

577.1:574(262.5)
Ш 31

ПРОВ 2010

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ
ИНСТИТУТ БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ ИМ. А.О. КОВАЛЕВСКОГО

ШАХМАТОВА
Ольга Александровна

Mat

УДК 577.1:574.(262.5)

**АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ
НЕКОТОРЫХ ЧЕРНОМОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ
В ПРИБРЕЖНОЙ АКВАТОРИИ СЕВАСТОПОЛЯ**

03.00.17 – гидробиология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание научной степени
кандидата биологических наук

Севастополь – 2004

Диссертация является рукописью

Работа выполнена в Институте биологии южных морей
им. А.О. Ковалевского НАН Украины, г. Севастополь

Научный руководитель: кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Тренкеншу Рудольф Павлович,
Институт биологии южных морей НАН Украины,
заведующий отделом

Официальные оппоненты: доктор биологических наук, профессор
Сиренко Лидия Акимовна
Институт гидробиологии НАН Украины,
главный научный сотрудник

кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник
Силкин Юрий Александрович
Карадагский природный заповедник НАН
Украины

Ведущая организация: Одесский национальный университет
им. И.И.Мечникова,
кафедра гидробиологии и общей экологии

Защита диссертации состоится "7" июля 2004 г в 10 часов
на заседании специализированного ученого совета Д 50.214.01
при Институте биологии южных морей, адрес: 99911 г. Севастополь, пр.

га биологии южных

Гаевская А.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В современной биологии антиоксидантная (АО) система рассматривается как звено метаболизма, отличающееся универсальным откликом на любое воздействие, в том числе и токсическое. Этот отклик включает адаптивные изменения, связанные с активацией АО системы в ответ на увеличение концентрации токсичных кислородных метаболитов, вызывающих нарушение окислительно-восстановительного потенциала клеток и тканей, а также деструктивные изменения белков, жиров и нуклеиновых кислот (Владимиров, Арчаков, 1972; Менщикова, Зенков, 1993).

Потенциальная возможность использования связи между биохимическим откликом организмов на оксидативный стресс, возникающий при действии повреждающего фактора окружающей среды, и состоянием самой среды является ключевым моментом экологического мониторинга. На существование такой зависимости указывают многие авторы (Winstone, Di-Julio, 1991; Lafaurie et al., 1992; Burgeot et al., 1996). Сравнительные исследования отклика животных из различных таксономических групп на разрушительное действие свободных радикалов позволили выявить особую роль морских организмов в механизме экологического мониторинга (Di-Julio, 1991).

Показатели АО системы отличаются быстротой и адекватностью реакции на увеличение концентрации загрязняющих веществ, что дает возможность оценить комплексное загрязнение акваторий. По этой причине в мировой практике они широко используются для контроля качества среды (Livingstone et al., 1990; Di-Julio, 1993; Peters et al., 1994; Foerlin et al., 1995; Burgeot et al., 1996; Nesci et al., 1998). Определение отдельных поллютантов в морской среде не всегда объективно характеризует экологическую ситуацию, поскольку они, подвергаясь трансформации в водной среде, взаимодействуя между собой и факторами среды, образуют продукты, химическая природа которых неизвестна, а методы оценки токсичности не разработаны. Поэтому применение чувствительных и недорогих методов морского экологического мониторинга является крайне актуальным.

Связь с научными программами, планами, темами. Проведенные исследования выполнялись в рамках бюджетной тематики НАН Украины по темам "Метаболические основы существования массовых видов беспозвоночных и рыб в условиях меняющегося режима Черного моря" (1996 - 1998 гг.), № гос. регистрации 0196U022102 и "Структурно-функциональные основы продукционных процессов у гидробионтов" (1999 - 2000 гг.), № гос. регистрации 0199U001389. По теме исследования были проведены работы в рамках международного гранта "Bioenergetic activity of the marine organism as an integral index of enviromental water quality" INTAS-OPEN-96-1961, в котором автор являлся исполнителем раздела.

Институт биологии
южных морей АН УССР

БИБЛИОТЕКА

№ 814

Цель и задачи исследования. Целью работы явилось определение комплекса параметров АО системы гидробионтов для оценки экологического состояния прибрежных вод Черного моря. В соответствии с целью исследования были поставлены следующие задачи:

- выявить изменение активности каталазы у морских организмов различных таксономических групп, а также оценить степень реагирования соответствующих морских организмов на изменения условий среды;
- определить интервалы активности каталазы и концентрации ТБК-активных продуктов в зеленых и красных водорослях-макрофитах и личинках некоторых видов рыб, соответствующие их условно нормальному функционированию;
- установить порог чувствительности активности каталазы у зеленых и красных водорослей-макрофитов для нитратов и нитритов в полевых условиях;
- изучить влияние меди и нитратов на изменение активности каталазы у личинок *A. hepsetus* в эксперименте;
- провести ранжирование прибрежных районов Севастопольской бухты по степени активности антиоксидантной системы у гидробионтов в соответствии с уровнем загрязнения акватории.

Объектом исследования является АО система черноморских гидробионтов и связь ее активности со степенью загрязнения среды.

Предмет исследования - экологическое состояние прибрежных вод Черного моря и его оценка по степени активности АО системы гидробионтов.

Методы исследования. В работе использовали биохимические методы определения энзиматической активности ферментов АО комплекса и концентраций низкомолекулярных антиоксидантов, а также гидрологические и гидрохимические методы определения параметров среды.

Научная новизна полученных результатов. В данной работе впервые предложен комплекс биомаркеров - параметров АО системы для количественной оценки состояния гидробионтов и среды их обитания. Ранее известные результаты по изучению АО системы черноморских организмов использовали для характеристики их эволюционного уровня и видовой принадлежности. Впервые выявлена роль каталазы в процессе адаптации гидробионтов к загрязнению.

Впервые выявлены и определены интервалы активности каталазы у гидробионтов-индикаторов, соответствующие их условно нормальному функционированию. Впервые определена норма реакции процесса перекисного окисления липидов в организмах-индикаторах. Впервые обнаружены диапазоны изменения параметров среды (температура, плотность, концентрация кислорода, фосфатов, нитратов и нитритов), соответствующие условно нормальному функционированию личинок *A. hepsetus*, а также двух видов водорослей-макрофитов - *Enteromorpha intestinalis* (L.) Nees и *Ceramium rubrum* (Huds.) Ag.

Практическое значение полученных результатов. Комплекс биомаркеров и соответствующих организмов-индикаторов, предложенный автором, позволяет без больших экономических затрат (простота отбора проб,

экономичность и быстрота проведения анализов) регулярно вести контроль состояния черноморских акваторий, а также проводить ранжирование прибрежных районов Севастопольской бухты в соответствии с уровнем загрязнения акватории. Более чувствительные модификации метода определения активности каталазы могут быть применены при определении оптимальных условий для культивирования личинок морских рыб при их искусственном разведении.

Личный вклад соискателя. Диссертационная работа является оригинальным научным исследованием автора. Отбор проб, подготовка материала для анализа, определение показателей АО комплекса, статистическая обработка, анализ и обобщение полученных данных проведены автором лично. Из статей, опубликованных в соавторстве, в диссертации использованы данные, полученные автором самостоятельно. Права соавторов публикаций не нарушены.

Апробация работы. Основные положения работы докладывались на 11 съезде Украинского ботанического общества (Харьков, 2000), на 6 международной конференции "Биоантиоксидант" (Москва, 2001), на 10 юбилейной конференции "Новые информационные технологии в медицине и экологии" (Гурзуф, 2002).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 работ, из них 5 статей в журналах, утвержденных ВАК Украины, 3 - в материалах и тезисах национальных и международных конференций. Из 8 работ две опубликованы в соавторстве.

