

УДК 579.23/246.2:533.411.072:537.533.35

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ОСОБЕННОСТИ БАКТЕРИЙ И МИКРОМИЦЕТОВ,  
ВЕГЕТИРУЮЩИХ В СТАРЫХ ОТХОДАХ ЗОЛОТОДОБЫЧИ

В.М.Катола

*Институт геологии и природопользования Дальневосточного отделения РАН,  
675000, г. Благовещенск, пер. Релочный, 1*

## РЕЗЮМЕ

Целью работы являлась визуализация морфофункционального состояния бактерий и микроскопических грибов (микросмицетов) непосредственно в многокомпонентных отходах золотодобычи. Из многолетних отходов шлихообогатительной установки, содержащих запасы тяжелых металлов, включая золото и техногенную ртуть, получали препараты-отпечатки. При их электронномикроскопическом просмотре установлено, что непосредственно в отходах обитают бактерии, плесневые грибы и дрожжи, встречаются отдельные конидии (споры). Бактерии трансформированы в различные варианты L-форм и формируют биопленку из ассоциации элементарных тел и палочковидных клеток без адсорбции ими видимых плотных частиц. Элементарные тельца сохраняют способность к делению, палочки – к образованию нитевидных структур. На поверхности дрожжевых клеток имеются округлые или овальные скульптурные образования. В больших количествах выявлены также омертвевшие фрагменты мицелия и конидии (споры) нераспознанных плесневых грибов, поверхность которых покрыты разнообразными плотными частицами. Все биотические факторы вместе с пылью и тяжелыми металлами влияют на здоровье работников русловой золотодобычи.

*Ключевые слова: золотодобыча, отвалы золотодобычи, микроорганизмы, электронная микроскопия.*

## SUMMARY

MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF  
BACTERIA AND MICROMYCETES LIVING IN  
THE OLD GOLD MINING WASTES

V.M.Katola

*Institute of Geology and Nature Management of Far  
Eastern Branch RAS, 1 Relochny Lane,  
Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation*

The aim of the work was to visualize morphofunctional condition of bacteria and microscopic fungi (micromycetes) directly multicomponent gold mining waste. Print preparations were obtained from long-time placer gold-concentrating plant wastes containing reserves of heavy metals, including gold and man-made mercury. When studying them with electronic microscope it was found out that bacteria, mold fungi and yeasts live in the wastes, individual conidia (sporules) can also be revealed. Bacteria are transformed into various options of L-forms and form a biofilm from the association of elementary bodies and rod-shaped cells without adsorption of visible dense particles. Elemen-

tary bodies retain the ability to divide, rod-shaped cells – to the formation of filamentous structures. Circular or oval sculpture formations are on the surface of yeast cells. Dead fragments of mycelium and conidia of unidentified mold fungi whose surface is covered with a variety of dense particles were found in big quantities. All biotic factors along with the dust and heavy metals affect the health of workers of riverbed gold mining.

*Key words: gold mining, gold mining heaps, microorganisms, electronic microscopy.*

В структуре профессиональной заболеваемости на предприятиях по добыче полезных ископаемых пневмокониоз встречается в 24,6% случаев, хронический пылевой бронхит – в 18,1%, хронический обструктивный бронхит – в 15,3%, антракоз – в 9,0%, прочая патология – в 33% [10]. Но отдельных данных о заболеваемости золотодобытчиков, чей профессиональный риск усугубляется экстремальными природно-климатическими, антропогенными и биотическими факторами, не приводится. По оценкам Е.А.Симонова [5] отработка месторождений россыпного золота на Дальнем Востоке на огромных площадях уничтожает пойменные комплексы, лесные сообщества, болота, луга, приводит к заиливанию водотоков, а мутные и токсичные потоки распространяются на сотни километров по течению реки (рис. 1, 2). Сейчас только в Зейском, Тындинском, Сковородинском, Селемджинском и Мазановском районах Амурской области русловое золото добывают 25 драг и 170-180 промывочных приборов. В итоге площади разрушения водных объектов бассейна реки Зея составили 7,4%, Селемджи – 23,1%, Буреи – 2,7%. Именно стоками этих рек в Амур поставляются наиболее значимые антропогенные факторы – тяжелые металлы, главным образом Fe, Zn, Cu и Pb [9]. В целом же нарушения долин бассейна Амура прослеживаются на протяжении 6537 км, что на 2000 км длиннее, чем он сам от истоков до устья. Кроме того, в процессе золотодобычи и после ее завершения на земной поверхности остаются техногенные отходы (отвалы). Такие геохимические аномалии являются центрами пылеобразования, эмиссии тяжелых металлов, газов, микроорганизмов и их метаболитов в депонирующие среды биосферы. Например, многолетние хвосты шлихообогатительной установки (ШОУ) Софийского (Ниманского) золотоносного узла (Хабаровский край) представляют собою песчано-гравийно-галечные кучи, размер фракций которых колеблется от 3 до 0,5 мм при влажности 5%. Они содержат различные минералы, большое количество кремнезема, высокие концентрации хрома, мышьяка, марганца, титана, свинца, олова, вольфрама и др. Имеются золото и металлическая

