

УДК 582.26:546.185

И.А. ИЛЮЧИК, канд. биол. наук, доцент,
доцент кафедры биохимии и биоинформатики¹

П.Г. КРАСОВСКИЙ
студент¹

В.Н. НИКАНДРОВ, доктор биол. наук, профессор,
профессор кафедры биотехнологии¹

¹Полесский государственный университет,
г. Пинск, Республика Беларусь

Статья поступила 3.04.2025

ВЛИЯНИЕ УРОВНЯ ОРТОФОСФАТА В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ НА РОСТ КУЛЬТУРЫ *PINNULARIA DIATOME* И СОДЕРЖАНИЕ ВНУТРИКЛЕТОЧНОГО БЕЛКА

*Исключение из питательной среды Тамийя ортофосфата вызвало угнетение роста культуры *Pinnularia diatome*, накопления внутриклеточного белка и гибели клеток на 17-е сутки.*

В диапазоне концентраций ортофосфата $2,2 \cdot 10^{-8}$ – $2,2 \cdot 10^{-5}$ М концентрационная зависимость динамики биомассы носила сложный характер. Даже уменьшение концентрации ортофосфата в питательной среде не всегда сопровождалось подавлением роста культуры, и в ряде моментов ее уровень не уступал оригинальной среде Тамийя (контроль). Возможно, это отражает механизмы адаптации клеток, а не токсический эффект соли фосфора.

Несмотря на носящую линейный характер динамику нарастания содержания внутриклеточного белка, при всех концентрациях ортофосфата в питательной среде уровень белка был значительно ниже контрольного варианта. Возможно, это отражает неоптимальное соотношение уровня фосфора с другими компонентами питательной среды, прежде всего – источника азота.

Ключевые слова: диатомовые водоросли, биомасса, белок, ортофосфат.

ILYUCHYK I.A., PhD in Biol. Sc., Associate Professor,
Associate Professor of the Department of Biochemistry and Bioinformatics¹

KRASOVSKY P. G., Student¹

NIKANDROV V.N., Doctor of Biol. Sc. Habil., Professor,
Professor of the Department of Biotechnology¹

¹Polesky State University, Pinsk, Republic of Belarus

EFFECT OF ORTHOPHOSPHATE LEVEL IN NUTRIENT MEDIUM ON *PINNULARIA DIATOME* CULTURE GROWTH AND INTRACELLULAR PROTEIN CONTENT

*Exclusion of orthophosphate from the Tamiya nutrient medium caused inhibition of *Pinnularia diatome* culture growth, accumulation of intracellular protein and cell death on the 17th day.*

In the range of orthophosphate concentrations of $2.2 \cdot 10^{-8}$ – $2.2 \cdot 10^{-5}$ M, the concentration dependence of the biomass dynamics was complex. Even a decrease in the concentration of orthophosphate in the nutrient medium was not always accompanied by inhibition of culture growth, and in some cases its level was not inferior to the original Tamiya medium (control). Perhaps this reflects the mechanisms of cell adaptation, and not the toxic effect of the phosphorus salt.

Despite the linear dynamics of the increase in intracellular protein content, at all concentrations of orthophosphate in the nutrient medium, the protein level was significantly lower than the control variant. Perhaps this reflects a non-optimal ratio of the phosphorus level with other components of the nutrient medium, primarily the nitrogen source.

Keywords: *diatoms, biomass, protein, orthophosphate.*

Введение. Водоросли играют важную роль в биологических системах нашей планеты. Они являются ключевыми производителями в пищевых цепях морских и пресноводных экосистем, а также выполняют функции кислородного и углеродного фиксаторов [1]. Одна из наиболее интересных и уникальных групп водорослей – диатомовые водоросли [2].

Диатомовые водоросли *Pinnularia diatome*, судя по данным литературы, нашли широкое применение в сельском хозяйстве в качестве биоудобрения, вследствие содержания в них ряда полезных микронутриентов (железо, медь, цинк, магний и кремний), для очистки воды от нитратов и фосфатов и в качестве естественного инсектицида для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур. В аквакультуре диатомовые водоросли используют для улучшения качества воды и питания рыб. Они находят применение при продлении сроков хранения фруктов и овощей, поскольку содержат силикат, способствующий защите продуктов от гниения и разложения, а также в как корм для животных вследствие содержания белков, липидов и углеводов, повышающих ценность корма. Более того, диатомеи используют для производства косметических и медицинских изделий (маски для лица и кремы для тела), красителей для текстильной и кожевенной промышленности и катализаторов при производстве пластмасс и бензина. По мнению ряда авторов, *P. diatome* может использоваться в качестве биомаркера при оценке экологического состояния природных водных систем [3–7].

