

УДК 582.26/27:502.51(26):577.1

## Активность каталазы некоторых желеобразующих красных водорослей в различных экологических условиях взморья Севастополя (Черное море)

Шахматова О. А., Мильчакова Н. А., Ковардаков С. А.

Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН  
Севастополь, Россия  
oshakh@gmail.com

Приведены результаты исследования активности каталазы (АК) желеобразующих красных водорослей *Gelidium crinale* (Hare ex Turner) Gaillon, *G. spinosum* (S.G. Gmelin), *Laurencia coronopus* J. Agardh (агарофиты) и *Phyllophora crispa* (Hudson) P. S. Dixon (каррагинофит), произрастающих в различных экологических условиях взморья Севастополя. Установлено, что значения АК *Ph. crispa* превышают таковые у *G. crinale*, *G. spinosum* и *L. coronopus* в 1,9–2,1, 1,5–3,2 и 2,6–23,2 раз соответственно. Обнаружена положительная корреляция АК с уровнем хозяйственно-бытового загрязнения акватории, при этом величина отклика АК *Ph. crispa* выше, чем у остальных видов, в 1,6–5,5 раз. Выявлена статистически значимая связь АК желеобразующих красных водорослей с глубиной произрастания. Для *G. spinosum* и *L. coronopus* она описывается одновершинными кривыми с максимумами на глубинах 3 и 3–5 м соответственно, у *Ph. crispa* обнаружено увеличение АК вдвое с возрастанием глубины до 17 м как в условно чистых, так и в сильнозагрязненных акваториях. При средней степени загрязнения максимум АК *Ph. crispa* приходится на глубину 5 м, незначительное снижение этого показателя характерно для глубин 10–15 м. Независимо от экологических условий общий антиоксидантный пул каррагинофита *Ph. crispa* выше, чем у агарофитов *G. crinale*, *G. spinosum* и *L. coronopus*, значения их АК убывают следующим образом: *Ph. crispa* > *G. spinosum* > *G. crinale* > *L. coronopus*. Результаты выполненных исследований по адаптации желеобразующих красных водорослей Черного моря к экологическим условиям могут быть использованы при разработке биотехнологии их выращивания.

**Ключевые слова:** красные водоросли, агарофиты, антиоксидантная система, активность каталазы, загрязнение, глубина, взморье Севастополя, Черное море.

### ВВЕДЕНИЕ

Изучение различных аспектов биологии, экологии и культивирования красных водорослей-агарофитов и каррагинофитов, являющихся источником промышленного получения агара и каррагинана, имеет научное и прикладное значение. Известно, что среди макрофитов Черного моря красные водоросли *Gelidium crinale* (Hare ex Turner) Gaillon, *G. spinosum* (S.G. Gmelin) P. C. Silva и *Laurencia coronopus* J. Agardh являются источником высококачественного агара, а *Phyllophora crispa* (Hudson) P.S. Dixon – агароида из группы каррагинанов, который значительно уступает агару по желирующим свойствам. Однако до сих пор вопросы их метаболизма и адаптации к различным условиям среды, особенно в Черном море, остаются малоизученными, хотя в сообществах макрофитобентоса они играют значительную роль, поскольку зачастую формируют синузии литофитов и эпифитов с высокими продукционными показателями. Наряду с этим выявление различий в отклике антиоксидантной системы (АОС) желеобразующих макроводорослей на экологические условия произрастания позволяет оценить их адаптационный потенциал при изменении качества среды, что важно при обосновании биотехнологии экстенсивного выращивания.

Ранее показано, что адаптация морских водорослей к ухудшению качества среды напрямую зависит от активности их АОС (Шахматова, Парчевская, 2000; Ткаченко и др., 2004; Мильчакова, Шахматова, 2007). При этом вариабельность отклика показателей АОС у многих гидробионтов используют в качестве молекулярных биомаркеров при изучении воздействия различных неблагоприятных факторов, в том числе загрязняющих веществ (Перекисное..., 1992). Установлено, что фермент каталаза (КАТ) (Е.С. 1.11.16) у морских

гидробионтов отличается наибольшим по сравнению с другими компонентами АОС, диапазоном отклика на изменение качества среды, обеспечивая их устойчивость к абиотическим стрессам (Фридович, 1979; Шахматова, 2004). Сведения об активности каталазы (АК) массовых видов альгофлоры Черного моря и их связи с комплексным хозяйственно-бытовым загрязнением немногочисленны (Шахматова, Парчевская, 2000; Ткаченко и др., 2004; Мильчакова, Шахматова, 2007; Шахматова, Мильчакова, 2009, 2014), а данные о вариабельности показателей АОС *Ph. crispa*, ключевого вида экосистемы, отсутствуют.

Поэтому цель настоящей работы заключалась в выявлении особенностей отклика АОС и диапазона варьирования значений АК у массовых видов желеобразующих красных водорослей, относящихся к агарофитам и каррагинофитам, в различных экологических условиях и при хозяйственно-бытовом загрязнении акваторий. Такие исследования направлены на выявление механизмов адаптации макрофитов к изменяющимся условиям среды, что является актуальным и имеет значение для оценки состояния прибрежной экосистемы при возрастающей антропогенной нагрузке, разработки биотехнологии культивирования агарофитов, а также видов, находящихся под угрозой уничтожения, к которым относится *Ph. crispa*, занесенная в Красную книгу РФ (2008) и региональные красные книги.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись красные водоросли *Gelidium crinale*, *G. spinosum*, *Laurencia coronopus* и *Phyllophora crispa*. Пробы водорослей отобраны на 10 участках взморья Севастополя, отличающихся степенью хозяйственно-бытового загрязнения: у мыса Коса Северная, в б. Севастопольской (б. Северная и б. Мартынова, яхт-клуб), б. Карантинной, у входного восточного мыса б. Круглой, в б. Казачьей и б. Камышовой, у м. Херсонес и м. Фиолент, а также у м. Балаклавский (рис. 1). Талломы водорослей отбирали с применением легководолазного снаряжения в диапазоне глубин от 0,2 до 17 м в сезоны 2004–2013 годов. Для корректного сопоставления данных по активности АОС отбор талломов *G. crinale*, *G. spinosum* и *L. coronopus* осуществляли в апреле и ноябре, а *Ph. crispa* – в мае, когда для их онтогенеза характерна преимущественно стадия покоя.

