МЕТОДЫ

УДК 581.17:582.263

СКРИНИНГ СРЕД С РАЗЛИЧНЫМ СОДЕРЖАНИЕМ БИОГЕННЫХ ЭЛЕМЕНТОВ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ, АССОЦИИРОВАННЫХ С БЕСПОЗВОНОЧНЫМИ БЕЛОГО МОРЯ

Е.С. Лобакова[1,*], И.О. Селях[1], Л.Р. Семенова[1], О.Б. Чивкунова[1], П.Н. Щербаков[1], А.Е. Соловченко[1,2]

[1] Кафедра биоинженерии, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова; Россия, 119234, г. Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 12;
[2] Институт физиологии растений им. К.А. Тимирязева, РАН; Россия, 127276, г. Москва, ул. Ботаническая, д. 35
[*] e-mail: elena.lobakova@rambler.ru

Оценивали способность к росту и накоплению биомассы трех выделенных из ассоциаций с морскими донными беспозвоночными животными штаммов *Desmodesmus* sp. (Scenedesmaceae, Chlorophyceae) — 1Pm66B, 2Cl66E, 3Dp86E-1 — в условиях периодического культивирования на жидких минеральных питательных средах (BG-11, среда Прата, Гольдберга, Громова, Тамия, искусственная морская вода) стандартного и модифицированного состава. Регистрировали визуальные показатели состояния культур, накопление биомассы, а также остаточное количество нитратного азота и фосфора. Интенсивный рост культур сопровождался защелачиванием среды до pH 10,0. Наибольший прирост биомассы отмечен на средах BG-11 (полной и с добавлением морской воды), Тамия, а также на среде Прата. Добавление искусственной морской воды не влияло на накопление биомассы *Desmodesmus* sp. в средах, содержащих связанный азот, а в отсутствие азота поддерживало рост, не вызывая агрегации клеток. По всем исследованным показателям среда BG-11 признана универсальной (пригодной для культивирования как симбиотических, так и свободноживущих микроводорослей). Среда Прата оптимальна для поддержания штаммов в коллекции.

Ключевые слова: *Desmodesmus, накопление биомассы, тестирование сред, симбиотические микроводоросли, культивирование, биогенные элементы.*

В последние годы активно исследуются возможности использования микроводорослей (МВ) в качестве источника возобновляемого сырья для биотоплива, а также для биоремедиации сельскохозяйственных отходов и загрязненных почв, очистки промышленных стоков и биоизъятия техногенных выбросов CO_2 [1]. Биомасса МВ также используется для производства пищевых добавок, удобрений, красителей, антиоксидантов и полиненасыщенных жирных кислот [2, 3]. Одним из лимитирующих факторов развития фотобиотехнологии в России является отсутствие патентно-чистых штаммов МВ с высоким биотехнологическим потенциалом. В этой связи особого внимания заслуживают штаммы МВ, выделенные из экстремальных мест обитания, не теряющие продуктивности в стрессовых условиях. К ним можно отнести МВ, формирующие симбиоз с беспозвоночными животными, обитающими в морях высоких широт. Однако успешные попытки выделения фототрофных микросимбионтов (цианобактерий и МВ) из животных единичны [4], так как культивирование их *in vitro* сопряжено с длительным периодом адаптации к апосимбиотическим условиям существования *ex animal* и требует тщательного подбора питательных сред. Особенно актуальна эта задача для организмов, ранее не вводившихся в монокультуру.

В нашей лаборатории был получен ряд изолятов симбиотических МВ из донных беспозвоночных Белого моря. Установлено, что симбиотические изоляты обладают более высокой по сравнению со свободноживущими МВ устойчивостью к неблагоприятным условиям среды, а также высоким биотехнологическим потенциалом [5, 6]. Тем не менее, вопрос подбора оптимальных сред для культивирования симбиотических МВ из субарктических морей остается, в сущности, открытым. В настоящей работе тестировали ряд стандартных и модифицированных минеральных сред с целью выбора пригодных для лабораторного культивирования и сохранения в коллекциях исследованных нами симбиотических представителей МВ.