В силу всех этих обстоятельств ведется постоянный поиск приемов оптимизации культивирования диатомовых водорослей, с целью повышения выхода целевых продуктов при сохранении высокой рентабельности. Этого можно добиться путем направленных изменений условий культивирования, напри-

мер, корректировки минерального питания [8; 9].

Ортофосфат необходим для роста и развития практически всех живых организмов, включая диатомовые водоросли, поскольку без фосфора немислимы нуклеиновые кислоты, фосфолипиды биологических мембран и макроэргические соединения [10; 11].

Однако, в зависимости от концентрации, ортофосфат может оказывать и ингибирующее влияние. В высоких концентрациях он вызывает замедление роста и развития *P. diatome* и других водорослей [12], и нарушение энзиматической активности [13]. А ускоренное развитие диатомовых водорослей при избытке фосфора в водоемах чревато формированием «цветения» (блуминга), что снижает качество воды [14]. В низких же концентрациях ортофосфат – лимитирующий фактор для фототрофных организмов, ведущий к угнетению популяции водорослей и отрицательно сказывающийся на функционировании экосистемы в целом [15; 16].

Ортофосфаты также способны изменять кислотность среды, что влияет на видовой состав и структуру сообщества водорослей [17; 18]. Поэтому очень важно для обеспечения экологической устойчивости и сохранения биоразнообразия водных экосистем контролировать концентрацию фосфатов и соблюдать соответствующие нормы и правила использования этих соединений [19].

Цель настоящей работы – выявить особенности влияния ортофосфата в диапазоне концентраций на накопление биомассы и уровень внутриклеточного белка при росте диатомовой водоросли *Pinnularia diatome* в культуре.

Материалы и методы. Исследование было выполнено на культуре *P. diatome*, выделенной на базе УО «Полесский государственный университет» [20].

Диатомовую водоросль культивировали в прозрачных сосудах объемом 0,25 л при температуре 26–28 °С, освещенности на поверх-

ности сосуда 5000–6000 лК, продолжительности световых и темновых фаз – 12 ч/12 ч на питательной среде Тамия [21] с изменениями концентрации ортофосфата.

Экспериментальные варианты питательной среды: 1) контроль (полная среда Тамия, содержащая $9,3 \cdot 10^{-8}$ М ортофосфата); 2) среда Тамия без ортофосфата 3) среда Тамия с содержанием ортофосфата в концентрациях (М): $2,2 \cdot 10^{-8}$, $2,2 \cdot 10^{-7}$, $1,1 \cdot 10^{-7}$, $2,2 \cdot 10^{-6}$, $2,2 \cdot 10^{-5}$.

Водоросль вносили в посевной дозе $7,0 \pm 0,04$ млн клеток/мл.

Количество клеток в культуре диатомеи учитывали на 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15, 17, 19, 21-е сутки культивирования визуально, используя камеру Горяева. Клетки отделяли от культуральной жидкости центрифугированием при 6000 об/мин в течение 10 мин, дважды отмывали дистиллированной водой [21].

Концентрацию белка в гомогенатах клеток определяли колориметрическим методом [21].

Все полученные результаты представлены как среднее арифметическое не менее трех независимых измерений. Статистическую обработку данных производили с использованием программы *Excel*. Достоверность различий между вариантами определяли с учетом коэффициента Стьюдента для принятого уровня значимости ($P \leq 0,05$).

Результаты исследований и их обсуждение. *Влияние концентрации ортофосфата на динамику накопления биомассы.* При исключении из питательной среды ортофосфата отмечено практически линейное снижение количества клеток до 15-х суток культивирования в 2,7 раза. На 17-е сутки (таблица 1, рисунок 1) культура погибала. Мертвые клетки были деформированы, с разорванной клеточной стенкой. Постепенное истощение в питательной среде ортофосфата привело к угнетению роста и гибели культуры.

При росте водоросли на среде Тамия (контроль), в период 1–5 сутки концентрация клеток в культуре снижалась в 1,7 раза. В последующий же период культура адаптировалась и до конца эксперимента было отме-

чено увеличение биомассы в сравнение 1-ми и 5-ми сутками в 1,4 и 2,3 раза соответственно (таблица 1, рисунок 1).

Уменьшение концентрации ортофосфата в питательной среде по сравнению с полной средой Тамия до $2,2 \cdot 10^{-8}$ М не сопровождалось заметными отличиями в росте культуры до 5-х суток, но начиная с 7-х до 21-х суток, было выявлено угнетение ее роста в 1,3–3,0 раза по сравнению с контролем.