Структура и объем работы. Диссертация изложена на 109 страницах, состоит из введения, обзора литературы, 3-х разделов и 8 подразделов собственных исследований, выводов и списка использованной литературы, включающего 232 источника (в том числе иностранных - 126); текст иллюстрирован 9 таблицами и 22 рисунками.

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В данном разделе рассмотрена роль свободных радикалов и процесса перекисного окисления липидов в развитии неспецифического синдрома стресса, проанализированы общие механизмы действия высокомолекулярных и низкомолекулярных антиоксидантов вообще и у гидробионтов в частности, показана возможность использования АО системы гидробионтов в качестве биомаркеров в мониторинге прибрежных морских акваторий. К сожалению, в отечественной литературе данные по этой важной проблеме малочисленны и фрагментарны, а по черноморскому региону практически отсутствуют.

ХАРАКТЕРИСТИКА РАЙОНОВ, ОБЪЕКТОВ И МЕТОДОВ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в 1998-2000 г.г. в двух районах, отличающихся степенью загрязнения и водообмена - Севастопольская бухта (станции 2, 3, 5, 5А, 6 и 7) и открытая часть ее внешнего рейда (бухты Омега и Казачья - ст. 9 и 12) (рис.1). Отдельные районы Севастопольской бухты различаются по уровню

эвтрофирования. Вершина бухты (ст. 2) является сильно загрязненной, что обусловлено поступлением пресных вод реки Черной, перенасыщенных биогенными элементами в результате береговых стоков (Овсяный, Кемп и др., 2000;) а также присутствием нефтегавани. Так, в устье реки концентрация биогенных веществ выше в 2-10 раз, чем в районе выхода из бухты (ст.7). Особенно загрязнена ст. 6, где дислоцируется флот. По содержанию в грунтах тяжелых металлов (меди, цинка, кадмия и хрома) выделяются ст. 6, 5 (район вблизи Памятника затопленным кораблям и 5А (бухта Старосеверная), где находятся (или находились) стоянки кораблей (Овсяный, Игнатъева и др., 2003). Тепловое загрязнение на ст.3 обусловлено сбросами горячей воды из близлежащей ГРЭС. Согласно данным, представленным в диссертации, было проведено ранжирование станций по степени загрязненности биогенными веществами: $6 > 2 > 3 > 5, 5А > 7$. В прибрежных водах внешнего рейда бухты Севастопольской уровень биогенов ниже в 10-100 раз, чем в водах самой бухты (Овсяный, Кемп, 2000); эти районы отнесены к разряду относительно чистых.

Концентрации биогенных веществ в воде и тяжелых металлов в грунте определяли сотрудники Морского гидрофизического института НАН Украины параллельно с нашими исследованиями (Овсяный, Кемп и др., 2000; Игнатъева, Овсяный, 2002).

Объектами исследования служили водоросли-макрофиты из различных районов Севастопольской бухты. Было исследовано 6 видов водорослей: - *Cystoseira barbata* C.Ag.; *Scytosiphon simplicissimus* (Clemente) Cremades = *S. lomentaria* (Lyngb.) Link., *Cladophora albida* (Nees) Kutz, *Ulva rigida* C.Ag., *Enteromorpha intestinalis* (L.) Nees, *Ceramium rubrum* (Huds.) Ag.; икра, личинки и молодь черноморских рыб - *Proterorhinus marmoratus* (Pallas), *Lepadogaster lepadogaster lepadogaster* (Bonnaterre), *Atherina hepsetus* L. разного возраста. Вышеперечисленные гидробионты являются массовыми в прибрежных водах Черного моря, что позволяет считать их удобным материалом для мониторинговых исследований. Помимо того исследовали печень, жабры, гонады и гемолимфу черноморской мидии *Mytilus galloprovincialis* Lam., а также чистую культуру черноморского гидроида *Obelia loveni* (Allman).

Лабораторные эксперименты по изучению влияния цинка на активность АО ферментов проводили на синезеленой водоросли *Spirulina platensis* (Nordst) Geitl.

Пробы отбирали каждые десять дней в трех-четыре повторностях.

Общее количество собранного и обработанного материала и проб представлено в таблице 1.

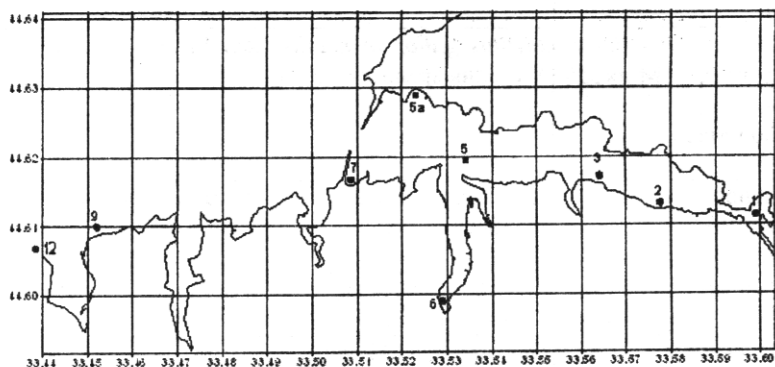


Рис.1. Стандартная сетка отбора проб в Севастопольской бухте и близлежащих районах.

Таблица 1

Характеристика материала исследований

Показатель комплекса	АО	Исследуемый вид	Количество измерений, n
1		2	3
Активность каталазы, $\text{мгH}_2\text{O}_2/(\text{г ткани} \times \text{мин})$		<i>Scytosiphon simplicissimus</i> (Clemente) Cremades = <i>S. lomentaria</i> (Lyngb.) Link	16
		<i>Cystoseira barbata</i> C.Ag.	12
		<i>Ulva rigida</i> C.Ag.	14
		<i>Cladophora albida</i> (Nees) Kutz	14
		<i>Enteromorpha intestinalis</i> (L.) Nees	264
		<i>Ceramium rubrum</i> (Huds.) Ag.	264
		<i>Lepadogaster lepadogaster</i> (Bonnaterre)	92
		<i>Proterorhinus marmoratus</i>	92
		<i>Atherina hepsetus</i> L.	384
		<i>Spirulina platensis</i> (Nordst) Geitl.	54
Перекисное окисление липидов, нМ МДА/ г ткани		<i>C. rubrum</i>	72
		<i>E. intestinalis</i>	72
		<i>A. hepsetus</i>	72
Активность Se-зависимой глутатион-пероксидазы, у.е.акт/(г		<i>A. hepsetus</i>	
		<i>S. platensis</i>	72
			54

ткани×мин)		
Каротиноиды, мг/100 г ткани	<i>A. hepsetus</i>	72
Общие и свободные SH-группы, М/л×10 ⁵ г белка, М/ 100 г ткани	<i>Mytilus galloprovincialis</i> Lam IV - V стадии зрелости гонад	124
Активность пероксидазы, мкМ ндигокармина/(л×мин)	<i>M. galloprovincialis</i> , III - IV стадии зрелости гонад	386
Активность АТФ-азы, мкг Р/(мг белка×мин)	<i>M. galloprovincialis</i> , III - IV стадии зрелости гонад	206
Активность кислой фосфатазы, мкг Р/(мг белка×мин)	<i>Obelia loveni</i> (Allman)	72
Активность щелочной фосфатазы, мкг Р/(мг белка×мин)	<i>O. loveni</i>	72
Белок, мг/мл супернатанта	<i>O. loveni</i>	72
	<i>O. loveni</i> <i>M. galloprovincialis</i> , III - IV стадии зрелости гонад	216 386
	общее количество измерений	3100

