

**ВЛИЯНИЕ ИОНОВ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ НА СТРУКТУРУ
БАКТЕРИОБЕНТОСА ИЗ РАЗЛИЧНЫХ МЕСТООБИТАНИЙ
В РЕКЕ АМУР**

Л.М. Кондратьева, Н.Н. Шунькова, Д.В. Андреева

*Институт водных и экологических проблем ДВО РАН, ул. Ким-Ю-Чена, 65,
Хабаровск, 680000, Россия. E-mail: kondrlm@rambler.ru*

Представлены результаты экспериментальных исследований влияния ионов тяжелых металлов (ртуть, кадмий, свинец) на численность отдельных физиологических групп бактериобентоса, участвующих в цикле азота. Рассмотрены адаптационные возможности сульфатредуцирующих и денитрифицирующих бактерий при загрязнении донных отложений тяжелыми металлами в зоне влияния крупных притоков р. Амур (Зея, Бурея и Сунгари).

**EFFECT OF HEAVY METAL IONS ON THE STRUCTURE
OF BACTERIOBENTHOS FROM DIFFERENT HABITATS
IN THE AMUR RIVER**

L.M. Kondratyeva, N.N. Shunkova, D.V. Andreeva

*Institute of Water and Ecology Problems FEB RAS, 65 Kim Yu Chen Str., Khabarovsk,
680000, Russia. kondrlm@rambler.ru*

The results of experimental studies of the effect of heavy metals (cadmium, mercury, lead) on the number of individual physiological bacteriobenthos groups involved in the processes of ammonification and nitrification are presented. Adaptive capacities of sulfatereducing and denitrifying bacteria in eutrophication Amur River in the zone of influence of major tributaries (Zeya, Bureya and Sungari Rivers) for sediment contamination by heavy metals are considered.

Особое значение для оценки состояния речных экосистем приобретают теоретические основы функционирования водных экосистем (Алимов, 2001) и концепция речных рефугиумов, учитывающая разнообразные природные процессы (Богатов, 1994). Среди множества факторов, которые влияют на качество воды в р. Амур особое место занимают крупные притоки (Зея, Бурея и Сунгари). На двух правобережных притоках созданы разновозрастные водохранилища: Зейское (1975 г.) и Бурейское (2003 г.). В последние годы получены многочисленные сведения о хроническом трансграничном загрязнении р. Амур. Со стоком р. Сунгари поступают различные поллютанты (пестициды, полициклические ароматические углеводороды, ионы тяжелых металлов), которые, в зависимости от водности,

мигрируют в составе взвешенных веществ на длительные расстояния, оседают на дне, аккумулируются гидробионтами и передаются по трофическим цепям (Факторы..., 2008).

При научном обосновании приоритетных факторов экологического риска для организации мониторинга водных объектов в Приамурье были выделены критические объекты: р. Бурея и Бурейское водохранилище, устьевая зона р. Сунгари, устье р. Амур и Амурский лиман (Кондратьева, 2007). В качестве приоритетных факторов риска были представлены стойкие органические вещества природного и антропогенного происхождения и токсичные элементы (As, Hg, Pb, Cd). Особое внимание было уделено содержанию ртути в донных отложениях (ДО) этих водных объектов.

Известно, что в результате биогеохимических процессов, включая микробиологическую деструкцию растительных остатков и гуминовых веществ почв, ртуть переходит в более токсичную метилированную форму (метилртуть). Это резко увеличивает ее миграционную способность, поступление в толщу воды и накопление гидробионтами. Феномен повышенного содержания ртути в донных отложениях и рыбе в недавно созданных водохранилищах является их универсальным свойством (Сухенко, 1995). В настоящее время уделяется много внимания вопросам формирования качества воды в результате разнообразных биогеохимических процессов, происходящих в контактных зонах (вода–атмосфера, вода–взвесь, вода–лед, вода–дно). Особый вклад в эти процессы вносят различные экологотрофические группы микроорганизмов, которые принимают участие не только в самоочищении, но и во вторичном загрязнении природных вод (Кондратьева, 2005). На дне водных экосистем функционируют специализированные бентосные микробные комплексы. При евтрофировании водных экосистем и дефиците кислорода в донных отложениях активизируются сульфатредуцирующие (СРБ) и денитрифицирующие бактерии (ДНБ).

