

УДК.[582.26/27:577.15:628.19 (262.5)]

О.А. ШАХМАТОВА, Н.А. МИЛЬЧАКОВА

Институт биологии южных морей НАН Украины
пр-т Нахимова, 2, Севастополь 99011

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ЧЕРНОМОРСКИХ МАКРОФИТОВ ДЛЯ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОЧИЩЕНИЯ ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ ЦЕНОЗОМ ОБРАСТАНИЯ

Использовали активность каталазы (АК) черноморских макрофитов в качестве биохимических маркеров для оценки качества морской среды в зоне действия экспериментальной установки для очистки воды от нефтепродуктов. Обнаружено снижение АК *Ceramium rubrum* и *Cladophora laetevirens* в 2–5 раз при приближении к установке, что свидетельствует об эффективности ее действия.

Ключевые слова: качество воды, черноморские макрофиты, экологическое состояние, биохимические маркеры, каталаза

Выявление среди морских макрофитов видов-индикаторов и их биохимических маркеров, которые позволяют проводить экспресс-оценку качества среды, относится к актуальным научно-практическим и экологическим задачам. Такие исследования выполнены для многих массовых видов черноморских макроводорослей, среди которых наиболее четкий отклик на воздействие антропогенного загрязнения показали *Enteromorpha intestinalis* (L.) Nees, *Cladophora laetevirens* (Nees) Kutz., *Ceramium rubrum* (Huds.) C. Ag [2].

В современной биологии антиоксидантная система (АОС) рассматривается как звено метаболизма, отличающееся универсальным откликом на любое воздействие, в том числе и токсическое. Этот отклик включает адаптивные изменения, связанные с активацией АОС в ответ на увеличение концентрации токсичных метаболитов. Одним из важнейших ферментов, обеспечивающих защиту клетки от продуктов свободнорадикального окисления, в частности, от перексида водорода, является каталаза (К.Ф. 1.11.16) (КАТ), которая проявляет максимальный отклик у морских макрофитов на изменение качества среды при действии антропогенного загрязнения [5, 6].

Цель работы – изучение вариабельности фермента АОС каталазы у массовых видов черноморских макрофитов в зависимости от уровня хозяйственно-бытового загрязнения.

Материал и методы исследований

Исследования проведены на пилотной установке для оценки влияния загрязнения на экологическую обстановку в районе размещения. Пилотная установка является гидробиологической системой оздоровления акватории, загрязненной нефтепродуктами и представляет собой техническую конструкцию, создающую дополнительную площадь для формирования и развития сообществ организмов-обрастателей, среди которых лидирующая роль принадлежит двустворчатому моллюску *Mytilus galloprovincialis*. Мобильность конструкции допускает размещение ее в непосредственной близости от источника загрязнения (например, нефтезаправочного терминала), создавая тем самым искусственный барьер-фильтр на пути возможного распространения нефти и нефтепродуктов по всей акватории водоема.

Материалом исследования были массовые виды черноморских макрофитов *Cladophora laetevirens*, *Enteromorpha intestinalis*, *E. prolifera* (O.F.Muller) J.Ag., *Gracillaria verrucosa* (Huds) Papenf., *Ceramium rubrum*. Отбор проб был осуществлен в эвтрофной акватории вблизи вершины Севастопольской бухты – Нефтегавани, наиболее загрязненной нефтяными углеводородами [4] в нескольких точках – на самой установке и на расстоянии от нее 5 м, 50 и 150 м.

Для сравнения использовали данные, полученные на 5 станциях Севастопольской бухты, которые характеризуются различной степенью загрязнения [6]. Определение АК осуществляли по методу Баха и Зубковой [1], адаптированного для макрофитов [2, 6].

Результаты исследований и их обсуждение

На основании результатов активности каталазы (АК) *E. intestinalis* и *C. rubrum* в акватории Севастопольской бухты в течение года были рассчитаны 95%-е доверительные интервалы ее среднего значения для энтероморфы и церамииума, равные 34 ± 9 ($n=24$) и 57 ± 12 мкг $H_2O_2/г \cdot мин$

(n=12) соответственно. Их предложено считать оценкой нормы АК для исследуемых макрофитов [7].

