

Ферментативная диагностика загрязнения почв и донных отложений тяжёлыми металлами

© 2010. Р. В. Галиулин¹, д.г.н., с.н.с., Р. А. Галиулина¹, н.с., Б. И. Кочуров², д.г.н., в.н.с.,
¹Учреждение Российской академии наук
Институт фундаментальных проблем биологии РАН,
²Учреждение Российской академии наук Институт географии РАН,
e-mail: rauf-galiulin@rambler.ru

На территории г. Челябинска проведены исследования по диагностике хронического и аварийного загрязнения тяжёлыми металлами прибрежных почв и донных отложений р. Миасс посредством анализа активности фермента каталазы. Установлено, что при хроническом загрязнении тяжёлыми металлами (Cu, Co, Ni, Zn, Pb, Cd, Cr, Mo, Hg) почв и донных отложений активность каталазы возрастает, а при аварийном загрязнении (Cu, Ni, Pb) – снижается. Специфическим ингибитором активности каталазы почвы и донных отложений является никель.

Diagnostics of chronic and emergency pollution of coastal soils and sediment of the Miass river with heavy metals was carried out on the territory of Chelyabinsk City by means of analysis of catalase enzymatic activity. It is established that catalase enzymatic activity increases in conditions of chronic pollution of soil and sediment with heavy metals (Cu, Co, Ni, Zn, Pb, Cd, Cr, Mo, Hg), and it decreases in conditions of emergency pollution with heavy metals (Cu, Ni, Pb). Nickel is the specific inhibitor of catalase activity in soil and bottom sediment.

Ключевые слова: тяжёлые металлы, загрязнение почвы, активность почвенной каталазы
Key words: heavy metals, soil pollution, soil catalase activity

Введение

При техногенезе тяжёлые металлы (ТМ) попадают на почвенный покров урбанизированных территорий в составе газопылевых выбросов и атмосферных осадков. Загрязнение поверхностной воды и донных отложений ТМ происходит с промышленными сточными водами, а также стоками, выщелачивающими техногенные образования (отвалы и терриконы забалансовых руд, минерализованных пород, шлако- и золоотвалы и др.), локализованные в бассейнах рек. При этом в окружающую среду ТМ могут поступать при двух различных сценариях: 1) хронически, образуя со временем педо- и бентотехногеохимические аномалии; 2) при аварийных ситуациях. Так, вследствие хронического воздействия свинцовой плавильни в бассейне р. Литавка (г. Пршибрам, Чехия) содержание свинца в аллювиальной почве достигло 7040 мг/кг, что было в 50 раз выше его предельно допустимой концентрации (ПДК=140 мг/кг) [1]. Количество меди в донных отложениях р. Кларк Фок (шт. Монтана, США) как следствие длительного воздействия рудника составило значительную величину – 1078 мг/кг [2]. Случаем экстремально высокого загрязнения

никелем водного объекта в районе г. Мончегорск (Мурманская обл.) и медью в районе г. Оха (Сахалинская обл.) стало обнаружение их в количествах, соответствующих 235 и 868 ПДК [3, 4].

В условиях хронического и аварийного загрязнения важно осуществлять диагностику этих явлений в почвах и донных отложениях как основных депонирующих средах ТМ наземных и водных экосистем. Это необходимо для оценки и контроля геоэкологической ситуации на территориях с высокой техногенной нагрузкой и принятия соответствующих профилактических и ремедиационных мер. К числу подобных территорий можно отнести г. Челябинск, характеризующийся значительной концентрацией объектов чёрной и цветной металлургии, машиностроения и энергетики в пределах его границ (рис. 1) [5]. Известно также, что в состав водной экосистемы Челябинска входит река Миасс, дренирующая урбанизированную территорию. Обзор литературы показывает, что для диагностики загрязнения почв и донных отложений широко используется анализ активности микробных ферментов как относительно устойчивый и чувствительный показатель взаимодействия тяжёлых металлов и микроорганизмов.

