

УДК 582.273:594.124:577.1

**ВЛИЯНИЕ ЭКЗОМЕТАБОЛИТОВ МОЛЛЮСКА *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS*
НА СОДЕРЖАНИЕ R-ФИКОЭРИТРИНА
В КРАСНОЙ ВОДОРОСЛИ *GELIDIUM SPINOSUM*
ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ В ПОЛИКУЛЬТУРЕ**

© 2020 г. Б. Н. Беляев, Н. М. Береговая¹

¹Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: belyaevbob@yandex.ru

Поступила в редакцию 10.10.2019; после доработки 14.11.2019;
принята к публикации 26.06.2020; опубликована онлайн 30.06.2020.

Приведены результаты исследований культивирования красной черноморской водоросли *Gelidium spinosum* (S. G. Gmelin) P. C. Silva, 1996 (Rhodophyta) в лабораторных условиях в поликультуре микроводоросль *Tetraselmis viridis* — мидия *Mytilus galloprovincialis* — гелидиум с целью повышения концентрации R-фикоэритрина в последнем. Описано положительное влияние экзосметаболитов мидий на концентрацию R-фикоэритрина в гелидиуме в поликультуре. Актуальность работы определяется ценностью фикоэритрина, который используют как мощный антиоксидант, а также как метчик в цитометрии и микроскопии. Цель исследования — увеличить концентрацию R-фикоэритрина в гелидиуме с применением метода поликультуры. В качестве материала использовали гелидиум из обрастания скал и берегоукрепительных сооружений в районе бухты Карантинная (г. Севастополь); его культивировали в лабораторной установке с восемью рабочими объёмами, в четырёх из которых содержали мидий. Деконтат мидий, дополненный минеральными солями и биогенами, использовали как питательную среду для гелидиума. Сочетание экзосметаболитов мидий с разработанной ранее питательной средой на основе черноморской воды, обогащённой биогенами и минеральными солями, приводит к увеличению содержания R-фикоэритрина более чем вдвое, в то время как внесение экзосметаболитов в чистую профильтрованную черноморскую воду повышает его максимум на 35 %. Ориентировочные весовые соотношения элементов поликультуры в 1,5-литровых объёмах, позволяющие достичь желаемого результата уже через две недели, — это 2 г гелидиума / 50–60 г двухлетних мидий / 0,4–0,6 г сырого веса микроводорослей.

Ключевые слова: культивирование, поликультура, микроводоросли, моллюски, макрофиты, питательная среда

Черноморский гелидиум *Gelidium spinosum* (S. G. Gmelin) P. C. Silva, 1996 является ценным сырьевым источником особо качественного агара и R-фикоэритрина — пигмента-фикобилипротеина, который широко используется в иммунной диагностике, микроскопии и цитометрии [13]. Водоросли, содержащие агар и R-фикоэритрин, — объект культивирования во многих странах Азиатско-Тихоокеанского региона [9 ; 14], при этом стоимость 1 г очищенного R-фикоэритрина достигает 3250–14000 долларов [12].

Нами в предыдущие годы проведены работы по определению оптимальных условий для роста гелидиума и накопления в нём R-фикоэритрина — концентраций минеральных солей и биогенов, светового и температурного режимов, насыщения углекислым газом питательной среды, а также скорости её протока и циркуляции [2].

Известно, что в природных условиях гелидиум часто встречается как эпибионт моллюсков-фильтраторов. Такой симбиоз вызван положительным влиянием экзометаболитов моллюсков на рост макрофита, в связи с чем получило развитие выращивание гидробионтов в поликультуре [7 ; 14].

Ранее нами получены результаты, указывающие на благоприятное воздействие экзометаболитов анадары *Anadara kagoshimensis*, голодающей в чистой черноморской воде в течение 15 суток, на рост гелидиума и содержание в нём R-фикоэритрина. При возрастании биомассы гелидиума на 11,6 % содержание R-фикоэритрина по сравнению с контролем увеличилось на 40 % [4].

