

УДК 582;581.192

## СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ АНТИОКСИДАНТНЫХ ФЕРМЕНТОВ И ФОТООКИСЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У МАССОВЫХ ВИДОВ МАКРОВОДОРОСЛЕЙ ЯПОНСКОГО МОРЯ

© 2025 г. Е. С. Белошниценко\* (ORCID: 0009-0009-1852-8114),  
И. М. Яковлева (ORCID: 0000-0003-0299-6983)

*Национальный научный центр морской биологии  
им. А.В. Жирмунского (ННЦМБ) ДВО РАН, Владивосток 690041, Россия*

*\*e-mail: belotsitsenko\_es@mail.ru*

Поступила в редакцию 17.07.2024 г.

После доработки 15.08.2024 г.

Принята к публикации 25.09.2024 г.

Изучены изменения активности ключевых антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы, каталазы, глутатионредуктазы и аскорбатпероксидазы, а также изменения уровня перекисного окисления липидов и фотосинтетической активности у 5 массовых видов макроводорослей Японского моря в периоды их зимней и летней вегетации. Установлено, что для большинства исследуемых макрофитов внутригодовые показатели активности антиоксидантных ферментов являются максимальными в холодные месяцы и минимальными в теплое время года. Отмечен стабильно высокий уровень фотосинтеза с декабря по февраль у всех исследованных макроводорослей. Резкое повышение уровня перекисного окисления липидов и подавление фотосинтетической активности зарегистрированы у большинства исследованных видов в июле–августе. Сезонная динамика активности антиоксидантных ферментов и фотоокислительных процессов в тканях макрофитов обсуждается с точки зрения регуляции колебаниями освещенности и температуры воды в местообитании растений.

**Ключевые слова:** морские макроводоросли, антиоксидантные ферменты, перекисное окисление липидов

DOI: 10.31857/S0134347525010038

На мелководных участках шельфа морей умеренных широт водоросли-макрофиты являются основными продуцентами первичного органического вещества и кислорода, а также выполняют важную роль в формировании трофической структуры прибрежных сообществ (Lalegerie et al., 2020). В течение года умеренноводные макроводоросли находятся под влиянием четкой смены сезонов, что требует адаптивных перестроек, направленных на поддержание у растений высокого уровня первичной продукции при долговременных колебаниях факторов внешней среды (светового и температурного режимов) в местах их обитания.

Известно, что сезонные изменения метаболической активности макрофитов влекут за собой

соответствующие флуктуации в продукции активных форм кислорода (АФК) (Bischof, Rautenberger, 2012). Избыток АФК способен провоцировать у растений дисбаланс между процессами поглощения и утилизации световой энергии (Rezayian et al., 2019), что может привести к повреждению фотосинтетического аппарата и интенсификации окислительных процессов в тканях растений (Asada, 2006) и, как следствие, к снижению продуктивности водорослевых сообществ в течение их вегетационного цикла.

Важная роль в защите фотосинтетического аппарата от избыточной продукции АФК принадлежит антиоксидантной системе (АОС), ключевыми компонентами которой являются

антиоксидантные ферменты супероксиддисмутазы (СОД), глутатионредуктаза (ГР), аскорбатпероксидаза (АПО) и каталаза (КАТ) (Rezayian et al., 2019). СОД играет ведущую роль в утилизации супероксид-анион радикала и продуцировании  $H_2O_2$  (Alscher et al., 2002), АПО и ГР участвуют в элиминации  $H_2O_2$  в хлоропластах, а КАТ утилизирует  $H_2O_2$  в пероксисомах (Asada, 2006). Функциональная активность АОС наземных фотоавтотрофов умеренного пояса находится под влиянием сезонных флуктуаций факторов среды, приводящих к адаптивным перестройкам отдельных компонентов АОС в ответ на изменение светового и температурного режимов (Sen, 2020). Показано, что такие регуляторные механизмы способствуют поддержанию в тканях фотоавтотрофов оптимального уровня АФК и минимизируют окислительные процессы, участвуя в обеспечении стрессоустойчивости растений в течение года.

Существует большое количество исследований морских макрофитов умеренных широт, посвященных механизмам антиоксидантной защиты в условиях кратковременного действия абиотических стрессоров (Bischof, Rautenberger, 2012; Ji, Gao, 2020). Данные об эффективности функционирования АОС у этих организмов в течение года немногочисленны и ограничены работами, выполненными на водорослях Северной Атлантики, где изучали сезонную динамику АОС у одного (Sampath-Wiley et al., 2008; Graiff, Karsten, 2021) или двух видов одного таксономического отдела (Lohrmann et al., 2004; Shakhmatova, Ryzhik, 2020). Для представителей макрофитобентоса тихоокеанских вод информация о долгосрочной динамике антиоксидантных и фотоокислительных процессов отсутствует.

В связи с этим цель данной работы — изучить характер сезонных изменений активности ключевых компонентов ферментативной АОС, а также уровня перекисного окисления липидов у массовых видов макроводорослей Японского моря. Дополнительно проведена сезонная оценка фотосинтетической активности водорослей в качестве индикатора их физиологического состояния.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Исследовали пять массовых видов макроводорослей из прибрежной зоны б. Соболев зал. Петра Великого Японского моря (43° 4' А 22" N,

131° 58' А 0" E): *Ulva lactuca* Linnaeus (Chlorophyta), *Costaria costata* (C. Agardh) Saunders и *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar (Ochrophyta, Phaeophyceae), а также *Devaleraea stenogona* (Perestenko) Skriptsova & Kalita [ранее *Palmaria stenogona* Perestenko] и *Tichocarpus crinitus* (Gmelin) Ruprecht (Rhodophyta). Водоросли собирали на открытых участках верхней сублиторали (глубина 1–1.5 м) в периоды зимней и летней вегетации. Сбор водорослей осуществляли в первую половину дня. Для анализов отбирали незатененные зрелые талломы каждого вида, средние по размерам и не имеющие внешних повреждений. Время доставки водорослей от места сбора до лаборатории не превышало 30 мин. Образцы перевозили в темных сосудах с морской водой при постоянной аэрации. Для исследования водорослей использовали только вегетативные части талломов одной возрастной генерации; отбор проб проводили согласно методике, опубликованной ранее (Ли, 1978).

Было выполнено два эксперимента. Первый эксперимент провели в декабре 2005 г. и в феврале, июне—августе 2006 г., второй — в январе—феврале и июне—июле 2010 г. Первый эксперимент включал ежемесячную оценку активности антиоксидантных ферментов СОД, КАТ и ГР, уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ), а также фотосинтетической активности водорослей. В ходе второго эксперимента ежемесячно оценивали активность ферментов СОД, КАТ и АПО, уровень ПОЛ, а также фотосинтетическую активность водорослей. Биологическая проба состояла из одного—трех растений. Для каждого анализа по каждому виду водорослей использовали от четырех до шести биологических проб.

