biomass of the enrichment culture of microalgae. It is shown that under light limitation conditions the batch curve must be divided into several areas: unlimited growth, low cell concentration and optically dense culture. The analytical solutions of the basic system of equations describing the dynamics of macromolecular biomass content made it possible to determine species-specific coefficients for various light conditions. The model was verified on the experimental data of biomass growth and dynamics of chlorophyll *a* content of the red marine microalgae *Porphyridium purpureum* batch culture.

Keywords: mathematical model, growth rates, biochemical composition, light intensity, linear splines, light absorption coefficient, chlorophyll *a*

Citation: *Computer Research and Modeling*, 2023, vol. 15, no. 3, pp. 739–756 (Russian).

The work is carried out within the framework of the state task of the A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, state no. registration 121030300149-0.

1. Введение

Низшие фотоавтотрофные организмы являются основой всех энергетических процессов в биосфере. В современной систематике к категории низших фотоавтотрофов относят микроводоросли и цианобактерии, которые способны к кислородному фотосинтезу, характеризуются разделением фотохимических и ферментативных процессов. Культуры микроводорослей (цианобактерий) широко используются в качестве модельных объектов в биофизике и гидробиологии. Благодаря простоте технической реализации множество экспериментальных работ с микроводорослями осуществляется в накопительном режиме. Графически динамика плотности культуры при накопительном культивировании изображается S-образной кривой. Принято считать, что накопительную кривую можно разделить на следующие участки: лаг-фаза (индукционный период, фаза задержки роста), экспоненциальная (логарифмическая или ускорения роста), фаза замедления роста (отрицательного ускорения роста), стационарная фаза и фаза отмирания [Перт, 1978].

Накопительная кривая является основной характеристикой роста культуры в заданных условиях. По сложившимся представлениям, каждая фаза роста накопительной культуры определяется тем или иным лимитирующим фактором либо их совокупным действием. Однако в процессе роста накопительной культуры микроводорослей может происходить смена лимитирующего фактора, что приводит к резкому изменению продуктивности культуры и так называемым изломам кривой роста. Существующие математические модели роста микроводорослей, основанные на классических представлениях ферментативной кинетики [Monod, 1949; Pearl, Reed, 1923; Droop, 1983; Перт, 1978; Flynn, 2001], не учитывают возможную смену лимитирующего фактора в процессе увеличения плотности культуры. Например, в работах [Mairet et al., 2011; Zhou et al., 2014] динамические модели роста основаны на представлениях Моно, в некоторых случаях экспериментальные данные описываются логистической функцией [Yang et al., 2011] или полиномом [Costa et al., 2002]. Альтернативный подход к математическому описанию кривой роста предполагает, что в общем виде накопительную кривую нельзя задать одним уравнением: 1) необходимо выделить область, где удельная скорость роста постоянна и максимальна, что приводит к экспоненциальному росту биомассы; 2) область, где скорость роста зависит от внешней концентрации лимитирующего субстрата. Таким образом, можно считать, что скорость синтеза биомассы прямо пропорциональна концентрации лимитирующего субстрата (интенсивности света), а при некоторой пороговой концентрации скорость синтеза достигает максимума, т. е. описывается ломаной. С практической точки зрения основными достоинствами использования ломаной являются возможность учета смены лимитирующего фактора, а также значительное упрощение математического аппарата. Важным методологическим аспектом в пользу применения ломаной является то, что процессы метаболизма, протекающие в клетках микроводорослей, существенно отличаются от обычных ферментативных реакций *in vitro*. Биологические системы имеют организованную структуру, включающую не только ферментные, но и транспортные компоненты [Минкевич, 2005; Ухманьски, 2020]. Строго говоря, скорость синтеза биомассы определяется не концентрацией лимитирующего субстрата, а его потоком на ключевой мультиферментный комплекс с учетом его активности и структурной организации. Например, рассматривая световое лимитирование роста культуры микроводорослей, можем записать:

$$P_{norm} = \mu_{norm} = \begin{cases} \lambda_i, & \lambda_i \leq 1, \\ 1, & \lambda_i \geq 1, \end{cases} \quad (1)$$

$$\lambda_i = \frac{\varphi_e \cdot I}{\mu_e \cdot F_0}, \quad (2)$$

где P_{norm} , μ_{norm} — нормированная (на максимальную) скорость и удельная скорость синтеза биомассы (безразмерные величины); λ_i — приведенная плотность потока квантов света; I — поток фотосинтетически активной радиации (ФАР), поглощаемой культурой, $\text{Дж} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$; φ_e — количество макроэргов, восстанавливающихся за счет единицы энергии ФАР, $\text{мг} \cdot \text{Дж}^{-1}$; μ_e — активность ключевого мультиферментного комплекса, регулирующего энергообмен в клетке, с^{-1} ; F_0 — его поверхностная концентрация, $\text{мг} \cdot \text{м}^{-2}$.

Важным аспектом, который необходимо учитывать при моделировании роста накопительной культуры микроводорослей, является изменение биохимического состава биомассы. Анализ такого рода данных представляет собой сложную задачу. В литературе приводятся многочисленные экспериментальные данные изменения содержания белков, липидов, углеводов и др. компонентов [Ho, Chen, Chang, 2012; Chauton et al., 2013; Solovchenko et al., 2015; Jallet et al., 2016]. Например, относительное содержание пигментов в биомассе не является постоянной величиной и может изменяться в десятки раз, а также характеризуется сильной нелинейностью в процессе роста культуры. Такие переходные процессы могут характеризоваться «ложным стартом» даже при полном минеральном обеспечении роста, что говорит об определяющем влиянии световых условий не только на скорость роста, но и на биохимический состав биомассы.

В предыдущей работе [Лелеков, Чернышев, Ключкова, 2022] предложена простейшая модель светозависимого роста накопительной культуры. Модель основана на предположении о том, что удельная скорость в области светолимитирования определяется поверхностной облученностью, коэффициентом поглощения света и концентрацией хлорофилла a , т. е. описывается выражением (1). Конечно, подобное заключение имеет место, если предположить прямую пропорциональность между концентрацией хлорофилла и концентрацией ключевого мультиферментного комплекса. Известно, что у эукариотических видов микроводорослей хлорофилл a образует с белками комплекс, который представляет собой структурный компонент хлоропластов. Прокариотические микроводоросли также содержат хлорофилл a в виде комплекса с белками, которые сосредоточены в специализированных структурных компартментах [Холл, Рао, 1983]. Кроме того, экспериментально показано постоянство соотношения $\frac{X_{cl}}{P_{700}}$ [Заворуева, Заворуев, Крум, 2011] и $\frac{X_{cl}}{\text{белок}}$ [Минюк и др., 2002; Jallet et al., 2016] в любой стадии роста накопительной культуры. Предложенная в [Лелеков, Чернышев, Ключкова, 2022] модель описывает рост плотности накопительной культуры микроводорослей в условиях светолимитирования, однако не дает ответа на вопрос о причинах изменения относительного содержания хлорофилла a . Данная работа посвящена моделированию динамики плотности накопительной культуры микроводорослей с учетом изменения биохимического состава биомассы.