Цель работы — повысить концентрацию R-фикоэритрина при культивировании гелидиума в поликультуре. Для этого поставлена следующая задача: определить оптимальное соотношение элементов поликультуры микроводоросль — мидия — макрофит.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве материала использовали *Gelidium spinosum* из обрастаний скал и берегоукрепительных сооружений в районе севастопольских бухт Мартынова и Карантинная, который культивировали в лабораторной установке с восемью рабочими объёмами [1] при температуре в диапазоне +15...+27 °С и освещённости 10–25 клк в режиме 18 ч день : 6 ч ночь. Питательную среду готовили на основе фильтрованной черноморской воды с повышением её солёности до 26 ‰ и добавлением азота, фосфора, железа, магния и марганца [3]. Мидий (*Mytilus galloprovincialis* Lamarck, 1819) размером 45–50 мм снимали с коллекторов фермы, расположенной южнее входа в бух. Севастопольская, напротив радиобиологического корпуса ФИЦ ИнБЮМ. Микроводоросли культивировали отдельно в плоском культиваторе.

Четыре из восьми рабочих объёмов установки с правонаклонным дном были модернизированы под содержание мидий — перегородены левонаклонными перфорированными полками для посадки от двух до шести особей со средним весом 9,5–11,5 г. Постоянный барботаж объёмов установки воздухом регулировали так, чтобы фекалии моллюсков не взмучивались и оставались в заглубленной части дна.

Мидий от одного-двух раз в сутки до одного раза в двое суток кормили взвесью культуры *Tetraselmis viridis* (Rouchi ja jnen) R. E. Norris, Hori & Chihara, 1980 из музея отдела биотехнологий и фиторесурсов ФИЦ ИнБЮМ плотностью 12–17 мг сырого веса микроводорослей на 1 мл в пределах 5–35 мл на один объём. Содержимое объёмов с мидиями один раз в двое суток полностью сливали в предварительно осушенные ёмкости с гелидиумом, куда добавляли набор минералов и биогенов [2]. Измерения концентрации R-фикоэритрина в гелидиуме проводили по стандартной методике [10] один раз в неделю и в конце эксперимента. Исходный вес макрофита составлял $(2,00 \pm 0,05)$ г в каждом рабочем объёме. Для измерений использовали весы Sartorius L 220 S.

Исследования проводили в осенние и зимние периоды. В первом эксперименте в сосуды с гелидиумом сливали деконтат из объёмов с мидиями (по 4 экземпляра в каждом), которых содержали в чистой профильтрованной морской воде, доведённой до солёности 26 ‰, и кормили микроводорослью *Tetraselmis viridis*. Таким образом, питанием для гелидиума, без минерализации среды, как и в эксперименте с анадарой [4], служили исключительно метаболиты мидий.

Во втором эксперименте слитый деконтат насыщали компонентами разработанной ранее питательной среды: азотом ($8,54 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ в виде KNO_3); фосфором ($1,77 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ в виде KH_2PO_4); железом ($1,39 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ в виде $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ в сочетании с 17 мг $\text{Na}_2\text{ЭДТА}$ на 1 г соли); марганцем ($0,55 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ в виде $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$); магнием ($120 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$ в виде $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) [2]. В каждый из четырёх модернизированных объёмов установки помещали по 4 мидии со средним весом 9,5–11,5 г, а в четыре других объёма — по $(2 \pm 0,05)$ г гелидиума. Мидий кормили микроводорослью — 5–20 мл суспензии в сутки.

Первые два эксперимента проводили в соответствии с нашим патентом [3] с элементом недельного «дозревания» гелидиума для повышения концентрации R-фикоэритрина. В третьем эксперименте из-за еженедельного измерения концентрации пигмента этот элемент был исключён.

В третьем эксперименте, как и во втором, гелидиум выращивали на деконтате мидий с добавлением минералов и биогенов. Для выявления динамики накопления пигмента в гелидиуме и определения оптимального весового соотношения элементов поликультуры в ёмкостях содержали разное количество мидий (3; 4; 5 особей с суммарным начальным весом 33,4; 41,4; 57 г) и кормили их взвесью *Tetraselmis viridis* в количестве 15; 25; 35 мл соответственно. Плотность культуры микроводоросли составляла 17 мг сырой массы на 1 мл и поддерживалась постоянной на протяжении всего эксперимента. В двух контрольных рабочих объёмах (№ 1 и 5) гелидиум культивировали на упомянутой выше среде [2] без добавления метаболитов, насыщая её только минералами и биогенами. Концентрацию R-фикоэритрина определяли после двух, трёх и четырёх недель культивирования.

