

Структурное преобразование глинистых минералов под влиянием модельных ассоциаций цианобактерии и актиномицетов

Иванова Е.А.¹, Зенова Г.М.¹, Чижикова Н.П.²

¹ – Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова. 119991, г. Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д.1, корп. 12, факультет почвоведения

² – Почвенный институт имени В.В. Докучаева РАСХН, 109017, Москва, Пыжевский пер, д.7

Учение о “живом веществе” как перманентном геологическом деятеле было положено В.И. Вернадским (Вернадский, 1940). Среди вопросов биогенной деструкции особое внимание уделяется изучению воздействия на силикатные минералы. Силикатные минералы широко распространены в биосфере. В почвах доминирующими среди них являются каолиниты, хлориты, слюды и гидрослюды, вермикулиты, смектиты и т.д. (Соколова и др., 2005). Содержание и состав глинистых минералов определяет сорбционные свойства почвенных горизонтов, водоудерживающую способность почв, липкость, пластичность, и т.д. Поэтому не вызывает сомнения, что процессы микробной трансформации глинистых минералов в природе имеют поистине геологическое значение и масштаб (Ehrlich, 1996). Силикатные горные породы являются ценным сырьем, и перспективной задачей является получение ценных элементов путем бактериального выщелачивания, а также разработка биотехнологий облагораживания глин для различных промышленных целей.

Микроорганизмы обладают довольно широким спектром механизмов биодеструкции минерального субстрата – среди них можно выделить кислото- и щелочеобразование, биосорбцию, хелатирование (комплексообразование) и т.д. Одним из способов бактериального выщелачивания является способность к выделению экзополисахаридов, в частности, образование слизи (Аристовская, 1980). Способность к слизиобразованию свойственна многим видам бактерий, в том числе и цианобактериям.

Преимущественное развитие цианобактерий приурочено к местам пониженной межвидовой конкуренции, в частности, к выходам скальных пород, карбонатным выбросам и т.д. Известно, что слизистые чехлы цианобактерий служат специфической эконишей для многих гетеротрофных бактерий, в том числе и актиномицетов. Актиномицеты могут выступать в качестве активных биодеструкторов главным образом благодаря синтезу различных гидролитических ферментов, а также антибиотиков, витаминов и других продуктов вторичного метаболизма. Сообщества с участием цианобактерий и актиномицетов широко распространены в природе. Примером служат альго-бактериальные сообщества, формирующиеся в пятнах «цветения» почвы, циано-бактериальные маты гидротерм и лагун. Потенциал функциональных проявлений актиномицетов и цианобактерий в природных сообществах изучен мало.

Целью работы является анализ изменения структурного состояния глинистых минералов под влиянием роста цианобактериально-актиномицетных ассоциаций.

Методика. Объектами исследования служили модельные ассоциации гетероцистообразующей цианобактерии *Anabaena variabilis* ATCC 29413, полученной из музея кафедры физиологии микроорганизмов биологического факультета МГУ имени М.В. Ломоносова и стрептомицетов *Streptomyces cyaneofuscatus* и *Streptomyces pluricolorescens*, выделенных из апогеотропных корней саговниковых растений.

Для получения ассоциаций смешивали биомассы 7-ми суточных культур стрептомицетов и цианобактерии (1:1), выращенные в погруженных культурах на среде минеральный агар 1 и среде Берджи (Иванова и др, 2009) соответственно. Культивирование ассоциаций проводили в

жидкой питательной среде Берджи в люминостане при постоянном освещении (780 лк, T 24±1⁰С) в течение 7-10 суток.