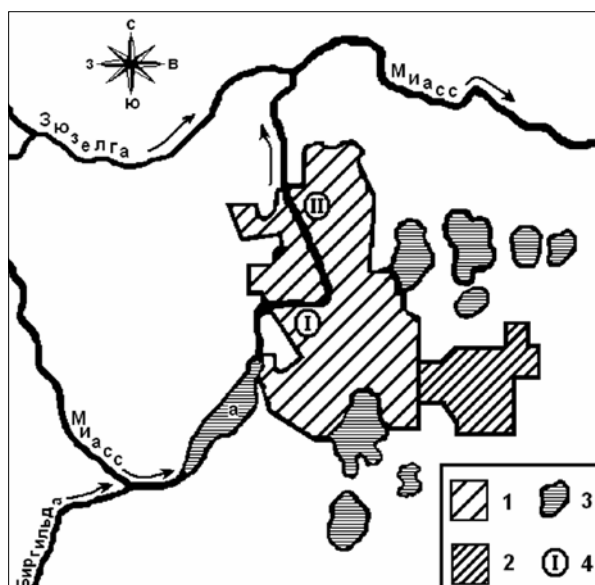


Рис. 1. Карта-схема исследуемой территории. 1 – г. Челябинск; 2 – г. Копейск; 3 – озёра и Шершневское водохранилище (а); 4 – места отбора проб прибрежных почв и речных донных отложений в Центральном (I) и Metallургическом (II) районах Челябинска [5]

Цель настоящей работы состояла в диагностике хронического и аварийного загрязнения тяжёлыми металлами прибрежных почв и речных донных отложений территории Челябинска посредством анализа активности фермента каталазы.

Методика исследования

На первом этапе исследования отбирали усреднённые образцы прибрежных почв и донных отложений из слоя 0–15 см по ходу течения р. Миасс на двух участках в

Центральном и Metallургическом районах Челябинска с целью оценки хронического загрязнения тяжёлыми металлами окружающей среды. Анализ содержания 9 тяжёлых металлов (Cu, Co, Ni, Zn, Pb, Cd, Cr, Mo, Hg) проводили в азотнокислой вытяжке проб почв и донных отложений методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии [6]. В тех же образцах почв и донных отложений определяли общее содержание углеводов фенолсернокислотным методом Дюбуа [7] и общую численность микроорганизмов высевом на мясо-пептонный агар [8]. Далее в образцах почв и донных отложений, инкубируемых в термостате в чашках Петри при влажности 70% от полной влагоёмкости (ПВ) и температуре 30 °С, проводили анализ активности каталазы на 0, 10, 20, 30 и 40 сут газометрическим методом [9]. На втором этапе исследования имитировали аварийное поступление меди, никеля и свинца как отдельно, так и в виде их смеси путём внесения в образцы почвы и донных отложений водных растворов CuSO₄, NiCl₂·6H₂O и Pb(NO₃)₂ в дозах 100 и 500 мг/кг по иону металла. Образцы почвы и донных отложений, как и на первом этапе, инкубировали в чашках Петри при влажности 70% от ПВ и температуре 30 °С с анализом активности каталазы на 5, 10 и 20 сут. Статистическую обработку результатов анализов проводили общепринятым методом. Доверительный интервал для среднего значения показателей рассчитали при уровне значимости P₁=0,05.

Результаты и их обсуждение

Как видно из таблицы, на территории Челябинска содержание различных ТМ как

Таблица
Содержание тяжёлых металлов (мг/кг) в прибрежных почвах и донных отложениях р. Миасс в районах г. Челябинска

Металл	Почва		Донные отложения	
	Центральный район	Metallургический район	Центральный район	Metallургический район
Cu	34,8	82,1	41,2	265,0
Co	14,7	24,9	13,4	27,3
Ni	48,9	86,6	67,2	109,9
Zn	456,0	1370,0	211,6	3980,0
Pb	14,8	67,6	28,0	335,6
Cd	0,79	32,7	0,85	156,2
Cr	101,9	231,9	104,1	468,4
Mo	1,4	2,7	0,85	12,5
Hg	0,40	1,76	0,48	9,7

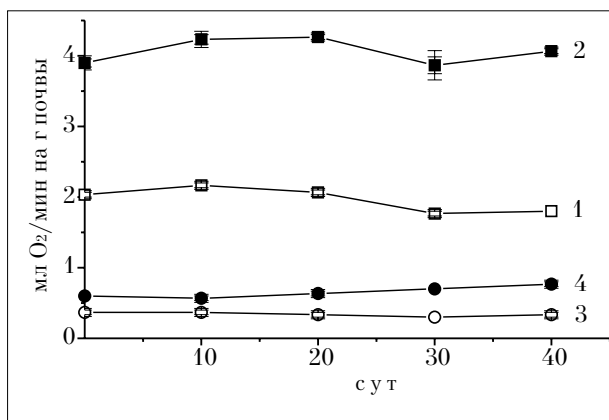


Рис. 2. Активность каталазы прибрежных почв (1, 2) и донных отложений (3, 4) р. Миасс Центрального (1, 3) и Metallургического (2, 4) районов г. Челябинска

