

УДК 582.273:546.56

ВЛИЯНИЕ МЕДИ НА ЧИСЛЕННОСТЬ, МОРФОЛОГИЮ КЛЕТОК И СОДЕРЖАНИЕ ФОТОСИНТЕТИЧЕСКИХ ПИГМЕНТОВ МИКРОВОДОРОСЛИ *PORPHYRIDIUM PURPUREUM*

© 2019 г. Ж. В. Маркина^{1,2}, А. Н. Айздайчер¹

¹Национальный научный центр морской биологии имени А. В. Жирмунского ДВО РАН,
Владивосток, Российская Федерация

²Дальневосточный федеральный университет, Владивосток, Российская Федерация
E-mail: zhannav@mail.ru

Поступила в редакцию 17.04.2019; после доработки 29.07.2019;
принята к публикации 25.12.2019; опубликована онлайн 30.12.2019.

Изучили возможности адаптации красной водоросли *Porphyridium purpureum* к интоксикации медью. В качестве показателей использовали динамику численности клеток, морфологию клеток, содержание хлорофилла *a* и каротиноидов. Эксперимент проводили в два этапа. На первом исследовали действие меди в концентрациях 50 и 100 мкг·л⁻¹; на втором оценивали адаптивные способности водоросли к росту в загрязнённой Cu²⁺ среде. Установлено, что на первом этапе присутствие меди в среде в концентрации 50 мкг·л⁻¹ существенно не сказывалось на исследуемых показателях. Внесение 100 мкг·л⁻¹ вызывало угнетение роста и снижение содержания фотосинтетических пигментов. Показано, что на втором этапе после пересева из среды, содержащей 50 мкг·л⁻¹, в среду с такой же концентрацией количество клеток и содержание фотосинтетических пигментов достоверно не отличались от контрольных. Часть клеток деформировалась, хлоропласты были тёмными. При пересеве из среды, содержащей 50 мкг·л⁻¹, в среду со 100 мкг·л⁻¹ зафиксировано отставание в росте в два раза; в суспензии обнаружено большое количество клеток с тёмным зернистым хлоропластом. Перенос клеток из среды со 100 мкг·л⁻¹ в среду с такой же концентрацией вызывал подавление роста и уменьшение содержания фотосинтетических пигментов. В суспензии обнаружены клетки с диаметром, превышающим контрольный; отмечено большое количество слизи. Установлено, что полноценной адаптации *P. purpureum* к содержанию меди в среде не происходило.

Ключевые слова: *Porphyridium purpureum*, адаптация, медь, численность клеток, фотосинтетические пигменты

Загрязнение медью вод Мирового океана на протяжении десятилетий носит глобальный характер. По разным оценкам, в водоёмы поступает от 35·10³ до 90·10³ тонн меди в год [21]. Особенно страдают акватории, прилегающие к морским портам и крупным населённым пунктам. Источниками загрязнения являются коммунально-бытовые, промышленные и сельскохозяйственные сточные воды [22]. Ещё одна причина поступления меди в портовые воды — её использование в качестве добавки к краскам с антиобрастающим эффектом [16].

Особый интерес к меди в экотоксикологическом плане обусловлен тем, что она относится к эссенциальным микроэлементам, участвующим в физиологических процессах клеток растений. Вместе с тем высокие концентрации этого металла вызывают снижение скорости роста популяции микроводорослей и оказывают повреждающее действие на фотосинтетический аппарат [22, 27]. К настоящему времени накоплен огромный фактический материал, касающийся оценки действия

меди на морские одноклеточные водоросли. В подавляющем большинстве работ изучены представители диатомовых водорослей, что обусловлено их экологической важностью в морских экосистемах [3, 5, 16]. Достаточно много исследований выполнено на зелёных микроводорослях, что связано с удобством их культивирования и с их доминированием в нарушенных экосистемах морских вод [2, 8, 15, 17, 21].