Регламентация загрязнения пресноводных экосистем тяжелыми металлами (ТМ) основана на определении их содержания в воде, хотя значительная часть ТМ мигрирует в составе взвешенных веществ и оседает на дно. Участвуя в разнообразных процессах, ТМ изменяют свою биологическую доступность и, соответственно, токсичность (Даувальтер, 1998; Леонова, Андрулайтис, 2000; Ганеева и др., 2003). Для оценки уровня загрязнения ионами ТМ часто используются методы биоиндикации. Среди индикаторов большой популярностью пользуются пресноводные моллюски, которые отражают процессы накопления ТМ в донных отложениях, кормовом планктоне и бентосе (Лукашев, 2006; Клишко, 2007, 2008). Значительно реже исследуется воздействие ТМ на деструкцию ОВ автохтонного и аллохтонного происхождения, которые аккумулируются на дне.

Цель настоящих исследований состояла в определении влияния ртути, кадмия и свинца на численность различных физиологических групп бактериобентоса, которые участвуют в разложении органических веществ в донных отложениях р. Амур.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования структуры бактериобентоса и его устойчивости к токсичным элементам летом 2009 г. во время экспедиции сотрудников ИВЭП ДВО РАН по Среднему Амуру были отобраны пробы из поверхностных слоев ДО (0–5 см) в зоне влияния крупных притоков Зeya, Бурея, Сунгари. Численность бактериобентоса определяли методом посева инокулята (0,1 мл) на селективные агаризованные среды и выражали в колонии образующих единицах (КОЕ) на 1 г сырого веса ДО. Для приготовления инокулята к 100 мл стерильной дистиллированной воды добавляли 1 г ДО, встряхивали автоматически на шейкере в течение 60 мин. Численность сапрофитных гетеротрофных бактерий (СГБ) определяли на рыбо-пептонном агаре, разбавленном в 10 раз; аммонифицирующих бактерий (АМБ) – на рыбо-пептонном агаре; нитрифицирующих бактерий (НБ) – на среде Виноградского. Сульфатредуцирующих бактерий (СРБ) выделяли методом глубинного посева на агаризованную среду Морриса следующего состава (г/л): рыбный питательный агар – 35; пептон – 1; NaCl – 0,5; CH_3COOPb – 1; агар-агар – 20 (Методы..., 1984). Культивирование денитрифицирующих микроорганизмов проводили на комплексной среде Гильтая (Горленко и др., 1977), активность процесса денитрификации определяли по положительной реакции с реактивом Грисса.

Для определения устойчивости бактериобентоса к ионам тяжелых металлов, использовали следующие их концентрации: Pb^{2+} 0,01 и 0,02 мг/л; Cd^{2+} 0,5 и 3,0 г/л; Hg^+ 0,0005 и 0,001 мг/л. Выбор концентраций ТМ был обусловлен спецификой загрязнения воды и донных отложений р. Амур и ландшафтными особенностями территории водосбора (Кот, 1999; Кот и др., 2001; Кондратьева и др., 2006).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Индикационная роль ДО состоит в их геохимической консервативности, которая отражает способность накапливать стойкие ОВ и токсичные элементы (Опекунов, 2005). Поступая в донные отложения, ТМ переходят в поровые воды, взаимодействуют с карбонатами, глинистыми минералами, органическим материалом, гидроксидами железа и марганца, сульфидами, силикатами и аккумулируются гидробионтами (Толкачев, 2003). Вынос элементов из ДО в воду происходит главным образом при изменении окислительно-восстановительных условий и активизации микробиологической деструкции органических веществ.