Увеличение, в сравнении с указанным уровнем ортофосфата в питательной среде на порядок (до $2,2 \cdot 10^{-7}$ М), вызвало активный рост водоросли к 5-м суткам. При этом прирост биомассы по сравнению с началом культивирования составил 72%. Затем наблюдалось замедление роста в 2 раза к 11-м суткам и вновь увеличение его к 21-м суткам на 36%. Динамика изменения биомассы в период 11–21-е сутки была сходна с контролем, но существенные различия наблюдались на 5-е и 7-е сутки культивирования: прирост количества клеток в сравнении с началом культивирования составил 2,4 и 1,3 раза соответственно. В сравнении с 1-ми сутками линейный рост культуры в этом варианте наблюдался в период 13–21-е сутки – по отношению к началу роста, увеличение составило 27–72% (рисунок 1).

Эффектор в концентрациях $2,2 \cdot 10^{-5}$, $2,2 \cdot 10^{-6}$ и $1,1 \cdot 10^{-7}$ М к 5-м суткам культивирования вызвал прирост биомассы по отношению к контролю: увеличение количества клеток на 31,4, 21,6 и 29,4% соответственно. В последующий период рост водоросли изменялся. По сравнению с полной средой Тамия (контроль) при концентрации ортофосфата $1,1 \cdot 10^{-7}$ М в период 7–21 суток количество клеток уменьшилось на 20–58%.

При концентрации соли $2,2 \cdot 10^{-6}$ М такая картина наблюдалась в период 9–21-е сутки (убыль составила 16,4–39,0%). При этом на 7-е сутки количество клеток возросло на 24%, а на 13-е сутки – не отличалось от такового в среде Тамия.

Таблица 1. – Влияние концентрации ортофосфата в питательной среде на количество клеток *P. diatome* (млн клеток/мл) в культуре, $n = 3$

Время роста, сутки	Концентрация ортофосфата, М						
	Контроль (среда Тамия)	Среда без PO_4^{3-}	$2,2 \cdot 10^{-8}$	$2,2 \cdot 10^{-7}$	$1,1 \cdot 10^{-7}$	$2,2 \cdot 10^{-6}$	$2,2 \cdot 10^{-5}$
1	8,7± 0,03	6,8± 0,03*	6,2± 0,06*	7,1± 0,07*	6,3± 0,04*	6,3± 0,03*	6,4 ± 0,02*
3	8,5 ± 0,04	6,2 ± 0,04*	8,4 ± 0,04	7,0 ± 0,11*	8,3 ± 0,02	8,0 ± 0,04	8,5 ± 0,07
5	5,1 ± 0,06	5,4 ± 0,05	6,5 ± 0,02*	12,2 ± 0,02*	6,7 ± 0,03*	6,2 ± 0,06*	6,6 ± 0,18*
7	8,0 ± 0,06	5,3 ± 0,08*	4,2 ± 0,03*	10,2 ± 0,04*	6,4 ± 0,08*	9,9 ± 0,06*	8,7 ± 0,06
9	7,3 ± 0,07	5,2 ± 0,08*	5,7 ± 0,08*	6,5 ± 0,07	5,8 ± 0,08*	6,1 ± 0,07*	7,1 ± 0,07
11	10,4 ± 0,06	4,1 ± 0,07*	3,5 ± 0,08*	6,0 ± 0,05*	6,2 ± 0,06*	9,1 ± 0,06	14,2 ± 0,09*
13	9,9 ± 0,05	4,7 ± 0,02*	4,4 ± 0,06*	9,0 ± 0,07	6,7 ± 0,03*	9,9 ± 0,05	9,8 ± 0,06
15	10,7 ± 0,05	2,5 ± 0,07*	4,2 ± 0,03*	10,2 ± 0,04	6,2 ± 0,05*	8,2 ± 0,05*	7,1 ± 0,09*
17	11,9 ± 0,03	гибель	8,2 ± 0,05*	10,7 ± 0,07	5,2 ± 0,04*	7,4 ± 0,03*	11,9 ± 0,06
19	12,2 ± 0,05	–	7,1 ± 0,04*	11,6 ± 0,02	5,9 ± 0,04*	7,8 ± 0,05*	12,8 ± 0,02
21	12,8 ± 0,03	–	5,9 ± 0,04*	12,2 ± 0,07	5,0 ± 0,08*	7,2 ± 0,06*	11,7 ± 0,02

Примечание (здесь и далее): * – статистически достоверные изменения по отношению к контролю ($P \leq 0,05$).

При максимальной использованной концентрации ортофосфата рост культуры носил колебательный характер: с максимумами уровня клеток на 5-е (прирост на 29,4%), 11-е (прирост на 36,5%) и его падением на 15-е сутки (–33,6%), при одинаковом в сравнении с контролем количестве клеток на 17-е сутки (таблица 1).

