

УДК 582.273:577.1(262.5)

## АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ КРАСНОЙ ВОДОРОСЛИ *CERAMIUM VIRGATUM* ROTH, 1797 КАК МАРКЕР КАЧЕСТВА МОРСКОЙ СРЕДЫ НА ПРИМЕРЕ ПРИБРЕЖНОЙ ЗОНЫ ЮГО-ЗАПАДНОГО КРЫМА

© 2019 г. О. А. Шахматова<sup>1</sup>, \*, С. А. Ковардаков<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФИЦ “Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН”,  
Севастополь 299011, Россия

\*e-mail: oshakh@gmail.com

Поступила в редакцию 09.08.2018 г.

После доработки 28.03.2019 г.

Принята к публикации 30.05.2019 г.

Определен диапазон условно нормальных значений активности каталазы (АК) у макроводоросли *Ceramium virgatum*, соответствующий ее условно нормальному функционированию, который составляет  $26.79 \pm 10.32$  мкг  $H_2O_2$ /(г сырой массы  $\times$  мин). Установлены минимальные концентрации гидрохимических показателей, определяющие порог чувствительности АК *C. virgatum*, которые для органического азота составляют 40 мкМ/л, для нитритов – 0.03 мкМ/л, для нитратов – 0.3 мкМ/л, для неорганического фосфора – 0.12 мкМ/л и для органического фосфора – 0.47 мкМ/л.

**Ключевые слова:** Черное море, *Ceramium virgatum*, активность каталазы, биомаркер, гидрохимические параметры, порог чувствительности, условная норма

**DOI:** 10.1134/S0134347519060081

В настоящее время состояние морской среды определяется множеством загрязняющих факторов. Прямое определение концентраций гидрохимических показателей в акваториях трудоемко и экономически невыгодно. В морском экологическом мониторинге степень загрязненности среды принято оценивать с помощью биохимических маркеров (Лукиянова, 2003; Mearns et al., 2013). В данном случае очень важен диапазон отклонения биохимического маркера от его условно нормального значения. Нормальное состояние (норма) объекта нормирования любой биоты – часть области пространства возможных состояний, в пределах которой реализуется удовлетворительное качество объекта (Воробейчик, 2013).

Экологическая оценка качества (состояния) окружающей среды заключается в его сопоставлении с экологической нормой (Макаров, 2013). Определение допустимых границ изменения параметров состояния экосистемы, за пределами которых становятся реальными риски нарушения ее структуры, выбор этих параметров, а также определение допустимого уровня разовой нагрузки на экосистему являются актуальными экологическими задачами и ключевыми проблемами морского мониторинга (Смолькин, 2014). В этой связи необходима информация о значениях био-

маркеров у гидробионтов, функционирующих в нормальных условиях, т.е. о норме отклика. Прямое определение данной величины у гидробионтов в условиях высокой антропогенной нагрузки на прибрежные экосистемы невозможно, поэтому предложено определять норму отклика у гидробионтов из условно чистых акваторий (Израэль, 1979; Федоров и др., 1980).

Важным качеством для биомаркера является диапазон вариабельности при изменении фактора среды. Фермент каталаза (К.Ф. 1.11.1.6) – один из основных неспецифических антистрессовых ферментов, обеспечивающих первую линию обороны клетки от продуктов свободнорадикального окисления, в частности, от перекиси водорода (Carocho, Ferreira, 2013). У морских гидробионтов данный фермент по сравнению с другими компонентами антиоксидантной системы отличается наибольшим размахом отклика на изменение качества среды (Ткаченко и др., 2004; Бельчева и др., 2007; Шахматова, 2012). Кроме этого, активность каталазы (АК) позволяет выявлять даже незначительные токсические эффекты многих химических соединений (тяжелые металлы, хлорорганические соединения, биогены и др.), что дает возможность использовать ее в качестве биохимического маркера в экологическом мониторинге

(Peters et al., 1994; Ткаченко и др., 2004; Шахматова, 2012). Для эффективных исследований в данном направлении очень важен выбор подходящего организма-индикатора. *Ceramium virgatum* Roth – представитель красных водорослей Черного моря, один из массовых однолетних видов прибрежной зоны. Ранее было показано, что при усилении хозяйственно-бытового загрязнения акваторий у *C. virgatum* наблюдается увеличение АК (Шахматова, Парчевская, 2000; Ткаченко и др., 2004; Шахматова, 2012; Шахматова, Мильчакова, 2014), что позволяет отнести этот вид к организм-индикаторам.

