



УДК 577.1:582.271./275:628.19 (262.5)

**Н. А. Мильчакова**, канд. биол. наук, с. н. с., **О. А. Шахматова**, канд. биол. наук, н. с.

Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского Национальной академии наук Украины,  
Севастополь, Украина

### КАТАЛАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ МАССОВЫХ ВИДОВ ЧЕРНОМОРСКИХ МАКРОВОДОРΟΣЛЕЙ В ГРАДИЕНТЕ ХОЗЯЙСТВЕННО-БЫТОВОГО ЗАГРЯЗНЕНИЯ

Представлены результаты исследования активности каталазы 18 массовых видов зелёных, бурых и красных черноморских макроводорослей. Выявлена их реакция на интенсивность хозяйственно-бытового загрязнения. Анализ изменения активности каталазы в градиенте от слабо- к сильнозагрязнённым акваториям показал, что максимальный отклик характерен для красных водорослей, средний – зелёных, реакция бурых была минимальна. Проведено ранжирование макроводорослей разных отделов по степени отклика их антиоксидантной системы на хозяйственно-бытовое загрязнение; выявлены таксоны, у которых он наиболее высок. К видам-индикаторам отнесены красные водоросли *Callithamnion corymbosum*, *Laurencia coronopus* и *Gelidium spinosum*. Обнаружено повышение исследуемого показателя антиоксидантной системы водорослей в течение жизненного цикла и сезонных ритмов.

**Ключевые слова:** макроводоросли, каталазная активность, хозяйственно-бытовое загрязнение, метаболические стратегии, Чёрное море

Индустриализация береговой зоны, рост рекреационных услуг способствовали существенному увеличению поступающих в море хозяйственно-бытовых стоков. Вследствие этого во многих районах Мирового океана регистрируется ухудшение состояния прибрежных экосистем, в том числе макрофитов, их основного продукционного звена [37, 38]. Ежегодный сброс хозяйственно-бытовых стоков в акваторию Чёрного моря достиг 571 млн. м<sup>3</sup>, из которых на регион Севастополя приходится 10.8 % [21, 38]. Возросшее эвтрофирование оказало негативное влияние на состав и структуру сообществ макрофитобентоса, что привело к сокращению видового разнообразия многолетних видов, декумбации ярусов, снижению биомассы видов-доминантов и сокращению диапазона варьирования их популяционной структуры [15].

В сложившихся условиях поиск среди макрофитов биомаркёров качества морской среды является актуальной научно-практической задачей. При их выявлении чаще всего используют системные биохимические показатели. Среди последних антиоксидантная система (АОС) является наиболее чувствительной, отличаясь универсальным откликом на любое воздействие, в том числе токсическое. Такой отклик включает адаптивные изменения, связанные с активацией АОС в ответ на увеличение концентрации в клетке токсичных кислородных метаболитов, вызывающих нарушение окислительно-восстановительного потенциала мембран, а также деструктивные изменения белков, жиров и нуклеиновых кислот. Важнейшим ферментом, обеспечивающим защиту клетки от продуктов свободнорадикального окисления является каталаза (Е.С. 1.11.16) (КАТ).

Поскольку этот фермент, как и другие показатели АОС гидробионтов, включая макроводоросли, отличаются быстротой и универсальностью реакции на увеличение концентрации различных поллютантов, они служат надежным критерием комплексного загрязнения морских акваторий [12, 29, 31, 32, 39]. Так, в ряде прибрежных регионов такое загрязнение охарактеризовано по показателям АОС моллюсков и рыб [24, 32, 34, 35, 36], для некоторых черноморских акваторий для этих целей используют макроводоросли [6, 13, 17, 29, 30, 31], не учитывая, однако, их экологические особенности и жизненный цикл. Целью настоящей работы явилось изучение активности каталазы (АК) массовых черноморских макроводорослей, отличающихся продолжительностью вегетации и жизненного цикла, в градиенте хозяйственно-бытового загрязнения, а также выявление видов-индикаторов, характеризующих интенсивность его воздействия.

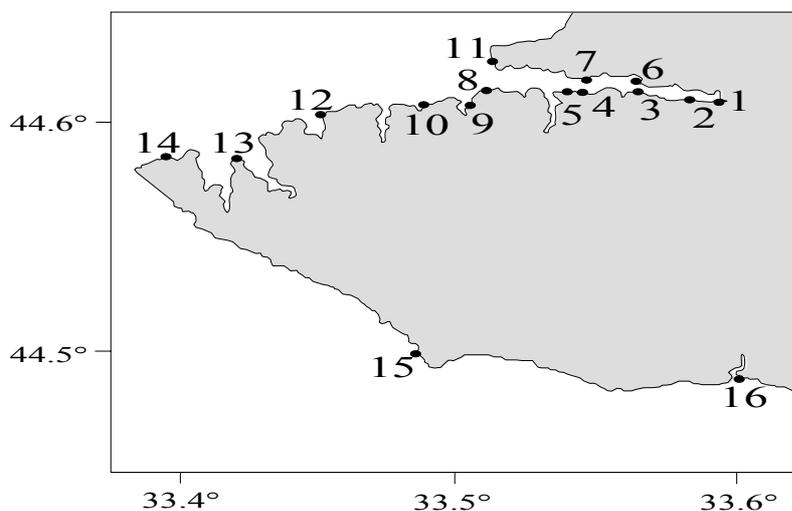


Рис. 1 Схема расположения станций в б. Севастопольская и прилегающих акваториях

Fig.1 Map of the station in Sevastopol Bay and nearest coastal zone

1 - устье р. Черная, 2 - ГРЭС, 3 - Троицкая балка, 4 - Ушакова балка, 5 - Аполлонова балка, 6 - б. Голландия, 7 - б. Северная, 8 - б. Мартынова, 9 - б. Карантинная, 10 - прибрежно-аквальный комплекс (ПАК) у Херсонесского историко-археологического заповедника, 11 - м. Коса Северная, 12 - м. Восточный (б. Круглая), 13 - м. Коса Средняя (б. Казачья), 14 - м. Херсонес, 15 - м. Фиолент, 16 - м. Балаклавский.

Влияние на АК особенностей жизненного цикла, связанных с размножением, проводили на талломах *Cystoseira barbata*, возраст которых не превышал 2 – 3 лет. Их отбирали еженедельно в период массового пула половых клеток – с апреля по май [10].

Определение АК водорослей выполняли по методу [2], основанному на способности

**Материал и методы.** Исследования выполнены для 18 видов водорослей, из которых 4 относятся к зелёным, 6 – бурым и 8 – красным (табл. 1). Их названия даны в соответствии с современными номенклатурными изменениями и по последней таксономической ревизии [15, 16].

Материал собран в регионе Севастополя на 16 прибрежных станциях (глубина от 0.2 до 1 м), из которых 7 расположены в б. Севастопольская, а остальные – на открытом взморье и у входа в б. Балаклавскую (рис. 1). Образцы водорослей отбирали в период их активной вегетации у выхода коллекторов хозяйственно-бытовых стоков или в непосредственной близости от них с 2004 по 2005 гг. Изучение АК у однолетних и сезонных водорослей проводили на зрелых, сформированных талломах, у многолетних видов исследовали образцы одной возрастной генерации.

каталазы разлагать перекись водорода на кислород и воду. Все анализы были проведены через 30 мин – 1 ч после отбора образцов. Их доставляли в лабораторию в сосудах с морской водой объёмом до 2 л, в каждом из которых находилось 1 – 2 г талломов исследуемого вида.

