

УДК 582.26./27:628.19(262.5)

**О.А. ШАХМАТОВА, Н.А. МИЛЬЧАКОВА**

Ин-т биологии южных морей им. А.О. Ковалевского,  
пр. Нахимова, 2, Севастополь 99011, Крым

e-mail: oshakh@gmail.com; milcha@ibss.iuf.net

## **ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЙ НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ МАССОВЫХ ВИДОВ ЧЕРНОМОРСКИХ МАКРОВОДОРОСЛЕЙ**

Изучена активность каталазы (АК) массовых видов черноморских макроводорослей в условиях хозяйственно-бытового загрязнения на примере севастопольского взморья. Показано изменение ее на разной глубине в различных экологических условиях. Выявлены интервалы АК макроводорослей, соответствующие их условно нормальному функционированию. Значения АК в локальных условиях для *Ulva intestinalis* L. составляли  $34 \pm 9$ , для *Cystoseira barbata* (Stackh.) C. Agardh –  $64 \pm 15$ , для *Ceramium virgatum* Roth –  $57 \pm 12$  мкг  $H_2O_2$  / (г · мин). Установлено, что АК макроводорослей разной таксономической принадлежности зависит от условий произрастания. Так, у *Rhodophyta* обнаружено максимальное значение АК в сильнозагрязненных акваториях по сравнению со слабозагрязненными в среднем в 2,5 раза. Промежуточный уровень АК в изученном градиенте загрязнения характерен для *Chlorophyta*, её значения увеличиваются в 1,4 раза, тогда как у бурых водорослей, за исключением *Cystoseira crinita* Duby, варьирования значений АК не обнаружено. Показано изменение АК видов разной таксономической принадлежности на протяжении жизненного цикла и сезонных ритмов. При размножении *Chlorophyta* значения АК возрастают в 1,5–1,8 раза, *Rhodophyta* – в 2,7, а *Phaeophyta* – в 3,7 раза. У *C. barbata* отмечено увеличение значений АК в предзимний период по сравнению с весенним в 5,3 раза. В весенне-летний период у большинства макроводорослей максимальные значения АК отмечены на глубине 1 м, минимальные – на глубине 10 м, зимой максимум АК *Rhodophyta* зафиксирован на глубине 10 м, а *Phaeophyta* – 3–5 м. В осенний период не выявлено выраженной динамики АК с изменением глубины. Сделано предположение о различиях в адаптационной стратегии антиоксидантной системы у красных, зеленых и бурых макроводорослей Черного моря.

**Ключевые слова:** активность каталазы, макроводоросли, адаптация, хозяйственно-бытовое загрязнение, Черное море.

### **Введение**

Исследование адаптационных механизмов, позволяющих организмам приспосабливаться к выживанию в широком диапазоне границ действия биотических и абиотических факторов, является актуальной задачей. Ключ-

© О.А. Шахматова, Н.А. Мильчакова, 2014

ISSN 0868-8540. Альгология. 2014, 24(4)

461

чевым звеном адаптационных процессов считается метаболическая антиоксидантная система (АОС), активация которой рассматривается как универсальный отклик биоты на агрессивное воздействие окружающей среды. Инициация АОС, блокирующей распространение свободных радикалов при стрессе, проявляется в стимуляции активности ферментов супероксиддисмутазы, каталазы, аскорбат-, глутатион-пероксидаз и редуктаз (Фридович, 1979). Из них именно каталаза (ЕС 1.11.16) (КАТ) у большинства гидробионтов, в т.ч. макрофитов, проявляет максимальную ответную реакцию на изменение качества среды (Шахматова, 2004; Алешко, 2007; Бельчева и др., 2007).

В последние годы повысился интерес к исследованию антиоксидантной системы макрофитов, и в частности каталазы (Шахматова, Парчевская, 2000; Громов и др., 2001; Ткаченко и др., 2004; Шахматова, 2004; Мильчакова, Шахматова, 2007; Шахматова, Мильчакова, 2009; Pinto et al., 2003). Однако данные о активности каталазы массовых видов макроводорослей не обобщены.

Целью данной работы было сравнение метаболического отклика фермента каталазы у черноморских макроводорослей разной таксономической принадлежности на хозяйственно-бытовое загрязнение верхней сублиторальной зоны.

### Материалы и методы

Исследования по определению АК у массовых видов черноморских макроводорослей проводили в разные сезоны на глубине 0,2–10 м различных участков Севастопольского взморья, отличающихся степенью хозяйственно-бытового загрязнения в период 2004–2009 гг. На основании анализа литературных данных (Овсяный и др., 2001; Павлова и др., 2001; Губанов и др., 2002; Миронов и др., 2003) исследуемые акватории были условно отнесены к трем категориям качества: сильнозагрязненные – б. Балаклавская; среднезагрязненные – б. Казачья и б. Карантинная; слабозагрязненные, условно чистые – б. Круглая, м. Коса Северная (табл. 1).

Объектами изучения были 18 макроводорослей, среди них 4 вида зеленых водорослей: *Chaetomorpha aerea* (Dillwyn) Kütz., *Cladophora albida* (Nees) Kütz., *Ulva intestinalis* L., *Ulva rigida* C. Agardh; 6 бурых – *Cladostephus spongiosus* (Huds.) C. Agardh, *Cystoseira barbata* (Stackh.) C. Agardh, *Cystoseira crinita* Duby, *Dictyota fasciola* (Roth) J.V. Lamour., *Padina pavonica* (L.) Thivy in W.R. Taylor, *Scytosiphon lomentaria* (Lingb.) Link и 8 красных водорослей: *Callithamnion corymbosum* (J.E. Sm.) Lyngb., *Ceramium diaphanum* (Lightf.) Roth, *Ceramium virgatum* Roth, *Corallina elongata* J. Ellis et Solander, *Gelidium crinale* (Hare ex Turner) Gaillon, *Gelidium spinosum* (S.G. Gmel.) P.C. Silva, *Laurencia coronopus* J. Agardh, *Polysiphonia subulifera* (C. Agardh) Harv.