Определение показателей АО комплекса проводили по общепринятым методикам, адаптированным для гидробионтов:

Уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ) - (концентрацию ТБК-активных продуктов) определяли по накоплению конечного продукта - малонового диальдегида (МДА) с помощью тиобарбитуровой кислоты (ТБК) (Ohkawa, 1978); активность каталазы - по количеству разложившейся перекиси водорода. Метод предложен Бахом и Зубковой (Березов, 1976); активность супероксиддисмутазы (СОД) - по степени ингибирования восстановления нитросинего тетразолиевого в присутствии NADH (никотинамидадениндинуклеотида восстановленного) и феназинметасульфата (Nishikimi, 1972); активность глутатионпероксидазы (ГП) - по накоплению окисленного глутатиона (Переслегина, 1989), пероксидазы - по накоплению продукта окисления индигокармина пероксидом водорода (Попов, Нейковская, 1970); активность АТФ-азы определяли по скорости гидролиза АТФ* (Мыслович, 1975), а кислой и щелочной фосфатаз - по количеству фосфора, отщепленного от β-глицерофосфата натрия (Боданский, 1968). Определение каротиноидов осуществляли по методу спектрофотометрии ацетоновых экстрактов, предложенному Карнауховым (1982). Определение свободных и

связанных с белком сульфгидрильных групп проводили по методу Седлака (Буркацкая, 1978). Гидрологические и гидрохимические параметры морской среды (температура, pH, соленость, концентрация кислорода, нитритов, нитратов, фосфатов и силикатов) определяли стандартными методами. (Методы..., 1978). Эти материалы любезно предоставлены старшим научным сотрудником Морского Гидрофизического института НАН Украины А.С. Романовым

Результаты обработаны статистически. Рассчитывали среднее значение, стандартное отклонение и доверительные интервалы выборок параметров АО комплекса гидробионтов. Сравнение параметров выборок проводили стандартными методами Фишера и Стьюдента (Урбах, 1964).

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ГИДРОБИОНТОВ И ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ В ПРИРОДНОЙ СРЕДЕ

Активность каталазы у водорослей-макрофитов и контроль качества воды. На основании изменения активности каталазы у шести видов черноморских водорослей сделан вывод о предпочтительном использовании в качестве организмов-индикаторов *Enteromorpha intestinalis* и *Ceramium rubrum*.

Данные по активности каталазы у этих двух видов на станциях Севастопольской бухты, представленные на рис. 2, позволили рассчитать 95%-й доверительный интервал средних значений активности каталазы, который предлагается считать нормой реакции для исследуемых видов. Доверительный интервал нормы для *E. intestinalis* рассчитывали по выборке значений с мая по декабрь ($n=24$), его значения составили $0,034 \pm 0,009$ мг H_2O_2 /(г ткани×мин); для *C. rubrum* - по выборке значений с июня по сентябрь ($n=12$), он был равен $0,057 \pm 0,012$ мг H_2O_2 /(г ткани×мин). Из рис. 2 видно, что на ст. 6 активность каталазы у обоих видов водорослей значительно выше, чем на станциях 3, 5 и 7. Это свидетельствует о высокой загрязненности ст. 6 в 1998 г. Рис. 3 также иллюстрирует факт увеличения загрязнения в сентябре-октябре 1998 г., поскольку активность каталазы у *E. intestinalis* в этот период увеличивается в 19 раз, по сравнению с нормальными значениями, а для *C. rubrum* - в 15 раз. Гидрохимические показатели этого района в это время свидетельствовали о значительном увеличении концентрации биогенных веществ: нитратов от 1 до 100 мкМ/л, нитритов - от 0,1 до 1 мкМ/л, фосфатов - от 0,05 до 0,15 мкМ/л.

С ноября 1998 г. ситуация заметно улучшилась: произошло уменьшение концентрации нитратов до 0,08 мкМ/л, нитритов - до 0,007 мкМ/л, фосфатов - до 0,002 мкМ/л. В результате уменьшения трофности активность каталазы заметно снизилась. Рис. 3 также подтверждает вывод о возможности использования активности каталазы в качестве биомаркера в мониторинге морских акваторий.

Сравнение рисунков 2а и 2б показывает, что среднее значение активности каталазы, а также ее вариабельность у *E. intestinalis* заметно ниже, чем у *C. rubrum*. Предположительно это можно объяснить тем, что красная водоросль обладает более чувствительным механизмом отклика на тот же градиент

загрязнения.

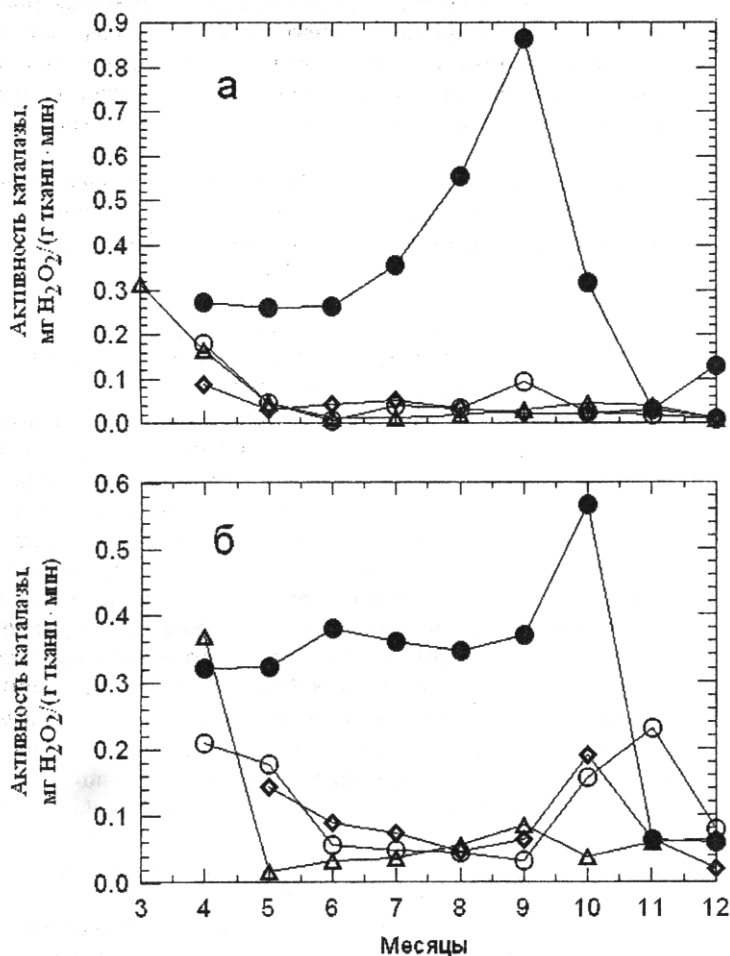


Рис. 2. Годовая динамика активности каталазы *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. (а) и *Ceramium rubrum* (Huds.) Ag., (б), собранных в различных районах Севастопольской бухты, отличающихся по степени загрязнения: Δ - ст. 3; $\diamond$ - ст. 5; $\bullet$ - ст. 6; $\circ$ - ст. 7, $M \pm \sigma$; $p=54$ для каждой станции.

На основании двухлетних наблюдений была выявлена зависимость активности каталазы у *E. intestinalis* и *C. rubrum* от концентрации нитратов и нитритов в морской среде (рис. 4 и 5). Было установлено, что порог чувствительности для нитратов у энтероморфы и церамииума составляет 2 мкМ/л, а для нитритов у энтероморфы - 0.2 мкМ/л, у церамииума - 0.1 мкМ/л.