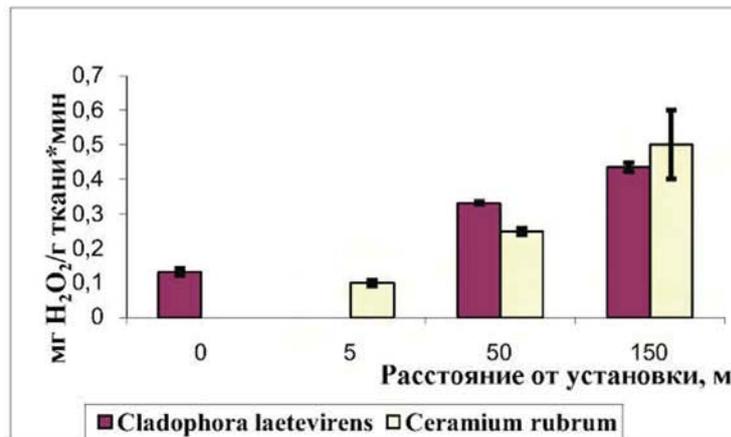


Рис.1. Изменение активность каталазы водорослей-макрофитов при удалении от пилотной установки

Полученные результаты нашли практическое применение при оценке эффективности действия пилотной экспериментальной установки. Было обнаружено, что АК водорослей-макрофитов при удалении от установки увеличивалась (Рис.1). Наиболее высокие значения АК были отмечены для *C. laetevirens* на максимальном расстоянии от установки, равном 150 м и составляли $434,7 \pm 13,23$ мкг H₂O₂/(г*мин). При сокращении расстояния до 50 м АК *C. laetevirens* снижалась до $311,9 \pm 3,28$ мкг H₂O₂/(г*мин), что, соответственно, в 3,3 и 2,3 раза выше, чем у водорослей, собранных на самой установке ($132,3 \pm 10,00$ мкг H₂O₂/(г*мин)). Аналогичное изменение АК отмечено также и для *C. rubrum*. АК церамииума увеличивалась пропорционально расстоянию от установки и составляла $100,0 \pm 0,96$, $250,0 \pm 1,89$ и $498,0 \pm 14,0$ мкг H₂O₂/(г*мин) при удалении от установки на расстояние 5 м, 50 и 150 м соответственно. Поскольку увеличение АК водорослей-макрофитов является адекватным показателем повышения загрязненности морской среды, можно сделать вывод о снижении уровня поллютантов вблизи экспериментальной установки. АК зеленых водорослей *E. intestinalis* и *E. prolifera*, отобранных на самой установке, составляла $31,08 \pm 2,15$ мкг H₂O₂/(г*мин) и $23,73 \pm 1,27$ мкг H₂O₂/(г*мин) соответственно, что практически полностью совпадало с условно нормальными значениями АК для *E. intestinalis*, рассчитанными теоретически – $34,0 \pm 9,0$ мкг H₂O₂/(г ткани*мин), что также свидетельствует о благоприятной экологической обстановке в районе размещения установки. Значения АК *G. verrucosa* составляли $33,4 \pm 9,0$ мкг H₂O₂/(г ткани*мин) и $48,3 \pm 16,0$ мкг H₂O₂/(г ткани*мин) при увеличении расстояния до установки от 50 м до 150 м соответственно. Несмотря на то, что по объективным причинам мы не могли определить АК *G. verrucosa* на самой установке, тенденция изменения АК этого вида в исследуемых точках совпадает с изменением АК *C. laetevirens* и *C. rubrum*.

Бухта Южная является акваторией, сопредельной Нефтегавани, и соответствует ей по уровню эвтрофирования. На рис. 2 отражена динамика АК *C. rubrum* и *E. Intestinalis* в бухте Южная. АК Эти макрофиты особенно чувствительны к воздействию антропогенного загрязнения, АК их четко реагирует на изменение экологического состояния акваторий. Пик активности АК исследуемых видов, который наблюдали с августа по ноябрь, трудно объяснить физиологическими циклами развития, поскольку в данное время макрофиты находятся в стационарном состоянии.