2. Двухкомпонентная модель роста культуры микроводорослей

Рассмотрим обобщенную двухкомпонентную модель культуры микроводорослей, в основе которой положено предположение о двухстадийности фотоавтотрофного роста. Первой стадией является собственно фотосинтез, в результате которого за счет световой энергии происходит ассимиляция углекислоты и образуются простейшие углеводы. Эти углеводы не являются структурными компонентами клеток, а представляют собой энергетический и углеродный резерв для всех последующих метаболических реакций. На второй стадии происходит биосинтез клеточных структур за счет энергии, выделяющейся при окислении фотосинтетических углеводов. Биомассу микроводорослей можно рассматривать в виде суммы двух органических форм — структурной (B_{str}) и резервной (B_{res}). В общем случае, в отсутствие лимитирования по биогенным элементам питательной среды, система уравнений, описывающая динамику трансформации

структурных и резервных форм биомассы микроводорослей, имеет вид

$$\begin{cases} \frac{dB_{str}}{dt} = \frac{q_{rs}\mu_{mrs}B_{str}}{\varepsilon_{sat}} \left| \begin{array}{l} \varepsilon, \quad \varepsilon < \varepsilon_{sat}, \\ \varepsilon_{sat}, \quad \varepsilon \geq \varepsilon_{sat} \end{array} \right. - \mu_r B_{str}, \\ \frac{dB_{res}}{dt} = \mu_m B_{str} \left| \begin{array}{l} \lambda_i, \quad \lambda_i < 1, \\ 1, \quad \lambda_i \geq 1 \end{array} \right. - \frac{\mu_{mrs}B_{str}}{\varepsilon_{sat}} \left| \begin{array}{l} \varepsilon, \quad \varepsilon < \varepsilon_{sat}, \\ \varepsilon_{sat}, \quad \varepsilon \geq \varepsilon_{sat} \end{array} \right. \end{cases} \quad (3)$$

где B_{str} , B_{res} — структурная и резервная компоненты биомассы, $г \cdot м^{-2}$; μ_m — максимальная удельная скорость фотосинтеза, $сут^{-1}$; λ_i — приведенная плотность потока квантов света; ε , ε_{sat} — соотношение и насыщающее соотношение «резервная/структурная биомасса»; μ_{mrs} — максимальная удельная скорость преобразования резервной биомассы в структурную, $сут^{-1}$; q_{rs} — эффективность перехода резервной биомассы в структурную; μ_r — удельная скорость распада структуры, $сут^{-1}$.

В выражении (3) скорость синтеза резервных форм биомассы задана линейными сплайнами (1) и выражена через приведенную плотность потока энергетического квантов света λ_i . Скорость синтеза структурных форм определяется приведенным потоком резервной биомассы λ_{rs} . Покажем, что эта величина может быть выражена через биохимически измеряемое соотношение ε :

$$\varepsilon = \frac{B_{res}}{B_{str}}. \quad (4)$$

Приведенная плотность потока резервной биомассы λ_{rs} , поступающей на ключевой мультиферментный комплекс F_0 за время его оборота $\left(\frac{1}{\mu^e}\right)$, имеет вид

$$\lambda_{rs} = \frac{\varphi_{rs} \cdot B_{res}}{\mu^e \cdot F_0},$$

где φ_{rs} — количество структурной биомассы, образующейся из единицы резервной за время оборота ферментного комплекса.

Учитывая, что ключевой ферментный комплекс F_0 имеет белковую природу, а значит, является частью структуры с постоянной долей f , получим

$$\lambda_{rs} = \frac{\varphi_{rs} \cdot B_{res}}{\mu^e \cdot f \cdot B_{str}}.$$

Окончательно, с учетом (4), имеем

$$\lambda_{rs} = \frac{\varphi_{rs}}{\mu^e \cdot f} \varepsilon.$$

Последнее выражение связывает величину приведенной плотности потока с измеряемым биохимическими методами параметром. При условии постоянства кинетических констант будет иметь место прямо пропорциональная зависимость λ_r от ε . Однако в общем случае активность ключевого ферментного комплекса и эффективность преобразования резервной биомассы могут изменяться в зависимости от физико-химических параметров среды, структурной организации комплекса и пр.

Таким образом, скорость синтеза структуры будет увеличиваться с ростом величины ε до определенного предела ε_{sat} , после чего скорость станет максимальной и будет определяться только количеством ключевого мультиферментного комплекса и его активностью. При единичном потоке соотношение ε будет равным

$$\varepsilon_{sat} = \frac{\mu^e \cdot f}{\varphi_{rs}}. \quad (5)$$

С учетом (5) появляется возможность выразить поток λ_{rs} только через измеряемые соотношения макромолекулярных составляющих биомассы, что и учтено в (3):

$$\lambda_{rs} = \frac{\varepsilon}{\varepsilon_{sat}}.$$

Анализ базовой системы (3) показывает, что возможны два варианта лимитирования роста микроводорослей: внешнее (световое), обусловленное недостаточным притоком энергии ФАР, и внутреннее (метаболическое), связанное с преобразованием ресурсных форм биомассы в структурные. Кроме того, существует область нелимитированного роста, в которой наблюдается экспоненциальное увеличение биомассы микроводорослей. Таким образом, на накопительной кривой роста, даже при отсутствии лимита по биогенным элементам, будет наблюдаться не менее двух точек, в которых происходит переключение лимитирующего фактора или звена, если рассматривать внутриклеточные потоки субстрата. Конечно, это утверждение верно, если начальная плотность культуры мала. В противном случае, при высоких начальных концентрациях клеток, мы можем попасть в область как светового, так и метаболического лимитирования. Кроме того, определяющее значение имеет предыстория культуры: содержалась ли она на свету или в темноте, было ли исключено лимитирование биогенными элементами и др.

3. Экспериментальные данные

Для верификации модели используем накопительную кривую роста красной морской микроводоросли *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross, полученную из коллекции ФИЦ ИнБЮМ (см. рис. 1).

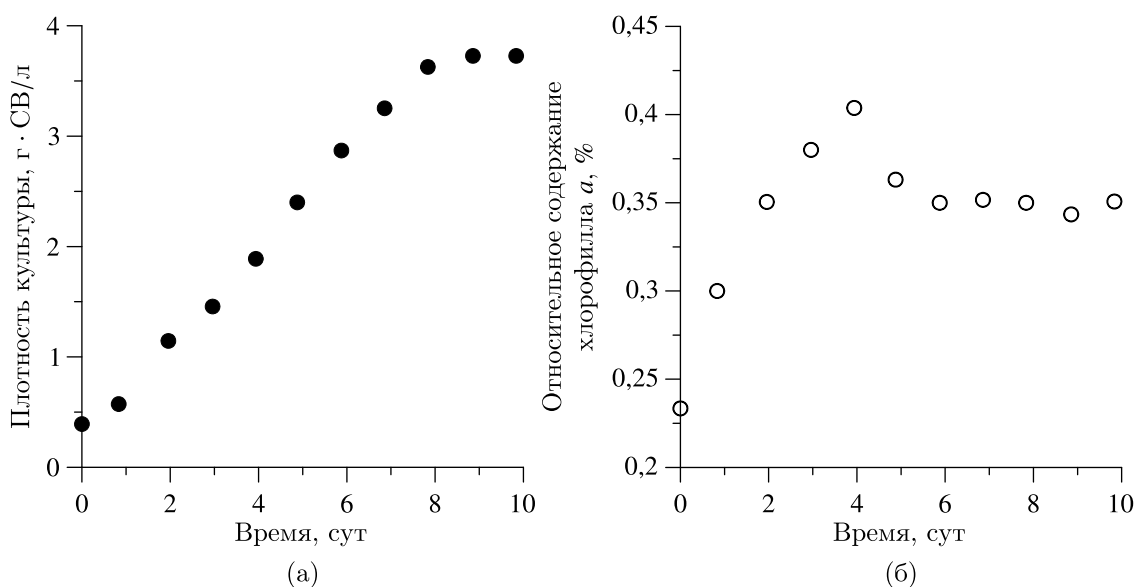


Рис. 1. Накопительная кривая роста (а) и динамика относительного содержания хлорофилла *a* (б) культуры *P. purpureum* в условиях светолимитирования

Культуру *P. purpureum* выращивали на питательной среде [Терсков, Тренкеншу, Беянин, 1981], которая предназначена для интенсивного культивирования и позволяет исключить влияние биогенных элементов на скорость роста. Использовали плоскопараллельный фотобиореактор с рабочей толщиной 2 см, площадью освещаемой поверхности 0,05 м². В качестве источника света использовали люминесцентные лампы, облученность поверхности фотобиореактора — 16 Вт·м⁻², что составляет около 30% от насыщающей для данного вида. рН культуральной среды

стабилизировали на уровне 8,7–8,9 единиц, что обеспечивало отсутствие лимитирования роста культуры углекислым газом. Температура поддерживалась в диапазоне 24–26°C. Определение содержания хлорофилла a проводили 100%-м ацетоном по коэффициентам экстинкции [Jeffrey, Mantoura, Wright, 1997]. Для определения коэффициента поглощения света по всему ФАР-диапазону записывали спектр культуры на спектрофотометре Lambda 365, оснащенный интегрирующей сферой (ИС) диаметром 60 мм.