Табл. 1 Эколого-сапробионтная характеристика исследуемых видов черноморских макроводорослей  
Table 1 Ecological characteristics of the Black Sea macroalgae and their groups by reaction on sewage pollution

| Вид   | Продолжительность вегетации, по [10] | Встречаемость во флоре, по [10] | Сапробионтность, по [19] | Сапробионтность, по [19] |
|---|--------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Chlorophyta   |                                      |                                 |                          |                          |
| <i>Chaetomorpha aërea</i> (Dillw.) Kütz.  | о*                                   | с*                              | -                        | Ос                       |
| <i>Cladophora albida</i> (Nees) Kütz.   | о                                    | с                               | Mc                       | Mc                       |
| <i>Enteromorpha intestinalis</i> (L.) Nees  | о                                    | в                               | Пс                       | Пс                       |
| <i>Ulva rigida</i> C. Ag.   | м                                    | в                               | Пс                       | Mc                       |
| Ochrophyta (=Phaeophyta)  |                                      |                                 |                          |                          |
| <i>Cystoseira barbata</i> C. Ag.  | м                                    | в                               | Безразлично              | Ос                       |
| <i>Cystoseira crinita</i> (Desf.) Bory  | м                                    | в                               | Mc                       | Ос                       |
| <i>Cladostephus spongiosus</i> (Huds.) C. Ag. (= <i>Cladostephus verticillatus</i> (Lightf.) C. Ag.)              | м                                    | в                               | Mc                       | Ос                       |
| <i>Dilophus repens</i> (J. Ag.) J. Ag. (= <i>Dilophus fasciola</i> var. <i>repens</i> (J. Ag.) J. Feldm.)         | с-л                                  | в                               | Mc                       | Ос                       |
| <i>Padina pavonica</i> (L.) Lamour.   | с-л                                  | в                               | Ос                       | Ос                       |
| <i>Scytosiphon simplicissimus</i> (Clemente) Cremades (= <i>Scytosiphon lomentaria</i> (Lyngb.) Link.)            | с-з                                  | в                               | Безразлично              | Mc                       |
| Rhodophyta  |                                      |                                 |                          |                          |
| <i>Callithamnion corymbosum</i> (Sm.) Lyngb.  | о                                    | в                               | Пс                       | Пс                       |
| <i>Ceramium siliquosum</i> (Kütz.) Maggs et Hommers (= <i>Ceramium diaphanum</i> var. <i>diaphanum</i> G. Feldm.) | о                                    | в                               | Mc-Пс                    | Пс                       |
| <i>Ceramium rubrum auctorum</i>   | о                                    | в                               | Mc-Пс                    | Пс                       |
| <i>Corallina elongata</i> J. Ellis et Solander (= <i>Corallina mediterranea</i> J. E. Areschoug)                  | о                                    | в                               | -                        | Ос                       |
| <i>Gelidium crinale</i> (Turner) Gaillon  | м                                    | в                               | Mc                       | Mc                       |
| <i>Gelidium spinosum</i> (S. G. Gmelin) P. C. Silva (= <i>Gelidium latifolium</i> Bornet ex Hauck)                | м                                    | в                               | Mc                       | Mc                       |
| <i>Laurencia coronopus</i> J. Ag.   | м                                    | в                               | Ос-Mc                    | Ос                       |
| <i>Polysiphonia subulifera</i> (C. Ag.) Harv.   | о                                    | в                               | Ос-Mc                    | Ос                       |

\*о - однолетние; м - многолетние; с - л - сезонно-летние; с - з - сезонно-зимние; с- - сопутствующие; в - ведущие виды; Ос - олигосапробная; Mc - мезосапробная; Пс - полисапробная группа; прочерк означает отсутствие данных

При подготовке водорослей к анализу навеску в 500 мг растирали на холоду с физиологическим раствором в гомогенизаторе, затем центрифугировали при 8 тыс. об/мин в течение 15 мин. В дальнейшем работали с 10 % гомогенатом ткани. В пробу с вытяжкой растительной ткани добавляли строго определенное количество перекиси и оставляли на 30 мин для прохождения реакции. Остаточное количество перекиси оттитровывали раствором перманганата калия в кислой среде. Талломы однолетних водорослей гомогенизировали полностью, а у многолетних видов использовали только части таллома годичного прироста. Количество па-

раллельных измерений колебалось от 3 до 9, полученные данные обработаны статистически.

**Результаты и обсуждение.** Прибрежные акватории исследуемых районов характеризуются различной степенью антропогенного загрязнения, наиболее существенно они отличаются по ежегодному объёму поступающих хозяйственно-бытовых стоков. Учитывая опубликованные данные, акватории были отнесены к трём категориям по степени их загрязнения хозяйственно-бытовыми стоками (табл. 2): сильнозагрязнённые (все станции б. Севастопольская, б. Карантинная и м. Балаклавский), среднезагрязнённые (м. Херсонес,

прибрежно-аквальный комплекс (ПАК) у Херсонесского историко-археологического заповедника, б. Казачья) и условно чистые (м. Коса Северная, вход в б. Круглая, м. Фиолент). На качество вод б. Севастопольская наиболее существенное влияние оказывают [4, 21]: поступление сточных вод из 30 выпусков общим годовым объёмом 1673 тыс. м<sup>3</sup>/год (до 10 – 15 тыс. м<sup>3</sup>/сут), вынос минеральных и органических веществ, тяжелых металлов (9 т/год), нефтяных углеводородов (до 7 ПДК), а также интенсивное судоходство (11 км причальных стенок). Летняя стагнация вод, разложение ав-

тохтонного и аллохтонного органического вещества часто приводят к гипоксии придонного слоя, которая регистрируется от устья р. Черная до середины бухты [5]. По данным гидрохимических исследований, б. Севастопольская также отнесена к сильнозагрязнённым и имеет IV класс качества [7]. В акваториях со средней степенью загрязнения объём ежегодно поступающих хозяйственно-бытовых стоков до двух порядков ниже, а в условно чистых они либо отсутствуют, либо функционируют только ливневые или аварийные стоки [21].

Табл. 2 Общая характеристика загрязнения донных осадков и морских вод исследуемых акваторий Севастопольского региона (по [4, 7, 14, 18, 21, 22, 23, 26])

Table 2 General characteristic of the bottom and water pollution on stations of Sevastopol region by [4, 7, 14, 18, 21, 22, 23, 26]

| Станции                      | Объём хозяйственно-бытовых стоков, тыс. м <sup>3</sup> /год, по [21] | Содержание в донных осадках, мг/100г, по [18] |         | Содержание в воде, мкм/л, по [4, 7, 14, 21, 22, 23, 26] |                              |                              |                               |
|------------------------------|--|---|---------|---|------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
|                              |  | 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> |
| Сильнозагрязнённые акватории |  |   |         |   |                              |                              |                               |
| Устье р.Черная               | 13   | 0.32  | 34.0    | 2-17  | 0.15–0.35                    | 1-3                          | 0.1–0.15                      |
| ГРЭС                         | 176  | 0.2-0,76                                      | 34-250  | -   | -                            | -                            | -                             |
| Троицкая балка               | 330  | 0.76-2,22                                     | 250-710 | 0.11  | 2.1                          | 0.8-1.2                      | 0.06                          |
| Ушакова балка                | 22   | 2.22  | 710.4   | 0.02  | 0-9                          | 0.25-1.5                     | 1-3.8                         |
| б. Голландия                 | 280  | 3.56  | 1708.8  | 0.11  | 0-10                         | 1-2                          | 0.05-0.12                     |
| б. Северная                  | 330  | 0.58  | 82.0    | -   | -                            | -                            | -                             |
| б. Мартыновая                | 7.6  | -   | -       | 0.001   | 0.5                          | 1.17-2.0                     | 0.001                         |
| б. Карантинная               | 547  | 0.12  | 34.0    | 0.04  | 0.92                         | 0.44                         | 0.14                          |
| м. Балаклавский              | 3285   | -   | -       | 0.22  | 5.06                         | 3.72                         | 0.4                           |
| Среднезагрязнённые акватории |  |   |         |   |                              |                              |                               |
| м. Херсонес                  | 9-18   | -   | -       | -   | -                            | -                            | -                             |
| б. Казачья                   | -  | 0.02  | следы   | 0.06-0.32   | 0.12-0.67                    | 0.006-4.1                    | 0.002-0.21                    |
| Условно чистые акватории     |  |   |         |   |                              |                              |                               |
| б. Круглая                   | нет  | 0.01  | следы   | 0.04-0.07   | 0.02–0.6                     | 0.11-0.33                    | 0.4                           |
| м. Фиолент                   | -  | -   | -       | -   | -                            | -                            | -                             |

