

УДК (581.1:582.23/26) 581.524.13

*В. А. Медведь, З. Н. Горбунова*

### **АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗЫ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В УСЛОВИЯХ КУЛЬТУРЫ**

В работе приведены данные по активности фермента каталазы у 26 видов микроводорослей Chlorophyta, Cyanophyta, Bacillariophyta, Rhodophyta, Euglenophyta и Streptophyta. Установлено, что величина активности каталазы у исследованных представителей альгофлоры в период их роста в условиях культуры подвержена определенным колебаниям, амплитуда и частота которых является видоспецифической.

**Ключевые слова:** каталаза, активность, биомасса, фильтраты водорослей.

Одним из важных элементов изучения физиолого-биохимических особенностей водных растений является исследование их ферментных систем, так как им принадлежит основная роль в регуляции метаболических процессов.

Любое нарушение обмена веществ в организме, происходящее под воздействием абиотических и биотических факторов, ведет к дезорганизации функционирования ферментных систем [7, 25] и вызывает окислительный стресс. Особое место в этих условиях принадлежит ферментам пероксидного комплекса, а именно — глутатионпероксидазе, каталазе и пероксидазе. В результате согласованной работы этих энзимов за счет разного сродства к субстрату [30] осуществляется инактивация целого ряда перекисных соединений, что обеспечивает гибкое регулирование уровня перекисного окисления липидов в клетке и адекватный ответ организма на действие окислительной нагрузки.

Каталаза, входящая в этот комплекс, является ключевым ферментом. Она локализована в митохондриях, а также в клеточных органеллах пероксисомах, где находятся другие оксидазы, восстанавливающие супероксидный радикал до перекиси водорода. Этот фермент, по сравнению с пероксидазой, обладает высокой специфичностью к субстрату, так как его действие направлено только на перекись водорода.

© В. А. Медведь, З. Н. Горбунова, 2013

Анализ литературных данных, а также результаты наших исследований свидетельствуют о том, что разные виды водорослей характеризуются индивидуальной чувствительностью к воздействию природных и антропогенных факторов, что проявляется в угнетении или стимуляции активности ферментных систем [1, 5, 9—14, 27, 35, 37].

Несмотря на то, что в последнее время появилось значительное количество работ по исследованию активности каталазы у водных растений с целью использования этого показателя при мониторинге качества воды [18, 32, 33], сведений об уровнях этого фермента у разных представителей пресноводных водорослей крайне мало. В то же время, данные такого плана могут представить существенный интерес для оценки антиоксидантной защиты водорослей в условиях воздействия экологических факторов как в природных условиях, так и в модельных экспериментах с культурами, что очень важно для расшифровки механизмов формирования альгосообществ и для прогнозирования качества воды в различных водных объектах.

В связи с тем, что каталаза является не только внутриклеточным ферментом, но и выделяется микроорганизмами в среду их обитания [36], целью настоящей работы было определение активности каталазы у некоторых представителей Cyanophyta, Chlorophyta, Bacillariophyta, Rhodophyta, Euglenophyta и Streptophyta как в биомассе, так и в фильтратах культур водорослей.

**Материал и методика исследований.** Объектами исследования служили альгологически чистые культуры водорослей 26 видов: синезеленых — *Anabaena cylindrica* Lemmermen. HPDP-1, *Anabaena variabilis* Kütz. HPDP-4, *Anabaena* sp. PCC 7120 P-9 Wolk USA, *Calothrix braunii* Born. et Flah HPDP-16, *Microcystis aeruginosa* Kütz. emend. Elenk. HDPD-6, *Nostoc* sp. HPDP-8, *Nostoc muscorum* Ag. HPDP-31, *Oscillatoria neglecta* Lemm. HPDP-25, *Phormidium autumnale* Gom. f. *uncinata* (Ag.) N.V. Kondrat. HPDP-18; зеленых — *Acutodesmus dimorphus* (Turp.) Tsar. comb. nova IBASU-A251, *Chlorella vulgaris* Beijer. CCAP-211/16, *Coelastrum astroideum* De Not. IBASU-A 353, *Desmodesmus brasiliensis* (Bohlin) E. Hegew. IBASU-A 273, *Desmodesmus communis* (Hegew.) Hegew. IBASU-A 277, *Desmodesmus magnus* (Meyen) Tsar. comb. nova. IBASU-A 281, *Desmodesmus opoliensis* (P. Richt) Hegew. IBASU-A 298, *Desmodesmus subspicatus* (Chod.) Hegew. et A. Schmidt IBASU-A 302, *Monoraphidium contortum* (Thur.) Kom.-Legn. IBASU-A 364, *Scenedesmus obtusus* (W. et G. S. West) Tzar. IBASU-A 310, *Pediastrum boryanum* (Turp.) Menegh. IBASU-A 240, *Tetraedron caudatum* (Corda) Hansg. IBASU-A 319, *Selenastrum gracile* Reinsch. IBASU-A 317; диатомовых — *Mayamaea atomus* (Kütz.) Lange-Bert. (= *Navicula atomus* (Kütz.) Grun.) ACKU 12-02, эвгленовых — *Euglena gracilis* Klebs HPDP-114, красных — *Porphyridium purpureum* (Bory) Drew et Ross (= *Porphyridium cruentum* (Ag.) Nag.) HPDP-141 и стрептофитовых — *Cosmarium polygonum* var. *acutius* Messikommer IBASU-A 438. Название водорослей представлено согласно работам [22, 31].

Водоросли выращивали на средах, которые применяются при лабораторном культивировании Cyanophyta, Chlorophyta, Bacillariophyta, Rhodophyta, Euglenophyta и Streptophyta [8, 17, 24, 34].

Синезеленые, зеленые, красные, эвгленовые и стрептофитовые водоросли культивировали при температуре 20—27°C и освещении лампами дневного света в течение 16 ч/сут (интенсивность 2500 лк), а диатомовые — при комнатной температуре на окне северной стороны здания.

Пробы для анализа отбирали: при исследовании видов Cyanophyta — на 2, 7, 14, 30, 60-е сутки, Chlorophyta — на 0, 1, 2, 7, 10, 14, 30, 60-е сутки, Bacillariophyta — на 0, 3, 5, 7, 10, 14, 30 и 60-е сутки, Euglenophyta и Streptophyta — на 0, 6, 13, 20, 24-е сутки, Rhodophyta — на 30-е сутки культивирования.

Клетки водорослей отделяли от среды с помощью мембранных фильтров Сынпор № 4 (диаметр пор 0,85 мкм) либо центрифугированием при 8000 об/мин. Активность каталазы (КФ 1.11.1.6) (АК) в биомассе водорослей и в культуральной среде определяли согласно методике [20] и выражали соответственно в мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мг сухой массы·мин и в мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мл фильтрата. Концентрацию аммонийного и нитритного азота в культуральной среде определяли общепринятым колориметрическим методом [29].