ругуть, ранее широко применявшаяся для смачивания золотосодержащего субстрата. Ее количество варьирует от 100 до 300 г/т, по сведению других авторов – от 60 г/т до 3–6 кг/т. Напомним, что при золотодобыче (и прочих твердых полезных ископаемых) на земную поверхность выносятся вещества горных пород и минералов, давно исключенное из непрерывного, циклического и неравномерного во времени и пространстве круговорота. Под влиянием воды, температуры и других агентов оно разрушается, химические соединения растворяются и перемещаются. Следовательно, своей технологической деятельностью золотодобытчики создают зону экологической опасности, тем самым рискуют здоровьем. По наблюдениям ряда исследователей из-за наличия отходов ШОУ на сопредельных территориях население болеет чаще, отсутствуют дикие животные, в реках – рыба, слабо восстанавливается уничтоженная долинная растительность и пр.

Учитывая, что состав и структура микроорганизмов, заселяющих техногенные отходы золотодобычи, до сих пор изучены не полностью, целью предлагаемой работы является визуализация морфофункционального состояния бактерий и микроскопических грибов (микроскопических грибов) непосредственно в многокомпонентных хвостах ШОУ.

#### Материалы и методы исследования

Использован контактный метод исследования (он же метод отпечатков). Его суть: к торцу предметного столика электронного микроскопа прикрепляли ленту с липкой верхней поверхностью. Прикасаясь ею к исследуемому материалу, получали препараты-отпечатки. Их подсушивали в чашках Петри, напыляли углеродом в вакуумной установке ВУП-4 и просматривали в сканирующих электронных микроскопах LEO 1420 (Германия) или JEOL ISM-35C (Япония). Одновременно  $10^7$  кл./мл профильтрованных и отмытых конидий *Penicillium canescens*, изолированного из хвостов ШОУ, вносили в колбы с жидкой средой Чапека, содержащую стерильные образцы из хвостов ШОУ в соотношении Т:Ж=1:7. В качестве контроля конидии выращивали в среде Чапека без названных образцов. Эксперименты проводили при комнатной температуре, влажности и освещении. Тонкие и полутонкие срезы мицелия получали на ультрамикротоме LKB- NOWA и просматривали в просвечивающем электронном микроскопе TESLA BS 500.

#### Результаты исследования и их обсуждение

В прежнем сообщении нами показано [6], что, несмотря на экстремальные условия, хвосты ШОУ являются пространством для обитания разных микроорганизмов: среднее количество бактерий не превышало  $1,5 \times 10^6$  КОЕ на 1 г субстрата, число грибных зачатков –  $6,2 \times 10^4$  КОЕ/г. То есть, значительно меньше, чем обитает в почвах. В культуры были выделены представители *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Serratia*, редко – *Acidithiobacillus ferrooxidans*, микроскопические грибы родов *Penicillium*, *Trichoderma* и *Mucor*. Все эти изоляты сохраняли типичные морфологические, культуральные и биохимические признаки.

