

СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ГРИБОВ И МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ДЛЯ БИОТЕХНОЛОГИЙ

© 2024 г. Н. А. Оганесян^{1,*}, А. В. Кураков^{2,**}, Н. С. Хачатурян^{1,***}, С. А. Геворгян^{1,****},
Р. Э. Матевосян^{3,*****}, В. А. Багиян^{1,*****}

¹ Научно-производственный центр “Армбиотехнология” Национальной академии наук Армении, 0056 Ереван, Армения

² Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, 119234 Москва, Россия

³ Ереванский государственный университет, 0025 Ереван, Армения

*e-mail: nelliog@yahoo.fr

**e-mail: kurakov57@mail.ru

***e-mail: nune.khachaturyan@inbox.ru

****e-mail: sgevork@yahoo.com

*****e-mail: matevosyanruzanna@ysu.am

*****e-mail: valbeg@mail.ru

В обзоре рассмотрены результаты исследований последнего десятилетия по совместному культивированию грибов и микроводорослей. В нем кратко изложены механизмы взаимодействия грибов и микроскопических водорослей при ассоциативном культивировании и приемы формирования флоккул. Ключевое значение для биотехнологий имеют способность грибов и водорослей формировать гранулы (флоккулы), которые можно легко отделить от культуральной жидкости. Синергический эффект этих взаимоотношений приводит к увеличению накопления биомассы, синтеза липидов, полиненасыщенных жирных кислот, других метаболитов, а также к удалению различных поллютантов из сточных вод. Состав получаемых продуктов можно оптимизировать путем подбора штаммов и условий культивирования. Пока в этом направлении проведены преимущественно успешные лабораторные эксперименты, которые необходимо расширять и переходить к производственным проектам. Для крупномасштабного применения этих систем следует продолжить исследования механизмов взаимодействия грибов и микроводорослей, их метаболизма, регуляции биосинтетических процессов современными методами микробиологии, протеомики, а также разрабатывать инженерные решения для их культивирования.

Ключевые слова: агрегаты, грибы, жирные кислоты, липиды, микроводоросли, очистка сточных вод, совместное культивирование, флоккулы

DOI: 10.31857/S0026364824060029, **EDN:** uoioqc

ВВЕДЕНИЕ

Микроводоросли и грибы — перспективные организмы для получения кормов, биоудобрений, фармакологически активных соединений, биотоплива. Они способны утилизировать различные органические и неорганические соединения, в том числе стойкие токсичные вещества в сточных водах (Slusarczyk et al., 2021). Исследования последних лет указывают, что биотехнологии очистки стоков, производство биотоплива и других востребованных продуктов могут быть существенно улучшены при применении совместного культивирования грибов и микроскопических водорослей (микроводорослей).

Многие грибы формируют гранулы-флоккулы при росте на жидких средах (Zhang, Zhang, 2016).

Обнаружено, что и при совместном выращивании грибов и микроводорослей могут образовываться гранулы из мицелия и клеток этих организмов, и они способны к длительному существованию (Hultberg et al., 2019). Феномен образования гранул-пеллет при ассоциированном росте грибов и микроводорослей имеет хорошие перспективы применения в ряде биотехнологий. Путем совместного культивирования микроскопических водорослей и грибов можно увеличить скорость их роста, продукцию липидов и жирных кислот, других метаболитов и эффективность удаления опасных органических соединений и тяжелых металлов из сточных вод (Rashid et al., 2019). Помимо увеличения продукции биомассы и ценных веществ преимуществом таких технологий является легкость отделения агрегатов (флоккул, пеллет) от культуральной

жидкости или подвергаемых очистке жидких стоков традиционными методами, фильтрацией и др. (Gultom et al., 2014; Hultberg et al., 2019).

В обзоре даны результаты последних исследований по совместному культивированию грибов и микроводорослей, рассмотрены механизмы формирования флоккул этих микроорганизмов и перспективы их биотехнологического применения.

ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ГРИБОВ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ

Грибные организмы известны своей способностью к флокуляции, посредством которой клетки микроводорослей могут быть захвачены и адсорбированы в агрегаты. Образование агрегатов (флоккул, пеллет) у определенных видов начинается сразу после прорастания спор и формирования мицелия в жидкой среде. Стабильность таких агрегатов зависит от их физико-химических свойств, гидрофобности, электростатических и химических взаимодействий клеточных стенок этих организмов (Zhang, Zhang, 2016). Сбалансированное сосуществование свободноживущих грибов и микроводорослей в жидкой среде может быть продолжительным при поддержании оптимальных условий, чего не всегда легко достичь. При их ухудшении, в частности, может начаться автолиз мицелия, и гранулы начнут исчезать (Espinosa-Ortiz et al., 2016). Показано, что обмен газами и питательными веществами повышает метаболическую активность грибов и микроводорослей и дает возможность их ассоциациям более эффективно утилизировать питательные вещества среды (Piercey-Normore, Athukorala, 2017). При совместном росте возрастает эффективность использования ресурсов, поскольку грибы потребляют сахара и питательные вещества, образующиеся в результате фотосинтеза микроводорослей, и, в свою очередь, биомасса водорослей увеличивается за счет потребления грибами выделяемых ими соединений (Muradov et al., 2015; Wang et al., 2021). Позитивное влияние в системе совместного культивирования обусловлено также тем, что грибы выделяют двуокись углерода, которая необходима для фотосинтетической активности водорослей, в то время как водоросли обеспечивают грибы кислородом, недостаток которого может возникать внутри агрегатов (Al-Juburi et al., 2022). В водной среде неорганический углерод в основном присутствует в форме HCO_3^- , который микроводоросли могут активно поглощать и преобразовывать непосредственно в CO_2 (Salbitani et al., 2020). Впоследствии они преобразуют CO_2 в органические

соединения посредством фотосинтеза и выделяют кислород. Кислород будет использоваться грибами для процесса дыхания, а органические соединения — для их роста, предотвращая снижение общей биомассы в стрессовых условиях.

Продукция грибами внеклеточных гидролитических ферментов, таких как целлюлазы, позволяет им использовать в качестве источника углерода клеточные стенки водорослей — важный источник углерода для синтеза свободных жирных кислот, необходимых для роста клеток и пролиферации (Lennen, Pflieger, 2013). В случае совместного культивирования гриба *Cunninghamella echinulata* с микроводорослью *Chlorella vulgaris* наблюдалась корреляция между накоплением биомассы и секрецией грибом целлюлаз, разрушающих клеточную стенку водоросли (Xie et al., 2013). В модельных ассоциациях на основе базидиальных грибов и фототрофных микроорганизмов обнаружены следующие изменения: расширялся спектр антибиотической активности экстрактов из культуральной жидкости и синтезируемых фенольных соединений у *Pleurotus ostreatus*, возрастала целлюлозолитическая активность, увеличивалось число зачатков примордиев по сравнению с монокультурой гриба (Smirnov, Lobakova, 2008).