\* Ахл – содержание битумоида, экстрагированного хлороформом, НУ – содержание нефтеуглеводородов в донных осадках; прочерк означает отсутствие данных

На рис. 2 представлены данные по АК зелёных водорослей, большинство видов которых относится к однолетним (табл. 1), с пиком вегетации и размножения в весенний период [9]. Выявлено, что величина АК *Chaetomorpha aërea*, произрастающей в условно чистом районе (м. Восточный, б. Круглая), выше, чем в

среднезагрязнённых акваториях (ПАК у Херсонесского историко-археологического заповедника, м. Херсонес) в 2.5 – 5.5 раз (рис.2). Диапазон варьирования АК у *C. aërea* в сравниваемых районах составляет от 10 – 21 до 55 мкг Н<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/г ткани•мин соответственно.

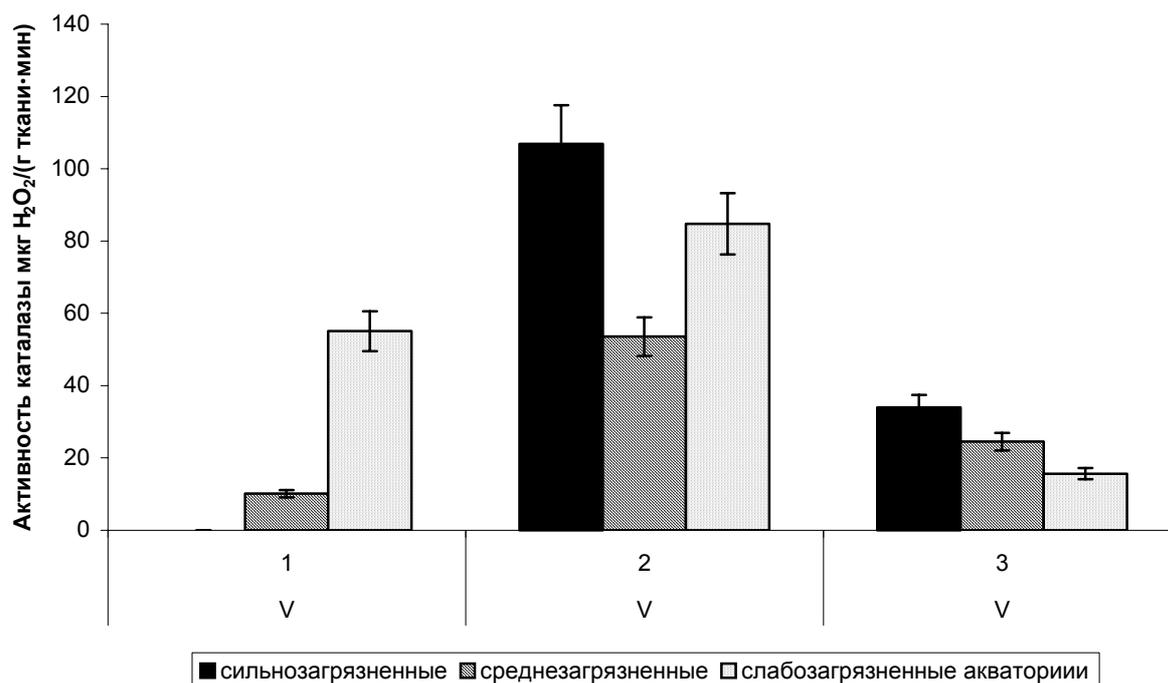


Рис. 2 Изменение активности каталазы зелёных водорослей на станциях с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения (май 2004): 1 - *Chaetomorpha aërea*; 2 - *Cladophora albida*; 3 - *Enteromorpha intestinalis*, сильнозагрязнённые акватории: ГРЭС, Ушакова балка, б. Голландия; среднезагрязнённые: ПАК у Херсонесского историко-археологического заповедника, м. Херсонес; условно чистые: м. Восточный (б. Круглая)  
Fig. 2 The change of catalase activity of green algae on station with different level of sewage pollution (May, 2004)

У *Cladophora albida*, произрастающей в б. Севастопольская, значение АК было максимальным среди зелёных водорослей, и вдвое выше, чем в менее загрязнённых акваториях (107 и 51 – 54 мкг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/г ткани·мин соответственно). В условно чистом районе (м. Восточный, б. Круглая) у этого вида наблюдается увеличение АК в полтора раза (рис. 2). Наиболее значительное колебание величины АК в градиенте хозяйственно-бытового загрязнения зарегистрировано у *Enteromorpha intestinalis* – от 16 до 34 мкг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/г ткани·мин, которая возрастает от условно чистых к сильнозагрязнённым акваториям более чем вдвое. Ранее был рассчитан 95% доверительный интервал средних значений АК у *E. intestinalis*, произрастающей в регионе Севастополя; его предложено считать оценкой нормы этого вида – от 25 до 43 мкг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/г ткани·мин [29, 30]. По нашим данным, величина АК *E. intestinalis* на станциях с разным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения была

близка к нормальной; с ростом загрязнения у неё наблюдалась тенденция к увеличению АК. Другие исследователи, отмечая приуроченность *E. intestinalis* к сильно загрязнённым водам, указывают на увеличение активности ферментов ее АОС в условно чистых районах, объясняя это тем, что вид испытывает метаболический стресс при снижении концентрации биогенных элементов в воде [6]. Вместе с тем, можно предположить, что адаптация энтероморфы к неблагоприятным условиям среды и, прежде всего, хозяйственно-бытовому загрязнению, происходит не за счёт увеличения активности ферментов АОС, а по пути возрастания концентрации каротиноидов, которые являются второй линией защиты клетки от воздействия свободных радикалов. Так, в талломах *E. intestinalis*, произрастающей в условиях комплексного загрязнения акваторий, было выявлено значительное увеличение содержания каротиноидов [20].