Для определения активности антиоксидантных ферментов и уровня ПОЛ водоросли очищали от эпифитов, взвешивали, фиксировали в жидком азоте и хранили при температуре –80°C в течение 2–3 сут до начала анализа. Для оценки фотосинтетической активности свежесобранные образцы водорослей очищали от эпифитов и помещали в лабораторные термостатируемые аквариумы с морской водой при постоянной аэрации и температуре, соответствующей таковой в месте сбора растений. Водоросли освещали лампами дневного света (Daylight Delux, Osram, Германия), плотность светового потока не превышала 35 мкмоль фотонов/(м<sup>2</sup> с).

Оценку фотосинтетической активности водорослей проводили непосредственно в день сбора материала.

При определении активности ферментов и уровня ПОЛ использовали реактивы фирмы Sigma (США). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Активности антиоксидантных ферментов СОД (ЕС 1.15.1.1), КАТ (ЕС 1.11.1.6), АПО (ЕС 1.11.1.11) и ГР (ЕС 1.6.4.2) определяли спектрофотометрически согласно методике, описанной ранее (Яковлева, Белоциценко, 2017), и рассчитывали на сырую массу водорослей. Об интенсивности ПОЛ судили по уровню в тканях малонового диальдегида (МДА), содержание которого определяли спектрофотометрически (Кравченко и др., 2011) и выражали в нмоль/г сырой массы.

Фотосинтетическую активность водорослей оценивали по уровню кислородной продукции, выделяемой растениями на свету. Скорость выделения кислорода талломами исследуемых растений измеряли с использованием электрода Clark-типа (CellOx 325, WTW, Weilheim, Германия) соединенного с оксиметром (OXI 197S, WTW, Weilheim, Германия). Измерения проводили в заполненной морской водой закрытой камере из плексигласа объемом 22 мл, как описано у Грэнбома с соавторами (Granbom et al., 2001) при постоянной температуре воды, соответствующей температуре в месте сбора водорослей. Для получения кривых зависимости скорости фотосинтеза от интенсивности света ( $P$ - $E$  кривые) кислородный обмен регистрировали в диапазоне фотосинтетически активной радиации (ФАР) от 0 до 560 мкмоль фотонов/(м<sup>2</sup>с). В качестве источника света использовали галогеновую лампу L36W/25. Интенсивность света меняли с помощью нейтральных стеклянных фильтров (Schott, F\RG). На основании полученных  $P$ - $E$  кривых рассчитывали максимальную скорость нетто-фотосинтеза ( $P_{\max}$ ) согласно уравнению, предложенному ранее (Jassby, Platt, 1976), и выражали в мгО<sub>2</sub>/(г сырой массы ч).

В обоих экспериментах температуру и соленость воды, а также интенсивность ФАР, падающей на поверхность воды (ФАР<sub>п</sub>) в месте обитания водорослей регистрировали ежемесячно. Интервал между измерениями составлял 3–5 дней. Температуру воды измеряли ртутным термометром, соленость — солемер-рефрактометром “Атаго”

(Япония), интенсивность ФАР<sub>п</sub> — квантовым фотометром LI-COR 189 (Biospherical Instruments Inc., Сан-Диего, США). Измерения интенсивности ФАР<sub>п</sub> проводили с 8:00 до 20:00 ч, интервал между измерениями составлял 30 мин. Полученные за сутки данные интегрировали и рассчитывали дневную дозу ФАР<sub>п</sub>. В течение каждого месяца вели учет пасмурных и солнечных дней. На основании полученных за каждый месяц данных рассчитывали среднесуточные значения интенсивности и дозы ФАР<sub>п</sub>, полученные в течение каждого месяца, а также суммарную месячную дозу ФАР<sub>п</sub>.

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 7.0 (StatSoft Inc.). Для оценки статистических различий значений физиолого-биохимических параметров в течение исследуемых периодов полученные данные подвергали дисперсионному анализу (one-way ANOVA) с последующим использованием многогрангового Тьюки HSD-теста. Достоверными считали различия при уровне значимости  $p < 0.05$ . Перед статистическими анализами данные проверяли на однородность и нормальность распределения. Для выявления взаимосвязи между биохимическими показателями водорослей (активность антиоксидантных ферментов и содержание МДА) и факторами среды (ФАР<sub>п</sub> и температура воды) в течение исследуемых периодов использовали множественный регрессионный анализ. Статистически значимыми коэффициентами детерминации, т.е. отклоняющимися от нуля гипотезы о несопряженности изменений биохимических показателей и факторов среды, считали  $R^2 > 0.3$  при  $p < 0.05$  (Шилина и др., 2011).

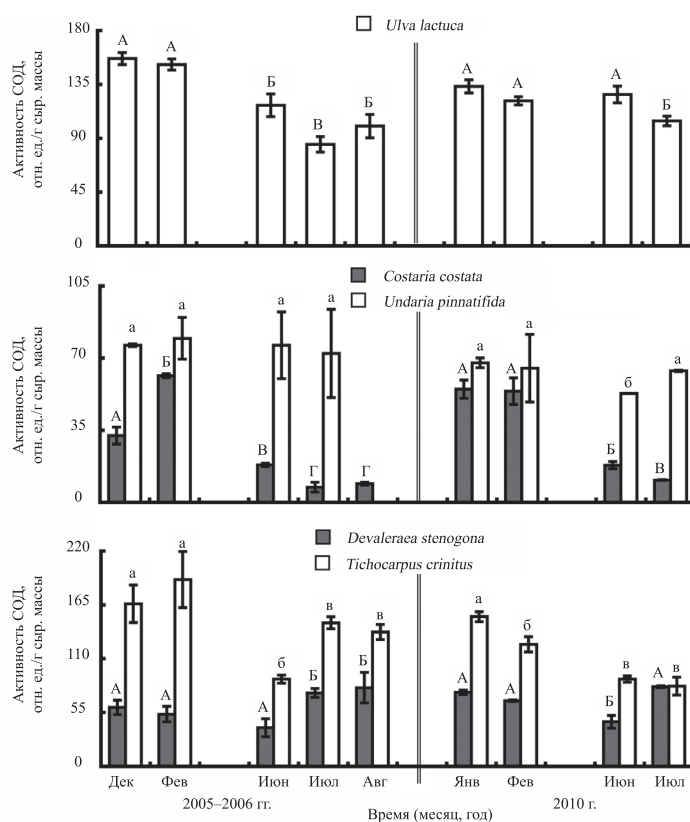
## РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика абиотических факторов среды в месте обитания исследованных водорослей в целом была одинаковой в 2005–2006 гг. и в 2010 г. (табл. 1). Максимальная температура воды в течение исследуемых периодов зарегистрирована в июле–августе, а минимальная — в зимние месяцы. Максимальные среднесуточные интенсивности фотосинтетически активной радиации, падающей на воду (ФАР<sub>п</sub>) отмечены в период с июля по август 2006 г. и в июле 2010 г. Максимальные величины суммарной радиации наблюдали в летний период, что, вероятно, объясняется завершением во второй половине лета периода высокой повторяемости пасмурных

**Таблица 1.** Показатели температуры воды (Т) и фотосинтетически активной радиации, падающей на поверхность воды (ФАР<sub>п</sub>, 400–700 нм) в месте сбора макроводорослей в б. Соболев (зал. Петра Великого, Японское море) в 2005–2006 гг. и 2010 г.