Клеточная стенка микроводорослей и грибов состоит из различных полимеров, что способствует их адсорбции, электростатическим взаимодействиям, ионному обмену, образованию ими комплексов и хелатов. Образование агрегатов (флоккул) при совместном культивировании грибов и микроводорослей происходит в первую очередь благодаря электростатическим взаимодействиям клеток микроводорослей и грибов. Отрицательный заряд на поверхности водорослей обеспечивают фосфорные, фосфодиэфирные, аминные гидроксильные и карбоксильные функциональные группы, а поверхность грибов заряжена положительно благодаря полисахаридам (Gultom et al., 2014). Одноклеточные водоросли от 2 до 10 мкм диам. захватываются гифами грибов, отделяются от окружающей жидкости, что приводит в конечном итоге к формированию агрегатов (флоккул). При этом плотность популяции микроводорослей в жидкой среде снижается, что способствует их размножению (Wrede et al., 2014). В образовании агрегатов/флоккул определенную роль играют не только функциональные группы на поверхности клеток этих организмов, но и секретируемые в среду метаболиты, особенно внеклеточные полисахариды (Rajendran et al., 2017). Ранее считалось, что грибные глюканы — основная причина адгезии микроводорослей к грибам, в связи с чем их значение детально изучили

у *Aspergillus niger* и других микромицетов. Гомологи гена *ags_1_1472184*, кодирующего α -1,3-глюкансинтазу, были обнаружены у 96 видов, но не были найдены у *A. niger* и *Trichoderma harzianum*. Это указывало, что у представителей рода *Aspergillus* и ряда других грибов имеет место несколько другой механизм образования агрегатов с микроводорослями. Пониженная пеллетизация в случае с *Aspergillus oryzae* также показывает, что наличие у него α -1,3-глюкана в клеточной стенке не гарантирует хорошей адгезии к его гифам микроводорослей. Например, *A. niger* имеет специфический путь формирования агрегатов, который включает немедленную агрегацию спор после их инокуляции в жидкую среду. После прорастания спор и формирования мицелия увеличивается площадь для прикрепления клеток, что последовательно ведет к ускорению агрегации микроводорослей (Braun, Vecht-Lifshitz, 1991; Grimm et al., 2004; Gultom, Hu, 2013).

Положительно заряженная поверхность мицелиальных грибов — главная причина закрепления на ней клеток микроводорослей, которые несут отрицательный заряд. При закреплении клеток микроводорослей на гифах происходят кардинальные изменения электрического заряда на поверхности грибов и водорослей, его нейтрализация (Lal et al., 2021). Флокуляция, образование агрегатов, проходит в несколько этапов. На первом этапе на отрицательно заряженные участки поверхности клеток начинают адсорбироваться несущие положительный заряд полимерные и коллоидные вещества, и достигается более равновесное состояние в бинарной системе. Затем происходит прикрепление этих полимерных молекул и коллоидов к поверхности микроводорослей, и полимерные молекулы и коллоиды образуют мостики между клетками. На последнем этапе происходит массовое вовлечение клеток в зародившийся агрегат, что ведет к их более жесткому связыванию и седиментации или флотации агрегатов в среде (Branyikova et al., 2018).

ОБРАЗОВАНИЕ АГРЕГАТОВ ПРИ СОВМЕСТНОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ГРИБОВ И МИКРОВОДОРΟΣЛЕЙ

Скорость образования агрегатов, их строение и размеры могут быть различными, и это зависит от нескольких факторов: вида и штамма ассоциантов, состава клеточных стенок, активности роста инокулюма, pH, состава, ионной силы, интенсивности перемешивания среды (Luo et al., 2019). Различные параметры могут влиять на взаимодействие микроводорослей и грибов как положительным, так и отрицательным образом. Добавление ионов кальция в среду,

как правило, усиливает связи между поверхностями клеток разных микроорганизмов, в том числе микроводорослей, и способствует формированию пеллетов (агрегатов). Установлено, что консорциуму грибов и микроводорослей обычно требуются миксотрофные условия, поскольку грибы являются облигатными гетеротрофами, а зеленые микроводоросли — фотавтотрофами (Zhan et al., 2017).

Выбор штамма является одним из основных факторов, который следует учитывать при разработке эффективной бинарной системы культивирования. Если при создании агрегатобразующей комбинации первичным партнером является четко определенный вид и штамм микроводорослей, то вторичный партнер (штамм гриба) должен обладать следующими характеристиками: быть способен сосуществовать с этим видом; не подавлять его рост и не быть токсичным для него; обладать возможностями коммуникации на уровне электростатических взаимодействий и метаболитов; иметь возможность использовать продукты метаболизма партнера. В большинстве случаев выбор двух видов, обитающих в одном экотопе, может стать хорошей отправной точкой для создания консорциума грибов и микроводорослей (Wang et al., 2021).

Инокуляты гриба и микроводоросли надо вносить в таком соотношении, чтобы избежать чрезмерного роста одного вида за счет другого (Yang et al., 2019). Во избежание дисбаланса важно контролировать фазы их развития и содержание питательных веществ в среде. Успех совместного культивирования микроводорослей и грибов существенно зависит от pH, температуры, скорости перемешивания среды. Более кислый pH способствует усиленному росту мицелия (Paragianni, 2004). Однако кислый pH питательной среды часто становится более основным, поскольку бикарбонат (HCO_3^-) обычно преобразуется в CO_2 и гидроксид-ионы (OH^-) (Salbitani et al., 2020). Микроводоросли потребляют CO_2 и создают избыток OH^- в питательной среде, что приводит к повышению pH (Nayak et al., 2018). Изменения температуры также могут сделать систему нестабильной, модифицировать состав липидов у микроводорослей. В последние годы предлагают для совместного культивирования штаммы грибов и микроводорослей, которые устойчивы к сходным стрессовым условиям (являются галотолерантами или термофилами).