В настоящее время экотоксикологические показатели для оценки уровня загрязнения придонных слоев воды и донных отложений р. Амур тяжелыми металлами разработаны на примере исследования их биоаккумуляции моллюсками рода *Nodularia* (Клишко, 2007). Было показано, что действие накапливаемых токсичных веществ на организменном уровне приводит к нарушению метаболической активности и появлению отклонений в развитии, которые приводят к ярко выраженным патологиям. Сравнительный анализ показателей экотоксикологического состояния (ПЭС) у популяций *Nodularia* из различных местообитаний позволил выявить существенные различия их ответных реакций на характер загрязнения р. Амур выше и ниже устья р. Сунгари. Вне зоны влияния р. Сунгари ПЭС соответствовал благополучному состоянию моллюсков (меньше 0,5), а на участке ниже устья р. Сунгари ПЭС изменялся до уровней, характеризующих неблагополучное

и опасное состояние (от 0,6 до 2). При этом высокие значения ПЭС коррелировали с наибольшими отклонениями от средних значений параметров раковины и в проявлении морфолого-анатомических патологий. Высказано предположение, что морфологические отклонения закладываются на ранних стадиях развития моллюсков, обитающих в неблагоприятных условиях (Клишко, 2008).

В аналогичных условиях вполне закономерно прогнозировать изменения в структуре всего бентосного сообщества, включая представителей отрядов Plecoptera, Ephemeroptera, Trichoptera и Diptera.

Особое место среди организмов, обитающих в контактной зоне вода–дно, занимают бентосные микробные комплексы, которые принимают участие в трансформации, деструкции органических веществ и миграции ТМ. От их активности зависит формирование качества воды в придонных слоях, изменение растворимости и биодоступности отдельных токсичных элементов.

Проведенные нами исследования показали, что основные группы микроорганизмов, участвующих в цикле азота (СГБ, АМБ, НБ) оказались в различной степени устойчивыми к загрязнению местообитаний ТМ. Максимальную устойчивость к ртути при концентрации 0,0005 мг/л проявляли аммонифицирующие и нитрифицирующие бактерии из ДО, отобранных ниже устья р. Сунгари. Несмотря на низкую численность денитрифицирующие бактерии, местообитания которых расположены в зоне влияния р. Буряя, также оказались устойчивыми к ртутному загрязнению. Однако при увеличении концентрации ртути в 2 раза ответные реакции бактериобентоса на разных участках р. Амур существенно отличались (рис. 1).

Обнаруженная устойчивость отдельных групп бактериобентоса к ртути может быть связана с их непосредственным участием в образовании метилртути. Степень ее токсичности в водных экосистемах зависит от многочисленных факторов: концентрации и продолжительности действия токсиканта, температуры и рН воды, количества растворенного кислорода и наличия комплексообразователей (Даувальтер, 1998; Кузубова и др., 2000; Леонова, Андрулайтис, 2000; Смоляков и др., 2000).

По отношению к загрязнению ДО ионами свинца (0,01 мг/л; 0,02 мг/л) наиболее чувствительными оказались бентосные сапрофитные гетеротрофные бактерии (рис. 2). Однако группа аммонификаторов, обитающих в зоне влияния р. Буряя, оказалась более устойчивой к загрязнению ионами свинца, по сравнению с представителями бактериобентоса из ДО, отобранных ниже устья р. Сунгари.

Принимая во внимание, что в минеральную среду Мориса для культивирования сульфатредуцирующих бактерий входит ацетат свинца в концентрации 1 г/л, необходимо было установить концентрационные пределы лимитирования этого субстрата. Установлено, что снижение концентрации ацетата свинца в 2 раза (до 0,5 г/л) приводит к резкому снижению численности СРБ, а увеличение в 3 раза (до 3 г/л) даже способствовало росту численности сульфатредукторов, обитающих ниже устья р. Зей. Экспериментальные исследования показали, что ионы свинца не выступают в качестве ингибиторов роста СРБ, а являются важным компонентом их развития. Высокая численность сульфатредуцирующих бактерий была обнаружена в донных отложениях, отобранных в зоне влияния стока р. Сунгари, второе место по численности занимала эта группа бактериобентоса ниже устья р. Буряя.

