

**МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРОЦЕССОВ
СУЛЬФАТРЕДУКЦИИ В ЗЕЙСКОМ ВОДОХРАНИЛИЩЕ**

Д.В. Андреева, Л.М. Кондратьева, О.Ю. Стукова

*Институт водных и экологических проблем ДВО РАН, ул. Ким-Ю-Чена, 65,
Хабаровск, 680000, Россия.*

E-mail: freckles2008@yandex.ru, kondrlm@rambler.ru, olgastukova1@rambler.ru

Представлены результаты экспериментальных исследований влияния ионов тяжелых металлов (кадмий, свинец, ртуть) на активность сульфатредуцирующих бактерий. Рассмотрены адаптационные возможности сульфатредуцирующих бактерий при загрязнении воды тяжелыми металлами на различных участках Зейского водохранилища.

**MICROBIOLOGICAL STUDIES OF THE PROCESS OF SULPHATE REDUCTION
IN THE ZEYA RESERVOIR**

D.V. Andreeva, L.M. Kondrateva, O.Yu. Stukova

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

E-mail: freckles2008@yandex.ru, kondrlm@rambler.ru, olgastukova1@rambler.ru

The results of experimental studies of the effect of heavy metals (cadmium, lead, mercury) on the activity of sulphate-reducing bacteria. Considered adaptive capacity of sulphate-reducing bacteria in water pollution by heavy metals in different parts of the Zeya reservoir.

The effect of heavy metals (cadmium, lead, mercury) on the activity of sulphate-reducing bacteria was studied. Adaptation capability of sulphate-reducing bacteria at water pollution by heavy metals in different parts of the Zeya reservoir was examined.

В формировании качества воды Среднего и Нижнего Амура участвуют три главных притока: реки Зeya, Бурея и Сунгари. В бассейнах рек Зeya и Бурея в 1975 и 2003 гг. были построены водохранилища, что повлекло значительные изменения в гидрологическом режиме и химическом составе воды, как в самих притоках, так и в основном русле р. Амур. Важную роль в самоочищении природных вод вновь создаваемых и уже функционирующих водохранилищ играют микробиологические процессы, связанные с деструкцией различных органических субстратов, поступающих с поверхностным и речным стоком; из почв затопленных территорий, сельскохозяйственных угодий; растительных остатков, оставшихся после вырубki лесов. Потенциальный экологический риск вторичного загрязнения воды в водохранилище связан с поступлением растворенных органических веществ и взвешенных частиц, представленных в форме растительных остатков, почвенных частиц и болотного гумуса, либо в виде сложных альго-мико-бактериальных глобул, образующихся при избытке биогенных элементов. (Кондратьева, Чухлебова, 2005).

Самоочищающий потенциал независимо от возраста водохранилища поддерживается при участии микробных комплексов. При евтрофировании водных экосистем и дефиците кислорода в придонных слоях воды и донных отложениях активизируются сульфатредуцирующие (СРБ) и денитрифицирующие бактерии (ДНБ). Сульфатредукция – это

биогеохимический процесс, который осуществляет специализированная группа микроорганизмов – сульфатредуцирующие бактерии. Эти бактерии используют для дыхания кислород из сульфатов и выделяют в среду сероводород, который является регулятором окислительно-восстановительных условий и концентраций кислорода в водной среде и осадках (Barton, Hamilton, 2007). Сульфат используется сульфатредукторами как акцептор водорода, донором электронов служат органические соединения – лактат, ацетат, пропионат, бутират, формиат, этанол, высшие жирные кислоты, а также молекулярный водород (Muzyer, Stams, 2008). Дальнейшая судьба образующегося при восстановлении сульфатов сероводорода может быть различной. Часть его диффундирует в водную толщу и окисляется на границе аэробной и анаэробной зон. Однако значительная часть сероводорода остается в осадках, вовлекается в диагенетические процессы с образованием моносulfида железа, пирита, органических соединений серы (Косолапов, Намсараев, 1997).

Цель настоящих исследований состояла в определении численности, активности микробоценозов на разных источниках углерода в поверхностных и придонных слоях воды Зейского водохранилища и устойчивости сульфатредуцирующих бактерий к ионам тяжелых металлов (Cd^{2+} , Pb^{2+} , Hg^{+}).