Для создания грибоводорослевых ассоциаций, формирующих агрегаты, наиболее часто используют виды грибов *A. niger*, *A. oryzae*, *A. fumigatus*, *Aspergillus* sp., *Acremonium* sp., *Candida tropicalis*, *C. echinulata*, *Ganoderma lucidum*, *Mortierella elongata*, *Mucor*

circinelloides, *Pleurotus ostreatus*, *Rhodospiridium toruloides*, *Rhodotorula glutinis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichoderma harzianum* и микроводорослей *Chlorella pyrenoidosa*, *C. vulgaris*, *C. protothecoides*, *Chlorella* sp., *Scenedesmus obliquus*, *Spirulina platensis* и *Tetraselmis suecica* (Xue et al., 2010; Kitcha, Cheirsilp, 2014; Du et al., 2018; Yang et al., 2019; Chu et al., 2021; Takáčová et al., 2022, и др.).

Разработано несколько способов получения агрегатов ассоциативных культур грибов и микроводорослей.

Смешивание выращенных культур

Флокуляция предварительно выращенных микроводорослей и грибов путем их прямого (простого) смешивания является обычным, часто применяемым способом (Brenner et al., 2008). Эффективность формирования ассоциаций существенно зависит от соотношения первоначальной плотности культур. В качестве примера приведем описание создание флоккул на основе штаммов *Aspergillus niger* и *Chlorella* sp. На первом этапе получали агрегаты гриба путем культивирования его на жидкой среде Сабуро с декстрозой (45 мл) в колбах Эрленмейера объемом 250 мл при 25°C и перемешивании 170 об./мин. Образовавшиеся уже к пятым суткам гранулы удаляли фильтрованием, промывали дистиллированной водой, добавляли к суспензии *Chlorella* sp. в дистиллированной воде (50 мл) с биомассой 5 г/л⁻¹, и колбы помещали на шейкер (150 об./мин) на 24 и 48 ч. Такой принцип получения агрегатов на основе гиф грибов и клеток микроводорослей использовали и в реальных условиях для очистки стоков (Takáčová et al., 2022).

Агрегаты (флоккулы) из гриба и микроводоросли можно получить на основе готовых гранул *A. oryzae* и *Chlorella vulgaris*. Такой способ позволил существенно увеличить накопление биомассы этих микроорганизмов (на 99.23%) и липидов (на 33.97%) (Chu et al., 2021). При прямом смешивании клеток *Chlorella* sp. и *Saccharomyces cerevisiae* усиливается фиксация двуокиси углерода, и растет количество биомассы и продукция липидов микроводорослью. Методом прямого смешивания штаммов видов родов *Chlorella* и *Aspergillus* получали ассоциации с повышенной продукцией биомассы водорослей и липидов в сравнении с монокультурой (Yang et al., 2019).

Способ флокуляции предварительно выращенных микроводорослей *Chroococcus* sp. с помощью *A. lentulus* обеспечивал 100%-й сбор биомассы в течение шести ч без добавления каких-либо питательных веществ и источников углерода при соотношении грибов и водорослей равном 1:3. Последующая

инкубация собранных водорослево-грибных гранул приводила к высвобождению растворимого сахара из клеток водорослей благодаря активности целлюлазы *A. lentulus*. В результате на 50% увеличивалось образование метана из этих гранул при их анаэробном сбраживании (Prajapati et al., 2016).

Несмотря на довольно широкое применение, этот метод не всегда подходит для создания агрегатов грибов и микроводорослей.

Инкапсуляция

Инкапсуляция подразумевает иммобилизацию или погружение микроорганизма в гель, который часто получают из природных полисахаридов, таких как альгинат и агар-агар (Kitcha, Cheirsilp, 2014). Это широко используемый в инженерной энзимологии подход, однако о совместном культивировании грибов и микроводорослей пока имеется немного данных. Установлено, что совместная инкапсуляция дрожжей *Trichosporonoides spathulata* и микроводоросли *Chlorella vulgaris* в шариках альгинатного геля упрощает отделение биомассы клеток, при этом рост *C. vulgaris* и продукция липидов сохраняется на уровне, сравнимым с монокультурой (Kitcha, Cheirsilp, 2014).

Флокуляция при совместном культивировании грибов и микроводорослей

При одновременной инокуляции среды культурами микроводорослей и грибов может происходить естественное формирование гранул — флоккул. Флокуляция зависит от штаммов микроорганизмов, входящих в ассоциацию, источника углерода в среде и других факторов, которые рассмотрены ранее. Образование гранул достигалось при совместном культивировании *Aspergillus niger* с *Chlorella vulgaris* в среде, содержащей глюкозу, глицерин или ацетат натрия, но при содержании глюкозы 2 г · л⁻¹ оно было наиболее интенсивным. Эффективность формирования флоккул и накопления биомассы водорослей возрастала более чем на 90% при соотношении в посевном материале спор *Aspergillus niger* и клеток *Chlorella vulgaris* равном 1:300 (Gultom et al., 2014). Флокуляцию наблюдали при совместном культивировании микроводорослей *Chlorella protothecoides* и *Tetraselmis suecica* со штаммами грибов, выделенными из компоста, соломы и почвы. При этом происходило большее увеличение биомассы и накопление липидов, по сравнению с использованием отдельных культур (Muradov et al., 2015). При совместном росте *Nannochloropsis oceanica* с известными продуцентами липидов — грибами *Mortierella elongata* — происходит

образование флоккул и повышается содержание в общей биомассе полиненасыщенных жирных кислот (Du et al., 2018).

Биопленки

Особый интерес для очистки стоков и ряда других биотехнологий представляют биопленки микроводорослей, формирующиеся на полимерном матриксе и напоминающие по структуре морфологически простые лишайники (Rajendran et al., 2017). В биопленках с грибами, такими как *Acremonium* sp. и *Aspergillus* sp., ускорялся рост и фотосинтетическая активность микроводорослей, что было доказано путем получения профилей продуктов фотосинтеза (Miranda et al., 2017).

Фотобиореактор

При совместном культивировании дрожжей *Trichosporonoides spathulata* с микроводорослями *Chlorella vulgaris* в фотобиореакторе при оптимальных условиях получали $12.2 \text{ г} \times \text{л}^{-1}$ биомассы, а повышение продукции липидов на 47% (Kitcha, Cheirsilp, 2014). В случае ассоциации *Scenedesmus obliquus/Rhodotorula glutinis* накопление их биомассы в пятилитровом фотобиореакторе выросло на 40–50%, а продукции липидов на 60–70% (Yen et al., 2015). Показано, что при использовании ассоциации *Desmodesmus* sp./*Rhodospiridium kratochvilovae* в трехлитровом биореакторе можно получать 8.78–11.12 г/л сухой биомассы с содержанием липидов 29.62–31.61% (Szotkowski et al., 2021).