Материалы и методы

В работе использовали культуры зеленых МВ, изолированных из ассоциаций с беспозвоночными животными Ругозерской губы Кандалакшского залива Белого моря (66°34′ N, 33°08′ E). Исходные образцы беспозвоночных были собраны из мест с существенно различающимися условиями обита-

ния: гидроиды *Dynamena pumila* (L., 1758) и *Coryne lovenii* (M. Sars, 1846) — на Еремеевском пороге, каменистой сублиторали с активным постоянным перемешиванием морской воды и быстрым течением; кладки полихет *Phyllodoce maculata* (L., 1767) — в лужах на песчано-гравийной литорали в зоне опреснения водами прибрежных ручьев и максимальным прогревом воды в периоды отлива [7]. Фрагменты беспозвоночных, в которых визуально было выявлено присутствие МВ и цианобактерий, помещали в среду BG-11. Одновременно с цианобактериями из образцов беспозвоночных были выделены зеленые МВ [5, 6], идентифицированные по нуклеотидной последовательности фрагмента гена большой субъединицы RuBisCO rbcL и фрагмента ITS1-5.8S pPHK-ITS2 ядерного рибосомального кластера генов, а также по ультраструктурным особенностям как виды из рода *Desmodesmus* [8].

Культивирование и состав использованных сред. МВ культивировали асептически фотоавтотрофно на минеральных средах стандартного и модифицированного состава. К стандартным средам относились среды BG-11 [9], Прата [10], Гольдберга [11], Громова № 1 [12], Тамия [13] и искусственная морская вода (соленость 27‰) без добавления витаминов [14]. В качестве модифицированных сред использовали среды без нитратного азота ($BG\text{-}11_0$ [15], среда Гольдберга), среды с добавлением морской воды в соотношении 1:1 (BG-11, $BG\text{-}11_0$, среда Гольдберга с минеральным азотом и без него), среда Прата, разбавленная вдвое дистиллированной водой; среда Прата с добавлением микроэлементов или без добавления. Во всех средах (кроме среды Прата без микроэлементов) использовали микроэлементы А5 [9]. Посевным материалом служили клетки, трижды отмытые от культуральной жидкости средой $BG\text{-}11_0$ центрифугированием (3000 g, 10 мин). Для каждой комбинации “организм — среда” выполнено не менее двух независимых экспериментов.

При периодическом культивировании в течение 4-х нед. в люминостате (фотосинтетически активная радиация — ФАР — 2 Вт/м^2) по измерениям квантомером LI-850, “LiCOR”, США, на поверхности колбы) клетки МВ выращивали в колбах Эрленмейера в 100 мл среды при температуре 25°С и периодическом встряхивании (раз в сутки). Состояние культур оценивали визуально по следующим показателям: цвет, характер роста (гомогенность, агрегированность, адгезия к стенкам и/или дну колбы), накопление биомассы. Плотность засева во всех вариантах составляла 0,02 г сухого веса на литр среды.

pH среды регистрировали pH-метром “Аквилон pH410” с электродом ЭСК-10601/7. В литературе в прописях стандартных сред культивирования редко указывается pH после стерилизации. Во всех случаях pH среды доводили до 6,9–7,4.

В фотобиореакторе МВ культивировали в стерильных условиях в стеклянных пробирках (объем 600 мл, внутренний диаметр 40 мм) с силиконовыми пробками в 400 мл среды при постоянном освещении (ФАР 4 Вт/м^2), температуре 25°С и продувании стерильным воздухом со скоростью 1 л/мин. В ходе эксперимента оценивали визуальные показатели роста МВ, прирост биомассы, изменения кислотности, а также остаточное количество неорганического фосфата и нитратного азота в среде культивирования. Начальная плотность культуры при интенсивном культивировании составляла 5 мг хлорофилла в литре среды.

Определение сухого веса. Для определения сухого веса клетки осаждали на доведенных до постоянной массы нитроцеллюлозных фильтрах “Millipore” (США) с диаметром пор 22 мкм. Фильтры с осажденными на них клетками высушивали в сушильном шкафу при 105°С.