Год	Месяц	Т, °С	Суточный максимум ФАР <sub>п</sub> , мкмоль/(м <sup>2</sup> с)		Суточная доза ФАР <sub>п</sub> , моль/(м <sup>2</sup> /сут)	Суммарная доза ФАР <sub>п</sub> , моль/(м <sup>2</sup> мес)
2005	Декабрь	1.1 (0.3)	672.3 (5.4)	31.8 (2.4)	5.4 (0.4)	103.2
	Февраль	–1.1 (0.0)	1189.3 (15.3)	144.6 (3.3)	12.9 (1.2)	362.5
2006	Июнь	12.1 (0.3)	1624.3 (16.5)	569.3 (7.1)	21.3 (3.4)	638.2
	Июль	19.2 (0.3)	1771.3 (18.4)	337.6 (6.3)	27.8 (4.4)	861.2
	Август	22.7 (0.2)	1985.3 (12.3)	703.3 (6.9)	33.4 (3.6)	1034.9
	Январь	–1.9 (0.1)	703.6 (8.4)	98.1 (2.4)	7.6 (0.8)	236.3
	Февраль	–1.8 (0.1)	1185.4 (12.2)	142.9 (5.7)	9.1 (1.4)	255.7
2010	Июнь	14.5 (0.4)	1743.9 (11.2)	531.8 (8.2)	24.9 (2.9)	749.6
	Июль	19.8 (0.2)	1900.2 (15.4)	401.5 (9.2)	32.1 (4.4)	994.1

Примечание. В скобках представлены значения стандартной ошибки.



**Рис. 1.** Активность супероксиддисмутазы (СОД) у макроводорослей б. Соболев (зал. Петра Великого, Японское море) в периоды зимней и летней вегетации 2005–2006 гг. и 2010 г. Здесь и на рис. 2 и 3 представлены среднеарифметические значения  $\pm$  SD,  $n = 4-5$ ; одинаковые надстрочные буквенные индексы показывают отсутствие статистически значимых внутригодовых различий между значениями исследуемого параметра в разные месяцы, при  $p < 0.05$  (ANOVA, Turkey HSD test); заглавные буквенные индексы использованы для *Ulva lactuca*, *Costaria costata* и *Devaleraea stenogona*, строчные – для *Undaria pinnatifida* и *Tichocarpus crinitus*.

и дождливых дней, характерного для дальневосточного региона с мая по первую декаду июля. Соленость изменялась незначительно и составляла в среднем 32‰.

Активность супероксиддисмутазы (СОД) у всех исследованных водорослей варьировала в зависимости от сезона (рис. 1). У *Ulva lactuca*, *Costaria costata* и *Tichocarpus crinitus* активность



**Таблица 2.** Сезонная динамика содержания малонового диальдегида (МДА) и максимальной скорости нетто-фотосинтеза ( $P_{\max}$ ) у макроводорослей б. Соболя (зал. Петра Великого, Японское море) в 2005–2006 гг. и 2010 г.

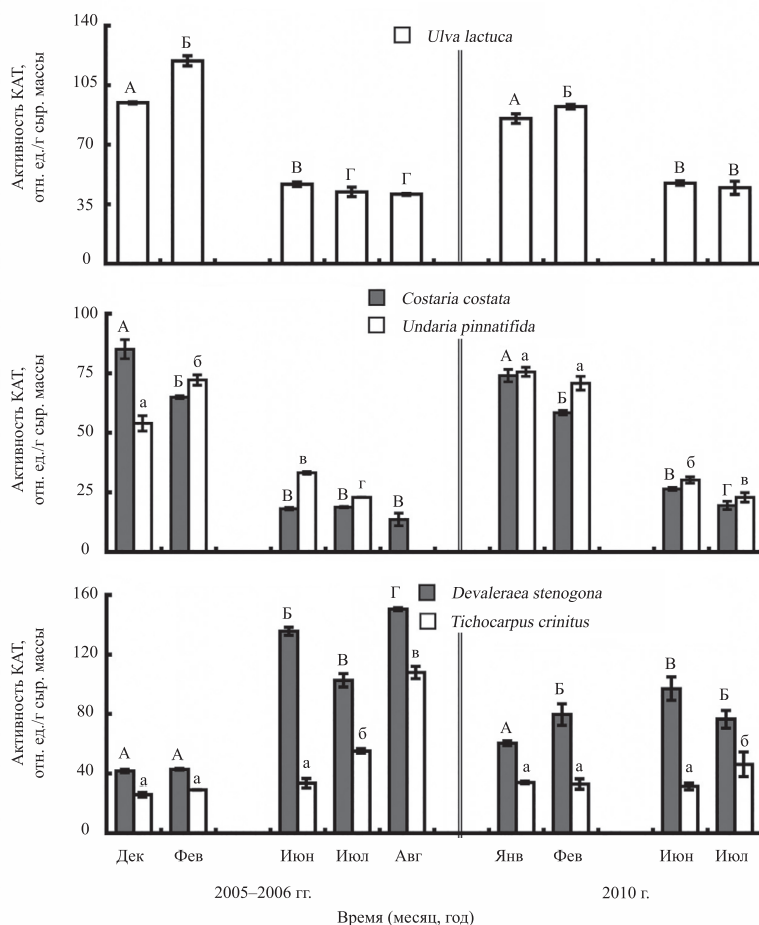
Вид	Параметр	2005–2006 гг.					2010 г.			
		Декабрь	Февраль	Июнь	Июль	Август	Январь	Февраль	Июнь	Июль
<i>Ulva lactuca</i>	МДА	1.58 <sup>a</sup>	1.61 <sup>a</sup>	1.76 <sup>a</sup>	2.03 <sup>a</sup>	2.12 <sup>a</sup>	1.67 <sup>A</sup>	1.61 <sup>A</sup>	1.76 <sup>A</sup>	1.79 <sup>A</sup>
	$P_{\max}$	2.86 <sup>a</sup>	3.07 <sup>a</sup>	3.55 <sup>a</sup>	3.15 <sup>a</sup>	3.49 <sup>a</sup>	2.97 <sup>A</sup>	3.13 <sup>A</sup>	3.42 <sup>A</sup>	3.02 <sup>A</sup>
<i>Costaria costata</i>	МДА	9.35 <sup>a</sup>	9.33 <sup>a</sup>	10.43 <sup>a</sup>	21.83 <sup>b</sup>	30.53 <sup>b</sup>	10.73 <sup>A</sup>	9.32 <sup>A</sup>	10.30 <sup>A</sup>	29.02 <sup>B</sup>
	$P_{\max}$	1.39 <sup>a</sup>	2.64 <sup>b</sup>	1.38 <sup>a</sup>	0.33 <sup>b</sup>	0.32 <sup>b</sup>	2.07 <sup>A</sup>	2.18 <sup>A</sup>	1.76 <sup>B</sup>	0.39 <sup>B</sup>
<i>Undaria pinnatifida</i>	МДА	7.49 <sup>a</sup>	6.53 <sup>a</sup>	7.72 <sup>a</sup>	14.56 <sup>b</sup>	—	7.70 <sup>A</sup>	7.77 <sup>A</sup>	6.25 <sup>A</sup>	15.72 <sup>B</sup>
	$P_{\max}$	1.31 <sup>a</sup>	0.96 <sup>a</sup>	1.81 <sup>b</sup>	1.02 <sup>a</sup>	—	1.16 <sup>A</sup>	1.11 <sup>A</sup>	1.29 <sup>A</sup>	0.72 <sup>B</sup>
<i>Devaleraea stenogona</i>	МДА	6.00 <sup>a</sup>	5.07 <sup>a</sup>	5.92 <sup>a</sup>	15.99 <sup>b</sup>	12.74 <sup>b</sup>	4.96 <sup>A</sup>	4.74 <sup>A</sup>	4.42 <sup>A</sup>	11.99 <sup>B</sup>
	$P_{\max}$	0.83 <sup>a</sup>	0.89 <sup>a</sup>	0.67 <sup>a</sup>	0.41 <sup>b</sup>	0.51 <sup>b</sup>	0.94 <sup>A</sup>	0.94 <sup>A</sup>	0.74 <sup>A</sup>	0.44 <sup>B</sup>
<i>Tichocarpus crinitus</i>	МДА	4.57 <sup>a</sup>	4.98 <sup>a</sup>	3.80 <sup>a</sup>	8.41 <sup>b</sup>	4.66 <sup>a</sup>	5.79 <sup>A</sup>	5.77 <sup>A</sup>	6.60 <sup>A</sup>	10.19 <sup>B</sup>
	$P_{\max}$	0.65 <sup>a</sup>	0.64 <sup>a</sup>	0.52 <sup>a</sup>	0.42 <sup>b</sup>	0.56 <sup>a</sup>	0.72 <sup>A</sup>	0.67 <sup>A</sup>	0.57 <sup>A</sup>	0.38 <sup>B</sup>