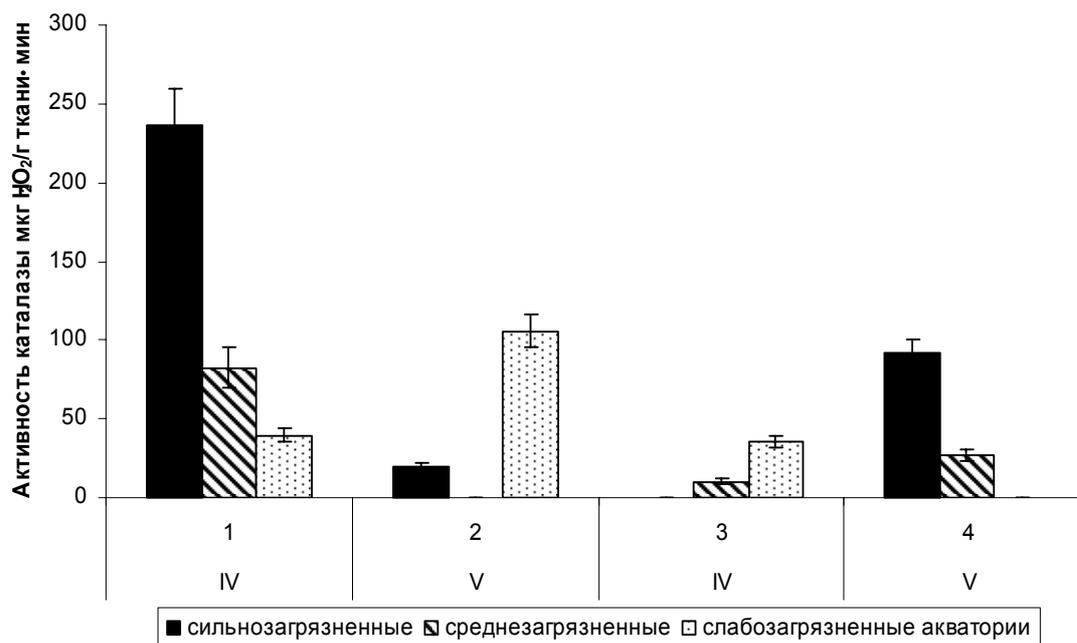


Рис. 3 Изменение активности каталазы видов *Ceramium* в весенний период (апрель – май, 2004) на станциях с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения: 1, 2 - *Ceramium rubrum auctorum*; 3, 4 - *Ceramium siliquosum*; сильнозагрязнённые акватории: ГРЭС, б. Карантинная, м. Балаклавский, Троицкая балка; среднезагрязнённые: ПАК у Херсонесского историко-археологического заповедника, б. Казачья, м. Херсонес; условно чистые: м. Восточный (б. Круглая).

Fig. 3 The change of catalase activity of *Ceramium* spp. during spring season (April – May, 2004) in area with different level of sewage pollution

Наиболее высокие значения АК отмечены у *Ulva rigida* из сильнозагрязнённых акваторий (б. Карантинная, м. Балаклавский), - 20 и 29 мкг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/г ткани•мин соответственно. Поскольку в период наших исследований ульва в других акваториях не была обнаружена, выявить тенденцию изменения её АК в градиенте хозяйственно-бытового загрязнения не удалось. Тем не менее, известно, что АК у *U. rigida*, произрастающей вблизи выпуска сточных вод, в 4 раза выше, чем в других районах [13].

Данные по АК красных водорослей представлены на рис. 3 и 4. Наиболее выраженная связь АК с уровнем хозяйственно-бытового загрязнения выявлена у видов *Ceramium*. Так, в апреле значения АК *C. rubrum auctorum* (рис. 3) были в 3 – 6 раз выше в силь-

нозагрязнённых акваториях б. Севастопольская, по сравнению с условно чистыми (м. Восточный, б. Круглая), и варьировали от 39.69±7,56 до 125.0±10,5 и 236.25±8.66 мкг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/г ткани•мин. На среднезагрязнённых участках (ПАК у Херсонесского историко-археологического заповедника, м. Херсонес) значения АК церамииума изменялись от 26 до 83 мкг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/г ткани•мин и были близки к таковым для слабозагрязнённых акваторий. Таким образом, увеличение значений АК *C. rubrum auctorum* с возрастанием уровня хозяйственно-бытового загрязнения сходно с таковым зелёной водоросли *Enteromorpha intestinalis*. Расчитанные ранее значения АК *C. rubrum auctorum*, отнесённые к норме вида, составляют 45 – 69 мкг H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/г ткани•мин [29, 31].

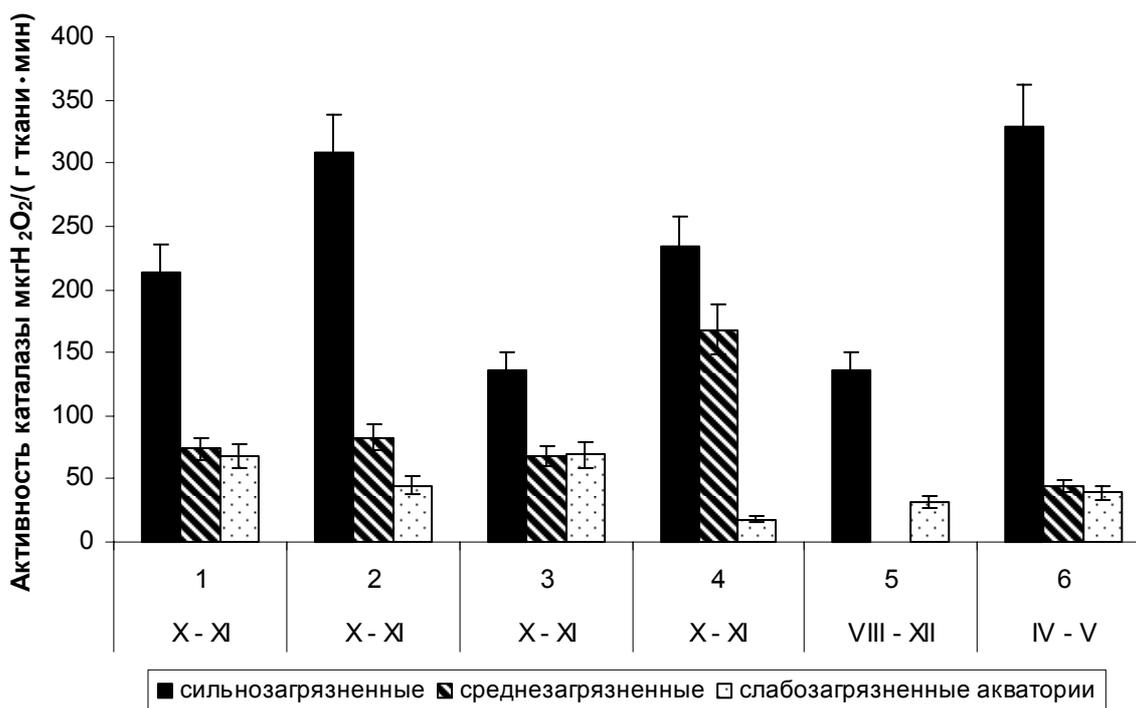


Рис. 4 Изменение активности каталазы красных водорослей в осенне-зимний и весенний периоды на станциях с различным уровнем загрязнения: 1 – *Corallina elongata*; 2 – *Gelidium spinosum*; 3 – *G. crinale*; 4 – *Calolithamnion corymbosum*; 5 – *Polysiphonia subulifera*; 6 – *Laurencia coronopus*; сильнозагрязнённые акватории: б. Карантинная, м. Балаклавский, б. Северная, б. Мартыновская; среднезагрязнённые: ПАК у Херсонесского историко-археологического заповедника, м. Херсонес; условно чистые: м. Восточный (б. Круглая), м. Фиолент.

Fig. 4 The change of catalase activity of red algae in autumn, winter and spring seasons in area with different level of sewage pollution

В апреле в сильнозагрязнённых районах (ГРЭС, б. Карантинная) значения АК церрамиума превысили максимальную величину нормы в 1.8 – 3.4 раза, тогда как в слабозагрязнённых акваториях (м. Восточный, б. Круглая) она была ниже её минимального значения. В мае обнаружена обратная закономерность: значения АК *C. rubrum auctorum* из условно чистых районов превышали таковые растений из сильнозагрязнённых акваторий в 3 – 5 раз (рис. 3). Это противоречие, выявленное для одного сезона, вероятно, объясняется тем, что в мае при благоприятных условиях и отсутствии постоянного хозяйственно-бытового загрязнения, у *C. rubrum auctorum* активизируются рост, развитие и размножение [9]. Это подтверждается обнаружением на талломах церрамиума, собранных вблизи м. Восточный

(б. Круглая), значительного количества органов полового и бесполого размножения.