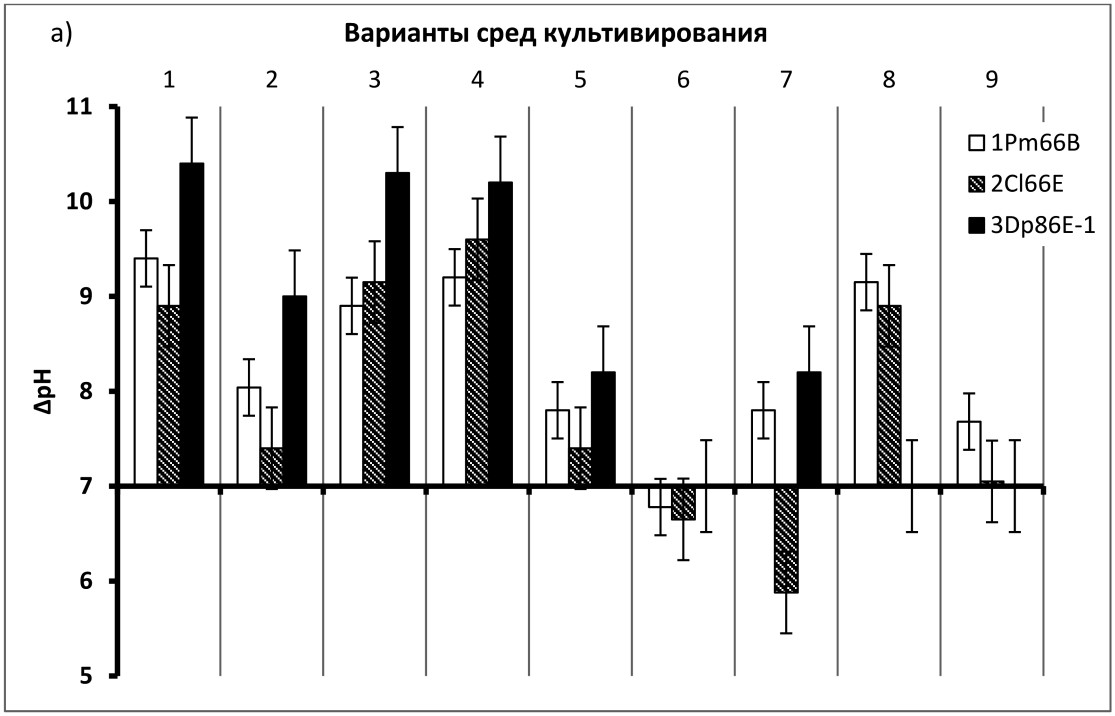
Определение концентрации нитрата и фосфата. Содержание нитрата и ортофосфата в культуральной жидкости определяли методом ионной хроматографии на хроматографе ICS 1600 (“Thermo Dionex”, США) с кондуктометрическим детектором, аналитической колонкой IonPac AS12A (250×2 мм, 5 мкм) и предколонкой AG12A (50×2 мм, 5 мкм). Ионы элюировали изократически (скорость тока — 0,3 мл/мин) карбонатным буфером, содержащим 2,7 мМ Na_2CO_3 и 0,3 мМ $NaHCO_3$, при температуре 30°С.

Результаты и обсуждение

Многие виды МВ эволюционно адаптированы к обитанию в олиготрофной среде морских и пресноводных водоемов. Можно предположить, что соответствующая адаптация свойственна не только свободноживущим видам, но и МВ, образующим симбиозы и ассоциации с растениями и беспозвоночными. В то же время стандартные питательные среды, как правило, характеризуются высокими концентрациями солей. По-видимому, это обстоятельство является одной из важных причин неудачных попыток выделения МВ из их среды обитания. С учетом этого на начальных этапах введения в культуру полученных из природных образцов изолятов МВ целесообразно применение сред с достаточным для роста, но не чрезмерным содержанием элементов минерального питания. В настоящей работе использовали минеральные среды стандартного состава, а также обедненные и разбавленные дистиллированной водой среды (см. Материалы и методы).

Особое внимание уделяли тестированию исследованных МВ на средах, не содержащих нитратного азота, поскольку дефицит азота и азотное голодание индуцируют биосинтез ценных соединений — запасных липидов и вторичных каротиноидов в клетках многих свободноживущих [16] и симбиотических МВ [17].

Культивирование в колбах. Рост МВ на средах с относительно высоким содержанием нитратного азота сопровождался значительным повышением pH среды (рис. 1, а). Эта особенность может оказаться полезной при выращивании МВ в фотобиореакторах с продуванием газо-воздушной смесью с высоким содержанием углекислого газа, закисляющим при растворении среду культивирования. Негативное влияние низких значений pH на скорость роста и продуктивность культур компенсируется защелачиванием, характерным для роста МВ на нитратных средах. Наибольшее защелачивание (до pH ≥ 10,0) наблюдали у штаммов *Desmodesmus* sp. 3Dp86E-1 и 1Pm66B на средах BG-11, Прата, Тамия и Гольдберга, содержащих связанный азот. В случае штамма *Desmodesmus* sp. 2Cl66E, растущего