Таким образом, порог чувствительности активности каталазы для нитратов на порядок выше, чем нитритов. Это, вероятно, можно объяснить тем, что нитратный азот является одним из элементов питания для водорослей, в то время как нитритная форма азота под действием любого акцептора электронов легко превращается в свободный радикал $\bullet\text{NO}_2$, индуцирующий свободнорадикальный процесс.

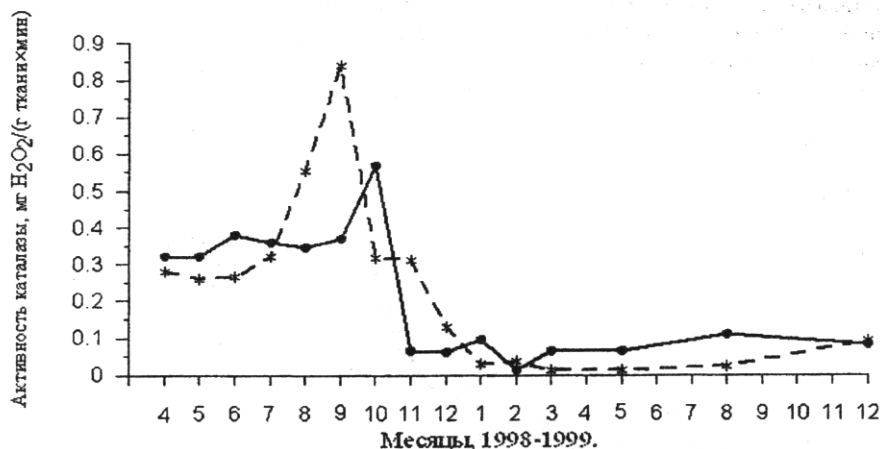


Рис. 3 Активность каталазы черноморских водорослей на станции 6:
• - *Ceramium rubrum*, * - *Enteromorpha intestinalis*, $M \pm \sigma$; $n=90$.

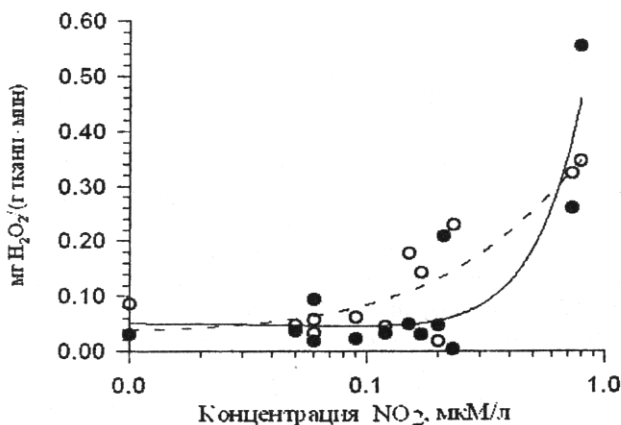


Рис. 4. Зависимость активности каталазы черноморских водорослей от концентрации нитритов в среде:
● - *Enteromorpha intestinalis*,
○ - *Ceramium rubrum*;
 $M \pm \sigma$; $n=216$.

Горизонтальные участки кривых на рис. 4 и 5 расположены на уровне 0,035 мг $\text{H}_2\text{O}_2/(\text{г} \times \text{мин})$ для энтероморфы и 0,05 – 0,08 мг $\text{H}_2\text{O}_2/(\text{г} \times \text{мин})$ для церамиума. Эти величины попали в доверительный интервал нормы отклика,

рассчитанный на основании рис. 2а и 2б. Полученные доверительные интервалы значений активности каталазы в энтероморфе и церамиуме соответствуют их нормальному функционированию.

С целью подтверждения найденной в природной среде зависимости активности каталазы водорослей от концентрации нитратов и нитритов проведен контрольный эксперимент на морской воде, взятой в 10-мильной зоне, и условно свободной от биогенных веществ. Увеличение активности каталазы при действии концентрации нитратов 100 мкМ/л в течение 48 ч составило 250% по сравнению с контролем для *E. intestinalis* и 260% для *C. rubrum*. Значения активности каталазы в контроле были близки величинам, соответствующим их нормальному функционированию.

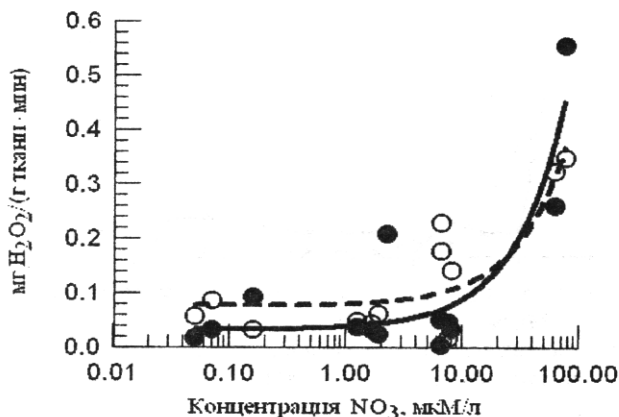


Рис. 5. Зависимость активности каталазы черноморских водорослей от концентрации нитратов в среде:
 ●----- *Enteromorpha intestinalis*,
 ○- - - *Ceramium rubrum*;
 M±σ; n=216

Из рис. 3 видно, что диапазон изменения активности каталазы после октября-ноября 1998 г, то есть после прекращения действия загрязняющего фактора, составляет 0,02-0,12 мг H₂O₂/(г×мин) для церамиума и 0,02-0,10 мг H₂O₂/(г×мин) для энтероморфы. Эти величины активности каталазы также оказываются близкими к значениям доверительного интервала нормы отклика, т.е. соответствуют нормальному функционированию водорослей.

Перекисное окисление липидов у водорослей-макрофитов. Норму для процесса перекисного окисления липидов (ПОЛ) находили, пользуясь выборкой значений уровня ПОЛ (концентрации ТБК-активных продуктов) с марта по август включительно (рис. 6). Доверительный интервал среднего значения ПОЛ для *E. intestinalis* равен 21,39±6,13 нМ МДА/г ткани (n=12), для *C. rubrum* - 85,56±25,81 нМ МДА/г ткани (n=12) (P=0,95). Таким образом, среднее значение уровня ПОЛ, а также его вариабельность у *E. intestinalis* значительно ниже, чем у *C. rubrum* (рис. 6). Аналогичное явление мы наблюдали также и для каталазы, значения активности которой были также выше у *C. rubrum* и отличались значительно большей вариабельностью, чем у

E. intestinalis. Данное явление, вероятно, можно объяснить более активным метаболизмом *C. rubrum*, а также наличием более чувствительных механизмов отклика на тот же градиент загрязнения.

Выявлено, что уровень ПОЛ на более загрязненных станциях (5 и 6) значительно выше, чем на станциях 3 и 7. Если уровень изменения значений ПОЛ на условно чистых станциях составлял 12,193 - 40, 01 нМ МДА/ г ткани и

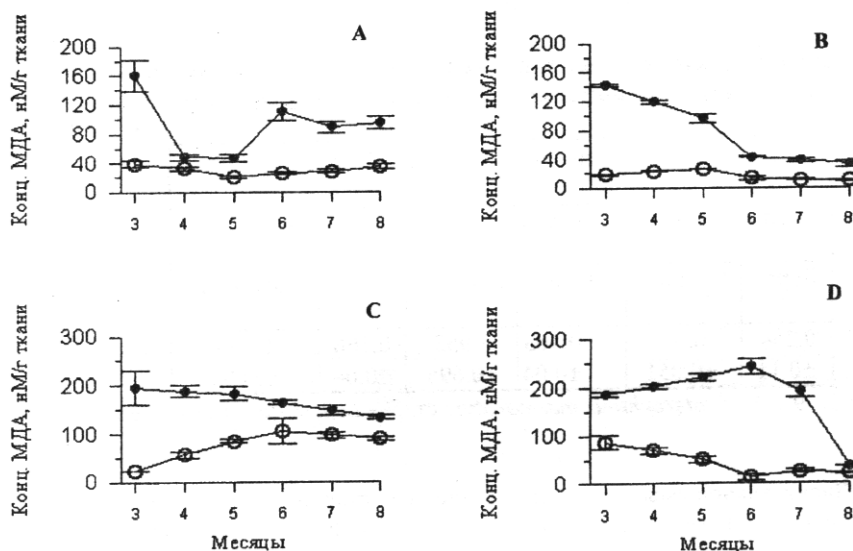


Рис. 6. Содержание ТБК-активных продуктов в тканях макрофитов на станциях: А - ст. 7; В - ст. 3; С - ст. 6; D - ст. 5; $M \pm \sigma$; $n=144$.