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В июле 2004 г. была проведена подробная микробиологическая съемка качества воды в Зейском водохранилище, спустя 30 лет после его заполнения. В 2013 г. были продолжены исследования в Зейском водохранилище. Результаты сравнения изменения качества воды по микробиологическим показателям в 2004 и 2013 гг. представлены в таблице 1.

Численность бактериопланктона определяли методом посева исходной пробы воды (0,1 мл) на селективные агаризованные среды и выражали в колонии образующих единицах в 1 мл (КОЕ/мл). Общую численность сапрофитных гетеротрофных бактерий (СГБ) определяли на рыбо-пептонном агаре, разбавленном в 10 раз; аммонифицирующих бактерий (АМБ) – на рыбо-пептонном агаре. 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 Гильята (Горленко и др., 1977).

Для определения устойчивости сульфатредуцирующих бактерий к ионам тяжелых металлов, использовали следующие их концентрации: Pb^{2+} – 0,01 и 0,02 мг/л; Cd^{2+} – 0,001 и 0,002 мг/л; Hg^{+} – 0,0005 и 0,001 мг/л. Выбор концентраций тяжелых металлов был обусловлен спецификой загрязнения воды и донных отложений р. Амур и ландшафтными особенностями территории водосбора (Кот и др., 2001; Кондратьева и др., 2013).

Таблица 1

Численность различных физиологических групп микроорганизмов в Зейском водохранилище в поверхностных (П) и придонных (Д) водах в июле 2004 и 2013 гг.

Место отбора	Июль 2004 г.			Июль 2013 г.			
	СГБ	АМБ	ФРБ	СГБ	ФРБ	СРБ	ДНБ
1 км выше плотины, П	3000	2200	10	1210±39	220±16	178,0±8,6	188,0±9,5
1 км выше плотины, Д	1500	200	10	2365±52	80±12	201,3±7,0	171,3±4,0
Центральная часть, П	20000	2400	480	1575±33	15±3	<10	<10
Центральная часть, Д	7000	2700	490	305±13	<10	11,7±2,1	20±1,7
Нижний бьеф (п. Бомнак), П	7000	300	55	–	–	–	–
Нижний бьеф (п. Бомнак), Д	35000	4800	28	–	–	–	–

Примечание: «–» не определяли.

Активность роста сульфатредуцирующих бактерий на лактате и ацетате оценивали фотометрически по изменению оптической плотности (ОП) культуральной жидкости при 490 нм на КФК-3-01. Определение суммарного содержания органических веществ проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-3600.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования качества воды в Зейском водохранилище в июле 2004 г. показали, что численность бактериопланктона в поверхностных и придонных водах значительно изменялась в зависимости от места отбора проб (табл. 1). В поверхностных водах максимальная численность бактериопланктона была обнаружена в зоне влияния рек Инарогда и Уркан. Самая низкая численность бактерий была определена в воде на первом створе Зейского водохранилища (1 км выше плотины) (Кондратьева, Чухлебова, 2005).

На нижнем бьефе (пос. Бомнак) при отборе придонных проб воды, было отмечено изменение их органолептических свойств, вода имела желтый цвет и неприятный сероводородный запах при интенсивном заилинии дна. Согласно гидрохимическим исследованиям (Лопатко и др., 2005) повышенное содержание органических веществ в Зейском водохранилище наблюдалось в придонных слоях воды, а максимальное содержание фенолов неоднократно отмечалось именно на нижнем бьефе водохранилища.

В результате микробиологических исследований 2013 г. на 2 створах Зейского водохранилища в поверхностных и придонных водах впервые определена численность сульфатредуцирующих и денитрифицирующих бактерий, участвующих в анаэробных процессах трансформации растительных остатков. Сопоставимая высокая численность сульфатредукторов и денитрификаторов зарегистрирована в поверхностных и придонных водах, выше плотины (табл. 1), где происходит основная седиментация взвешенных веществ.

Выявлены различия между численностью и активностью СРБ на различных участках Зейского водохранилища. Так, несмотря на максимальную численность сульфатредукторов в придонных водах выше плотины, их высокая активность на лактате была отмечена в придонной воде в центральной части водохранилища (рис. 1). Это может быть связано с продолжающимися биохимическими процессами трансформации органических веществ в центральной части водохранилища.