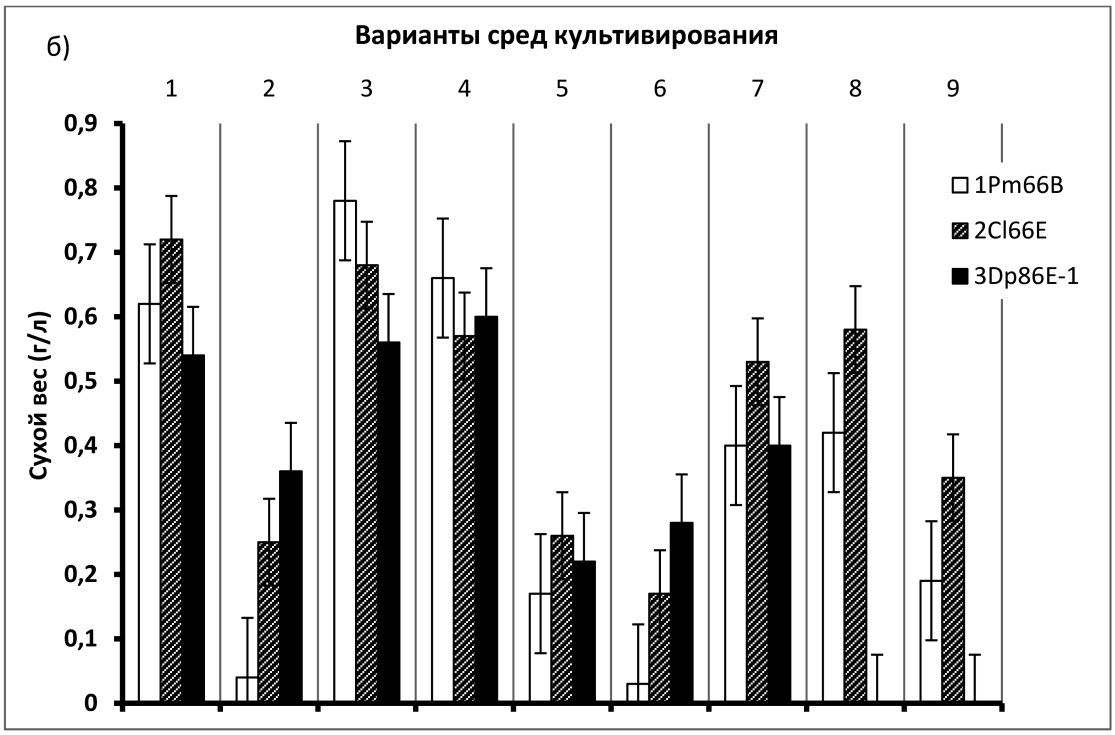


Рис. 1. Изменение pH среды (**а**) и прирост биомассы (**б**) в культурах симбиотических штаммов *Desmodesmus* sp. (1Pm66B, 2Cl66E и 3Dp86E-1) на различных средах — BG-11 (1), Гольдберга (2), Прата (3), Тамия (4), BG-11_0 (5), Гольдберга без азота (6), искусственной морской воде (ИМВ, 7), BG-11 + ИМВ (8), BG-11_0 + ИМВ (9) — после 28 сут роста в колбах. Приведены стандартные ошибки среднего

на среде Гольдберга со связанным азотом, сдвига pH не наблюдали. На безазотных аналогах этих сред и морской воде ни один из исследованных штаммов не вызвал существенного изменения pH среды при росте. Защелачивание среды культивирования (предположительно, вследствие поглощения нитрат-аниона) может косвенно свидетельствовать об активном росте культур.

Характер роста штаммов МВ существенно зависел от типа среды культивирования. Для всех МВ на среде Громова №1 отмечали сильную адгезию клеток на стенках колб и их слипание в мелкие агрегаты без существенного прироста биомассы. Планктонный гомогенный рост был характерен для штамма *Desmodesmus* sp. 3Dp86E-1 во всех испытанных вариантах и, по-видимому, является его специфической особенностью. Для штамма 1Pm66B при выращивании на средах со связанным азотом было характерно сильное прилипание клеток к стенкам культвационных сосудов.