○ - *Enteromorpha intestinalis*

● - *Ceramium rubrum*

32,7 - 159,67 нМ МДА/г ткани соответственно для *E. intestinalis* и *C. rubrum*, то на более загрязненных станциях он достигает значений 21,3 - 105,86 нМ МДА/г ткани для *E. intestinalis* и 35,42 - 220,99 нМ МДА/г ткани для *C. rubrum*. Это позволяет использовать показатель уровня перекисного окисления липидов в организмах-индикаторах - зеленой водоросли *E. intestinalis* и красной *C. rubrum* в качестве биомаркера загрязненности морских акваторий.

Высокомолекулярные антиоксиданты (каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионпероксидаза) и перекисное окисление липидов в икре и личинках рыб. Данные по активности каталазы (АК) икры показали, что наиболее высока ($P=0,95$) она у икры *P. marmoratus* на станции 2 и составляла $0,463 \pm 0,04$ мг H_2O_2 /(г ткани×мин) (табл.2). У этого же вида в прибрежной акватории на внешнем рейде (ст.9, условно чистый район) АК икры оказалась вдвое меньше. Было установлено, что значения АК у личинок исследуемых видов были выше, чем в икре. С увеличением степени загрязнения среды отмечено возрастание отношения АК личинок / АК икры. В условно чистом

районе АК в личинках была выше, чем в икре в 1.81 раза, в загрязненном - в 4,53 раза. Руднева-Титова (1994) также отмечает, что АК в икре черноморского бычка-кругляка ниже, чем в личинках. Более высокий уровень каталазной активности у взрослых особей, по сравнению с икрой, при стрессовом воздействии отмечен также и у других гидробионтов, например, у полихет (Abele-Oeschger, Oeschger, 1995).

Таблица 2

Активность каталазы икры и личинок видов *Proterorhinus marmoratus* и *Lepadogaster lepadogaster* на станциях с различной степенью загрязнения.

Активность каталазы, мг H_2O_2 /(г сырой ткани × мин), $\bar{X} \pm \sigma$, n=184					
Станция 9		Станция 2		Станция 5	
Икра	Личинки	Икра	Личинки	Икра	Личинки
0.254	0.43	0.463	1.953	0.166	0.439
± 0.11	± 0.051	± 0.04	± 0.695	± 0.04	± 0.071

Ст. 9 и 2 - *Proterorhinus marmoratus*; ст. 5 - *Lepadogaster lepadogaster*.

Значительное увеличение АК личиночных стадий, по сравнению с икрой, при усилении загрязняющего фактора, вероятно, связано с наличием у икры защитной оболочки, предохраняющей эмбрион от вредных воздействий, тогда как личинки и молодь рыб испытывают непосредственное воздействие токсиканта. Исходя из этого, применение икры в качестве биоиндикатора, по нашему мнению, менее целесообразно, поэтому в дальнейших исследованиях мы использовали личинок массового прибрежного вида *A. hepsetus*.

При определении каталазной активности личинок *A. hepsetus* было обнаружено, что более высокой степенью АК отличались личинки, выловленные на более загрязненных станциях (рис. 7).

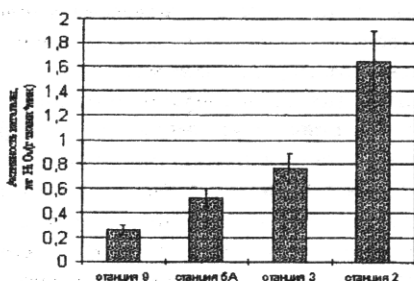


Рис. 7. Активность каталазы личинок *A. hepsetus* на станциях с различной степенью загрязнения; $\bar{M} \pm \sigma$; n=72

Минимальная активность каталазы отмечена на ст. 9, максимальная - на ст. 2. Поскольку величина активности каталазы четко соответствовала степени загрязнения станций по биогенным веществам, мы сочли возможным провести ранжирование загрязненности исследуемых станций по уровню активности каталазы: $2 > 3,5A > 9$. Зависимость активности каталазы от степени загрязненности акваторий выявлена также в печени камбалы и у личинок сардин, обитающих в Северном море (Peters et al., 1994; Livingstone et al, 1992).

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД), Se-зависимой глутатионпероксидазы (ГП) и концентрации ТБК-активных продуктов, отражающей уровень перекисного окисления липидов (ПОЛ), у личинок *A. hepsetus* проводили на станциях 3, 5A, 6 и 9. В чистом районе (ст. 9) активность СОД составляла $14,05 \pm 2,07$ mM NADH/(г ткани×мин) (рис.8).

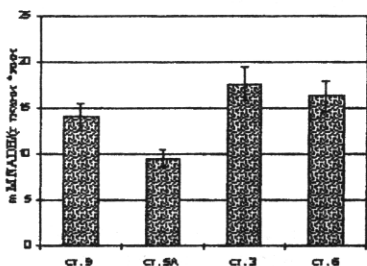


Рис. 8. Активность супероксиддисмутазы личинок *A. hepsetus* на станциях с различной степенью загрязнения; $M \pm \sigma$; $n=72$.

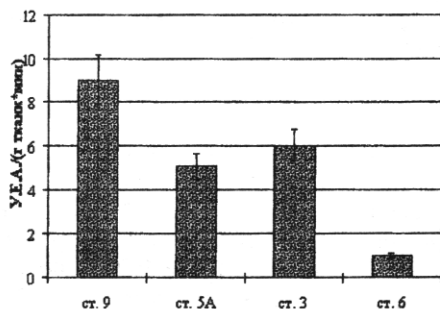


Рис. 9. Активность глутатионпероксидазы личинок *A. hepsetus* на станциях с различной степенью загрязнения; $M \pm \sigma$; $n=72$.

Достоверное увеличение активности СОД, по сравнению со ст. 9, отмечено при наличии теплового загрязнения (ст. 3) и антропогенного (ст. 6) - до значений $17,62 \pm 1,02$ mM NADH/(г ткани×мин) и $16,34 \pm 1,43$ mM NADH/(г ткани×мин) соответственно ($P=0,95$). Это свидетельствует о стрессе, который испытывают личинки в данных районах, в результате которого увеличивается количество свободных радикалов, стимулирующих работу СОД. Увеличение активности СОД в эритроцитах карпа *Cyprinus carpio* при повышении температуры среды установил А. Рэди (Rady, 1993). Активность ГП у личинок *A. hepsetus* снижалась с увеличением степени загрязнения

станций. Наиболее высокой она была на ст. 9, самой чистой из всех, и составляла $9,13 \pm 3,02$ опт. ед. акт./г ткани×мин). На ст. 3 обнаружили снижение активности ГП до $6,07 \pm 1,12$ опт. ед. акт./г ткани×мин), на ст. 5 – до $5,08 \pm 1,52$ опт. ед. акт./г ткани×мин) ($P=0,95$). На ст. 6, одной из наиболее загрязненных, активность ГП уменьшалась в 10 раз по сравнению с условно чистым районом и составляла $0,95 \pm 0,08$ опт. ед. акт./г ткани×мин). Вероятно, это связано с усилением процессов трансформации продуктов свободнорадикального окисления при токсическом стрессе, накоплением высоких концентраций перекиси, блокирующей активность ГП и включением в работу каталазы. ГП функционирует при низких концентрациях пероксида, каталаза – при высоких.