Одноклеточные красные водоросли (Rhodophyta) не выполняют выраженных экологических функций, в отличие от представителей диатомовых, однако их исследование важно в фундаментальном плане для понимания механизмов действия веществ и адаптивных возможностей растительных организмов. В прикладных исследованиях эти микроводоросли прежде всего представляют интерес как источники полисахаридов [7] и эссенциальных жирных кислот [4]. Также их предлагают использовать в качестве биосенсоров [25, 26]. В связи с этим необходимо всестороннее изучение адаптивных возможностей данных организмов и их отклика на состояние окружающей среды.

В экотоксикологических экспериментах с микроводорослями наиболее часто оценивают динамику численности популяции [3] и содержание фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и суммы каротиноидов), а также морфологические изменения клеток. Эта информация помогает выявить закономерности действия токсических веществ.

В связи с вышеизложенным целью работы было изучить возможности адаптации микроводоросли *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta) к интоксикации медью.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом служила альгологически чистая культура *Porphyridium purpureum* (Bory) K. M. Drew & R. Ross, 1965 (Rhodophyta), изолированная из Амурского залива Японского моря. Культуру водоросли выращивали в конических колбах Эрленмейера объёмом 250 мл на среде *f* [10] при температуре +19...+20 °С и при освещении люминесцентными лампами интенсивностью 3500 лк с периодом 14 ч свет : 10 ч темнота. Питательную среду готовили на стерилизованной морской воде.

Медь добавляли в виде $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Концентрации указаны в пересчёте на ионы меди. ПДК меди для морских вод — 5 мкг·л⁻¹; её содержание в водах морских акваторий достигает 50 мкг·л⁻¹ [1].

Эксперимент проводили в два этапа. На первом исследовали действие меди в концентрациях 50 и 100 мкг·л⁻¹ на *P. purpureum*. На втором этапе, с целью изучения влияния меди на *P. purpureum* и с учётом способностей культуры адаптироваться к равноценному или более высокому содержанию металла, водоросли, экспонируемые при разных концентрациях меди, переносили в растворы с её содержанием 50 и 100 мкг·л⁻¹. Для этого клетки осаждали центрифугированием при 5000 об·мин⁻¹ в течение 10 минут; сливали супернатант; пересеивали клетки в среду, содержащую медь. Стартовая концентрация на обоих этапах — $8 \cdot 10^4$ кл·мл⁻¹.

Образцы для подсчёта клеток и для определения содержания хлорофилла *a* и суммы каротиноидов отбирали после тщательного перемешивания в день постановки опыта, а также через одни, четверо и семь суток эксперимента. Фотографии сделали на седьмые сутки первого и второго этапов эксперимента.

Образцы для подсчёта клеток и для получения фотографического материала фиксировали раствором Утермея. Подсчёт клеток произвели в камере Горяева под микроскопом Zeiss Axio Imager.

Несмотря на то, что представители Rhodophyta содержат особые пигменты фикобилины, в настоящей работе рассмотрено действие меди только на содержание хлорофилла *a* и каротиноидов (пигментов, которыми обладают все растительные организмы).

Содержание хлорофилла *a* и суммы каротиноидов анализировали в образцах, собранных на мембранный фильтр. Пигменты экстрагировали 90%-ным ацетоном, затем в течение 15 минут центрифугировали для удаления взвеси при 7000 об·мин⁻¹. Супернатант сливали и спектрофотометрировали на следующих длинах волн: 480, 630, 647, 664 и 750 нм (Shimadzu, Japan). Расчёт концентраций пигментов проводили по стандартным формулам [12].

Все эксперименты, описанные в работе, проведены в трёх повторностях. На графиках представлены средние значения и стандартные отклонения. Статистическая обработка данных проведена в программе Microsoft Office Excel 2007.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первый этап. Действие меди в концентрациях 50 и 100 мкг·л⁻¹ на *Porphyridium purpureum*.

Численность клеток при внесении 50 мкг·л⁻¹ Cu²⁺ на протяжении эксперимента отставала от контрольной, однако разница была недостоверной (рис. 1А). Внешний вид клеток не отличался от контроля (рис. 2А, Б). Содержание хлорофилла *a* и каротиноидов на седьмые сутки опыта несколько превышало таковое в контроле (см. рис. 1Б, В).