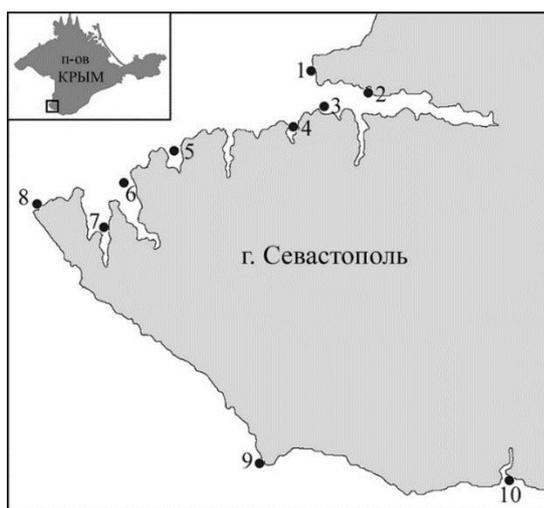


Рис. 1. Схема расположения районов отбора проб макроводорослей в прибрежной зоне Севастополя

1 – м. Коса Северная; 2 – б. Северная; 3 – б. Мартынова, яхт-клуб; 4 – б. Карантинная; 5 – входной мыс б. Круглой; 6 – б. Камышовая; 7 – б. Казачья; 8 – м. Херсонес; 9 – м. Фиолент; 10 – м. Балаклавский.

Образцы вегетативно зрелых растений собраны на глубинах 0,2–1, 3, 5, 10, 15 и 17 м в соответствии с градацией глубин, применяемой при мониторинге состояния морского макрофитобентоса (Калугина-Гутник, 1975). Определение значений АК для каждого вида выполнено на зрелых частях талломов, относящихся к одной возрастной генерации, с учетом их годовичного прироста. Все анализы проведены через 30 мин. или один час после отбора образцов. Талломы исследуемых видов массой от 1 до 2 г помещали в сосуды с морской водой объемом до 2 л, отдельно для каждого района и глубины произрастания. В лабораторных условиях навеску водорослей массой в 500 мг растирали на холоде с физиологическим раствором в гомогенизаторе, затем центрифугировали при 8 тыс. об/мин в течение 15 мин. на центрифуге ОСМ-6. Определение АК осуществляли по методу Баха и Зубковой (Березов, 1976) по количеству разложившейся перекиси водорода и выражали в мкг перекиси на 1 г таллома в минуту. В пробу с вытяжкой из талломов каждого вида (отдельно по районам и глубинам) добавляли строго определенное количество перекиси и оставляли на 30 мин. для прохождения реакции. Остаточное количество перекиси оттитровывали 0,1 N раствором перманганата калия в кислой среде. Холостую пробу готовили, денатурируя белок растительного образца кипячением в течение 10 мин. (Шахматова, 2004). Количество параллельных измерений колебалось от 3 до 6, полученные результаты обработаны статистически.

При статистической обработке данных применяли пакет прикладных программ «STATISTICA 10». В сравниваемых выборках для АК рассчитывали среднюю арифметическую величину (M), доверительные интервалы  $ДИ = \pm t_{0,05} \times m$ , где  $t_{0,05}$  – коэффициент Стьюдента при данном числе степеней свободы (df) и уровне значимости  $\alpha=0,05$ , m – стандартная ошибка среднего. Проверку на нормальность распределения признаков проводили с использованием W-критерия Шапиро – Уилка. Различия показателей между группами оценивали методом рангового дисперсионного анализа Краскела – Уоллиса. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости при проверке статистических гипотез (p) принимали равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Акватории исследуемых участков взморья Севастополя характеризуются различной степенью хозяйственно-бытового загрязнения, что обусловлено, прежде всего, антропогенной нагрузкой и объемами ежегодно поступающих хозяйственно-бытовых стоков (табл. 1).

Таблица 1

Общая гидрохимическая характеристика, уровень загрязнения морских вод и донных осадков прибрежных акваторий региона Севастополя

Район	V, ** тыс. м <sup>3</sup> /год	НП, донные осадки, *** мг/100 г		Н, м	Гидрохимические показатели****, мкг/л					
		ХЭВ	НУ		БПК <sub>5</sub> , мг/л	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>	N орг.
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
м. Балаклавский	3285	190	35	0	0,84	30,4	136	373	117	706
				10	-	1,4	18,9	9,8	10,3	-
м. Фиолент	109,5	-	-	0	-	0,4*	1,2*	2,0*	1,7*	341*
				10	-	0,4*	1,3*	4,0*	2,2*	347*
м. Херсонес	27,0	-	-	0	-	0,7	1,4	-	1,9	-
б. Казачья	200,0	60–560	<5– 135	0	0,8	1	6	11	-	447
				17	-	1	6	14	-	-
б. Камышовая	3020,0	63	0,19	0	0,70	1	6	11	-	437
				15	-	1	6	14	-	-

Продолжение табл. 1

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
б. Круглая, входной мыс	нет	15	следы	0	0,60	5	8	7	7,6	507
				17		3	7	9	4	-
б. Карантинная	547,0	165	65	0	0,74	2	116	8	1,8–11,6	552
				17	-	2	17	6	-	-
б. Мартынова, яхт-клуб	645,0	120– 310	39– 137	0	0,8	0,98	17	12	7	-
				12	-	1,96	21	14	12	-
б. Северная	330,0	1300– 1790	527– 1020	0	0,8	1,79	45,5	7,35	5,8	-
				6	-	0,14	3,53	0,4	0,08	-
м. Коса Северная	нет	<50	<5	0	-	0,28	10,9	-	0,6	-

Примечание к таблице: V – объем хозяйственно-бытовых стоков; НП – нефтепродукты; ХЭВ – хлороформ экстрагируемые вещества; НУ – нефтеуглеводороды; Н – глубина; \* – наши данные; \*\* – данные по (Основные..., 2001); \*\*\* – данные по (Кирюхина, Миронов, 2004; Некоторые..., 2017; Миронов и др., 2003; Осадчая и др., 2004; Осадчая, 2013; Тихонова, 2016); \*\*\*\* данные по (Изменчивость..., 2001; Гидрохимическая..., 2008; Сезонные..., 2007; Современное..., 2012; Комплексный..., 2010; Кондратьев, 2012; Свищев, 2012; Биотическое..., 2013; О перспективах..., 2014); прочерк – отсутствие данных; концентрации биогенных элементов приведены к размерности мкг/л.

В соответствии с опубликованными данными по объемам хозяйственно-бытовых стоков, содержанию загрязняющих веществ в морской воде и донных осадках акватории отбора проб водорослей были отнесены условно к трем категориям: сильнозагрязненные, где объем стоков превышает 500 тыс. м<sup>3</sup>/год (б. Мартынова, б. Карантинная, б. Камышовая и м. Балаклавский), среднезагрязненные – до 300 тыс. м<sup>3</sup>/год (б. Северная, м. Херсонес, б. Казачья) и слабозагрязненные или условно чистые – менее 100 тыс. м<sup>3</sup>/год (м. Коса Северная, м. Фиолент, б. Круглая).

**Активность каталазы водорослей-агарофитов в разных экологических условиях.** Данные по варьированию значений АК *G. crinale*, *G. spinosum* и *L. coronopus*, произрастающих в мелководной прибрежной зоне (глубины 0,2–1 м) при различной степени хозяйственно-бытового загрязнения акваторий, представлены на рис. 2.