Для анализа отбирали зрелые, сформированные талломы водорослей-литофитов массой 1–2 г. Активность каталазы водорослей

определяли по методу Баха и Зубковой (Березов, 1976), основанному на способности КАТ разлагать перекись водорода на кислород и воду, адаптированному для макрофитов (Шахматова, 2004; Мильчакова, Шахматова, 2007). Все анализы были проведены через 30 мин или 1 ч после отбора проб. Всего проведено 1800 биохимических анализов.

Таблица 1

**Общая характеристика загрязнения морских вод и донных осадков акваторий Севастопольского региона (по: Губанов и др., 2002; Миронов и др., 2003; Овсяный и др., 2001; Павлова и др., 2001)**

Акватория, станции	Объем хозяйственно-бытовых стоков, тыс. м <sup>3</sup> /год	Содержание в донных осадках, мг/100 г		Содержание в воде, мкм/л			
		Ахл	НУ	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>-3</sup>
Сильнозагрязненная							
б. Карантинная	547	0,12	34,0	0,04	0,92	0,44	0,14
б. Балаклавская	3285	–	–	0,22	5,06	3,72	0,4
Среднезагрязненная							
б. Казачья	Нет	0,02	Следы	0,06– 0,32	0,12– 0,67	0,006 –4,1	0,002– 0,21
Слабозагрязненная или условно чистая							
б. Круглая	Нет	0,01	Следы	0,04– 0,07	0,02– 0,6	0,11– 0,33	0,4
м. Коса Северная	Нет	–	–	–	–	–	–

Обозначения. Ахл – содержание битумоида, экстрагированного хлороформом; НУ – содержание нефтеуглеводородов в донных осадках; “– “ данные отсутствуют.

**Результаты и обсуждение**

**Chlorophyta.** При изучении ответной реакции гидробионтов на воздействие хозяйственно-бытового загрязнения особенно важным является определение нормальных или условно нормальных значений исследуемого показателя. Так, 95 %-й доверительный интервал среднего значения АК *Ulya intestinalis*, определенный в течение года на глубине 0,2–1 м, составляет 34±9 мкг Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г·мин ( $n = 24$ ), его предлагается считать оценкой нормы АК для данного вида (Шахматова, 2004).

Поскольку зелёные макроводоросли относятся преимущественно к короткоциклическим видам, данные по АК каталазы проанализированы в основном для весенне-летнего периода. Так, для этого времени года в прибойной зоне условно чистых акваторий АК *U. intestinalis* составляла 16,92±8,95 мкг Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г·мин, у *Chaetomorpha aerea* и *Cladophora albida* её

значения оказались выше —  $55,4 \pm 21,4$  и  $84,37 \pm 19,3$  мкг  $H_2O_2/г \cdot мин$  соответственно (табл. 2).

Таблица 2

**Активность каталазы макроводорослей в акваториях с разным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения (Севастопольское взморье, глубина 0,2–1 м)**

Таксон	Время отбора	Активность каталазы, мкг $H_2O_2/г \cdot мин$ , $M \pm m$		
		Условно чистые акватории	Среднезагрязненные акватории	Сильнозагрязненные акватории
<i>Chlorophyta</i>				
<i>Chaetomorpha aerea</i>	Май	$55,14 \pm 21,4$	$10,85 \pm 2,36$	—
<i>Cladophora albida</i>	Май	$84,37 \pm 19,3$	$55,37 \pm 11,20$	$109,64 \pm 22,3$
<i>Ulva intestinalis</i>	Май	$16,92 \pm 8,95$	$32,51 \pm 8,41$	$39,43 \pm 8,73$
<i>U. rigida</i>	Май	$5,26 \pm 0,15$	$6,78 \pm 1,42$	$28,35 \pm 6,72$
<i>Phaeophyta</i>				
<i>Cladostephus spongiosus</i>	Апрель	$41,73 \pm 5,83$	—	$75,23 \pm 7,44$
<i>Dictyota fasciola</i>	Июнь	$28,94 \pm 7,44$	—	$30,15 \pm 2,35$
<i>Cystoseira barbata</i>	Май, первая декада	$83,44 \pm 10,03$	$56,32 \pm 6,12$	$81,15 \pm 7,43$
<i>C. barbata</i>	Май, вторая декада	$120,19 \pm 17,35$	$64,28 \pm 6,22$	$46,13 \pm 2,51$
<i>C. barbata</i>	Май, третья декада	$229,77 \pm 45,01$	$81,19 \pm 13,12$	$83,76 \pm 11,49$
<i>C. barbata</i>	Ноябрь	$392,27 \pm 64,35$	$123,21 \pm 21,30$	$82,17 \pm 9,70$
<i>C. barbata</i>	Январь	$284,94 \pm 49,12$	$183,44 \pm 25,28$	$119,78 \pm 15,42$
<i>C. crinita</i>	Май	$33,41 \pm 7,03$	$125,82 \pm 10,05$	—
<i>C. crinita</i>	Ноябрь	$41,35 \pm 6,12$	$76,23 \pm 8,04$	$205,13 \pm 18,04$
<i>Padina pavonica</i>	Август	$187,92 \pm 23,12$	—	$39,05 \pm 2,37$
<i>Scytosiphon lomentaria</i>	Май	$76,49 \pm 8,23$	—	$50,08 \pm 3,95$
<i>Rhodophyta</i>				
<i>Callithamnion corymbosum</i>	Ноябрь	$18,04 \pm 2,01$	$169,32 \pm 9,85$	$235,17 \pm 32,71$
<i>Ceramium diaphanum</i>	Июнь	$35,40 \pm 5,20$	$22,11 \pm 0,50$	$81,40 \pm 11,40$
<i>C. virgatum</i>	Май	$105,95 \pm 7,34$	—	$22,15 \pm 1,15$
<i>C. virgatum</i>	Ноябрь	$60,65 \pm 2,33$	—	$236,25 \pm 28,66$
<i>Corallina elongata</i>	Декабрь	$68,40 \pm 8,50$	$228,15 \pm 37,11$	$219,11 \pm 28,42$
<i>Gelidium crinale</i>	Декабрь	$71,30 \pm 6,19$	$135,18 \pm 17,49$	$135,23 \pm 12,18$
<i>G. spinosum</i>	Ноябрь	$44,73 \pm 4,19$	$78,34 \pm 9,65$	$308,10 \pm 39,55$
<i>Laurencia coronopus</i>	Апрель	$38,9 \pm 5,84$	$42,14 \pm 7,65$	$320,48 \pm 27,41$
<i>Polysiphonia subulifera</i>	Декабрь	$36,7 \pm 4,12$	—	$133,87 \pm 18,29$

«—» — Данные отсутствуют.