Особенность третьего эксперимента заключалась в том, что гелидиум культивировали в пяти объёмах (№ 1–5) при равных исходных массах 2 г. В трёх из них (№ 2–4) количество поступающих метаболитов последовательно возрастало как за счёт разного числа особей мидий (3; 4; 5) из объёмов № 6–8, так и за счёт увеличения их рациона (5; 6,25; 7 мл культуры на особь).

Результаты первых двух экспериментов представлены в табл. 1 и 2, третьего — в табл. 3 и на рис. 1.

Таблица 1. Содержание R-фикоэритрина в гелидиуме, выращенном на экзометаболитах черноморских мидий с разными рационами питания микроводорослью

Table 1. R-phycoerythrin concentration in *Gelidium* grown on exometabolites of Black Sea mussels with different microalga diet

№ опыта	Объём культуры <i>Tetraselmis viridis</i> плотностью 12 мг сырого веса на 1 мл	Концентрация R-фикоэритрина, мг·г ⁻¹
Контроль	0	5,8 ± 0,5
1	10	6,4 ± 0,9
2	15	5,6 ± 0,4
3	20	7,9 ± 0,8

Из табл. 1 видно, что в поликультуре микроводоросль *Tetraselmis viridis* — мидия *Mytilus galloprovincialis* — макрофит *Gelidium spinosum* при кормлении экзометаболитами мидий концентрация R-фикоэритрина в гелидиуме возрастала в диапазоне 10–35 % (если результат опыта № 2 посчитать артефактом). Последняя цифра близка к результатам, полученным в эксперименте с анадарой [4].

Таблица 2. Содержание R-фикоэритрина в гелидиуме, выращенном на экзометаболитах мидий с добавлением в питательную среду биогенов и минеральных солей

Table 2. R-phycoerythrin concentration in *Gelidium* grown on mussel exometabolites with the addition of nutrients and mineral salts into the culture medium

№ опыта	Объём культуры <i>Tetraselmis viridis</i> плотностью 12 мг сырого веса на 1 мл	Концентрация R-фикоэритрина, мг·г ⁻¹
Контроль	0	7,9 ± 0,8
1	5	16,1 ± 1,5
2	10	20,3 ± 4,4
3	15	18,3 ± 2,2
4	20	28,8 ± 4,5

В табл. 2 представлены результаты эксперимента, в котором в рабочие объёмы с гелидиумом из объёмов с мидиями полностью сливали деконтат и обогащали его набором биогенов и микро-элементов. Испытаны четыре варианта рациона кормления мидий; максимальный (20 мл на объём) способствовал возрастанию концентрации R-фикоэритрина в гелидиуме более чем в три раза.

Результаты динамики весового роста и концентрации пигмента в третьем эксперименте представлены в табл. 3, а накопления R-фикоэритрина — на рис. 1.

Таблица 3. Динамика весового роста и концентрации R-фикоэритрина в талломах гелидиума при разном количестве особей мидий в поликультуре

Table 3. Dynamics of weight growth and R-phycoerythrin concentration in *Gelidium* thalli at different number of mussels in the polyculture

№ объёма	Кол-во мидий	V _{мв} , мл	Вес гелидиума, г / Содержание R-фикоэритрина, мг·г ⁻¹			
			30.01.2019	11.02.2019*	18.02.2019*	25.02.2019*
1; 5	0	0	2,0 / 6,9 ± 2,3	2,90 / 8,0 ± 2,3	3,00 / 9,6 ± 1,6	3,20 / 11,1 ± 1,2
2	3	15	2,0 / 6,9 ± 2,3	3,00 / 11,4 ± 2,4	2,55 / 8,7 ± 0,9	3,00 / 12,3 ± 1,2
3	4	25	2,0 / 6,9 ± 2,3	3,25 / 12,4 ± 1,8	3,10 / 10,6 ± 0,8	3,22 / 13,6 ± 0,9
4	5	35	2,0 / 6,9 ± 2,3	3,05 / 14,4 ± 1,4	2,85 / 14,9 ± 1,7	3,30 / 14,4 ± 0,1

Примечания: в отмеченные астериском (*) даты отбирали пробы на измерение R-фикоэритрина и возвращали вес гелидиума к W₀ = 2 г; V_{мв} — объём суспензии микроводоросли.