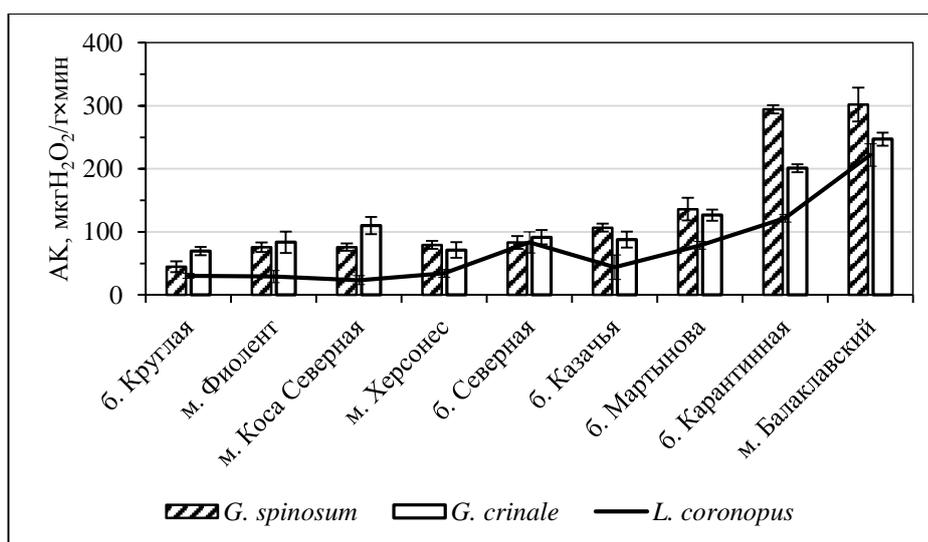


Рис. 2. Изменение значений активности каталазы (АК) *Gelidium spinosum*, *G. crinale* и *Laurencia coronopus* в прибрежной акватории Севастополя на участках с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения (глубина 0,2–1 м)

В условно чистых акваториях б. Круглой и у м. Коса Северная значения АК *G. spinosum* варьируют от  $44,7 \pm 1,4$  до  $75,8 \pm 5,7$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин, а в среднезагрязненных у м. Херсонес, в б. Северная и б. Казачья составляют  $79,4 \pm 6,4$ ,  $83,0 \pm 10,1$  и  $106,6 \pm 6,3$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин соответственно. На сильнозагрязненных участках в б. Мартынова, яхт-клуб и б. Карантинная АК *G. spinosum* достигает  $136,1 \pm 18,1$  и  $294,4 \pm 6,7$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин соответственно, максимальная величина этого показателя зафиксирована вблизи стока у м. Балаклавский –  $301,9 \pm 27,0$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин, что более 7 раз выше по сравнению с условно чистыми акваториями.

У *G. crinale* также выявлено существенное варьирование значений АК в зависимости от качества среды. В условно чистых акваториях у м. Фиолент и м. Коса Северная она изменяется от  $67,93 \pm 4,21$  до  $109,62 \pm 25,6$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин соответственно. В акваториях среднего уровня загрязнения диапазон варьирования АК *G. crinale* составляет  $68,35 \pm 8,15$ – $109,62 \pm 25,67$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин, а для сильнозагрязненных участков повышается до  $90,35 \pm 8,15$ – $243,33 \pm 9,87$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин, с максимумом у м. Балаклавский (рис. 2). Хотя изменения АК видов гелидиума в различных экологических условиях сходно, тем не менее, значения АК *G. spinosum* в наиболее загрязненных акваториях выше чем у *G. crinale*.

На исследуемых участках прибрежной зоны, отличающихся степенью загрязнения, показатели АК *L. coronopus* сопоставимы с рассчитанными для *G. spinosum* и *G. crinale*, хотя средние значения ниже. В условно чистых акваториях у м. Коса Северная и в б. Круглая АК *L. coronopus* составляет  $23,4 \pm 6,9$  и  $30,1 \pm 3,7$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин соответственно. При средней степени загрязнения (б. Казачья) этот показатель увеличивается до  $43,9 \pm 19,4$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин, а на сильно загрязненных участках достигает  $83,3 \pm 16,7$  и  $222,1 \pm 17,7$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин, в б. Северная и у м. Балаклавский соответственно (рис. 2).

**Изменение активности каталазы водорослей агарофитов и каррагинофитов (*G. spinosum*, *L. coronopus* и *Ph. crispa*) по глубинам.** Данные об изменении значений АК массовых видов *G. spinosum* и *L. coronopus* по глубинам в акватории б. Круглая, б. Казачья и б. Карантинная представлены на рисунке 3.

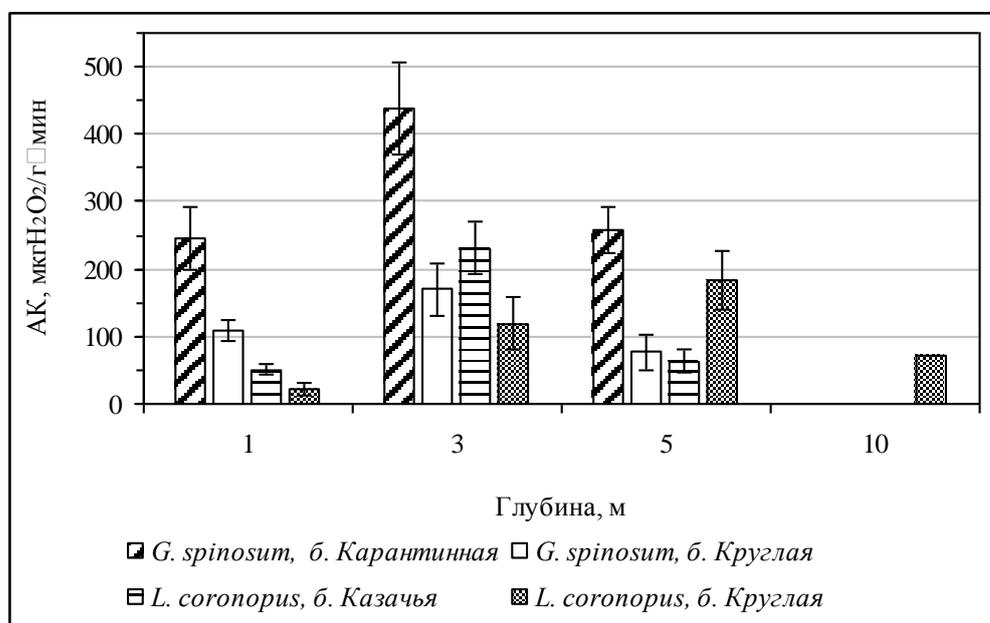


Рис. 3. Изменение значений активности каталазы (АК) *Gelidium spinosum* и *Laurencia coronopus* по глубинам на участках взморья Севастополя с с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения (ДИ=0,95)

Наибольшие значения АК *G. spinosum* зафиксированы на глубине 3 м, *L. coronopus* – в диапазоне от 3 до 5 м. В б. Круглой (условно чистая) и б. Карантинной (сильнозагрязненная) АК *G. spinosum* увеличивается на глубинах от 1 до 3 м повышается с  $109,62 \pm 3,2$  до  $170,1 \pm 28,3$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \times \text{мин}$  и от  $250,3 \pm 3,2$  до  $432,8 \pm 61,2$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \times \text{мин}$  соответственно. Значения АК *G. spinosum* на глубине 5 м в акваториях б. Круглой и б. Карантинной снижаются почти вдвое – до  $79,28 \pm 15,0$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \times \text{мин}$  и  $258,8 \pm 26,3$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \times \text{мин}$  соответственно (рис. 3).