Сопоставимую активность на лактате проявляли СРБ из поверхностной и придонной воды выше плотины и из поверхностной воды центральной части водохранилища.

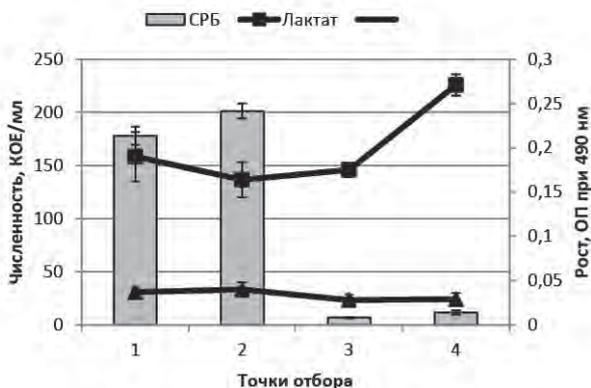


Рис. 1. Численность и рост сульфатредуцирующих бактерий на разных источниках углерода из различных местобитаний Зейского водохранилища: 1, 2 – 1 км выше плотины, поверхностная и придонная вода; 3, 4 – центральная часть, поверхностная и придонная вода.

Активность сульфатредукторов на ацетате во всех исследуемых местообитаниях Зейского водохранилища была низкой. Как известно (Pikuta et al, 2003), в пресноводных экосистемах преобладают СРБ, потребляющие лактат, менее широко распространены бактерии, метаболизирующие ацетат.

В 2004 г. максимальная численность индикаторов фенольного загрязнения была установлена в центральной части водохранилища в поверхностных и придонных слоях воды. Минимальная численность фенолрезистентных бактерий (ФРБ) установлена в каньонной части

водохранилища (1 км выше плотины). Однако, в 2013 г. высокая численность ФРБ зарегистрирована выше плотины в поверхностной воде (табл. 1). В период отбора проб воды в Зейском водохранилище наблюдалось повышение уровня воды. Это могло повлиять на поступление с территории водосбора предшественников фенольных соединений.

Для оценки содержания органических веществ в воде был использован спектрофотометрический метод, который позволяет определить суммарное содержание растворенных органических веществ при 254 нм и содержание ароматических соединений при 275 нм (Thomas, Burgess, 2007).

Так, выше плотины в поверхностной и придонной воде, где происходит основная седиментация взвешенных веществ, зарегистрированы максимальные показатели абсорбции при 254 и 275 нм (рис. 2).

В 2013 г. проведены исследования по определению влияния ионов кадмия, свинца и ртути на активность сульфатредуцирующих бактерий. В результате экспериментальных исследований выявлена повышенная устойчивость сульфатредукторов из придонной воды, отобранной выше плотины, к загрязнению ионами кадмия. Так при культивировании на лактате СРБ из этого местообитания были устойчивы к концентрации кадмия (0,001 мг/л) равной предельно допустимой концентрации для водных объектов рыбохозяйственного назначения (ПДКр/х) (рис. 3).

Однако увеличение концентрации кадмия в 2 раза (0,002 мг/л) приводило к ингибированию роста сульфатредукторов во всех исследуемых пробах.

Более устойчивыми к ионам свинца (0,01 мг/л; 0,02 мг/л) оказались СРБ из поверхностной воды, отобранной в центральной части Зейского водохранилища. Однако сульфатредуцирующие бактерии из поверхностных и придонных вод перед плотиной, а также из придонной воды в центральной части водохранилища, оказались наиболее чувствительными по отношению к ионам свинца в концентрации 0,02 мг/л. Активность сульфатредукторов на этих локальных участках при концентрации иона свинца 0,01 и 0,02 мг/л была ниже, чем в контроле (рис. 4).