Влияние глубины произрастания на АК зелёных водорослей в условно чистых акваториях (б. Круглая) проявилось неоднозначно: АК *U. intestinalis* в диапазоне глубин 1–10 м снижалась от  $45,28 \pm 9,7$  до  $5,14 \pm 0,78$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г}\cdot\text{мин}$ , а *C. albida* – увеличивалась от  $82,76 \pm 15,9$  до  $248,45 \pm 57,28$  на глубине 3–5 м, затем уменьшалась до  $95,3 \pm 17,86$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г}\cdot\text{мин}$  на глубине 10 м (рис. 1). У *Ulva rigida* отмечены более низкие значения АК на всем диапазоне глубин и плавное возрастание с увеличением глубины от  $5,8 \pm 1,02$  до  $18,33 \pm 4,9$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г}\cdot\text{мин}$  с максимальными значениями на глубине 10 м (рис. 2).

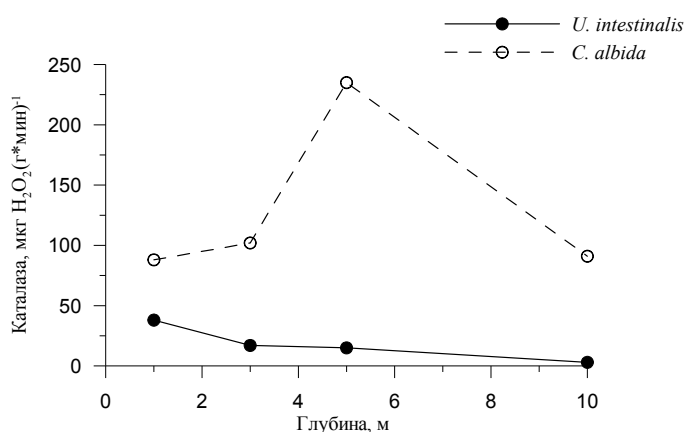


Рис. 1. Изменение активности каталазы *Ulva intestinalis* и *Cladophora albida* на разной глубине в весенний период в б. Круглая (условно чистая акватория)

Анализ изменения АК зелёных макроводорослей на разной глубине в условиях различной степени хозяйственно-бытового загрязнения показал, что в сильно- и среднезагрязненных акваториях однонаправленный тренд динамики АК не выявлен. В этих акваториях в верхней сублиторальной зоне (глубина 0,2–1 м) у *C. albida* и *U. intestinalis* отмечено увеличение АК по сравнению с условно чистыми в 1,3 и 2,7 раза соответственно, а у *C. aerea* – уменьшение в среднем в 2,5–5,5 раза (см. табл. 2). По нашим данным, АК *U. intestinalis* на участках с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения сопоставима с ранее определёнными значениями условной нормы. При повышении уровня загрязнения отмечена тенденция к увеличению АК.

Некоторые исследователи, отмечая приуроченность *U. intestinalis* и *C. aerea* к сильнозагрязненным акваториям, указывают на увеличение активности ферментов их АОС в условно чистых районах, объясняя это тем, что эти виды испытывают метаболический стресс при снижении концентрации биогенных элементов (Громов и др., 2001). Такая закономерность в условиях Севастопольского взморья отмечена только для *C. aerea*. Вместе с тем можно предположить, что адаптация *U. intestinalis* и *C. aerea* к неблагоприятным условиям среды, и прежде всего к хозяйственно-бытовому загрязнению, происходит не только и не

столько за счет увеличения активности ферментов АО системы, но также может осуществляться по метаболическому пути возрастания концентрации каротиноидов, которые являются второй линией защиты клетки от воздействия свободных радикалов (Aguilera et al., 2002). Так, в талломах *U. intestinalis*, произрастающей в условиях комплексного загрязнения акваторий в регионе Севастополя, обнаружено значительное увеличение содержания каротиноидных пигментов (Муравьева, 2000).

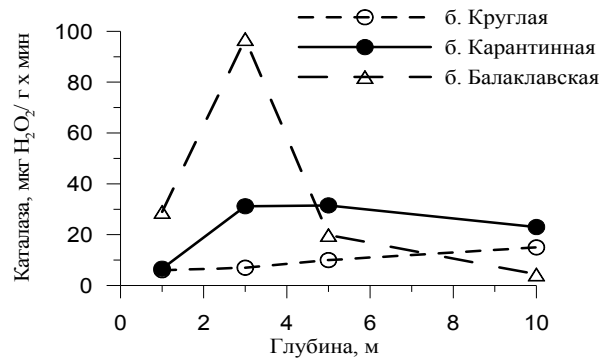


Рис. 2. Изменение активности каталазы *Ulva rigida* на разной глубине в весенний период в акваториях с различным уровнем загрязнения (б. Круглая – условно чистая акватория, б. Карантинная – среднезагрязненная; б. Балаклавская – сильнозагрязненная)

Изменение АК *U. rigida* в диапазоне глубин 1–10 м в условиях хозяйственно-бытового загрязнения (бухты Балаклавская и Карантинная) показано на рис. 2. АК *U. rigida* в условиях среднезагрязненной б. Карантинной увеличивалась в зависимости от глубины в 1,4–5,4 раз, при максимальном эвтрофировании (вблизи стока городского коллектора в б. Балаклавской) в 1,5–14 раз по сравнению с условно чистой акваторией. Самое высокое значение АК *U. rigida* отмечено на глубине 3 и 5 м в средне- и сильнозагрязненных акваториях. Это в 5–14 раз выше, чем в условно чистых зонах. АК ульвы на глубине 10 м в сильно загрязненном районе (б. Балаклавская) была минимальна –  $7,5 \pm 2,4$  мкг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/г·мин и вдвое ниже, чем в условно чистой акватории на этой же глубине (см. рис. 2).

В целом, АК разных видов зелёных водорослей имеет тенденцию к увеличению при воздействии хозяйственно-бытового загрязнения, однако значения их АК существенно варьируют, а ответная реакция неоднозначна.