Внесение 100 мкг·л⁻¹ приводило к выраженному угнетению роста популяции (см. рис. 1А) и к снижению содержания фотосинтетических пигментов (см. рис. 1Б, В). Часть клеток в популяции укрупнялась (см. рис. 2В).

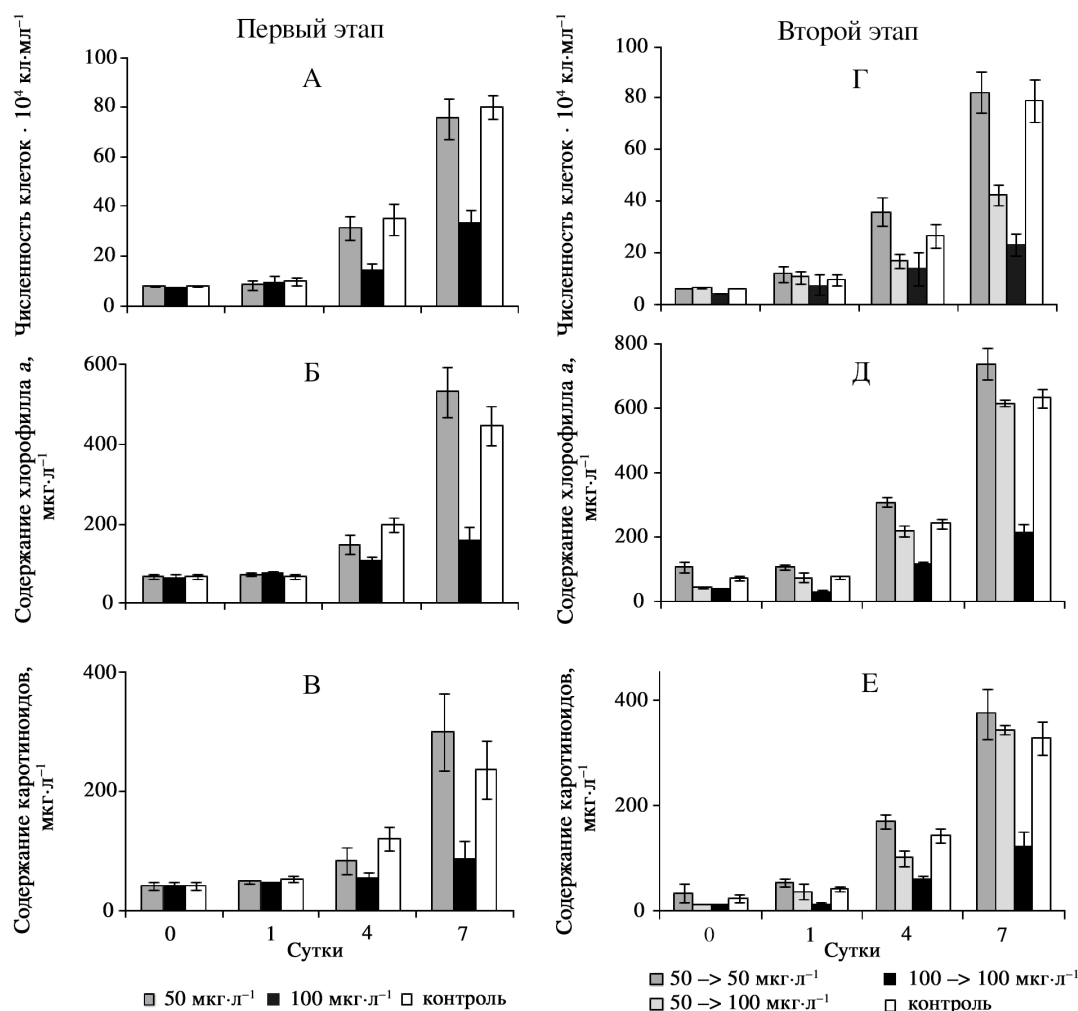


Рис. 1. Рост и содержание фотосинтетических пигментов микроводоросли *Porphyridium purpureum* при внесении меди в среду: А — численность клеток на первом этапе опыта; Б — содержание хлорофилла *a* на первом этапе опыта; В — содержание каротиноидов на первом этапе опыта; Г — численность клеток на втором этапе опыта; Д — содержание хлорофилла *a* на втором этапе опыта; Е — содержание каротиноидов на втором этапе опыта