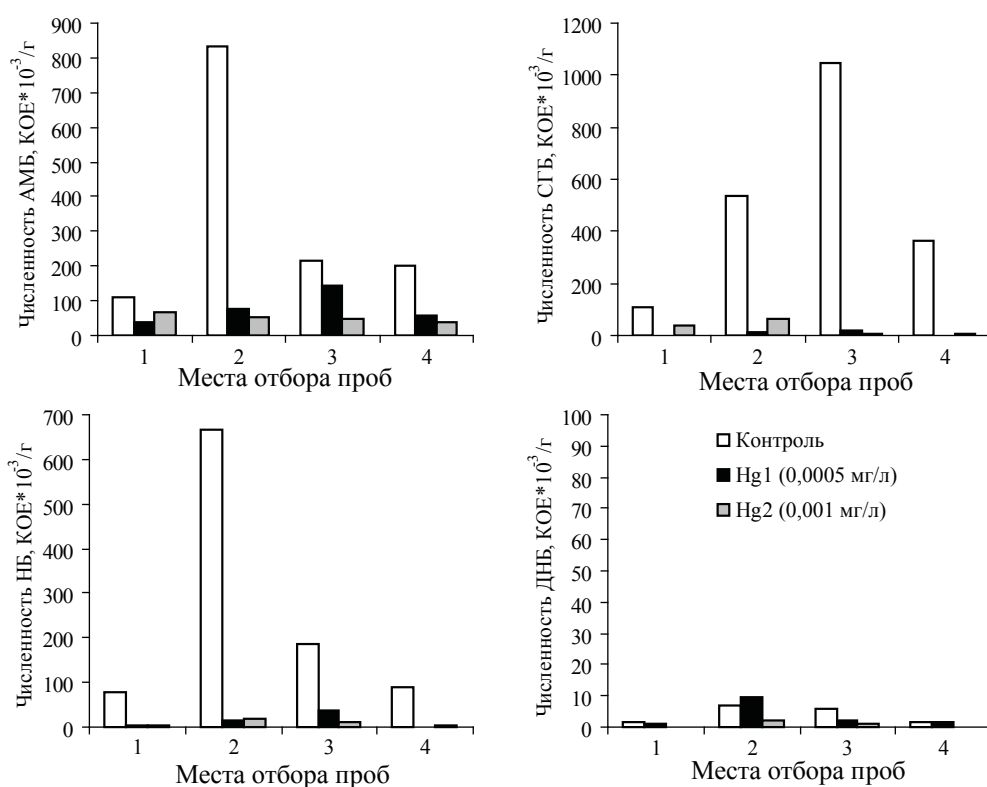


Рис. 1. Влияние ртути на численность бентосных аммонифицирующих (АМБ), нитрифицирующих (НБ), денитрифицирующих (ДНБ) и сапрофитных гетеротрофных бактерий (СГБ) из различных местообитаний р. Амур.

1 – ниже устья р. Зeya; 2 – ниже устья р. Бурea; 3 – ниже устья р. Сунгaри; 4 – ниже г. Фуяoнь.