Динамика роста штаммов *Desmodesmus* sp. 2Cl66E и 1Pm66B на среде BG-11 в разных модификациях, а также на средах Прата (исходной и разбавленной) и Тамия была сходной. Рост МВ характеризовался незначительной адгезией и агрегацией клеток. Культивирование штамма 2Cl66E на безазотной среде Гольдберга сопровождался сильной агрегацией клеток.

Накопление биомассы на исследованных средах зависело от наличия в среде нитратного азота (рис. 1, б). Максимальный прирост биомассы всех штаммов был зарегистрирован на средах BG-11, Прата (независимо от наличия микроэлементов и концентрации солей) и Тамия. В этих случаях он составил 0,7–0,9 г/л сухого веса (на рис. 1, б приводятся данные только для полной среды Прата, поскольку существенных различий в приросте биомассы на ее модификациях не выявлено). На среде Гольдберга рост штаммов *Desmodesmus* sp. 3Dp86E-1 и 2Cl66E был незначительным, а у штамма 1Pm66B рост не зарегистрирован.

На безазотных вариантах сред и средах с искусственной морской водой рост всех исследованных штаммов МВ был медленным и накопление биомассы не превышало 0,3 г/л сухого веса. Добавление искусственной морской воды в среды BG-11 и Гольдберга не влияло на физиологические характеристики растущих на них штаммов МВ, но поддерживало их рост на данных средах и в отсутствие нитратного азота (рис. 1, б). Среды с искусственной морской водой не вызывали агрегации клеток штаммов *Desmodesmus* sp. 3Dp86E-1 и 2Cl66E. В то же время, у штамма *Desmodesmus* sp. 1Pm66B добавление морской воды, как и выращивание на ней, сопровождалось слипанием клеток в крупные агрегаты.

Культивирование штаммов МВ в фотобиореакторе. Для культивирования МВ в фотобиореакторе были выбраны среды BG-11 и среда Прата (полная и без микроэлементов). Среду Тамия не использовали в данных опытах из-за высокого содержания биогенных элементов, что в отдельных случаях приводило к выпадению осадка после стерилизации и затрудняло анализ изъятия биогенных элементов клетками МВ в ходе эксперимента.