В работе использовали образцы пород тонкопылеватой размерности (1-10 мкм), полученные из музея кафедры физики и мелиорации почв факультета почвоведения МГУ имени М.В. Ломоносова: образец породы каолина, состоящий из каолинита $Al_4(OH)_8[Si_4O_{10}]$ с незначительной примесью гидрослюд, гиббсита, кварца и полевых шпатов; вермикулита, состоящего из вермикулита $(Ca, Mg, \dots)(Mg, Fe)_3(OH)_2[(Si, Al)_4O_{10}] \cdot 4H_2O$ с примесью слюды; гумбрина, со значительным количеством монтмориллонита, $(Ca, Mg, \dots)(Al, Fe^{3+}, Mg)_2(OH)_2[(Si, Al)_4O_{10}] \cdot nH_2O$.

Опыты по разрушению кристаллической решетки минералов проводили в стеклянных стаканах – фильтрах с впаянной пористой мембраной, на которую сначала накладывали фильтровальную бумагу, затем помещали слой (около 5 мм) измельченной до состояния порошка породы, на которую наносили в разных вариантах опыта слой биомассы цианобактерии, стрептомицета, или ассоциации (около 5 мм). Для поддержания роста водоросли и развития ассоциации слои прокапывали питательной средой Берджи один раз в 2-3 дня в течение всего опыта. При этом свежая культуральная среда не только обеспечивала рост водоросли, но и вымывала продукты метаболизма в слои минеральной фазы. Длительность проведения опытов составляла 2 мес.

Минералогический состав пород определяли рентгендифрактометрическим методом с помощью универсального рентгендифрактометра XZG фирмы Carl Zeiss Jena (Германия). Режим работы аппарата в процессе съемки сохраняли постоянным. Для выявления изменений структурного состояния минералов съемка проведена при 30 kv, 25 mA. Использовано медное излучение, фильтрованное никелем. Диагностику минералов проводили по общепринятым руководствам (Браун, 1965; Градусов, 1976).

Исходный образец породы каолина состоит из каолинита (рефлексы в области $d_{001}=7,22 \text{ \AA}$ и $d_{002}=3,58 \text{ \AA}$), с примесью слюд ($d_{001}=10,0 \text{ \AA}$, $d_{002}=5,01 \text{ \AA}$, $d_{003}=3,34 \text{ \AA}$), а также гиббсита ($d=4,85 \text{ \AA}$), кварца ($d=4,28 \text{ \AA}$) и полевых шпатов (ортоклаза) ($d=3,22 \text{ \AA}$) (рис. 1, а).

Отношение интенсивностей рефлексов слюды d_{001} и d_{003} к интенсивности рефлекса d_{002} свидетельствует о наличии диоктаэдрической разности слюд, поскольку интенсивность рефлекса d_{002} составляет 1/3 интенсивности первого базального рефлекса (d_{001}) (рис. 1, а). Указанные межплоскостные расстояния минералов не изменяются при сольватации образца этиленгликолем (рис. 1, б), прокаливание образца при 550⁰ С в течение 2-х часов привело к полному разрушению каолинита (рис. 1, в)

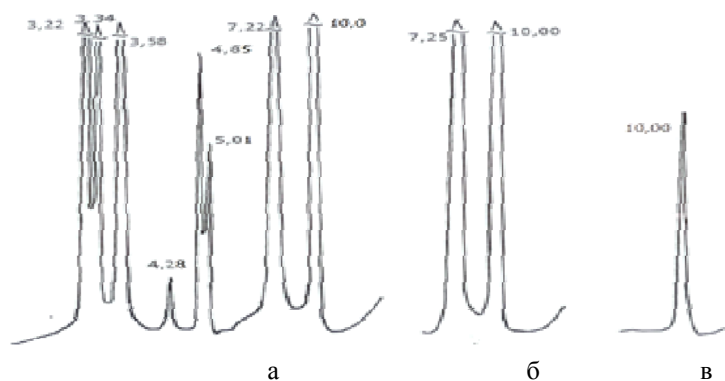


Рис. 1. Рентгендифрактограммы глинистых минералов в исходном образце породы каолина; условные обозначения здесь и далее: а – в воздушно-сухой образце породы, б – образец после сольватации этиленгликолем; в – образец после прокалывания при 550⁰С в течение 2 ч

В образце каолина под влиянием роста монокультуры стрептомицета *S. cyaneofuscatus* происходит нарушение структуры как порообразующего каолинита, так и слюды (рис. 2), что выражается в существенном снижении интенсивностей рефлексов минералов по сравнению с исходным образцом породы. Характер кристаллохимического преобразования минералов под влиянием роста монокультуры цианобактерии *A. variabilis* аналогичен варианту с ростом монокультуры стрептомицета.