Рост плотности культуры *P. purpureum* продолжался в течение 8–9 суток. Кривая роста характеризовалась наличием продолжительного линейного участка. Однако при этом происходило существенное изменение содержания хлорофилла a , а значит, и остальных структурных компонентов биомассы. Получим интегральные зависимости, позволяющие описать динамику биомассы, ее макромолекулярных составляющих и их соотношений при накопительном способе выращивания микроводорослей.

4. Область нелимитированного роста $\lambda_i \geq 1$, $\varepsilon \geq \varepsilon_{sat}$

Рассмотрим область неограниченного роста культуры микроводорослей, который возможен в случае, если клетки культуры предварительно адаптированы к высокой интенсивности света и начальная плотность культуры невелика. Для заданных условий система (3) принимает следующий вид:

$$\begin{cases} \frac{dB_{str}}{dt} = q_{rs}\mu_{mrs}B_{str} - \mu_r B_{str}, \\ \frac{dB_{res}}{dt} = \mu_m B_{str} - \mu_{mrs} B_{str}. \end{cases} \quad (6)$$

При условии постоянства кинетических параметров системы (6) из первого уравнения вытекает экспоненциальный рост структурной составляющей биомассы:

$$B_{str} = (B_{str})_0 \cdot e^{(q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r)t}, \quad (7)$$

где $(B_{str})_0$ — начальная концентрация структурной биомассы.

Из второго уравнения системы (6), с учетом (7), определим выражение, описывающее динамику резервных форм биомассы:

$$B_{res} = (B_{res})_0 - \frac{(\mu_m - \mu_{mrs}) \cdot (B_{str})_0}{q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r} + \frac{(\mu_m - \mu_{mrs}) \cdot (B_{str})_0}{q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r} e^{(q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r)t},$$

где $(B_{res})_0$ — начальная концентрация резервных форм биомассы.

Из (4) получим выражение, описывающее изменение соотношения резервной и структурной форм биомассы:

$$\varepsilon = \frac{(\mu_m - \mu_{mrs})}{q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r} + \left(\varepsilon_0 - \frac{(\mu_m - \mu_{mrs})}{q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r} \right) \cdot e^{-(q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r)t},$$

где ε_0 — начальное соотношение резервных и структурных форм биомассы.

С течением времени произойдет стабилизация биохимического состава биомассы, при этом соотношение ε достигнет некоторого стационарного значения ε_{st} :

$$\varepsilon_{st} = \frac{\mu_m - \mu_{mrs}}{q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r}.$$

Заметим, что ε_{st} определяется только кинетическими константами культуры микроводорослей. Таким образом, даже при всех оптимальных условиях на начальном этапе роста накопительной культуры будет происходить изменение биохимического состава биомассы микроводорослей. Эти изменения будут тем существенней, чем больше разница между начальным

и стационарным значением ε . Конечно, возможен вариант, когда $\varepsilon_0 = \varepsilon_{st}$, в таком случае с начального момента времени будет наблюдаться собственно экспоненциальный рост при постоянстве биохимического состава. Окончательно выражения для ε и резервной биомассы примут вид

$$\varepsilon = \varepsilon_{st} + (\varepsilon_0 - \varepsilon_{st}) \cdot e^{-(q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r)t}, \quad (8)$$

$$B_{res} = (B_{str})_0 \cdot (\varepsilon_0 - \varepsilon_{st}) + (B_{str})_0 \cdot \varepsilon_{st} \cdot e^{(q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r)t}. \quad (9)$$

Доля структурных форм биомассы является важнейшим показателем, по которому можно оценить содержание белка или хлорофилла a в биомассе:

$$\beta = \frac{B_{str}}{B} = \frac{B_{str}}{B_{str} + B_{res}} = \frac{1}{1 + \varepsilon},$$

$$\beta_{st} = \frac{1}{1 + \varepsilon_{st}}, \quad (10)$$

$$\beta = \frac{1}{1 + \varepsilon_{st} + (\varepsilon_0 - \varepsilon_{st}) \cdot e^{-(q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r)t}}.$$

Динамика плотности накопительной культуры микроводорослей в условиях нелимитированного роста имеет вид

$$B = B_{str} + B_{res},$$

$$B = (B_{str})_0 \cdot (\varepsilon_0 - \varepsilon_{st}) + (B_{str})_0 \cdot (1 + \varepsilon_{st}) e^{(q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r)t}. \quad (11)$$

Из последнего выражения следует, что при $\varepsilon_0 = \varepsilon_{st}$ мы получим классический закон экспоненциального роста культуры микроводорослей [Перт, 1978]:

$$B = B_0 e^{\mu t},$$

где $\mu = q_{rs}\mu_{mrs} - \mu_r$, $B_0 = (B_{str})_0 + (B_{res})_0$.

4.1. Графическое представление

Проанализируем кинетические коэффициенты, входящие в вышеприведенные выражения. По литературным данным, соотношение удельной скорости дыхания μ_r и фотосинтеза μ_m изменяется в широких пределах и составляет 0,05–0,65 для микроводорослей различных систематических групп [Geider, Osborne, 1989]. Изменение соотношения интенсивности дыхания и фотосинтеза обычно связывают с увеличением облученности, различным содержанием основных биохимических компонентов. В контексте данной работы, так как мы рассматриваем максимальную удельную скорость фотосинтеза, соотношение $\frac{\mu_m}{\mu_r}$ является постоянным видоспецифическим коэффициентом и составляет около 20.

Эффективность перехода резервной биомассы в структурную q_{rs} может быть косвенно оценена как отношение максимальной эффективности фотосинтеза к максимальной эффективности фотобиосинтеза. Максимальный КПД фотосинтеза составляет около 30–35 % [Холл, Рао, 1983]. По данным [Белянин и др., 1980], для *Synechococcus elongatus* максимальная эффективность фотобиосинтеза не превышает 15 %. Таким образом, величина q_{rs} составляет около 0,4.

Очевидно, что точная оценка коэффициентов модели, исходя из имеющейся в литературе информации, невозможна. Поэтому для их расчета воспользуемся приведенными на рис. 1 экспериментальными данными роста красной морской микроводоросли *Porphyridium purpureum* (Bory) Drew & Ross (1965) в условиях светолитмированной накопительной культуры. Будем считать, что первые двое суток культура *P. purpureum* росла экспоненциально, потому что в этот

промежуток времени интегральный коэффициент поглощения света по всему диапазону ФАР не превышал 50%. На рис. 2 представлена аппроксимация динамики плотности культуры и относительного содержания хлорофилла a выражениями (11) и (10) соответственно. Для удобства дальнейших расчетов биомасса выражена в единицах поверхностной концентрации ($\text{г} \cdot \text{СВ}/\text{м}^2$).

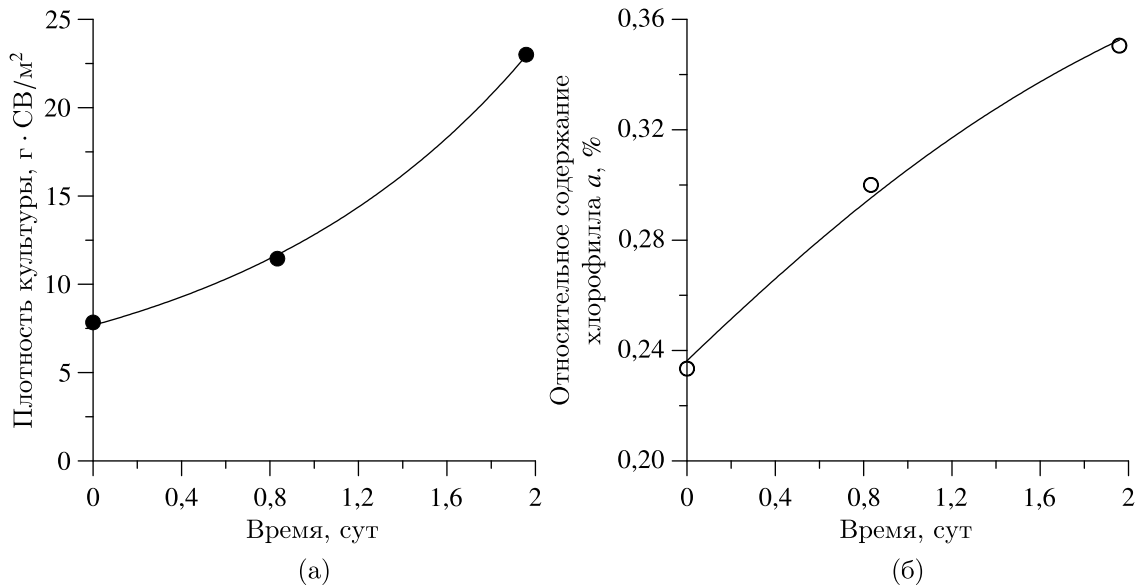


Рис. 2. Нелимитированный рост культуры *P. purpureum* (а) и динамика относительного содержания хлорофилла a (б). Аппроксимация экспериментальных данных выражениями (11) и (10) соответственно. Значения коэффициентов — в тексте