Однако в отношении их количества оставались сомнения. И они оправдались. Электронно-микроскопическим просмотром препаратов-отпечатков установлено, что непосредственно в хвостах ШОУ морфоструктурная организация микробиоты изменена. Наряду с классическими палочками визуализировались трудно выявляемые на простых питательных средах, но сохранившие способность к развитию L-формы бактерий или CWDB (cell wall-deficient/defective bacteria). Они представлены многочисленными элементарными тельцами, их конгломератами и дочерними особями. При этом элементарные тельца не утрачивали способности к делению неравномерно пополам или почкованием, тогда как во время размножения палочковидных бактерий дочерние особи чаще не разделяются, а образуют разнообразные по длине и ширине нити. Обычно их появление связывают с разобщением роста и деления популяции. Одновременно обращает внимание то, что поверхность визуализированных бактериальных структур, обитающих в минеральной среде, не содержат видимого адсорбата (рис. 3). Тем самым подтверждается: а) отсутствие у них полноценной клеточной стенки; б) инертность к взаимодействию с рудными минералами. Но главной находкой является существование в хвостах ШОУ бактерий в виде биопленки (рис. 3). Согласно данным литературы [3, 11] она представляет собою скоординированный консорциум, погруженный в экзополимерный матрикс, который занимает 85% ее массы. Основной функцией биопленки является защита клеток от воздействия окружающей среды, сорбция тяжелых металлов и минералов, растворенных органических и питательных веществ, ферментов и ростовых факторов. Что касается прочности биопленки, то в хвостах ШОУ она оказалась весьма относительной – при взятии препаратов-отпечатков отдельные клетки отрываются от нее и переходят в свободную (планктонную) стадию. Скорее всего, именно планктонные клетки выделяются и растут на питательных средах. Переход бактерий в L-формы и формирование биопленки не следует воспринимать как прерогативу хвостов ШОУ. Такие изменения характерны для большинства природных бактерий и служат одной из основных стратегий выживания в экологических нишах [7].

Помимо бактерий, в состав биоценоза отходов ШОУ входят неидентифицированные дрожжи и плесневые грибы, жизненный цикл которых зависит от двух повторяющихся событий: увлажнения и высыхания минерального субстрата. Популяции разных видов дрожжевых грибов проявляли толерантность к токсичной среде, их клетки имели различную конфигурацию и размер, на поверхности клеток некоторых видов находились скульптурные выросты округлой или овальной формы (рис. 4). Обычно в неблагоприятных условиях размножение дрожжей замедляется, затем приостанавливается, а некоторые клетки даже переходят в состояние покоя. Но непосредственно в хвостах ШОУ нам удалось у отдельных клеток визуализировать разрыв клеточной оболочки и появление дочерней особи.



