

## Влияние условий культивирования на устойчивость микроводорослей *Dunaliella salina* к пониженным температурам

Н.А. Чернобай

Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

## Influence of Cultivation Conditions on Microalgae *Dunaliella salina* Resistance to Lower Temperatures

N.A. Chernobai

Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine

of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine

Микроводоросли – перспективные объекты биоэкономики, поскольку они являются сырьем для получения биотоплива, биологически активных веществ и т. п. Несмотря на достигнутые успехи, актуальной остается проблема интенсификации культивирования и разработки способов их эффективного хранения. Предкультивирование при пониженных температурах является обязательным этапом криоконсервирования растительных объектов. Устойчивость микроводорослей к пониженным температурам и замораживанию-отогреву зависит от ряда факторов: условий культивирования, фазы роста, исходной концентрации клеток в культуре.

Цель работы – исследование влияния условий культивирования на устойчивость *Dunaliella salina* к пониженным температурам в зависимости от стадии роста и плотности популяции.

Культура *D. salina* была получена из коллекции микроводорослей кафедры ботаники ХНУ им. В.Н. Каразина. Клетки микроводоросли культивировали на среде Артари [Н.П. Масюк, 1973] и модифицированной среде Ramaraj [S. Ramaraj, 2013]. Концентрацию и подвижность клеток определяли с помощью светового микроскопа «Ломо Микмед-2».

После культивирования *D. salina* на среде Артари в течение 40 суток был получен незначительный прирост биомассы. Для оптимизации роста и накопления биомассы культуры *D. salina* использовали среду Ramaraj. Это позволило получить высокую концентрацию клеток уже к 10-м суткам культивирования. При хранении культуры, находящейся на разных фазах роста, при температуре 3,5...4°C установлено, что на 10-е сутки концентрация клеток уменьшилась в среднем на 45% по сравнению с исходной, при этом их подвижность в экспоненциальной и стационарной фазах роста составила 78,5 и 100% соответственно. Результаты, полученные после хранения культуры клеток при температурах 3,5...4°C в течение 30 суток, показали, что клетки, взятые в стационарной фазе роста более устойчивы к пониженным температурам. Так, общее количество и подвижность клеток *D. salina* на 30-е сутки хранения составила 52,17 и 20,51% в экспоненциальной фазе и 63 и 78,1% в стационарной фазе роста.

Полученные результаты показали, что при хранении клеток при пониженных температурах сроком до 10 суток фаза роста *D. salina* не оказывает существенного влияния на их концентрацию, а влияют только на подвижность, тогда как для более длительного хранения (до 30 суток) целесообразнее использовать культуру в стационарной фазе роста.

Microalgae are the perspective objects for bioeconomics, since they are the raw materials for procurement of biofuel, biologically active substances etc. In spite of the achieved successes, the task of intense cultivation and designing the ways for their efficient storage is still relevant. The pre-cultivation at low temperatures is a mandatory stage in plant object cryopreservation. The microalgae resistance to lower temperatures and freeze-thawing depends on many factors such as: cultivation conditions, growth phase and initial concentration of cells in culture.

This research was aimed to study the effect of cultivation conditions on *D. salina* resistance to lower temperatures depending on growth stage and population density.

The *D. salina* culture was obtained from the microalgae collection of the Botany Chair of V.N. Karazin Kharkiv National University. Microalgae cells were cultured in Artari medium [N. Masyuk, 1973] or modified Ramaraj solution [S. Ramaraj, 2013]. The concentration and motility of cells was determined with light microscope LOMO Mikmed 2.

After *D. salina* culturing in the Artari medium within 40 days a slight cell growth was obtained. In order to optimize the *D. salina* culture growth and biomass accumulation we used then the Ramaraj medium. This allowed us to get a high concentration of cells already to day 10 of cultivation. The storage of culture at temperature of 3.5...4°C was associated with a decrease in cell concentration to day 10 comparing to initial amounts by 45% in average, herewith their motility in exponential and stationary growth phases was 78.5 and 100%, respectively. The findings, obtained after storage of the cell culture at 3.5...4°C within 30 days demonstrated higher resistance to lower temperatures of the cells, taking in stationary growth phase to be more resistant to lower temperatures. For example, the total number and motility of *D. salina* cells to day 30 of storage were 52.17 and 20.51% in exponential phase and 63 and 78.1% in a stationary growth phase.

Our findings demonstrated the fact that during cell storage at lower temperatures up to 10 days the growth phase of *D. salina* had no significant effect on their concentration, and affected only their motility only, meanwhile the culture in the stationary growth phase was more expedient to use for longer storage (up to 30 days).