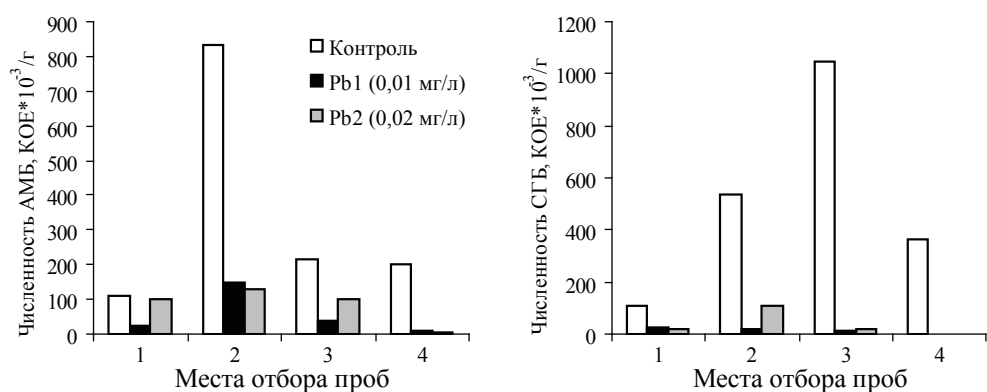


Рис. 2. Влияние ацетата свинца на численность бентосных аммонифицирующих (АМБ) и сапрофитных гетеротрофных бактерий (СГБ) из различных местообитаний р. Амур.

1 – ниже устья р. Зeya; 2 – ниже устья р. Бурea; 3 – ниже устья р. Сунгaри; 4 – ниже г. Фуяoнь.

Таблица

Влияние ионов кадмия и ртути на численность сульфатредуцирующих бактерий из различных местообитаний р. Амур (КОЕ*10⁻²/ г сырого веса)

Место отбора проб донных отложений	Контроль	Cd 1 0,001 мг/л	Cd 2 0,002 мг/л	Hg 1 0,0005 мг/л	Hg 2 0,001 мг/л
Ниже устья р. Зея	54±4	25±3	9±2	20±3	5±1
Ниже устья р. Буряя	78±2	30±3	7±5	47±8	7±3
Ниже устья р. Сунгари	123±3	32±3	12±3	81±2	4±2
Ниже г. Фуюань	70±3	19±2	12±1	27±2	4±2

Известно, что в некоторых случаях адаптация гидробионтов к наличию в среде солей свинца способствует более интенсивному углеводному обмену при активизации таких ферментов как альдолазы и глюкозидазы. Однако токсичность свинца может усиливаться в сочетании с нитрат-ионами и в присутствии цинка (Немова, Высоцкая, 2004).

Несмотря на различное количество СРБ из разных местообитаний, они оказались чувствительными к воздействию ионов кадмия в диапазоне концентраций 0,001–0,002 мг/л (таблица). Численность СРБ в зоне влияния р. Сунгари сокращалась при выбранных концентрациях в 4 и 10 раз соответственно. Менее чувствительными к концентрации Cd 1 оказались СРБ ниже устьев рек Буряя и Зея. При этой концентрации их численность сокращалась в 2 раза, но увеличение содержания кадмия до Cd 2 снижало численность бактерий, восстанавливающих сульфаты в 10 раз. Используемые в эксперименте концентрации кадмия были значительно ниже тех, которые вызывают экологический стресс у рыб (0,01 мг/л) и кадмиевую интоксикацию у некоторых моллюсков (0,05 мг/л). Это еще раз подчеркивает высокую чувствительность сульфатредуцирующих бактерий к загрязнению кадмием. Повышенной адаптационной способностью к загрязнению ионами ртути в концентрации 0,0005 мг/л отличались СРБ из ДО, отобранных ниже стока рек Буряя и Сунгари. Их численность в экспериментальных условиях сокращалась в 1,7 и 1,5 раза соответственно. Но в долевом соотношении увеличение концентрации ртути в 2 раза приводило к более существенному сокращению численности СРБ ниже устья р. Сунгари. Сульфатредукторы, обитающие в зоне влияния р. Буряя оказались более устойчивыми к выбранному диапазону концентраций ртути.