### Результаты исследований и их обсуждение

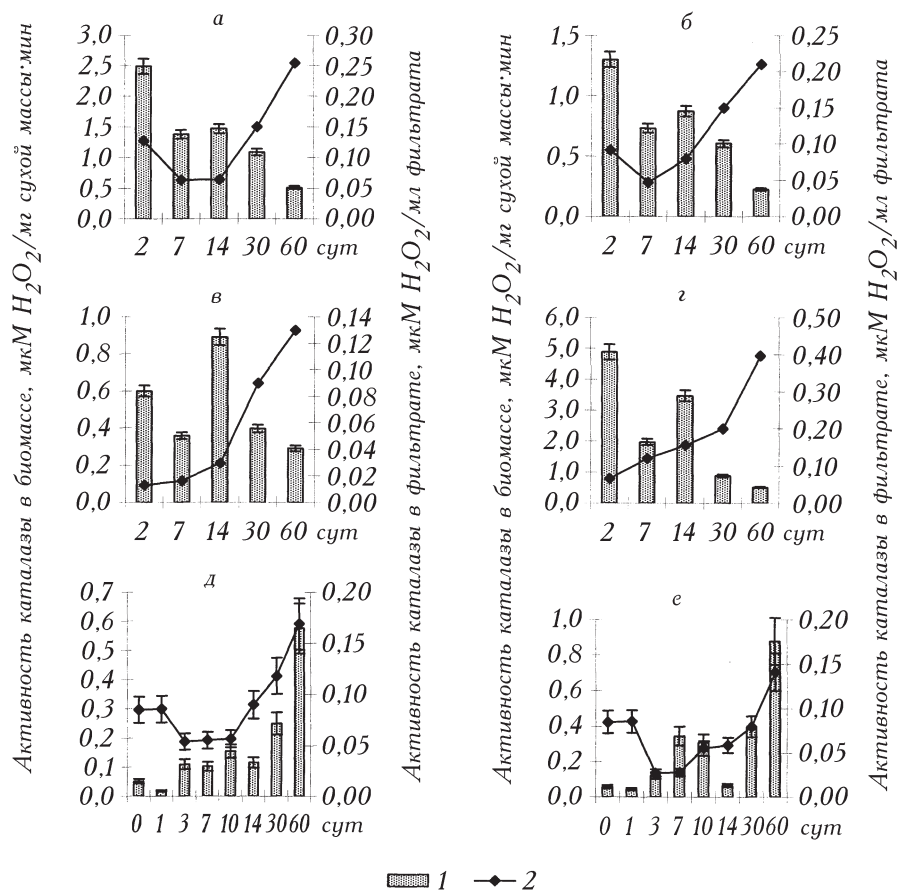
При выращивании водорослей на питательных средах был отмечен активный рост всех исследованных представителей Chlorophyta, Cyanophyta, Bacillariophyta, Rhodophyta, Euglenophyta и Streptophyta, что подтверждается данными по изменению количества их сухой массы. Величина этого показателя в культурах разных видов к концу опыта в основном колебалась в пределах 395—1820 мг/л (табл. 1).

*Активность каталазы в биомассе водорослей.* Результаты модельных экспериментов свидетельствуют, что одновременно с увеличением биомассы культур водорослей (по величине сухой массы) у исследованных видов наблюдались изменения уровня активности каталазы в клетках (рис. 1—6). При этом представители разных отделов водорослей характеризовались неодинаковым характером динамики этого показателя, о чем свидетельствует как разное число максимумов активности фермента, зарегистрированное нами в течение роста культур, так и время их обнаружения. Так, представители Chlorophyta *Selenastrum gracile*, *Chlorella vulgaris*, *Acutodesmus dimorphus* и *Desmodesmus brasiliensis* характеризовались снижением величины АК в биомассе по мере роста культур (см. рис. 1). Однако при этом у первых двух видов водорослей зафиксирован только один максимум активности фермента (2-е сутки после пересева культуры на свежую среду), а у *A. dimorphus* и *D. brasiliensis* — два максимума АК (2-е и 14-е сутки). У других исследованных видов зеленых водорослей (*Desmodesmus communis* и *Tetraedron caudatum*) уровень активности фермента в биомассе был наибольшим в конце опыта. Отмеченные нами различия в характере изменения активности фермента у исследованных видов зеленых водорослей, очевидно, связаны с особенностями роста культур. Так, в частности, *S. gracile*, *C. vulgaris*, *A. dimorphus* и *D. brasiliensis* в конце эксперимента характеризовались более низкими величинами биомассы (соответственно 800, 650, 780 и 760 мг/л), чем *D. communis* и *T. caudatum* (соответственно 1300 и 1200 мг/л).

1. Биомасса исследуемых видов водорослей в конце опыта (60-е сутки)

Виды водорослей	Сухая масса, мг/л
Chlorophyta	
<i>Acutodesmus dimorphus</i>	780 ± 4,1
<i>Chlorella vulgaris</i>	650 ± 3,1
<i>Coelastrum astroideum</i>	806 ± 4,5
<i>Desmodesmus brasiliensis</i>	760 ± 4,5
<i>D. communis</i>	1300 ± 6,1
<i>D. magnus</i>	856 ± 4,5
<i>D. opoliensis</i>	765 ± 4,5
<i>D. subspicatus</i>	805 ± 4,5
<i>Monoraphidium contortum</i>	756 ± 4,5
<i>Pediastrum boryanum</i>	843 ± 4,5
<i>Scenedesmus obtusus</i>	900 ± 4,5
<i>Selenastrum gracile</i>	800 ± 3,4
<i>Tetraedron caudatum</i>	1200 ± 4,5
Cyanophyta	
<i>Anabaena</i> sp.	1600 ± 3,6
<i>A. cylindrica</i>	1670 ± 3,6
<i>A. variabilis</i>	1720 ± 4,6
<i>Calothrix braunii</i>	1470 ± 3,6
<i>Microcystis aeruginosa</i>	870 ± 3,4
<i>Nostoc</i> sp.	1550 ± 4,7
<i>N. muscorum</i>	1450 ± 4,5
<i>Oscillatoria neglecta</i>	1597 ± 4,5
<i>Phormidium autumnale</i> f. <i>uncinata</i>	1800 ± 4,6
Bacillariophyta	
<i>Mayamaea atomus</i>	620 ± 5,6
Rhodophyta	
<i>Porphyridium purpureum</i> * (= <i>Porphyridium cruentum</i> )	1820 ± 5,6
Euglenophyta	
<i>Euglena gracilis</i> **	455 ± 5,6
Streptophyta	
<i>Cosmarium polygonum</i> var. <i>acutius</i> **	395 ± 3,2**

\* У *Porphyridium purpureum* сухую массу определяли на 30-е сутки после посева; \*\* у *Euglena gracilis* и *Cosmarium polygonum* var. *acutius* — на 26-е сутки.