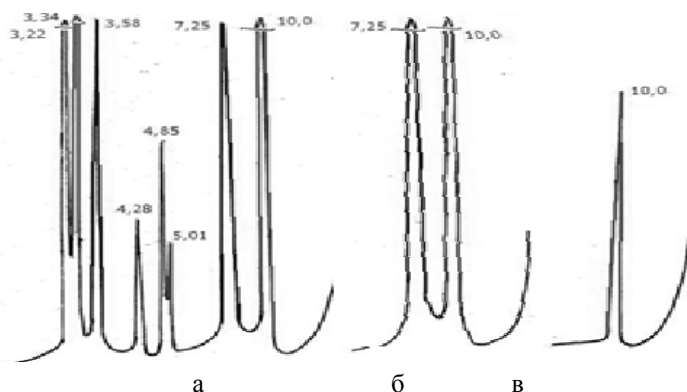


Рис. 2. Рентгендифрактограммы глинистых минералов в образце породы каолина после выращивания *S. cyaneofuscatus*

В образце породы, на котором выращивали цианобактериально-актиномицетную ассоциацию, состоящую из цианобактерии *Anabaena variabilis* и стрептомицета *Streptomyces cyaneofuscatus*, происходит более интенсивное кристаллохимическое преобразование каолинита и слюды, что зафиксировано по более значительному уменьшению интенсивностей рефлексов $d_{001}=7,22 \text{ \AA}$ и $d_{001}=10,00 \text{ \AA}$ соответственно (рис. 3) по сравнению с вариантом опыта с выращиванием монокультуры стрептомицета (рис. 2). Одновременно происходит относительное накопление в породе кварца и гиббсита, диагностируемое по увеличению интенсивностей рефлексов последних.

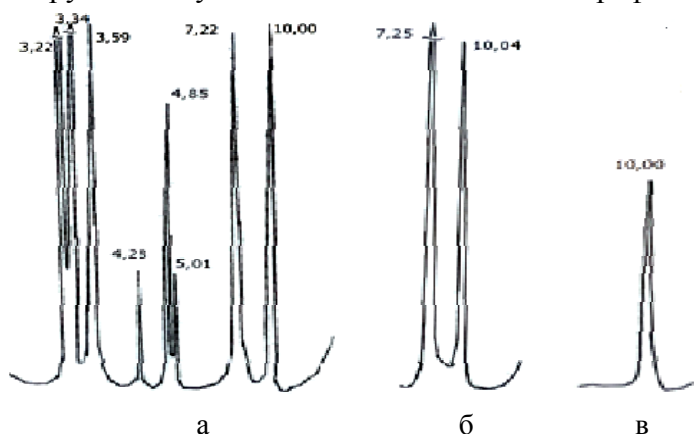


Рис. 3. Рентгендифрактограммы глинистых минералов в породе каолина после выращивания ассоциации цианобактерии *Anabaena variabilis* и стрептомицета *Streptomyces cyaneofuscatus*

Рентгендифрактограмма породы вермикулита позволяет сделать вывод о присутствии в породе, кроме вермикулита, значительной примеси слюды (биотита) (рис. 4). Диагностика вермикулита основана на наличии интенсивного отражения первого порядка, соответствующего межплоскостному расстоянию 14 \AA и серии базальных рефлексов с наиболее сильными рефлексами 4-го и 5-го порядков, соответственно $3,64$ и $2,88 \text{ \AA}$ (рис. 4, а). Насыщение образцов этиленгликолем не изменяет величин базальных

межплоскостных расстояний (рис. 4, б). Прокаливание при 550⁰ С в данном случае не привело к полному сжатию до 10 Å решетки минерала, сохранился остаточный продукт, отличающийся значительным снижением интенсивности первого рефлекса (рис. 4, в).