Кроме того, в течение двух лет наблюдений он был обнаружен только однажды. Такое значительное увеличение АК в этот период является показателем сильнейшего токсического стресса, который испытывали макрофиты в данном районе. Известно увеличение АК макрофитов при воздействии антропогенного загрязнения [2, 5]. В это время на исследуемой станции были отмечены аномально высокие концентрации биогенных веществ: нитритов-до 1 мкМ/дм³, нитратов – до 100 мкМ/дм³, фосфатов –до 0,16 мкМ/дм³ [4]. С октября-ноября произошло размывание поллютантов, экологическое состояние окружающей водной среды улучшилось, значения АК водорослей уменьшились. Полученные данные подтверждают возможность использования активности каталазы *C. rubrum* и *E. Intestinalis* в качестве биомаркера в мониторинге морских акваторий, что показано и для других макрофитов [2, 3].

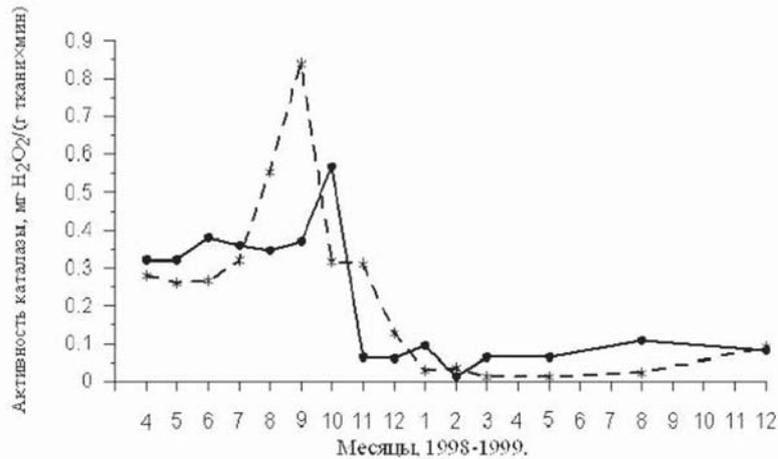


Рис. 2. Активность каталазы черноморских водорослей в Южной бухте; * - - - *Ceramium rubrum*, • — — *Enteromorpha intestinalis*

Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что активность фермента каталазы в черноморских макроводорослях- *Enteromorpha intestinalis*, *Cladophora laetevirens* и *Ceramium rubrum* может быть использована в качестве биомаркера импактности морских акваторий.

Обнаружено снижение активности каталазы исследуемых макрофитов при приближении к пилотной установке. Значения АК *C. laetevirens* снижались с $434,7 \pm 13,23$ мкг H₂O₂/(г*мин) до значений $132,3 \pm 10,00$ мкг H₂O₂/(г*мин), отмеченных на расстоянии 150 м от установки и на самой установке, соответственно. Активность каталазы *C. rubrum* снижалась в 2–5 раз пропорционально уменьшению расстояния от установки, что свидетельствует об эффективности ее очищающего действия, о благоприятном воздействии ценоза обрастания пилотной установки на окружающую морскую среду, об улучшении экологической обстановки в районе ее размещения.

Определены доверительные интервалы активности каталазы в энтероморфе и церамииуме, соответствующие их нормальному функционированию, т. е. уровни нормы отклика, соответствующие значениям 34 ± 9 мкг H₂O₂/(г*мин) для *E. intestinalis* и 57 ± 12 мкг H₂O₂/(г*мин) для *C. rubrum*.

1. Березов Т.Т. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии / Т.Т. Березова – М.: Медицина, 1976. – С. 81–83.
2. Мильчакова Н.А. Каталазная активность массовых видов черноморских водорослей-макрофитов в градиенте хозяйственно-бытового загрязнения / Мильчакова Н.А., Шахматова О.А. // Морской экологический журнал. – 2007. – № 2. – С.44–57.
3. Мильчакова Н.А. Оценка степени загрязнения черноморских акваторий по биохимическим маркерам макроводорослей / Мильчакова Н.А., Шахматова О.А. // Междунар. науч.-практ. конф. «Биоразнообразие и устойчивое развитие» – 2010. – С.154–156.
4. Овсяный Е.П. Гидролого- гидрохимический режим Севастопольской бухты в условиях антропогенного загрязнения / Овсяный Е.И., Кемп Р.Б. // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зоны. – Севастополь: ЭкоСи, 2000. – С. 79–103.
5. Ткаченко Ф.П. Состояние элементов антиоксидантной системы водорослей из разных по степени загрязненности районов Черного моря / Ф.П.Ткаченко, Ю.А.Ситников, У.Б. Куцын // Экология моря. – 2004. – № 6. – С. 70–74.
6. Шахматова О.А. Активность антиоксидантной системы некоторых черноморских гидробионтов в прибрежной акватории Севастополя : автореф. дисс. ... канд. биол. наук. / О.А. Шахматова – Севастополь, 2004. – 21 с.
7. Шахматова О.А. Активность каталазы и контроль качества воды / Шахматова О.А., Парчевская Д.С. // Альгология. – 2000. – № 3. – С. 355–361.