Примечание. В таблице представлены среднеарифметические значения ( $n = 4-6$ ). Одинаковые надстрочные буквенные индексы показывают отсутствие статистически достоверных различий между внутригодовыми значениями параметра в разные месяцы, при  $p < 0.05$  (ANOVA, Turkey HSD test). Содержание МДА выражено в нмоль/г сырой массы;  $P_{\max}$  — в мг  $O_2$ /(г сырой массы ч).

СОД достигала максимальных значений в период зимней вегетации (декабрь–февраль) и снижалась до минимальных значений в летние месяцы. Для *U. lactuca* и *C. costata* отмечена статистически значимая ( $p < 0.01$ ) отрицательная корреляция между активностью СОД и температурой воды, влияние которой объясняло соответственно 28% и 95% сезонной изменчивости этого параметра (табл. 3). Напротив, у *Devaleraea stenogona* максимальная активность СОД зарегистрирована в период летней вегетации (июль–август). Температура воды оказывала умеренное положительное влияние на активность СОД у этого вида ( $R^2 = 0.32$ ,  $p < 0.01$ ; см. табл. 3). Статистически значимое повышение активности СОД в июле–августе относительно показателей, зарегистрированных в июне (Turkey HSD test,  $p < 0.05$ ), также отмечено у *T. crinitus* в 2006 г. Для этого вида отмечена статистически значимая ( $p < 0.05$ ) отрицательная связь между активностью СОД и режимом освещенности (см. табл. 3). У *Undaria pinnatifida* статистически значимые различия в активности СОД между периодами зимней и летней вегетации 2006 г. не обнаружены (ANOVA,  $p > 0.05$ ). В 2010 г. отмечено незначительное, но статистически значимое снижение этого показателя в июне (Turkey HSD test,  $p < 0.05$ ).

Активность каталазы (КАТ) у всех исследованных водорослей также существенно варьировала в течение вегетационного цикла (рис. 2). Для *U. lactuca*, *C. costata* и *U. pinnatifida* максимальные показатели КАТ зарегистрированы в период зимней вегетации, а минимальные значения — в летние месяцы. Для *T. crinitus* и *D. stenogona* отмечена противоположная динамика, в период летней вегетации активность КАТ у этих видов была в 2–3 раза выше, чем в зимний период (Turkey HSD test,  $p < 0.05$ ). Совместное влияние ФАР<sub>п</sub> и температуры воды обуславливало 38–82% сезонной изменчивости активности КАТ у всех исследованных водорослей (см. табл. 3). Положительное влияние температуры воды на активность КАТ выявлено для *D. stenogona* и *T. crinitus* (соответственно  $R^2 = 0.62$ ,  $p < 0.01$  и  $R^2 = 0.31$ ,  $p < 0.01$ ). Для остальных видов температура воды оказывала отрицательное влияние и объясняла 30–50% варьирования активности этого фермента (см. табл. 3).

Активность глутатионредуктазы (ГР, рис. 3, 2005–2006 гг.) у всех исследованных видов отличалась максимальными показателями в зимние месяцы, 3–3.5-кратно снижаясь до минимальных значений летом (Turkey HSD test,  $p < 0.05$ ). Внутригодовые минимумы активности ГР для *U. pinnatifida* и *D. stenogona* отмечены в период с июня по август, для *U. lactuca* — в июле, для



**Рис. 2.** Активность каталазы (КАТ) у макроводорослей б. Соболя (зал. Петра Великого, Японское море) в периоды зимней и летней вегетации 2005–2006 гг. и 2010 г.

*C. costata* и *T. crinitus* — в августе. Совместное влияние ФАР<sub>п</sub> и температуры воды обуславливало 65–90% сезонной изменчивости активности ГР у всех исследованных видов, за исключением *D. stenogona*, для которой влияние факторов среды на ГР было статистически незначимо ( $p > 0.05$ ) (см. табл. 3).

Максимальные показатели активности аскорбатпероксидазы (АПО, рис. 3, 2010 г.) у всех исследованных видов, за исключением *T. crinitus*, наблюдали в период зимней вегетации, а минимальные — в летние месяцы. У *T. crinitus*, активность АПО в период летней вегетации в 2 раза превышала таковую в зимний период (Turkey HSD test,  $p < 0.05$ ). Совместное влияние ФАР<sub>п</sub> и температуры воды обуславливало 80–99% сезонной изменчивости активности АПО у всех исследованных водорослей (см. табл. 3). Сильное положительное влияние температуры воды на активность АПО ( $R^2 = 0.92$ ,  $p < 0.01$ ) выявлено для *T. crinitus*. Для остальных видов температура

воды оказывала отрицательное влияние и объясняла 66–98% варьирования активности этого фермента (см. табл. 3).