Возможно, низкие значения АК *C. rubrum auctorum* в конце весеннего периода в загрязнённых акваториях свидетельствуют об угнетении метаболических процессов и снижении пула антиоксидантной ёмкости вида на третьей фазе общего адаптационного синдрома – фазе истощения, которой заканчивается всякий затяжной хронический стресс [6, 25]. По нашему мнению, к такому стрессу для водорослей относится воздействие хронического хозяйственно-бытового загрязнения акваторий, особенно в б. Карантинная и у м. Балаклавский, где зафиксированы максимальные объёмы ежегодных стоков (табл. 2).

Влияние особенностей жизненного цикла *C. rubrum auctorum* на динамику АК было изучено на образцах, собранных с апреля по май в слабозагрязнённом районе (м. Восточный, б. Круглая). Если в первой декаде апреля величина АК была близка к рассчитанной условной норме, то в последней она возросла вдвое – до  $72 \text{ мкг H}_2\text{O}_2/\text{г ткани}\cdot\text{мин}$ . В начале мая АК достигла  $105.59 \pm 7.34 \text{ мкг H}_2\text{O}_2/\text{г ткани}\cdot\text{мин}$ , что соответствовало пику размножения вида и максимальному пулу половых продуктов. В конце месяца АК церамиума уменьшается до  $80.32 \pm 4.33 \text{ мкг H}_2\text{O}_2/\text{г ткани}\cdot\text{мин}$ , при этом регистрируется и существенное снижение интенсивности его размножения. Таким образом, половое размножение *C. rubrum auctorum* сопровождается увеличением АК в 2.7 раза. В зимний период значения АК церамиума из среднезагрязнённых акваторий были сходны с весенними и ниже, чем в районах с другой степенью загрязнения (рис. 3).

Для *Ceramium siliquosum* отмечена иная, по сравнению с *C. rubrum auctorum*, тенденция изменения АК в градиенте хозяйственно-бытового загрязнения (рис. 3). Так, в условно чистом районе (м. Восточный, б. Круглая) АК этого вида составила  $35.91 \pm 5.83 \text{ мкг H}_2\text{O}_2/\text{г ткани}\cdot\text{мин}$ , её величина была близкой к оценке нормы для *C. rubrum auctorum* [31]. У *C. siliquosum*, произрастающего в средне- (м. Херсонес, ПАК у Херсонесского историко-археологического заповедника) и сильнозагрязнённых (б. Севастопольская, Троицкая балка) акваториях, величина АК соответственно в 1.3 – 3.6 раза выше и в 2.5 раза ниже, чем в условно чистых районах (рис. 3). Очевидно, что выявленное варьирование величин АК *C. siliquosum* свидетельствует о нерегулярности отклика АОС вида на интенсивность хозяйственно-бытового загрязнения.

У других красных водорослей АК изучена, в основном, в осенне-зимний период (рис. 4). Это обусловлено тем, что из-за специфического набора пигментов их активная веге-

тация в прибрежной мелководной зоне наблюдается преимущественно в холодный период года, когда негативное воздействие высоких летних температур и инсоляции ослабевает. У *Callithamnion corymbosum*, *Corallina elongata*, *Gelidium crinale*, *G. spinosum*, *Laurencia coronopus* и *Polysiphonia subulifera* обнаружена тенденция возрастания значений АК с увеличением степени хозяйственно-бытового загрязнения акваторий (рис. 4). Наиболее существенное повышение её значений в разных районах характерно для *C. corymbosum*. У этого вида значения АК возрастают с увеличением загрязнения в 13 раз (от 18.04 до 235.17  $\text{мкг H}_2\text{O}_2/\text{г ткани}\cdot\text{мин}$ ), у *L. coronopus* – в 8.7 раз (от 38.9 до 328.9  $\text{мкг H}_2\text{O}_2/\text{г ткани}\cdot\text{мин}$ ), а у *G. spinosum* – в 7 раз (от 44.73 до 308.1  $\text{мкг H}_2\text{O}_2/\text{г ткани}\cdot\text{мин}$ ). Сходные, но менее выраженные изменения выявлены у *P. subulifera*, *C. elongata* и *G. crinale*, значения их АК повышаются с увеличением загрязнения в 4.24; 3.14 и 1.9 раза соответственно. Это свидетельствует о высоких адаптационных возможностях исследуемых видов красных водорослей, находящихся, очевидно, на второй стадии адаптационного стресс-синдрома – стадии резистентности, которая характеризуется повышением устойчивости организма к неблагоприятным условиям среды [25]. Такой вывод подтверждают данные по увеличению содержания фотосинтетических пигментов и АТФ-азной активности до максимальных значений у *P. subulifera* из загрязнённых акваторий региона Севастополя по сравнению с условно чистыми [28].

На рис. 5 и 6 отражены изменения АК 6 видов бурых водорослей, произрастающих преимущественно на условно чистых и среднезагрязнённых участках побережья. Анализ значений АК этих видов не выявил их существенного варьирования в акваториях с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения, при этом у большинства бурых водорослей величина АК была сходной (рис. 5).

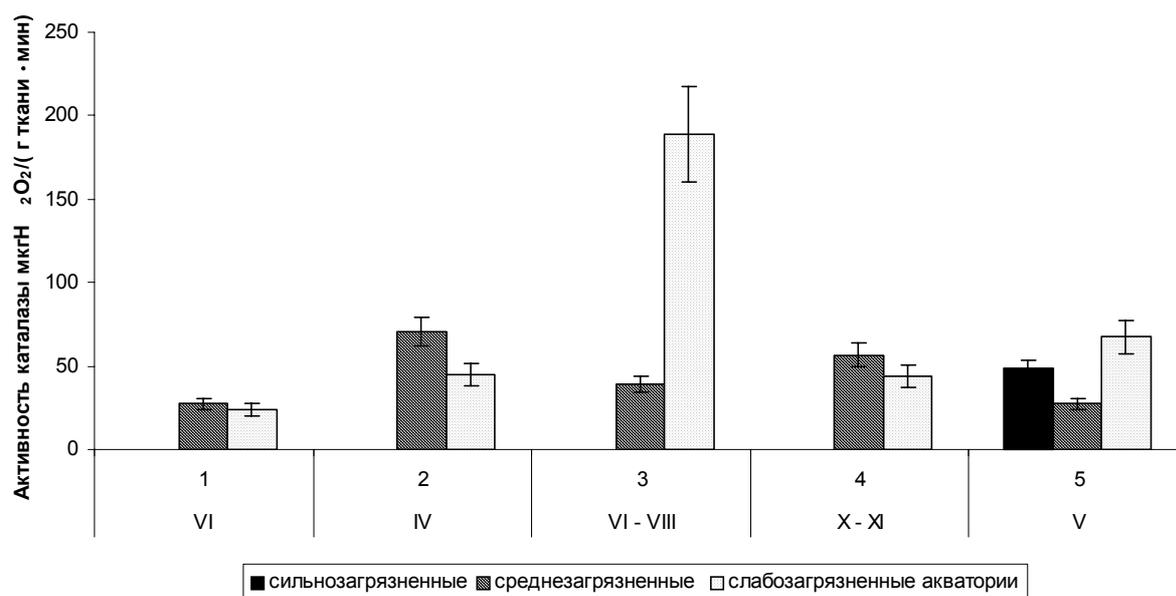


Рис. 5 Изменение активности каталазы бурых водорослей в весенне-зимний период на станциях с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения: 1 - *Dilophus repens*, 2 - *Cladostephus spongiosus*, 3, 4 – *Padina pavonica*, 5 - *Scytosiphon simplicissimus*, сильнозагрязнённые акватории: Аполлонова балка; среднезагрязнённые: ПАК у Херсонесского историко-археологического заповедника, м. Херсонес; условно чистые: м. Восточный (б. Круглая)

