

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) Kütz., *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 пероксида 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 варибельности 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*мин

(n=12) відповідно. Їх пропонується вважати оцінкою норми АК для досліджуваних макрофітів [7].

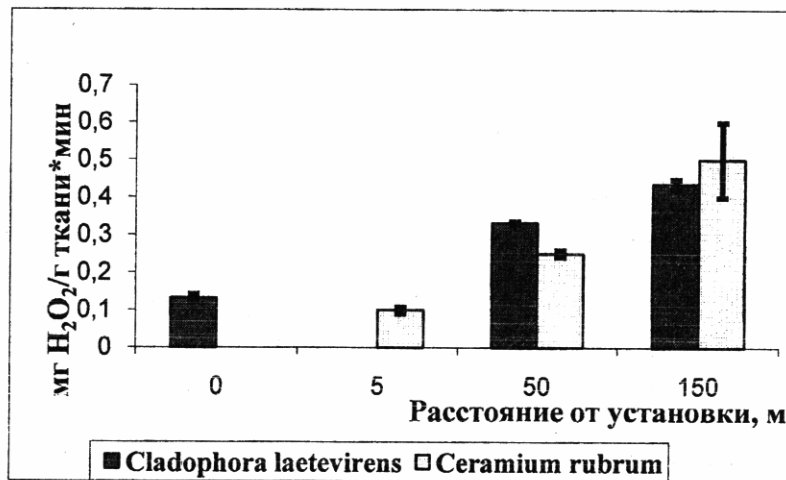


Рис.1. Зміна активності каталази водорослей-макрофітів при удаленні від пилотної установки

Отримані результати знайшли практичне застосування при оцінці ефективності дії пилотної експериментальної установки. Було виявлено, що АК водорослей-макрофітів при удаленні від установки збільшувалась (Рис.1). Найбільш високі значення АК були відзначені для *C. laetevirens* на максимальній відстані від установки, рівній 150 м і становили $434,7 \pm 13,23$ мкг H₂O₂/(г*мін). При скороченні відстані до 50 м АК *C. laetevirens* знизилась до $311,9 \pm 3,28$ мкг H₂O₂/(г*мін), що, відповідно, в 3,3 і 2,3 рази вище, ніж у водорослей, зібраних на самій установці ($132,3 \pm 10,00$ мкг H₂O₂/(г*мін)). Аналогічне збільшення АК відзначено також і для *C. rubrum*. АК цераміума збільшувалась пропорційно відстані від установки і становила $100,0 \pm 0,96$, $250,0 \pm 1,89$ і $498,0 \pm 14,0$ мкг H₂O₂/(г*мін) при удаленні від установки на відстані 5 м, 50 і 150 м відповідно. Оскільки збільшення АК водорослей-макрофітів є адекватним показником підвищення забрудненості морської середовища, можна зробити висновок про зниження рівня забруднювачів поблизу експериментальної установки. АК зелених водорослей *E. intestinalis* і *E. prolifera*, зібраних на самій установці, становили $31,08 \pm 2,15$ мкг H₂O₂/(г*мін) і $23,73 \pm 1,27$ мкг H₂O₂/(г*мін) відповідно, що практично повністю збігалось з умовно нормальними значеннями АК для *E. intestinalis*, розрахованими теоретично – $34,0 \pm 9,0$ мкг H₂O₂/(г тканин*мін), що також свідчить про сприятливі екологічні умови в районі розміщення установки. Значення АК *G. verrucosa* становили $33,4 \pm 9,0$ мкг H₂O₂/(г тканин*мін) і $48,3 \pm 16,0$ мкг H₂O₂/(г тканин*мін) при збільшенні відстані до установки від 50 м до 150 м відповідно. Незважаючи на те, що по об'єктивним причинам ми не могли визначити АК *G. verrucosa* на самій установці, тенденція збільшення АК цього виду в досліджуваних точках збігається з збільшенням АК *C. laetevirens* і *C. rubrum*.

Бухта Южна є акваторією, межеваною Нефтегаванню, і відповідає їй за рівнем евтрофікації. На рис. 2 відображена динаміка АК *C. rubrum* і *E. intestinalis* в бухті Южній. АК цих макрофітів особливо чутливі до впливу антропогенного забруднення, АК їх чітко реагують на зміну екологічного стану акваторій. Пік активності АК досліджуваних видів, який спостерігали в серпні по вересень, важко пояснити фізіологічними циклами розвитку, оскільки в цей час макрофіти перебувають у стаціонарному стані.

Крім того, впродовж двох років спостережень він був виявлений лише один раз. Таке значне збільшення АК в цей період є показником сильнішого токсичного стресу, який переживали макрофіти в даній зоні. Відомо збільшення АК макрофітів при впливі антропогенного забруднення [2, 5]. В цей час на досліджуваній станції були відзначені аномально високі концентрації біогенних речовин: нітритів – до 1 мкг/дм³, нітратів – до 100 мкг/дм³, фосфатів – до 0,16 мкг/дм³ [4]. В жовтні-листопаді відбулося розмивання забруднювачів, екологічний стан навколишньої водної середовища покращився, значення АК водорослей зменшились. Отримані дані підтверджують можливість використання активності каталази *C. rubrum* і *E. intestinalis* як біомаркерів в моніторингу морських акваторій, що показано і для інших макрофітів [2, 3].

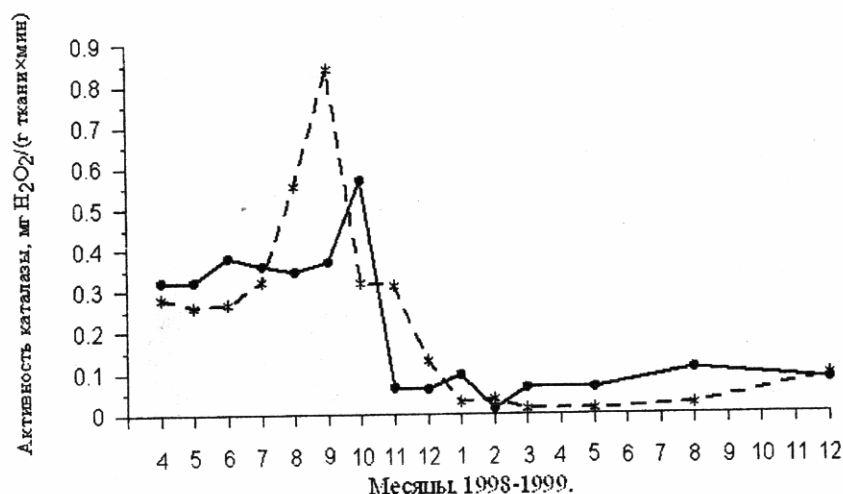


Рис. 2. Активность каталазы черноморских водорослей в Южной бухте;
* - - - *Ceratomyx rubrum*, • — — *Enteromorpha intestinalis*

Выводы

Таким образом, в результате проведенных исследований показано, что активность фермента каталазы в черноморских макроводорослях- *Enteromorpha intestinalis*, *Cladophora laetevirens* и *Ceratomyx 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 церамиуме, 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.И. Гидролого- гидрохимический режим Севастопольской бухты в условиях антропогенного загрязнения / Овсяный Е.И., Кемп Р.Б. // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зоны. – Севастополь: Экопси, 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. Мільчакова

Інститут біології південних морів НАН України, 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

O.A. 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. ШИРОКОЛОВА

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.