При концентрации ортофосфата $1,1 \cdot 10^{-7}$ М увеличение уровня биомассы (на 32%) в сравнении с началом культивирования наблюдалось лишь на 3-и сутки. Затем наступало угнетение роста с максимумом к концу эксперимента: убыль составила 21%. По сравнению с началом культивирования при концентрации фосфата $2,2 \cdot 10^{-6}$ М максимальное накопление биомассы наблюдалось на 7 и 13-е сутки – в обоих случаях на 57%, а при концентрации соли $2,2 \cdot 10^{-5}$ М такой эффект выявлен на 11 и 19-е сутки – на 122 и 100% соответственно, тогда как к 15-м суткам уровень биомассы в сравнении с 11-ми

сутками падал в 2 раза (таблица 1, рисунок 1).

Изменения концентрации ортофосфата во всех экспериментальных вариантах питательной среды в сравнении со средой Тамия привели к различному росту диатомовой водоросли пиннулярии. Существенное увеличение количества клеток в сравнении полной средой Тамия наблюдалось на 5-е сутки, когда во всех экспериментальных вариантах выявлен рост уровня биомассы на 22–139%, с максимумом при содержании ортофосфата в среде $2,2 \cdot 10^{-7}$ М. Следует отметить, что при культивировании водоросли в течение 21-х суток ее рост угнетался уже с 9-х суток, кроме вариантов с концентрациями эффектора $2,2 \cdot 10^{-7}$ М и его максимальной концентрации. А при минимальной его концентрации, начиная с 7-х суток, наблюдали подавление роста.

Влияние концентрации ортофосфата на содержание внутриклеточного белка.

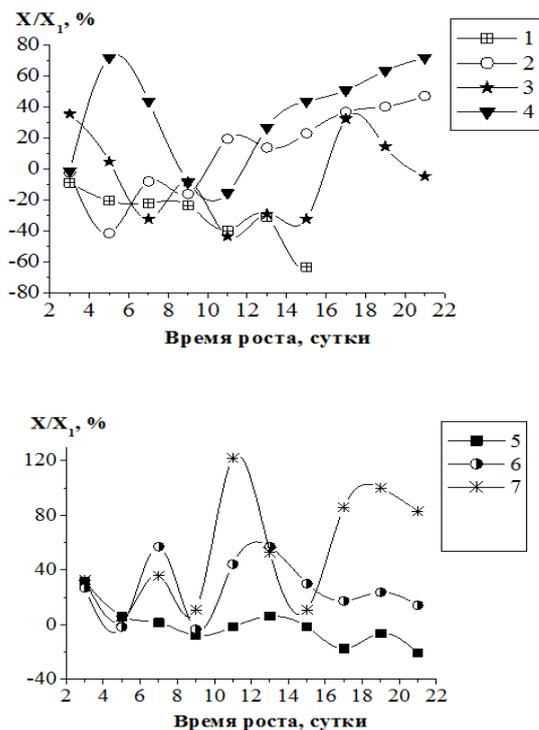


Рисунок 1. – Изменения (% к уровню 1-х суток, принятому за 100%) накопления биомассы культурой *P. diatome* при различной концентрации ортофосфата в питательной среде, М: 1 – среда без PO_4^{3-} ; 2 - контроль (среда Тамия, $9,3 \cdot 10^{-8} PO_4^{3-}$); 3 – $2,2 \cdot 10^{-8}$; 4 – $2,2 \cdot 10^{-7}$; 5 – $1,1 \cdot 10^{-7}$; 6 – $2,2 \cdot 10^{-6}$; 7 – $2,2 \cdot 10^{-5}$

Таблица 2. – Концентрация внутриклеточного водорастворимого белка *P. diatome* (мкг/мл) при добавлении в среду культивирования ортофосфата, $n = 3$