Переокисление липидов оценивали по содержанию малонового диальдегида (МДА) в тканях водорослей (табл. 2). У *U. lactuca* независимо от сезона уровень МДА статистически значимо не изменялся в течение периода вегетации (ANOVA,  $p > 0.05$ ). Для остальных исследованных водорослей отмечено 2–3-кратное увеличение этого параметра в июле относительно величин, характерных для зимних месяцев и июня (Turkey HSD test,  $p < 0.05$ ). Для *C. costata* и *D. stenogona* высокое содержание МДА зарегистрировано также в августе. Для *T. crinitus* отмечено снижение уровня МДА в августе до показателей зимних месяцев и июня. Множественный регрессионный анализ выявил высокий уровень детерминации для совместного влияния ФАР<sub>п</sub> и температуры воды на содержание МДА

**Таблица 3.** Результаты множественного регрессионного анализа сопряженности биохимических показателей водорослей и факторов среды в местообитании в течение исследуемого периода

Параметр	Свободный член	$R^2$ (ФАР <sub>пл</sub> + Т)	Коэффициент регрессии, $x_1$ (Т)	$R^2$ (Т)	Коэффициент регрессии, $x_2$ (ФАР <sub>пл</sub> )	$R^2$ (ФАР <sub>пл</sub> )
<b>СОД</b>						
<i>Ulva lactuca</i>	139.99±4.68	<b>0.51**</b>	−1.36±0.28	<b>0.28**</b>	−0.11±0.06	<b>0.05*</b>
<i>Costaria costata</i>	37.75±1.70	<b>0.95**</b>	−2.85±0.10	<b>0.95**</b>	0.26±0.02	<b>0.20**</b>
<i>Undaria pinnatifida</i>	67.21±17.35	0.08	−0.85±0.31	0.072	0.24±0.06	0.03
<i>Devaleraea stenogona</i>	89.77±14.16	<b>0.36**</b>	3.35±0.52	<b>0.32**</b>	−0.13±0.19	0.01
<i>Tichocarpus crinitus</i>	144.82±9.32	0.11	0.37±0.56	0.009	−0.27±0.12	<b>0.11*</b>
<b>КАТ</b>						
<i>U. lactuca</i>	97.11±3.35	<b>0.82**</b>	−2.22±0.20	<b>0.53**</b>	−0.11±0.04	<b>0.03**</b>
<i>C. costata</i>	69.85±3.10	<b>0.82**</b>	−2.06±0.19	<b>0.52**</b>	−0.12±0.04	<b>0.04**</b>
<i>U. pinnatifida</i>	62.93±5.15	<b>0.38**</b>	−1.40±0.31	<b>0.30**</b>	−0.01±0.06	0.00
<i>D. stenogona</i>	62.08±7.68	<b>0.66**</b>	3.58±0.43	<b>0.62**</b>	−0.16±0.09	0.03
<i>T. crinitus</i>	19.34±4.48	<b>0.57**</b>	1.22±0.27	<b>0.31**</b>	0.19±0.06	<b>0.12**</b>
<b>ГР</b>						
<i>U. lactuca</i>	0.74±0.08	<b>0.84**</b>	−0.09±0.01	<b>0.65**</b>	0.01±0.00	<b>0.22**</b>
<i>C. costata</i>	0.23±0.01	<b>0.90**</b>	−0.00±0.00	<b>0.06**</b>	0.00±0.00	<b>0.06**</b>
<i>U. pinnatifida</i>	0.51±0.05	<b>0.65**</b>	−0.03±0.01	<b>0.32**</b>	0.00±0.00	0.04
<i>D. stenogona</i>	0.17±0.02	0.28	0.00±0.00	0.08	0.00±0.00	0.00
<i>T. crinitus</i>	0.22±0.01	<b>0.83**</b>	0.00±0.00	<b>0.04*</b>	0.00±0.00	<b>0.04**</b>
<b>АПО</b>						
<i>U. lactuca</i>	9.88±0.49	<b>0.80**</b>	−0.17±0.02	<b>0.66**</b>	−0.01±0.01	<b>0.08**</b>
<i>C. costata</i>	2.19±0.12	<b>0.85**</b>	−0.05±0.01	<b>0.84**</b>	0.00±0.00	0.00
<i>U. pinnatifida</i>	2.51±0.13	<b>0.91**</b>	−0.07±0.01	<b>0.85**</b>	0.00±0.00	0.02
<i>D. stenogona</i>	5.551±0.10	<b>0.99**</b>	−0.21±0.01	<b>0.98**</b>	0.00±0.00	0.00
<i>T. crinitus</i>	2.91±0.16	<b>0.92**</b>	0.09±0.007	<b>0.92**</b>	0.00±0.00	0.01
<b>МДА</b>						
<i>U. lactuca</i>	1.55±0.19	0.06	0.01±0.01	0.02	0.02±0.01	0.02
<i>C. costata</i>	3.89±1.29	<b>0.85**</b>	0.17±0.17	0.01	0.15±0.03	<b>0.15**</b>
<i>U. pinnatifida</i>	6.54±0.78	<b>0.58**</b>	0.31±0.20	<b>0.19**</b>	−0.01±0.02	0.00
<i>D. stenogona</i>	5.23±1.50	<b>0.58**</b>	0.48±0.17	<b>0.19**</b>	−0.01±0.03	0.00
<i>T. crinitus</i>	4.70±0.55	<b>0.19*</b>	0.11±0.07	<b>0.11*</b>	−0.02±0.01	0.02

Примечание. Т — температура воды; ФАР<sub>пл</sub> — суточный интеграл фотосинтетически активной радиации падающей на воду; СОД — супероксиддисмутаза; КАТ — каталаза; АПО — аскорбатпероксидаза; ГР — глутатионредуктаза; МДА — малоновый диальдегид. Статистически значимые коэффициенты детерминации (т.е. отклоняющиеся от нуля гипотезы о несопряженности изменений показателей и факторов среды) при  $p < 0.05$  (\*) и  $p < 0.01$  (\*\*) отмечены жирным шрифтом. Коэффициенты детерминации  $R^2 > 0.3$  отмечены заливкой. Связь считали умеренной и сильной соответственно при  $0.3 < R^2 < 0.6$  и  $R^2 > 0.6$ .

у *C. costata*, *U. pinnatifida* и *D. stenogona*, которое объясняло более 50% сезонной изменчивости этого параметра (см. табл. 3).