При исследовании ПОЛ у личинок атерины отмечено усиление этого процесса в загрязненных районах (рис.10). Особенно существенно это

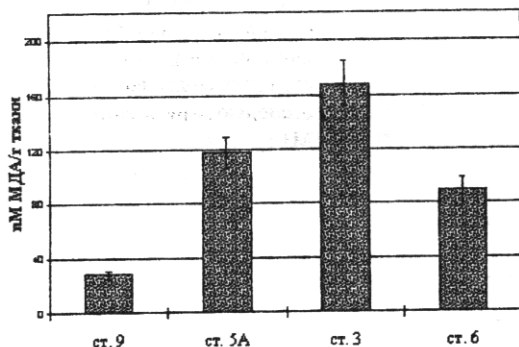


Рис. 10. Содержание ТБК-активных продуктов у личинок *A. hepsetus* на станциях с различной степенью загрязнения; $M \pm \sigma$; $n=72$.

проявилось при наличии теплового загрязнения на ст. 3, где интенсивность перекисных процессов увеличилась в 6 раз, по сравнению с чистым районом, и составила $167,6 \pm 47,9$ нМ МДА/г ткани и $27,8 \pm 1,3$ нМ МДА/г ткани соответственно. На этой же станции наиболее высокой была активность СОД, что дает возможность предположить что активность СОД и ПОЛ в большей степени реагируют на тепловое загрязнение, тогда как активность ГП и каталазы – на токсическое. Известен факт активации процесса ПОЛ в жабрах и мембранах воздушных мешков пресноводного морского кота *Heteropneuster fossilis* при повышении температуры воды до $32-37^\circ\text{C}$ (Parihar, Dubey, 1995). С увеличением температуры возрастала также и активность СОД в эритроцитах карпа *Cyprinus carpio* (Rady, 1993), что подтверждает защитную роль СОД в процессе повреждения липидов. Усиление процессов ПОЛ на станциях 5А и 6 также было достоверным ($P=0,95$) – $117,6 \pm 34,2$ нМ МДА/г ткани и $89,2 \pm 2,5$ нМ

МДА/г ткани – соответственно. Усиление процесса пероксидации липидов в загрязненных районах, в частности, на станции 6, выявлено также и для черноморских водорослей.

Влияние параметров среды (температура, плотность, концентрации кислорода, фосфора) на активность каталазы личинок. В разделе отражены результаты полевого эксперимента по выявлению условно нормальных значений активности каталазы личинок *A. hepsetus* в зависимости от параметров среды (температура, плотность, концентрация кислорода и фосфора). Значения параметров среды, при которых значения активности каталазы были минимальны и практически не изменялись ($0,25 - 0,75 \text{ мг H}_2\text{O}_2/(\text{г ткани} \times \text{мин})$), составили: температурный диапазон $-22 - 25,5^\circ$; диапазон плотности $- 10,0 - 11,5 \text{ у.е.п}$; концентрация кислорода $- 6,0 - 7,5 \text{ мл/л}$; фосфора $-$ не менее $0,05 \text{ мкМ/л}$. Поскольку увеличение активности каталазы свидетельствует о стрессе, который испытывают личинки, то минимальные значения активности каталазы, вероятно, соответствуют их нормальному функционированию. Совпадение этих значений с активностью каталазы личинок в незагрязненном районе (бухта Омега, ст.9 $- 0,263 \pm 0,032 \text{ мг H}_2\text{O}_2/(\text{г ткани} \times \text{мин})$) (рис.7), вероятно, дает нам возможность говорить об условно нормальных значениях активности каталазы, выявленных для личинок *A. hepsetus* в данных условиях. Для подтверждения существования зависимости активности каталазы личинок *A. hepsetus* от параметров среды был проведен контрольный лабораторный эксперимент на условно свободной от биогенов морской воде. Увеличение активности каталазы на $10-30\%$ наблюдали при максимальных и минимальных значениях изученных параметров среды, отмеченных нами в природных условиях.

Низкомолекулярные антиоксиданты (каротиноиды, общие и свободные тиоловые группы) в тканях мидии *Mytilus galloprovincialis*. Было обнаружено некоторое увеличение содержания каротиноидов в гонадах мидий по мере сезонного снижения температуры воды. В осенне-зимний сезон моллюски обладают большей способностью адсорбировать поллютанты из морской среды, нежели в летний. Увеличение содержания каротиноидов в этом случае является защитным адаптационным механизмом, позволяющим нейтрализовать действие токсикантов (Костылев, 1981). Каких-либо значительных изменений в содержании каротиноидов в гонадах мидий, собранных на станциях с различным уровнем загрязнения, не выявлено.

Концентрацию сульфгидрильных групп (SH-) определяли в печени и жабрах мидии *Mytilus galloprovincialis* из условно чистого района - бухта Казачья, (ст. 12) и из Севастопольской бухты - ст. 5А и ст. 3.

Изменение содержания общих и свободных SH-групп в печени мидий изображено на рис. 11 и 12. Отмечено достоверное снижение содержания общих SH-групп на станциях 3 и 5А, по сравнению с относительно чистым районом - ст.12. Наибольший уровень снижения содержания общих SH-групп выявлен на станции 5А,

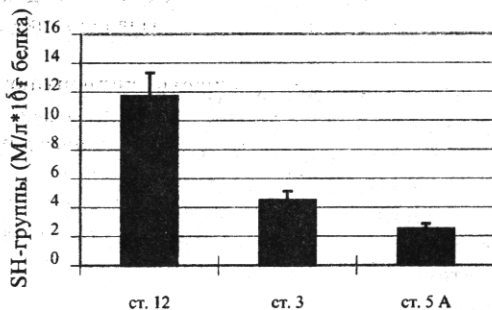


Рис. 11. Концентрация общих SH-групп в печени мидий на станциях с различным уровнем загрязнения; $M \pm \sigma$; $p=18$

что, вероятно, связано с загрязненностью грунтов этой станции тяжелыми металлами. Известно, что при образовании комплексов тиолов с тяжелыми металлами, происходит снижение содержания общих SH-групп белков (Торчинский, 1977). Кроме того, свободные радикалы, возникающие при токсическом стрессе, также взаимодействуя с тиоловыми группами, могут уменьшать их количество (Леус, Грубинко, 1998).

При определении небелковых SH-групп отмечали достоверное снижение их на станции 3, по сравнению с чистым районом (ст. 12) (рис. 12), и некоторое увеличение на станции 5А. Вероятно, это свидетельствует об усилении перекисных процессов у моллюсков в данном районе бухты,

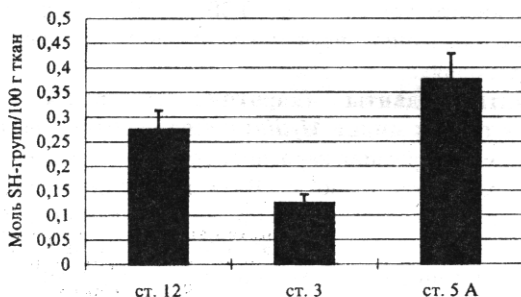


Рис. 12. Концентрация свободных SH-групп в печени мидий на станциях с различным уровнем загрязнения; $M \pm \sigma$; $p=18$

сопровожающееся активацией синтеза глутатиона - одного из основных антиоксидантных тиолов небелковой природы - трипептида, за счет которого можно обнаружить увеличение концентрации свободных SH-групп (Коновалов, 1984).