С целью повышения эффективности накопления биомассы и продукции липидов микроводорослями и грибами был разработан специальный фотобиореактор (Santos et al., 2013). Это уникальная система, в которой *Rhodospiridium toruloides* и *Chlorella protothecoides* культивируются в отдельных соединенных фотобиореакторах. Биореакторы сообщаются между собой, происходит газообмен кислородом и диоксидом углерода, выделяемыми соответственно микроводорослями и дрожжами. В отличие от промышленного CO_2 , который является продуктом сгорания топлива, диоксид углерода дрожжей не токсичен для водорослей. Применение такого фотобиореактора для выращивания *C. protothecoides* обеспечивало увеличение биомассы микроводорослей на 94% и продукцию липидов на 87% по сравнению с обычным культивированием.

Этот метод также не универсален, и в зависимости от используемых грибов и микроводорослей и стоящих задач необходимо выбирать и адаптировать наиболее подходящий метод для конкретного производства.

СОВМЕСТНОЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРОВОДОРΟΣЛЕЙ И ГРИБОВ В БИОТЕХНОЛОГИЯХ

Ассоциированное культивирование грибов и микроводорослей с образованием флоккул (агрегатов) имеет несколько биотехнологических приложений — получение биотоплива, кормов, очистка стоков, сокращение выброса CO_2 в атмосферу и производство ряда ценных продуктов. Крайне важное преимущество совместного культивирования этих микроорганизмов связано со сбором клеток микроводорослей.

Из-за небольшого размера клеток микроводорослей (2–40 мкм), их подвижности, отрицательно заряженной поверхности и часто невысокого (0.3–0.5 г/л) содержания в среде, их отделение от культуральной жидкости может составлять более 50% от общих производственных затрат (Kumar et al., 2023).

Получение биомассы, липидов и жирных кислот

В последнее время, благодаря способности продуцировать липиды и жирные кислоты, грибы и микроводоросли рассматриваются как перспективные источники биотоплива. Преимущество совместного культивирования микроводорослей и грибов заключается в том, что оба партнера участвуют в формировании общей биомассы и оказывают влияние на состав и уровень продукции липидов (Magdoui et al., 2016). В результате общая биомасса ассоциаций оказывается выше суммарной биомассы культивируемых отдельно грибов и водорослей. Этому направлению биотехнологии уделяется довольно большое внимание и имеется много экспериментов с положительными результатами. Состав и количество липидов и жирных кислот может существенно меняться в зависимости от штаммов водорослей и грибов и условий культивирования, и их изменением можно получить нужные соединения для производства биотоплива (Leng et al., 2021).

В лабораторных опытах с *Chlorella vulgaris* и *Rhodotorula glutinis* показано большее накопление ими биомассы при совместном росте, по сравнению с выращиванием по отдельности, при этом продукция липидов повышалась в 5 раз (Ashtiani et al., 2021). При культивировании *R. glutinis* с водорослью *Chlorella vulgaris* на промышленных отходах также наблюдалось увеличение биомассы и продукции липидов (Cheirsilp et al., 2011). Высокие показатели увеличения биомассы (на 128.1%) и продукции липидов (на 165.2%) по сравнению с полученными на отдельных культурах результатами были достигнуты при использовании ассоциации *Chlorella* sp./*Saccharomyces cerevisiae*. Более того, скорость

удаления CO_2 ассоциацией по сравнению с монокультурой *Chlorella* sp. возросла на 195% (Shu et al., 2013). При совместном культивировании *Rhodotorula glutinis* со *Spirulina platensis* продукция липидов увеличилась до $467 \text{ мг} \times \text{л}^{-1}$, что в 3.18 раза выше продукции, производимой отдельно дрожжами, и в 3.92 раза выше таковой у микроводоросли (Xue et al., 2010). При культивировании *Scenedesmus obliquus* и *Rhodotorula glutinis* также установлено значительное увеличение биомассы *Scenedesmus obliquus* и продукции липидов. Повышение накопления биомассы *S. obliquus* при совместном культивировании с *Candida tropicalis* наблюдали при соотношении численности клеток микроводоросли и дрожжей 2:1 (Wang et al., 2015). В случае консорциума *Mucor circinelloides* и *Chlorella vulgaris* повышались биомасса микроводорослей, содержание липидов, насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, нужные как источники биотоплива (Zorn et al., 2020). Показано, что из липидов, экстрагируемых из гранул *Scenedesmus obliquus* и *Candida echinulata*, можно производить топливо, соответствующее международным стандартам (Srinuanpan et al., 2018).

Очистка коммунальных и промышленных стоков

Использование водорослей на текущий момент является одним из лучших способов очистки стоков, т.к. они способны удалять углерод, азот и фосфор из загрязненной воды и снижают при этом концентрацию CO_2 в атмосфере. Они способны абсорбировать тяжелые металлы, поглощать токсические соединения из окружающей среды и утилизировать их различными путями (Takáčová et al., 2022). Технологии прудов с высокой концентрацией водорослей предлагают одну из возможностей очистки сточных вод и их используют для удаления неорганических веществ из сточных вод. Положительным аспектом такой очистки является то, что биомасса, полученная после очистки, может быть использована для производства биотоплива, причем количество и качество содержащихся липидов являются ключевыми факторами. Однако применяемые в настоящее время методы сбора водорослей обычной фильтрацией, химической флокуляцией и центрифугированием составляют 20–30% от общих затрат на производство биомассы водорослей (Vona et al., 2018). Как было показано выше, мицелиальные грибы могут образовывать гранулы с микроводорослями (флоккулы) и затем удаляться из сточных вод путем грубой фильтрации. Грибы являются продуцентами многих органических кислот, гидролитических и окислительных ферментов, кроме того, они способны абсорбировать ионы тяжелых металлов, утилизировать труднодоступные

другим организмам соединения. При ассоциированном росте грибов и водорослей может не только увеличиваться их биомасса в сравнении с отдельным выращиванием, но и повышается эффективность удаления азота, фосфора, углерода и токсичных соединений из сточных вод (Li et al., 2020; Šimonovicová et al., 2021).