Время роста, сутки	Концентрация ортофосфата, М						
	Контроль (среда Тамия)	Среда без PO_4^{3-}	$2,2 \cdot 10^{-8}$	$2,2 \cdot 10^{-7}$	$1,1 \cdot 10^{-7}$	$2,2 \cdot 10^{-6}$	$2,2 \cdot 10^{-5}$
1	56,6	51,2	53,8	46,1	51,8	47,2	44,3
	$\pm 0,09$	$\pm 0,05$	$\pm 0,10$	$\pm 0,04^*$	$\pm 0,09$	$\pm 0,06^*$	$\pm 0,10^*$
3	67,5	58,3	60,8	48,4	53,5	49,5	49,5
	$\pm 0,04$	$\pm 0,07^*$	$\pm 0,04$	$\pm 0,07^*$	$\pm 0,04^*$	$\pm 0,04^*$	$\pm 0,04^*$
5	80,1	54,5	64,3	50,7	58,1	57,2	52,1
	$\pm 0,03$	$\pm 0,04^*$	$\pm 0,05^*$	$\pm 0,09^*$	$\pm 0,03^*$	$\pm 0,04^*$	$\pm 0,05^*$
7	88,5	41,6	67,0	52,6	61,3	65,5	56,3
	$\pm 0,02$	$\pm 0,05^*$	$\pm 0,05^*$	$\pm 0,09^*$	$\pm 0,02^*$	$\pm 0,05^*$	$\pm 0,05^*$
9	98,9	39,9	59,0	53,2	64,1	69,7	61,1
	$\pm 0,09$	$\pm 0,09^*$	$\pm 0,06^*$	$\pm 0,05^*$	$\pm 0,09^*$	$\pm 0,07^*$	$\pm 0,06^*$
11	106,8	38,2	70,9	50,5	68,2	75,3	64,8
	$\pm 0,03$	$\pm 0,03^*$	$\pm 0,12^*$	$\pm 0,10^*$	$\pm 0,03^*$	$\pm 0,12^*$	$\pm 0,12^*$
13	113,5	27,4	53,6	57,9	72,3	92,8	66,8
	$\pm 0,05$	$\pm 0,10^*$	$\pm 0,09^*$	$\pm 0,04^*$	$\pm 0,05^*$	$\pm 0,03^*$	$\pm 0,09^*$
15	117,6	36,2	76,8	61,3	76,6	84,2	69,9
	$\pm 0,05$	$\pm 0,04^*$	$\pm 0,07^*$	$\pm 0,07^*$	$\pm 0,05^*$	$\pm 0,05^*$	$\pm 0,07^*$
17	127,3	гибель	80,0	82,1	81,2	89,7	62,0
	$\pm 0,10$		$\pm 0,08^*$	$\pm 0,06^*$	$\pm 0,10^*$	$\pm 0,06^*$	$\pm 0,08^*$
19	138,2	–	81,8	66,8	85,7	5,1	75,5
	$\pm 0,07$		$\pm 0,03^*$	$\pm 0,12^*$	$\pm 0,07^*$	$\pm 0,08^*$	$\pm 0,03^*$
21	143,8	–	84,9	68,8	87,8	103,6	78,8
	$\pm 0,08$		$\pm 0,02^*$	$\pm 0,08^*$	$\pm 0,08^*$	$\pm 0,07^*$	$\pm 0,02^*$

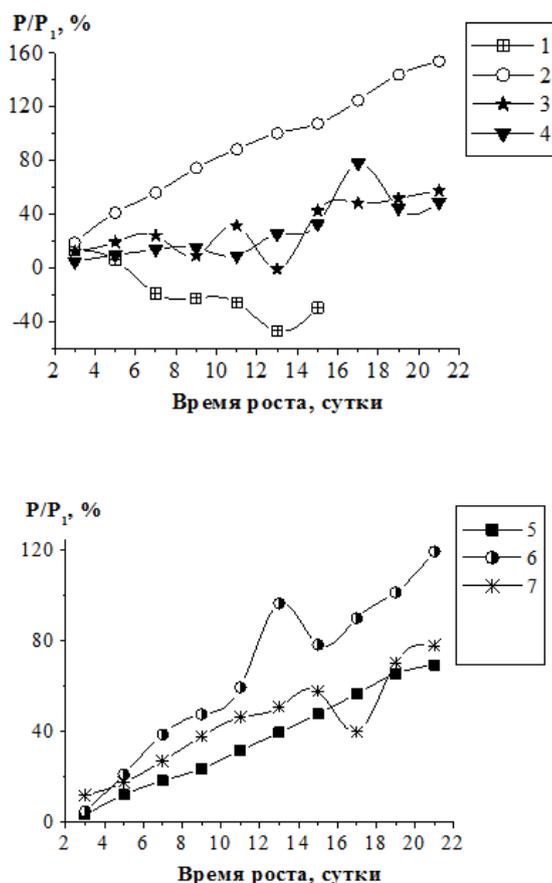


Рисунок 2. – Изменения (% к 1-м суткам, принятым за 100%) накопления внутриклеточного белка культурой *P. diatome* при различной концентрации ортофосфата в питательной среде, М: 1 – среда без PO_4^{3-} ; 2 - контроль (среда Тамия, $9,3 \cdot 10^{-8} PO_4^{3-}$); 3 – $2,2 \cdot 10^{-8}$; 4 – $2,2 \cdot 10^{-7}$; 5 – $1,1 \cdot 10^{-7}$; 6 – $2,2 \cdot 10^{-6}$; 7 – $2,2 \cdot 10^{-5}$

При росте пиннулярии на среде, лишенной ортофосфата, уровень внутриклеточного водорастворимого белка фактически линейно снижался, и к 15-м суткам снижение в сравнении с началом культивирования достигало 1,5 раза.

Культивирование водоросли на полной среде Тамия (контроль) наоборот, сопровождалось линейным накоплением внутриклеточного белка, и к концу культивирования его концентрация возросла в 2,5 раза по сравнению с началом эксперимента (таблица 2).

При исключении ортофосфата из питательной среды увеличение концентрации белка на 14% выявлено по сравнению с началом культивирования водоросли только на 3-и сутки, а в период 7–15 сутки она снижалась на 19–29% (рисунок 2), затем культура погибала.