Фотосинтетическую активность водорослей оценивали по максимальной скорости

их нетто-фотосинтеза ( $P_{\max}$ ) (см. табл. 2). У *U. lactuca* статистически значимые различия в уровне  $P_{\max}$  между периодами зимней и летней вегетации не обнаружены (ANOVA,  $p > 0.05$ ). У остальных исследованных водорослей в июле

зарегистрировано статистически значимое падение уровня  $P_{\max}$  относительно величин, характерных для зимних месяцев и июня (Turkey HSD test,  $p < 0.05$ ). Уровень ингибирования  $P_{\max}$  варьировал в зависимости от вида и составлял в среднем 80% для *C. costata*, 25–40% — для *U. pinnatifida*, 45–50% — для *D. stenogona* и 30–40% — для *T. crinitus*. Для *C. costata* и *D. stenogona* ингибирование  $P_{\max}$  зарегистрировано также в августе, тогда как для *T. crinitus* в августе отмечено повышение уровня  $P_{\max}$  до показателей зимних месяцев и июня.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Несмотря на некоторую вариабельность сезонной динамики активности антиоксидантной системы (АОС) у макроводорослей б. Соловь Японского моря, общей закономерностью для большинства исследованных видов являлось повышение активности антиоксидантных ферментов (СОД, КАТ, АПО и ГР) в период зимней вегетации (декабрь–февраль) в условиях низкой температуры и умеренной освещенности (см. рис. 1–3). Аналогичная тенденция была отмечена ранее для умеренноводных бурых (Shakhmatova, Ryzhik, 2020; Graiff, Karsten, 2021) и красных (Lohrmann et al., 2004) водорослей Атлантики. По мнению авторов, повышение потенциала ферментативной АОС макроводорослей в холодный период года является частью их зимней акклиматизации, направленной на минимизацию окислительных повреждений при возрастании уровня АФК в тканях водных растений в условиях низкой температуры. Действительно, у большинства исследованных нами макрофитов адаптивная активация антиоксидантных ферментов в период зимней вегетации сопровождалась поддержанием высокой скорости фотосинтеза и стабильного уровня перекисного окисления липидов (ПОЛ) в талломах водорослей (см. табл. 2). Таким образом, адаптивное увеличение активности ключевых антиоксидантных ферментов направлено на предотвращение развития окислительного повреждения тканей, вызванного воздействием низкой температуры. Это, по-видимому, способствует повышению устойчивости водорослей умеренных широт к окислительному стрессу и поддержанию ими стабильного уровня

фотосинтетической продукции в зимнее время года в условиях умеренной освещенности.

Следует отметить, что в условиях низкой температуры существенный вклад в обеспечение устойчивости к окислительному стрессу у макроводорослей умеренных широт может вносить повышение уровня низкомолекулярных антиоксидантов, например, аскорбата (Lohrmann et al., 2004). У макроводорослей существуют и другие механизмы, направленные на снижение вероятности образования чрезмерного количества АФК и элиминацию уже образованных радикалов в условиях длительного воздействия низкой температуры. К таким механизмам относят изменения уровня экспрессии генов и состава жирных кислот, контролирующих проницаемость клеточных мембран (Zhu et al., 2022; Ma et al., 2024); накопление крио- и фотопротекторов (Galindo et al., 2016; Gambichler et al., 2021), а также активацию синтеза вторичных метаболитов с антиоксидантной функцией (Cruces et al., 2018).

Долговременная акклиматизация морских макроводорослей к повышенной температуре воды нередко вызывает снижение их устойчивости к воздействию дополнительных стрессоров различной природы (Ji, Gao, 2021). Длительное нахождение большинства исследованных нами видов в условиях повышения температуры воды (до 15–20°C) сопровождалось снижением активности их антиоксидантных ферментов, главным образом, КАТ и АПО, ответственных за элиминацию перекиси водорода ( $H_2O_2$ ) (см. табл. 1, рис. 1–3). Эти изменения напрямую не отражаются на уровне окислительных процессов и продукционных показателях макрофитов до тех пор, пока растения находятся в условиях умеренной освещенности, о чем свидетельствовали стабильные уровни ПОЛ и фотосинтетической активности водорослей, зарегистрированные в июне (см. табл. 2). Однако повышение инсоляции на фоне дальнейшего увеличения температуры воды в конце июля — августе у большинства исследованных видов вело к существенному ингибированию фотосинтеза (см. табл. 2). Аналогичное снижение функциональной активности фотосинтетического аппарата было отмечено ранее для некоторых зеленых (Bischof et al., 2002), красных (Sampath-Wiley et al., 2008; Liu et al., 2017)