Удаление соединений углерода, фосфора, азота

Показано, что при совместном культивировании *Chlorella vulgaris* и *Ganoderma lucidum* происходит более эффективное выведение фосфора и азота из сточных вод, чем при использовании отдельных культур (Zhou et al., 2012). Для достижения высокой концентрации биомассы, продукции липидов, белка, а также для удаления питательных веществ из сточных вод оптимальным оказалось соотношение *Chlorella pyrenoidosa*: *Rhodotorula glutinis* равное 3:1 (Li et al., 2019).

При совместном культивировании грибов и водорослей значительно усиливается удаление азота. NH_4^+ из сточных вод мог быть устранен со 100%-й эффективностью в течение одних суток (Salih, 2011). При совместном культивировании микроводорослей *Scenedesmus* sp. и дрожжей удалялось до 96% нитратов, 100% аммонийного азота и 93% ортофосфатов (Walls et al., 2019). Ассимиляции фосфора могут способствовать понижение pH и ферменты грибов, гидролизующие органические соединения фосфоров и растворяющие неорганические фосфаты (Zhang et al., 2020). Разработан метод совместного культивирования и флокуляции грибов *Aspergillus oryzae* с микроводорослями *Chlorella pyrenoidosa*, при котором достигается высокий уровень накопления биомассы и очистка крахмалсодержащих сточных вод. Одновременно с накоплением биомассы происходила очистка стоков от органических соединений на 92.08%, общего азота — на 83.56% и общего фосфора — на 96.58% (Wang et al., 2022).

Удаление ионов тяжелых металлов

В большинстве случаев сточные воды нуждаются в очистке от ионов тяжелых металлов. Грибы и водоросли, благодаря таким механизмам, как электростатические взаимодействия, ионный обмен, хелатирование/комплексообразование, синтез специальных белков, способны к связыванию и удалению из стоков металлов (Leng et al., 2021). Грибы образуют внеклеточные полимерные вещества (EPS), которые могут связывать ионы металлов, что играет важную роль в защите клеток микроводорослей. Показано, что совместные культуры микроводорослей и грибов значительно лучше абсорбируют

мышьяк и золото, чем отдельные культуры (Bodin et al., 2016; Shen, Chirwa, 2020). При применении *Synechocystis* sp. PCC6803 и *Aspergillus fumigatus* происходит иммобилизация Cd (II) и его снижение на 98% от исходного содержания в сточных водах (Shen et al., 2018).

Удаление стойких органических соединений

Данные последних исследований указывают на то, что удаление пестицидов и лекарств из сточных вод обычными методами происходит недостаточно эффективно. Для устранения этих вредных соединений из сточных вод применяют, например, достаточно дорогой метод озонирования и фильтрации через активированный уголь. В отличие от этих технологий, использование ассоциаций грибов и микроводорослей более эффективно в удалении таких органических поллютантов, как пестициды и фармакологические препараты (Hultberg et al., 2019). Они обладают механизмами биodeградации, биосорбции, адсорбции, а также, в случае водорослей, фотodeградации и фотоллиза этих поллютантов (Silva et al., 2019). Так, при культивировании *Chlorella vulgaris* с *Aspergillus niger* наблюдали не только высокий уровень накопления их биомассы, но и значительное снижение фосфора и диклофенака в сточной воде (Hultberg et al., 2019). Удаление из сточных вод некоторых пестицидов более чем на 50% также может быть осуществлено с помощью ассоциации *Chlorella vulgaris* с *Aspergillus niger*, что происходит за счет активности ферментов грибного ассоцианта (Hultberg, Bodin, 2018).

Продукция ценных метаболитов и пищевых добавок

Совместное культивирование микроводорослей с грибами перспективно не только для очистки сточных вод, но и получения продуктов для пищевой, косметической промышленности, производства кормов. Морские микроводоросли и диатомовые водоросли синтезируют в больших количествах полиненасыщенные жирные кислоты, среди которых наиболее важными являются эйкозапентаеновая кислота (ЭПК) и докозагексаеновая кислота (ДГК) (Ward, Singh, 2005). Однако до настоящего времени среди микроводорослей не найден продуцент, который продуцировал бы эти соединения в нужном соотношении. Культивирование микроводорослей с грибами представляет стратегию для решения этой проблемы. Двойные культуры, составленные из диатомовой водоросли *Phaeodactylum tricornutum* и грибоподобного протиста *Aurantiochytrium limacinum*, продуцировали ЭПК и ДГК

в оптимальных соотношениях (Kadalig et al., 2022). Обнаружено, что образование каротиноидов усиливается при совместном культивировании грибов и микроводорослей. Показано, что при культивировании *Chlorella vulgaris* с *Rhodotorula glutinis* накопление каротиноидов было выше, чем их продукция при раздельном выращивании (Zhang et al., 2019). Для получения кормовых и пищевых добавок более высокий уровень накопления биомассы микроводоросли установлен при культивировании *Pleurotus ostreatus* с *Chlorella* sp. (Luo et al., 2019).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ассоциированное культивирование грибов и микроводорослей – сравнительно новое направление исследований, которое имеет научное и прикладное значение. Грибные организмы – известные флоккулянты. Они способны, в первую очередь за счет ионных взаимодействий и полисахаридов, захватывать положительно заряженные клетки микроводорослей и формировать с ними агрегаты, которые можно легко отделить от жидкой среды традиционными биотехнологическими приемами. При совместном их выращивании можно достичь более высокого накопления биомассы, липидов и полиненасыщенных жирных кислот, каротиноидов и других ценных метаболитов. Способность грибов и микроводорослей удалять органические и неорганические соединения, тяжелые металлы, стойкие токсичные вещества из коммунальных и промышленных стоков также усиливается при совместном культивировании. Технологии с использованием ассоциаций “микроводоросли – грибы”, несмотря на эти достоинства, пока находятся на стадии разработки и требуются работы по их масштабированию. В фундаментальном плане и для промышленного производства важны дополнительные исследования метаболизма, ферментов, регуляции синтеза метаболитов, происходящих в клетках организмов. С помощью современных методов, применяемых в метаболомике, протеомике, можно сделать более точный выбор штаммов для совместного культивирования, выяснить механизмы взаимодействия микроводорослей и грибов, а также, возможно, и других микроорганизмов, в ассоциации.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета по науке МОНКС РА в рамках научного проекта № 21Т-2Н138.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Al-Juburi W.J., Khalil M.I., Al-Katib M.A. Synergistic efficiency between types of fungi and algae for wastewater