Fig. 1. Microalga *Porphyridium purpureum* growth and photosynthetic pigment content in copper polluted media: А – cells number at the first stage of the experiment; Б – chlorophyll *a* content at the first stage of the experiment; В – carotenoid content at the first stage of the experiment; Г – cells number at the second stage of the experiment; Д – chlorophyll *a* content at the second stage of the experiment; Е – carotenoid content at the second stage of the experiment

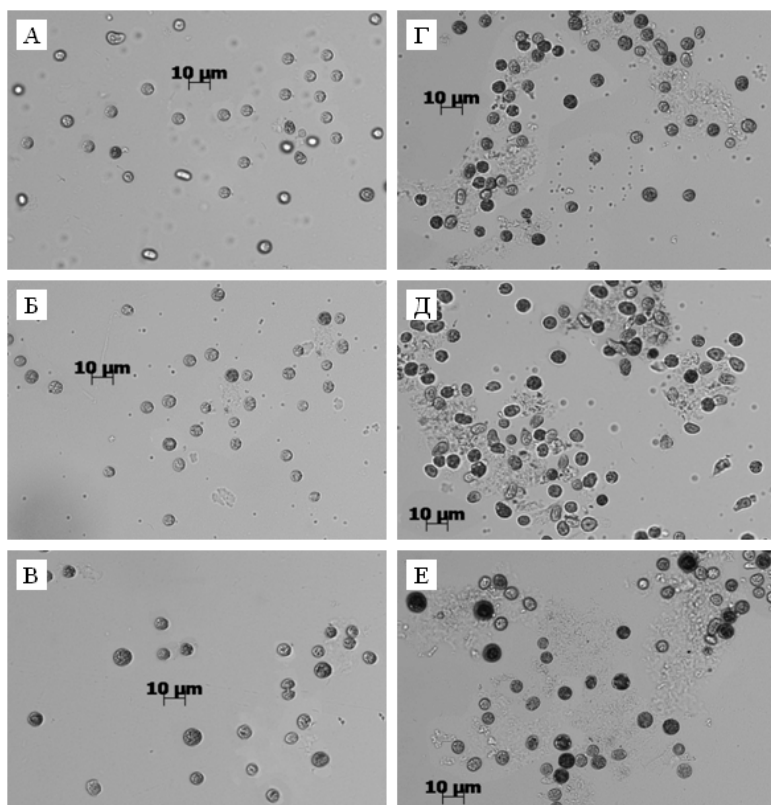


Рис. 2. Клетки в контроле и при внесении меди в среду:

А — контроль;
 Б — концентрация меди $50 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$;
 В — концентрация меди $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$;
 Г — после пересева из 50 в $50 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ меди;
 Д — после пересева из 50 в $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ меди;
 Е — после пересева из 100 в $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ меди

Fig. 2. Cells in control and with copper addition to the medium:

А – control;
 Б – $50 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration;
 В – $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration;
 Г – after transferring from 50 to $50 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration;
 Д – after transferring from 50 to $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration;
 Е – after transferring from 100 to $100 \text{ }\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ copper concentration

Второй этап. Действие меди в концентрациях 50 и $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ на *Porphyridium purpureum* после пересева.

