

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЦИАНО-АКТИНОМИЦЕТНЫХ СООБЩЕСТВ С ГЛИНИСТЫМИ МИНЕРАЛАМИ

Н. П. Чижикова, Е. О. Омарова, Г. М. Зенова,
А. С. Манучаров

Почвенный институт им. В.В. Докучаева

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова

Проведен модельный эксперимент по выявлению изменений структурных параметров глинистых минералов под влиянием роста цианоактиномицетных ассоциаций и монокультур цианобактерий и актиномицетов. Минеральным субстратом для роста микроорганизмов являлся образец пылеватой размерности, состоящий из двух компонентов: слюды биотитового типа и вермикулита. Наиболее сильные изменения в минеральном субстрате рентгенографически зафиксированы при выращивании цианоактиномицетной ассоциации, которая фактически уничтожила (деструктурировала) вермикулит и в некоторых зонах способствовала трансформации биотита в биотит-вермикулитовое образование.

Начало учению о геологической роли организмов положил в начале XX в. В.И. Вернадский. Он первый ввел понятие о «живом веществе» как перманентном геологическом деятеле: «живое вещество играет первенствующую роль в разрушении ювенильных и фреатических минералов» (Вернадский, 1934). В то же время он подчеркивал, что «они (живые организмы) неразрывно связаны с косной материей земной коры, с минералами и с горными породами. Изучая живые организмы, биологи в большинстве своих работ оставляют без внимания неразрывную связь, теснейшую функциональную зависимость, существующую между окружающей средой и живым организмом. Ясно сознавая организованность организма, они совершенно не учитывают организованность среды, в которой живет организм, то есть биосферы» (Вернадский, 1934).

Б.Б. Польшин (1953, 1956) подчеркивал ведущую роль организмов в почвообразовании и полностью отрицал возможность стерильного выветривания в естественных условиях: «Можно утверждать, что в природе не существует изолированного механического выветривания, не связанного с химическими изменениями, и, тем более, наоборот».

В обобщенных работах Н.Н. Сушкиной и И.Г. Цюрупы (1973), И.Г. Цюрупы (1973), посвященных изучению роли микроскопических существ в выветривании и следующих за ним процессах, отмечалось, что многое из наблюдаемых явлений пока не ясно. Малочисленны работы, в которых были бы раскрыты механизмы разрушающего действия различных микроорганизмов на минералы. В цитируемых работах изучалось действие микроорганизмов на алюмосиликаты с различным типом структур: микроклин

(каркасный), биотит, монтмориллонит из бентонитовой глины. Присутствие живых организмов значительно ускорило процесс разрушения указанных минералов. Наличие в растворах всех химических компонентов исходных минералов, по мнению авторов, свидетельствует о полном растворении отдельных минеральных частиц или их поверхностных слоев. Важными выводами являются следующие положения:

1. Рентгенографирование исходных минералов и их остаточных масс после биохимического выветривания позволило констатировать «улучшение» качества структурного состояния остаточных минеральных масс, что авторы объясняют удалением тонкодисперсных рентгеноаморфных частиц в процессе опыта, а в случае бентонита – растворением присутствующих в породе цеолитов.

2. Порядок выноса элементов из алюмосиликатов определяется не характером действующих агентов, а структурой самого минерала. Полученные авторами материалы по рентгенографированию минералов позволили им сделать важные выводы, однако полиминеральность пород и их полидисперсность не позволили на том уровне исследований отметить кристаллохимические преобразования в минералах.

В то время как Г.И. Каравайко (2004) показывает, что характер разрушения минерала определяется именно особенностями биологического агента. Так, при воздействии культуры *Bacillus sphaerothermophilus* на горную породу кимберлит, состоящую из минералов серпентина, хлорита, смектита, кальцита и доломита, растворялся в основном серпентиновый минерал и хлорит, частично доломит и кальцит, в то время как смектит практически не затрагивался. Изменения, происходящие в кимберлите под воздействием *B. mucilaginosus*, были связаны в основном с растворением кальцийсодержащих минералов – кальцита и доломита, а хлорита и серпентина – в незначительной степени.

Нами (Чижикова и др., 2005; Omarova et al., 2006; Омарова, 2007) зафиксированы изменения структурного состояния компонентов каолиновой породы – каолинита и сопутствующих ему гидрослюд и хлорита – под влиянием роста цианоактиномицетной ассоциации. Влияние цианоактиномицетной ассоциации сказалось на активном преобразовании легко выветривающихся минералов – хлорита и слюды, богатых элементами питания, ухудшение степени совершенства кристаллической решетки произошло и с каолинитом.