Цели настоящей работы – определение диапазона активности каталазы *C. virgatum*, соответствующего ее условно нормальному функционированию (норма отклика), а также выявление минимальных концентраций гидрохимических параметров, определяющих порог чувствительности АК *C. virgatum*.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Образцы вегетативно зрелых талломов водоросли-литофита *Ceramium virgatum* (количество 1–2 г) отбирали на глубине от 0.2 до 1 м в июне 2014–2016 гг. Активность каталазы определяли у растений одной возрастной генерации по методу Баха и Зубковой (Березов, 1976), адаптированному для макрофитов (Шахматова, 2004; Мильчакова, Шахматова, 2007). В лаборатории навеску целого растения (500 мг) растирали на холоду с физиологическим раствором в гомогенизаторе, затем центрифугировали при 8 тыс. об/мин в течение 15 мин. Биохимический анализ выполняли на 10% концентрированном гомогенате таллома. В пробу с экстрактом образца водоросли добавляли определенный объем перекиси водорода и оставляли на 30 мин для прохождения реакции. Остаточное количество перекиси оттитровывали раствором перманганата калия в кислой среде. Количество параллельных измерений колебалось от 3 до 6; полученные результаты обрабатывали статистически. Активность фермента выражали в микрограммах  $H_2O_2$  на 1 г сырой массы таллома в минуту. Все анализы были проведены через 1–1.5 ч после отбора образцов.

### Характеристика района исследования

Исследования проводили на девяти станциях в прибрежной акватории г. Севастополь, расположенных на одной береговой линии на участке от мыса Фиолент до б. Ласпи (рис. 1). Станция мыс Балаклавский сильно загрязнена; объем стока в зоне выпуска сточных вод составляет  $3285000 \text{ м}^3/\text{год}$  (Овсяный и др., 2001). В акваториях остальных восьми станций хозяйственные и промышленные выпуски сточных вод отсутствуют. Рекреацион-

ная нагрузка здесь невелика из-за отдаленности от населенных пунктов и ограничения природопользования в акваториях ООПТ (особо охраняемая природная территория), поэтому их можно отнести к условно чистым. Станция пляж Шайтан расположена ближе других станций к коллекторному выпуску сточных вод – в 300 м от него. Станции урочище Инжир, скала Второй Шпиталь и у мыса Айя находятся в акватории природного заказника “Мыс Айя”, станция у мыса Кая-Баши располагается в акватории природного заказника “Караньский”, а у мыса Фиолент – памятника природы “Прибрежный аквальный комплекс у мыса Фиолент” (Мильчакова и др., 2015).

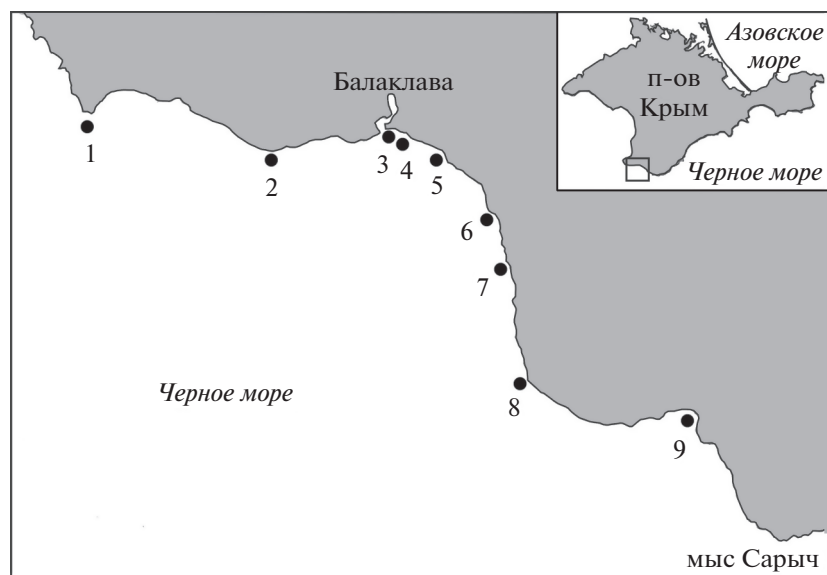
Гидрохимические параметры морской воды (содержание нитритов, нитратов, ионов аммония, органического азота, фосфатов, органического фосфора) определяли по стандартным методикам (Сапожников, 1988). Полученные результаты обрабатывали статистически. Рассчитывали среднюю арифметическую величину ( $M$ ) и доверительный интервал:  $ДИ = M \pm 1.96 \times m$ , где  $m$  – стандартная ошибка среднего. Уравнения, описывающие связь АК с концентрацией гидрохимических показателей, рассчитаны в программе CurveExpert 1.3.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Максимальные значения гидрохимических показателей, характеризующих химический состав вод в прибрежной акватории от мыса Фиолент до б. Ласпи, зарегистрированы у мыса Балаклавский (табл. 1). На условно чистых станциях значения гидрохимических показателей были на несколько порядков ниже, чем на сильно загрязненной станции (табл. 1). По результатам исследования установлено, что АК *Ceramium virgatum* в условно чистых акваториях варьировала от  $11.34 \pm 5.67 \text{ мкг } H_2O_2/(\text{г сырой массы} \times \text{мин})$  на станции мыс Фиолент до  $50.31 \pm 12.22 \text{ мкг } H_2O_2/(\text{г сырой массы} \times \text{мин})$  на станции пляж Шайтан. Рассчитанный 95% доверительный интервал АК *C. virgatum*, соответствующий нормальному функционированию этого вида (уровень нормы отклика), составлял  $26.79 \pm 10.32 \text{ мкг } H_2O_2/(\text{г сырой массы} \times \text{мин})$ . АК *C. virgatum* на станции мыс Балаклавский достигала  $289.2 \pm 17.5 \text{ мкг } H_2O_2/(\text{г сырой массы} \times \text{мин})$ .