У *L. coronopus* выявлено сходное с *G. spinosum* варьирование значений АК по глубинам. Так, в б. Круглой отмечено увеличение АК *L. coronopus* от  $21,73 \pm 3,41$  до  $183,3 \pm 17,32$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \times \text{мин}$  в диапазоне глубин от 1 до 5 м с последующим уменьшением до  $72,2 \pm 16,0$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \times \text{мин}$  на глубине 10 м. В среднезагрязненной акватории б. Казачьей значения АК *L. coronopus* возрастают от  $31,03 \pm 3,87$  до  $230,58 \pm 15,4$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \times \text{мин}$  с увеличением глубины от 1 до 3 м, понижаясь на глубине 5 м до  $62,34 \pm 6,6$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \times \text{мин}$ .

Суммируя, можно сделать вывод о том, что в акваториях разной степени хозяйственно-бытового загрязнения варьирование значений АК *G. spinosum* и *L. coronopus* в диапазоне глубин от 1 до 10 м имеет сходную направленность и описывается одновершинными кривыми, при этом абсолютные величины АК *G. spinosum* выше, чем *L. coronopus*, независимо от глубины произрастания и качества среды (рис. 3). Сопоставление значений АК *G. spinosum* показало, что на глубинах 1, 3 и 5 м они больше в 2,2, 2,4 и 3,3 раза соответственно в сильнозагрязненной б. Карантинной по сравнению с условно чистой б. Круглой (рис. 3). Для *L. coronopus* также установлено увеличение АК на глубинах 1 и 3 м в 2,5 и 2 раза соответственно в среднезагрязненной акватории б. Казачьей по сравнению с условно чистой б. Круглой, но с последующим снижением на глубине 5 м в 2,8 раза в сравниваемых акваториях. У *Ph. crispa* обнаружено существенное изменение АК по глубинам как в условно чистых, так и в сильнозагрязненных акваториях (рис. 4). Так, варьирование значений АК филофоры при высокой степени загрязнения в б. Камышовой и б. Карантинной составляет соответственно  $139,86 \pm 18,9$ – $453,7 \pm 18,3$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2/\text{г} \times \text{мин}$  на глубинах 10 и 17 м (рис. 4).

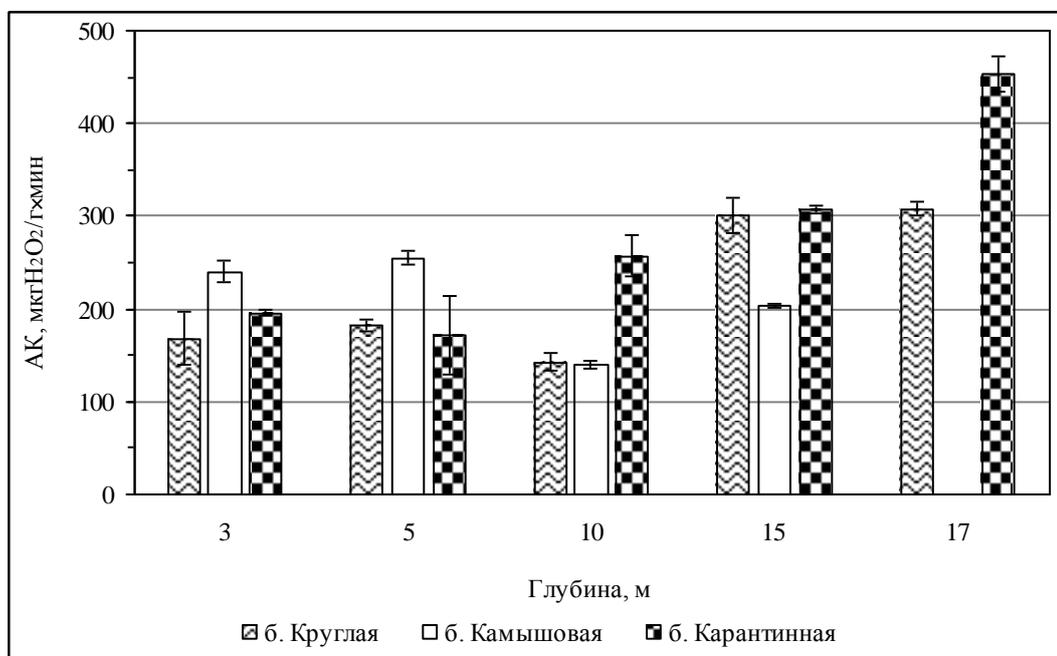


Рис. 4. Изменение активности каталазы (АК) *Phyllophora crispa* по глубинам на участках взморья Севастополя с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения (при значении ДИ 0,95)

В б. Карантинной наблюдается постепенное возрастание АК *Ph. crispa* от  $195,87 \pm 12,4$  до  $453,7 \pm 18,3$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин с увеличением глубины. В б. Круглой отмечено некоторое снижение АК филофоры на 10 м по сравнению с 3 и 5 м – от  $168,21 \pm 16,34$  до  $147,42 \pm 8,24$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин. Более выражено уменьшение АК в этом диапазоне глубин наблюдается в б. Камышовой – с  $239,95 \pm 15,07$  до  $139,86 \pm 18,9$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин (рис. 4).

Выявленное значительное увеличение АК *Ph. crispa* на глубине 17 м по сравнению с глубинами 3–5 м как в условно чистой, так и в сильнозагрязненной акватории (б. Круглая и б. Карантинная соответственно), вероятно, является защитной реакцией от экологического стресса, который наблюдается на нижней границе произрастания водорослей, и связано со снижением ФАР, прозрачности, с поступлением биогенов из загрязненных илистых донных осадков, преобладающих в глубоководной зоне. В таких условиях повышение АК у большинства видов направлено на уменьшение уровня перекисидации липидов при дезинтоксикации, поскольку усиление реакций со свободными радикалами ведет к ответной защитной реакции и увеличению активности АОС (Окислительный ..., 2006). Возможно, *Ph. crispa* отличается более высокой экологической пластичностью и уровнем метаболизма по сравнению с другими исследуемыми видами, что также связано с особенностями ее анатомо-морфологической дифференциации.

**Статический анализ связи активности каталазы *G. spinosum*, *L. coronopus* и *Ph. crispa* и глубины произрастания.** Расчеты критерия Шапиро – Уилка для АК исследуемых видов для большинства выборок из разных бухт показали, что нулевая гипотеза о нормальном распределении случайных величин данного признака должна быть отклонена, поскольку расчетный уровень значимости ниже критического ( $p < 0,05$ ). В связи с этим дальнейшая статистическая обработка проведена с использованием методов непараметрической статистики.