**Phaeophyta.** Теоретически рассчитанный интервал условно нормальных значений АК для *Cystoseira barbata* при выборке значений с мая по август ( $n = 8$ ) (стационарное состояние) составил  $69,75 \pm 15,21$  мкг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/г·мин. Обнаружено существенное влияние на АК бурых водорослей физиологических и сезонных ритмов. АК *Padina pavonica* в

период активного размножения увеличивалась в 4,8 раза: от  $39,05 \pm 2,37$  в начале до  $187,92 \pm 33,12$  мкг  $H_2O_2/г \cdot мин$ , на пике репродуктивного периода в августе в – 2,8 раза, у *C. barbata* – от  $81,15 \pm 7,43$  до  $229,77 \pm 45,02$  мкг  $H_2O_2/г \cdot мин$  соответственно (см. табл. 2). Существенное повышение АК *C. barbata* отмечено при подготовке к зиме, причём лишь в условиях слабозагрязнённых акваторий: от  $83,76 \pm 11,49$  в мае до  $392,27 \pm 64,35$  мкг  $H_2O_2/г \cdot мин$  в ноябре, т.е. в 4,7 раза (см. табл. 2).

При воздействии загрязнения величина АК у большинства исследуемых видов бурых макроводорослей варьировала от  $30,15 \pm 2,35$  у *Dilophus repens* до  $119,78 \pm 15,42$  мкг  $H_2O_2/г \cdot мин$  у *C. barbata* (см. табл. 2) с некоторой тенденцией к уменьшению в сильнозагрязнённых районах. Увеличение АК в средне- и сильнозагрязнённых акваториях по сравнению с условно чистыми выявлено лишь для *C. crinita* и *C. spongiosus* в 1,5–4,2 и в 1,8 раза соответственно.

Исследование влияния глубины произрастания на АК бурых водорослей проводили на двух массовых видах – *C. crinita* и *C. barbata*. В холодное время года (ноябрь–февраль) у них обнаружено снижение АК у исследованных видов с увеличением глубины: у *C. crinita* от  $450 \pm 54$  до  $12 \pm 0,96$ , а у *C. barbata* – от  $250 \pm 34$  до  $1,7 \pm 0,18$  мкг  $H_2O_2/г \cdot мин$  с максимальными значениями на глубине 3–5 м. В весенний период наибольшие значения АК *C. crinita* наблюдали на глубине 1 м. Высокие значения АК *C. barbata* выявлены на глубине от 1 до 5 м независимо от сезона. Обнаружена также выраженная зависимость АК видов цистозире от биомассы, значения которой варьировали по сезонам и были максимальны в период размножения (Шахматова, Мильчакова, 2009).

Изучение АК бурых водорослей показало, что их адаптивные метаболические механизмы отличаются от таковых у зелёных водорослей. Обнаружено как увеличение, так и снижение их АК в загрязнённых акваториях по сравнению с условно чистыми районами.

**Rhodophyta.** Условно нормальные значения АК красных макроводорослей, находящихся в стационарном состоянии, рассчитывали по выборке данных АК *Ceramium virgatum* с июня по сентябрь в условно чистых акваториях на глубине 0,2–1 м. При этом 95 %-ный доверительный интервал средних значений АК церамиума составил  $57 \pm 12$  мкг  $H_2O_2/г \cdot мин$  ( $n = 12$ ). Диапазон значений АК от 45 до 69 мкг  $H_2O_2/г \cdot мин$  предлагается считать оценкой нормы АК для этого вида (Шахматова, Парчевская, 2000). Значения АК *Ceramium diaphanum* в стационарном состоянии (июнь) на глубине 0,2–1 м в условно чистых акваториях достигали  $35,4 \pm 5,20$  мкг  $H_2O_2/г \cdot мин$ , т.е. были близки величине условной нормы *C. virgatum* (45–69 мкг  $H_2O_2/г \cdot мин$ ). АК *Callithamnion corymbosum*, *Polysiphonia subulifera*, *Laurencia coronopus*, *Corallina elongata*, *Gelidium spinosum* и *G. crinale* изучали в основном в осенне-зимний период. Это обусловлено тем, что из-за специфического набора пигментов их активная вегетация в прибрежной мелководной зоне происходит преимущественно в холодный период, когда

негативное воздействие высоких летних температур и инсоляции ослабевает.

Обнаружено, что АК *Callithamnion corymbosum*, *Polysiphonia subulifera*, *Laurencia coronopus* и *Gelidium spinosum* в условно чистых акваториях изменялась в диапазоне 18,04–36,7 мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$ , т.е. значения их АК также оказались близки к условной норме, рассчитанной для *S. virgatum*. У *Corallina elongata* и *Gelidium crinale* значения АК в условно чистых акваториях достигали  $68,4 \pm 8,5$  и  $71,3 \pm 6,19$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  соответственно, т.е. были несколько выше теоретически рассчитанной условной нормы для *Ceramium virgatum* (см. табл. 2).

Сезонные и физиологические циклы развития видов церамиума оказывали влияние на значения их АК. Так, в мае при активном выделении у них половых продуктов АК церамиума возрастала до  $105,59 \pm 7,34$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$ , а при подготовке к зиме и в зимний период — до  $60,65 \pm 2,33$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$ , что, соответственно, в 2,9 и 1,69 раз выше, чем в стационарном состоянии.

Влияние глубины произрастания от 1 до 10 м в условно чистых акваториях в весенне-летний период АК *Rhodophyta* снижалась до минимальных значений на глубине 10 м: у *S. virgatum* от  $80,65 \pm 9,33$   $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  до  $26,15 \pm 3,64$ , у *G. spinosum* — от  $332,14 \pm 29,17$  до  $91,8 \pm 10,11$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$ . Низкие значения АК выявлены у *Polysiphonia subulifera*, они колебались в пределах  $35,40 \pm 3,21$ – $8,5 \pm 0,47$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  с минимумом также на глубине 10 м. Увеличение АК у всех исследуемых красных макроводорослей в весенне-летний период обнаружено на глубине 3–5 м (рис. 3), где отмечен эколого-функциональный оптимум многих красных водорослей и максимальное видовое разнообразие фитоценозов (Мильчакова, 2003; Миничева, 2006). В условиях понижения температуры в зимний период тренд изменения АК с глубиной по сравнению с весенне-летним сезоном менялся на противоположный: обнаружено увеличение АК *S. virgatum* от  $50,35 \pm 4,29$  на глубине 1 м и до  $281,35 \pm 36,2$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  на глубине 10 м (см. рис. 3). Для *P. subulifera* также отмечено плавное возрастание значений АК в зимний период в диапазоне исследуемых глубин от  $37,3 \pm 8,6$  до  $101,15 \pm 2,4$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$ .