### Влияние соединений азота на активность каталазы *C. virgatum*

Зависимость АК *C. virgatum* от концентрации органического азота на восьми условно чистых станциях описывается линейным уравнением с коэффициентом детерминации  $R^2 = 0.84$  (рис. 2а). Это свидетельствует о достоверной функциональной зависимости АК *C. virgatum* от содержания орга-



**Рис. 1.** Схема расположения исследуемых станций. 1 – мыс Фиолент, 2 – мыс Кая-Баши, 3 – мыс Балаклавский, 4 – пляж Шайтан, 5 – Серая скала, 6 – урочище Инжир, 7 – скала Второй Шпиталь, 8 – мыс Айя, 9 – б. Ласпи.

нического азота в среде. Высокое значение  $R^2$  позволяет считать данную прямую калибровочной и использовать ее для определения содержания органического азота в среде при известных значениях АК и наоборот. Для других исследованных гидрохимических показателей аналогичная линейная зависимость не выявлена. Добавление девятой точки, соответствующей сильно загрязненной акватории у мыса Балаклавский (табл. 1), существенно изменило вид зависимости АК *S. virgatum* от концентрации органического азота (рис. 2б). Полученная кривая описывается экспоненциальной функцией с коэффициентом детерминации  $R^2 = 0.99$ . Значительное увеличе-

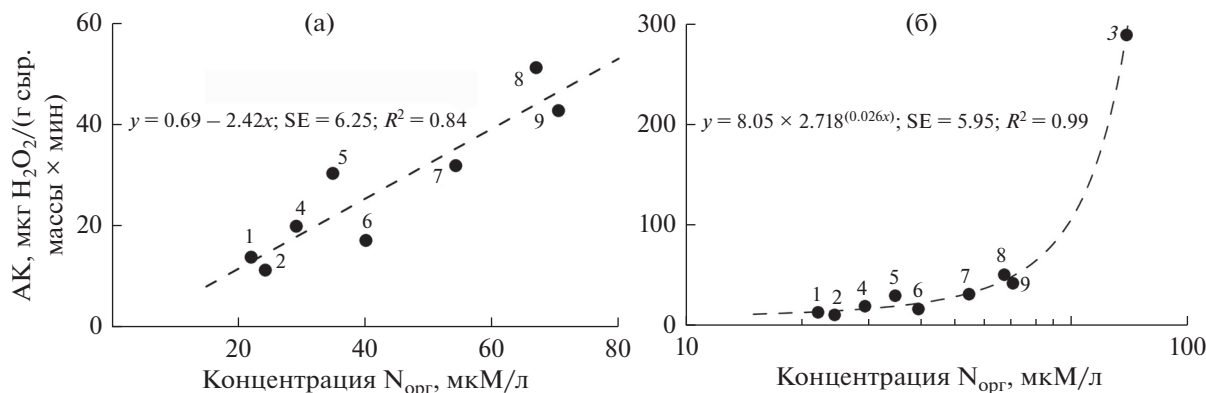
ние АК *S. virgatum* отмечено при достижении концентрации органического азота 40 мкМ/л. Эту величину можно считать порогом чувствительности АК *S. virgatum* по органическому азоту.

Зависимость АК *S. virgatum* от концентрации ионов аммония на всех исследованных станциях описывается экспоненциальной кривой с коэффициентом детерминации  $R^2 = 0.98$ . Порог чувствительности АК *S. virgatum* по ионам аммония составил 0.45 мкМ/л (рис. 3).

Зависимость АК *S. virgatum* от концентрации нитритов и нитратов на исследованных станциях также описывается экспоненциальным уравне-

**Таблица 1.** Гидрохимические показатели исследуемых акваторий в прибрежной зоне юго-западного Крыма (у г. Севастополь)

Станция (ст.)	Качество среды	Концентрация форм азота и фосфора, мкМ/л					
		$\text{NO}_2^-$	$\text{NO}_3^-$	$\text{NH}_4^+$	$\text{N}_{\text{орг}}$	$\text{PO}_4^{3-}$	$\text{P}_{\text{орг}}$
Мыс Фиолент, ст. 1	Условно чистая	0.03	0.09	0.14	24.3	0.05	0.45
Мыс Кая-Баши, ст. 2	То же	0.03	0.06	0.43	22.0	0.11	0.41
Пляж Шайтан, ст. 4	»	0.10	0.08	4.43	67.0	0.59	0.29
Серая скала, ст. 5	»	0.02	0.06	0.13	40.2	0.51	0.12
Урочище Инжир, ст. 6	»	0.04	0.03	0.25	34.9	0.54	0.12
Скала Второй Шпиталь, ст. 7	»	0.04	0.09	0.42	70.5	0.51	0.12
Мыс Айя, ст. 8	»	0.01	0.05	1.05	54.3	0.54	0.15
Бухта Ласпи, ст. 9	»	0.04	0.30	0.35	29.2	0.08	0.27
Мыс Балаклавский, ст. 3	Сильно загрязненная	1.38	1.83	65.53	139.0	7.69	2.71