Note: at the dates marked with an asterisk (*), samples were taken to measure R-phycoerythrin, and *Gelidium* weight was returned to W₀ = 2 g; V_{мв} indicates volume of microalga suspension.

Результаты 4-недельного эксперимента показывают, что на 12-й день культивирования в вариантах с добавлением метаболитов из объёмов с 3, 4 и 5 мидиями накопление R-фикоэритрина превышает исходную контрольную величину на 50–100 %, а в ёмкостях без добавления метаболитов (объёмы № 1 и 5) — лишь на 16 %.

В конце третьей недели культивирования налицо значительное снижение концентрации пигмента в гелидиуме из объёма № 2, в который сливали деконтат из объёма с 3 мидиями. Это на 24 % ниже предыдущего результата и на 29 % — конечного. Поскольку минералами и биогенами водоросли во всех объёмах были снабжены одинаково, причиной могло стать изменение физиологического состояния как минимум одной из трёх особей мидий, которое мы в своих экспериментах не отслеживали.

Данный результат можно считать артефактом, так как в этом объёме ничего, отличающего его от остальных, обнаружено не было. В других наших экспериментах случались выбросы половых продуктов мидий (такие варианты могут быть предлогом для отдельных исследований их влияния на содержание R-фикоэритрина в гелидиуме).

По результатам четырёх недель культивирования отмечено следующее: уровни содержания пигмента в гелидиуме из рабочих объёмов № 2–4 выстроились по возрастающей прямо пропорционально предполагаемому увеличению количества экзометаболитов от 3, 4 и 5 мидий. Если уровень фикоэритрина в гелидиуме, культивируемом по уже известной методике [3] в объёмах № 1 и 5, принять за 100 %, можно заключить, что прибавки от использования экзометаболитов мидий составили 11, 12 и 30 % соответственно.

Максимальное содержание R-фикоэритрина, полученное во втором эксперименте (табл. 2), было вдвое выше, чем максимальное значение концентрации пигмента в третьем эксперименте (табл. 3). Это объясняется тем, что в последнем случае мы взяли водоросли на измерения непосредственно после окончания эксперимента и не использовали приём «дозревания», при котором в темноте и при пониженной температуре ликвидируется отставание накопления R-фикоэритрина в быстро растущей биомассе [3]. В данном случае удельная скорость весового роста биомассы была довольно высокой: биомасса удваивалась менее чем за 10 суток.

Изменение концентрации R-фикоэритрина в гелидиуме при разном количестве особей мидий в поликультуре наглядно представлено на рис. 1. Уже через две недели культивирования при питании макрофита экзометаболитами пяти мидий наблюдали возрастание содержания R-фикоэритрина вдвое. После четырёх недель культивирования разница с контролем снижалась и составляла примерно 25 %. Экзометаболиты трёх и четырёх мидий также вызывали возрастание концентрации пигмента через две недели культивирования — на 30 и 40 %.

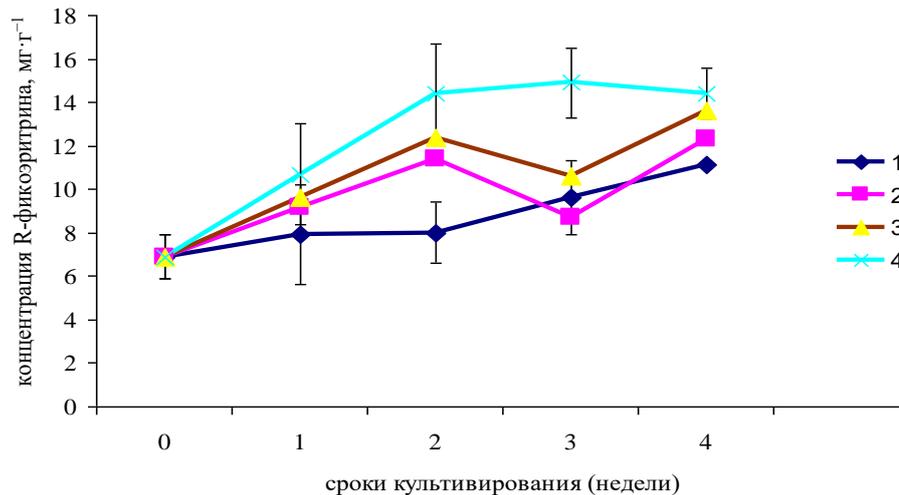


Рис. 1. Динамика концентрации R-фикоэритрина в гелидиуме при разном количестве особей мидий в поликультуре (1 — контроль; 2 — 3 мидии; 3 — 4 мидии; 4 — 5 мидий)