Практически у всех изученных видов *Rhodophyta* наблюдалась устойчивая ответная реакция АК на повышение уровня хозяйственно-бытового загрязнения, выражающаяся в увеличении активности каталазы. У видов *Ceramium* в весенне-летний период АК возрастала в 2–4 раза в загрязненных районах по сравнению с условно чистыми, достигая значений  $236,25 \pm 28,66$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  (см. табл. 2).

Наиболее существенный рост АК в отличающихся по степени загрязнения акваториях обнаружен у *Callithamnion corymbosum*, значения его АК увеличивались в сильнозагрязненных районах по сравнению с условно чистыми с  $18,04 \pm 2,01$  до  $235,17 \pm 32,71$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  (в 13 раз), у *Laurencia coronopus* — с  $38,9 \pm 5,84$  до  $320,48 \pm 27,41$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  (в 8,7 раза), а у *Gelidium spinosum* — с  $44,73 \pm 4,19$  до  $308,1 \pm 39,55$  мкг



$H_2O_2/g \cdot \text{мин}$  (в 7 раз). Сходные, но менее выраженные изменения выявлены у *Polysiphonia subulifera*, *Corallina elongata* и *Gelidium crinale*, значения АК которых выше в сильнозагрязненных районах по сравнению с условно чистыми, соответственно, в 4,24; 3,14 и 1,9 раза (см. табл. 2). Этот факт характеризует высокие адаптационные возможности видов *Rhodophyta*, находившихся, очевидно, на второй стадии адаптационного стресс-синдрома – стадии резистентности. При этом активизируются защитные силы организма и повышается его устойчивость к неблагоприятным воздействиям среды (Селье, 1979), что сопровождается увеличением АК. Аналогичные результаты получены другими исследователями, обнаружившими значительное увеличение АТФ-азной активности в талломах и повышение содержания фотосинтетических пигментов у *P. subulifera* в загрязненных акваториях по сравнению с условно чистыми в регионе Севастополя (Чепыженко, Оскольская, 2004). Это явление также свидетельствует об усилении метаболических процессов у макроводорослей при воздействии загрязнения, что характерно для второй адаптационной фазы токсического стресса.

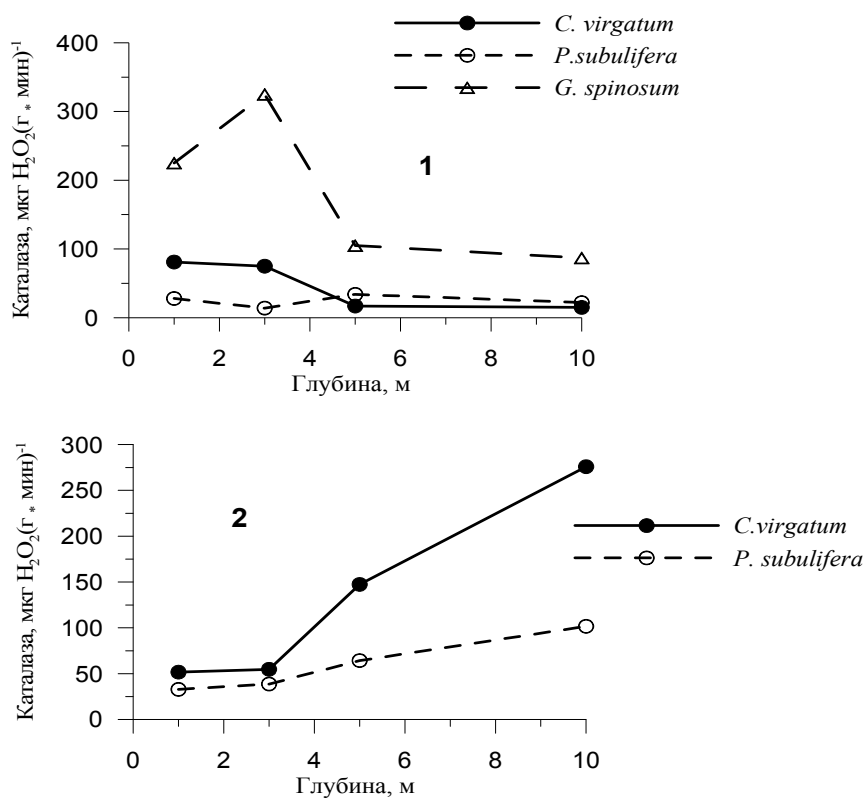


Рис. 3. Изменение активности каталазы красных водорослей *Ceramium virgatum*, *Polysiphonia subulifera* и *Gelidium spinosum* в весенне-летний (1) и зимний (2) периоды в б. Круглая (условно чистая акватория) на разной глубине

В загрязненных акваториях динамика АК *C. virgatum* на разной глубине существенно отличалась по сравнению с условно чистыми районами. Так, в б. Карантинной в весенний период (март, май) значения АК церамиума увеличивались в диапазоне глубин от  $24,36 \pm 5,84$  до  $117 \pm 21,9$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  на глубине 10 м (рис. 4). В б. Балаклавской, которая отличается максимально высоким уровнем загрязнения, отмечены самые высокие значения АК церамиума – 520 мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  на глубине 3 м и 330 мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  на глубине 5 м, что свидетельствует, вероятно, о существенном загрязнении этого горизонта акватории.