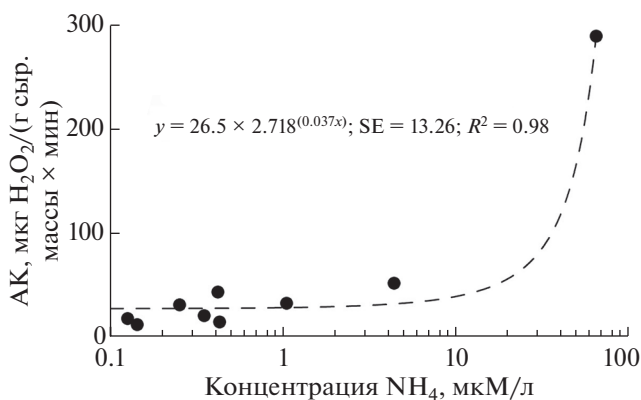


**Рис. 2.** Зависимость активности каталазы (АК) *Ceramium virgatum* от концентрации органического азота ( $N_{орг}$ ): а – на восьми станциях условно чистых акваторий у г. Севастополь, б – на всех исследованных станциях. Номера станций здесь и на рис. 3–5, как на рис. 1.

нием (рис. 4а, 4б) с высокими значениями коэффициентов детерминации:  $R^2 = 0.98$  для нитритов и  $R^2 = 0.97$  для нитратов. Порогом чувствительности для АК *C. virgatum* по нитритам можно считать их концентрацию в морской воде 0.03 мкМ/л, а по нитратам – 0.3 мкМ/л.

*Влияние соединений фосфора на активность каталазы C. virgatum*

Влияние соединений неорганического и органического фосфора на АК *C. virgatum* на исследованных станциях описывается квадратичными функциями со следующими коэффициентами детерминации:  $R^2 = 0.98$  для неорганического и  $R^2 = 0.97$  для органического фосфора (рис. 5а, 5б). Порогом чувствительности для АК *C. virgatum* можно считать концентрацию неорганического фосфора в морской воде, равную 0.12 мкМ/л, а органического – 0.47 мкМ/л.



**Рис. 3.** Зависимость активности каталазы (АК) *Ceramium virgatum* от концентрации ионов аммония ( $NH_4^+$ ) в прибрежной акватории г. Севастополь.

ОБСУЖДЕНИЕ

Найденный в настоящем исследовании 95% доверительный интервал АК *Ceramium virgatum*, соответствующий нормальному функционированию водоросли, т.е. уровень нормы отклика, составил  $26.79 \pm 10.32$  мкг  $H_2O_2$ /(г сырой массы  $\times$  мин). В акватории б. Севастопольская доверительный интервал нормы для церамиума, рассчитанный нами ранее по выборке значений за июнь–сентябрь в 1996–1998 гг. ( $n = 12$ ), был в 2 раза выше, чем в условно чистых исследованных акваториях и составлял  $57 \pm 12$  мкг  $H_2O_2$ /(г сырой массы  $\times$  мин) (см.: Шахматова, Парчевская, 2000). Это может свидетельствовать о более высоком уровне загрязнения б. Севастопольская в 1996–1998 гг. по сравнению с таковым в 2014–2016 гг.

Зависимость степени отклика биомаркера от концентрации вещества, загрязняющего акваторию, – одно из важнейших требований к биомаркеру (Torres et al., 2008; Dondero, Calisi, 2015). По уровню отклика биомаркера появилась возможность характеризовать состояние морской среды (Dahlhoff, 2004), что особенно важно для экологического мониторинга.

Кривая зависимости АК *C. virgatum* от концентрации органического азота (рис. 2а) имеет вид, характерный для начального участка кривых “доза – эффект” (Куценко, 2004). При увеличении концентрации загрязняющих веществ *C. virgatum* способен адаптироваться к ухудшению качества среды только до определенного уровня; для органического азота этот уровень соответствует концентрации 40 мкМ/л. Затем, вероятно, включаются выраженные механизмы антиоксидантной защиты, т.е. повышается уровень АК. Если под адаптацией понимать “...любые полезные изменения организма при изменении окружающей среды” (Гапочка, 1981), то увеличение АК *C. virgatum* в стрессовых условиях можно считать од-