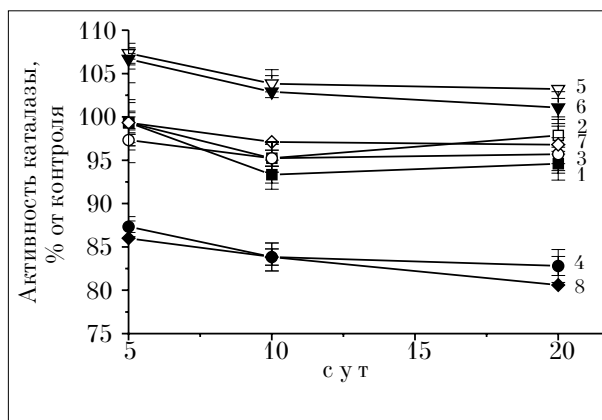


Рис. 3. Активность каталазы прибрежной почвы р. Миасс (Metallургический район г. Челябинска). 1 – Cu, 100 мг/кг; 2 – Cu, 500 мг/кг; 3 – Ni, 100 мг/кг; 4 – Ni, 500 мг/кг; 5 – Pb, 100 мг/кг; 6 – Pb, 500 мг/кг; 7 – Cu + Ni + Pb, 100 + 100 + 100 мг/кг; 8 – Cu + Ni + Pb, 500 + 500 + 500 мг/кг

в прибрежных почвах, так и донных отложениях возрастало по ходу течения р. Миасс от Центрального к Metallургическому району, что свидетельствовало о формировании в последнем педо- и бентотехногеохимических аномалий. Так, содержание Cu, Co, Ni, Zn, Pb, Cd, Cr, Mo и Hg в почвах в зависимости от вещества повышалось от 1,7 до 41,4 раза, а в донных отложениях – от 1,6 до 183,8 раза. При этом в почве Центрального района содержание цинка превышало его ориентировочно допустимую концентрацию – ОДК (для нейтральной суглинистой почвы – 220 мг/кг [10]) в 2,1 раза, а в почве Metallургического района в 6,2 раза, содержание кадмия было соответственно в 2,5 раза ниже и в 16,4 раза выше ОДК (2 мг/кг). При этом в Metallургическом районе нагрузка тяжёлых металлов была значительно больше на донные отложения, чем на почву, как результат их доминирующего поступления в окружающую среду с промышленными сточными водами. Между тем активность каталазы почв и донных отложений повышалась по ходу течения р. Миасс с возрастанием содержания в них тяжёлых металлов (рис. 2). При этом активность каталазы была больше в почвах и более контрастно реагировала на возрастание в них содержания ТМ. Микробиологический анализ показал увеличение численности клеток по ходу течения р. Миасс на целый порядок – в почвах от $1,0 \times 10^8$ до $1,8 \times 10^9$ кл./г, а в донных отложениях от $7,2 \times 10^5$ до $5,9 \times 10^6$ кл./г. Это свидетельствует об адаптации микроорганизмов к хроническому загрязнению ТМ путём естественного

отбора резистентных форм, требующей определённой затраты времени и выражающейся в увеличении лаг-фазы (задержки размножения) [11]. В ходе адаптации микроорганизмов к ТМ происходит перестройка их метаболизма, т. е. замедляются чувствительные к действию металлов процессы (дыхание, накопление внутриклеточного АТФ) и усиливаются процессы, направленные на снижение токсичности металлов (сорбция металлов клеточными оболочками, восстановление их ионного состояния до элементарной, металлической формы). С другой стороны, наблюдающееся по ходу течения р. Миасс повышение содержания общего углерода в почвах (в 1,4 раза) и донных отложениях (в 3,1 раза) может служить благоприятной средой для размножения резистентных форм микроорганизмов, толерантность которых к ТМ наследуется от одной генерации к другой. Дополнительным доказательством этому служат результаты определения общего содержания углеводов как источника легкодоступного углерода и энергии для микроорганизмов, когда их количества в почвах и донных отложениях возрастали по ходу течения р. Миасс соответственно в 1,4 и 2,3 раза.

Противоположная картина в активности каталазы складывалась при имитации аварийного загрязнения почвы и донных отложений такими ТМ, как медь, никель и свинец. Так, отмечалась чётко выраженная тенденция возрастания ингибирования активности фермента с повышением дозы никеля (от 100 до 500 мг/кг) как в почве, так и в донных отложениях (рис. 3, 4). К концу инкубирования