Биотит диагностирован по наличию целочисленной серии отражений, кратных 10 Å, а именно $d_{002} = 5,01$, $d_{003} = 3,33$ Å (рис. 4, а). Эти отражения не изменяются при прокаливании образца при 550⁰ С в течение 2-х ч (рис. 4, в) и насыщении его этиленгликолем (рис. 4, б).

Выращивание ассоциации, состоящей из актиномицета *S. cyaneofuscatus* и цианобактерии *A. variabilis*, привело к преобразованиям минералов, выраженным в уменьшении интенсивности рефлексов вермикулита. Снижение интенсивности базальных отражений в области d_{001} , d_{004} и d_{005} в три раза свидетельствует о процессе разрушения этого компонента породы (рис. 5, а). Отмечается образование набухающей фазы – продукта трансформации биотита в смешанослойное слюда-сметитовое образование, что диагностируется по наличию рефлексов 12,7 и 24,4 Å (рис. 5, а).

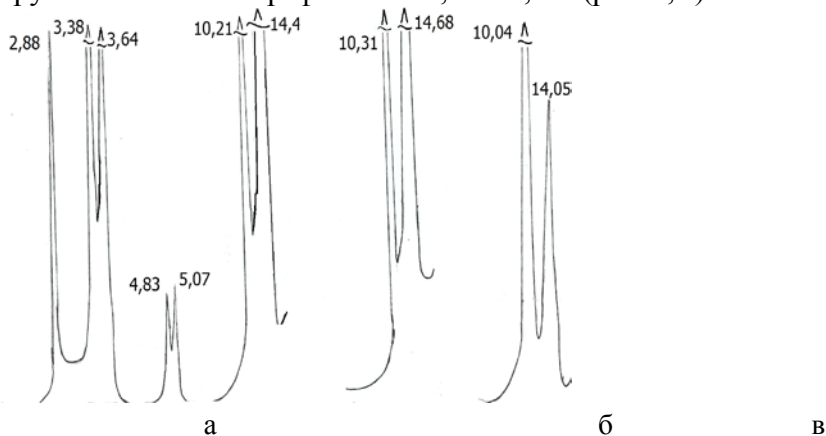


Рис. 4. Рентгendifрактограммы глинистых минералов в исходном образце породы вермикулита

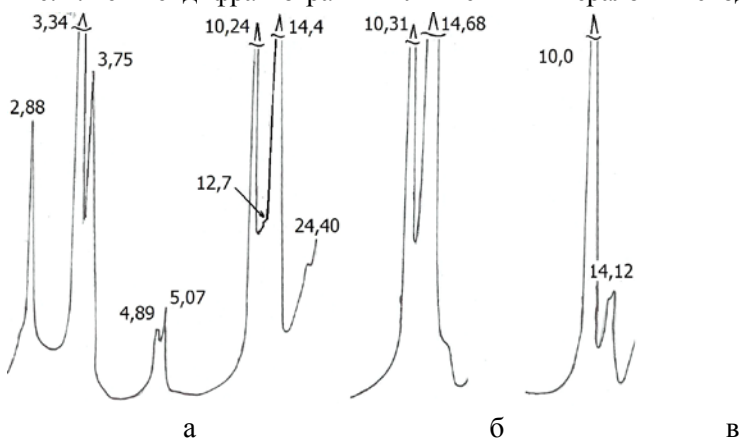


Рис. 5. Рентгendifрактограммы глинистых минералов в породе вермикулита после выращивания ассоциации цианобактерии *Anabaena variabilis* и стрептомицета *Streptomyces cyaneofuscatus*