- treatment. J. Res. Appl. Sci. Biotechnol. 2022. V. 1 (4). P. 181–186.
<https://doi.org/10.55544/jrasb.1.4.26>
- Ashitani F.R., Jalili H., Rahaie M. et al. Effect of mixed culture of yeast and microalgae on acetyl-CoA carboxylase and Glycerol-3-phosphate acyltransferase expression. J. Biosci. Bioengin. 2021. V. 131. (4). P. 364–372.
<https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2020.11.006>
- Bodin H., Daneshvar A., Gros M. et al. Effects of biopellets composed of microalgae and fungi on pharmaceuticals present at environmentally relevant levels in water. Ecol. Engin. 2016. V. 91. P. 169–172.
<https://doi.org/10.1016/j.ecoleng.2016.02.007>
- Branyikova I., Prochazkova G., Potocar T. et al. Harvesting of microalgae by flocculation. Fermentation. 2018. V. 4 (4). Art. 93.
<https://doi.org/10.3390/fermentation4040093>
- Braun S., Vecht-Lifshitz S.E. Mycelial morphology and metabolite production. Trends Biotechnol. 1991. V. 9 (1). P. 63–68.
- Brenner K., You L., Arnold F.H. Engineering microbial consortia: a new frontier in synthetic biology. Trends. Biotechnol. 2008. V. 26 (9). P. 483–489.
<https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.05.004>
- Cheirsilp B., Suwannarat W., Niyomdecha R. Mixed culture of oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and microalga *Chlorella vulgaris* for lipid production from industrial wastes and its use as biodiesel feedstock. New Biotechnol. 2011. V. 28 (4). P. 362–368.
<https://doi.org/10.1016/j.nbt.2011.01.004>
- Chu R., Li S., Yin Z. et al. A fungal immobilization technique for efficient harvesting of oleaginous microalgae: key parameter optimization, mechanism exploration and spent medium recycling. Sci. Total Environ. 2021. V. 790. P. 148–174.
<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148174>
- Du Z.Y., Alvaro J., Hyden B. et al. Enhancing oil production and harvest by combining the marine alga *Nannochloropsis oceanica* and the oleaginous fungus *Mortierella elongata*. Biotechnol. for Biofuels. 2018. V. 11. P. 1–16.
<https://doi.org/10.1186/s13068-018-1172-2>
- Espinosa-Ortiz E.J., Rene E.R., Pakshirajan K. et al. Fungal pelleted reactors in wastewater treatment: applications and perspectives. Chem. Engin. J. 2016. V. 283. P. 553–571.
<https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.07.068>
- Grimm L.H., Kelly S., Hengstler J. et al. Kinetic studies on the aggregation of *Aspergillus niger* conidia. Biotechnol. Bioengin. 2004. V. 87 (2). P. 213–218.
<https://doi.org/10.1002/bit.20130>
- Gultom S.O., Zamalloa C., Hu B. Microalgae harvest through fungal pelletization – co-culture of *Chlorella vulgaris* and *Aspergillus niger*. Energies. 2014. V. 7 (7). P. 4417–4429.
<https://doi.org/10.3390/en7074417>
- Gultom S.O., Hu B. Review of microalgae harvesting via co-pelletization with filamentous fungus. Energies. 2013. V. 6 (11). P. 5921–5939.
<https://doi.org/10.3390/en6115921>
- Hultberg M., Bodin H. Effects of fungal-assisted algal harvesting through biopellet formation on pesticides in water. Biodegradation. 2018. V. 29. (6). P. 557–565.
<https://doi.org/10.1007/s10532-018-9852-y>
- Hultberg M., Bodin H., Birgersson G. Impact on wastewater quality of biopellets composed of *Chlorella vulgaris* and *Aspergillus niger* and lipid content in the harvested biomass. J. Water Resource Protect. 2019. V. 11 (7). P. 831–843.
<https://doi.org/10.4236/jwarp.2019.117050>
- Kadalag N., Pawar P., Prakash G. Co-cultivation of *Phaeodactylum tricornutum* and *Aurantiochytrium limacinum* for polyunsaturated omega-3 fatty acids production. Bioresource Technol. 2022. V. 346. Art. 126544.
- Kitcha S., Cheirsilp B. Enhanced lipid production by co-cultivation and co-encapsulation of oleaginous yeast *Trichosporonoides spathulata* with microalgae in alginate gel beads. Appl. Biochem. Biotechnol. 2014. V. 173. P. 522–534.
<https://doi.org/10.1007/s12010-014-0859-5>
- Kumar N., Banerjee C., Negi S. et al. Microalgae harvesting techniques: updates and recent technological interventions. Critical Rev. Biotechnol. 2023. V. 43 (3). P. 342–368.
<https://doi.org/10.1080/07388551.2022.2031089>
- Lal A., Banerjee S., Das D. *Aspergillus* sp. assisted bioflocculation of *Chlorella* MJ 11/11 for the production of biofuel from the algal-fungal co-pellet. Separation and Purification Technol. 2021. V. 272. Art. 118320.
<https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118320>
- Leng L., Wenting L., Jie C. et al. Co-culture of fungi-microalgae consortium for wastewater treatment: A review. Bioresource Technol. 2021. V. 330 Art. 125008
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2021.125008>
- Lennen R.M., Pfleger B.F. Microbial production of fatty acid-derived fuels and chemicals. Current Opin. Biotechnol. 2013. V. 24 (6). P. 1044–1053.
<https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.02.028>
- Li H., Yuming Z., Qian L. et al. Co-cultivation of *Rhodotorula glutinis* and *Chlorella pyrenoidosa* to improve nutrient removal and protein content by their synergistic relationship. RSC Adv. 2019. V. 9 (25). P. 14331–14342.
<https://doi.org/10.1039/C9RA01884K>
- Li S., Tianyi H., Yanzhe X. et al. A review on flocculation as an efficient method to harvest energy microalgae: mechanisms, performances, influencing factors and perspectives. Renewable and Sustainable Energy Reviews. 2020. V. 131. P. 110005.
<https://doi.org/10.1016/j.rser.2020.110005>
- Luo S., Wu X., Jiang H. et al. Edible fungi-assisted harvesting system for efficient microalgae bio-flocculation. Bioresource Technol. 2019. V. 282. P. 325–330.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2019.03.033>
- Magdouli S., Brar S.K., Blais J.F. Co-culture for lipid production: advances and challenges. Biomass and Bioenergy. 2016. V. 92. P. 20–30.
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2016.06.003>