Результаты рангового дисперсионного анализа Краскела-Уоллиса свидетельствуют о наличии статистически значимых различий между дисперсиями АК каталазы групп растений *G. spinosum* и *L. coronopus*, произрастающих на разных глубинах в бухтах взморья Севастополя (табл. 2).

Таблица 2

Оценка статистической значимости различий активности каталазы *Gelidium spinosum* и *Laurencia coronopus* с увеличением глубины по критерию Краскела – Уоллиса

Вид	Район	Степень загрязнения	df	H	p ( $p \leq 0,05$ )
<i>Gelidium spinosum</i>	б. Карантинная	сильнозагрязненная	2	8,49	0,0144
	б. Круглая	условно чистая	2	11,71	0,0029
<i>Laurencia coronopus</i>	б. Казачья	среднезагрязненная	2	8,35	0,0394
	б. Круглая	условно чистая	3	8,35	0,0394

В целом, изменение АК *G. spinosum* и *L. coronopus* по глубинам в акваториях с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения имеет сходную направленность при максимальных значениях на глубинах 3–5 м. У обоих видов наблюдается значительное увеличение АК в сильнозагрязненных районах по сравнению с условно чистыми.

По данным рангового дисперсионного анализа, для *Ph. crispa* обнаружено наличие статистически значимых различий между дисперсиями АК групп растений, произрастающих на разных глубинах и участках (табл. 3).

На рис. 5 представлены осредненные данные по АК *G. spinosum*, *G. crinale*, *L. coronopus* и *Ph. crispa* на участках взморья Севастополя с различным уровнем хозяйственно-бытового загрязнения вне зависимости от глубины произрастания. Следует отметить, что общий уровень АК всех видов в сильнозагрязненной б. Карантинной выше, чем в условно чистой б. Круглой. Кроме того, в этих бухтах АК *Ph. crispa* значительно выше, чем у *G. spinosum*, *G. crinale* и *L. coronopus*: в б. Круглой – в 1,6, 3,8 и 6,1 раз, а в б. Карантинная – в 1,6, 2,7 и 5,5 раз соответственно.

Таблица 3

Оценка статистической значимости различий активности каталазы *Ph. crispa* на разных глубинах в бухтах взморья Севастополя по критерию Краскела – Уоллиса

Район	Степень загрязнения	df	H	p (p≤0,05)
б. Карантинная	сильнозагрязненная	4	17,69	0,0014
б. Круглая	условно чистая	4	16,84	0,0021
б. Камышовая	сильнозагрязненная	3	13,99	0,0029

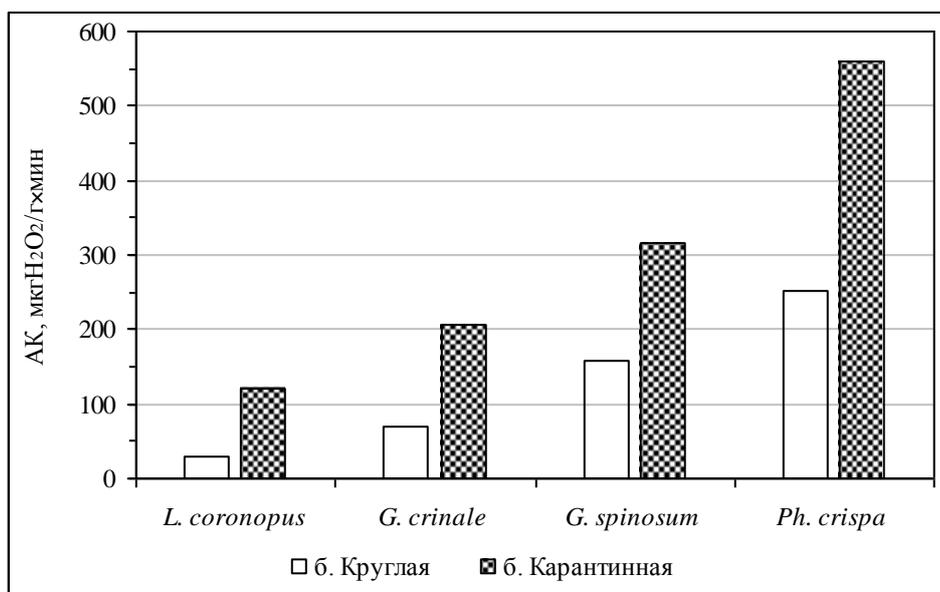


Рис. 5. Осредненные по глубинам значения активности каталазы (АК) красных желеобразующих водорослей *L. coronopus*, *G. crinale*, *G. spinosum* и *Ph. crispa* в бухтах Круглой и Карантинной

Таким образом, значения АК у красных водорослей, синтезирующих преимущественно каррагинаны (*Ph. crispa*), выше, чем у содержащих агар (*G. crinale*, *G. spinosum* и *L. coronopus*). При этом уровень АК исследуемых видов-агарофитов и каррагинофитов возрастает с увеличением степени хозяйственно-бытового загрязнения прибрежных акваторий.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные нами данные для 4 видов желеобразующих красных водорослей подтверждают ранее установленный факт увеличения АК макрофитов разных отделов с повышением хозяйственно-бытового загрязнения акваторий (Шахматова, Парчевская, 2000; Ткаченко и др., 2004; Шахматова, Мильчакова, 2009, 2014). Показательно, что для представителей отдела Rhodophyta выявлен наиболее высокий уровень отклика на загрязнение среды (Шахматова, Мильчакова, 2014), что соответствует настоящему исследованию по АК водорослей-агарофитов и каррагинофитов. При этом отклик *G. spinosum* и *G. crinale*, представителей пор. Gelidiales, на хозяйственно-бытовое загрязнение акваторий является одним из самых высоких среди красных водорослей и сопоставим с ранее полученными данными для красных водорослей *Callithamnion corymbosum* и *L. coronopus* (Мильчакова, Шахматова, 2007). Некоторые исследователи (Bioprotective ..., 2008) также отмечают более высокую антиоксидантную активность видов пор. Gelidiales, например *Gelidiella acerosa* (Forsskål) Feldmann & Hamel, по сравнению с

видами пор. Corallinales (*Jania rubens* (Linnaeus) J.V. Lamouroux), пор. Gigartinales (*Chondrococcus hornemannii* (Lyngbye) F. Schmitz, *Hypnea pannosa* J. Agardh) и пор. Gracilariales (*Gracilaria edulis* (S.G. Gmelin) P. C. Silva).

Анализ изменений показателей АК *G. spinosum* и *L. coronopus* по глубинам в акваториях разной степени загрязнения с выраженным максимумом от 3 до 5 м свидетельствует о том, что в этом диапазоне находится, по-видимому, их экологический оптимум. Такое заключение подтверждает наши данные по АК массовых видов красных водорослей региона Севастополя (Мильчакова, 2003; Мильчакова, Шахматова, 2007; Шахматова, Мильчакова, 2014). Некоторое снижение АК этих видов с глубиной, возможно, связано с изменением солености, которая незначительно возрастает у дна, и активацией каротиногенеза. Это может вызвать снижение АК у макроводорослей, поскольку каротиноиды, являясь низкомолекулярными антиоксидантами, берут на себя функцию нейтрализации перекисей (Aguilera et al., 2002).