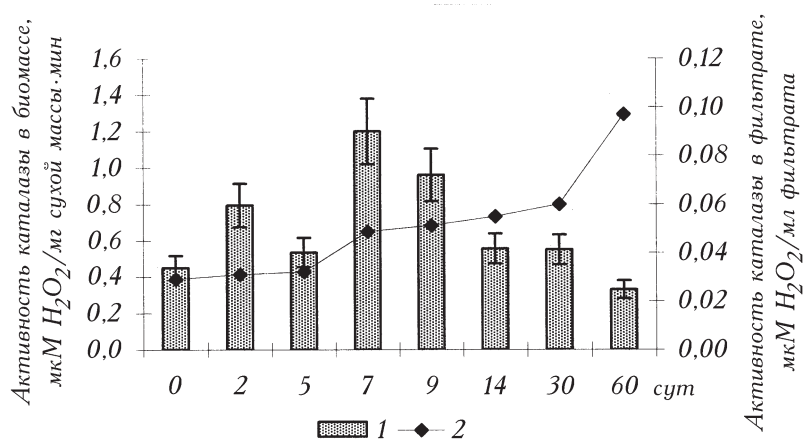


1. Активность каталазы в биомассе и бесклеточном фильтрате зеленых водорослей *Selenastrum gracile* (а), *Chlorella vulgaris* (б), *Desmodesmus brasiliensis* (в), *Acutodesmus dimorphus* (з), *Desmodesmus communis* (д) и *Tetraedron caudatum* (е) на разных этапах роста культуры (1 — биомасса; 2 — фильтрат).

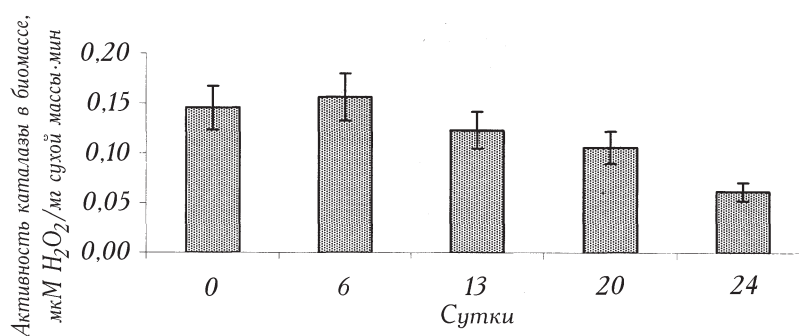
У диатомовой водоросли *Mayamaea atomus*, как и у некоторых видов Chlorophyta, зарегистрировано два максимума АК в биомассе (2-е и 7-е сутки после пересева культуры на свежую среду) с последующим уменьшением величины этого показателя к концу опыта (60-е сутки) (см. рис. 2). У стрептофитовой и эвгленовой водорослей активность фермента плавно снижалась по мере роста культур (см. рис. 3 и 4).

Синезеленые водоросли, в отличие от большинства исследуемых в эксперименте видов Chlorophyta и представителя Bacillariophyta, характеризовались повышением величины АК в биомассе во время роста культуры (см. рис 5 и 6).

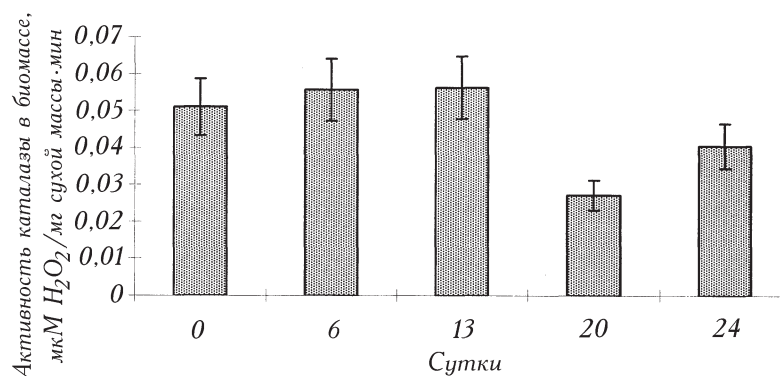
Полученные экспериментальные данные по изменению АК в период роста (60 сут) культур водорослей позволили нам оценить их способность противостоять окислительному стрессу. Как видно из таблицы 2, у исследован-



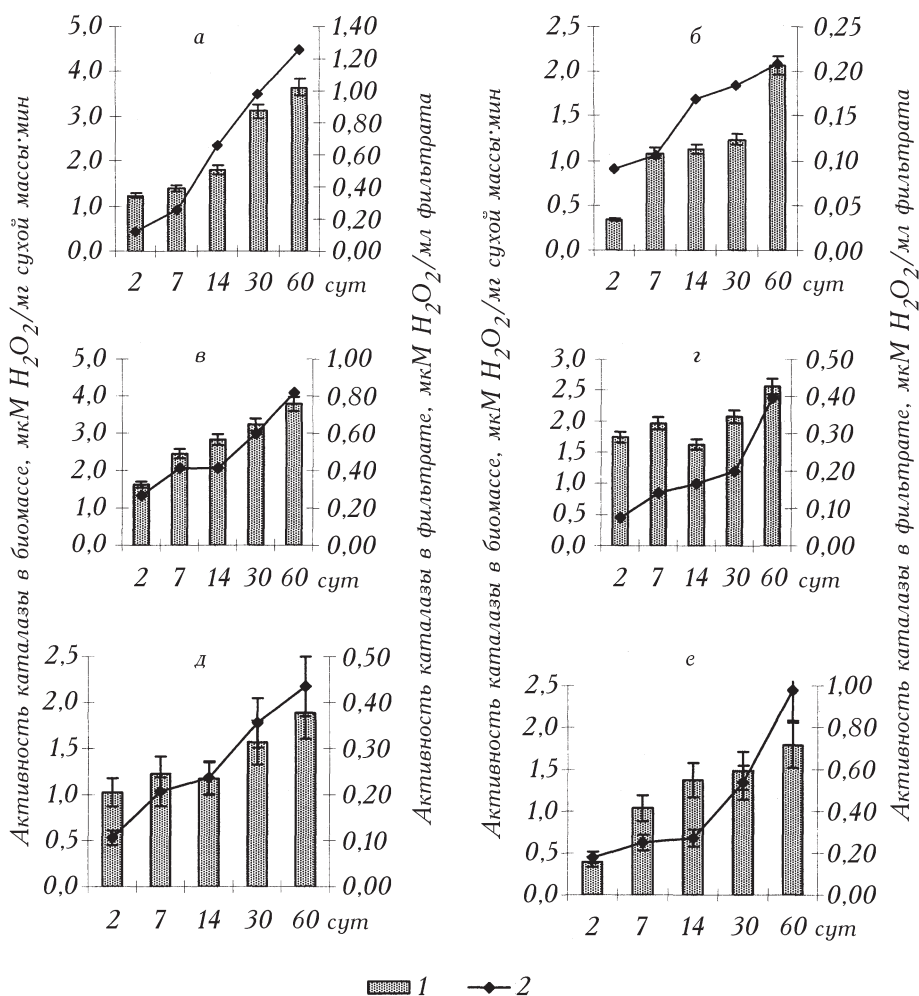
2. Активность каталазы в биомассе и бесклеточном фильтрате диатомовой водоросли *Mayamaea atomis* на разных этапах роста культуры (1 — биомасса; 2 — фильтрат).