Показано, что количество клеток микроводоросли после пересева из среды с концентрацией $50 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ в среду с $50 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ на четвёртые сутки опыта превышало таковое в контроле, а на седьмые — сравнялось с ним (см. рис. 1Г). Содержание хлорофилла *a* было выше контрольного на всём протяжении опыта, а содержание каротиноидов достоверно не отличалось от контрольного (см. рис. 1Д, Е). На этом этапе клетки, изученные под световым микроскопом, были более тёмными, чем в контроле. Часть клеток деформировалась; отмечено наличие слизи (см. рис. 2Г).

При пересеве водоросли из 50 в $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ зафиксировано отставание роста от контрольного в два раза (см. рис. 1Г). В культуре присутствовало большое количество деформированных клеток с зернистым хлоропластом (см. рис. 2Д). Содержание фотосинтетических пигментов не отличалось от такового в контроле (см. рис. 1Д, Е).

Перенос водоросли из 100 в $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ вызывал подавление роста и уменьшение содержания фотосинтетических пигментов, аналогичное процессу на первом этапе (см. рис. 1Г, Д, Е). В суспензии появились клетки с диаметром, визуально превышающим контрольный. Многие клетки деформировались. В суспензии присутствовало большое количество слизи (см. рис. 2Е).

Рост, морфология и физиологическое состояние *P. purpureum* изменялись при всех исследованных уровнях содержания Cu^{2+} . Фотосинтетический аппарат растений особенно чувствителен к меди, что связано с её участием в процессах фотосинтеза и дыхания [24]. Этот металл способствует выделению активных форм кислорода, которые вызывают повреждение мембран хлоропластов, делая их ещё более уязвимыми [23]. Между тем в токсической среде микроводоросли накапливают фотосинтетические пигменты, что является одним из механизмов адаптации к воздействию меди, так как при этом уменьшается содержание металла на биомассу клетки [21].

Помимо своей главной роли (осуществления процесса фотосинтеза) хлоропласты выполняют и другую — участвуют в синтезе аминокислот, жирных кислот, фитогормонов [14]. Следовательно, если фотосинтетический аппарат подвергается негативному воздействию, то рост популяции

водорослей неизбежно меняется. В нашем опыте это было особенно выражено при концентрации $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ и при пересеве водоросли в среду с аналогичным содержанием металла.

При сублетальных концентрациях меди энергия, полученная в результате световых реакций, уходит в основном на поддержание гомеостаза в клетке, а не процессов деления, что становится одной из причин задержки роста всей популяции [20, 23]. Об этом может свидетельствовать укрупнение клеток *P. purpureum* при $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ на первом и, особенно, втором этапе опыта, когда они накопили достаточно веществ для начала процесса деления, но он не осуществляется из-за токсического действия меди. Кроме того, увеличение размера клеток направлено на снижение влияния токсического фактора, так как удельная поверхность клетки уменьшается [17]. Существуют также сведения о том, что медь оказывает воздействие на генетический аппарат клеток [13, 19], и это, наряду с нарушением формы, может быть одной из причин увеличения их размера. У красной макроводоросли *Gracilaria domingensis* отмечено изменение формы и размера клеток при медной интоксикации. Кроме того, у неё происходило накопление багрянкового крахмала [9]. В связи с этим можно предположить, что увеличение размеров клеток и плотности их содержимого обусловлено также накоплением указанного вещества, наличие которого характерно для всех представителей отдела Rhodophyta.

Аккумуляция тяжёлых металлов микроводорослями хорошо изучена [11, 17, 18]; ингибирование роста при пересеве в среду, содержащую медь, может быть связано и с этим процессом. Кроме того, показано, что постепенное увеличение концентрации Cu приводило к росту содержания хлорофилла *a* у *Dunaliella salina* и *D. tertiolecta*, а также к усилению выделения полисахаридов у *Cylindrotheca fusiformis* с одновременным снижением численности клеток [21].

На втором этапе у *P. purpureum* при всех уровнях содержания меди отмечено появление большого количества слизи. Её выделение — один из универсальных механизмов детоксикации тяжёлых металлов у водорослей [6]. Причиной указанного явления может служить и истечение клеточного содержимого в результате разрушающего действия меди на клеточные мембраны [27].