Несмотря на недостаточное количество экспериментальных точек, для приведенных данных роста культуры *P. purpureum* отметим высокое соответствие теоретических и экспериментальных результатов ($R^2 = 0,99$). Увеличение количества экспериментальных точек позволит уточнить коэффициенты модели, но не изменит полученных закономерностей. Согласно расчетам динамика биомассы и ее макромолекулярного состава в области нелимитированного роста описывается выражениями

$$\begin{aligned} \pi &= \pi_0 \cdot e^{0,76 \cdot t}, \\ B &= 3,26 + 4,45 \cdot e^{0,76 \cdot t}, \\ \beta &= \frac{1}{2,43 + 1,8 \cdot e^{-0,76 \cdot t}}. \end{aligned}$$

Сравнивая полученные численные значения обобщенных коэффициентов с выражениями (7), (10) и (11) и решая простейшие алгебраические уравнения, определим важнейший видоспецифический параметр — долю хлорофилла a в структурной биомассе, которая составила 1%. Эту величину можно рассматривать как максимальное содержание хлорофилла, которое, как и следовало ожидать, значительно ниже, чем у синезеленых или зеленых водорослей (около 2,5–3,5%) [Лелеков, Тренкеншу, 2021]. Оценка других параметров модели дала следующие результаты: $\mu_m = 3,4 \text{ сут}^{-1}$, $\mu_{mrs} = 2,3 \text{ сут}^{-1}$, $\mu_r = 0,17 \text{ сут}^{-1}$. Более точные значения коэффициентов могут быть получены при большем количестве экспериментальных точек. Отметим, что данные коэффициенты также могут меняться при длительной адаптации клеток микроводорослей к высоким интенсивностям света.

Проведенные расчеты позволяют построить теоретические кривые динамики соотношения «резервная/структурная биомасса» и доли структурной биомассы *P. purpureum* (см. рис. 3, а). Отметим, что стабилизация биохимического состава произошла бы только на 5 сутки эксперимента.

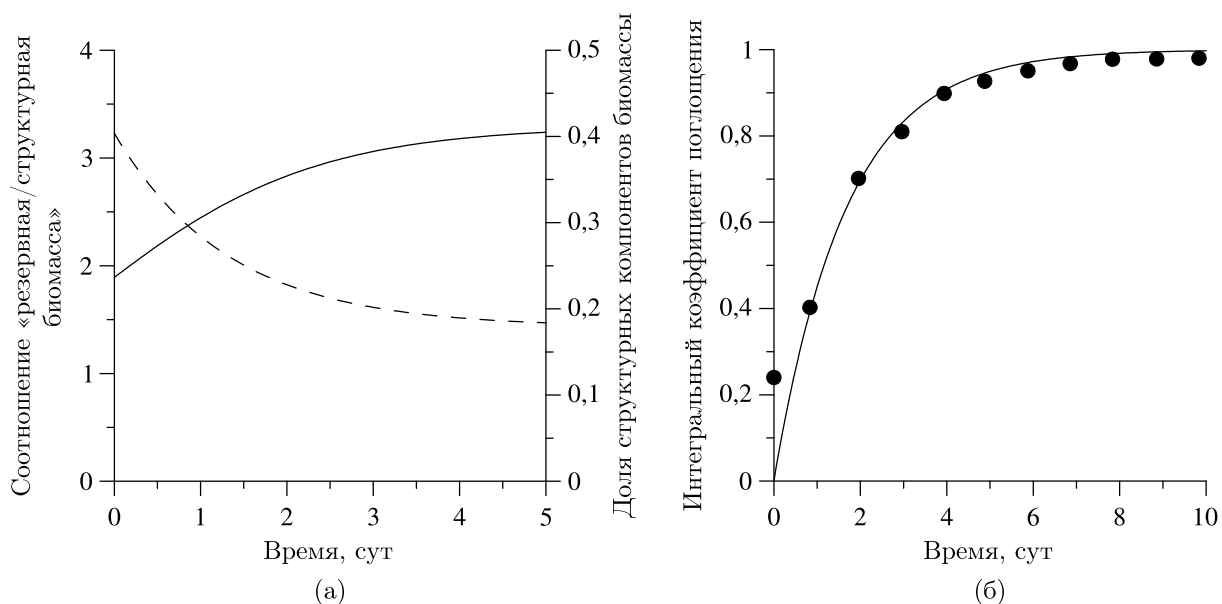


Рис. 3. Теоретические кривые изменения ε (пунктирная линия) и β (сплошная линия) (а) и аппроксимация экспериментальных данных зависимости коэффициента поглощения света от времени эмпирическим выражением $\alpha = 1 - \exp(-k_\alpha t)$ (б)

Однако уже со вторых-третьих суток коэффициент поглощения света превышал 50% (рис. 3, б), что приводит к самозатенению клеток и окончанию нелимитированного роста.

5. Культура невысокой оптической плотности

С ростом плотности накопительной культуры наступает момент светового ограничения роста, что выражается в резком изменении угла наклона накопительной кривой. Покажем, что для культур невысокой оптической плотности приведенная плотность потока квантов света является константой. По определению, количество поглощенной световой энергии связано с поверхностной облученностью I_0 и коэффициентом поглощения света α :

$$I_n = \alpha \cdot I_0.$$

С учетом последнего выражения приведенная плотность потока λ_i (см. выражение (2)) запишется в виде

$$\lambda_i = \frac{\varphi_e \cdot \alpha \cdot I_0}{\mu_e \cdot F_0},$$

или, с учетом закона Бугера – Ламберта – Бера:

$$\lambda_i = \frac{\varphi_e}{\mu_e \cdot F_0} (1 - e^{-k \cdot \pi}) \cdot I_0, \quad (12)$$

где k – удельный коэффициент поглощения света, $\text{м}^2 \cdot \text{мг}^{-1}$; π – поверхностная концентрация хлорофилла a , $\text{мг} \cdot \text{м}^2$.

Удельный коэффициент поглощения света является постоянным при выращивании культуры микроводорослей в плоскопараллельных фотобиореакторах или бассейнах с фиксированной рабочей толщиной культуры. Этот параметр также зависит от спектрального состава света [Ефимова, 2021].

Исходя из предположения о пропорциональности всех структурных компонентов биомассы, концентрацию хлорофилла a и F_0 можно выразить через B_{str} :

$$\begin{aligned} F_0 &= f \cdot B_{str}, \\ \pi &= f_\pi \cdot B_{str}, \end{aligned} \tag{13}$$

где f и f_π — доли ключевого мультиферментного комплекса и хлорофилла a в структурной биомассе.