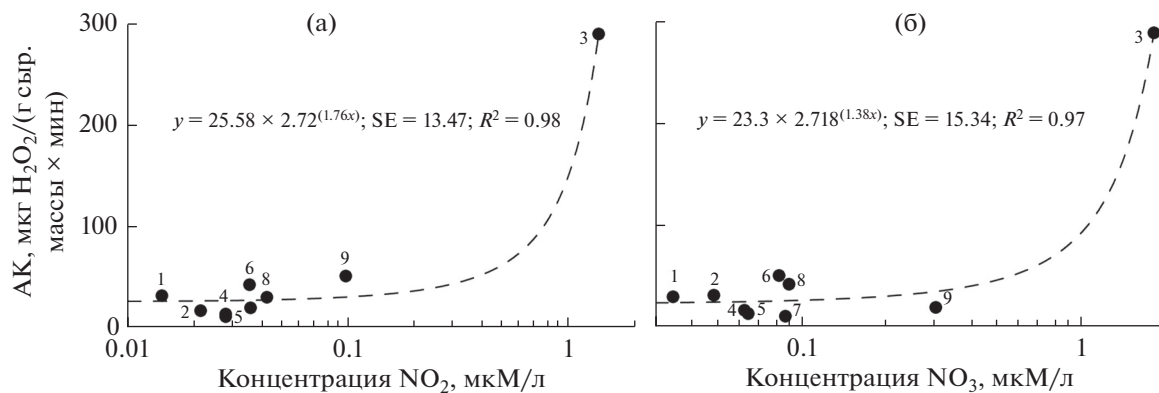


Рис. 4. Зависимость активности каталазы (АК) *Ceramium virgatum* от концентрации нитритов и нитратов в прибрежной акватории г. Севастополь: а – нитраты ( $\text{NO}_2$ ), б – нитриты ( $\text{NO}_3$ ).

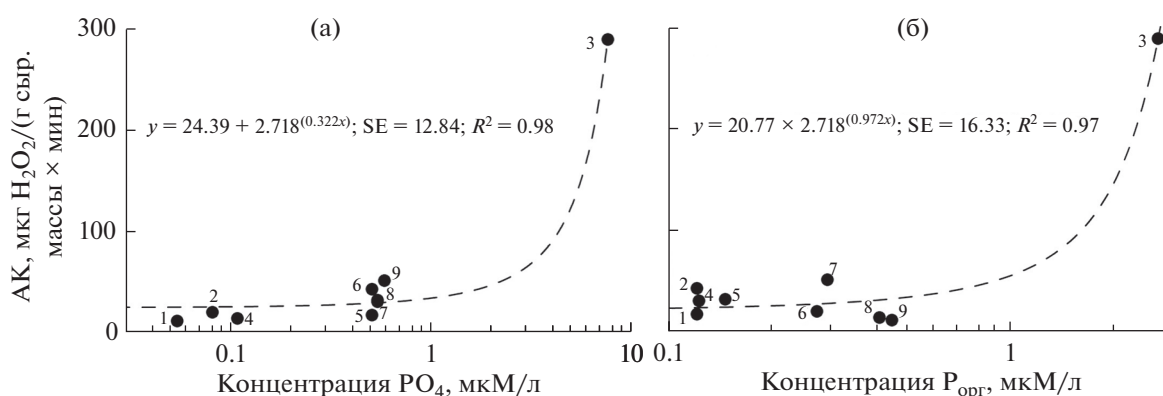


Рис. 5. Зависимость активности каталазы (АК) *Ceramium virgatum* от концентрации соединений фосфора в прибрежной акватории г. Севастополь: а – неорганического ( $\text{PO}_4$ ), б – органического ( $\text{P}_{\text{орг}}$ ).

ним из механизмов адаптации этого вида к условиям произрастания.

Известно, что аммоний – наиболее предпочтительный и энергетически эффективный источник азота для водорослей (Pereira et al., 2008). В частности, *Porphyra dioica* J. Brodie & L.M. Irvine поглощает аммоний и нитраты, однако более предпочтительным для этого вида является поглощение аммония. В лабораторных условиях красная водоросль-агарофит *Gracilaria foliifera* (Forsskal) Vørgesen лучше росла в среде, обогащенной  $\text{NH}_4^+$ , чем в среде, насыщенной  $\text{NO}_3^-$  (Pereira et al., 2008). Аммоний легко переносится через мембраны клеток группой белков, принадлежащих семейству транспортеров  $\text{NH}_4^+$ , и далее включается в цикл синтеза аминокислот глутаминсинтетазой, известной своим высоким родством к аммиаку (Mifflin, Nabash, 2002), однако опубликованные данные свидетельствуют о высокой токсичности аммония. Так, Хайнес и Вилер (Haines, Wheeler, 1978) указывают на токсичность аммония при концентрации более 30–50 мкМ/л

для бурой макроводоросли *Macrocystis pyrifera* (Linnaeus) C. Agardh и красной водоросли *Hypnea musciformis* (Wulfen) J.V. Lamouroux. Эффект токсичности  $\text{NH}_4^+$  наблюдали на *Porphyra yezoensis* (Ueda) M.S. Hwang & H.G. Choi при концентрации около 2.1 мкМ/л (Amano, Noda, 1987). Рост *Porphyra umbilicalis* Kützting прекращался при концентрации  $\text{NH}_4^+$  1.4 мкМ/л (Carmona et al., 2006). Эти данные сопоставимы с полученными нами результатами, согласно которым порог чувствительности АК *C. virgatum* для аммония довольно низкий – 0.45 мкМ/л (рис. 4), что может указывать на токсичность аммиака для *C. virgatum*.