АКТИВНОСТЬ АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ ГИДРОБИОНТОВ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Влияние тяжелых металлов (Cu^{2+} , Zn^{2+}) и нитратов на антиоксидантную систему гидробионтов. Было установлено, что медь (Cu^{2+}) в концентрациях 0,01, 0,1 и 5 мг/л, а также нитраты в концентрациях 8,82; 25,64

мкМ/л при времени воздействия 2 и 12 ч вызывают увеличение активности каталазы личинок атерины *A. hepsetus* ($P=0,95$). Следует отметить, что диапазон изменения активности каталазы у контрольных личинок составлял 0,45-0,58 мг H_2O_2 /(г ткани×мин) при экспозиции 2 и 12 ч. Это совпадает с интервалом условно нормальных значений активности каталазы 0,25-0,75 мг H_2O_2 /(г ткани×мин), установленным для нормального функционирования личинок.

При определении активности пероксидазы в гемолимфе черноморской мидии *M. galloprovincialis* под действием пороговых и токсических концентраций меди в течение 1-6 суток (для токсических концентраций 0,1, 1,0, 5,0 мг/л) и в длительном эксперименте (30 сут) для пороговых (0,001; 0,005 и 0,01 мг/л) было установлено, что в исследуемом диапазоне концентраций активность каталазы достоверно не изменялась. Возможно, это связано с прекращением мидиями фильтрации, закрытием створок и переходом на анаэробный тип обмена в токсических условиях.

Изучение влияния меди в концентрациях 0,25; 1,25 и 2,5 мкг/л на содержание общих и свободных тиоловых групп в печени и жабрах *M. galloprovincialis* в длительных (10, 20 и 30 сут) экспериментах показало их достоверное снижение при действии концентрации 2,5 мкг/л, которое отмечалось на 30-е сутки эксперимента. Увеличение содержания SH-групп в жабрах можно интерпретировать как адаптационный механизм, включающийся на первом этапе стресс-реакции.

Действие двухвалентного цинка в концентрациях 0,09; 0,18; 0,45; 0,9 и 9 мг/л на антиоксидантные ферменты синезеленой водоросли *S. platensis* проявилось в ингибировании активности супероксиддисмутазы и каталазы, начиная с минимальной концентрации 0,09 мг/л. Обогащение спирулины цинком было максимальным при концентрации 9 мг/л и составило 253,5 мкг/г сухого веса. Цинк в концентрациях до 9 мг/л не оказывал влияния на ростовые характеристики спирулины.

Исследование влияния гипоксии на ферменты фосфорного метаболизма в тканях гидроида *O. loveni* показало, что кривая зависимости тканевой активности АТФ-азы от возраста колоний гидроида в нормальных условиях имеет колоколообразную форму и достигает максимальных значений ($25,01 \pm 1,24$ мкг Р/(мг белка×мин) в возрасте 2,5 месяца, который характеризуется наивысшей метаболической активностью. Минимальные значения этого фермента, равные $4,42 \pm 0,2$ мкг Р/(мг белка×мин), характерны для гидроида на стадии редукции колоний. В условиях гипоксии тканевая активность АТФ-азы экспоненциально убывает с увеличением возраста колоний гидроида. В условиях недостатка кислорода отмечено также снижение активности кислой и щелочной фосфатаз в возрасте популяции 45 суток.

Институт биологии
южных морей АН УССР

БИБЛИОТЕКА

№ 6/н

ВЫВОДЫ

1. Предложен комплекс параметров антиоксидантной системы некоторых массовых видов макрофитов Черного моря для оценки экологического состояния прибрежных акваторий. Преимуществом метода определения активности каталазы являются его простота, экономичность, быстрая реакция на действие токсиканта практически без запаздывания.

Выявлено, что в качестве видов-индикаторов трофности морских акваторий могут быть использованы черноморские водоросли-макрофиты - *Enteromorpha intestinalis* и *Ceramium rubrum*.

2. Впервые определены интервалы активности каталазы в *Enteromorpha intestinalis* и *Ceramium rubrum*, соответствующие их нормальному функционированию, т. е. уровни нормы отклика в данном районе при определенных условиях соответствуют $0,034 \pm 0,009$ мг H_2O_2 /(г ткани×мин) для энтероморфы и $0,057 \pm 0,012$ мг H_2O_2 /(г ткани×мин) для церамиума.

3. Впервые выявлена зависимость активности каталазы у *Enteromorpha intestinalis* и *Ceramium rubrum* от концентрации нитратов и нитритов в морской воде. Установлено, что порог чувствительности активности каталазы у водорослей для нитратов составляет 2 мкМ/л, а для нитритов - у энтероморфы - 0,2 мкМ/л, у церамиума - 0,1 мкМ/л.

4. Концентрация ТБК-активных продуктов в организмах-индикаторах - *Enteromorpha intestinalis* и *Ceramium rubrum* может быть рекомендована в качестве биомаркера загрязнения морских акваторий. Впервые определена норма реакции процесса перекисного окисления липидов в организмах-индикаторах, которая составляет $21,39 \pm 6,13$ нМ МДА/г ткани и $85,56 \pm 25,81$ нМ МДА/г ткани для энтероморфы и церамиума соответственно.

5. Показано, что некоторые виды черноморских гидробионтов, такие, как *Atherina hepsetus* и *Obelia loveni* могут быть использованы в качестве видов-индикаторов загрязненности морских акваторий.

6. Установлено, что, по сравнению с икрой, личинки *Atherina hepsetus* являются более чувствительными к изменению трофности морских вод. Выявлен комплекс параметров среды, влияющих на антиоксидантную систему личинок *A. hepsetus*. Определены некоторые значения параметров среды, соответствующие нормальному функционированию личинок: температурный оптимум - $22,5 - 25,0$; плотность морской воды - $10,0 - 11,5$ у.е.п.; концентрация кислорода - $6,0 - 7,5$ мл/л, концентрация фосфатов - $0,04 - 0,13$ мкМ/л. Норма реакции активности каталазы для личинок *A. hepsetus* составила $0,25 - 0,75$ мг H_2O_2 /(г ткани×мин).

7. Проведено ранжирование различных участков Севастопольской бухты по уровню активности антиоксидантной системы некоторых черноморских гидробионтов в соответствии со степенью антропогенной нагрузки: станции 2 и 6 (вблизи устья р.Черной и Южная бухта) - политрофные акватории; станции 3, 5 и 5А (район ГРЭС, вблизи памятника затопленным кораблям и бухта Старосеверная) - акватории эвтрофные; станция 7 (выход из

бухты) – мезотрофные воды; станции 9, 12 (внешний рейд б.Севастопольской) – олиготрофные акватории.

8. Выявлено снижение концентрации общих тиоловых групп в печени мидии *Mytilus galloprovincialis* в районах средней трофности. Медь (Cu^{2+}) в концентрации 2,5 мкг/л в хронических экспериментах до 30 суток вызывала снижение содержания общих и свободных сульфгидрильных групп в печени и жабрах мидии *M. galloprovincialis*.