Заключение. Выявлены разные типы отклика микроводоросли *P. purpureum* на воздействие меди: одновременное ингибирование роста и уменьшение содержания фотосинтетических пигментов (при $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$ и пересеве в среду с такой же концентрацией); увеличение содержания фотосинтетических пигментов при росте количества клеток, аналогичном контрольному (при пересеве из 50 в $50 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$); отставание роста популяции от контрольного (при пересеве из 50 в $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1} \text{ Cu}^{2+}$). Морфология клеток изменялась при добавлении $100 \text{ мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ и при пересеве в среду с каждой из исследованных концентраций меди. Таким образом, полной адаптации *P. purpureum* к присутствию меди в среде не происходило.

Работа поддержана грантом 18-3-052 «Получение чистых линий культур микроводорослей из коллекции Морской биобанк ННЦМБ ДВО РАН для разработки спектральных экспресс-методов определения видового состава (раздел 5)» в рамках программы «Приоритетные научные исследования в интересах комплексного развития Дальневосточного отделения РАН».

Благодарность. Авторы признательны ресурсному центру «Морской биобанк» ННЦМБ ДВО РАН (<http://marbank.dvo.ru>) за предоставление культуры *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta) MBRU_PP-AB11.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. *Качество морских вод по гидрохимическим показателям. Ежегодник 2015* / под ред. А. Н. Коршенко. Москва : Наука, 2016. 190 с. [*Kachestvo morskikh vod po gidrokhimicheskim pokazatelyam. Ezhegodnik 2015* / A. N. Korshenko (Ed.). Moscow : Nauka, 2016, 190 p. (in Russ.)]
2. Adams M. S., Dillon C. T., Vogt S., Lai B., Stauber J., Jolley A. Copper uptake, intracellular localization, and speciation in marine microalgae measured by synchrotron radiation X-ray fluorescence and absorption microspectroscopy. *Environmental Science & Technology*,