3. Активность каталазы в биомассе стрептофитовой водоросли *Cosmarium polygonum var. acutius* на разных этапах роста культуры.



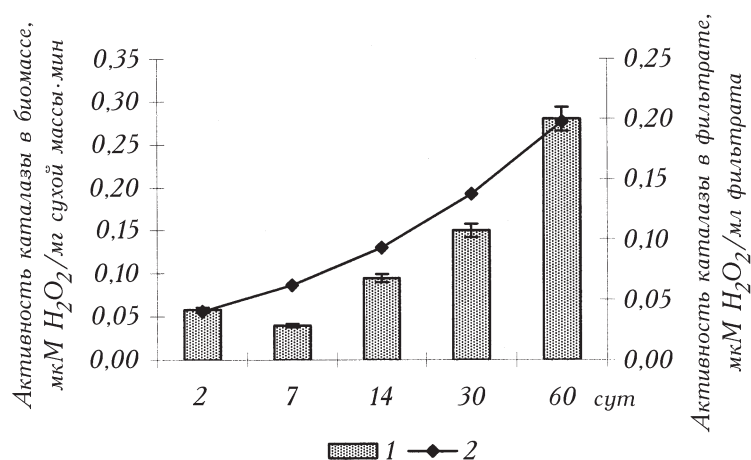
4. Активность каталазы в биомассе эвгленовой водоросли *Euglena gracilis* на разных этапах роста культуры.



5. Активность каталазы в биомассе и бесклеточном фильтрате синезеленых водорослей *Anabaena cylindrica* (а), *Anabaena variabilis* (б), *Nostoc muscorum* (в), *Nostoc* sp. (з), *Oscillatoria neglecta* (д) и *Phormidium autumnale* (е) на разных этапах роста культуры (1 — биомасса; 2 — фильтрат).

ных видов из разных отделов водорослей активность фермента изменяется в довольно широких пределах: у Chlorophyta — от 0,02 до 4,87, у Cyanophyta — от 0,04 до 3,78, у Bacillariophyta — от 0,33 до 2,63 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мг сухой массы·мин. При этом даже в пределах одного рода (*Desmodesmus*, *Anabaena*, *Nostoc*) наблюдается различный диапазон изменений величины исследованного показателя. Подобная тенденция была отмечена нами и при исследовании активности нитратредуктазы [9].

Установлено, что высоким уровнем активности каталазы (по средним величинам) среди Chlorophyta характеризовались *Acutodesmus dimorphus* (2,35 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мг сухой массы·мин.), *Desmodesmus magnus* (1,99) и *Selenastrium gracile* (1,39), а низким — *Coelastrum astroideum* (0,21), *Scenedesmus obtu-*



6. Активность каталазы в биомассе и бесклеточном фильтрате синезеленой водоросли *Microcystis aeruginosa* на разных этапах роста культуры (1 — биомасса; 2 — фильтрат).

*sus* (0,22) и *Tetraedron caudatum* (0,28). У Cyanophyta наибольшая (в среднем) активность каталазы отмечена у гормогониевых водорослей — *Anabaena cylindrica*, *Anabaena* sp., *Nostoc muscorum* и *Nostoc* sp., (соответственно 2,24, 1,68, 2,79 и 2,0 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мг сухой массы·мин), а минимальная — у основного возбудителя «цветения» воды *Microcystis aeruginosa* (0,12) и у *Calothrix braunii* (0,27). У диатомовой водоросли *Mayamaea atomus* средняя величина активности фермента составляла 1,64 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мг сухой массы·мин.

Представитель Rhodophyta *Porphyridium purpureum* (на 30-е сутки после посева) характеризовался самым высоким уровнем АК (5,43 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мг сухой массы·мин) среди исследованных видов водорослей.

У стрептофитовой водоросли *Cosmarium polygonum* var. *acutius* средняя величина АК была на уровне 0,12 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мг сухой массы·мин, тогда как у *Euglena gracilis* (Euglenophyta) зарегистрирована самая низкая АК — 0,046 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мг сухой массы·мин.

Таким образом, исследованные виды водорослей характеризуются различным уровнем активности каталазы. Наиболее высокие величины АК выявлены нами у *Anabaena cylindrica*, *Anabaena* sp., *Nostoc muscorum*, *Nostoc* sp, *Acutodesmus dimorphus*, *Desmodesmus magnus*, *Selenastrum gracile* и *Porphyridium purpureum*. Это, вероятно, свидетельствует о том, что эти виды обладают более высокой устойчивостью к окислительному стрессу, возникающему при воздействии разных факторов, выходящих за пределы толерантности.

У *Microcystis aeruginosa*, *Coelastrum astroideum*, *Scenedesmus obtusus*, *Tetraedron caudatum* и *Cosmarium polygonum* var. *acutius*, характеризующихся низким уровнем активности исследуемого фермента, в комплексной антирадикальной защите клеток, наряду с каталазой, вероятно, значительную роль играют низкомолекулярные оксиданты, к которым относятся различ-



2. Диапазон изменений активности каталазы в биомассе водорослей (60 сут)