Минимальная действующая концентрация загрязняющего вещества в среде является порогом чувствительности для биомаркера. Обращает на себя внимание существенное различие порогов чувствительности АК *C. virgatum* по концентрации нитратов и нитритов (рис. 4): по нитратам порог чувствительности на порядок выше, чем по нитритам. Вероятно, нитратный азот служит питательным элементом для макроводорослей, в то

время как его нитритная форма под действием любого акцептора электронов легко превращается в свободный радикал  $\cdot\text{NO}_2$ , индуцирующий цепь свободнорадикального процесса, который включает антиоксидантную защиту (Carocho, Ferreira, 2013). Однако известно, что красная водоросль *Palmaria palmata* (Linnaeus) Weber & Mohr может запасать избыток ассимилированного азота в виде ионов  $\text{NO}_2^-$ , это позволяет ей расти при сезонных ограничениях азота (Martinez, Rico, 2002).

Обнаруженная в природной среде зависимость АК *C. virgatum* от концентрации нитратов подтверждена лабораторными экспериментами на морской воде, отобранной в 10-мильной зоне и содержащей низкие концентрации биогенных веществ (неопубликованные данные О.А. Шахматовой). Установлено, что при действии концентрации нитратов 100 мкМ/л в течение 24 ч увеличение АК *C. virgatum* составило 260% по сравнению с контролем. Значения АК в контрольных образцах —  $30.55 \pm 8.78$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2$ /(г сырой массы  $\times$  мин), не превышали 95% доверительный интервал, соответствующий их нормальному функционированию:  $26.80 \pm 10.32$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2$ /(г сырой массы  $\times$  мин).

Показано, что у большинства водорослей метаболизм азота осуществляется по схеме: аммоний > нитрат > нитрит > мочевины (Perez-Garcia et al., 2011). Для *C. virgatum* мы получили следующий ряд: аммоний (0.4 мкМ/л) > нитрат (0.3 мкМ/л) > нитрит (0.03 мкМ/л). В целом показано, что водоросли отдела Rhodophyta характеризуются более высокой способностью к ассимиляции нитратов, чем представители других отделов (Wang et al., 2014).

Вызывающая значительное увеличение активности каталазы у *C. virgatum* концентрация органического фосфора была в 4 раза выше, чем неорганического (рис. 5а, 5б). Вероятно, это связано с тем, что органический фосфор легко включается в метаболизм *C. virgatum*. Показано, что одним из путей пополнения запасов усвояемого фосфора водорослями является энзимная регенерация фосфатов из фосфорорганических соединений (Баранов, 2013). Известна также способность щелочной фосфатазы фито- и бактериопланктона восстанавливать фосфор из фосфомоноэфиров в морской среде (Oh et al., 2010). Значение пороговой концентрации ортофосфата для естественного фитопланктонного сообщества на юге Балтийского моря составило около 1 мкМ/л (Nausch, 1998), что сопоставимо с нашими данными: пороговая концентрация неорганического фосфора для АК *C. virgatum* не превышала 0.12 мкМ/л. Динофлагелляты *Chattonella ovata* и *Cochlodinium polykrikoides* также могут эффективно использовать разнообразные неорганические и органические соединения фосфора (Kim et al., 2007; Ya-

maguchi et al., 2008). У двух представителей бурых водорослей — *Sargassum baccularia* (Mertens) C. Agardh и *S. oligocystum* Montagne — была обнаружена активность внеклеточной фосфатазы, позволяющая ассимилировать фосфор из органических полифосфатов окружающей среды (Schafelke, 2001).

Таким образом, в результате проведенного исследования определена норма отклика активности каталазы *C. virgatum*, равная  $26.79 \pm 10.32$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2$ /(г сырой массы  $\times$  мин). Установлено, что все обнаруженные зависимости АК *C. virgatum* от концентраций исследованных гидрохимических показателей описываются экспоненциальными кривыми с высоким коэффициентом детерминации  $R^2 = 0.97-0.99$ . Горизонтальные участки кривых расположены на уровне значений АК церамииума от 15 до 60 мкг  $\text{H}_2\text{O}_2$ /(г сырой массы  $\times$  мин), что близко к значениям доверительного интервала нормы отклика —  $26.80 \pm 10.32$  мкг  $\text{H}_2\text{O}_2$ /(г  $\times$  мин). В этом интервале значений АК *C. virgatum* нормально функционирует в прибрежной зоне у г. Севастополь.

Порогу чувствительности для АК *C. virgatum* соответствуют следующие концентрации биогенов (мкМ/л): органический азот — 40, нитриты — 0.03, нитраты — 0.3, ионы аммония — 0.45, неорганический фосфор — 0.12 и органический фосфор — 0.47. Полученные результаты по влиянию биогенов на активность каталазы *C. virgatum* являются начальным этапом исследований, которые предстоит продолжить в лабораторных условиях.

#### КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ НОРМ

Настоящая статья не содержит каких-либо исследований, связанных с людьми или животными.

#### ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследования выполнены в рамках государственного задания ФИЦ “Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН” по теме “Закономерности формирования и антропогенная трансформация биоразнообразия и биоресурсов Азово-Черноморского бассейна и других районов Мирового океана”, номер гос. регистрации: АААА-А18-118020890074-2.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Н.Ю. Родионовой за предоставленные данные по гидрохимическим исследованиям, а также Д.С. Парчевской за помощь в математической обработке и при анализе данных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Баранов Е.Е. Трансформация соединений фосфора в водных системах на примере водоемов Волжского бассейна // Самарская Лука: проблемы региональной и глобальной экологии. 2013. Т. 23. № 3. С. 160–166.
- Бельчева Н.Н., Слободенюк А.Ф., Шулькин В.М. и др. Сравнительная оценка антиоксидантной защиты в трех популяциях мидии из загрязненной и чистых акваторий // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: Материалы науч. конф. (11–14 сент. 2007 г.). Петрозаводск. 2007. С. 20–21.
- Березов Т.Т. Руководство к лабораторным занятиям по биологической химии. М.: Медицина. 1976. С. 81–83.
- Воробейчик Е.Л. Экологическое нормирование: на пути к обобщающей теории // Экологическое нормирование и управление качеством почв и земель. М.: НИА-Природа. 2013. С. 29–38.
- Гапочка Л.Д. Об адаптации водорослей. М.: МГУ. 1981. 80 с.
- Израэль Ю.А. Экология и контроль состояния природной среды. Л.: Гидрометеиздат. 1979. 375 с.
- Куценко С.А. Основы токсикологии. СПб.: Фолиант. 2004. 570 с.
- Лукьянова О.Н. Молекулярные биомаркеры в экологическом мониторинге морских экосистем // Изв. ТИНРО. 2003. Т. 133. С. 271–281.
- Макаров О.А. Экологическое нормирование качества окружающей среды и почв // Экологическое нормирование и управление качеством почв и земель. М.: НИА-Природа. 2013. С. 82–92.
- Мильчакова Н.А., Александров В.В., Бондарева Л.В. и др. Морские охраняемые акватории Крыма: научный справочник. Симферополь: Н. Оріанда. 2015. 312 с.
- Мильчакова Н.А., Шахматова О.А. Каталазная активность наиболее массовых видов черноморских водорослей-макрофитов в градиенте хозяйственно-бытового загрязнения // Мор. экол. журн. 2007. Т. 6. № 2. С. 44–57.
- Овсяный Е.И., Романов А.С., Миньковская Р.Я. и др. Основные источники загрязнения морской среды Севастопольского региона // Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное исследование ресурсов шельфа. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. 2001. Вып. 2. С. 138–152.
- Сапожников В.В. Методы гидрохимических исследований основных биогенных элементов. М.: ВНИРО. 1988. 118 с.
- Смолькин В.П. Применение системы экологических нормативов для оценки уровня природосберегающего развития организации // Теория и практика общественного развития. Экономические науки. 2014. № 1. С. 381–383.
- Ткаченко Ф.П., Ситников Ю.А., Куцын О.Б. Состояние элементов антиоксидантной системы водорослей из разных по степени загрязненности районов Черного моря // Экол. моря. 2004. Т. 65. С. 70–74.
- Федоров В.Д., Максимов В.Н., Сахаров В.Б. Количественный способ оценки внешних воздействий на экологические системы // Человек и биосфера. М.: МГУ. 1980. Вып. 5. С. 12–23.
- Шахматова О.А. Активность антиоксидантной системы некоторых черноморских гидробионтов в прибрежной акватории Севастополя: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. Севастополь. 2004. 21 с.
- Шахматова О.А. Отклик гидробионтов на стрессовые факторы морских экосистем // Экосистемы, их оптимизация и охрана. Симферополь. 2012. Вып. 7. С. 98–113.
- 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.
- Amano H., Noda H. Effect of nitrogenous fertilizers on the recovery of discoloured fronds of *Porphyra yezoensis* // Bot. Mar. 1987. V. 30. № 6. P. 467–473.
- Carmona R., Kraemer G.P., Yarish C. Exploring Northeast American and Asian species of *Porphyra* for use in an integrated finfish-algal aquaculture system // Aquaculture. 2006. V. 252. № 1. P. 54–65.
- Carocho M., Ferreira I. C.F.R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives // Food Chem. Toxicol. 2013. V. 51. P. 15–25.
- Dahlhoff E.P. Biochemical indicators of stress and metabolism: applications for marine ecological studies // Ann. Rev. Physiol. 2004. V. 66. P. 183–207.
- Dondero F., Calisi A. Evaluation of pollution effects in marine organisms: “old” and “new generation” biomarkers // Coastal Ecosystems: Experiences and Recommendations for Environmental Monitoring Programs. 2015. С. 143–192.
- Haines K.C., Wheeler P.A. Ammonium and nitrate uptake rates of the seaweeds *Hypnea musciformis* (Rhodophyta) and *Macrocystis pyrifera* (Phaeophyta) // J. Phycol. 1978. V. 14. № 3. P. 319–324.
- Kim D.I., Matsubara T., Oh S.J. et al. Effects of nitrogen and phosphorus sources on the utilization and growth kinetics of the harmful dinoflagellate *Cochlodinium polykrikoides* isolated from Yatsushiro Sea, Japan // Nippon Suisan Gakkaishi. 2007. V. 73. № 4. P. 711–717.
- Martinez B., Rico J.M. Seasonal variation of P content and major N pools in *Palmaria palmata* (Rhodophyta) // J. Phycol. 2002. V. 38. № 6. P. 1082–1089.
- Mearns A.J., Rutherford N., Reish D.J. et al. Effects of pollution on marine organisms // Water Environ. Res. 2013. V. 85. № 10. P. 1828–1933.
- Mifflin B.J., Habash D.Z. The role of glutamine synthetase and glutamate dehydrogenase in nitrogen assimilation and possibilities for improvement in the nitrogen utilization of crops // J. Exp. Bot. 2002. V. 53. № 370. P. 979–987.
- Nausch M. Alkaline phosphatase activities and the relationship to inorganic phosphate in the Pomeranian Bight (southern Baltic Sea) // Aquat. Microb. Ecol. 1998. V. 16. № 1. P. 87–94.