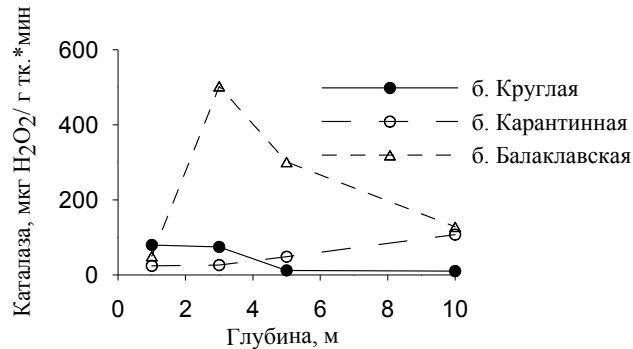


Рис. 4. Изменение активности каталазы *Ceramium virgatum* на глубине в весенний период в акваториях с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения (б. Круглая – условно чистая акватория, б. Карантиная – среднезагрязненная; б. Балаклавская – сильнозагрязненная)

В зимний период в акваториях со средним уровнем загрязнения динамика АК *C. virgatum* имела иную тенденцию. Её значения в б. Казачья снижались с  $65,4 \pm 11,3$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  на глубине 1 м до  $18 \pm 1,07$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  на глубине 10 м, тогда как в условно чистой акватории б. Круглая наблюдали плавное увеличение АК церамиума в исследуемом диапазоне глубин – от  $50,35 \pm 4,98$  до  $275,77 \pm 37,81$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \cdot \text{мин}$  (рис. 5).

Таким образом, наиболее выраженная ответная реакция на хозяйственно-бытовое загрязнение отмечена у *Rhodophyta* по сравнению с *Chlorophyta* и *Phaeophyta*. При исследовании общих закономерностей отклика АК зеленых, бурых и красных водорослей на изменение экологических условий обнаружено снижение АК в условно чистых акваториях в диапазоне глубин 1–10 м с некоторыми флуктуациями значений АК на глубине от 3 до 5 м. Преимущественно высокие показатели АК у макроводорослей на глубине 0,2–1 м, вероятно, обусловлены специфическими гидрологическими и биохимическими условиями прибойной зоны. Исследования этой зоны свидетельствуют о том, что не только гидрохимические и физические (насыщение вод кислородом, концентрация биогенных элементов, освещенность,

ультрафиолетовая радиация), но и биохимические параметры морской воды (активность протеолитических и антиоксидантных экзоферментов, содержание свободных радикалов) существенно изменяются с глубиной (Pamatmat, 1990; Longstaff et al., 2002).

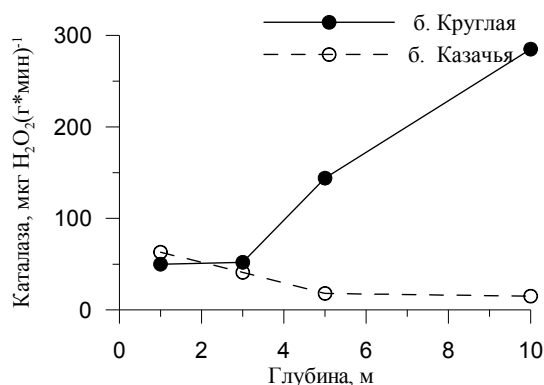


Рис. 5. Изменение активности каталазы *Ceramium virgatum* на глубине в зимний период в акваториях с различным уровнем загрязнения (б. Круглая – условно чистая акватория, б. Казачья – среднезагрязненная)

В прибойной береговой зоне зафиксировано увеличение концентрации перекиси водорода и супероксидного радикала  $O_2^-$ , которое связывают с высокой инсоляцией и интенсивным перемешиванием водных масс. Для этой зоны характерно также возрастание активности экзофермента каталазы в воде в результате мацерации талломов водорослей и поступления фермента из их клеток в окружающую среду (Pamatmat, 1990). Перечисленные факторы непосредственно влияют на большинство продукционных показателей водорослей, которые для многих из них максимальны на глубине 3–5 м, в зоне их эколого-ценотического оптимума (Милячакова, 2003; Миничева, 2006). Преимущественно высокие значения АК макроводорослей изученных видов разной таксономической принадлежности в этом диапазоне глубин свидетельствуют об их высоком антиоксидантном статусе, характерном для оптимальных условий их существования.

Сравнительные данные по ответной реакции АК макроводорослей из разных отделов на комплексное хозяйственно-бытовое загрязнение на глубине 0,2–1 м (средние значения АК для изученных видов) представлены на рис. 6.

Установлено, что максимальная ответная реакция на воздействие хозяйственно-бытового загрязнения характерна для *Rhodophyta* – увеличение АК в сильнозагрязненных районах по сравнению с условно чистыми составляло 4,1 раза в летний и 4,4 раза в зимний периоды. У *Chlorophyta* такая реакция на загрязнение проявлялась не всегда, однако отмечена тенденция увеличения их АК от слабо- к сильнозагрязненным

акваториям (в 1,3 раза). У *Phaeophyta* ответная реакция ферментативной АОС, ядром которой является каталаза, на антропогенное загрязнение в условиях исследуемых акваторий не обнаружена. Выявлено лишь незначительное снижение их АК в эвтрофных акваториях по сравнению с условно чистыми в 1,2 раза в летний сезон и отсутствие реакции на загрязнение в зимний. Отмечено значительное увеличение АК у бурых водорослей из условно чистых акваторий, связанное с сезонным понижением температуры по сравнению с весенне-летним периодом. Вероятно, адаптационные защитные механизмы *Phaeophyta* не в полной мере задействуют антиоксидантные ферментные системы, а связаны, как и у *Chlorophyta*, с активацией каротиноидной и аскорбатной системами защиты. Каротиноидная система защиты клеток от повреждающего действия свободного кислорода является более древней, чем ферментативная АОС:  $\alpha$ - и  $\beta$ -каротины были обнаружены в древнейших слоях палеозоя (Кальвин, 1972). Именно на этот период приходится появление высокоразвитых форм бурых водорослей, но обособление их в самостоятельную эволюционную ветвь произошло еще ранее (Комаров, 1961), до формирования высокоэффективных каталитических белковых систем. Более эволюционно молодыми являются *Rhodophyta*, они сформировались в основном в меловом периоде. Поэтому их ферментные системы более активны, чем у зеленых и бурых водорослей. Не стоит также исключать возможности влияния на адаптационные механизмы *Phaeophyta* салицилатной системы, которая увеличивает толерантность растений к стрессовым воздействиям и блокирует активность каталазы. Накапливающаяся в этом случае перекись водорода вызывает экспрессию защитных генов, которая повышает общую устойчивость организма. Этот механизм запускается при затяжных стрессах в условиях хронической интоксикации (Саловарова и др., 2007).