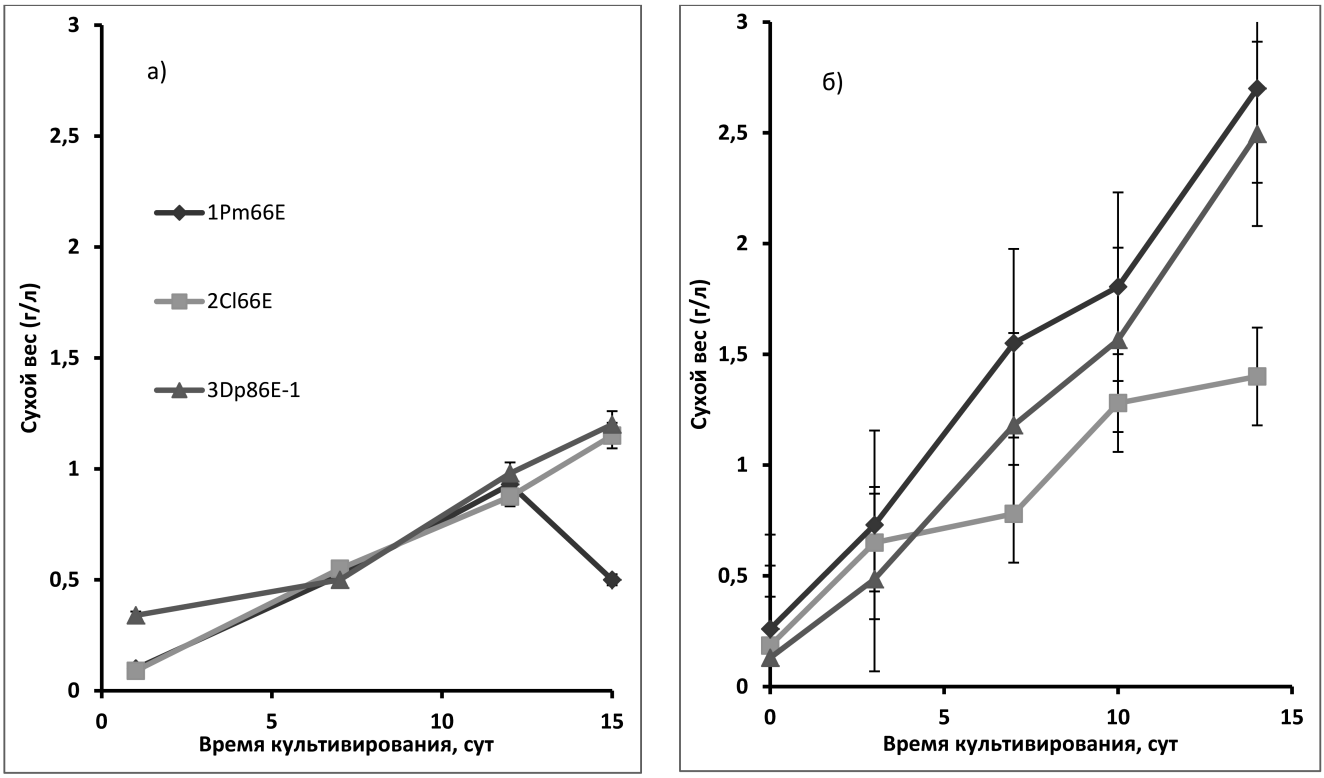


Рис. 2. Накопление биомассы штаммами *Desmodesmus* sp. (1Pm66B, 2Cl66E и 3Dp86E-1) при культивировании в фотобиреакторе на средах Прата (**а**) и BG-11 (**б**). Приведены стандартные ошибки среднего

Для культур, выращенных в биореакторах, регистрировали рост (рис. 2) и скорость биоизъятия основных биогенных элементов — азота и фосфора — во избежание возникновения лимитирования роста МВ нехваткой этих элементов.

В случае культивирования МВ на среде Прата с низкой концентрацией нитрата и ортофосфата (100 и 10 мг/л соответственно) уже к 7-м сут роста культуры практически полностью (>99% NO_3^- и >95% PO_4^{3-}) поглощали нитрат и фосфат из среды, однако стационарной фазы роста достигали только на 10–12-е сут. Добавление микроэлементов не влияло на скорость роста исследуемых культур. К концу эксперимента они накапливали 0,4–0,8 г/л сухого веса.

При культивировании МВ на среде BG-11, существенно более богатой биогенными элементами по сравнению со средой Прата, наблюдается лишь частичное (<20%) изъятие нитрата на 7–е сут роста; полного изъятия нитрата не наблюдали и на 17-е сут. Концентрация ионов PO_4^{3-} в культуральной жидкости к 5–7-м сут роста снижалась на 50–60%. Прирост биомассы на среде BG-11 был в два раза выше, чем на среде Прата, логарифмическая фаза роста была более длительной. К 17-м сут культивирования концентрация PO_4^{3-} снижалась более чем на 90%, а прирост биомассы достигал 600%. Полученные данные иллюстрируют преимущества среды BG-11 при культивировании исследованных МВ в биореакторах.

Как правило, среды для культивирования эукариотных МВ содержат нитрат калия, тогда как BG-11 содержит нитрат натрия. Тем не менее, среда BG-11, исходно использованная для выделения цианобактерий из донных беспозвоночных Белого моря, оказалась пригодной для культивирования и зеленых МВ. Тестирование распространенных сред, применяемых при выращивании МВ, показало, что в каждом случае необходим поиск среды, подходящей для конкретных культур и задач культивирования. Среда Прата (как полная, так и разбавленная) оптимальна для поддержания выделенных культур в условиях коллекции. Поскольку добавление микроэлементов мало влияло на их рост и сохранность культур, для коллекционных культур, по-видимому, оказывается достаточным следовых количеств микроэлементов в реактивах, используемых для приготовления среды.

Среда Тамия из-за высокой концентрации нитратов в дальнейшем в наших исследованиях не использовалась, хотя ее применение возможно при соответствующем разведении. С учетом полученных данных можно считать среду BG-11 пригодной для решения полного спектра задач по выделению и культивированию как свободноживущих, так и симбиотических МВ. Исходно разработанная для культивирования цианобактерий [9], эта среда оказалась подходящей для выделенных и охарактеризованных в нашей лаборатории симбиотических представителей рода *Desmodesmus* и свободноживущих МВ из родов *Haematococcus* [19], *Chlorella* [20] и *Acutodesmus* [21]. Следует также отметить, что безазотная модификация среды BG-11, $BG\text{-}11_0$, успешно использовалась для индукции биосинтеза липидов [17, 18] в клетках штаммов *Desmodesmus*, изученных в настоящей работе. Данное обстоятельство позволяет считать ее перспективной при разработке биотехнологий для получения биомассы, обогащенной этими соединениями.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 14-50-00029).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Соловченко А.Е., Лобакова Е.С., Барский Е.Л., Саванина Я.В., Дольникова Г.А., Лукьянов А.А., Кирпичников М.П.* Экологические фотобиотехнологии для очистки сточных вод // Биотехнология. 2011. Т. 6. С. 70–88.