Для культур микроводорослей небольшой оптической плотности, при раскладывании экспоненты в ряд Тейлора в окрестностях нуля, приведенная плотность потока квантов света будет прямо пропорциональна поверхностной облученности:

$$\lambda_i = \frac{\varphi_e}{\mu_e \cdot f \cdot B_{str}} (1 - e^{-k \cdot f_\pi \cdot B_{str}}) \cdot I_0 \cong \frac{\varphi_e}{\mu_e \cdot f \cdot B_{str}} k \cdot f_\pi \cdot B_{str} \cdot I_0 = \frac{\varphi_e \cdot k \cdot f_\pi}{\mu_e \cdot f} \cdot I_0 = \text{const.}$$

Отношение долей f и f_π фактически представляет собой величину, обратную размеру фотосинтетической единицы $\frac{X_{pl}}{P_{700}}$. Известно, что для накопительной и непрерывной культуры цианопрокариоты *A. platensis* в условиях недостатка световой энергии показано, что это соотношение не зависит от величины биомассы и остается примерно постоянным [Заворуева, Заворуев, Крум, 2011]. При единичном потоке скорость фотосинтеза достигнет максимального значения, при этом поверхностная облученность будет равна I_{0sat} :

$$I_{0sat} = \frac{\mu_e \cdot f}{\varphi_e \cdot k \cdot f_\pi}.$$

5.1. Световое лимитирование $\lambda_i < 1$, $\varepsilon \geq \varepsilon_{sat}$

На практике такие условия реализуются при переносе клеток микроводорослей с высокой интенсивности света на низкую. С учетом указанных условий система (3) принимает следующий вид:

$$\begin{cases} \frac{dB_{str}}{dt} = q_{rs} \mu_{mrs} B_{str} - \mu_r B_{str}, \\ \frac{dB_{res}}{dt} = \mu_m B_{str} \frac{I_0}{I_{0sat}} - \mu_{mrs} B_{str}. \end{cases} \tag{14}$$

Интегральные решения системы (14) аналогичны полученным выражениям (7)–(11) с точностью до константы $\frac{I_0}{I_{0sat}}$.

5.2. Метаболическое лимитирование $\lambda_i \geq 1$, $\varepsilon_{min} < \varepsilon < \varepsilon_{sat}$

В некоторых случаях при запуске накопительной культуры микроводорослей клетки переносят с низкой на высокую интенсивность света. В таком случае начальное содержание резервной составляющей биомассы близко к нулевым значениям. Как и в предыдущих случаях, данная фаза роста культуры характеризуется адаптацией клеток к новым световым условиям, которая выражается в изменении биохимического состава биомассы. Для заданных условий система (3) примет вид

$$\begin{cases} \frac{dB_{str}}{dt} = \frac{q_{rs} \mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}} B_{res} - \mu_r B_{str}, \\ \frac{dB_{res}}{dt} = \mu_m B_{str} - \frac{\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}} B_{res}. \end{cases} \tag{15}$$

Для начальных условий $B_{res}(0) = 0$, $B_{str}(0) = 1$ интегральные решения системы (15) имеют вид

$$B_{res} = \frac{\mu_m \varepsilon_{sat}}{k_1} \left(e^{\frac{(-\mu_r \varepsilon_{sat} - \mu_{mrs} + k_1)t}{2\varepsilon_{sat}}} - e^{\frac{(-\mu_r \varepsilon_{sat} - \mu_{mrs} - k_1)t}{2\varepsilon_{sat}}} \right),$$

$$B_{str} = k_2 \left(e^{\frac{(-\mu_r \varepsilon_{sat} - \mu_{mrs} - k_1)t}{2\varepsilon_{sat}}} + e^{\frac{(-\mu_r \varepsilon_{sat} - \mu_{mrs} + k_1)t}{2\varepsilon_{sat}}} \right),$$

где $k_1 = \sqrt{4\mu_{mrs}q_{rs}\mu_m\varepsilon_{sat} + (\mu_r\varepsilon_{sat})^2 - 2\mu_{mrs}\mu_r\varepsilon_{sat} + \mu_{mrs}^2}$, $k_2 = \frac{\mu_r\varepsilon_{sat} - \mu_{mrs} + k_1}{2k_1}$.

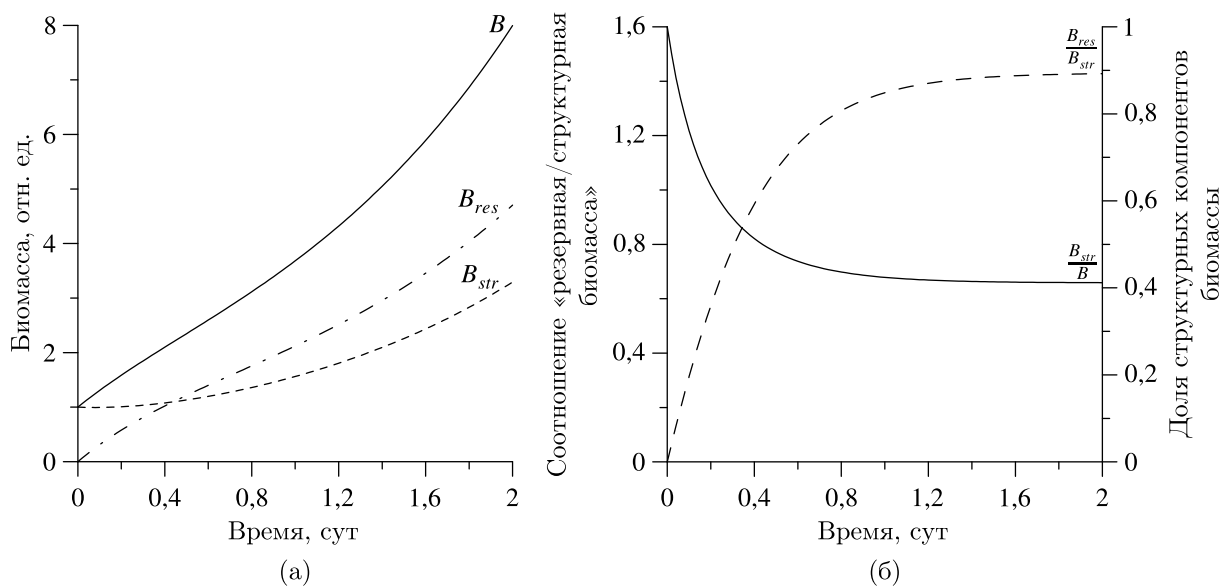


Рис. 4. Теоретические кривые динамики биомассы, ее макромолекулярных составляющих (а) и их соотношений (б) в культуре микроводорослей невысокой оптической плотности при метаболическом лимитировании

С учетом ранее определенных коэффициентов модели на рис. 4 представлена динамика плотности культуры микроводорослей и ее макромолекулярного состава. Отметим, что рассматриваемый случай метаболического лимитирования характеризуется увеличением соотношения ε и уменьшением доли структурных форм биомассы с течением времени с последующим выходом их на стационарные значения.

5.3. Световое и метаболическое лимитирование $\lambda_i < 1$, $\varepsilon_{min} < \varepsilon < \varepsilon_{sat}$

С учетом постоянства приведенной плотности потока квантов ($\lambda_i = \frac{I_0}{I_{0sat}} = \text{const}$) рассматриваемый случай описывается системой уравнений:

$$\begin{cases} \frac{dB_{str}}{dt} = \frac{q_{rs}\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}} B_{res} - \mu_r B_{str}, \\ \frac{dB_{res}}{dt} = \mu_m B_{str} \frac{I_0}{I_{0sat}} - \frac{\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}} B_{res}. \end{cases} \quad (16)$$

Решения системы (16) подробно приведены в работе [Тренкеншу, Ширяев, Горбунова, 2021], они аналогичны решениям системы (15) с точностью до константы $\frac{I_0}{I_{0sat}}$. Отметим, что авторы цитируемой работы впервые количественно связали процессы адаптации клеток микроводорослей с резко изменяющимися световыми условиями при запуске накопительной культуры,

а также ввели понятие «кажущийся экспоненциальный рост», характеризующийся изменением биохимического состава биомассы. С течением времени формируется определенный биохимический состав, который соответствует заданным световым условиям и видоспецифическим параметрам, а культура переходит в экспоненциальную фазу роста.

6. Оптически плотная культура микроводорослей

Рассматриваемые в предыдущих разделах модели справедливы для культур микроводорослей малой концентрации клеток или для тонких оптических слоев. Большая часть экспериментальных работ с накопительной культурой микроводорослей проводятся в оптически плотных средах, где необходимо учитывать изменение интегрального коэффициента поглощения света α . Например, на рис. 5 представлена зависимость α от поверхностной концентрации хлорофилла a накопительной культуры *P. purpureum*. Данные с высокой точностью ($R^2 = 0,98$) описываются уравнением Бугера – Ламберта – Бера, удельный показатель поглощения составил $0,015 \text{ м}^2/\text{мг}$ хлорофилла a . Как отмечено ранее, данная величина лежит в диапазоне $0,005\text{--}0,03$ для микроводорослей различных систематических групп и определяется спектральными характеристиками света [Ефимова, 2021].