В настоящее время выделяют несколько механизмов воздействия микроорганизмов на минералы: непосредственное окисление переменновалентных элементов, действие биогенных кислот и щелочей, хелатообразование и биосорбция (Структурно-функциональная роль ..., 2003), а также разработана электрохимическая модель процесса бактериального окисления минералов при прямом контакте клетки микроорганизма с минералом

(Ehrlich, 1996; Яхонтова, Зверева, 2000). Процессы выветривания минералов, с одной стороны, обеспечивают потребности растений и почвенных микроорганизмов в элементах минерального питания, а с другой – влияют на такие свойства почвы, как ее поглотительная способность, структура, влагоудержание (Звягинцев и др., 2005). Таким образом, в совокупности процессы преобразования минералов и их деструкции формируют тот комплекс свойств, который во многом определяет почвенное плодородие (Глазовская, Добровольская, 1984).

Сообщество почвенных цианобактерий и мицелиальных бактерий (актиномицетов) оказывает многогранное влияние на свойства почвы, в том числе и на ее минеральный состав (Звягинцев, Зенова, 2001; Домрачева, 2005).

Целью настоящей работы является анализ изменения структурного состояния минерального образца, состоящего из двух компонентов: слюды биотитового типа и вермикулита – под влиянием роста экспериментальной циано-актиномицетной ассоциации и монокультур цианобактерий и актиномицетов.

Для экспериментов использовались: 1 – культура свободноживущей цианобактерии *Anabaena variabilis* ATCC 29413, полученная из музея кафедры физиологии микроорганизмов биологического факультета МГУ; 2 – культура актиномицета, изолированная из апогеотропных корней оранжерейного саговникового растения *Cycas micholitzii* (Государственный ботанический сад (ГБС) им. Н.В. Цицина РАН г. Москва) и идентифицированная как *Streptomyces rubiginosohelvolus* шт. № 1.

Моноккультурами называли культуры микроорганизмов, инкубируемые без партнера в стандартных для них условиях роста. Выделение и культивирование монокультур стрептомицета *S. rubiginosohelvolus* шт. №1 проводили на среде минеральный агар 1 (Г 1) следующего состава (г/л): крахмал растворимый – 20,0; K_2HPO_4 – 0,5; $MgSO_4$ – 0,5; KNO_3 – 1,0; $NaCl$ – 0,5; $FeSO_4$ – 0,01; агар – 20,0 (Гаузе и др., 1983). Поддержание монокультур цианобактерии *A. variabilis* проводили в люминостате на среде BG-11 следующего состава (г/л): $NaNO_3$ – 1,5; K_2HPO_4 – 0,04; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,075; $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ – 0,036; лимонная кислота – 0,006; железо аммиачное лимоннокислое – 0,006; ЭДТА – 0,0011; Na_2CO_3 – 0,02; смесь микроэлементов (А 5) (1мл) (780 лк, $t = 24 \pm 1^\circ C$) (Stanier et al., 1971).

Перечисленные культуры цианобактерии и стрептомицета служили компонентами экспериментальной ассоциации. Для получения циано-актиномицетной ассоциации использовали инокулюмы монокультур стрептомицета, выращенного в погруженной культуре на среде Г 1 в течение 7 сут, и цианобактерии, выращенной в течение 3 недель на среде BG-11. Компоненты перемешивали (начальное соотношение биомасс 1:1) и выращивали в модифицированной жидкой среде BG-11_м в стационарном

состоянии в люминостате при постоянном освещении (780 лк, $t 24 \pm 1^\circ C$). Модификация среды BG-11_м заключалась в отсутствии микроэлементов. Использование среды BG-11_м без микроэлементов проводили на основании положения о том, что успешное получение искусственных ассоциаций возможно в условиях, обеспечивающих рост их компонентов, но являющихся не оптимальными для партнеров при отдельной инкубации (Kalakoutskii et al., 1990).

В качестве минеральной основы для культивирования циано-актиномицетной ассоциации или составляющих ее монокультур использовали фракции размерностью 1–10 мкм биотит-вермикулитового состава, полученные из музея кафедры физики и мелиорации почв факультета почвоведения МГУ им. М. В. Ломоносова (рис. 1). Биотит диагностирован по наличию островершинных рефлексов, дающих целочисленную серию отражений $d_{001} - 10,07$ (3990) – $d_{002} - 5,03$ (197), $d_{003} - 3,37$ (3806), сохраняющих свои значения после сольватации образцов этиленгликолем и прокаливания при температуре $550^\circ C$ в течение 2 ч. Диагностика вермикулита основана на наличии рефлексов $d_{001} - 14,25$ (5661) – $d_{002} - 7,21$ (61) – $d_{003} - 4,81$ (192) – $d_{004} - 3,57$ (348). Рефлексы вермикулита островершинные, симметричные, что говорит о высокой степени совершенства кристаллической структуры минерала.