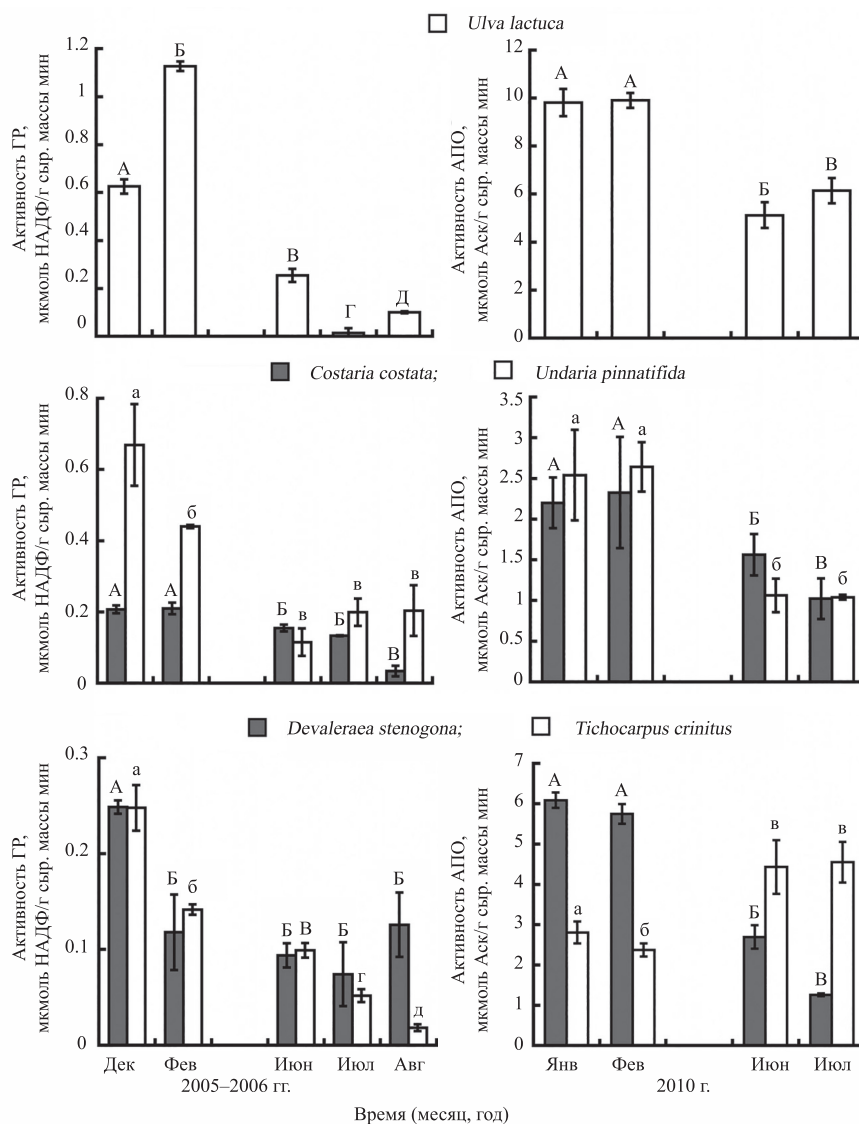


Рис. 3. Активность глутатионредуктазы (ГР, 2005–2006 гг.) и аскорбатпероксидазы (АПО, 2010 г.) у макроводорослей б. Сობоль (зал. Петра Великого, Японское море) в периоды зимней и летней вегетации.

и бурых (Migné et al., 2021) водорослей умеренных широт под воздействием высокой инсоляции в летний период. Мы полагаем, что этот феномен связан с интенсификацией процессов ПОЛ в результате инактивации антиоксидантных ферментов (см. табл. 2; рис. 1–3). Проведенный нами анализ влияния освещенности и температуры воды на СОД, КАТ, АПО и ГР свидетельствует, что сезонная динамика активности АОС у водорослей Японского моря обусловлена, главным образом, действием температуры. Тем не менее, не исключено и прямое ингибирующее действие высокой интенсивности света на ферментативные компоненты АОС в этих условиях. Снижение функциональной

активности фотосинтетического аппарата ранее регистрировали в экспериментах, выполненных на литоральной умеренноводной багрянке *Porphyra umbilicalis* (см. Sampath-Wiley et al., 2008), а также на субтропической зеленой водоросли *Ulva rigida* (см. Cruces et al., 2019). Следует отметить, что снижение активности антиоксидантных ферментов в тканях *Costaria costata* и *Undaria pinnatifida* (см. рис. 2–3) в период высоких инсоляции и температуры воды (см. табл. 1) может быть связано с угасанием метаболической активности водорослей вследствие окончания периода вегетации и увеличением чувствительности к фотоокислительным повреждениям на данном этапе развития.

Данный процесс может сопровождаться повышенной экспрессией генов, ответственных за программируемую клеточную смерть, как было показано в условиях контролируемого комбинированного высокотемпературного и светового стресса у арктической бурой водоросли *Saccharina latissima* (см. Heinrich et al., 2015).

Обращает на себя внимание отличающаяся от большинства видов сезонная динамика активности СОД и КАТ у *Devaleraea stenogona* и АПО и КАТ у *Tichocarpus crinitus*. Принимая во внимание сильное положительное влияние температуры на активность этих ферментов (см. табл. 3), мы предполагаем, что их активация в летний период может быть обусловлена термопатией багрянок. Не исключено, что отмеченные нами различия в сезонной динамике отдельных компонентов АОС у *D. stenogona* и *T. crinitus* свидетельствуют о вариабельности экспрессии генов, кодирующих эти ферменты, как было показано для зеленой водоросли *Ulva prolifera* в условиях низко- и высокотемпературного стресса (Yang et al., 2019). Кроме того, увеличение активности КАТ у красных водорослей в течение летней вегетации может косвенно указывать на значительное повышение в клетках водорослей локальной концентрации  $H_2O_2$  и на интенсификацию окислительных процессов в пероксисомах растений.

На основании проведенных исследований можно заключить, что для большинства изученных макрофитов Японского моря повышение активности антиоксидантных ферментов в период зимней вегетации является адаптивной реакцией на низкую температуру воды. Существенное снижение активности ключевых  $H_2O_2$ -детоксицирующих ферментов при длительном нахождении морских макрофитов умеренных широт в условиях высокой температуры в летний период может повысить чувствительность водорослей к фотоокислительному стрессу и тем самым понизить их устойчивость к воздействию высокой освещенности. Полученные данные представляют значительный интерес для прогнозирования видовой разнообразия морских фитоценозов умеренных широт (в частности Японского моря) и вероятностных изменений границ ареалов макроводорослей под влиянием циклических изменений климата (повышение солнечной активности

и средней температуры поверхностных вод). Регулярно наблюдаемая в последние годы тенденция к повышению температуры воды ([www.climate.nasa.gov](http://www.climate.nasa.gov); [www.whoi.edu/oceans/feature](http://www.whoi.edu/oceans/feature)) может способствовать сдвигу южных границ ареалов представителей бореальной флоры, обитающих на пределе своей температурной толерантности.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Данная работа финансировалась за счет средств бюджета Национального научного центра морской биологии им. А.В. Жирмунского ДВО РАН. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

В данной работе отсутствуют исследования человека и животных.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Кравченко А.О., Белоциценко Е.С., Яковлева И.М. и др. Сезонные изменения содержания фотосинтетических пигментов у красной водоросли *Ahnfeltiopsis flabelliformis* Японского моря // Изв. ТИНРО. 2011. Т. 166. С. 123–133.
- Ли Б.Д. Разделение, идентификация и количественное определение фотосинтетических пигментов макробентосных водорослей // Экологические аспекты фотосинтеза морских макроводорослей. Владивосток: ДВНЦ АН СССР, 1978. С. 38–54.
- Шилина М.В., Мусатова О.В., Ивановский В.В. Биометрия: учебно-методический комплекс. Витебск: Изд-во Витеб. гос. ун-та им. П.М. Машерова, 2011. 182 с.
- Яковлева И.М., Белоциценко Е.С. Антиоксидантный потенциал макроводорослей Японского моря // Биол. моря. 2017. Т. 43. № 5. С. 372–382.
- Alscher R.G., Erturk N., Heath L.S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants // J. Exp. Bot. 2002. V. 53. P. 1331–1341. <https://doi.org/10.1093/jexbot/53.372.1331>