Рентгенографирование ориентированных препаратов породы гумбрин свидетельствует о том, что порода мономинеральна и состоит из минерала группы смектитов, а именно из монтмориллонита. В исходном воздушно-сухом состоянии минерал дает отражения с межплоскостным расстоянием 14 Å. Этот рефлекс всегда интенсивен, последующая целочисленная серия рефлексов имеют незначительную интенсивность (рис. 6, а). Сольватация образца этиленгликолем привела к увеличению межплоскостного расстояния с 14 до 16,9 Å, здесь отмечается новая целочисленная серия отражений, четко диагностируется рефлекс в области 8,6 Å (рис. 6, б). Прокаливание образца при 550⁰ С привело к сокращению

межплоскостного расстояния до 10 Å. Наличие рефлекса при 4,07 Å свидетельствует о примеси кристобалита, рефлекс 3,35 Å – о примеси кварца.

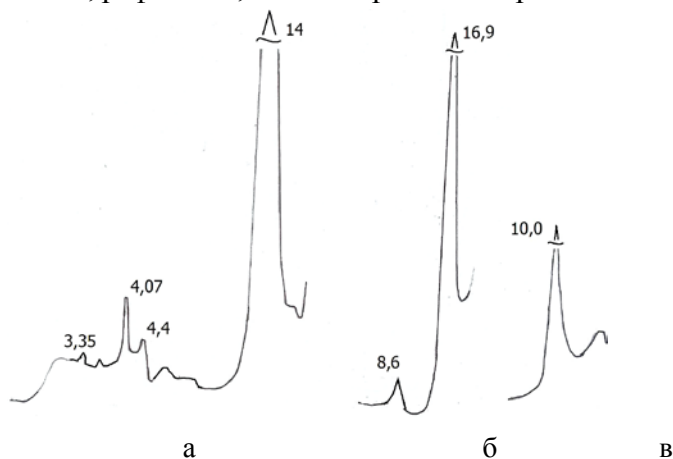


Рис. 6. Рентгendifрактограммы глинистых минералов в исходном образце породы гумбина

Исследование влияния жизнедеятельности микробных ассоциаций на минералы породы гумбина проводили с использованием двух ассоциаций: ассоциации *A. variabilis* и *S. pluricolarescens* и ассоциации *A. variabilis* и *S. cyaneofuscatus*. Использование в качестве мицелиального компонента стрептомицета *S. pluricolarescens* привело к существенному снижению интенсивности основного (13,9 Å) рефлекса минерала (рис. 7, а). Одновременно в образце резко увеличилась интенсивность рефлексов 4,4; 4,07; 3,35 Å, что говорит об относительном снижении количества монтмориллонита. Можно предположить, что произошло разупорядочивание структуры минералов, снижение ориентации кристаллов по оси *c* за счет агрегирования минералов с продуктами жизнедеятельности микробных сообществ. В пользу этого довода говорит увеличивающаяся интенсивность общего рефлекса 4,4 Å.

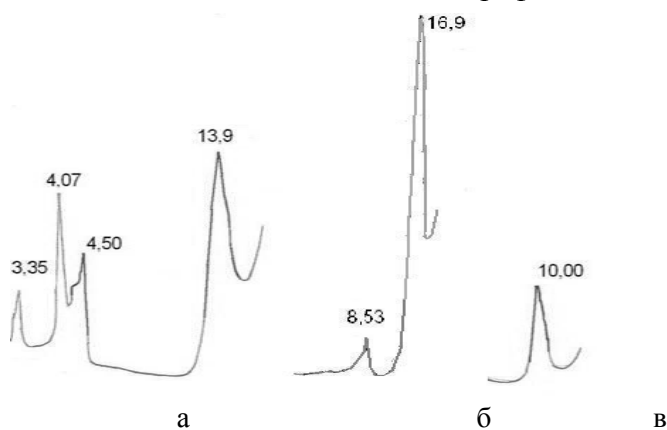


Рис. 6. Рентгendifрактограммы глинистых минералов в образце породы гумбина после выращивания ассоциации цианобактерии *Anabaena variabilis* и стрептомицета *Streptomyces pluricolarescens*