Fig. 5 The change of catalase activity of brown algae (spring – winter) in area with different level of sewage pollution

Значительное возрастание значений АК при снижении уровня загрязнения обнаружено только у *Padina pavonica* в период её активной вегетации с июля по август – в 4.82 раза (от 39.37 до 189.64 мкг Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г ткани·мин). Сходная, но менее выраженная тенденция наблюдается у видов *Cystoseira* (рис. 6). Тем не менее, у *Cystoseira barbata* из условно чистых районов зафиксировано существенное увеличение значений АК с первой по последнюю декаду мая – в 3.7 раза (от 59.23 до 217.35 мкг Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г ткани·мин). Такое повышение АК, вероятно, вызвано активизацией обменных процессов при половом размножении *C. barbata* и пулом её половых клеток, наблюдающихся в этот период [10]. Увеличение АК у этого вида цистозиры в осенне-зимний период (рис. 6), по сравнению с весенним периодом размножения, в 5.3 раза (до 400.7 мкг Н<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г ткани·мин) обусловлено, скорее всего, усилением метаболических процессов при подготовке растений к зиме, когда у них активизируется синтез за-

пасных питательных веществ. Во всяком случае, факт повышения концентрации белка в зимний период был зафиксирован у зелёной водоросли *Enteromorpha intestinalis* [20], а у некоторых видов рыб наблюдали усиление активности ферментов АОС как в процессе размножения, так и при подготовке к зиме [35].

Можно предположить, что выявленные изменения значений АК бурых водорослей обусловлены, по всей видимости, естественными физиологическими процессами и не являются реакциями токсического стресса. Они, вероятно, связаны с иными путями их адаптационных механизмов по сравнению с зелёными и красными водорослями. У бурых водорослей снижение уровня активности ферментов АОС компенсируется повышением концентрации β - каротина, который обладает способностью обезвреживать свободные радикалы, превращая их в нейтральные соединения [6].

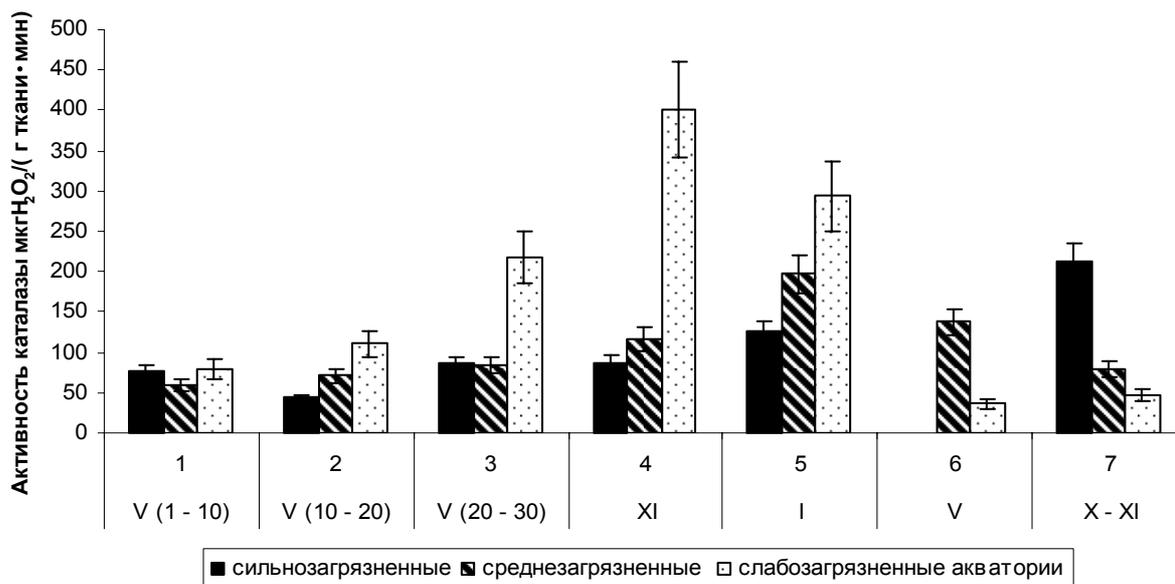


Рис. 6 Изменение активности каталазы видов *Cystoseira* в весенне-зимний период на станциях с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения: 1 – *Cystoseira barbata*, май (1-я декада); 2 – *Cystoseira barbata*, май (2-я декада); 3 – *Cystoseira barbata*, май (3-я декада); 4 – *Cystoseira barbata*, ноябрь; 5 – *Cystoseira barbata*, январь; 6 – *Cystoseira crinita*, май; 7 – *Cystoseira crinita*, октябрь – ноябрь; сильнозагрязнённые акватории: б. Голландия, б. Карантинная, м. Балаклавский; среднезагрязнённые: ПАК у Херсонесского историко-археологического заповедника, м. Херсонес; слабозагрязнённые: м. Восточный (б. Круглая), м. Коса Средняя (б. Казачья), м. Фиолент

Fig. 6 The change of catalase activity of *Cystoseira* (spring- winter) in area with different level of sewage pollution

У бурых водорослей снижение уровня активности ферментов АОС компенсируется повышением концентрации  $\beta$ -каротина, который обладает способностью обезвреживать свободные радикалы, превращая их в нейтральные соединения [6]. Так, у черноморской *Cystoseira crinita* при увеличении загрязнения отмечено повышение концентрации  $\beta$ -каротина, являющегося, как уже отмечалось, второй линией антиоксидантной защиты, что, чаще всего, сопровождается и резким снижением АТФ-ной активности [28].

Анализ полученных данных показывает, что увеличение АК у различных видов водорослей происходит как при отклике организмов на токсическое воздействие хозяйственно-бытового загрязнения, так и при процессах, связанных с жизненным циклом и размножением. Однако их отклик на загрязнение и особенности жизненных циклов различается. Если в период размножения у красных и бурых водорослей, а

также подготовки к зиме последних, отмечено увеличение значений АК в 2.7; 3.7 и 5.3 раз, то стресс от хронического хозяйственно-бытового загрязнения у красных водорослей характеризовался возрастанием их АК в 7 – 13 раз. Это свидетельствует о том, что такой тип загрязнения является мощным фактором, вызывающим токсический стресс и, как следствие, существенное увеличение активности АОС водорослей.

Как известно, даже небольшие дозы загрязняющих веществ вызывают появление свободных радикалов, которые нарушают нормальное течение метаболических процессов и приводят к деструктивным изменениям в органических соединениях клеточных структур [1, 3]. Их повреждающему действию препятствует многокомпонентная АОС, которая обеспечивает связывание и модификацию радикалов, предупреждает образование или разрушение перекисей [8]. Особая роль в этом процессе принад-

лежит каталазе, работающей при высоких концентрациях пероксида.

Предпочтительность каталазы как биомаркёра, по сравнению с другими антиоксидантными ферментами, вытекает из её функциональных особенностей. Показано, что у аэробных организмов диапазон изменения уровня супероксиддисмутазы (СОД) был значительно ниже, чем каталазы [27]. Так, интервал изменения активности СОД составлял 1.4 – 7.0 ед/мг (пятикратное различие), тогда как у каталазы он варьировал от 0.7 до 289 ед/мг (более, чем 400-кратная разница значений). Примером могут служить данные по АК личинок сардины *Sardina pilchardus*, у которых выявлено значительное увеличение значений АК при возрастании хозяйственно-бытового загрязнения, что позволило отнести этот биохимический показатель к биомаркёрам качества среды [36].