- Miranda A.F., Ramkumar N., Andriotis C. et al. Applications of microalgal biofilms for wastewater treatment and bio-energy production. *Biotechnol. for Biofuels*. 2017. V. 10. P. 1–23.
<https://doi.org/10.1186/s13068-017-0798-9>
- Muradov N., Mohamed T., Miranda A.F. et al. Fungal-assisted algal flocculation: application in wastewater treatment and biofuel production. *Biotechnol. for Biofuels*. 2015. V. 8. P. 1–23.
<https://doi.org/10.1186/s13068-015-0210-6>
- Nayak M., Suh W., Lee B. et al. Enhanced carbon utilization efficiency and FAME production of *Chlorella* sp. HS2 through combined supplementation of bicarbonate and carbon dioxide. *Energy Convers. Manag.* 2018. V. 156. P. 45–52.
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2017.11.002>
- Papagianni M. Fungal morphology and metabolite production in submerged mycelial processes. *Biotechnol. Adv.* 2004. V. 22 (3). P. 189–259.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2003.09.005>
- Piercey-Normore M.D., Athukorala S.N. Interface between fungi and green algae in lichen associations. *Botany*. 2017. V. 95 (10). P. 1005–1014.
<https://doi.org/10.1139/cjb-2017-0037>
- Prajapati S.K., Bhattacharya A., Kumar P. et al. A method for simultaneous bioflocculation and pretreatment of algal biomass targeting improved methane production. *Green Chem.* 2016. V. 18 (19). P. 5230–5238.
<https://doi.org/10.1039/c6gc01483f>
- Rajendran A., Fox T., Hu B. Nutrient recovery from ethanol co-products by a novel mycoalgae biofilm: attached cultures of symbiotic fungi and algae. *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 2017. V. 92 (7). P. 1766–1776.
<https://doi.org/10.1002/jctb.5177>
- Rashid N., Ryu A.J., Jeong K.J. et al. Co-cultivation of two freshwater microalgae species to improve biomass productivity and biodiesel production. *Energy Convers. Manag.* 2019. V. 196. P. 640–648.
<https://doi.org/10.1016/j.enconman.2019.05.106>
- Salbitani G., Belinesi F., Affuso M. et al. Rapid and positive effect of bicarbonate addition on growth and photosynthetic efficiency of the green microalgae *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Applied Sciences*. 2020. V. 10 (13). Art. 4515.
<https://doi.org/10.3390/app10134515>
- Salih F.M. Microalgae tolerance to high concentrations of carbon dioxide: a review. *J. Environm. Protection*. 2011. V. 2 (5). Art. 648.
<https://doi.org/10.4236/jep.2011.25074>
- Santos C.A., Caldeira M., da Silva T.L. et al. Enhanced lipidic algae biomass production using gas transfer from a fermentative *Rhodospiridium toruloides* culture to an autotrophic *Chlorella protothecoides* culture. *Bioresource Technol.* 2013. V. 138. P. 48–54.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.135>
- Shen L., Li Z., Wang J. et al. Characterization of extracellular polysaccharide/protein contents during the adsorption of Cd (II) by *Synechocystis* sp. PCC6803. *Environm. Sci. Pollut. Res.* 2018. V. 25. P. 20713–20722.
<https://doi.org/10.1016/j.gexplo>
- Shen N., Chirwa E.M. Live and lyophilized fungi-algae pellets as novel biosorbents for gold recovery: Critical parameters, isotherm, kinetics and regeneration studies. *Bioresource Technol.* 2020. V. 306. Art. 123041.
<https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123041>
- Shu C.H., Tsai C.C., Chen K.Y. et al. Enhancing high quality oil accumulation and carbon dioxide fixation by a mixed culture of *Chlorella* sp. and *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Taiwan Instit. Chem. Engineers*. 2013. V. 44 (6). P. 936–942.
<https://doi.org/10.1016/j.jtice.2013.04.001>
- Silva A., Delerue-Matos C., Figueiredo S.A. et al. The use of algae and fungi for removal of pharmaceuticals by bioremediation and biosorption processes: a review. *Water*. 2019. V. 11 (8). Art. 1555.
<https://doi.org/10.3390/w11081555>
- Šimonovicová A., Takáčová A., Šimkovic I. et al. Experimental treatment of hazardous ash waste by microbial consortium *Aspergillus niger* and *Chlorella* sp.: decrease of the Ni content and identification of adsorption sites by Fourier-transform infrared spectroscopy. *Front. Microbiol.* 2021. V. 12. Art. 792987.
<https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.792987>
- Slusarczyk J., Adamska E., Czerwik-Marcinkowska J. Fungi and algae as sources of medicinal and other biologically active compounds: a review. *Nutrients*. 2021. V. 13. Art. 3178.
<https://doi.org/10.3390/nu13093178>
- Smirnov I.A., Lobakova E.S. Morphophysiological characteristics of a mixed culture of *Pleurotus ostreatus* and nitrogen-fixing cyanobacterium *Anabaena variabilis*. In: Proceedings of the jubilee conference dedicated to the 100th M.V. Gorlenko anniversary “Higher basidiomycetes: individuals, populations, communities”. Vostok-Zapad, Moscow, 2008, pp. 198–199. (In Russ.).
- Srinuanpan S., Chawpraknoi A., Chantarit S. et al. A rapid method for harvesting and immobilization of oleaginous microalgae using pellet-forming filamentous fungi and the application in phytoremediation of secondary effluent. *Int. J. Phytoremediation*. 2018. V. 20 (10). P. 1017–1024.
<https://doi.org/10.1080/15226514.2018.1452187>
- Szotkowski M., Holub J., Šimanský S. et al. Bioreactor co-cultivation of high lipid and carotenoid producing yeast *Rhodotorula kratochvilovae* and several microalgae under stress. *Microorganisms*. 2021. V. 9 (6). P. 1160.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms9061160>
- Takáčová A., Bajuszová M., Šimonovicová A. et al. Biocoagulation of dried algae *Chlorella* sp. and pellets of *Aspergillus niger* in decontamination process of wastewater, as a presumed source of biofuel. *J. Fungi*. 2022. V. 8 (12). Art. 1282.
<https://doi.org/10.3390/jof8121282>
- Vona V., Di Martino Rigano V., Andreoli C. et al. Comparative analysis of photosynthetic and respiratory parameters in