- 2016, vol. 50, iss. 16, pp. 8827–8839. <http://doi.org/10.1021/acs.est.6b00861>
3. Ahalya N., Ramachandra T. V., Kanamadi N. Biosorption of heavy metals. *Research Journal of Chemical & Environmental Sciences*, 2003, vol. 7, iss. 4, pp. 71–79.
 4. Asgharpour M., Rodgers B., Hestekin J. A. Eicosapentaenoic acid from *Porphyridium cruentum*: Increasing growth and productivity of microalgae for pharmaceutical products. *Energies*, 2015, vol. 8, iss. 9, pp. 10487–10503. <https://doi.org/10.3390/en80910487>
 5. Cid A., Filargo P., Herrero C., Abalde J. Toxic action of copper on the membrane system of a marine diatom measured by flow cytometry. *Cytometry*, 1996, vol. 25, iss. 1, pp. 32–36. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0320\(19960901\)25:1<32::AID-CYTO4>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0320(19960901)25:1<32::AID-CYTO4>3.0.CO;2-G)
 6. Crespo E., Losano P., Blasco J., Moreno-Garrido I. Effect of copper, irgarol and atrazine on epiphytes attached to artificial devices for coastal ecotoxicology bioassays. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2013, vol. 91, iss. 6, pp. 656–600. <https://doi.org/10.1007/s00128-013-1122-4>
 7. De Jesus Raposo M. F., de Morais R. M. S. C., de Morais A. M. M. B. Bioactivity and applications of sulphated polysaccharides from marine microalgae. *Marine Drugs*, 2013, vol. 11, iss. 1, pp. 233–252. <https://doi.org/10.3390/md11010233>
 8. Franklin N. M., Stauber J. L., Lim R. P. Development of flow cytometry-based algal bioassays for assessing toxicity of copper in natural waters. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2001, vol. 20, iss. 1, pp. 160–170.
 9. Gouveia C., Kreusch M., Schmidt E. C., Felix M. R. de L., Osorio L. K. P., Pereira D. T., Santos R., Ouriques L. C., Martins R. P., Latini A., Ramlov F., Carvalho T. J. G., Chow F., Maraschin M., Bouzon Z. L. The effects of lead and copper on the cellular architecture and metabolism of the red alga *Gracilaria domingensis*. *Microscopy and Microanalysis*, 2013, vol. 19, iss. 3, pp. 513–524. <http://dx.doi.org/10.1017/s1431927613000317>
 10. Guillard R. R. L., Ryther J. H. Studies of marine planktonic diatoms. I. *Cyclotella nana* Hustedt, and *Detonula confervacea* (Cleve) Gran. *Canadian Journal of Microbiology*, 1962, vol. 8, no. 2, pp. 229–239. <https://doi.org/10.1139/m62-029>
 11. Hamed S. M., Selim S., Klöck G., Abdelgawad H. Sensitivity of two green microalgae to copper stress: Growth, oxidative and antioxidants analyses. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2017, vol. 144, pp. 19–25. <https://dx.doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.05.048>
 12. Jeffrey S. W., Humphrey G. F. New spectrophotometric equations for determining chlorophyll *a*, *b*, *c*₁ and *c*₂ in higher plants, algae and natural phytoplankton. *Biochemie und Physiologie der Pflanzen*, 1975, vol. 167, iss. 2, pp. 191–194. [https://doi.org/10.1016/S0015-3796\(17\)30778-3](https://doi.org/10.1016/S0015-3796(17)30778-3)
 13. Jiang W., Liu D. H., Liu X. Effects of copper on root growth, cell division, and nucleolus of *Zea mays*. *Biologia Plantarum*, 2001, vol. 44, iss. 1, pp. 105–109. <https://doi.org/10.1023/A:1017982607493>
 14. Kiseleva A. A., Tarachovskaya E. R., Shishova M. F. Biosynthesis of phytohormones in algae. *Russian Journal of Plant Physiology*, 2012, vol. 59, iss. 5, pp. 595–610. <http://doi.org/10.1134/S1021443712050081>
 15. Kumar S. K., Shin K.-H. Effect of copper on marine microalga *Tetraselmis suecica* and its influence on ultra- and extracellular iron and zinc content. *Korean Journal of Ecology and Environment*, 2017, vol. 50, no. 1, pp. 16–28. <https://doi.org/10.11614/KSL.2017.50.1.016>
 16. Leung P. T. Y., Yi A. X., Ip J. C. H., Mak S. S. T., Leung K. M. Y. Photosynthetic and transcriptional responses of the marine diatom *Thalassiosira pseudonana* to the combined effect of temperature stress and copper exposure. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, vol. 124, iss. 2, pp. 938–945. <http://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.03.038>
 17. Levy J., Stauber J. L., Jolley D. F. Sensitivity of marine microalgae to copper: The effect of biotic factors on copper adsorption and toxicity. *Science of the Total Environment*, 2007, vol. 387, iss. 1–3, pp. 141–154. <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2007.07.016>
 18. Li X., Ping X., Xlumet S., Zhenbin W., Liqtang X. Toxicity of cypermethrin on growth, pigments, and superoxide dismutase of *Scenedesmus obliquus*. *Ecotoxicology Environmental Safety*, 2005, vol. 60, iss. 2, pp. 188–192. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2004.01.012>
 19. Liu D., Jiang W., Meng Q., Zou J., Gu J., Zeng M. Cytogenetical and ultrastructural effects of copper on root meristem cells of *Alleum sativum* L. *Biocell*, 2009, vol. 33, iss. 1, pp. 25–32.
 20. Machado M. D., Soares E. V. Modification of cell volume and proliferative capacity of *Pseudokirchneriella subcapitata* cells exposed to metal stress.