Рис. 1



Рис. 2

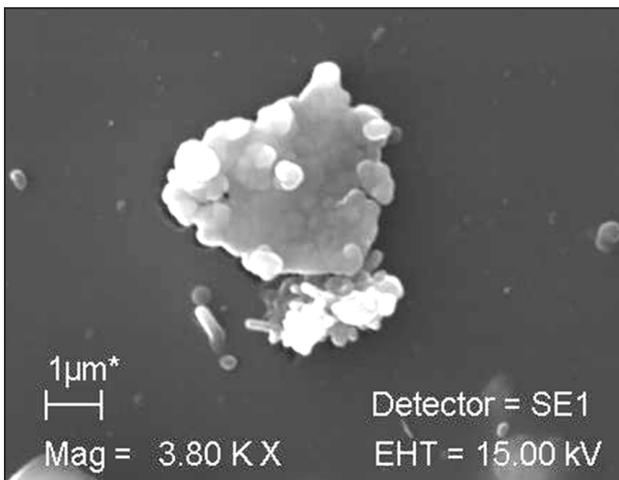


Рис. 3



Рис. 4

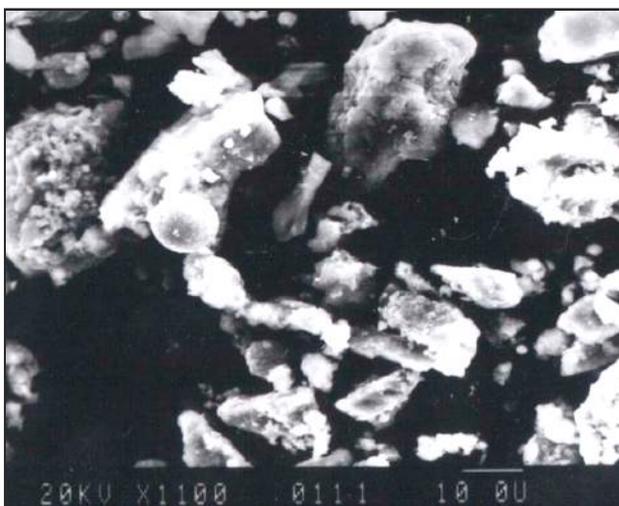


Рис. 5



Рис. 6

Рис. 1-6. 1 – нарушенная золотодобычей долина реки Киркун при впадении в нее реки Вереи (фото из книги Золотые реки); 2 – ландшафтные преобразования на притоках реки Онон (фото из книги Золотые реки); 3 – различные бактерии непосредственно в хвостах ШОУ: длинной стрелкой отмечен фрагмент биопленки, содержащий элементарные тельца, короткой стрелкой – деление элементарных телец (сканирующая электронная микроскопия, препарат-отпечаток, ×3800); 4 – дрожжевые клетки (сканирующая электронная микроскопия, ×6600); 5 – разные фракции хвостов ШОУ: стрелкой отмечена спора (конидия) неидентифицированных грибов (сканирующая электронная микроскопия, ×1100); 6 – комплекс омертвевших гифов с адсорбатом непосредственно в хвостах ШОУ (сканирующая электронная микроскопия, препарат-отпечаток, ×2200).



Рис. 7

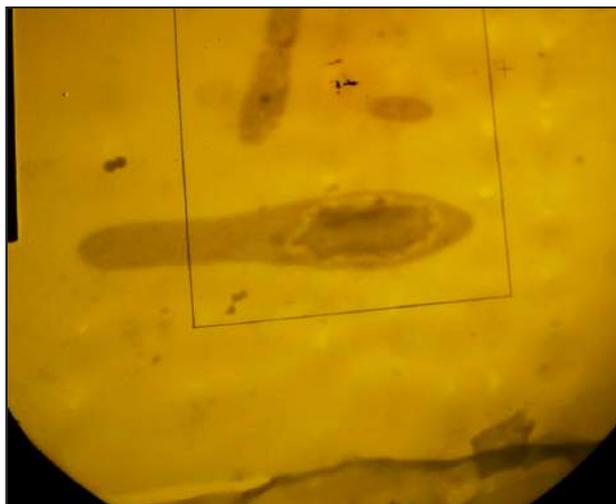


Рис. 8

Рис. 7-8. 7 – произрастающая в присутствии образцов ШОУ конидия *Penicillium canescens* с крупным адсорбатом на поверхности (просвечивающая электронная микроскопия, ультрасрез,  $\times 17000$ ); 8 – выросшие на простой агаровой среде конидии *Penicillium canescens* (просвечивающая электронная микроскопия, ультрасрез,  $\times 7000$ ).

При достаточном притоке влаги и питательных веществ в хвостах ШОУ плесени растут и развиваются, функционируют, спорулируют и эффективно взаимодействуют с токсичной минеральной средой. В модельных опытах показано, что *P. canescens* своими экзосметаболитами извлекает из фракций рудные минералы, растворяет и аккумулирует на клеточной стенке тяжелые металлы, трансформирует и перемещают их внутрь клеток, импрегнирует ими все клеточные структуры, включая ядерную оболочку и содержимое ядра [8]. Присутствие грубого адсорбата из аккумулированных и перекристаллизованных металлов на стенке конидий и отдельных локусах зародышевой трубочки отмечено на ультратонких срезах (рис. 7). Подобного адсорбата на конидиях контрольной культуры не выявлено (рис. 8). Наоборот, в засушливый период в отходах ШОУ методом отпечатков обнаруживаются лишь конидии (споры) с мелкими структурами на поверхности (рис. 5) и нежизнеспособные фрагменты гиф, на клеточной стенке которых фиксированы разнообразные органоминеральные частицы (рис. 6). Особенно много субмикронных сферических конкреций, что подтверждает их существование не только в природе, но и образование плесневыми грибами. Предполагается, что во всех случаях фрагменты мицелия и конидии, нагруженные металлами, с легкостью поступают в воздушную среду, вымываются из техногенных отвалов дождем и талыми водами, прикрепляются к обрывкам бактериальной биопленки и вместе с ними или отдельно прямо или косвенно попадают в организм человека и животных, индуцируя определенную симптоматику и патогенез.