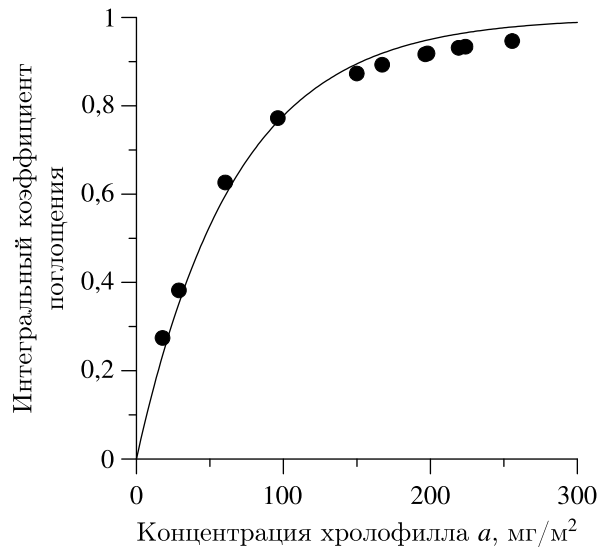


Рис. 5. Зависимость коэффициента поглощения света от концентрации хлорофилла a . Аппроксимация экспериментальных данных уравнением Бугера – Ламберта – Бера

Базовая система (3) для оптически плотной культуры запишется в виде

$$\begin{cases} \frac{dB_{str}}{dt} = \frac{q_{rs}\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}} B_{res} - \mu_r B_{str}, \\ \frac{dB_{res}}{dt} = \mu_m B_{str} \frac{\varphi_e \cdot (1 - e^{-k \cdot f_{\pi} \cdot B_{str}}) \cdot I_0}{\mu_e \cdot f \cdot B_{str}} - \frac{\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}} B_{res}. \end{cases} \quad (17)$$

В системе (17) учтены выражение для приведенной плотности потока квантов света (2), зависимость интегрального коэффициента поглощения света от концентрации хлорофилла a по закону Бугера, а также прямая пропорциональность хлорофилла и ключевого мультиферментного комплекса в структурной биомассе. В общем виде система (17) не имеет решения в простых аналитических функциях и требует применения численных методов. Однако на накопительной кривой роста культуры микроводорослей мы можем выделить две области: область полного поглощения

света (коэффициент α близок к единице) и область увеличения α со временем ($\alpha = f(t)$). Для полного поглощения света ($\alpha \sim 1$) система (17) имеет простые интегральные решения, которые будут рассмотрены ниже. В области изменения коэффициента поглощения от 0,5 до 1 упростим систему (17):

$$\begin{cases} \frac{dB_{str}}{dt} = \frac{q_{rs}\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}}B_{res} - \mu_r B_{str}, \\ \frac{dB_{res}}{dt} = \frac{\mu_m \varphi_e I_0}{\mu_e \cdot f} (1 - e^{-k_\alpha t}) - \frac{\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}}B_{res}, \end{cases}$$

где k_α — коэффициент, учитывающий увеличение светопоглощения со временем. Для условий рассматриваемого эксперимента с накопительной культурой *P. purpureum* $k_\alpha = 0,6 \text{ сут}^{-1}$ (рис. 3, б). Выражения, описывающие рост культуры микроводорослей на данном участке накопительной кривой, имеют вид

$$\begin{cases} B_{res} = a_1 + a_2 \cdot e^{-k_\alpha t} + a_3 \cdot e^{-\frac{\mu_{mrs}t}{\varepsilon_{sat}}}, \\ B_{str} = \frac{a_1 q_{rs} \mu_{mrs}}{\mu_r \varepsilon_{sat}} + \frac{q_{rs} \mu_{mrs} a_3}{\mu_r \varepsilon_{sat} - \mu_{mrs}} \cdot e^{-\frac{\mu_{mrs}t}{\varepsilon_{sat}}} - a_4 \cdot e^{-\mu_r t} + \frac{a_2 q_{rs} \mu_{mrs}}{\mu_r} e^{-k_\alpha t}, \end{cases} \quad (18)$$

где

$$a_1 = \frac{I_0 \mu_m \varphi_e \varepsilon_{sat}}{\mu_e \mu_{mrs}}, \quad a_2 = \frac{I_0 \mu_m \varphi_e \varepsilon_{sat}}{\mu_e (k_\alpha \varepsilon_{sat} - \mu_{mrs})}, \quad a_3 = \frac{B_{res0} k_\alpha \varepsilon_{sat} \mu_e \mu_{mrs} - B_{res0} \mu_e \mu_{mrs}^2 - I_0 k_\alpha \mu_m \varphi_e \varepsilon_{sat}^2}{\mu_e \mu_{mrs} (k_\alpha \varepsilon_{sat} - \mu_{mrs})},$$

$$a_4 = \frac{-B_{str0} \mu_r^2 + \mu_r (\mu_{mrs} (B_{str0} + q_{rs} B_{res0}) + k_\alpha \varepsilon_{sat} B_{str0}) - k_\alpha \mu_{mrs} (B_{str0} + q_{rs} B_{res0}) + \frac{I_0 k_\alpha \mu_m \mu_{mrs} q_{rs} \varphi_e}{\mu_r \mu_e}}{(k_\alpha - \mu_r) (\mu_{mrs} - \mu_r \varepsilon_{sat})}.$$

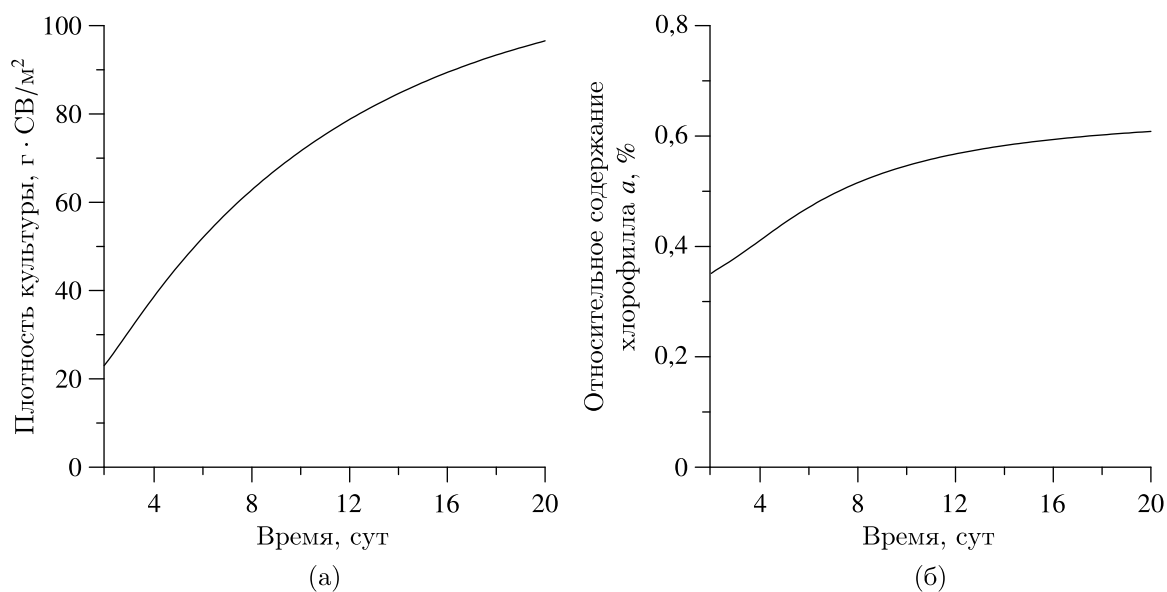


Рис. 6. Теоретические кривые динамики плотности культуры (а) и относительного содержания хлорофилла (б) в условиях увеличения коэффициента поглощения света

Система (18) позволяет описать как динамику плотности накопительной культуры микроводорослей, так и изменение содержания макромолекулярных составляющих в биомассе. С учетом ранее определенных коэффициентов из (18) следует рост как плотности культуры, так доли

структурных компонентов биомассы. Отметим, что накопительная кривая характеризуется продолжительной фазой замедления роста, при этом содержание структурных компонентов биомассы также растет, достигая некоторого стационарного значения. Однако представленные в данной работе данные для *P. purpureum* свидетельствуют о том, что с ростом плотности накопительной культуры после четвертых суток эксперимента происходит не увеличение, а уменьшение содержания хлорофилла *a* (а следовательно, и других структурных компонентов) в биомассе, при этом коэффициент поглощения света достигает практически 100 %.