Опыт проводили в стеклянных стаканах – фильтрах с впаиванной пористой мембраной, на которую сначала накладывали фильтровальную бумагу, затем помещали слой (около 5 мм) минеральной основы. На минеральную основу в разных вариантах опыта наносили биомассу микроорганизмов: монокультуру цианобактерии *A. variabilis*, слой биомассы монокультуры актиномицета *S. rubiginosohelvolus* (около 5 мм), слой биомассы циано-актиномицетной ассоциации. Для поддержания роста монокультуру актиномицета прокапывали питательной средой Г 1, а монокультуру цианобактерии и циано-актиномицетную ассоциацию – средой BG-11_м (1 раз в 2–3 дня) постоянно в течение двух месяцев. При этом свежая культуральная среда не только обеспечивала рост культур, но и вымывала продукты метаболизма в слой минеральной фракции.

Исследовали образцы минерального субстрата разной степени удаленности от биомассы микроорганизмов. Так, выделяли зону контакта минерального субстрата и роста микроорганизмов (1 мм); зону, максимально удаленную от контакта минерального субстрата и роста микроорганизмов (1 мм); и, по возможности, промежуточную зону.

Минералогический состав образцов определяли рентген-дифрактометрическим методом с помощью универсального рентген-дифрактометра XZG фирмы Carl Zeiss Jena (Германия). Режим работы аппарата в процессе исследований выдерживался постоянным (30 кВ, 40 мА). Использовано медное излучение, фильтрованное никелем. Рентген-дифрактограммы по-

лучены для воздушно-сухих образцов, насыщенных этиленгликолем и прокаленных при температуре 550 °С в течение 2 ч. Диагностику минералов проводили по общепринятым руководствам (Браун, 1965; Костов, 1971; Градусов, 1976; Соколова и др., 2005).

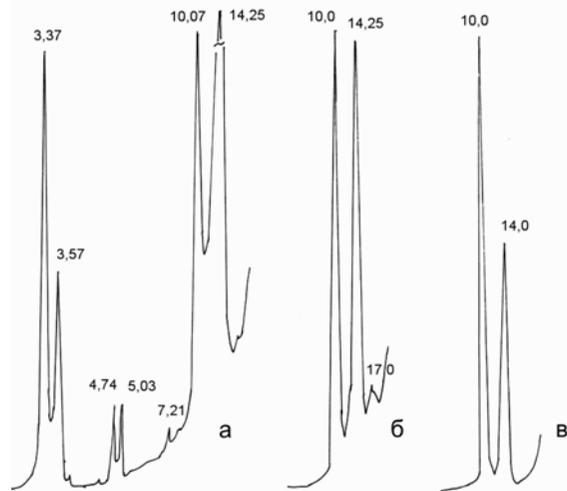


Рис. 1. Рентген-дифрактограммы минерального субстрата, исходный образец. Условные обозначения здесь и далее: а – образец в воздушно-сухом состоянии; б – образец после сольватации этиленгликолем; в – образец после прокаливании при температуре 550 °С в течение 2 ч.

В процессе роста циано-актиномицетной ассоциации в контактной зоне с минералами отмечается существенная деструкция вермикулита (рис. 2 I). Остатки этого минерала фиксируются по наличию рефлекса в области $d_{001} = 14,11 \text{ \AA}$. На рентген-дифрактограммах прослеживается асимметрия рефлекса d_{001} – биотита в сторону малых углов, что является свидетельством слабых трансформационных преобразований биотита деградационного типа. Асимметрия рефлекса $d_{001} = 10 \text{ \AA}$ образца, сольватированного этиленгликолем, также является доказательством формирования деградированных структур биотита с образованием промежуточных фаз биотит-вермикулитового типа. При прокаливании произошла полная дегградация структуры смешанослойного образца с формированием острровершинного 10 \AA рефлекса без асимметрии.