2. *Borowitzka M.A., Borowitzka L.J., Kessly D.* Effects of salinity increase on carotenoid accumulation in the green alga *Dunaliella salina* // J. Appl. Phycol. 1990. Vol. 2. N 2. P. 111–119.

3. *Spolaore P., Joannis-Cassa C., Duran E., Isambert A.* Commercial applications of microalgae // J. Biosci. Bioeng. 2006. Vol. 101. N 2. P. 87–96.

4. *Hill R.* Microbes from marine sponges: a treasure trove of biodiversity for natural 1 products discovery // Microbial diversity and bioprospecting / Eds. A.T. Bull. Washington, DC: ASM Press, 2006. P. 177–190.

5. *Gorelova O.A., Kosevich I.A,. Baulina O.I., Fedorenko T.A., Torshkhoeva A.Z., Lobakova E.S.* Associations between the White sea invertebrates and oxygen-evolving phototrophic microorganisms // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2009. Vol. 64. N 1. P. 16–22.

6. *Gorelova O.A., Baulina O.I., Solovchenko A.E., Fedorenko T.A., Kravtsova T.R., Chivkunova O.B., Koksharova O.A., Lobakova E.S.* Green microalgae isolated from associations with white sea invertebrates // Microbiology. 2012. Vol. 81. N 4. P. 505–507.

7. *Пятаева С.В., Лобакова Е.С., Косевич И.А.* Цианобактерии — эндосимбионты колониальных гидроидных // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 16. Биология. 2006. № 4. С. 39–42.

8. *Gorelova O., Baulina O., Solovchenko A., Chekanov K., Chivkunova O., Fedorenko T., Lobakova E.* Similarity and diversity of the *Desmodesmus* spp. microalgae isolated from associations with White Sea invertebrates // Protoplasma. 2015. Vol. 252. N 2. P. 489–503.

9. *Stanier R., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazire G.* Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chroococcales) // Bacteriol. Rev. 1971. Vol. 35. N 2. P. 171–205.

10. *Prát S.* Algarum, Hepaticarum, Muscorumque in culturis collectio // Preslia. 1948. Vol. 22–23. P. 1–12.

11. *Кабанова Ю.Г.* Органический фосфор как источник питания фитопланктона: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 1958. 13 с.

12. *Громов Б.В., Титова Н.Н.* Коллекция культур водорослей лаборатории микробиологии Биологического института Ленинградского университета // Культивирование коллекционных штаммов водорослей / Под ред. Б.В. Громова. Л.: ЛГУ, 1983. С. 3–27.

13. *Tamiya H.* Mass culture of algae // Annu. Rev. Plant Physiol. 1957. Vol. 8. P. 309–334.

14. *Reed R. H., Stewart W.D.P.* Evidence for turgor-sensitive K+ influx in the cyanobacteria *Anabaena variabilis* ATCC 29413 and *Synechocystis* PCC 6714 // Biochim. Biophys. Acta — Biomembranes. 1985. Vol. 812. N 1. P. 15–162.

15. *Stanier R., Cohen-Bazire G.* Phototrophic prokaryotes: the cyanobacteria // Annu. Rev. Microbiol. 1977. Vol. 31. P. 225–274.

16. *Guschina I.A., Harwood J.L.* Algal lipids and effect of the environment on their biochemistry // Lipids in Aquatic Ecosystems / Eds. M. Kainz and M. Brett. Dordrecht: Springer, 2009. P. 1–24.

17. *Solovchenko A.E.,Chivkunova O.B.,Semenova L.R., Selyakh I.O., Shcherbakov P.N., Karpova E.A., Lobakova E.S.* Stress-induced changes in pigment and fatty acid content in the microalga *Desmodesmus* sp. isolated from a White Sea hydroid // Rus. J. Plant Physiol. 2013. Vol. 60. N 3. P. 313–321.