Fig. 1. Dynamics of R-phycoerythrin concentration in *Gelidium* with different number of mussels in the polyculture (1 – control; 2 – 3 mussels; 3 – 4 mussels; 4 – 5 mussels)

Средние результаты прироста гелидиума в объёмах № 2–4 за последние две недели третьего эксперимента — 1 г за неделю. Таким образом, система, включающая культиватор микроводоросли *Tetraselmis viridis* производительностью 600 мг сырого веса в сутки, 1,5-литровый объём для содержания пяти мидий общим весом 60 г и 1,5-литровый культиватор гелидиума, за семь суток вполне может выработать 14,4 мг R-фикоэритрина.

Из литературы известно о преимуществах культивирования макрофитов в поликультуре перед культивированием в монокультуре. Так, они накапливают бóльшую биомассу и большее количество белка [8 ; 14], а качество агара у грациллирии улучшается за счёт создания оптимального режима её питания в результате выделения экзометаболитов беспозвоночными [7].

Макроводоросли могут извлечь из воды до 60 % соединений азота, в том числе до 95 % аммония [14]. Мидии же, как известно, выделяют в среду аммонийный азот [5]. Хромофорная группа пигмента (фикобилин) ковалентно связана с водорастворимым белком типа глобулина [13], на построение которого необходим азот. Кроме того, фикобилипротеины принято считать «депо» белка в клетках водорослей. Они разрушаются в первую очередь при азотном голодании [6 ; 11]. Между тем вполне возможно, что на уровень содержания R-фикоэритрина влияет не только при-внесение азота, но и форма его соединения, однако, согласно предыдущим исследованиям, среда для культивирования содержала достаточное количество азота [3]. Вероятно, в данном случае влияют другие взаимодействия (например, на уровне гормональной регуляции). Таким образом, использование метаболитов, в том числе в поликультуре, создаёт принципиально новый путь регуляции природных процессов [8].

Закключение. Выявлено положительное влияние экзометаболитов мидии на синтез R-фикоэритрина в поликультуре микроводоросль *Tetraselmis viridis* — мидия *Mytilus galloprovincialis* — макрофит *Gelidium spinosum*. Внесение экзометаболитов моллюсков в чистую профильтрованную