Более высокие значения АК у *Ph. crispa*, представителя каррагинофитов, по сравнению с агарофитами *L. coronopus*, *G. crinale* и *G. spinosum* в различных экологических условиях объясняется отличающимися механизмами адаптации к стрессорам химической природы (загрязнение среды), которые, вероятно, формируются в двух направлениях, описанных для видов-аккумуляторов и видов-отражателей (Чукина, 2010). У видов-аккумуляторов, поглощающих токсины, адаптационные механизмы выражаются в общей инициации антиоксидантной системы, активации АО ферментов и накоплении низкомолекулярных антиоксидантов, таких, как каротиноиды, глутатион, витамины А и Е, то есть в увеличении общего антиоксидантного пула, способствующего нейтрализации поглощенных токсических веществ. Стратегия адаптации у видов-отражателей направлена на формирование защитных механизмов, предотвращающих проникновение поллютантов в клетки, при этом у них зачастую формируется более толстая клеточная стенка, наблюдаются морфоструктурные изменения, увеличение размеров клеток мезофилла, что подтверждается данными, выявленными у некоторых макроводорослей Черного моря (Шахматова, Мильчакова, 2014).

Очевидно, что при реализации различных стратегий адаптации к стрессу у агарофитов и каррагинофитов важную функциональную роль играют структурные сульфатированные полисахариды, при этом у каррагинофитов больше содержится 3,6-А и галактозы, а у агарофитов – 2-О-метил-3,6-ангидрогалактозы (Суховеева, Подкорытова, 2006). Среди полисахаридов желеобразующих водорослей выделяется целлюлоза, которая сформирована в клеточных стенках в виде протяженных сложных цепей и образует своего рода каркас из прочных волокон или пластин. Такие полисахариды, как агар и каррагинан, состоящие из линейных цепей, обладают желеобразующими свойствами, удерживают воду, образуют плотные гели и обеспечивают эластичность клеточных стенок.

Известно, что плотная клеточная стенка нехарактерна для красных водорослей (Титлянов, Титлянова, 2012), а содержание клетчатки у многих видов невелико и варьирует от 1 до 20 % (Суховеева, Подкорытова, 2006). Обычно ее содержание в 2–3 раза выше у видов с жестким талломом по сравнению с имеющими мягкий, при этом довольно постоянно в каррагинофитах и составляет 7,2–20 %, а у агарофитов существенно ниже и варьирует от 3 до 10 % (Титлянов и др., 2011; Титлянов, Титлянова, 2012; Кадникова, 2016). Так, у *Ph. crispa* содержание клетчатки составляет 11,1–13 % сухого вещества, тогда как у *G. spinosum* – 5–9 % (Калугина-Гутник и др., 1987), у видов *Laurencia* не превышает 6,9–7,4 % (Мукатова и др., 2010), а у *Porphyra* – не более 3–4 % (Суховеева, Подкорытова, 2006).

Основные сульфатированные полисахариды желеобразующих красных водорослей, к которым относятся агар, агароид и каррагинаны, сосредоточены преимущественно в талломах и клеточных стенках, в последних происходит многоступенчатый биосинтез каррагинанов. Эти полисахариды, вероятно, выполняют определенную защитную функцию для водорослей и обеспечивают их адаптацию к стрессовым факторам, в том числе загрязнению. Можно предположить, что высокий пул АОС у *Ph. crispa* (каррагинофит), несмотря на более высокое содержание клетчатки по сравнению с *G. spinosum* и *L. coronopus* (виды-агарофиты), связан с формированием менее прочного геля в клеточных стенках и, возможно, с нарушением в них сложного процесса синтеза каррагинана при загрязнении

поллютантами. Ранее установлено, что прочность геля, образуемого каррагинанами, значительно ниже, чем получаемого из агара (Суховеева, Подкорытова, 2006), хотя содержание каррагинана в талломах многих видов красных водорослей почти вдвое выше, чем содержание агара и агароида, соответственно 20–92 % и 25–50 % сухой массы (Титлянов, Титлянова, 2012). Возможно, что с плотностью геля, процессом гелеобразования в клеточных стенках и содержанием в них целлюлозы связаны функциональные особенности агарофитов и каррагинофитов. При этом ранее показано, что филлофора отличается высокой степенью толерантности к абиотическим факторам среды, выдерживает значительное загрязнение, произрастает при солености от 12 до 36 ‰ на глубинах от 0,2 до 60 м при широком диапазоне низких и высоких температур (Калугина-Гутник, 1971; Максимова, 1993). Это, в свою очередь, свидетельствует о способности *Ph. crispa* к адаптации к различным экологическим условиям, что, возможно, связано с высоким уровнем активности ее АОС. Вероятно, что существенное сокращение ареала, деградация фитоценозов и резкое снижение продукционных показателей *Ph. crispa*, наблюдаемые в глубоководной зоне у Севастополя, Крыма и в других районах Черного моря, связаны не с ограниченной возможностью ее адаптации к стрессовым факторам, а с разрушением биотопов из-за чрезмерной антропогенной нагрузки, ведения хозяйственной деятельности на шельфе, в том числе при добыче песка и биологических ресурсов в режиме придонного траления (Мильчакова, 2003).

Таким образом, анализ выявленных особенностей АОС, варибельности значений АК, различия в химическом составе четырех исследуемых желеобразующих видов красных водорослей позволяет отнести *Ph. crispa*, представителя каррагинофитов, к видам-аккумуляторам, а *G. crinale*, *G. spinosum* и, возможно, *L. coronopus*, типичных агарофитов, – к видам-отражателям, имеющих разную стратегию адаптации к негативным экологическим факторам, лимитирующих их произрастание, включая хозяйственно-бытовое загрязнение акваторий.

## ВЫВОДЫ

1. Для 4 видов массовых, желеобразующих красных водорослей определены значения активности каталазы (АК), одного из главных ферментов антиоксидантной защиты, в различных экологических условиях взморья Севастополя. Диапазон варьирования значений АК у *Gelidium crinale* составляет от  $67,93 \pm 4,21$ – $243,33 \pm 9,87$ , *G. spinosum* – от  $44,73 \pm 1,38$  до  $301,9 \pm 27,0$ , у *Laurencia coronopus* находится в пределах  $6,12 \pm 1,04$ – $174,33 \pm 2,50$ , а у *Phyllophora crispa* достигает  $139,86 \pm 18,9$ – $453,69 \pm 18,3$  мкгН<sub>2</sub>О<sub>2</sub>/г×мин. Установлено, что значения АК *Ph. crispa* выше, чем у *Gelidium crinale*, *G. spinosum* и *L. coronopus* в 1,9–2,1, 1,5–3,2 и 2,6–23,2 раз соответственно. Исследуемые виды располагаются в порядке снижения значений АК, независимо от степени хозяйственно-бытового загрязнения прибрежных акваторий, следующим образом: *Ph. crispa* > *G. spinosum* > *G. crinale* > *L. coronopus*.

