

## Поиск информативных экспресс-методов оценки сохранности цианобактерий рода *Spirulina* при криоконсервировании

М.П. Гречишникова<sup>2</sup>, В.В. Чижевский<sup>1</sup>, И.В. Говор<sup>3</sup>, И.П. Высеканцев<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

<sup>2</sup>Харьковский национальный педагогический университет им. Г.С. Сковороды

<sup>3</sup>Государственное научное учреждение Научно-технологический комплекс «Институт монокристаллов», г. Харьков

## Screening for Informative Express Methods to Assess *Spirulina* Cyanobacteria Preservation in Cryopreservation

M.P. Grechishnikova<sup>2</sup>, V.V. Chizhevsky<sup>1</sup>, I.V. Govor<sup>3</sup>, I.P. Vysekantsev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of Ukraine

<sup>2</sup>H.S.Skovoroda Kharkiv National Pedagogical University, Kharkiv, Ukraine

<sup>3</sup>Institute for Single Crystals of National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Уникальный состав клеток делает *Spirulina platensis* крайне привлекательным объектом для биологии, фармацевтики, производства продуктов питания. Представляемые цианобактерии (микроскопические сине-зеленые водоросли), являются одним из основных элементов природного фитопланктона. Ежегодно в мире промышленно выращивается десятки тысяч тонн *S. platensis*.

Одним из эффективных методов долгосрочного полноценного хранения чистых культур клеток *S. platensis* является криоконсервирование. Существует значительное количество работ, описывающих замораживание и низкотемпературное хранение микроводорослей при температурах от  $-14$  до  $-196^\circ\text{C}$  [T. Mitsuo *et al.*, 1973; И.А. Харчук, 2016; Д.И. Петрухина, 2016]. Разработана криотехнология, обеспечивающая целостность и функциональную активность клеток культуры *S. platensis* [В.Ф. Марценюк, 2002; А.А. Цуцаева, 2007]. Наряду с этим существенное увеличение потребления и расширение сферы применения аквакультуры стимулируют усовершенствование методов долгосрочного низкотемпературного хранения *Spirulina*.

Важным составляющим элементом любой криотехнологии является оценка сохранности биообъектов после замораживания-оттаивания. Как правило, для определения жизнеспособности клеток микроводорослей применяются методы витального дифференциального окрашивания клеток, оценивается динамика роста микроводорослей на жидких питательных средах и т. п. Однако для реализации данных методик необходимы значительные материальные и временные затраты. Одним из перспективных экспресс-методов оценки жизнеспособности микроводорослей является люминесцентный спектральный анализ [А.В. Топачевский, 1975; В.Н. Карнаухов, 2002]. Использование данного метода позволяет не только определять сохранность клеток, но и оценивать функциональное состояние биообъектов.

Спектры собственной флуоресценции суспензии клеток *S. platensis* регистрировали на спектрофотометре «Cary Eclipse» («Varian», США). В зависимости от функционального состояния водорослей (нативные образцы, клетки после замораживания, нативные – после гипотермического хранения) изменялся характер регистрируемых спектральных кривых. Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования данного метода в криобиологии для оценки сохранности культуры клеток цианобактерий рода *S. platensis*.

The unique composition of the cells makes *Spirulina platensis* an extremely attractive object for biology, pharmaceuticals and food production. These cyanobacteria (microscopic blue-green algae), are one of the main elements of natural phytoplankton. Tens of thousands of tons of *S. platensis* are industrially grown every year worldwide.

One of the effective methods for long-term storage of the pure culture of *S. platensis* cells is cryopreservation. Lots of publications describe freezing and low-temperature storage of microalgae at temperatures from  $-14$  to  $-196^\circ\text{C}$  [T. Mitsuo *et al.*, 1973; I.A. Kharchuk, 2016; D.I. Petrukhin, 2016]. There is a cryotechnology providing substances and functional activity of *S. platensis* culture cells [V.F. Martsenyuk, 2002; A.A. Tsutsayeva, 2007]. Along with this, a significant increase in consumption and extending of the aquaculture stimulate the improvement of long-term low-temperature storage methods of *Spirulina*.

An important component of any cryotechnology is the evaluation of the preservation rate of bioobjects after freeze-thawing. As a rule, to determine the viability of microalgae cells the methods of vital differential staining of cells are used as well as the dynamics of microalgae growth on liquid nutrient media is assessed *etc.* But, significant material and time expenditures are required to apply these techniques. One of the promising rapid methods for assessing the viability of microalgae is luminescent spectral analysis [A.V. Topachevsky, 1975; V.N. Karnaukhov, 2002]. The use of this method allows not only to determine the survival of cells, but also to assess the functional state of bioobjects.

The intrinsic fluorescence spectra of the suspension of *S. platensis* cells were recorded with a Cary Eclipse spectrophotometer (Varian, USA). Depending on the functional state of algae (native samples, cells after freezing, native ones after hypothermic storage), the nature of the recorded spectral curves was changed. The obtained data testify to the possibility of using this research method in cryobiology to assess the preservation rate of cell culture of the *S. platensis* cyanobacteria.