Виды водорослей	Активность каталазы, мкМ Н <sub>2</sub> О <sub>2</sub> /мг сухой массы·мин
Chlorophyta	
<i>Acutodesmus dimorphus</i>	0,52—4,87 (2,35 ± 0,18)
<i>Chlorella vulgaris</i>	0,23—1,30 (0,75 ± 0,03)
<i>Coelastrum astroideum</i>	0,02—0,39 (0,21 ± 0,01)
<i>Desmodesmus brasiliensis</i>	0,29—0,89 (0,51 ± 0,03)
<i>D. communis</i>	0,02—0,58 (0,17 ± 0,14)
<i>D. magnus</i>	0,28—3,69 (1,99 ± 0,16)
<i>D. opoliensis</i>	0,14—0,43 (0,32 ± 0,03)
<i>D. subspicatus</i>	0,53—0,64 (0,58 ± 0,05)
<i>Monoraphidium contortum</i>	0,19—1,03 (0,61 ± 0,04)
<i>Pediastrum boryanum</i>	0,25—1,33 (0,71 ± 0,12)
<i>Scenedesmus obtusus</i>	0,03—0,41 (0,22 ± 0,02)
<i>Selenastrum gracile</i>	0,52—2,49 (1,39 ± 0,12)
<i>Tetraedron caudatum</i>	0,06—0,88 (0,28 ± 0,16)
Cyanophyta	
<i>Anabaena</i> sp.	0,95—2,41 (1,68 ± 0,13)
<i>A. cylindrica</i>	1,24—3,65 (2,24 ± 0,52)
<i>A. variabilis</i>	0,35—2,06 (1,17 ± 0,09)
<i>Calothrix braunii</i>	0,18—0,37 (0,27 ± 0,02)
<i>Microcystis aeruginosa</i>	0,04—0,28 (0,12 ± 0,01)
<i>Nostoc</i> sp.	1,63—2,57 (2,00 ± 0,22)
<i>N. muscorum</i>	1,63—3,78 (2,79 ± 0,73)
<i>Oscillatoria neglecta</i>	1,03—1,89 (1,38 ± 0,24)
<i>Phormidium autumnale</i> f. <i>uncinata</i>	0,49—1,79 (1,22 ± 0,05)
Bacillariophyta	
<i>Mayamaea atomus</i>	0,33—2,63 (1,64 ± 0,13)
Rhodophyta	
<i>Porphyridium purpureum</i> (= <i>Porphyridium cruentum</i> )	5,43**
Euglenophyta	
<i>Euglena gracilis</i>	0,027—0,051 (0,046)*
Streptophyta	
<i>Cosmarium polygonum</i> var. <i>acutius</i>	0,062—0,150 (0,120)*

\* *Euglena gracilis* и *Cosmarium polygonum* var. *acutius* выращивали 26 сут; \*\* у *Porphyridium purpureum* было единичное определение АК на 30-е сутки после посева; в скобках — средние значения.

ные соединения — некоторые аминокислоты, полиамины, мочевины, мочевая кислота, глутатион, аскорбат, билирубин,  $\alpha$ -токоферол и др. Они осуществляют регуляцию интенсивности свободнорадикальных процессов благодаря «парадоксальной» способности в зависимости от условий функционировать как про- и антиоксиданты [4].

У эвгленовой водоросли, у которой отмечена минимальная величина АК, детоксикация образующихся свободных радикалов, по-видимому, осуществляется с помощью других антиоксидантных ферментов (пероксидазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы) и низкомолекулярных оксидантов.

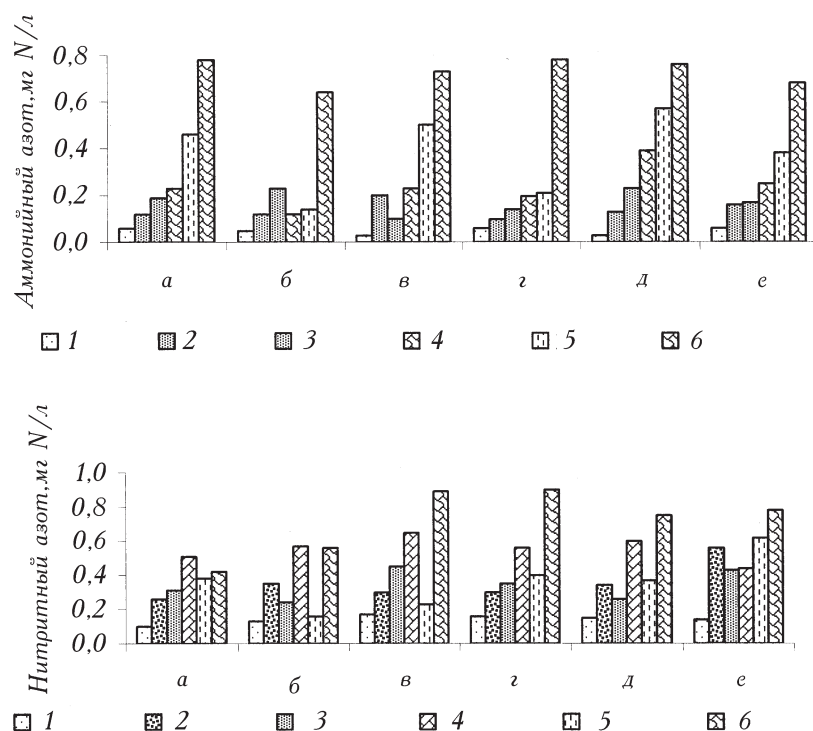
Таким образом, величина АК в биомассе исследованных представителей альгофлоры подвержена определенным колебаниям, амплитуда и частота которых различны для каждого вида. На наш взгляд, это может быть обусловлено рядом причин. Так, отмеченные нами максимумы активности фермента в первые сутки после посева, по-видимому, вызваны тем, что при внесении в свежеприготовленную среду инокулята, содержащего определенный процент мертвых клеток, происходит их массовый автолиз [19]. В зоне распада при этом создается среда с низким количеством кислорода и повышенным содержанием органического вещества, аммиака и углекислоты, что и вызывает всплеск активности каталазы.

Известно, что каталаза принимает участие не только в детоксикации свободных радикалов [21, 39] совместно с супероксиддисмутазой, но и в пероксидазной (когда концентрация перекиси поддерживается низкой и в системе присутствуют электроннодонорные соединения, например спирты и формиаты) и в собственно каталазной реакциях (разлагает перекись водорода с образованием кислорода и воды) [30].

Поэтому повышение уровня активности фермента при снижении в среде содержания кислорода можно объяснить тем, что в этих условиях повышается роль исследуемого энзима в собственно каталазной реакции. Очевидно, наблюдаемые в период роста культур водорослей максимумы активности каталазы могли быть вызваны снижением концентрации кислорода в среде.

Нельзя исключить и тот факт, что метаболизм водорослей в значительной степени определяется концентрацией биогенных элементов в среде. Известно, например, что АК макроводорослей зависит от концентрации нитратов и нитритов в морской воде [32]. В связи с этим, мы предполагаем, что следующие максимумы активности фермента могут быть связаны с изменением количества аммонийного и нитритного азота в среде. Так, максимумы активности фермента у большинства исследованных водорослей (см. рис. 1, 2, 5, 6) наблюдались в период, который характеризовался высоким содержанием в среде нитритного и аммонийного азота (рис. 7, 8).