Проведенные микробиологические исследования показали, что СРБ из разных местообитаний оказались в различной степени устойчивыми к ртутному загрязнению. Так наиболее устойчивыми к концентрации ртути 0,0005 мг/л оказались сульфатредукторы, обитающие в поверхностной воде выше плотины, а в центральной части Зейского водохранилища в поверхностных и придонных слоях воды (рис. 5). Однако наибольшей устойчивостью к загрязнению ионами ртути отличались СРБ из придонных слоев воды перед плотиной. Здесь активность сульфатредукторов при концентрации Hg 0,0005 мг/л была

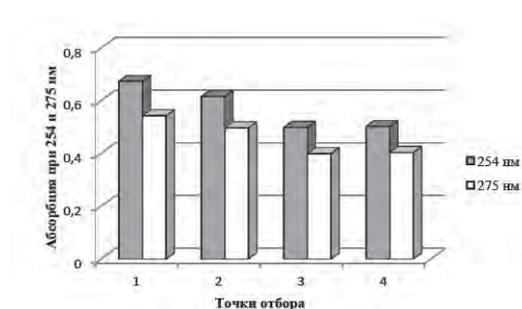


Рис. 2. Содержание органических веществ при 254 и 275 нм на разных участках Зейского водохранилища:

1, 2 – 1 км выше плотины, поверхностная и придонная вода; 3,4 – центральная часть, поверхностная и придонная вода

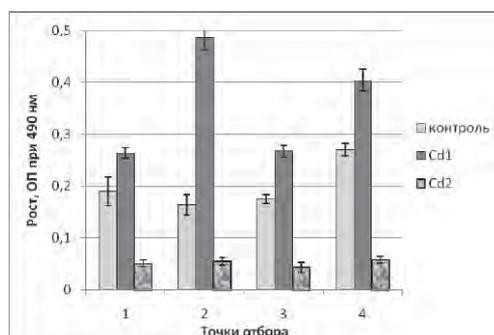


Рис. 3. Влияние ионов кадмия (Cd1 – 0,001, Cd2 – 0,002 мг/л) на рост на лактате сульфатредуцирующих бактерий из различных местообитаний Зейского водохранилища: 1, 2 – 1 км выше плотины, поверхностная и придонная вода; 3,4 – центральная часть, поверхностная и придонная вода.

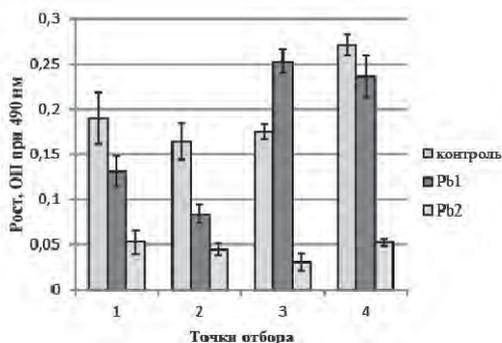


Рис. 4. Влияние ионов свинца (Pb1 – 0,01, Pb2 – 0,02 мг/л) на рост сульфатредуцирующих бактерий на лактате из различных местообитаний Зейского водохранилища: 1, 2 – 1 км выше плотины, поверхностная и придонная вода; 3,4 – центральная часть, поверхностная и придонная вода.

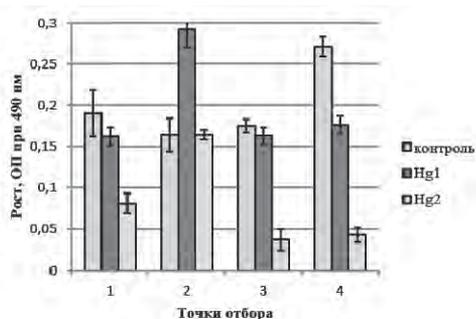


Рис. 5. Влияние ионов ртути (Hg1 – 0,0005, Hg2 – 0,001 мг/л) на рост сульфатредуцирующих бактерий на лактате из различных местообитаний Зейского водохранилища: 1, 2 – 1 км выше плотины, поверхностная и придонная вода; 3,4 – центральная часть, поверхностная и придонная вода.