Таким образом, проведенными исследованиями установлено, что на рабочих русловой золотодобычи могут оказывать влияние различные микроорганизмы, трансформированные минеральной средой, которая для них является местом существования и персистенции. В связи с этим предполагается рост профессиональной заболеваемости, в первую очередь учащение

аллергической патологии. Ее развитию способствует несколько важных моментов: крайне неблагоприятная среда в рабочей зоне золотодобычи (постоянная сырость, токсичные пары, газы и взвеси, шум от тяжелой техники, вибрация и т.д.), угнетающая иммунологическую резистентность рабочих, и циркулирующие естественные гаптены и аллергены. Достаточно напомнить, что только грибы содержат в конидиях (спорах) и мицелии до 86 аллергенов, в большинстве принадлежащих родам *Aspergillus*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Penicillium* и *Malassezia* [1]. Именно вследствие микогенной сенсибилизации у людей возникают аллергический ринит, бронхиальная астма, аллергический альвеолит, аллергические бронхолегочные микозы и экзогенный атопический дерматит. Однако проведенный анализ морфофункциональной организации бактерий и грибов, колонизирующих отходы ШОУ, свидетельствуют о том, что проблемы со здоровьем золотодобытчиков микробиота может вызывать в ассоциации с другими опасными факторами, переплетаясь с ними и потенцируя. В частности, с минеральной и органической пылью (дисперсной фазой аэрозолей), обладающими токсигенными, фиброгенными, мутагенными канцерогенными и аллергенными свойствами. К тому же, при открытой разработке месторождений золота производственная пыль обязательно смешивается с иной пылью, поступающей в окружающую среду во время эрозии почв, лесных пожарах, строительных работах, с пылью деревьев и трав, спорами грибов и бактерий. Это значительно увеличивает как природу аллергенов, так и их количество. К сенсибилизаторам и аллергенам относятся также металлы Au, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Mn, Mo, Ni, Pd, Pt, Se, Ti, V, Zn, Zr, W, в меньшей степени Ag, Ir, Y, Ru, Te и др., которые характеризуются кумулятивными свойствами, высокой биохимической активностью, действием на численность и видовой состав популяций и функции микробиоценозов [4, 12]. Более того, являясь тератогенами, канцерогенами и мутагенами, металлы могут вызывать

в соматических клетках даже хромосомные аберрации в соматических клетках [2]. Из всего изложенного следует, что у золотодобытчиков профессиональная заболеваемость должна регистрироваться гораздо чаще.

### Выводы

1. В старых техногенных отходах золотодобычи обитают бактерии, трансформированные в L-формы и образующие биопленку, а также дрожжевые и плесневые грибы.

2. В процессе золотодобычи на работающих воздействует комплекс экстремальных факторов природной среды в сочетании с патогенами, производственными вредностями, в том числе высокими концентрациями тяжелых металлов и их соединений.

3. Планирование медицинских мероприятий среди работников русловой золотодобычи должно проводиться с учетом технологии горного производства, физико-химического и биотического состава его отходов.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Аак О.В. Аллергены грибов. Особенности микогенной сенсибилизации (обзор) // Пробл. мед. микол. 2005. Т.7, №2. С.12–16.

2. Цитогенетическая характеристика детей с нефропатиями из региона, загрязненного тяжелыми металлами / С.Г.Ворсанова [и др.] // Нефрология и диализ. 2000. Т.2, №3. С.166–170.

3. Голуб А.В. Бактериальные биопленки – новая цель терапии? // Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер. 2012. Т.14, №1. С.23–29.