Внесение ортофосфата во всех экспериментальных вариантах среды приводило, по сравнению с контролем (среда Тамия), к существенному снижению накопления белка в клетках культуры *P. diatome*, в среднем на 20%.

Вместе с тем, по сравнению с 1-ми сутками динамика уровня внутриклеточного водорастворимого белка при всех исследуемых концентрациях ортофосфата изменялась близко к линейному виду и характеризовалась приростом этого уровня. Так, на среде Тамия наблюдался рост на 19–154%, а при концентрациях эффикатора $2,2 \cdot 10^{-8}$, $2,2 \cdot 10^{-7}$, $1,1 \cdot 10^{-7}$, $2,2 \cdot 10^{-6}$, $2,2 \cdot 10^{-5}$ – увеличение на 13–58%, 14–78%, 12–70%, 21–119% и 12–78% соответственно. Примечательно, что даже при тех концентрациях ортофосфата, при которых уровень биомассы в процессе культивирования не изменялся или снижался, со-

держание внутриклеточного белка, как правило, возрастало. Исключением являлся вариант питательной среды, не содержащей ортофосфат.

Заключение. Изложенные результаты показывают, что исключение из питательной среды ортофосфата закономерно приводит к угнетению роста культуры, накопления внутриклеточного белка и гибели клеток на 17-е сутки.

В остальных случаях концентрационная зависимость динамики биомассы носила сложный характер. Причем, даже уменьшение концентрации ортофосфата в питательной среде не всегда сопровождалось подавлением роста культуры, и в ряде моментов ее уровень не уступал оригинальной среде Тамия (контроль). Обнаруженный при изменениях концентрации ортофосфата в питательной среде в сравнении с контролем колебательный характер динамики биомассы может быть проявлением механизмов адаптации, а не токсического эффекта соли фосфора. В этом плане целесообразно проведение дальнейших углубленных исследований.

Что касается содержания внутриклеточного белка, то, несмотря на носящую линейный характер динамику его нарастания, при всех концентрациях ортофосфата в питательной среде уровень белка был значительно ниже контрольного варианта.

Возможно, это отражает неоптимальное соотношение уровня фосфора с другими компонентами питательной среды, прежде всего – источника азота.

Список литературы

1. Algae–bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications / R. Ramanan [et al.] // *Biotechnology advances*. – 2016. – Vol. 34, iss. 1. – P. 14–29. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.003>
2. A time-calibrated multi-gene phylogeny of the diatom genus *Pinnularia* / C. Souffreau [et al.] // *Molecular phylogenetics and evolution*. – 2011. – Vol. 61, iss. 3. – P. 866–879. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.08.031>
3. Applications of diatoms as potential microalgae in nanobiotechnology / A.A. Jamali [et al.] // *Bioimpacts*. – 2012. – Vol. 2, iss. 2. – P. 83–89. doi: 10.5681/bi.2012.012
4. Diatoms biotechnology: various industrial applications for a greener tomorrow / N. Sharma [et al.] // *Frontiers in marine science*. – 2021. – Vol. 8. doi: 10.3389/fmars.2021.636613
5. Hamed, A. A brief and general overview on diatoms and their applications: review / A. Hamed // *Egyptian journal of phycology*. – 2023. – Vol. 24, iss. 1. – P. 1–53. [10.21608/EGYJS.2023.218427.1019](https://doi.org/10.21608/EGYJS.2023.218427.1019)
6. Diatoms in wastewater treatment: potentials, applications, and values of biomass / T.T. Rahman [et al.] // *Critical reviews in environmental science and technology*. – 2024. – Vol. 54, iss. 7. – P. 557–580. <https://doi.org/10.1080/10643389.2023.2259278>
7. Seckbach, J. Diatoms: fundamentals and applications / J. Seckbach, R. Gordon. – Scrivener Publishing, Wiley Global Headquarters, USA, 2019. – 663 p. doi:10.1002/9781119370741
8. Optimization of the growth and marennine production by the diatom *Haslea ostrearia* in photobioreactor / R.N. Xuan [et al.] // *Algal research*. – 2021. – Vol. 55, iss. 2. – P. 1–17. doi:10.1016/j.algal.2021.102251
9. Enhancement of biomass production of diatom *Nitzschia sp. S5* through optimisation of growth medium composition and fed-batch cultivation / M. Grubišić [et al.] // *Marine Drugs*. – 2024. – Vol. 22 (1), iss. 46. – P. 4–22 <https://doi.org/10.3390/md22010046>
10. Duncan, K. Metallothioneins and related chelators. metal ions in life sciences, vol. 5. / K. Duncan ; edited by A. Sigel, H. Sigel, R.K.O. Sigel // *Angewandte chemie international edition*. – 2009. – Vol. 48, iss. 43. – P. 7966–7967. <https://doi.org/10.1002/anie.200903833>
11. Deepmala, K. Effect of phosphate on growth of diatoms/ K. Deepmala // *Indian journal of scientific research*. – 2011. – Vol. 1, iss. 2. – P. 103–106.
12. Excessive phosphorus caused inhibition and cell damage during heterotrophic growth of *Chlorella regularis* / Q. Li [et al.] // *Biore-source technology*. – 2018. – Vol. 268. – P. 266–270. doi: 10.1016/j.biortech.2018.07.148
13. Enzymatic colorimetric quantification of orthophosphate / B. Li [et al.] // *The Japanese society of applied glycoscience*. – 2011. –