в 1,8 раз выше, чем в контроле, а при концентрации Hg 0,001 мг/л активность была сопоставимой с контролем. Обнаруженная устойчивость сульфатредукторов к ртути в этом местообитании может быть связана с их непосредственным участием в образовании метилртути (Arribere et al., 2010).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования в Зейском водохранилище в 2004 г. показали, что численность бактериопланктона и его отдельных физиологических групп на приплотинном участке была низкой, как в поверхностных, так и в придонных слоях воды. Согласно микробиологическим показателям было показано, что разнообразные мобильные органические вещества поступают со стоком р. Инарогда. Высокий уровень евтрофирования был установлен на нижнем бьефе в придонных слоях воды. Трудноминерализуемые органические вещества фенольного ряда преобладали в центральной части водохранилища в поверхностных и придонных слоях воды. Их можно отнести к продуктам трансформации лигнинсодержащих растительных субстратов. Микробиологические и спектрофотометрические исследования 2013 г. показали, что биогеохимические процессы трансформации органических веществ по-прежнему происходят на приплотинном участке в поверхностных и придонных слоях воды.

Благодаря особенностям метаболизма сульфатредуцирующих бактерий, они оказались устойчивыми к концентрации кадмия, свинца и ртути равной предельно допустимой концентрации для водных объектов рыбохозяйственного назначения. Интенсивность процессов сульфатредукции в Зейском водохранилище может зависеть от загрязнения местообитаний этими тяжелыми металлами. Суммарные эффекты от воздействия ионов тяжелых металлов и сероводорода на жизнедеятельность различных групп зообентоса и рыб мало изучены. Можно прогнозировать увеличение суммарного экологического риска для гидробионтов при дальнейшем евтрофировании водохранилища, поступлении сульфатов и тяжелых металлов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают свою глубокую признательность и благодарность начальнику экспедиции В.П. Шестеркину за предоставленную возможность проведения микробиологических исследований в Зейском водохранилище в 2013 году.

ЛИТЕРАТУРА

- Горленко В.М., Дубинина Г.А., Кузнецов С.И. 1977.** Экология водных микроорганизмов. М.: Наука. 289 с.
- Кондратьева Л.М., Чухлебова Л.М. 2005.** Роль микробных комплексов в формировании качества воды в Бурейском и Зейском водохранилищах // Чтения памяти проф. В.Я.Леванидова. Вып. 3. Владивосток: Дальнаука, С. 166–173.
- Кондратьева Л.М., Андреева Д.В., Голубева Е.М. 2013.** Влияние крупных притоков на биогеохимические процессы в реке Амур // География и природные ресурсы. №2. С. 36–43.
- Косолапов Д.Б., Намсараев Б.Б. 1997.** Сульфатредукция в донных отложениях Рыбинского водохранилища // Биология внутренних вод. №2. С. 13–22.
- Кот Ф.С., Матюшкина Л.А., Рапорт 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.
- Лопатко А.С., Карандашов А.И., Юдина И.М., Пискунов Ю.Г. 2005.** Состав воды Зейского водохранилища спустя 30 лет с начала его заполнения // Научные основы мониторинга водохранилищ: материалы всерос. науч.-практ. конф., Хабаровск, 28 февр.–3 марта 2005 г. Хабаровск: ИВЭП ДВО РАН. С. 69–71. (Дружининские чтения; вып. 2).
- Методы общей бактериологии. 1984.** / Под ред. Ф. Герхардта и др. М.: Мир. 536 с.
- Arribere M., Dieguez M., Guevara S., Queimalinos C., Fajon V., Reissig M., Horvat M. 2010.** Mercury in an ultraoligotrophic North Patagonian Andean lake (Argentina): Concentration patterns in different components of the water column // Journal of Environmental Sciences. V. 22, N. 8. P. 1171–1178.
- Barton L. and Hamilton W. 2007.** Sulphate-reducing bacteria: environmental and engineered systems. Cambridge University Press. P. 533.
- Muyzer G. and Stams A. 2008.** The ecology and biotechnology of sulphate-reducing bacteria // Nature reviews microbiology. V. 6. P. 441–454.
- Pikuta E.V., Hoover R.B., Bej A.K., Marsic D., Whitman W.B., Cleland D., Krader P. 2003.** Desulfonatronum thiodismutans sp. nov., a novel alkaliphilic, sulfate-reducing bacterium capable of lithoautotrophic growth // Int. Sust. Ecol. Microbiol. V. 53. P. 1327–1332.
- Thomas O., Burgess C. 2007.** UV-Visible spectrophotometry of water and wastewater. Elsevier. P. 360.