Цианобактериально-актиномицетная ассоциация, в которой в качестве мицелиального компонента использовался стрептомицет *S. cyaneofuscatus*, оказала меньшее влияние на структурное состояние минеральной составляющей. Это выражается в меньшем снижении интенсивности и большей четкости рефлекса монтмориллонита $d_{001} = 15,2$ Å (рис. 8).

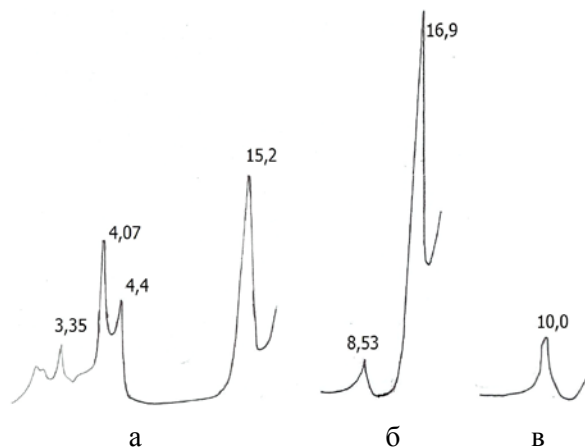


Рис. 7. Рентгендифрактограммы глинистых минералов в образце породы гумбрина после выращивания ассоциации цианобактерии *Anabaena variabilis* и стрептомицета *Streptomyces cyaneofuscatus*

Закключение. Показана способность экспериментальных ассоциаций цианобактерий с актиномицетами изменять структурные параметры глинистых минералов (каолинита, вермикулита, биотита, монтмориллонита). Сравнение результатов, полученных в экспериментах с каолином и вермикулитом, свидетельствует о различии в процессах преобразования глинистых минералов под влиянием продуктов жизнедеятельности экспериментальных ассоциаций, что связано с различной устойчивостью минералов к процессам выветривания. По сравнению с каолином процесс преобразования вермикулита произошел более интенсивно. Выявлено, что скорость процесса трансформации слюд в смешаннослойное образование зависит от их строения – триоктаэдрические слюды (биотит, входящий в состав вермикулита) трансформируются значительно быстрее, чем диоктаэдрические слюды (слюда, входящая в состав породы каолина). В опыте с породой гумбрина показано, что масштаб деградиационного преобразования минерала может зависеть и от состава микробного сообщества. Таким образом, степень структурной трансформации решетки глинистых минералов обусловлена, с одной стороны, кристаллохимией минерала, а с другой зависит от типа биоты.

Литература

1. Аристовская Т. В. Микробиология процессов почвообразования. Л.: Наука. Ленинградское отд-е. 1980. 187 с.
2. Браун Т. Рентгеновские методы изучения и структура глинистых минералов. - М.: Мир. - 1965. - 600 с.
3. Вернадский В.И. Очерки геохимии. - Издание 4-е. М.Л.Грозный-Новосибирск. - 1934. – 380 с.
4. Градусов Б.П. Смешанослойные минералы в почве. - М.:Наука. - 1976. - 126 с.
5. Иванова Е.А., Чижикова Н.П., Зенова Г.М., Омарова Е.О., Манучаров А.С. Биодegradация глинистых минералов под влиянием цианообактериально-актиномицетных ассоциаций// Вестник Московского университета. – 2009. - № 3. - С. 12-16.
6. Соколова Т.А., Дронова Т.Я., Толпешта И.И. Глинистые минералы в почвах: учебное пособие. – Тула: Гриф и К. 2005. 336 с.
7. Ehrlich H.L. How microbes influence mineral growth and dissolution. // Chemical Geology. 1996. 148 p.