6.1. Полное поглощение света ($\alpha = 1$)

При работе с высокими концентрациями клеток в искусственных фотобиореакторах или при большой толщине слоя культуры, что характерно при выращивании микроводорослей в горизонтальных бассейнах в условиях естественного освещения, практически вся падающая световая энергия поглощается, т. е. $\alpha = 1$. Для рассматриваемого случая полного поглощения система (3) запишется следующим образом:

$$\begin{cases} \frac{dB_{str}}{dt} = \frac{q_{rs}\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}} B_{res} - \mu_r B_{str}, \\ \frac{dB_{res}}{dt} = \frac{\mu_m \cdot \varphi_e}{\mu_e \cdot f} \cdot I_0 - \frac{\mu_{mrs}}{\varepsilon_{sat}} B_{res}. \end{cases} \quad (19)$$

Второе уравнение системы (19) является линейным дифференциальным уравнением первого порядка, решая которое можно получить интегральные зависимости, описывающие динамику резервной и структурной составляющей биомассы во времени:

$$\begin{cases} B_{res} = \frac{\mu_m \varphi_e I_0 \varepsilon_{sat}}{\mu_e \mu_{mrs}} + C_1 e^{-\frac{\mu_{mrs} t}{\varepsilon_{sat}}}, \\ B_{str} = \frac{q_{rs} \mu_m \varphi_e I_0}{\mu_e \mu_r} - C_1 \frac{q_{rs} \mu_{mrs}}{\mu_{mrs} - \mu_r \varepsilon_{sat}} e^{-\frac{\mu_{mrs} t}{\varepsilon_{sat}}} + C_2 e^{-\mu_r t}, \end{cases} \quad (20)$$

где C_1 и C_2 — константы интегрирования, которые могут быть определены из начальных условий: в момент времени $t_{нач}$ — $B_{res} = (B_{res})_{нач}$ и $B_{str} = (B_{str})_{нач}$.

Для верификации (20) на рис. 7 представлена аппроксимация экспериментальных данных динамики плотности накопительной культуры *P. purpureum* и доли структурных компонентов в биомассе (выраженной через хлорофилл *a*). Для уменьшения количества неизвестных параметров модели использовали ранее определенные значения кинетических коэффициентов: $\mu_r = 0,17 \text{ сут}^{-1}$, $\varepsilon_{sat} = 1,43$, $\mu_{mrs} = 2,3 \text{ сут}^{-1}$. Подчеркнем, что выражения (20) применимы при достижении значения коэффициента поглощения света близкого к единице.

7. Заключение

В работе представлена математическая модель, которая позволяет объяснить рост накопительной культуры микроводорослей в условиях светолимитирования, при этом предполагается полное обеспечение клеток биогенными элементами и оптимальными температурными условиями. Показано, что кривую роста необходимо разделять на несколько участков, каждый из которых описывается простыми аналитическими выражениями, которые позволяют определить видоспецифические параметры модели. Отметим, что точность таких расчетов определяется количеством экспериментальных точек не только по биомассе, но и по концентрации хотя бы одной из ее структурных составляющих (хлорофилла *a*, белка или др.). Точки сопряжения различных участков кривой роста характеризуются резким изменением продуктивности, что графически выражается в наличии изломов. В этом контексте еще раз подтверждается целесообразность применения линейных сплайнов при описании световой кинетики скорости роста культуры.

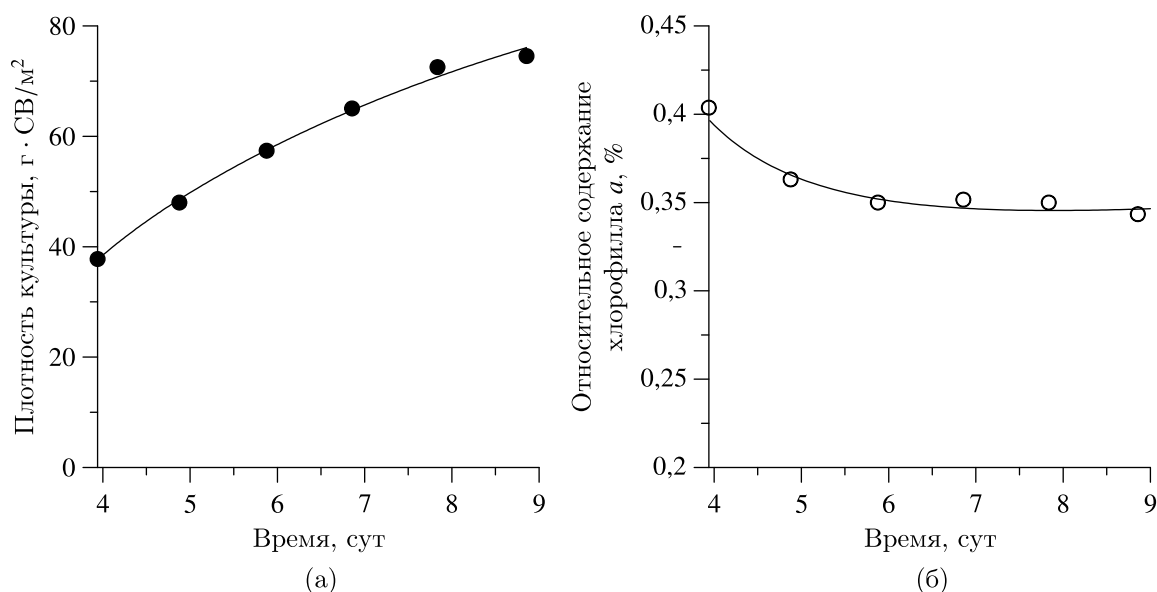


Рис. 7. Динамика плотности культуры *P. purpureum* (а) и относительного содержания хлорофилла (б) в условиях полного поглощения света. Линии — аппроксимация ($R^2 = 0,99$) экспериментальных данных моделью (20)

Список литературы (References)