Черноморские макрофиты издавна считаются индикаторами состояния прибрежных акваторий. Разработанная для них экологическая шкала сапробионтности, включающая поли-, мезо- и олигосапробную группы, базировалась на обилии и частоте встречаемости водорослей на участках с различной степенью загрязнения, в основном хозяйственно-бытовыми стоками [10, 19]. Однако мнение авторов шкалы по отнесению одних и тех же видов к разным группам сапробионтности зачастую не совпадало. Так, из данных табл.1, следует, что доля видов, отнесённых авторами [10, 19] к разным группам, составляет треть общего количества исследуемых видов. Очевидно, что при существующем расхождении мнений соотношение видов в группах сапробионтности (в %), предложенное в качестве индикатора загрязнения акваторий десятилетия назад, не позволяет объективно оценить качество вод и лишь в общих чертах характеризует состояние прибрежных экосистем. Хотя этот показатель до сих пор используется во многих работах по макрофитобентосу украинского шельфа, надо признать, что он является не только малоинформативным,

но зачастую и ошибочным, поскольку, помимо указанных выше причин, не учитывает изменения экологических особенностей видов, их толерантности к различным поллютантам, комплексному загрязнению акваторий. Очевидно, что отнесение макрофитов к выделенным ранее группам сапробионтности нуждается в экспериментальном подтверждении, изучении воздействия на них не только хозяйственно-бытового, но и других видов загрязнения. Более информативными показателями качества акваторий являются различные индексы, широко используемые в альгологических исследованиях. К ним относятся выделенные градации индекса Шеннона, флористический индекс Чени [11, 15] и другие, учитывающие не частоту встречаемости видов в определенных условиях, а их качественный состав и количественные показатели. В зарубежных работах в этих целях чаще всего используют биохимические маркёры гидробионтов, в том числе макроводорослей [32, 33, 39].

Долгое время вопрос о механизмах толерантности одних видов и высокой чувствительности других к хозяйственно-бытовому загрязнению оставался открытым. Представленные в настоящей работе результаты являются частью разрабатываемого авторами направления исследований по выявлению среди морских макрофитов биохимических маркёров, варибельность которых может быть использована при оценке состояния прибрежных экосистем Чёрного моря и их ранжированию по качеству акваторий [9, 17, 29]. Такие исследования в дальнейшем будут продолжены для видов, произрастающих не только в прибрежной мелководной, но и в сублиторальной зоне, где степень деградации макрофитобентоса наиболее выражена [15].

**Выводы. 1.** В градиенте хозяйственно-бытового загрязнения изучена каталазная активность (АК) 18 видов черноморских макрофитов, среди которых 4 вида относятся к зелёным (*Chaetomorpha aërea* (Dillw.)

Kütz., *Cladophora albida* (Nees) Kütz., *Enteromorpha intestinalis* (L.) Nees, *Ulva rigida* C. Ag.), 6 – бурым (*Cystoseira barbata* C. Ag., *Cystoseira crinita* (Desf.) Bory, *Cladostephus spongiosus* (Huds.) C. Ag., *Dilophus repens* (J. Ag.) J. Ag., *Padina pavonica* (L.) Lamour., *Scytosiphon simplicissimus* (Clemente) Cremades) и 8 – красным водорослям (*Callithamnion corymbosum* (Sm.) Lyngb., *Ceramium siliquosum* (Kütz.) Maggs et Hommers, *C. rubrum auctorum*, *Corallina elongata* J. Ellis et Solander, *Gelidium crinale* (Turner) Gaillon, *G. spinosum* (S.G. Gmelin) P.C. Silva, *Laurencia coronopus* J. Ag. и *Polysiphonia subulifera* (C. Ag.) Harv.) 2. Установлено, что максимальный отклик на повышение хозяйственно-бытового загрязнения проявляли красные водоросли, значения АК которых возрастали в сильнозагрязнённых акваториях по сравнению с условно чистыми в 3 – 13 раз. Средний уровень отклика выявлен у зелёных водорослей (увеличение АК в 1.5 – 5.5 раза), а у бурых, за исключением *Padina pavonica*, не обнаружено варьирование значений АК в градиенте исследуемого загрязнения. 3. Проведено ранжирование видов красных и зелёных водорослей в зависимости от степени отклика их антиоксидантной системы (АОС) на хозяй-

ственно-бытовое загрязнение акваторий: *Callithamnion corymbosum* > *Laurencia coronopus* > *Gelidium spinosum* > *Polysiphonia subulifera* > *Ceramium rubrum auctorum* > *Corallina elongata* > *Ceramium siliquosum* > *Gelidium crinale* > *Enteromorpha intestinalis* > *Cladophora albida*. К видам-индикаторам отнесены красные водоросли *Callithamnion corymbosum*, *Laurencia coronopus* и *Gelidium spinosum*, у которых АК увеличивается в несколько раз или на порядок при возрастании хозяйственно-бытового загрязнения. 4. Выявлено изменение отклика АОС исследуемых видов на протяжении их жизненного цикла и сезонных ритмов. При размножении значения АК у зелёных водорослей возрастали в 1.5 – 1.8 раза, красных – в 2.7 раза, а бурых – в 3.7 раза. Наиболее существенное увеличение значений АК (в 5.3 раза) обнаружено у *Cystoseira barbata* при подготовке к зиме по сравнению с периодом размножения (апрель – май) и летним периодом.

**Благодарности.** Авторы выражают глубокую благодарность сотрудникам отдела биотехнологий и фиторесурсов ИнБЮМ, аспирантке отдела Е.Б. Чернышевой за помощь в отборе образцов водорослей.

1. Барабой В. А., Брехман И. И., Голотин В. Г. и др. Перекисное окисление и стресс. - С.-Пб.: Наука, 1992. - 147 с.
2. Березов Т. Т. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. - М.: Медицина, 1976. - С. 81 - 83.
3. Владимиров Ю. А., Арчаков В. М. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах. - М.: Наука. - 1972. - 259 с.
4. Гордина А. Д., Ткач А. В., Севрикова С. Д. Реакция ихтиопланктона портовых зон Чёрного моря на антропогенное воздействие (на примере Севастопольской бухты) // Гидробиол. журн. - 1999. - 38, №4. - С. 88 - 95.
5. Гордина А. Д., Цыцугина В. Г., Овсяный Е. И. Состояние икры пелагических рыб в прибрежных водах Чёрного моря у Севастополя // Гидробиол. журн. - 2004. - 40, №1. - С. 43 - 55.
6. 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 Кольского науч. центра РАН, 2001. - С. 195 - 218.
7. Губанов В. И., Стельмах Л. В., Клименко Н. П. Комплексные оценки качества вод Севастопольского взморья (Чёрное море) // Экология моря. - 2002. - Вып. 62. - С. 76 - 80.
8. Дворецкий А. И., Барабой В. А., Кетелеш Д. и др. Клеточные мембраны при радиационном воздействии. - Днепропетровск: ДДУ, 1998. - 87 с.
9. Зинова А. Д. Определитель зелёных, бурых и красных водорослей южных морей СССР. - Л.: Наука, 1967. - 400 с.
10. Калугина-Гутник А. А. Фитобентос Чёрного моря. - Киев: Наук. думка, 1975. - 248 с.