В последнее время получены новые данные о различных путях адаптации водных растений к воздействию стрессоров химической природы (Чукина, 2010). Так, у видов-аккумуляторов, которые не препятствуют проникновению токсических веществ в клетки своих талломов, адаптационные механизмы выражаются в общей инициации антиоксидантной системы, в активации АО ферментов и накоплении низкомолекулярных антиоксидантов, таких как глутатион, витамины А и Е, т.е. в увеличении общего АО пула, способствующего нейтрализации поглощенных токсических веществ. Адаптационная стратегия видов-отражателей направлена на формирование защитных механизмов, предотвращающих проникновение поллютантов в клетки организма. У них формируется более толстая клеточная стенка и наблюдается увеличение размеров клеток мезофилла. Эти изменения по сравнению с адаптационными процессами видов-аккумуляторов отличаются достаточно медленными темпами. Существуют также промежуточные при-

способительные формы, при которых растения включают адаптационные механизмы как первого, так и второго типа (Чукина, 2010). Согласно этой теории, можно предположить, что видами-аккумуляторами являются представители *Rhodophyta*, отражателями – *Phaeophyta*, а промежуточными приспособительными видами можно считать *Chlorophyta*.

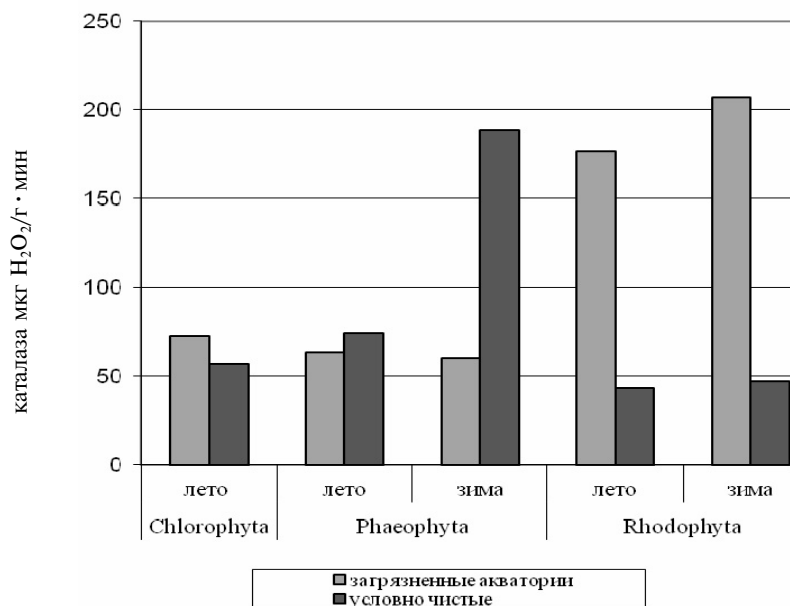


Рис. 6. Активность каталазы черноморских макроводорослей в весенне-летний и зимний периоды в акваториях с различным уровнем загрязнения (регион Севастополя)

### Заключение

Результаты изучения каталазной активности 18 массовых видов черноморских макроводорослей в регионе Севастополя показали максимальные значения АК у красных водорослей в сильнозагрязненных акваториях. Эти значения возрастали по сравнению с показателями в условно чистых акваториях в среднем в 2,5 раза. В этом градиенте загрязнения у зеленых водорослей выявлен промежуточный уровень АК (увеличение в 1,4 раза), а у бурых, за исключением *Cystoseira crinita*, не обнаружено варьирование значений АК.

Выявлено изменение ответной реакции антиоксидантной системы макроводорослей трех отделов на протяжении их жизненного цикла и показана ее связь с сезонными ритмами. При размножении зелёных водорослей значения их АК возрастали в 1,5–1,8 раза, красных – в 2,7, бурых – в 3,7 раза. Наиболее существенное увеличение значений АК

при подготовке к зиме по сравнению с весенним и летним периодами обнаружено у *Cystoseira barbata* (в 5,3 раза).

Изменение АК макроводорослей различных таксонов по глубинам в условно чистых акваториях зависит от сезона. В весенне-летний период у большинства изученных видов максимальные значения АК отмечены на глубине 1 м, минимальные – на глубине 10 м, зимой максимум АК красных водорослей зафиксирован на глубине 10 м, бурых – от 3 до 5 м. Влияние комплексного загрязнения на макроводоросли не выявило изменения активности каталазы на разной глубине и в определенные сезоны. Ее динамика, вероятно, была связана с загрязнением отдельных горизонтов акватории.

Сделано предположение, что большинство исследуемых красных водорослей относится к видам-аккумуляторам, бурых – к видам-отражателям, тогда как зелёные являются преимущественно промежуточными видами, которые используют адаптационную стратегию как первого, так и второго типа. Использование бурых водорослей, особенно *C. barbata* и *C. crinita*, с применением в качестве биомаркера активности каталазы при мониторинге загрязненности акваторий, по нашему мнению, нецелесообразно в связи со значительными флуктуациями величин этого показателя в зависимости от сезона и периодов размножения, а также с приуроченностью видов цистозир к условно чистым акваториям.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Алешко С.А. Активность антиоксидантных ферментов и уровень перекисного окисления липидов у рыб и двустворчатых моллюсков из залива Петра Великого (Японское море) // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Мат. науч. конф. (11–14 сент. 2007 г.). – Петрозаводск, 2007. – С. 13–14.
- Березов Т.Т. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – М.: Медицина, 1976. – С. 81–83.
- Бельчева Н.Н., Слободенюк А.Ф., Шулькин В.М. и др. Сравнительная оценка антиоксидантной защиты в трех популяциях мидии из загрязненной и чистых акваторий // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Мат. науч. конф. (11–14 сент. 2007 г.). – Петрозаводск, 2007. – С. 20–21.
- Громов В.В., Милютин Н.П., Афанасьев Д.А. Влияние различных видов загрязнения на морфо-биохимические параметры макрофитобентоса // Среда, биота и моделирование экологических процессов в Азовском море. – Апатиты: Изд-во КНЦ РАН, 2001. – С. 195–218.
- Губанов В.И., Стельмах Л.В., Клименко Н.П. Комплексные оценки качества вод Севастопольского взморья (Черное море) // Экол. моря. – 2002. – (62). – С. 76–80.
- Кальвин М. Химическая эволюция. – М.: Мир, 1972. – 239 с.