2. Показано, что общий антиоксидантный пул каррагинофитов (*Ph. crispa*) выше, чем агарофитов (*G. crinale*, *G. spinosum* и *L. coronopus*). У обеих групп желеобразующих красных водорослей выявлено увеличение значений АК с возрастанием хозяйственно-бытового загрязнения акваторий.

3. Выявлена статистически значимая связь АК исследуемых видов с глубиной произрастания ( $p \leq 0,05$ ). Изменение АК *G. spinosum* и *L. coronopus* с увеличением глубины описывается одновершинными кривыми с максимумом на глубинах 3 и 3–5 м соответственно. У *Ph. crispa* обнаружено повышение значений АК в 1,8 и 2,3 раза с возрастанием глубины до 17 м в условно чистой (б. Круглая) и сильнозагрязненной акватории (б. Карантинная) соответственно. Отмечено незначительное снижение значений АК филлофоры в диапазоне глубин 10–15 м по сравнению с 3–5 м в условиях средней степени загрязнения акватории (б. Камышовая).

**Благодарности.** Исследования выполнены в рамках государственного задания ФГБУН «Институт морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского РАН» по теме «Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана».

### Список литературы

- Березов Т. Т. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. – М.: Медицина, 1976. – С. 81–83.
- Биотические и абиотические характеристики взвеси поверхностной воды «РБК»-бухты у радиобиологического корпуса ИнБИОМ НАНУ за период 2009–2011 гг. / [В. Н. Поповичев, В. Н. Егоров, Т. Б. Ларина и др.] // Материалы науч. конф. «Ломоносовские чтения», 2013 г., и Междунар. науч. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2013» / [под ред. М. Э. Соколова, Г. А. Голубева, В. А. Иванова и др.]. – Севастополь: ООО «Экспресс-печатъ», 2013. – С. 43–44.
- Гидрохимическая характеристика отдельных бухт Севастопольского взморья / [Е. А. Куфтаркова, Н. Ю. Родионова, В. И. Губанов и др.] // Труды ЮГНИРО. – 2008. – Т. 46. – С. 110–117.
- Изменчивость параметров популяции мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam. и ее эндосимбионтов в районе Балаклавской бухты / [В. К. Мачкевский, М. А. Попов, Н. П. Ковригина и др.] // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа (сб. науч. тр.): [ред. колл. В. А. Иванов и др.]. – Севастополь, 2011. – Т. 1, Вып. 25. – С. 417–428.
- Кадникова И. А. Разработка технологической классификации красных водорослей и морских трав для получения полисахаридов / отв. ред. О. П. Чигишева // Наука сегодня: теория, практика, инновация. Коллективная монография. – Ростов н/Д., 2016. – Т. 9. – С. 75–104.
- Калугина-Гутник А. А. Макрофитобентос Черного моря. – Киев: Наук. думка, 1971. – 248 с.
- Калугина-Гутник А. А. Видовой состав и географическое распространение макрофитов Красного моря // Бентос шельфа Красного моря. – Киев: Наук. думка, 1971. – С. 232–267.
- Калугина-Гутник А. А., Миронова Н. В., Рындина Д. Д. Сезонные изменения содержания агара в слоевищах черноморской грацилярии // Проблемы производства продукции из красных и бурых водорослей: Всесоюз. семинар. – Владивосток, 1987. – С. 10–12.
- Кирюхина Л. Н., Мионов О. Г. Химическая и микробиологическая характеристика донных осадков севавтопольских бухт в 2003 г. // Экология моря. – 2004. – Вып. 66. – С. 53–58.
- Комплексный мониторинг вод Балаклавской бухты (Черное море) в период 2001–2007 гг. / [Н. П. Ковригина, М. А. Попов, Е. В. Лисицкая и др.] // Морск. экол. журн. – 2010. – Т. 9, № 4. – С. 62–75.
- Кондратьев С. И. Содержание биогенных элементов и кислорода в различных районах украинской части шельфа Черного моря в 2006–2010 гг. по данным экспедиционных исследований Морского гидрофизического института НАН Украины // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа (сб. науч. тр.): [ред. колл. В. А. Иванов и др.]. – Севастополь, 2012. – Т. 1, Вып. 26. – С. 198–211.
- Красная книга Российской Федерации (растения и грибы) / [гл. ред. Ю. П. Трутнев; отв. ред. Л. В. Бардунов, В. С. Новиков]. – М.: Т-во науч. изд. КМК, 2008. – 885 с.
- Максимова О. В. Водоросли-агарофиты Мирового океана: распространение, продукция, культивирование, утилизация. Обзор литературы // Биология черноморских агарофитов: сб. тр. – М.: ИО РАН, 1993. – С. 7–24.
- Милячакова Н. А. Макрофитобентос // Современное состояние экологии прибрежных вод Крыма (черноморский сектор) / [под ред. В. Н. Еремеева, А. В. Гаевской]. – Севастополь: ЭкоСи-Гидрофизика, 2003. – С. 152–208.
- Милячакова Н. А., Шахматова О. А. Каталаяная активность массовых видов черноморских водорослей-макрофитов в градиенте хозяйственно-бытового загрязнения // Морск. экол. журн. – 2007. – Т. 6, № 2. – С. 44–57.
- Мионов О. Г., Кирюхина Л. Н., Алемов С. В. Санитарно-биологические аспекты экологии севавтопольских бухт в XX веке. – Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2003. – 185 с.
- Мукатова М. Д., Привезенцев А. В., Бисенова А. Р. Применение водорослей Северного Каспия в качестве сырья для получения желирующих веществ // Рыбпром: технологии и оборудование для переработки водных биоресурсов. – 2010. – № 3. – С. 67–73.
- Некоторые геохимические показатели донных отложений прибрежной акватории под влиянием антропогенного фактора (на примере бухты Казачья, г. Севастополь) / [Е. А. Котельянец, К. И. Гулов, Е. А. Тихонова, О. В. Соловьева] // Вестник УдмГУ. Серия «Биология. Науки о Земле». – 2017. – Т. 27, № 1. – С. 5–13.
- О перспективах и возможностях оценки самоочистительной способности акватории Севастопольской бухты / [Е. Е. Совга, И. В. Мезенцева, Т. В. Хмара, К. А. Слепчук] // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа (сб. науч. тр.): [ред. колл. В. А. Иванов и др.]. – Севастополь, 2014. – Вып. 28. – С. 153–164.
- Окислительный стресс. Проксиданты и антиоксиданты / [Е. Б. Меньщикова, В. З. Ланкин, Н. К. Зенков и др.]. – М.: Слово, 2006. – 556 с.
- Осадчая Т. С., Алемов С. В., Шадрин Т. В. Экологическое качество донных осадков Севастопольской бухты: ретроспектива и современное состояние // Экология моря. – 2004. – Вып. 66. – С. 82–87.
- Осадчая Т. С. Нефтяные углеводороды в донных осадках прибрежных акваторий г. Севастополя (Черное море) // Scientific Research and Their Practical Application. Modern State and Ways of Development, 2013 (October, 1–12, 2013). [Электронный ресурс]. – 2013. Режим доступа: <http://www.sworld.com.ua/index.php/ru/conference/the-content-of-conferences/archives-of-individual-conferences/oct-2013>

Основные источники загрязнения морской среды Севастопольского региона / [Е. И. Овсяный, А. С. Романов, Р. Я. Миньковская и др.] // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа (сб. науч. тр.): [ред. колл. В. А. Иванов и др.]. – Севастополь, 2001. – Вып. 2. – С. 138–152.