- Vol. 58. – P. 125–127. DOI: 10.5458/jag.jag.JAG-2011_002
14. Akinnowo, S.O. Eutrophication: causes, consequences, physical, chemical and biological techniques for mitigation strategies / S.O. Akinnowo // Environmental challenges. – 2023. – Vol. 12. – P. 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2023.100733>.
 15. The effects of limiting phosphate on photosynthesis and growth of *Lotus japonicas* / R. Thuynsma [et al.] // South african journal of botany. – 2016. – Vol. 104. – P. 244–248. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.03.001>.
 16. Effect of orthophosphate and bioavailability of dissolved organic phosphorous compounds to typically harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa* / J. Li [et al.] // Marine pollution bulletin. – 2015. – Vol. 92, iss. 1–2. – P. 52–58. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2015.01.001.
 17. Mitryasova, O. Prognosis models of nitrates and orthophosphates content in surface waters / O. Mitryasova, A. Shybanov, E. Dzhumelia // Environmental safety and natural resources. – 2022. – Vol. 44, iss. 4. – P. 30–43. doi:10.32347/2411-4049.2022.4.30-43
 18. Zelnik, I. Diversity and structure of the ty-choplankton diatom community in the limno-crene spring Zelenci (Slovenia) in relation to environmental factors / I. Zelnik, T. Balanč, M.J. Toman // Water. – 2018. – Vol. 10, iss. 4, art. 361. – P. 1 – 12. <https://doi.org/10.3390/w10040361>
 19. Badamasi, H. Impacts of phosphates on water quality and aquatic life / H. Badamasi [et al.] // Chemistry research journal. – 2019. – Vol. 4, iss.3. – P. 124–133.
 20. Красовский, П.Г. Выделение культуры диатомовой водоросли и ее рост на различных питательных средах / П.Г. Красовский // Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси : материалы XVI международной молодежной научно-практической конференции, Пинск, 15 апреля 2022 г. – Пинск : ПолесГУ, 2022. – Ч. 2. – С. 234–237.
 21. Ильючик, И.А. Методические рекомендации по изучению биохимических свойств одноклеточных зеленых водорослей (на примере *Chlorella vulgaris*) / И.А. Ильючик, В.Н. Никандров. – Пинск : ПолесГУ, 2020. – 29 с.

References

1. Ramanan R., Kim B.-H., Cho D.-H., Oh H.-M., Kim H.-S. Algae–bacteria interactions: evolution, ecology and emerging applications. Journal of Biotechnology Advances, 2016, Vol. 34(1), pp. 14–29. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.12.003>
2. Souffreau C., Verbruggen H., Wolfe A.P., Vanormelingen P., Siver P.A., Cox E.J., Mann D.G., Vijver B.V., Sabbe K., Vyverman W. A time-calibrated multi-gene phylogeny of the diatom genus *Pinnularia*. Journal of Molecular Phylogenetics and Evolution. 2011, Vol. 61(3), pp. 866–879. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.08.031>
3. Jamali A.A., Akbari F., Ghorakhlu M.M., de la Guardia M, Yari Khosroushahi A. Applications of diatoms as potential microalgae in nanobiotechnology. Journal of Bioimpacts, 2012, Vol. 2(2), pp. 83 – 89. DOI: 10.5681/bi.2012.012
4. Sharma N, Simon D.P., Diaz-Garza A.M., Fantino E., Messaabi A., Meddeb-Mouelhi F., Germain H., Desgagné-Penix I. Diatoms biotechnology: Various Industrial Applications for a Greener Tomorrow, Frontiers in Marine Science, 2021, Vol. 8. doi: 10.3389/fmars.2021.636613
5. Hamed A. A brief and general overview on diatoms and their applications: review. Egyptian Journal of Phycology, 2023, Vol. 24(1), pp. 1–53. 10.21608/EGYJS.2023.218427.1019
6. Rahman T.T., Jiang T., Zhang C., Rao Y., Sims R. C., Hou, L. Diatoms in wastewater treatment: Potentials, applications, and values of biomass. Critical Reviews in Environmental Science and Technology, 2023, Vol. 54(7), pp. 557–580. <https://doi.org/10.1080/10643389.2023.2259278>
7. Seckbach J., Gordon R. Diatoms: fundamentals and applications. Scrivener Publishing, Wiley Global Headquarters, USA, 2019, 663 p. DOI:10.1002/9781119370741
8. Xuan R.N., Mouget J.L., Turpin V., Jaouen P., Pruvost J. Optimization of the growth and marennine production by the diatom *Haslea ostrearia* in photobioreactor. Journal of Algal Research, 2021, Vol. 55(2), pp. 1–17. DOI:10.1016/j.algal.2021.102251