18. *Solovchenko A., Gorelova O., Baulina O., Selyakh I., Semenova L., Chivkunova O., Scherbakov P., Lobakova E.* Physiological plasticity of symbiotic *Desmodesmus* (Chlorophyceae) isolated from taxonomically distant white sea invertibrates // Rus. J. Plant Physiol. 2015. Vol. 62. N 5. P. 653–663.

19. *Chekanov K., Lobakova E., Selyakh I., Semenova L., Sidorov R., Solovchenko A.* Accumulation of astaxanthin by a new *Haematococcus pluvialis* strain BM1 from the White Sea coastal rocks (Russia) // Mar. Drugs. 2014. Vol. 12. N 8. P. 4504–4520.

20. *Solovchenko A., Pogosyan S., Chivkunova O., Selyakh I., Semenova L., Voronova E., Scherbakov P., Konyukhov I., Chekanov K., Kirpichnikov M., Lobakova E.* Phycoremediation of alcohol distillery wastewater with a novel *Chlorella sorokiniana* strain cultivated in a photobioreactor monitored on-line via chlorophyll fluorescence // Algal Res. 2014. Vol. 6. Part B. P. 234–241.

21. *Исмагулова Т.Т., Шебанова А.С., Баулина О.И., Горелова О.А., Чеканов К.А., Лобакова Е.С.* Анализ элементного состава вакуолярных включений зеленых микроводорослей методом энергодисперсионной рентгеновской спектроскопии // Всероссийский симпозиум с международным участием “Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов” (24–27 декабря 2014 г.). М.: Макс Пресс, 2014. С. 107.

Поступила в редакцию
31.08.2015 г.

SCREENING OF CULTURE MEDIA WITH DIFFERENT NUTRIENT CONTENT FOR CULTIVATION OF MICROALGAE ASSOCIATED WITH WHITE SEA BENTHIC INVERTEBRATES

E.S. Lobakova[1,*], ***I.O. Selyakh***[1], ***L.R. Semenova***[1], ***O.B. Chivkunova***[1], ***P.N. Scherbakov***[1], ***A.E. Solovchenko***[1,2]

[1] *Department of Bioengineering, School of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskiye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;*
[2] *Timiryazev Institute of Plant Physiology, Russian Academy of Sciences, Botanicheskaya ul. 35, Moscow, 127276, Russia*
[*] *e-mail: elena.lobakova@rambler.ru*

The growth and biomass accumulation of three microalgal strains of *Desmodesmus* (Scenedesmaceae, Chlorophyceae), 1Pm66B, 2Cl66E, 3Dp86E-1, isolated from White Sea benthic invertebrates were studied under conditions of batch culture in different standard (BG-11, Prat, Goldberg, Gromov, Tamiya, artificial sea water) and modified media. Culture condition and biomass accumulation were recorded as well as the uptake of nitrate and phosphate. Vigorous growth of the microalgae brought about a significant alkalization of the culture medium to pH 10. The most significant biomass accumulation was recorded in BG-11 (the complete medium and one with addition of artificial sea water), Tamiya and Prat media. Addition of the sea water did not affect the growth of *Desmodesmus* sp. in the nitrate-containing media although that maintained the growth of the microalgae in the nitrogen-lacking media without cell aggregation. The obtained results suggest the suitability of BG-11 medium for isolation and cultivation of both symbiotic and free-living microalgae. The Prat medium is more suitable for maintaining the microalgal strains in collection.

Keywords: *Desmodesmus, biomass accumulation, testing cultural medium, symbiotic microalgae, cultivation, biogenic elements.*

Сведения об авторах:

Лобакова Елена Сергеевна — докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-41-69; e-mail: elena.lobakova@rambler.ru

Селях Ирина Олеговна — докт. биол. наук, вед. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-20-83; e-mail: i-savelyev@mail.ru

Семенова Лариса Ратмировна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-20-83; e-mail: semelar@mail.ru

Чивкунова Ольга Борисовна — канд. биол. наук, ст. науч. сотр. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-38-07; e-mail: olga.chivkunova@mail.ru

Щербаков Павел Николаевич — инженер-лаборант кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-20-83; e-mail: 06keeper60@gmail.com

Соловченко Алексей Евгеньевич — докт. биол. наук, проф. кафедры биоинженерии биологического факультета МГУ, ведущий научный сотрудник Института физиологии растений им. К.А. Тимирязева, РАН. Тел.: 8-495-939-25-87; e-mail: solovchenko@mail.bio.msu.ru