Перекисное окисление и стресс / [В. А. Барабой, И. И. Брехман, В. Г. Голотин и др.]. – СПб.: Наука, 1992. – 147 с.  
Свищев С. В. Закономерности сезонных изменений биохимического потребления кислорода в водах Севастопольской бухты // Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона. Материалы VII межд. конф., г. Керчь, 20–23 июня 2012 г. – Керчь, 2012. – Т. 1. – С. 210–213.

Сезонные особенности гидролого-гидрохимической структуры вод Севастопольской бухты, микропланктон и распределение его биохимических компонент (Черное море, наблюдения 2004–2005 гг.) / [А. С. Лопухин, Е. И. Овсяный, А. С. Романов и др.] // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа (сб. науч. тр.): [ред. колл. В. А. Иванов и др.]. – Севастополь, 2007. – Вып. 15. – С. 74–109.

Современное экологическое состояние б. Круглой (г. Севастополь) / [С. А. Ковардаков, А. В. Празукин, В. В. Холодов, Н. Ю. Родионова] // Системы контроля окружающей среды (сб. науч. тр.). – Севастополь, 2012. – Вып. 17. – С. 177–183.

Суховеева М. В., Подкорытова А. В. Промысловые водоросли и травы морей Дальнего Востока: биология, распространение, запасы, технология переработки. – Владивосток: ТИПРО-центр, 2006. – 243 с.

Титлянов Э. А., Титлянова Т. В., Белоус О. С. Полезные вещества морских красных водорослей (Rhodophyta): химическая структура и содержание // Изв. ТИПРО. – 2011. – Т. 165. – С. 305–319.

Титлянов Э. А., Титлянова Т. В. Морские растения стран Азиатско-Тихоокеанского региона, их использование и культивирование. – Владивосток: Дальнаука, 2012. – 377 с.

Тихонова Е. А. Многолетняя динамика загрязнения органическими веществами донных осадков бухты Круглая (Севастополь, Черное море) // Морск. биол. журн. – 2016. – Т. 1, № 1. – С. 70–75.

Ткаченко Ф. П., Ситников Ю. А., Куцын О. Б. Состояние элементов антиоксидантной системы водорослей из разных по степени загрязненности районов Черного моря // Экология моря. – 2004. – Т. 4, № 6. – С. 70–74.

Фридович И. Радикалы кислорода, пероксид водорода и токсичность кислорода // Свободные радикалы в биологии. – М.: Мир, 1979. – Т. 1. – С. 272–314.

Чукина Н. В. Структурно-функциональные показатели высших водных растений в связи с их устойчивостью к загрязнению среды обитания: автореф. дисс. ... на соиск. учен. степени канд. биол. наук / Н. В. Чукина. – Борок: ИБВВ, 2010. – 25 с.

Шахматова О. А. Активность антиоксидантной системы некоторых черноморских гидробионтов в прибрежной акватории Севастополя: автореф. дисс. ... на соиск. учен. степени канд. биол. наук / О. А. Шахматова. – Севастополь: ИнБЮМ НАНУ, 2004. – 21 с.

Шахматова О. А., Мильчакова Н. А. Активность каталазы черноморских видов *Cystoseira* С. Ag. в различных экологических условиях // Альгология. – 2009. – Т. 19, № 1. – С. 34–46.

Шахматова О. А., Мильчакова Н. А. Влияние экологических условий на активность каталазы массовых видов черноморских макроводорослей // Альгология. – 2014. – Т. 24, № 4. – С. 461–476.

Шахматова О. А., Парчевская Д. С. Активность каталазы и контроль качества воды // Альгология. – 2000. – Т. 10, № 3. – С. 355–361.

Aguilera J., Bishof K., Karsten U. Seasonal variation in ecophysiological pattern in macroalgae from an Arctic fjord. II Pigment accumulation a biochemical defense system against high light stress // Marine Biology. – 2002. – Vol. 140. – P. 1087–1095.

Bioprotective properties of seaweeds: in vitro evaluation of antioxidant activity and antimicrobial activity against food borne bacteria in relation to polyphenolic content / [K. P. Devi, N. Suganthy, P. Kesika, S. K. Pandian] // BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2008. – Vol. 8, N 1. – P. 38–48.

**Shakhmatova O. A., Milchakova N. A., Kovardakov S. A. Catalase activity of some red gelling algae in the different environmental condition of the Sevastopol coastal zone (Black Sea) // Ekosistemy. 2018. Iss. 14 (44). P. 91–102.**

The results of the catalase activity (AC) of gell-forming red algae *Gelidium crinale* (Hare ex Turner) Gaillon, *G. spinosum* (S.G. Gmelin), *Laurencia coronopus* J. Agardh (agarophytes) and *Phyllophora crispa* (Hudson) P.S. Dixon (carrageenophyte), growing in various ecological conditions in the coastal zone of the Sevastopol are represented. It is established that the AC values of *Ph. crispa* exceed those of *G. crinale*, *G. spinosum* and *L. coronopus* in 1.9–2.1, 1.5–3.2 and 2.6–23.2 times, respectively. A positive correlation of the AC red algae with the level of pollution and domestic contamination of water was found, while the magnitude of the response of AC *Ph. crispa* higher than in other species in 1.6–5.5 times. A statistically significant connection of AC gelling red algae with the depth was revealed. It is described by single-vertex curves for *G. spinosum* and *L. coronopus* with maximum at 3 and 3–5 m depths, respectively. For *Ph. crispa* are found increasing of AC doubled at the lower depth to 17 m, both in clear and heavily polluted water areas. By the average degree of contamination the maximum of AC *Ph. crispa* falls at a depth of 5 m, a slight decrease the value of this indicator is typical for depths of 10–15 m. Regardless of environmental conditions, the total antioxidant pool of *Ph. crispa* higher than that *G. crinale*, *G. spinosum* and *L. coronopus*, the values of their AC decrease as follows: *Ph. crispa* > *G. spinosum* > *G. crinale* > *L. coronopus*. The results of studies by the adaptation of the Black Sea gell-forming red algae to environmental conditions could be useful for the elaboration of their cultivation.

**Key words:** red algae, agarophytes, antioxidant system, catalase activity, pollution, depth, coastal zone, Sevastopol, the Black Sea.

Поступила в редакцию 12.02.18