9. Обнаружено изменение активности каталазы личинок *Atherina hepsetus* под действием двухвалентной меди в концентрациях 0,01, 0,1 и 5 мг/л и нитратов в концентрациях 8,82 и 25,64 мкМ/л в лабораторных условиях. Активность каталазы, соответствующая нормальному функционированию личинок (0,25 - 0,75 мг H_2O_2 /(г ткани×мин)), была отмечена только для контрольной группы животных.

10. Проведено исследование антиоксидантной системы чистых культур *Obelia loveni* и *Spirulina platensis*, выращенных в экспериментальных условиях. Установлено ингибирование активности антиоксидантных ферментов супероксиддисмутазы и каталазы при действии концентраций двухвалентного цинка 0,09 – 9 мг/л на *S. platensis*. Обогащение спирулины цинком было максимальным при концентрации 9 мг/л и составляло 253,5 мкг/г сухого веса. В условиях гипоксии активность тканевой АТФ-азы гидроида *O. loveni* с увеличением возраста колоний экспоненциально убывает в диапазоне значений 9,01 – 5,71 мкг Р/(мг белка×мин).

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шахматова О. А. Активность каталазы личинок рыб как показатель качества морской среды // Экология моря. - 2000. - Вып. 51. - С. 52-54.
2. Шахматова О. А., Парчевская Д. С. Активность каталазы и контроль качества воды // Альгология. - 2000. - Т. 10, № 3. - С. 355-361. Доля участия диссертанта 80%
3. Шахматова О. А. Влияние гипоксии на активность ферментов фосфорного обмена гидроида *Obelia loveni* // Экология моря. - 2001. - Вып. 56. - С. 68-71.
4. Шахматова О. А. Активность антиоксидантной системы личинок рыб как показатель качества морской среды // Экология моря. - 2002. - Вып. 59. - С. 48-50.
5. Шахматова О. А. Действие цинка на активность супероксиддисмутазы и каталазы у *Spirulina platensis* (Notdst) Geitl // Экология моря. - 2002. - Вып. 60. - С. 44-47.
6. Шахматова О. А., Парчевская Д. С. Перекисное окисление липидов некоторых видов черноморских водорослей и качество воды // Матеріали ХІ з'їзду Українського ботанічного товариства. - Харків. - 2001. - С. 431. Доля участия диссертанта 85%
7. Шахматова О. А. Активность антиоксидантной системы личинок рыб как показатель качества морской среды // Тез. докл. VI Междунар. конф. "Биоантиоксидант". - Москва. - 2002. - С. 620-621.

8. Шахматова О. А. Активность антиоксидантных ферментов *Spirulina platensis* при длительном хранении // Труды X Юбилейной междунар. конф. "Новые информ. технологии в медицине и экологии". Украина, Крым, Ялта-Гурзуф, 1-10 июня 2002 г. – С. 300–301.

АННОТАЦИИ

Шахматова О.А. Активность антиоксидантной системы некоторых черноморских гидробионтов в прибрежной акватории Севастополя. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата биологических наук по специальности 03. 00.17 – гидробиология. – Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь, 2004.

В диссертации предложен комплекс биомаркеров антиоксидантной системы для количественной оценки состояния гидробионтов и среды их обитания в прибрежной зоне Черного моря. Впервые выявлена роль каталазы в процессе адаптации гидробионтов к загрязнению. Определены интервалы активности каталазы у гидробионтов-индикаторов, соответствующие их условно нормальному функционированию в исследуемом районе Черного моря. Определена норма реакции процесса перекисного окисления липидов в организмах-индикаторах. Впервые определены диапазоны изменения параметров среды (температура, плотность, концентрация кислорода, фосфатов, нитратов и нитритов), соответствующие условно нормальному функционированию личинок рыб *Atherina hepsetus* L., а также двух видов водорослей-макрофитов - *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. и *Ceramium rubrum* (Huds.) Ag. На основании данных по активности антиоксидантной системы некоторых гидробионтов выполнено ранжирование исследованных районов по степени эвтрофности. В результате исследований рекомендовано использование антиоксидантной системы гидробионтов при проведении мониторинговых работ в прибрежной зоне Черного моря. Предложенный автором комплекс биомаркеров и соответствующих организмов-индикаторов позволяет без больших экономических затрат регулярно вести контроль состояния черноморских прибрежных акваторий.

Ключевые слова: антиоксидантный комплекс, каталаза, супероксиддисмутаза, Se- зависима глутатионпероксидаза, перекисное окисление липидов, личинки *Atherina hepsetus*, водоросли-макрофиты *Enteromorpha intestinalis*, *Ceramium rubrum*, загрязнение.

Шахматова О.О. Активність антиоксидантної системи деяких чорноморських гідробіонтів у прибережній акваторії Севастополя. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.17 – гідробіологія. – Інститут біології південних морів НАН України, Севастополь, 2004.

У дисертації запропонований комплекс біомаркерів антиоксидантної системи для кількісної оцінки стану гідробіонтів і середовища їх існування в прибережній зоні Чорного моря. Вперше виявлено роль каталази в процесі адаптації гідробіонтів до забруднення. Визначені інтервали активності каталази у гідробіонтів-індикаторів, що відповідають їх умовно нормальному функціонуванню в досліджуваному районі Чорного моря. Визначено норму реакції процесу перекисного окислення ліпідів у організмів-індикаторів. Вперше визначені діапазони зміни параметрів середовища (температура, щільність, концентрація кисню, фосфатів, нітратів і нітритів), що відповідають умовам нормального функціонування личинок риб *Atherina hepsetus* L., а також двох видів водоростей-макрофітів - *Enteromorpha intestinalis* (L.) Link. і *Ceramium rubrum* (Huds.) Ag. На підставі даних по активності антиоксидантної системи гідробіонтів виконане ранжування досліджених районів за рівнем евтрофності. За результатами досліджень рекомендовано використання антиоксидантної системи гідробіонтів при проведенні моніторингових робіт у прибережній зоні Чорного моря. Запропонований автором комплекс біомаркерів і відповідних організмів-індикаторів дозволяє без істотних фінансових витрат регулярно здійснювати контроль стану чорноморського прибережних акваторій.

Ключові слова: антиоксидантний комплекс, каталаза, супероксиддисмутаза, Se- залежна глутатіонпероксидаза, перекисне окислення ліпідів, личинки *Atherina hepsetus*, водорості-макрофіти *Enteromorpha intestinalis*, *Ceramium rubrum*, забруднення.

Shakhmatova O.A. Hydrobionts antioxidant system activity in Black Sea littoral water. – Manuscript.

The dissertation work to obtain a degree of Candidate of Biological Sciences on speciality 03.00.17 –hydrobiology. – Institute of Biology of the Southern Seas, National Academy of Sciences of Ukraine, Sevastopol, 2004.

The biomarker complex for the quantitative estimation of both marine organism and environment is proposed on basis of field and laboratory investigated. The role of catalase in adaptation of hydrobionts for pollution was revealed for the first time. For the indicator organisms there were determined the confidence intervals of the catalase activity corresponding to normal conditionally normal functioning in this region of Black Sea. The norm of lipid peroxidation reaction of the indicators organism was determined. The range of changing of the environmental parameters (temperature, density, oxygen, phosphorus, nitrates and nitrites concentrations) was determined for the first time which correspond to their conditionally normal functioning of the fish larvae *Atherina hepsetus* and seaweeds *Enteromorpha intestinalis* and *Ceramium rubrum*. The studied regions were ranged according to the level of pollution.

Key words: antioxidant complex, antioxidant enzymes, catalase, superoxide dismutase, Se-dep. glutathione peroxidase, lipid peroxidation, fish larvae *Atherina hepsetus*, seaweeds *Enteromorpha intestinalis*, *Ceramium rubrum*, pollution.