- Белянин В. Н., Сидько Ф. Я., Тренкеншу А. П. Энергетика фотосинтезирующей культуры микроводорослей. — Новосибирск: Наука, 1980.
Belyanin V. N., Sid'ko F. Ya., Trenkenshu A. P. Energetika fotosinteziruyushchej kul'tury mikrovodoroslej [Energy of photosynthetic microalgae culture]. — Novosibirsk: Nauka, 1980 (in Russian).
- Ефимова Т. В. Действие спектрального состава света на структурные и функциональные характеристики микроводорослей: автореф. дис. канд. биол. наук. — Севастополь, 2021.
Efimova T. V. Dejstvie spektral'nogo sostava sveta na strukturnye i funkcional'nye harakteristiki mikrovodoroslej [The effect of the spectral composition of light on the structural and functional characteristics of microalgae]: avtoref. dis. kand. biol. nauk [abstract of the dissertation of the candidate biol. sciences]. — Sevastopol, 2021 (in Russian).
- Заворуева Е. Н., Заворуев В. В., Крум С. П. Лабильность первой фотосистемы фототрофов в различных условиях окружающей среды. — Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2011.
Zavorueva E. N., Zavoruev V. V., Krum S. P. Labil'nost' pervoj fotosistemy fototrofov v razlichnyh usloviyah okruzhayushchej sredy [Lability of the first photosystem of phototrophs in various environmental conditions]. — Krasnoyarsk: Sibirskij federal'nyj universitet, 2011 (in Russian).
- Лелеков А. С., Тренкеншу Р. П. Двухкомпонентная модель роста микроводорослей в плотностате // Математическая биология и биоинформатика. — 2021. — Т. 16, № 1. — С. 101–114. — DOI: 10.17537/2021.16.101
Lelekov A. S., Trenkenshu R. P. Dvuhkomponentnaya model' rosta mikrovodoroslej v plotnostate [Two-component model of microalgae growth in turbidostat] // *Mathematical biology and bioinformatics*. — 2021. — Vol. 16, No. 1. — P. 101–114 (in Russian). — DOI: 10.17537/2021.16.101
- Лелеков А. С., Чернышев Д. Н., Клочкова В. С. Количественные закономерности роста накопительной культуры *Arthrospira platensis* // Математическая биология и биоинформатика. — 2022. — Т. 17, № 1. — С. 156–170. — DOI: 10.17537/2022.17.156
Lelekov A. S., Chernyshev D. N., Klochkova V. S. Kolichestvennyye zakonomernosti rosta nakopitel'noj kul'tury Arthrospira platensis [Quantitative regularities of growth of *Arthrospira platensis* batch culture] // *Mathematical biology and bioinformatics*. — 2022. — Vol. 17, No. 1. — P. 156–170 (in Russian). — DOI: 10.17537/2022.17.156
- Минкевич И. Г. Материально-энергетический баланс и кинетика роста микроорганизмов. — М.–Ижевск, 2005.
Minkevich I. G. Material'no-energeticheskij balans i kinetika rosta mikroorganizmov [Material and energy balance and kinetics of microbial growth]. — Moscow–Izhevsk, 2005 (in Russian).

- Минюк Г. С., Дробецкая И. В., Тренкеншу Р. П., Вялова О. Ю. Ростовые и биохимические характеристики *Spirulina platensis* при различных условиях азотного питания // Экология моря. — 2002. — Вып. 62. — С. 61–66.
- Minyuk G. S., Drobeckaya I. V., Trenkenshu R. P., Vyalova O. Yu. Rostovye i biokhimicheskie harakteristiki *Spirulina platensis* pri razlichnyh usloviyah azotnogo pitaniya [Growth and biochemical characteristics of *Spirulina platensis* under various conditions of nitrogen nutrition] // Ecology of the sea. — 2002. — Vol. 62. — P. 61–66 (in Russian).
- Перт С. Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. — М.: Мир, 1978.
- Pirt S. J. Principles of microbe and cell cultivation. — Oxford, London, Edinburgh, Melbourne: Blackwell Scientific publication, 1975. (Russ. ed.: *Pert S. Dzh. Osnovy kul'tivirovaniya mikroorganizmov i kletok* — Moscow: Mir, 1978.)
- Терсков И. А., Тренкеншу Р. П., Белянин В. Н. Светозависимый рост водоросли *Platymonas viridis* в непрерывной культуре // Известия Академии наук СССР. Сер. биологическая. — 1981. — Т. 2, № 10. — С. 103–108.
- Terskov I. A., Trenkenshu R. P., Belyanin V. N. Svetozavisimyj rost vodorosli *Platymonas viridis* v nepreryvnoj kul'ture [Light-dependent growth of *Platymonas viridis* algae in continuous culture] // Proceedings of the USSR Academy of Sciences. Biological series. — 1981. — Vol. 2, No. 10. — P. 103–108 (in Russian).
- Тренкеншу Р. П., Ширяев А. В., Горбунова С. Ю. Моделирование предэкспоненциальной фазы роста в культуре микроводорослей // Актуальные вопросы биологической физики и химии. — 2021. — Т. 6, № 2. — С. 251–255.
- Trenkenshu R. P., SHiryaev A. V., Gorbunova S. Yu. Modelirovanie predekspontsial'noj fazy rosta v kul'ture mikrovdoroslej [Modeling of the pre-exponential growth phase in microalgae culture] // Topical issues of biological physics and chemistry. — 2021. — Vol. 6, No. 2. — P. 251–255 (in Russian).
- Ухманьски Я. Об алгоритмической сущности биологии // Компьютерные исследования и моделирование. — 2020. — Т. 12, № 3. — С. 641–652. — DOI: 10.20537/2076-7633-2020-12-3-641-652
- Uhman'ski Ya. Ob algoritmicheskoy sushchnosti biologii [About the algorithmic essence of biology] // Computer Research and Modeling. — 2020. — Vol. 12, No. 3. — P. 641–652 (in Russian).
- Холл Д., Рао К. Фотосинтез. — М.: Мир, 1983.
- Hall D. O., Rao K. K. Photosynthesis. — Third edition. — London: Cambridge University Press, 1981. (Russ. ed.: *Holl D., Rao K. Fotosintez*. — Moscow: Mir, 1983.)
- Chauton M. S., Winge P., Brembu T., Vadstein O., Bones A. M. Gene regulation of carbon fixation, storage, and utilization in the diatom *Phaeodactylum tricornutum* acclimated to light/dark cycles // Plant Physiol. — 2013. — Vol. 161, No. 2. — P. 1034–1048. — DOI: 10.1104/pp.112.206177
- Costa J. A., Colla L. M., Filho P. D., Kabke K., Weber A. Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology // World J. of Microb. & Biotech. — 2002. — Vol. 18. — P. 603–607. — DOI:10.1023/A:1016822717583
- Droop M. R. 25 years of algal growth kinetics a personal view // Bot. Mar. — 1983. — Vol. 26, No. 3. — P. 99–112. — DOI: 10.1515/botm.1983.26.3.99.
- Flynn K. J. A mechanistic model for describing dynamic multi-nutrient, light, temperature interaction in phytoplankton // J. Plan. Res. — 2001. — Vol. 23. — P. 977–997. — DOI: 10.1093/PLANKT/23.9.977
- Geider R. J., Osborne B. A. Respiration and microalgal growth: a review of quantitative relationship between dark respiration and growth // New phytol. — 1989. — Vol. 112. — P. 327–341. — DOI: 10.1111/J.1469-8137.1989.TB00321.X
- Ho S., Chen C., Chang J. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N // Biores. Techn. — 2012. — Vol. 113. — P. 244–252. — DOI: 10.1016/j.biortech.2011.11.133
- Jallet D., Caballero M. A., Gallina A. A., Youngblood M., Peers G. Photosynthetic physiology and biomass partitioning in the model diatom *Phaeodactylum tricornutum* grown in a sinusoidal light regime // Algal Research. — 2016. — Vol. 18. — P. 51–60. — DOI: 10.1016/2016.05.014
- Jeffrey S. W., Mantoura R. F. C., Wright S. W. Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods. — UNESCO, 1997.
- Mairet F., Bernard O., Masci P., Lacour T., Sciandra A. Modelling neutral lipid production by the microalga *Isochrysis galbana* under nitrogen limitation // Biores. Techn. — 2011. — Vol. 102. — P. 142–149. — DOI: 10.1016/j.biortech.2010.06.138

- Monod J.* The growth of bacterial cultures // *Ann. Rev. Microbiol.* — 1949. — Vol. 3. — P. 371–394.
- Pearl R., Reed L. J.* On the mathematical theory of population growth // *Metron.* — 1923. — Vol. 3, No. 1. — P. 6–19.
- Solovchenko A. E., Selivanova E. A., Chekanov K. A., Sidorov R. A., Nemtseva N. V., Lobakova E. S.* Induction of secondary carotenogenesis in new halophile microalgae from the genus *Dunaliella* (Chlorophyceae) // *Biochemistry (Moscow)*. — 2015. — Vol. 80, No. 11. — P. 1508–1513. — DOI: 10.1134/S0006297915110139
- Yang J., Rasa E., Tantayotai P., Scow K., Yuan H., Hristova K.* Mathematical model of *Chlorella minutissima* UTEX2341 growth and lipid production under photoheterotrophic fermentation conditions // *Biores. Techn.* — 2011. — Vol. 102. — P. 3077–3082. — DOI: 10.1016/j.biortech.2010.10.049
- Zhou X., Yuan S., Chen R., Song B.* Modelling microalgae growth in nitrogen-limited continuous culture // *Energy.* — 2014. — Vol. 73. — P. 575–580. — DOI: 10.1016/j.energy.2014.06.058