Известно, что ртуть способна связываться продуктами, которые образуются на геохимических барьерах: восстановительно-сероводородном, при сорбционном соосаждении с гидрооксидами железа и золями гидроокислов алюминия (Елпатьевский, Кот, 2005). Поэтому в зонах с высокой интенсивностью сульфатредукции существуют предпосылки для аккумуляции ртути в ДО. Ранее поведение ртути в р. Амур связывали в основном с присутствием гуминовых веществ (Кот и др., 2001), не принимая во внимание микробиологические процессы, происходящие в донных отложениях, включая сульфатредукцию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные экспериментальные данные показали, что структура бактериобентоса в значительной степени зависит от уровня евтрофирования водной эко-

системы и загрязнения донных отложений тяжелыми металлами на конкретном участке реки. Адаптационные возможности отдельных физиологических групп микроорганизмов можно использовать для биоиндикации загрязнения ДО тяжелыми металлами, а также для прогнозирования образования токсичных промежуточных продуктов метаболизма при нарушении последовательности в процессах аммонификации, нитрификации, денитрификации и сульфатредукции. Так, кадмий в концентрации 0,002 мг/л снижал численность всех исследованных физиологических групп бактериобентоса независимо от местообитания, что может стать причиной снижения активности процессов самоочищения. Ртуть, свинец и кадмий в выбранном диапазоне концентраций оказались токсичными для денирифицирующих бактерий из донных отложений, отобранных ниже устья р. Зея и г. Фуюань. Ниже стока рек Бурея и Сунгари денитрификаторы проявляли устойчивость к ртути в концентрации 0,0005 мг/л, что может быть связано с их адаптацией к хроническому загрязнению донных отложений этим токсикантом.

Благодаря особенностям метаболизма сульфатредуцирующих бактерий и их потребности в ацетате свинца, они оказались устойчивыми к этому элементу. Интенсивность процессов сульфатредукции в зоне влияния рек Бурея и Сунгари может зависеть от загрязнения местообитаний ртутью и кадмием. Можно прогнозировать увеличение суммарного экологического риска для гидробионтов при евтрофировании, поступлении сульфатов и ТМ, так как аддитивные эффекты от воздействия ионов тяжелых металлов и сероводорода на жизнедеятельность различных групп зообентоса и рыб практически не изучены.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Программы 14 фундаментальных исследований Отделения наук о Земле РАН «Состояние окружающей среды и прогноз ее динамики под влиянием быстрых глобальных и региональных природных и социально-экономических изменений», проект № 09-1-ОНЗ-04.

ЛИТЕРАТУРА

- Алимов А.Ф. 2001. Элементы теории функционирования водных экосистем. Спб.: Наука. 147 с.
- Богатов В.В. 1994. Экология речных сообществ российского Дальнего Востока. Владивосток: Дальнаука. 210 с.
- Ганеева М.В., Гребенюк Л.П., Томилина И.И., Ершов Ю.В. 2003. Определение качества донных отложений на основе применения статистических методов анализа данных (на примере р. Сестры) // Водные ресурсы. Т. 30, № 5. С. 576–580.
- Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. 1977. Экология водных микроорганизмов. М.: Наука. 289 с.
- Даувальтер В.А. 1998. Концентрации металлов в донных отложениях закисленных озер // Водные ресурсы. Т. 25, № 3. С. 358–365.
- Елпатьевский П.В., Кот Ф.С. 2005. Ртуть в водах и гипергенных новообразованиях отходов обогащения // Биогеохимические и геоэкологические процессы в экосистемах. Вып. 15. Владивосток: Дальнаука. С. 118–120.
- Клишко О.К. 2007. Интенсивность накопления химических элементов донными беспозвоночными в аспекте оценки состояния окружающей среды // Биоиндикация в