11. Калугина-Гутник А. А. Изменения видового состава фитобентоса в бухте Ласпи за период 1964 - 1983 гг. // Экология моря. – 1989. – Вып. 31. – С. 7 – 11.
12. Кузьминова Н. С., Скуратовская Е. Н., Вахтина Т. Б. Использование химико-биологических параметров при мониторинге морских акваторий // Система контроля окружающей среды: сборн. науч. тр. МГИ НАН Украины. – Севастополь, 2004. – С. 263 – 269.
13. Кузьминова Н. С., Руднева И. И. Влияние сточных вод на морские водоросли // Альгология. – 2005. – 15, №1. – С. 128 - 141.
14. Куфтаркова Е. А., Ковригина Н. П., Родионова Н. Ю. Гидрохимическая характеристика вод Балаклавской бухты и прилегающей к ней прибрежной части Чёрного моря // Гидробиол. журн. – 1999. – 35, №2. – С. 88 – 99.
15. 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.
16. Мильчакова Н. А., Айзель В., Эрдуган Х. Систематический состав и распространение красных водорослей (Rhodophyceae excl. Ceramiales) Чёрного моря // Альгология. – 2006. – 16, №2. – С. 227 – 245.
17. Мильчакова Н. А., Шахматова О. А. Активность каталазы массовых видов черноморских макрофитов как показатель качества среды // Актуальные проблемы современной альгологии: Тез. докл. 3-й межд. конф. (Харьков, 20-23 апреля 2005 г.). – Харьков, 2005. – С. 99 - 100.
18. Миронов О. Г., Кирюхина Л. Н., Алемов С. В. Санитарно-биологические аспекты экологии сева­стопольских бухт в XX веке. – Севастополь: ЭКОСИ - Гидрофизика, 2003. – 185 с.
19. Морозова-Водяницкая Н. В. Наблюдения над экологией водорослей Новороссийской бухты // Тр. Кубано-Черном. науч. исслед. ин-та. – 1927. – Вып. 52. – 47 с.
20. Муравьева И. П. Химический состав зелёной водоросли *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link из обрастаний причалов Севастопольских бухт (Чёрное море) // Экология моря. – 2000. – Вып. 60. – С. 39 – 44.
21. 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: сборн. науч. тр. МГИ НАН Украины. – Вып.2. – Севастополь, 2001. – С. 138 - 152.
22. Павлова Е. В., Овсяный Е. И., Гордина А. Д. и др. Современное состояние и тенденция изменения экосистемы Севастопольской бухты // Акватория и берега Севастополя: экосистемные процессы и услуги обществу. – Севастополь: Аквита, 1999. - С. 70 - 94.
23. Павлова Е. В., Мурина В. В., Куфтаркова Е. А. Гидрохимические и биологические исследования в бухте Омега (Чёрное море, Севастопольский рейд) // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа: сб. науч. тр. МГИ НАН Украины. – Севастополь, 2001. - Вып. 2. – С. 159 – 176.
24. Руднева И. И., Залевская И. Н. Личинки атери­ны (*Atherina hepsetus*) как биоиндикатор загрязнения прибрежных акваторий Чёрного моря // Вопросы ихтиол. – 2004. – 2. – С. 107-112.
25. Селье Г. Стресс без дистресса. – М.: Наука, 1979. – 811 с.
26. Смирнова Л. Л., Рябушко В. И., Рябушко Л. И. Влияние концентрации биогенных элементов на сообщества микроводорослей прибрежного мелководья Чёрного моря // Альгология. – 1999. – 9, №3. – С. 32 – 42.
27. Фридович И. Радикалы кислорода, пероксид водорода и токсичность кислорода // Свободные радикалы в биологии. Т. 1-2. - М.: Мир, 1979. - С. 272 – 300.
28. Чепыженко В. А., Оскольская О. И. Морфо­физиологический отклик представителей макрофитобентоса на параметры среды обитания // Экология: проблемы, решения – молодежное видение. – Севастополь: Эко­си-Гидрофизика, 2004. – Вып. 1. - С. 91 - 99.
29. Шахматова О. А. Активность антиоксидантной системы некоторых черноморских гидробионтов в прибрежной акватории Севастополя: автореф. дисс. ... канд. биол. наук. – Севастополь, 2004. – 21 с.
30. Шахматова О. А. Использование показателей антиоксидантной системы водорослей - макрофитов в мониторинге загрязнённости прибрежных морских акваторий // Современные технологии мониторинга и освоения природных ресурсов южных морей России: тез. докл. между­нар. семинара. – Ростов-на-Дону, 2005. – С. 171 -173.

31. Шахматова О. А., Парчевская Д. С. Активность каталазы и контроль качества воды // Альгология. - 2000. - **10**, № 3. - С. 355 - 361.
32. Burgeot T., Bovequene G., Porte C. et al. Bioindicators of pollutant exposure in the northwestern Mediterranean Sea // Mar. Ecol. Prog. Ser. - 1996. - **131**, № 1-3. - P. 125 - 141.
33. Di Giulio R. T. Indices oxidative stress as biomarkers for environmental contamination // Aquat. Toxicol. - 1991. - **14**. - P. 13 - 31.
34. Di Giulio R. T., Habig C., Gallagher E. P. Effect of Black Rock Harbor sediments on indices of biotransformation, oxidative stress, and DNA integrity in channel catfish // Aquat. Toxicol. - 1993. - **26**, №1-2. - P. 1-22.
35. Gabryelak T., Patkowska W., Leyko W. P. Seasonal variations in the activities of peroxide metabolism enzymes in erythrocytes of freshwater fish species // Comp. Biochem. Physiol. - 1983. - **75**. - P. 383 - 385.
36. Peters L. D., Porte C., Albaiges J., Livingstone D. R. 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) and antioxidant enzyme activities in larvae of sardine (*Sardina pilchardus*) from the north coast in Spain // Mar. Poll. Bull. - 1994. - **28**, № 5. - P. 299 - 304.
37. Short F. T., Neckles H. The effects of global climate change on seagrasses // Aquat. Botany. - 1999. - **63**. - P. 169 - 196.
38. Zaitsev Yu., Mamaev V. Biological diversity in the Black Sea: a study of change and decline // Black Sea Environmental Series. - New York: United Nations Publications, 1997. - **3**. - 208 p.
39. Winstone G. W., Di-Giulio R. T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms // Aquat. Toxicol. - 1991. - **19**, №2. - P. 137 - 161.

Поступила 05 июня 2006 г.

После доработки 12 февраля 2007 г.

**Каталазна активність масових видів чорноморських макроводоростей у градієнті господарсько-побутового забруднення.** Н. П. Мільчакова, О. О. Шахматова. В роботі представлені результати дослідження активності каталази 18 видів чорноморських макроводоростей прибережної зони у градієнті господарсько-побутового забруднення. Виявлена відмінна реакція водоростей, які належать до різних таксономічних груп. На забруднення червоні водорості виявили максимальний відгук, бурі водорості - мінімальний, реакція зелених водоростей була середнього рівня. Проведено ранжування макроводоростей залежно від рівня відгуку їх антиоксидантної системи на забруднення акваторії. Визначені види, які мають максимальну реакцію на господарсько-побутово забруднення, до видів-індикаторів віднесені красні водорості *Callithamnion corymbosum*, *Laurencia coronopus* і *Gelidium spinosum*. Виявлено зростання активності каталази на протягу життєвого циклу і сезонних змін досліджуваних видів водоростей.

**Ключові слова:** макроводорості, каталазна активність, господарсько-побутове забруднення, метаболічні стратегії, Чорне море

**Catalase activity of the widely-distributed macroalgae of the Black Sea by gradient of the sewage pollution.** N. A. Milchakova, O. A. Shakhmatova. The results of research on catalase activity 18 species of the Black Sea macroalgae by gradient of sewage pollution are submitted. The various reactions of green, red and brown species is revealed. The maximal response of antioxidant system to pollution was found on red algae, the reaction brown species was minimal, and green algae represented an average level of it. In order of level of seaweed response was introduced. The red algae *Callithamnion corymbosum*, *Laurencia coronopus* and *Gelidium spinosum* have been suggested as indicators of sewage pollution. The catalase activity of seaweed was increased during reproduction and by season.

**Keywords:** macroalgae, catalase activity, sewage pollution, metabolic strategy, Black Sea