4. Здольник Т.Д. Токсиколого-гигиенические аспекты влияния металлов на функцию пищеварения. Рязань: Ряз. гос. ун-т, 2007. 172 с.

5. Золотые реки. Выпуск 1. Амурский бассейн / под ред. Е.А.Симонова. Владивосток, 2012. 120 с.

6. Катола В.М., Радомская В.И., Радомский С.М. Влияние ртути техногенных отвалов и рабочей зоны золотодобычи на биологические объекты // Сиб. экол. журн. 2006. Т.13, №3. С.353–357

7. Катола В.М. Некультивируемые L- варианты бактерий в экосистемах Благовещенска // Бюл. физиол. и патол. дыхания. 2012. Вып.46. С.86–90.

8. Катола В.М. Реакция *PENICILLIUM CANESCENS* на геотехногенную среду в простой закрытой системе // Проблемы геологии Европейской России: мат. всерос. науч. конф. Саратов, 2013. С.164–169.

9. Влияние крупных притоков на содержание тяжелых металлов в воде и донных отложениях реки Амур / Л.М.Кондратьева [и др.] // Тихоокеанская геоэкология. 2006. Т.25, №6. С.103–114.

10. Профессиональная патология. Национальное руководство / под ред. Н.Ф.Измерова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. 784 с.

11. Структурно-функциональная характеристика бактериальных биопленок / Т.А.Смирнова [и др.] // Микробиология. 2010. Т.79, №4. С.435–446.

12. Тихонов М.Н., Цыган В.Н. Общие механизмы токсичности металлов. М., 2010. 130 с.

### REFERENCES

1. Aak O.V. *Problemy meditsinskoj mikologii* 2005; 7(2):12–16.

2. Vorsanova S.G., Akhmedova Z.A., Demidova I.A., Ignatova M.S., Yurov I.Yu., Beresheva A.K., Kharina E.A., Yurov Yu.B. *Nefrologiya i dializ*. 2000; 2(3):166–170.

3. Golub A.V. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya* 2012; 14(1):23–29.

4. Zdol'nik T.D. *Toksikologo-gigienicheskie aspekty vlianiya metallov na funktsiyu pishchevareniya* [Toxicological and hygienic aspects of the influence of metals on digestive function]. Ryazan'; 2007.

5. Simonov E.A., editor. *Zoloty reki. Vypusk 1. Amurskiy basseyn* [Gold Rivers. Issue 1. The Amur river basin]. Vladivostok: Apel'sin; 2012.

6. Katola V.M., Radomskaya V.I., Radomskiy S.M. *Sibirskiy ekologicheskij zhurnal* 2006; 13(3):353–357.

7. Katola V.M. *Bulleten' fiziologii i patologii dyhaniya* 2012; 46:86–90.

8. Katola V.M. All-Russian scientific conference «Problems of Geology of European Russia». Saratov; 2013:164–169.

9. Kondrat'eva L.M., Kancyber V.S., Zazulina V.E., Bokovenko L.S. *Tikhookeanskaya geoekologiya* 2006; 25(6):103–114.

10. Izmerov N.F., editor. *Professional'naya patologiya. Nacional'noe rukovodstvo* [Occupational Pathology. National Guide]. M. GEOTAR Media; 2011.

11. Smirnova T.A., Didenko L.V., Azizbekyan R.R., Romanova Yu.M. *Mikrobiologiya* 2010; 79(4):435–446.

12. Tikhonov M.N., Tsygan V.N. *Obshchie mekhanizmy toksichnosti metallov* [Common mechanisms of metal toxicity]. Moscow; 2010.

Поступила 28.04.2014

Контактная информация

Виктор Моисеевич Катола,

кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник,

Институт геологии и природопользования Дальневосточного отделения РАН,

675000, г. Благовещенск, пер. Релочный, 1.

E-mail: katola-amur@list.ru

Correspondence should be addressed to

Viktor M. Katola,

MD, PhD, Leading staff scientist,

Institute of Geology and Nature Management of Far Eastern Branch RAS,

1 Relochny Lane, Blagoveshchensk, 675000, Russian Federation.

E-mail: katola-amur@list.ru