9. Grubišić, M.; Šantek, B.; Kuzmić, M.; Čož-Rakovac, R.; Ivančić Šantek, M. Enhancement of Biomass Production of Diatom *Nitzschia sp.* S5 through Optimisation of Growth Medium Composition and Fed-Batch Cultivation. *Journal of Marine Drugs* 2024, 22, 46. <https://doi.org/10.3390/md22010046>
10. Duncan K. Metallothioneins and Related Chelators. *Metal Ions in Life Sciences*, Vol. 5. Edited by Sigel A., Sigel H., Sigel R.K.O. *Angewandte Chemie International Edition*, 2009, Vol. 48(43), pp. 7966–7967. <https://doi.org/10.1002/anie.200903833>
11. Deepmala K. Effect of Phosphate on Growth of Diatoms. *Indian Journal of Scientific Research*, 2011, Vol. 1(2), pp. 103–106.
12. Li Q, Fu L, Wang Y, Zhou D, Rittmann B.E. Excessive phosphorus caused inhibition and cell damage during heterotrophic growth of *Chlorella regularis*. *Journal of Bioresour Technology*, 2018, Vol. 268, pp. 266–270. doi: 10.1016/j.biortech.2018.07.148.
13. Bingxue Li, Takanori N., Hiroyuki N., Marmoru N., Motomitsu K. Enzymatic colorimetric quantification of orthophosphate. *Journal of The Japanese Society of Applied Glycoscience*, 2011, Vol. 58, pp. 125–127. DOI: 10.5458/jag.jag.JAG-2011_002
14. Akinawo S.O Eutrophication: Causes, consequences, physical, chemical and biological techniques for mitigation strategies. *Journal of Environmental Challenges*, 2023, Vol. 12, pp. 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.envc.2023.100733>.
15. Thuynsma R., Kleinert A., Kossmann J., Valentine A.J., Hills P.N. The effects of limiting phosphate on photosynthesis and growth of *Lotus japonica*. *South African Journal of Botany*, 2016, Vol. 104, pp. 244–248. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2016.03.001>.
16. Li J., Wang Z., Cao X., Wang Z., Zheng Z. Effect of orthophosphate and bioavailability of dissolved organic phosphorous compounds to typically harmful cyanobacterium *Microcystis aeruginosa*. *Journal of Marine pollution bulletin*, 2015, Vol. 92(1–2), pp. 52–58. DOI: 10.1016/j.marpolbul.2015.01.001.
17. Mitryasova O., Shybanova A., Dzhumelia E. Prognosis models of nitrates and orthophosphates content in surface waters. *Journal of Environmental safety and natural resources*, 2022, Vol. 44(4), pp. 30–43. DOI:10.32347/2411-4049.2022.4.30-43
18. Zelnik I.; Balanč T.; Toman M.J. Diversity and Structure of the Tychoplankton Diatom Community in the Limnocene Spring Zelenci (Slovenia) in Relation to Environmental Factors. *Journal of Water* 2018, Vol. 10(4):361, pp. 1 – 12. <https://doi.org/10.3390/w10040361>
19. Badamasi H., Yaro, M.N., Ibrahim A., Aliyu Bashir I. Impacts of Phosphates on Water Quality and Aquatic Life. *Chemistry research journal*, 2019, Vol. 4(3), pp. 124–133.
20. Krasovsky P.G. Vydelenie kultury diatomovoj vodorosli i ee rost na razlichnyh pitatel'nyh sredah [Isolation of diatom culture and its growth on various nutrient media]. *Nauchnyj potencial molodezhi – budushchemu Belarusi : materialy XVI mezhdunarodnoj molodezhnoj nauchno-prakticheskoy konferencii, Pinsk, 15 aprelya 2022 g.* Pinsk : PolesGU, 2022, pp. 234–237. (In Russian)
21. Ilyuchyk I.A., Nikandrov, V.N. Metodicheskie rekomendatsii po izucheniiu biokhimicheskikh svoistv odnokletochnykh zelenykh vodoroslei (na primere *Chlorella vulgaris*) [Methodological recommendations for studying the biochemical properties of unicellular green algae (using the example of *Chlorella vulgaris*)]. Pinsk, PolesGU, 2020, 29 p. (In Russian)

Received 3.04.2025