морскую воду обеспечивает повышение концентрации R-фикоэритрина в гелидиуме на 10–35 %, а добавление экзометаболитов в сочетании со стандартной питательной средой приводит к увеличению содержания R-фикоэритрина более чем в 2 раза. Ориентировочные весовые соотношения элементов поликультуры в 1,5-литровых рабочих объёмах, позволяющие достичь желаемого результата уже через 2 недели: 2 г гелидиума / 50–60 г двухлетних мидий / 0,4–0,6 г сырого веса микроводорослей.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ гос. регистрации АААА-А18-118021350003-6).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Беляев Б. Н. Техническое обеспечение культивирования макрофитов // *Рыбное хозяйство Украины*. 2001. № 5. С. 21–24. [Belyaev B. N. Tekhnicheskoe obespechenie kul'tivirovaniya makrofitov. *Rybnoe khozyaistvo Ukrainy*, 2001, no. 5, pp. 21–24. (in Russ.)]
2. Беляев Б. Н., Береговая Н. М. Влияние состава культуральной среды на количество агара, пигментов и рост черноморского *Gelidium spinosum* // *Морской биологический журнал*. 2016. Т. 1, № 4. С. 3–11. [Belyaev B. N., Beregovaya N. M. The influence of culture medium on the quantity of agar, pigments, and growth of *Gelidium spinosum* from the Black Sea. *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2016, vol. 1, no. 4, pp. 3–11. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2016.01.4.01>
3. Беляев Б. Н., Береговая Н. М. Способ культивирования черноморской красной водоросли *Gelidium spinosum* (Grev.) Born. et Thur (Rhodophyta). Патент RU 2691579 С2 МК C12N 1/12 A01G 33/00. Заявлен ФГБУН ИМБИ им. А. О. Ковалевского 09.11.2017 № 2017139062. Опубликовано 14.06.2019. Бюл. № 14. [Belyaev B. N., Beregovaya N. M. *Sposob kul'tivirovaniya chernomorskoj krasnoi vodorosli Gelidium spinosum* (Grev.) Born. et Thur (Rhodophyta). Patent RU 2691579 С2 МК C12N 1/12 A01G 33/00. Zayavlen FGBUN IMBI im. A. O. Kovalevskogo 09.11.2017, no. 2017139062. Opublikovan 14.06.2019. Bul. no. 14. (in Russ.)]
4. Бородина А. В., Береговая Н. М., Беляев Б. Н. Влияние экзометаболитов моллюсков *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) на макрофиты *Gelidium* sp. // *Science, technology and life – 2014* : International scientific conference, Czech Republic, Karlovy Vary, 27–28 Dec., 2014. [Karlovy Vary], 2014. С. 66–71. [Borodina A. V., Belyaev B. N., Beregovaya N. M. Vliyanie ekzometabolitov mollyuskov *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) na makrofity *Gelidium* sp. *Science, technology and life – 2014* : International scientific conference, Czech Republic, Karlovy Vary, 27–28 Dec., 2014. [Karlovy Vary], 2014, pp. 66–71. (in Russ.)]
5. Вялова О. Ю. Особенности энергетического и азотистого метаболизма неполовозрелых мидий *Mytilus galloprovincialis* Lam. в условиях эксперимента : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.17 / НАН Украины, Ин-т биологии южных морей им. А. О. Ковалевского. Севастополь, 2000. 17 с. [Vyalova O. Yu. *Osobennosti energeticheskogo i azotistogo metabolizma nepolovozrelykh midii Mytilus galloprovincialis* Lam. v usloviyakh eksperimenta : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 03.00.17 / NAN Ukrainy, In-t biologii yuzhnykh morei im. A. O. Kovalevskogo. Sevastopol, 2000, 17 p. (in Russ.)]
6. Гудвилевич И. Н. Влияние условий культивирования на рост и содержание фикобилипротеинов красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* (обзор) // *Экология моря*. 2010. Вып. 81. С. 28–36. [Gudvilovich I. N. The influence of cultivation conditions on growth and the phycobiliprotein content in the red microalgae *Porphyridium purpureum*. *Ekologiya morya*, 2010, iss. 81, pp. 28–36. (in Russ.)]
7. Евдокимов В. В. Морфофункциональная оценка гамет и продукционные возможности гидробионтов при размножении их в моно- и поликультуре : автореф. дис. ... д-ра биол. наук : 03.00.11 ; 03.00.08 / Тихоокеанский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии. Владивосток, 1991. 39 с. [Evdokimov V. V. *Morfofunktsional'naya otsenka gamet i produktsionnye vozmozhnosti gidrobiontov pri razmnozhenii ih v mono- i polikulturye* : avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk : 03.00.11 ; 03.00.08 / Tikhookeanskiy nauchno-issledovatel'skiy institut rybnogo khozyaistva i okeanografi. Vladivostok, 1991. 39 s. (in Russ.)]