Необходимо также отметить, что каталаза характеризуется высоким сродством к субстрату, поэтому изменения величины ее активности в период роста культур свидетельствуют о колебании в среде содержания перекиси

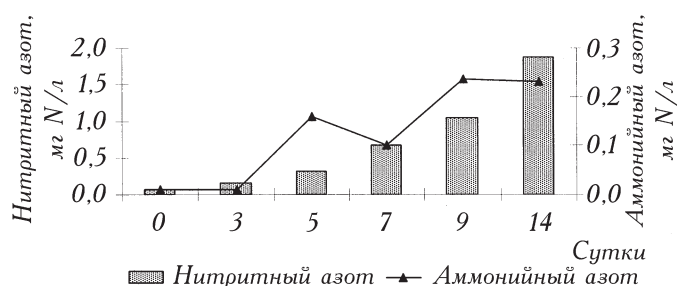


7. Содержание аммонийного и нитритного азота в среде при культивировании зеленых водорослей *Desmodesmus brasiliensis* (а), *Desmodesmus communis* (б), *Acutodesmus dimorphus* (в), *Selenastrum gracile* (г), *Tetraedron caudatum* (д), *Chlorella vulgaris* (е) на разных этапах роста культуры. Здесь и на рис. 8: 1 — 0-е сут; 2 — 5-е; 3 — 12-е; 4 — 14-е; 5 — 30-е; 6 — 60-е сут.

си водорода [16, 28]. Наблюдаемые максимумы АК у исследованных видов водорослей, на наш взгляд, могут быть вызваны наличием среди активизированных кислородных метаболитов, которые являются обязательным атрибутом нормальной аэробной жизни, значительной доли  $H_2O_2$ , специфически инактивируемой данным ферментом [16].

Выявленная в модельных экспериментах большая вариабельность АК у исследованных видов водорослей может свидетельствовать о том, что для них характерно наличие индуктивной способности к активации фермента в зависимости от концентрации в среде перекиси водорода (субстрата). Известно, что каталаза проявляет себя в основном при высокой концентрации  $H_2O_2$  [16].

Следует также принимать во внимание и тот факт, что для нормального функционирования водорослей в среде их культивирования необходимо наличие перекиси водорода, количество которой зависит от таксономического положения вида [26]. Так, например, у синезеленых водорослей *Anabaena oscillarioides* Borg, *Hapalosiphon fontinalis* Born. emend Elenk. в среде культивирования содержание перекиси водорода составляло 100—200 мкг/л, в то время как у зеленых *Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz. (= *Acutodesmus obliquus* (Turp.) Tsar.) и *Chlorella vulgaris* Beyer. — только 50—75 мкг/л. При этом



8. Содержание аммонийного и нитритного азота в среде при культивировании диатомовой водоросли *Mayamaea atomus* на разных этапах роста культуры.

максимальное количество  $H_2O_2$  отмечено в период логарифмической фазы роста культур водорослей. Поэтому обнаруженные у водорослей индивидуальные отличия в уровнях АК могут быть обусловлены наличием в среде культивирования разного количества перекиси водорода.

Необходимо также отметить, что активность исследуемого фермента в определенной степени зависит и от температурного режима выращивания культур водорослей. В частности, повышение температуры может влиять на уровень активности каталазы в биомассе водорослей, с одной стороны, вследствие низкой термостабильности ферментативного белка [6], а с другой — из-за изменения (снижения) в среде содержания кислорода. Исследования показали, что активность фермента у *Nostoc muscorum*, *Anabaena variabilis* при температуре 23—25°C была на уровне 0,97 и 1,80 мкМ  $H_2O_2$ /мг сухой массы·мин, а при температуре больше 37°C ее величина достигла значений соответственно 2,41 и 3,56 мкМ  $H_2O_2$ /мг сухой массы·мин.

Мы не исключаем, что уровень АК у водорослей может находиться и под генетическим контролем, как это было показано для бактерий [16]. Предполагают наличие некоего подобного фактора, регулирующего активность гидрогеназ в клетках зеленых водорослей *Scenedesmus obliquus* и *Chlamydomonas reinhardtii* [38].

*Активность каталазы в бесклеточных фильтратах культур водорослей.* В период проведения экспериментов одновременно с изменением АК в биомассе водорослей нами были зарегистрированы и колебания уровня активности этого фермента в фильтратах культур (см. рис. 1—2, 5—6). Возможно, это связано как с увеличением выделения каталазы [36] из клеток по мере роста культуры, так и с развитием сопутствующей бактериофлоры [2]. Известно, что на логарифмической стадии роста водорослей количество бактерий незначительно, а затем их численность заметно увеличивается [23]. Так, в течение первых двух недель роста культур зарегистрированы низкие значения АК, особенно это характерно для Chlorophyta, тогда как в дальнейшем величина этого показателя в культуральной среде увеличивается (см. рис. 1). При этом уровень активности фермента в фильтратах синезеленых водорослей (см. рис. 5, 6) в этот период роста был выше, чем у зеленых (см. рис. 1). Вероятно, это может быть связано с особенностями метаболизма прокариотов и эукариотов, к которым соответственно относятся Cyanophyta и Chlorophyta.

**3. Диапазон изменения активности каталазы в бесклеточных фильтратах культур водорослей (60 сут)**

Виды водорослей	Активность каталазы, мкМ H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> /мл фильтрата
Chlorophyta	
<i>Acutodesmus dimorphus</i>	0,07—0,40 (0,19 ± 0,02)
<i>Chlorella vulgaris</i>	0,05—0,21 (0,12 ± 0,02)
<i>Coelastrum astroideum</i> *	0,12 ± 0,02
<i>Desmodesmus brasiliensis</i>	0,01—0,13 (0,06 ± 0,01)
<i>D. communis</i>	0,05—0,17 (0,19 ± 0,01)
<i>D. magnus</i> *	0,11 ± 0,01
<i>D. opoliensis</i> *	0,12 ± 0,01
<i>D. subspicatus</i> *	0,13 ± 0,02
<i>Monoraphidium contortum</i> *	0,15 ± 0,01
<i>Pediastrum boryanum</i>	0,06 ± 0,01
<i>Scenedesmus obtusus</i> *	0,13 ± 0,02
<i>Selenastrum gracile</i>	0,06—0,26 (0,13 ± 0,01)
<i>Tetraedron caudatum</i>	0,03—0,14 (0,07 ± 0,01)
Cyanophyta	
<i>Anabaena cylindrica</i>	0,13—1,26 (0,66 ± 0,04)
<i>A. variabilis</i>	0,09—0,21 (0,15 ± 0,04)
<i>Calothrix braunii</i> *	0,03 ± 0,01
<i>Microcystis aeruginosa</i>	0,04—0,20 (0,11 ± 0,04)
<i>Nostoc</i> sp.	0,08—0,40 (0,20 ± 0,01)
<i>N. muscorum</i>	0,27—0,82 (0,50 ± 0,04)
<i>Oscillatoria neglecta</i>	0,11—0,43 (0,27 ± 0,04)
<i>Phormidium autumnale</i> f. <i>uncinata</i>	0,18—0,98 (0,44 ± 0,02)
Bacillariophyta	
<i>Mayamaea atomus</i>	0,03—0,10 (0,05 ± 0,02)

\* Активность каталазы в фильтрате определяли только на 60-е сутки роста культуры.