О.А. Шахматова, Н.А. Мильчакова

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь

ВИКОРИСТАННЯ БІОХІМІЧНИХ МАРКЕРІВ ЧОРНОМОРСЬКИХ МАКРОФІТІВ ДЛЯ ОЦІНКИ ЕФЕКТИВНОСТІ ОЧИЩЕННЯ ПРИБЕРЕЖНОЇ АКВАТОРІЇ ЦЕНОЗОМ ОБРОСТАННЯ

Використовували активність каталази (АК) чорноморських макрофітів як біохімічний маркер для оцінки якості морського середовища в зоні дії експериментальної установки для очищення води від нафтопродуктів. Виявлено зниження АК *Cladophora laetevirens* і *Ceramium rubrum* у 2–5 разів при наближенні до установки, що свідчить про ефективність її дії.

Ключові слова: якість води, чорноморські макрофіти, екологічний стан, біохімічні маркери, каталаза

О.А. Shakhmatova, N.A. Mil'chakova

Institute of Biology of the Southern Seas of NAS of Ukraine, Sevastopol

USE OF BIOCHEMICAL MARKERS OF BLACK SEA MACROPHYTES FOR ESTIMATION OF EFFICIENCY OF CLEARING OF OFF-SHORE AQUATORIUM CENOSIS OF BECOMING OVERGROWN WITH

Black sea macrophytes catalase activity (CA) has been applied as biomarker of sea water quality in experimental state zone. This experimental state cleaned water area from oil hydrocarbonates. Decreased CA *Ceramium rubrum* и *Cladophora Laetevirens* in 2–5 times has been discovered near experimental state. This fact demonstrated efficiency action of experimental state.

Key words: quality water, black sea macrophytes, ecological state, biochemical markers, catalase

УДК 591.524.12(268.45)

Т.И. ШИРОКОЛЮБОВА

Мурманский морской биологический институт Карельского Научного Центра РАН
ул. Владимирская, 17, Мурманск 183010, Россия

**ФИЛЬТРУЮЩИЕСЯ КЛЕТКИ В БАКТЕРИОПЛАНКТОНЕ
БАРЕНЦЕВОМОРСКОГО ПРИБРЕЖЬЯ**

В прибрежной зоне Баренцева моря исследовано распределение культивируемых форм бактериальных клеток субмикронных размеров, проходящих при фильтрации через фильтры с порами 0,2 мкм.

Ключевые слова: бактериопланктон, фильтрующиеся клетки, Баренцево море

В последние десятилетия накоплены данные о присутствии в морской и пресной воде значительных количеств бактериальных клеток, способных проходить при фильтрации через мембранные фильтры с порами 0,2 мкм [1, 12–14]. Получаемый фильтрат состоит из смеси растворенных органических веществ (ОВ) и микроорганизмов, активно включающих в свой обмен C^{14} и имеющих размеры 0,1х0,15 мкм [6].

Исследования бактериопланктона открытых и прибрежных участков Баренцева моря показали, что объем менее 0,04 мкм³ имели 29% всех учитываемых кокков [1, 12], а число жизнеспособных фильтрующихся бактерий в водах литорали в весенне-летний период составляло тысячи и десятки тысяч колониеобразующих единиц (КОЕ) в миллилитре [7]. Неоднородность состава выделяемых колоний позволяет предположить, что в их число попадали клетки микоплазм [2], карликовые клетки, образующиеся на определенных стадиях развития, например, у морских спирохет [4] или бактерии, проходящие L-трансформацию под влиянием NaCl в морской воде [9], а также микровибрионы [6].

В статье рассматривается состав бактериопланктона.

Материал и методы исследований

Пространственное распределение культивируемой фракции бактериальных клеток субмикронных размеров было изучено в баренцевоморском прибрежье летом 2002 г.