- Aquatic Toxicology*, 2014, vol. 147, pp. 1–6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aquatox.2013.11.017>
21. Miazek K., Iwanek W., Remacle C., Richel A., Goffin D. Effect of metals, metalloids and metallic nanoparticles on microalgae growth and industrial products biosynthesis: A review. *International Journal of Molecular Sciences*, 2015, vol. 16, iss. 10, pp. 23929–23969. <https://doi.org/10.3390/ijms161023929>
 22. Nagajoti P. C., Lee K. D., Sreekanth T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: A review. *Environmental Chemistry Letters*, 2010, vol. 8, iss. 3, pp. 199–216. <http://doi.org/10.1007/s10311-010-0297-8>
 23. Perales-Vela H. V., González-Moreno S., Montes-Horcasitas C., Cañizares-Villanueva R. O. Growth, photosynthetic and respiratory responses to sub-lethal copper concentrations in *Scenedesmus incrassatulus* (Chlorophyceae). *Chemosphere*, 2007, vol. 67, iss. 11, pp. 2274–2281. <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2006.11.036>
 24. Schmitt F.-J., Renger G., Friedrich T., Kreslavski V. D., Zharmukhamedov S. K., Los D. A., Kuznetsov V. V., Allakhverdiev S. I. Reactive oxygen species: Re-evaluation of generation, monitoring and role in stress-signaling in phototrophic organisms. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014, vol. 1837, iss. 6, pp. 835–848. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbabi.2014.02.005>
 25. Voznesenskiy S. S., Popik A. Y., Gamayunov E. L., Orlova T. Y., Markina Zh. V., Kulchin Y. N. Biosensors based on micro-algae for ecological monitoring of the aquatic environment. In: *Algae – Organisms for Imminent Biotechnology*. Rijeka : Intech, 2016, chap. 5, pp. 103–131. <http://doi.org/10.5772/62801>
 26. Voznesenskiy S. S., Popik A. Yu., Gamayunov E. L., Orlova T. Yu., Markina Zh. V., Postnova I. V., Shchipunov Yu. A. One stage immobilization of the microalga *Porphyridium purpureum* using a biocompatible silica precursor and study of the fluorescence of its pigments. *European Biophysics Journal*, 2018, vol. 47, iss. 1, pp. 75–85. <http://doi.org/10.1007/s00249-017-1213-y>
 27. Yruela I. Copper in plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2005, vol. 17, no. 1, pp. 145–156. <http://dx.doi.org/10.1590/S1677-04202005000100012>

THE EFFECT OF COPPER ON THE ABUNDANCE, CELL MORPHOLOGY AND CONTENT OF PHOTOSYNTHETIC PIGMENTS IN THE MICROALGA *PORPHYRIDIUM PURPUREUM*

Zh. V. Markina^{1,2} and N. A. Aizdaicher¹

¹Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology, FEB RAS, Vladivostok, Russian Federation

²Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russian Federation

E-mail: zhannav@mail.ru

Red microalga *Porphyridium purpureum* adaptive abilities to copper intoxication were studied. Cell number dynamics and morphology, contents of chlorophyll *a* and carotenoids were used as test-points. The experiment was conducted in two stages. At the first stage the effect of copper in concentrations of 50 and 100 µg·l⁻¹ was studied; at the second stage the alga adaptive abilities to growth in copper contaminated medium were assessed. At the first stage copper concentration of 50 µg·l⁻¹ didn't influence the parameters under study. Addition of 100 µg·l⁻¹ caused growth inhibition and photosynthetic pigment content decrease. At the second stage after transferring alga to a medium with 50 µg·l⁻¹ copper concentration from a medium with similar conditions, cell number and photosynthetic pigment content were not significantly different from the control ones. Part of the cells deformed, chloroplasts became darkened. Transferring to a medium with 100 µg·l⁻¹ from a medium with 50 µg·l⁻¹ copper concentration caused growth delay; most of the cells in suspension were with dark, granulated chloroplast. Cells transferring from a medium with 100 µg·l⁻¹ to a medium with the same concentration resulted in growth inhibition and photosynthetic pigment content decrease. Part of the cells in suspension became larger than in control and with great amount of mucilage. Complete adaptation of *P. purpureum* to copper intoxication didn't occur.

Keywords: *Porphyridium purpureum*, adaptation, copper, cells number, photosynthetic pigments