Определение активности каталазы в бесклеточных фильтратах культур водорослей в период их роста (60 сут) показало, что наибольшим уровнем активности каталазы (по средним показателям) среди исследованных представителей Chlorophyta характеризовались *Acutodesmus dimorphus* (0,19 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мл фильтрата), *Desmodesmus communis* (0,19) и *Monoraphidium contortum* (0,15), а самым низким — *Desmodesmus brasiliensis* (0,06), *Tetra-*

*edron caudatum* (0,07) и *Pediastrum boryanum* (0,06) (табл. 3). Для Cyanophyta максимальная величина исследуемого показателя отмечена для *Anabaena cylindrica* (0,66 мкМ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>/мл фильтрата), *Nostoc muscorum* (0,50), *Anabaena cylindrica* и *Phormidium autumnale* f. *uncinata* (0,44), а минимальная — для *Calothrix braunii* (0,03).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что исследуемые культуры водорослей характеризуются разным уровнем активности фермента в бесклеточном фильтрате. Эти данные, а так же данные по отличию уровней АК в биомассе культур водорослей, на наш взгляд, могут быть ответом на обнаруженную в модельных экспериментах индивидуальную ответную реакцию этих растительных организмов на воздействие таких факторов, как тяжелые металлы (медь), фенолы растительного происхождения (кофейная кислота), гумусовые вещества и УФ-излучение [13—15].

Учитывая тот факт, что исследованные культуры водорослей характеризуются различным уровнем активности каталазы, можно предположить, что детоксикация образующихся свободных радикалов в клетках этих гидробионтов происходит по-разному: если при высокой величине этого показателя защита от окислительного стресса осуществляется в основном за счет каталазы, то при низкой — на фоне действия каталазы увеличивается роль низкомолекулярных оксидантов (витаминов А и Е, каротиноидов), а также других антиоксидантных ферментов (пероксидазы, супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы).

### Заключение

Установлено, что величина активности каталазы в биомассе исследованных представителей альгофлоры в период их роста в условиях культуры подвержена колебаниям, которые отличаются по амплитуде и частоте, и в большинстве случаев является видоспецифичной.

Среди Chlorophyta наибольшим уровнем активности каталазы (по средним показателям) характеризовались *Acutodesmus dimorphus*, *Desmodesmus magnus*, *Selenastrum gracile*, а низким — *Coelastrum astroideum*, *Scenedesmus obtusus* и *Tetraedron caudatum*.

Максимальная величина исследуемого показателя среди Cyanophyta отмечена у гормогониевых водорослей — *Anabaena cylindrica*, *Anabaena* sp., *Nostoc muscorum* и *Nostoc* sp., а минимальная — у основного возбудителя «цветения» воды *Microcystis aeruginosa*, а также у стрептофитовой водоросли *Cosmarium polygonum* var. *acutius*, тогда как у эвгленовой водоросли *Euglena gracilis* она была самой низкой. Диатомовая водоросль *Mayamaea atomus* характеризовалась достаточно высокой активностью фермента.

Установлено, что бесклеточные фильтраты культур исследуемых видов водорослей характеризуются активностью каталазы, величина которой существенно зависит от возраста культуры (на логарифмической фазе она низкая, а на стационарной — высокая).

Отличиями уровня исследуемого фермента как в биомассе, так и в бесклеточных фильтратах у разных видов водорослей, вероятно, можно объяснить их индивидуальную ответную реакцию на воздействие абиотических и биотических факторов.

\*\*

*Визначено активність каталази у 26 видів альгологічно чистих культур мікроводоростей різних систематичних відділів. Активність ферменту у різних видів водоростей у період їхнього росту в умовах культури змінюється в досить широких межах, що свідчить про необхідність урахування цього факту в фізіолого-біохімічних дослідженнях.*

\*\*

*The activity of catalase was determined in 26 unialgal cultures of microalgae of various divisions. In different algae species, the activity of the enzyme varied over a wide range. This fact should be taken into account in performing physiological and biochemical investigations.*

\*\*

1. Алехина Н.Д., Ключикова А.И. Температура среды и адаптивные изменения свойств ферментов ассимиляции азота у растений // Вестн. Моск. ун-та. Сер. Биология. — 1988. — № 3. — С. 3—14.
2. Борисова О.В. Деякі особливості угруповання видів роду *Dunaliella* Teod. із бактеріями в культурі // Укр. ботан. журн. — 1986. — Т. 43, № 4. — С. 60—63.
3. Игнатенко М.Е. Характеристика симбиотических связей микроорганизмов в альгобактериальных сообществах природных водоемов: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Оренбург, 2008. — 20 с.
4. Кения М.В., Лукаш А.И., Гуськов Е.П. Роль низкомолекулярных антиоксидантов при окислительном стрессе // Успехи совр. биологии. — 1993. — Т. 113, вып. 4. — С. 456—470.
5. Курпенко Н.И., Мегведь В.А., Шевченко Т.Ф. Особенности реакции планктонных водорослей на экстрактивные вещества корневища кубышки желтой *Nuphar lutea* (L.) Smith. // Гидробиол. журн. — 2006. — Т. 42, № 2. — С. 66—77.
6. Кретович В.Л. Основы биохимии растений. — М.: Высш. шк., 1971. — 464 с.
7. Кретович В.Л. Усвоение и метаболизм азота у растений. — М.: Наука, 1987. — 486 с.
8. Культивирование коллекционных штаммов водорослей / Под ред. Б. В. Громова. — Л., 1983. — 152 с.
9. Мегведь В.А. Активность нитратредуктазы микроводорослей в условиях культуры // Гидробиол. журн. — 2008. — Т. 44, № 5. — С. 94—108.
10. Мегведь В.А., Горбунова З.Н. Влияние гумусовых веществ на функциональную активность зеленых и синезеленых водорослей // Современные фундаментальные проблемы гидрохимии и мониторинга качества поверхностных вод России. Материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием, Азов, 8—10 июня 2009 г. — Ростов н/Д. — 2009. — Ч. 2. — С. 196—199.