В промежуточной зоне также произошло существенное преобразование минералов, особенно вермикулита, интенсивность рефлексов которого снизилась на десятки порядков (рис. 2 II). Сольватация образцов этиленгликолем позволила выделить промежуточную фазу трансформационных преобразований в области $12,3 \text{ \AA}$, принадлежащих смешанослойной фазе. Прокаливание образца при температуре 550 °С приводит к сжатию решет-

ки минералов до 10 \AA , дающих четкий асимметричный рефлекс. В зоне, максимально удаленной от места контакта ассоциации с минеральным субстратом, отмечается более выраженная сохранность вермикулита и биотита (рис. 2 III).

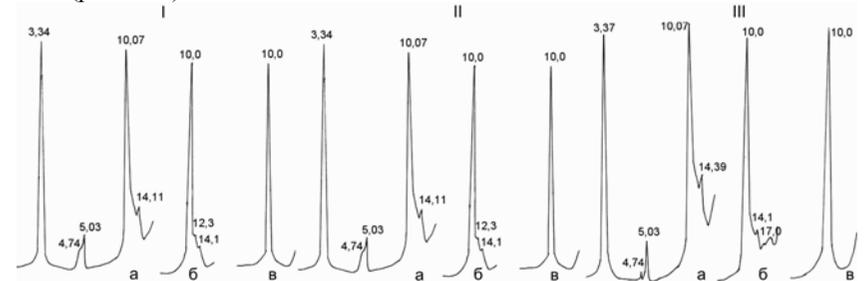


Рис. 2. Рентген-дифрактограммы минерального субстрата после культивирования циано-актиномицетной ассоциации *A. variabilis* ATCC 29413 и *S. rubiginosohelvolus* шт. №1, отобранного в: I – зоне контакта, II – вне зоны контакта, III – месте, максимально удаленном от зоны контакта роста ассоциации и минерального субстрата.

Здесь формируется промежуточная фаза слюда-сметитового типа (рис. 2 IIIб), доказывающая трансформационное преобразование биотитов до стадии более продвинутой слюда-сметитовой, а не слюда-вермикулитовой, как в вышеизложенных описаниях.

Рост монокультуры цианобактерий на минеральном субстрате затронул в меньшей мере кристаллические решетки минералов, чем рост циано-актиномицетной ассоциации. В образцах минералов зоны контакта с цианобактерией снижается количество вермикулита (рис. 3 I, табл. 1, 2), но не фиксируются трансформационные преобразования биотита. В образцах вне зоны контакта с цианобактерией отмечается менее существенное изменение структур вермикулита и отсутствие изменений в структуре биотита (рис. 3 II).

Выращивание монокультуры актиномицета привело к интересному трансформационному преобразованию биотитовых структур, а именно формированию упорядоченной слюда-вермикулитовой фазы, диагностика которой основывается на наличии целочисленных отражений кратных $24,0 \text{ \AA}$ ($24,0$; $12,0$ и т. д.) (рис. 4).

А.П. Афанасьев (1973) заметил явления формирования подобных структур в биотит-флогопитах вермикулитовых месторождений Кольского п-ова. Этот процесс протекает по схеме: флогопит → гидрофлогопит (смешанослойный, упорядоченный) → вермикулит. Автор поднимает вопрос о выщелачивании биотита и его промежуточных форм и образовании вермикулита по биотиту. По его мнению, при наличии в водах или, как в нашем случае, средах питания некоторых количеств калия и натрия (среда Г 1, ВГ–11_М) процесс трансформации биотита в вермикулит не происходит.

Поэтому наиболее сильное влияние продукты жизнедеятельности микробных сообществ оказывают на вермикулит. Причем это воздействие максимально для циано-актиномицетных ассоциаций по сравнению с монокультурами.

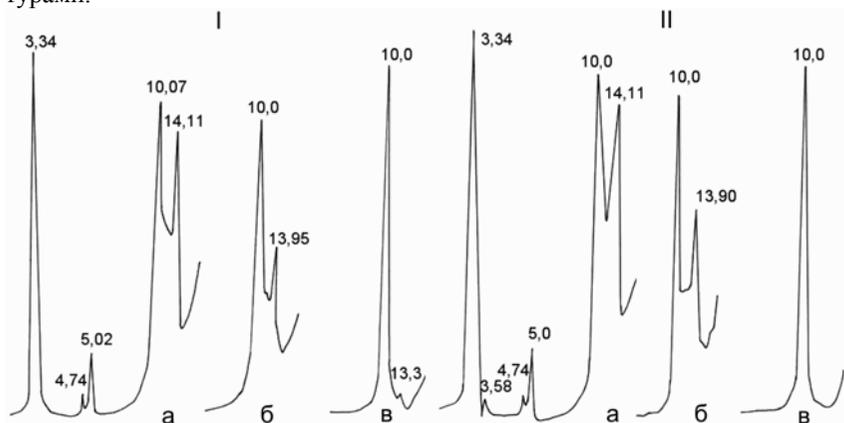


Рис. 3. Рентген-дифрактограммы минерального субстрата после культивирования монокультуры цианобактерии *A. variabilis* ATCC 29413, отобранного в: I – зоне контакта, II – вне зоны контакта роста цианобактерии и минерального субстрата.