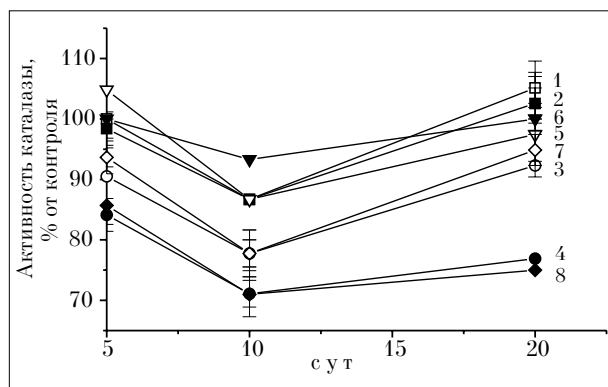


Рис. 4. Активность каталазы донных отложений р. Миасс (Металлургический район г. Челябинска). 1 – Cu, 100 мг/кг; 2 – Cu, 500 мг/кг; 3 – Ni, 100 мг/кг; 4 – Ni, 500 мг/кг; 5 – Pb, 100 мг/кг; 6 – Pb, 500 мг/кг; 7 – Cu + Ni + Pb, 100 + 100 + 100 мг/кг; 8 – Cu + Ni + Pb, 500 + 500 + 500 мг/кг

(на 20-е сут) активность каталазы в почве относительно контрольного варианта ингибировалась под воздействием никеля и смеси меди, никеля и свинца в максимальной дозе (по 500 мг/кг) в почве соответственно на 16,1 и 19,4%, а в донных отложениях – на 23,1 и 25,0%. Однако воздействие свинца, вносимого в форме азотнокислой соли, на активность фермента почвы было стимулирующим в самом начале инкубирования (на 5-е сут) вследствие поступления легкодоступного источника азота для микроорганизмов.

Снижение активности каталазы под действием аварийного загрязнения никелем почвы и донных отложений объясняется как прямым ингибированием каталитической активности фермента, так и задержкой его синтеза микроорганизмами при подавлении роста последних. Воздействие никеля на активность каталазы позволяет сделать заключение об этом металле как специфическом ингибиторе данного фермента, разлагающего перекись водорода на молекулярный кислород и воду [9].

В целом проведенные исследования позволяют заключить, что хроническое загрязнение тяжелыми металлами прибрежных почв и донных отложений р. Миасс, дренирующей территорию с высокой техногенной нагрузкой, диагностируется посредством повышения активности каталазы указанных сред. Аварийное загрязнение почвы и донных отложений

никелем, как отдельно, так и в смеси с медью и свинцом, диагностируется посредством снижения активности каталазы.

Литература

1. Mikanova O., Kubat J., Mikhailovskaya N., Voros I., Biro B. Influence of heavy metal pollution on some soil-biological parameters in the alluvium of the Litavka river // *Rostlinna Vyroba*. 2001. V. 47. № 3. P. 117–122.
2. Burton G.A.Jr., Drotar A., Lazorchak J.M., Bahls L.L. Relationship of microbial activity and *Ceriodaphnia responses* to mining impacts on the Clark Fork river, Montana // *Archives of Environmental Contamination Toxicology*. 1987. V. 16. № 5. P. 523–530.
3. Ованесянц А.М., Красильникова Т.А., Иванов А.Б. О загрязнении природной среды и радиационной обстановке на территории Российской Федерации в ноябре 2007 г. // *Метеорология и гидрология*. 2008. № 2. С. 103–108.
4. Ованесянц А.М., Красильникова Т.А., Иванов А.Б. О загрязнении природной среды и радиационной обстановке на территории Российской Федерации в апреле 2007 г. // *Метеорология и гидрология*. 2007. № 7. С. 105–110.
5. Кононов А.Н., Нестеренко В.С., Мочалова С.А. О комплексном экологическом мониторинге г. Челябинска // *Проблемы экологии Южного Урала*. 1998. № 4. С. 8–20.
6. Галиулин Р.В., Галиулина Р.А., Возняк В.М. Распределение бенз(а)пирена, мышьяка и тяжёлых металлов в системе почва – растение – вода – донные отложения // *Агрохимия*. 2009. № 3. С. 66–70.
7. Орлов Д.С., Гришина Л.А. Практикум по химии гумуса. М.: Изд-во Москов. ун-та, 1981. 272 с.
8. Практикум по микробиологии. М.: Изд-во Москов. ун-та, 1976. 307 с.
9. Хазиев Ф.Х. Методы почвенной энзимологии. М.: Наука, 2005. 252 с.
10. Токсикологический вестник. 2006. № 6. С. 43.
11. Кобзев В.А. Взаимодействие загрязняющих почв тяжёлых металлов и почвенных микроорганизмов (обзор) // *Загрязнение атмосферы, почвы и растительного покрова*. Вып. 10(86). М.: Гидрометеоздат, 1980. С. 51–66.

Работа выполнена в рамках проекта № 04-05-96059, Р2004Урал, поддержанного грантом Российского фонда фундаментальных исследований совместно с правительством Челябинской области.