- Asada K.* Production and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts and their functions // *Plant Physiol.* 2006. V. 141. P. 391–396.  
<https://doi.org/10.1104/pp.106.082040>
- Bischof K., Kräbs G., Wiencke C., Hanelt D.* Solar ultra-violet radiation affects the activity of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase and the composition of photosynthetic and xanthophyll cycle pigments in the intertidal green alga *Ulva lactuca* L. // *Planta.* 2002. V. 215. P. 502–509.  
<https://doi.org/10.1007/s00425-002-0774-9>
- Bischof K., Rautenberger R.* Seaweed responses to environmental stress: reactive oxygen and antioxidative strategies // *Seaweed biology. Ecol. Stud.* 2012. V. 219. P. 109–132.
- Cruces E., Flores-Molina M.R., Díaz M.J. et al.* Phenolics as photoprotective mechanism against combined action of UV radiation and temperature in the red alga *Gracilaria chilensis*? // *J. Appl. Phycol.* 2018. V. 30. P. 1247–1257.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-017-1304-2>
- Cruces E., Rautenberger R., Cubillos V.M. et al.* Interaction of photoprotective and acclimation mechanisms in *Ulva rigida* (Chlorophyta) in response to diurnal changes in solar radiation in Southern Chile // *J. Phycol.* 2019. V. 55. P. 1011–1027.  
<https://doi.org/10.1111/jpy.12894>
- Galindo V., Levasseur M., Mundy C.J. et al.* Contrasted sensitivity of DMSP production to high light exposure in two Arctic under-ice blooms // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2016. V. 475. P. 38–48.  
<https://doi.org/10.1016/j.jembe.2015.11.009>
- Gambichler V., Zuccarello G.C., Karsten U.* Seasonal changes in stress metabolites of native and introduced red algae in New Zealand // *J. Appl. Phycol.* 2021. V. 33. P. 1157–1170.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-020-02365-0>
- Graiff A., Karsten U.* Antioxidative properties of Baltic Sea keystone macroalgae (*Fucus vesiculosus*, Phaeophyceae) under ocean warming and acidification in a seasonally varying environment // *Biology (Basel).* 2021. V. 10. P. 13–30.  
<https://doi.org/10.3390/biology10121330>
- Granbom M., Pedersén M., Kadel P., Lüning K.* Circadian rhythm of photosynthetic oxygen evolution in *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta): dependence on light quantity and quality // *J. Phycol.* 2001. V. 37. P. 1020–1025.
- Heinrich S., Valentin K., Frickenhaus S., Wiencke C.* Temperature and light interactively modulate gene expression in *Saccharina latissima* (Phaeophyceae) // *J. Phycol.* 2015. V. 51. № 1. P. 93–108.  
<https://doi.org/10.1111/jpy.12255>
- Jassby A.D., Platt T.* Mathematical formulation of the relationship between photosynthesis and light for phytoplankton // *Limnol. Oceanogr.* 1976. V. 21. P. 540–547.
- Ji Y., Gao K.* Effects of climate change factors on marine macroalgae: a review // *Adv. Mar. Biol.* 2021. V. 88. P. 91–136.  
<https://doi.org/10.1016/bs.amb.2020.11.0>
- Lalegerie F., Gager L., Stiger-Pouvreau V., Connan S.* The stressful life of red and brown seaweeds on the temperate intertidal zone: effect of abiotic and biotic parameters on the physiology of macroalgae and content variability of particular metabolites // *Adv. Bot. Res.* 2020. V. 95. P. 247–287.  
<https://doi.org/10.1016/bs.abr.2019.11.007>
- Liu C., Zou D., Yang Y. et al.* Temperature responses of pigment contents, chlorophyll fluorescence characteristics, and antioxidant defenses in *Gracilariopsis lemaneiformis* (Gracilariales, Rhodophyta) under different CO<sub>2</sub> levels // *J. Appl. Phycol.* 2017. V. 29. P. 983–991.  
<https://doi.org/10.1007/s10811-016-0971-8>
- Lohrmann N.L., Logan B.A., Jonson A.S.* Seasonal acclimatization of antioxidants and photosynthesis in *Chondrus crispus* and *Mastocarpus stellatus*, two co-occurring red algae with differing stress tolerances // *Biol. Bull.* 2004. V. 207. P. 225–232.
- Ma L.-H., Tian L., Wang Y.-Q. et al.* Physiological and transcriptome analysis of acclimatory response to cold stress in marine red alga *Pyropia yezoensis* // *Algae.* 2024. V. 39. № 1. P. 17–30.  
<https://doi.org/10.4490/algae.2024.39.3.7>
- Migné A., Duong G., Menu D. et al.* Dynamics of *Fucus serratus* thallus photosynthesis and community primary production during emersion across seasons: canopy dampening and biochemical acclimation // *Peer Community J.* 2021. V. 1. Art. ID e32.  
<https://doi.org/10.24072/pcjournal.42>
- Rezayian M., Niknam V., Ebrahimzadeh H.* Oxidative damage and antioxidative system in algae // *Toxicol. Rep.* 2019. V. 6. P. 1309–1313.  
<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.10.001>
- Sampath-Wiley P., Neefus C., Jahnke L.S.* Seasonal effects of sun exposure and emersion on intertidal seaweed physiology: fluctuations in antioxidant contents, photosynthetic pigments and photosynthetic efficiency in the red algae *Porphyrumbilicalis* Kützinger (Rhodophyta, Bangiales) // *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 2008. V. 361. P. 83–91.
- Sen S.* Antioxidative defense in plants in response to seasonal environmental stress // *Asian J. Sci. Technol.* 2020. V. 11. № 3. P. 10849–10862.

- Shakhmatova O., Ryzhik I.* Seasonal dynamics of catalase activity in *Cystoseira crinita* (Black Sea) and *Fucus vesiculosus* (Barents Sea) // *Ecol. Chem. Eng. Soc.* 2020. V. 27. P. 643–650.
- Yang J.J., Yu D.C., Ma Y.F. et al.* Antioxidative defense response of *Ulva prolifera* under high or low-temperature stimulus // *Algal Res.* 2019. V. 44. Art. ID 101703.  
<https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101703>
- Zhu S., Gu D., Lu C. et al.* Cold stress tolerance of the intertidal red alga *Neoporphyra haitanensis* // *BMC Plant Biol.* 2022. V. 22. Art. ID 114.  
<https://doi.org/10.1186/s12870-022-03507-x>

## Seasonal Dynamics of Antioxidant Enzyme Activity and Photooxidative Processes in the Dominant Macroalgal Species of the Sea of Japan

E. S. Belotsitsenko, I. M. Yakovleva

*A.V. Zhirmunsky National Scientific Center of Marine Biology,  
Far Eastern Branch, Russian Academy of Sciences, Vladivostok 690041, Russia*

Variations in the activity of the key antioxidant enzymes (superoxide dismutase, catalase, glutathione reductase, ascorbate peroxidase), as well as in the levels of lipid peroxidation (LP) and photosynthetic activity, were studied in five common species of macroalgae during their winter and summer vegetative season in the Sea of Japan. For most of the studied macroalgae, the highest intra-annual activities of antioxidant enzymes are observed during the colder months, while the lowest activities are observed during the warmer months. All the studied macroalgae display consistently high levels of photosynthesis during the period from December to February. A dramatic increase in the LP level and a suppression of photosynthetic activity are recorded during July and August for most of the studied macroalgae. The seasonal patterns of antioxidant enzyme activity and photooxidative processes in macroalgal tissues are discussed in terms of their regulation by fluctuations in illumination and seawater temperature in the habitats of the plants.

**Keywords:** marine macroalgae, antioxidant enzymes, lipid peroxidation