- Комаров В.Л. Происхождение растений. – М: Изд-во АН СССР, 1961. – 189 с.
- Мильчакова Н.А. Макрофитобентос // Современное состояние биоразнообразия прибрежных вод Крыма (черноморский сектор) / Под ред. В.Н. Еремеева, А.В. Гаевской. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. – С. 152–208.
- Мильчакова Н.А., Шахматова О.А. Каталазная активность массовых видов черноморских водорослей-макрофитов в градиенте хозяйственно-бытового загрязнения // Мор. экол. журн. – 2007. – 6(2). – С.44–57.
- Миничева Г.Г. Пространственная гетерогенность // Северо-западная часть Черного моря: биология и экология. – Киев: Наук. думка, 2006. – С. 215–219.
- Миронов О.Г., Кирюхина Л.Н., Алемов С.В. Санитарно-биологические аспекты экологии севастопольских бухт в XX веке. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. – 185 с.
- Муравьева И.П. Химический состав зеленой водоросли *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link из обрастаний причалов Севастопольских бухт (Черное море) // Экол. моря. – 2000. – (60). – С. 39–44.
- Овсяный Е.И., Романов А.С., Миньковская Р.Я. и др. Основные источники загрязнения морской среды Севастопольского региона // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное исследование ресурсов шельфа: Сб. науч. тр. – Севастополь, 2001. – Вып. 2. – С. 138–152.
- Павлова Е.В., Мурина В.В., Куфтаркова Е.А. Гидрохимические и биологические исследования в бухте Омега (Черное море, Севастопольский рейд) // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа: Сб. науч. тр. – Севастополь, 2001. – Вып. 2. – С. 159–176.
- Саловарова В.П., Приставка А.А., Берсенева О.А. Введение в биохимическую экологию. – Иркутск: Изд-во Иркут. гос. ун-та, 2007. – 159 с.
- Селье Г. Стресс без дистресса. – М.: Наука, 1979. – 811 с.
- Ткаченко Ф.П., Ситников Ю.А., Куцын О.Б. Состояние элементов антиоксидантной системы водорослей из разных по степени загрязненности районов Черного моря // Экол. моря. – 2004. – 4(6). – С. 70–74.
- Фридович И. Радикалы кислорода, пероксид водорода и токсичность кислорода // Свободные радикалы в биологии. – М.: Мир, 1979. – Т. 1–2. – С. 272–300.
- Чепыженко В.А., Оскольская О.И. Морфо-физиологический отклик представителей макрофитобентоса на параметры среды обитания // Экология: проблемы, решения – молодежное видение. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2004. – Т. 1. – С. 91–99.
- Чукина Н.В. Структурно-функциональные показатели высших водных растений в связи с их устойчивостью к загрязнению среды обитания: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Борок, 2010. – 25 с.
- Шахматова О.А. Активность антиоксидантной системы некоторых черноморских гидробионтов в прибрежной акватории Севастополя: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Севастополь, 2004. – 21 с.
- Шахматова О.А., Мильчакова Н.А. Активность каталазы черноморских видов

- Cystoseira* C. Ag. в различных экологических условиях // Альгология. – 2009. – **19**(1). – С. 34–46.
- Шахматова О.А., Парчевская Д.С. Активность каталазы и контроль качества воды // Там же. – 2000. – **10**(3). – С. 355–361.
- Aguilera J., Bishof K., Karsten U. Seasonal variation in ecophysiological pattern in macroalgae from an Arctic fjord. II. Pigment cumulation and biochemical defence system against high light stress // Mar. Biol. – 2002. – (140). – P. 1087–1095.
- Pamatmat M.M. Catalase activity: a variable affecting H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> distribution in Kiel Bight // Meeresforschung. – 1990. – **32**(4). – P. 261–275.
- Pinto E., Sigaud-Kutner T.Cs., Leitao M.As., Okamoto O.K., Morse D., Colepicolo P. Heavy metal-induced oxidative stress in algae // J. Phycol. – 2003. – **39**(6). – P. 1008–1018.

Поступила 24 апреля 2013 г.  
Подписала в печать Г.Г. Миничева

*O.A. Shakhmatova, N.A. Milchakova*

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of Southern Seas,  
2, Nakhimov Av., 99011 Sevastopol, Crime  
e-mail: oshakh@gmail.com; milcha@ibss.iuf.net

#### THE INFLUENCE OF ENVIRONMENTAL CONDITIONS ON THE CATALASE ACTIVITY OF BLACK SEA ALGAE MASS

Catalase activity (CA) of 18 Black Sea macrophytes (4 – *Chlorophyta*, 6 – *Phaeophyta* and 8 – *Rhodophyta*) in a gradient of household pollution was studied. Intervals CA found macroalgae, corresponding to the normal functioning of conventionally equal to *Ceramium virgatum* Roth – 57±12 mcg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/(g·min), for *Ulva intestinalis* L. – 34±9 mcg H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/(g·min), for *Cystoseira barbata* (Stackh.) C. Agardh – 64±15 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> mcg/(g·min) were detected. Comparative evaluation of CA macroalgae of different taxa to household pollution was described. Values of CA of the red algae was above in polluted waters, compared with relatively clean on average 2.5 time. CA of the green algae were increased by 1.4 times, and the brown, except *Cystoseira crinita* Duby, have not been found varying values of CA in a gradient of pollution. The change of macrophytes CA with the life cycle and by seasonal rhythms has been shown. During the reproduction period CA of the green algae has been increased values by 1.5–1.8 times, the red algae – 2.7 times, the brown species – 3.7 times. The CA of *C. barbata* was more compared in the winter and spring periods by 5.3 times. The maximum values of the CA of the macroalgae species were found at the 1 m depth at the spring and summer time, the minimum values of AC were marked on the 10 m depth. In winter period the maximum of CA red algae was recorded at 10 m depth, the brown species is at 3 to 5 m depth. The conclusion about the differences in the adaptation strategy antioxidant system in red, green and brown macroalgae has been done.

**Key words:** catalase activity, macrophytes, adaptation, household pollution, Black Sea.