- мониторинге пресноводных экосистем: материалы междунар. конф. СПб.: ЛЕМА. С. 273–278.
- Клишко О.К. 2008.** Морфологическая изменчивость и экотоксикологическое состояние перловиц (*Bivalvia, Unionidae*) Среднего Амура // Пресноводные экосистемы бассейна реки Амур. Владивосток: Дальнаука. С. 123–133.
- Кондратьева Л.М. 2005.** Экологический риск загрязнения водных экосистем. Владивосток: Дальнаука. 299 с.
- Кондратьева Л.М., Канцыбер В.С., Зазулина В.Е., Боковенко Л.С. 2006.** Влияние крупных притоков на содержание тяжелых металлов в воде и донных отложениях р. Амур // Тихоокеанская геология. Т. 25, № 6. С. 103–114.
- Кондратьева Л.М. 2007.** Факторы и критерии экологического риска в мониторинге водных объектов бассейна р. Амур // Второй Дальневост. междунар. экономический форум (19 сентября 2007 г.). Т. 9. Экология бассейна реки Амур – безопасность жизнедеятельности стран Азиатско-Тихоокеанского региона. Хабаровск: Изд-во ТОГУ. С. 87–96.
- Кот Ф.С. 1999.** Рассеянные металлы в донных отложениях р. Амур и зоны смещения в Охотском море. Оценка антропогенной составляющей // Геохимические и биогеохимические процессы в экосистемах Дальнего Востока. Вып. 9. Владивосток: Дальнаука. С. 80–91.
- Кот Ф.С., Матюшкина Л.А., Рапопорт В.Л., Дугина И.О. 2001.** К формам ртути в природных и городских почвах Среднего Амура // Биогеохимические и гидроэкологические особенности экосистем бассейна реки Амур. Вып. 11. Владивосток: Дальнаука. С. 119–130.
- Кузубова Л.И., Шуваева О.В., Аношин Г.Н. 2000.** Метилртуть в окружающей среде (распространение, образование в природе, методы определения). Аналитический обзор. Новосибирск: Изд-во ГПНТБ СО РАН. 82 с.
- Леонова Г.А., Андрулайтис Л.Д. 2000.** Ртуть и ее биогеохимическая роль в оценке экологического состояния водохранилищ Ангарского каскада // Фундаментальные проблемы воды и водных ресурсов на рубеже третьего тысячелетия: материалы междунар. науч. конф. Томск: Изд-во НТЛ. С. 135–138.
- Лукашев Д.В. 2006.** Мониторинг загрязнения тяжелыми металлами экосистемы Днепра в пределах г. Киева с помощью пресноводных моллюсков // Гидробиол. журн. Т. 42, № 1. С. 86–98.
- Методы общей бактериологии. 1984** / Под ред. Ф. Герхардта и др. М.: Мир. 64 с.
- Немова Н.Н., Высоцкая Р.У. 2004.** Биохимическая индикация состояния рыб. М.: Наука. 215 с.
- Опекунов А.Ю. 2005.** Аккумулятивный техноседиментогенез. Тр. ВНИИ Океанологии Министерства природных ресурсов РФ. Т. 208. СПб: Наука. 278 с.
- Смоляков Б.С., Белеванцев В.И., Жигула М.В., Рыжих А.П. 2000.** Влияние распределения металлов-загрязнителей (Cu, Pb, Cd) по формам на их поведение в реальном водоеме // Фундаментальные проблемы воды и водных ресурсов на рубеже третьего тысячелетия: Материалы междунар. науч. конф. Томск: Изд-во НТЛ. С. 257–261.
- Сухенко С.А. 1995.** Ртуть в водохранилищах: новый аспект антропогенного загрязнения биосферы. Аналитический обзор. Сер. Экология. Новосибирск: СО РАН. 59 с.
- Толкачев Г.Ю. 2003.** Тяжелые металлы в системе вода–донные отложения // Экологические проблемы бассейнов крупных рек-3: Тезисы докл. междунар. и молодеж. конф. Тольятти, 15–19 сентября 2003 г. Тольятти: Изд-во ИЭВБ. С. 285.
- Факторы формирования качества воды на Нижнем Амуре. 2008** / Под ред. Л.М. Кондратьевой. Владивосток: Дальнаука. 217 с.