- the psychrophilic unicellular green alga *Koliella antarctica*, cultured in indoor and outdoor photo-bioreactors. *Physiol. Molec. Biol. Plants*. 2018. V. 24. P. 1139–1146.
- Walls L.E., Velasquez-Orta S.B., Romero-Frasca E. et al. Non-sterile heterotrophic cultivation of native wastewater yeast and microalgae for integrated municipal wastewater treatment and bioethanol production. *Biochem. Engin. J.* 2019. V. 151. Art. 107319. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2019.107319>
- Wang S.K., Yang K.X., Zhu Y.R. et al. One-step co-cultivation and flocculation of microalgae with filamentous fungi to valorize starch wastewater into high-value biomass. *Bioresource Technol.* 2022. V. 361. Art. 127625. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2022.127625>
- Wang Y., Yang Y., Ma F. et al. Optimization of *Chlorella vulgaris* and bioflocculant-producing bacteria co-culture: enhancing microalgae harvesting and lipid content. *Lett. Appl. Microbiol.* 2015. V. 60. (5). P. 497–503. <https://doi.org/10.1111/lam.12403>
- Wang J., Chen R., Fan L. et al. Construction of fungi-microalgae symbiotic system and adsorption study of heavy metal ions. *Separation Purification Technol.* 2021. V. 268. Art. 118689. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2021.118689>
- Ward O., Singh A. Omega-3/6 fatty acids: alternative sources of production. *Process Biochem.* 2005. V. 40 (12). P. 3627–3652. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2005.02.020>
- Wrede D., Taha M., Miranda A.F. et al. Co-cultivation of fungal and microalgal cells as an efficient system for harvesting microalgal cells, lipid production and wastewater treatment. *PLOS One*. 2014. V. 9 (11). e113497. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0113497>
- Xie S., Su S., Dai S.Y. et al. Efficient coagulation of microalgae in cultures with filamentous fungi. *Algal Res.* 2013. V. 2 (1). P. 28–33. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2012.11.004>
- Xue F., Miao J., Zhang X. et al. A new strategy for lipid production by mix cultivation of *Spirulina platensis* and *Rhodotorula glutinis*. *Appl. Biochem. Biotech.* 2010. V. 160. P. 498–503. <https://doi.org/10.1007/s12010-008-8376-z>
- Yang L., Li H., Wang Q. A novel one-step method for oil-rich biomass production and harvesting by co-cultivating microalgae with filamentous fungi in molasses wastewater. *Bioresource Technol.* 2019. V. 275. P. 35–43. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.036>
- Yen H.W., Chen P.W., Chen L.J. The synergistic effects for the co-cultivation of oleaginous yeast-*Rhodotorula glutinis* and microalgae-*Scenedesmus obliquus* on the biomass and total lipids accumulation. *Bioresource Technol.* 2015. V. 184. P. 148–152. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2014.09.113>
- Zhan J., Rong J., Wang Q. Mixotrophic cultivation, a preferable microalgae cultivation mode for biomass/bioenergy production, and bioremediation, advances and prospect. *Int. J. Hydrogen Energy*. 2017. V. 42 (12). P. 8505–8517. <https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2016.12.021>
- Zhang J., Zhang J. The filamentous fungal pellet and forces driving its formation. *Crit. Rev. Biotechnol.* 2016. V. 36 (6). P. 1066–1077. <https://doi.org/10.3109/07388551.2015.1084262>
- Zhang J., Feng L., Ouyang Y. et al. Phosphate-solubilizing bacteria and fungi in relation to phosphorus availability under different land uses for some latosols from Guangdong, China. *Catena*. 2020. V. 195. Art. 104686. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104686>
- Zhang Z., Pang Z., Xu S. et al. Improved carotenoid productivity and COD removal efficiency by co-culture of *Rhodotorula glutinis* and *Chlorella vulgaris* using starch wastewaters as raw material. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2019. V. 189. P. 193–205.
- Zhou W., Cheng Y., Li Y. et al. Novel fungal pelletization-assisted technology for algae harvesting and wastewater treatment. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2012. V. 167. P. 214–228. <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9667-y>
- Zorn S.M., Reis C.E., Silva M.B. et al. Consortium growth of filamentous fungi and microalgae: evaluation of different cultivation strategies to optimize cell harvesting and lipid accumulation. *Energies*. 2020. V. 13. (14). Art. 3648. <https://doi.org/10.3390/en13143648>
- Смирнов И.А., Лобакова Е.С. (Smirnov, Lobakova) Морфофизиологическая характеристика смешанной культуры *Pleurotus ostreatus* и азотофиксирующей цианобактерии *Anabaena variabilis* // Мат-лы юбилейной конф., посв. 100-летию со дня рожд. М.В. Горленко “Высшие базидиальные грибы: индивидуумы, популяции, сообщества”. М.: Восток-Запад, 2008. С. 198–199.

Co-Cultivation of Fungi and Microalgae for Biotechnology

**N. A. Oghanesyan^{a,#}, A. V. Kurakov^{b,##}, N. V. Khachaturyan^{a,###}, S. A. Gevorgyan^{a,####},
R. E. Matevosyan^{c,#####}, and V. A. Bagiyan^{a,#####}**

^a *Scientific and Production Center "Armbiotechnology" of the National Academy of Sciences of Armenia, Yerevan, Armenia*

^b *Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia*

^c *Yerevan State University, Yerevan, Armenia*

[#] *e-mail: nelliog@yahoo.fr*

^{##} *e-mail: kurakov57@mail.ru*

^{###} *e-mail: nun-khach@yandex.ru*

^{####} *e-mail: sgevork@yahoo.com*

^{#####} *e-mail: matevosyanruzanna@ysu.am*

^{#####} *e-mail: valbeg@mail.ru*

The review examines the results of studies of the last decade on the co-cultivation of fungi and microalgae. It outlines the mechanisms of interaction between fungi and microscopic algae during associative cultivation and briefly discusses the methods for the formation of flocs. Key importance for biotechnology is the ability of fungi and algae to form granules (flocules), which are easy to separate from the culture liquid. The synergistic effect of these relationships results in a higher level of biomass accumulation, synthesis of lipids, polyunsaturated fatty acids, and other metabolites, as well as the removal of various pollutants from wastewater. By selecting specific strains and optimizing cultivation conditions, it is possible to enhance the composition of the resulting products. So far, mostly successful laboratory experiments have been carried out in this direction, which need to be expanded and transferred to production projects. For large-scale application of these systems, it is necessary to continue research into the mechanisms of interaction between fungi and microalgae, their metabolism, regulation of biosynthetic processes using modern methods of metabolomics and proteomics, and to develop engineering solutions for their cultivation.

Keywords: aggregates, co-cultivation, fatty acid, flocules, fungi, interaction, lipids, microalgae, wastewater treatment