- Oh S.J., Kwon H.K., Noh I.H., Yang H.-S. Dissolved organic phosphorus utilization and alkaline phosphatase activity of the dinoflagellate *Gymnodinium impudicum* isolated from the South Sea of Korea // *Ocean Sci. J.* 2010. V. 45. № 3. P. 171–178.
- Pereira R., Kraemer G., Yarish C., Sousa-Pinto I. Nitrogen uptake by gametophytes of *Porphyra dioica* (Bangiales, Rhodophyta) under controlled-culture conditions // *Eur. J. Phycol.* 2008. V. 43. № 1. P. 107–118.
- Perez-Garcia O., Escalante F.M.E., de-Bashan L.E., Bashan Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products // *Water Res.* 2011. V. 45. № 1. P. 11–36.
- Peters L.D., Porte C., Albaigés J., Livingstone D.R. 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) and antioxidant enzyme activities in larvae of sardine (*Sardina pilchardus*) from the north coast in Spain // *Mar. Pollut. Bull.* 1994. V. 28. № 5. P. 299–304.
- Schaffelke B. Surface alkaline phosphatase activities of macroalgae on coral reefs of the Central Great Barrier Reef, Australia // *Coral Reefs.* 2001. V. 19. № 4. P. 310–317.
- Torres M.A., Campos S.C.G., Colepicolo P. et al. Biochemical biomarkers in algae and marine pollution: a review // *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2008. V. 71. № 1. P. 1–15.
- Wang C., Lei A., Zhou K. et al. Growth and nitrogen uptake characteristics reveal outbreak mechanism of the opportunistic macroalga *Gracilaria tenuistipitata* // *PLoS One.* 2014. V. 9. № 10. e:108980
- Yamaguchi H., Sakamoto S., Yamaguchi M. Nutrition and growth kinetics in nitrogen- and phosphorus-limited cultures of the novel red tide flagellate *Chattonella ovata* (Raphidophyceae) // *Harmful Algae.* 2008. V. 7. P. 26–32.

## Catalase Activity of the Red Alga *Ceramium virgatum* Roth, 1797 as a Marker of the Quality of Marine Environment on the Example of the Coastal Zone of the South-Western Crimea

O. A. Shakhmatova<sup>a</sup> and S. A. Kovardakov<sup>a</sup>

<sup>a</sup>*Kovalevsky Institute of Marine Biological Research, Russian Academy of Sciences, Sevastopol 299011, Russia*

The study determined the range of conditionally normal values of the activity of catalase (CA) in the Black Sea red macroalga *Ceramium virgatum*. The level of CA in the alga corresponded to its conditionally normal functioning ( $26.79 \pm 10.32 \mu\text{g H}_2\text{O}_2/\text{g wet weight} \times \text{min}$ ). The found minimum concentrations of hydrochemical parameters correspond to the sensitivity threshold of CA in *C. virgatum*; these minimum values are 40  $\mu\text{M/L}$  for organic nitrogen, 0.03  $\mu\text{M/L}$  for nitrites, 0.3  $\mu\text{M/L}$  for nitrates, 0.12  $\mu\text{M/L}$  for inorganic phosphorus, and 0.47  $\mu\text{M/L}$  for organic phosphorus.

**Keywords:** The Black Sea, *Ceramium virgatum*, catalase activity, biomarker, hydrochemical parameters, sensitivity threshold, conditional norm