- pri razmnozhenii ikh v mono- i polikul'ture* : avtoref. dis. ... d-ra biol. nauk : 03.00.11 ; 03.00.08 / Tikhookeanskii nauchno-issledovatel'skii institut rybnogo khozyaistva i okeanografii. Vladivostok, 1991, 39 p. (in Russ.)]
8. Евдокимов В. В., Евдокимов А. В. Взаимодействие гидробионтов в поликультуре при воспроизводстве в контролируемых условиях // *Известия ТИНРО*. 2002. Т. 131. С. 373–380. [Evdokimov V. V., Evdokimov A. V. Vzaimodeistvie gidrobiontov v polikul'ture pri vosproizvodstve v kontroliruemymkh usloviyakh. *Izvestiya TINRO*, 2002, vol. 131, pp. 373–380. (in Russ.)]
 9. Калугина А. А., Грюнер В. С., Соколова Н. Н. Агар из черноморской водоросли гелидиум // *Рыбное хозяйство*. 1964. № 4. С. 68–70. [Kalugina A. A., Gryuner V. S., Sokolova N. N. Agar iz chernomorskoj vodorosli gelidium. *Rybnoe khozyaistvo*, 1964, no. 4, pp. 68–70. (in Russ.)]
 10. Красновский А. А. Выделение фикоэритрина из красных водорослей, его спектральные и фотохимические свойства // *Доклады Академии наук СССР*. 1952. Т. 82, № 6. С. 947–950. [Krasnovskii A. A. Vydelenie fikoeritrina iz krasnykh vodoroslei, ego spektral'nye i fotokhimicheskie svoistva. *Doklady Akademii nauk SSSR*, 1952, vol. 82, no. 6, pp. 947–950. (in Russ.)]
 11. Лось С. И. Влияние мочевины на спектральные свойства фикобилиновых пигментов водорослей // *Альгология*. 2009. Т. 19, № 1. С. 25–33. [Los' S. I. Influence of urea on spectral properties of phycobilin pigments of algae. *Al'gologiya*, 2009, vol. 19, no. 1, pp. 25–33. (in Russ.)]
 12. Минюк Г. С., Дробецкая И. В., Чубчикова И. Н., Терентьева Н. В. Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: обзор // *Морской экологический журнал*. 2008. Т. 7, № 2. С. 5–23. [Minyuk G. S., Drobetskaya I. V., Chubchikova I. N., Terent'eva N. V. Unicellular algae as renewable biological resource: A review. *Morskoj ekologicheskij zhurnal*, 2008, vol. 7, iss. 2, pp. 5–23. (in Russ.)]
 13. Стадничук И. Н. *Фикобилпротеины*. Москва : ВИНТИ, 1990. 193 с. (Итоги науки и техники, сер. биологическая химия ; т. 40). [Stadnichuk I. N. *Fikobiliproteiny*. Moscow : VINITI, 1990, 193 p. (Itogi nauki i tekhniki, ser. biologicheskaya khimiya ; vol. 40). (in Russ.)]
 14. Титлянов Э. А., Титлянова Т. В. *Морские растения стран азиатско-тихоокеанского региона, их использование и культивирование*. Владивосток : «Дальнаука». 2012. 362 с. [Titlyanov E. A., Titlyanova T. V. *Morskie rasteniya stran aziatsko-tikhookeanskogo regiona, ikh ispol'zovanie i kul'tivirovanie*. Vladivostok : "Dal'nauka", 2012, 362 p. (in Russ.)]

INFLUENCE OF MUSSEL *MYTILUS GALLOPROVINCIALIS* EXOMETABOLITES ON R-PHYCOERYTHRIN CONCENTRATION IN RED ALGA *GELIDIUM SPINOSUM* WHEN GROWN IN POLYCULTURE

B. N. Belyaev and N. M. Beregovaya¹

¹A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation
E-mail: belyaevbob@yandex.ru

To increase R-phycoerythrin concentration in red Black Sea alga *Gelidium spinosum* (S. G. Gmelin) P. C. Silva, 1996 (Rhodophyta), it was cultivated in laboratory conditions in polyculture microalga *Tetraselmis viridis* – mussel *Mytilus galloprovincialis* – *Gelidium*; the results of the study are presented. The positive effect of mussel exometabolites on R-phycoerythrin concentration in *Gelidium* in polyculture is described. The relevance of the work is determined by the value of R-phycoerythrin, which is used as a powerful antioxidant, as well as a marker in cytometry and microscopy. The aim of the study is to increase R-phycoerythrin concentration in *Gelidium* using the polyculture method. As a material, *Gelidium* from the fouling of rocks and coastal protection structures of Karantinnaya Bay (Sevastopol) was used; it was cultivated in a laboratory installation with eight working volumes, four of which contained mussels. Mussel decontamination, supplemented with mineral salts and biogens, was used as a nutrient medium for *Gelidium*. The combination of mussel exometabolites with previously developed nutrient medium, based on Black Sea water and enriched with nutrients and mineral salts, results in an increase in R-phycoerythrin concentration by more than 2 times, while the addition of exometabolites to pure filtered seawater increases it maximum by 35 %. Approximate ratios of polyculture elements in 1.5-L volumes, allowing to achieve the desired results in 2 weeks, are as follows: 2 g of *Gelidium* / 50–60 g of two-year-old mussels / 0.4–0.6 g of microalga wet weight.

Keywords: cultivation, polyculture, microalgae, molluscs, macrophytes, nutrient medium