11. *Медведь В.А., Горбунова З.Н.* К вопросу о видоспецифичности ответной реакции микроводорослей на воздействие биологически активных веществ // Биологически активные вещества микроорганизмов: прошлое, настоящее, будущее: Материалы междунар. науч. симп., посвящ. 90-летию и 60-летию творческой деятельности засл. проф. Н. С. Егорова, Москва, 2—4 февр. 2011 г. — М.: Изд-во Моск. ун-та, 2011. — С. 80.
12. *Медведь В.А., Кирпенко Н.И., Горбунова З.Н., Пахомова М.Н.* Влияние алкалоидов *Sуanophyta* на структуру альгосообщества // Наук. зап. Терноп. пед. ун-ту. Сер. Биология. — 2005. — 3 (26). — С. 292—294.
13. *Медведь В.А., Клоченко П.Д., Горбунова З.Н.* Особенности изменения энзиматической активности пресноводных водорослей в условиях повышенной солнечной радиации // Урбоэкосистемы: проблемы и перспективы развития: Материалы IV междунар. науч.-практ. конф., Ишим, 19—20 марта, 2009 г. — Ишим: Тюмен. изд. дом, 2009. — Вып. 4. — С. 143—146.
14. *Медведь В.А., Курейшевич А.В.* Влияние меди на активность каталазы и содержание каротиноидов у представителей *Chlorophyta* и *Sуanophyta* // Тяжелые металлы и радионуклиды в окружающей среде: Материалы VI междунар. науч.-практ. конф., Семипалат. гос. пед. ин-т, 4—7 февр. 2010 г. — Семей, 2010. — Т. II. — С. 402—404.
15. *Медведь В.А., Потрохов А.С., Зиньковский О.Г.* Перекисное окисление липидов у пресноводных водорослей в условиях культуры // Фундаментальные и прикладные проблемы ботаники в начале XXI века: Материалы Всерос. конф., Петрозаводск, 22—27 сент. 2008 г. Ч. 2: Альгология. Микология. Лихенология. Бриология. — Петрозаводск: Карел. науч. центр РАН, 2008. — С. 62—65.
16. *Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К.* Антиоксиданты и ингибиторы радикальных окислительных процессов // Успехи совр. биол. — 1993. — Т. 113, вып. 4. — С. 442—455.
17. *Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидро-биологической практике.* — Киев: Наук. думка, 1975. — 247 с.
18. *Мильчакова Н.А., Шахматова О.А.* Активность каталазы массовых видов черноморских макрофитов как показатель качества среды // Актуальные проблемы современной альгологии: Тез. докл. III Междунар. конф. — Харьков, 2005. — С. 99—100.
19. *Осетров В.И.* О применении цитохимических методов при изучении жизненной активности синезеленых водорослей // «Цветение» воды. — Киев: Наук. думка, 1968. — Ч. 1. — С. 335—343.
20. *Починок Х.Н.* Методы биохимического анализа растений. — Киев: Наук. думка, 1976. — С. 172—174.
21. *Прайер У.* Роль свободнорадикальных реакций в биологических системах // Свободные радикалы в биологии. — М.: Наука, 1979. — С. 6—13.
22. *Разнообразие водорослей Украины / Е. В. Борисова, Л. Н. Бухтиярова, С. П. Вассер и др. // Альгология.* — 2000. — Т. 10, № 4. — 309 с.
23. *Сакевич О.Й., Усенко О.М.* Аделопатія в гідроекосистемах. — К., 2008. — 342 с.
24. *Сиренко Л.А., Рыбак Н.В., Паршикова Т.В., Пахомова М.Н.* Коллекция живых культур микроскопических водорослей (акроним коллекции — НРДР). — Киев: Фитосоцицентр, 2005. — 53 с.



25. Сорвачев К.Ф. Норма и патология на молекулярном уровне // Теоретические проблемы водной токсикологии. Норма и патология. — М.: Наука, 1983. — С. 121—131.
26. Телитченко М.М., Иванов Э.В. Возможная роль перекиси водорода и аммиака в обеспечении Cyanophyta доминирования в фитоценозах // Актуальные проблемы биологии синезеленых водорослей. — М.: Наука, 1974. — С. 79—82.
27. Ткаченко Ф.П., Ситникова Ю.А., Куцин Е.Б. Состояние элементов антиоксидантной системы водорослей из разных по степени загрязнения районов Черного моря // Экология моря. — 2004. — Вып. 65. — С. 70—74.
28. Уайт А., Хендлер Ф., Смит Э. и др. Основы биохимии: в 3 томах. — М.: Мир, 1981. — Т. 1. — 534 с.
29. Унифицированные методы анализа вод СССР / Под ред. Ю. Ю. Лурье. — М.: Химия, 1984. — 376 с.
30. Фригович И. Радикалы кислорода, пероксид водорода и токсичность кислорода // Свободные радикалы в биологии. — М.: Наука, 1979. — С. 272—314.
31. Царенко П.М. Номенклатурно-таксономические изменения в системе «зеленых» водорослей // Альгология. — 2005. — Т. 15, № 4. — С. 459—467.
32. Шахматова О.А., Парчевская Д.С. Активность каталазы и контроль качества воды // Там же. — 2000. — Т. 10, № 3. — С. 355—361.
33. Шахматова О.О. Активність антиоксидантної системи деяких чорноморських гідробіонтів у прибережній акваторії Севастополя: Автореф. дис. ... канд. біол. наук. — Севастополь, 2004. — 21 с.
34. Beakes G., Canter H.M., Jaworski G.H.M. Zoospores ultrastructure of *Zygorhizidium affluens* Canter and *Z. planktonicum* Canter, two chytrids parasitizing the diatom *Asterionella formosa* Hassall. // *Canad. J. Bot.* — 1988. — N 66 (6). — P. 1054—1067.
35. Figueroa F.L. Effects of light quality on nitrate reductase and Glutamine synthetase activities in the red alga *Porphyra leucosticta* Thur. in Lejoll. and other macroalgae // *Sci. Mar.* — 1996. — Vol. 60, Suppl. 1. — P. 163—170.
36. Skujns J.J. Extracellular enzymes in soil // *CRS Crit. Rev. Microbiol.* — 1976. — Vol. 4. — P. 383—414.
37. Tyagi R., Srinivas G. et al. Differential effect of ultraviolet-B radiation on certain metabolic processes in a chromatically adapting *Nostoc* // *J. Photochem and Photobiol.* — 1992. — Vol. 55, N 3. — P. 401—407.
38. Urbig T., Sculz R., Sender H. Inactivation and reactivation of the hydrogenases of the green algae *Scenedesmus obliquus* and *Chlamydomonas reinhardtii* // *J. Naturforsch.* — 1993. — Vol. 48, N 1—2. — S. 41—45.
39. Winstone G.W., Di-Giulio R.T. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms // *Aquat. Toxicol.* — 1991. — Vol. 19, N 2. — P. 137—161.