Таблица 1. Некоторые кристаллохимические показатели минералов эксперимента

Зона	Интенсивность рефлексов (Å) минералов, мм							биотит I_{10} / I_5	вермикулит $I_{14,3} / I_{4,74}$
	14,3	10,0	7,2	5,0	4,74	3,34	сумма		
Образец исходного минерального субстрата									
	365	285	13	40	45	273	1021	7,1	8,1
Образец минерального субстрата после выращивания циано-актиномицетной ассоциации									
Контакта	56	275	–	40	12	274	657	6,9	4,7
Промежуточная	41	255	–	40	18	285	639	6,4	2,3
Удаленная	65	285	–	40	6	255	651	7,1	10,8
Образец минерального субстрата после выращивания монокультуры цианобактерии									
Контакта	150	250	–	44	11	295	750	5,7	13,6
Удаленная	217	245	–	45	13	255	775	5,4	16,7
Образец минерального субстрата после выращивания монокультуры актиномицета									
Контакта	230	260	–	43	17	270	820	6,1	13,5

Таблица 2. Отношение интенсивности рефлекса к сумме интенсивностей всех рефлексов минерального субстрата, %

Зона	Интенсивность рефлексов (Å) минералов					
	14,3	10,0	7,2	5,0	4,74	3,34
Образец исходного минерального субстрата						
	35,8	28,0	1,3	3,9	4,4	26,7
Образец минерального субстрата после выращивания циано-актиномицетной ассоциации						
Контакта	8,5	42	0	6	1,8	41,7
Промежуточная	6,4	40	0	6,3	2,7	44,6
Удаленная	9,9	43,8	0	6,1	1	39,2
Образец минерального субстрата после выращивания монокультуры цианобактерии						
Контакта	20	33	0	6	1,6	39,4
Удаленная	28	31,6	0	5,8	1,7	32,9
Образец минерального субстрата после выращивания монокультуры актиномицета						
Контакта	28	31,6	0	5,2	2,1	32,9

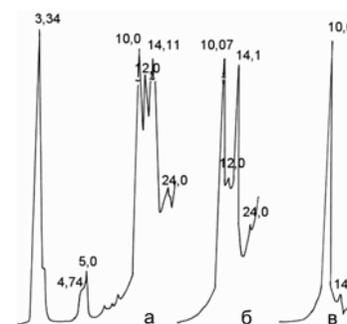


Рис. 4. Рентген-дифрактограммы минерального субстрата после культивирования монокультуры актиномицета *S. rubiginosohelvolus* шт. №1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Процесс деструкции минерального субстрата под влиянием роста монокультур актиномицетов и цианобактерий происходит менее интенсивно по сравнению с влиянием циано-актиномицетной ассоциации. Выращивание монокультур – цианобактерий и актиномицета – привело к изменениям соотношения количеств двух фаз минералов. Монокультуры в первую очередь «потребляют – съедают» вермикулитовый минерал, сокращая его количество. Выборочное потребление элементов жизнеобеспечения актиномицетами загрязняет и биотит, формируя упорядоченные смешанно-слоида-вермикулитовые образования.

Наиболее сильные изменения в минеральном субстрате нами зафиксированы при выращивании циано-актиномицетной ассоциации, которая фактически уничтожила (деструктурировала) вермикулит и в некоторых зонах способствовала трансформации биотита в биотит-вермикулитовое образование.

Подобные преобразования глинистых минералов, выраженные в разной степени, повсеместно наблюдаются и в современных почвах. Под влиянием микробных сообществ за короткий промежуток времени глинистые минералы любой породы претерпевают изменения, которые можно разбить на несколько этапов. На первом этапе взаимодействие живого вещества с минералами происходит разупорядочивание структуры минерала, что обычно и фиксируется во всех поверхностных горизонтах почв и доказывается снижением интенсивности рефлексов минералов. При наличии трехслойных силикатов наблюдаются трансформационные преобразования деградиационного типа с потерей части элементов питания, служащих источником существования любого живого сообщества, в том числе микробного. Можно предположить, что подобные процессы преобразования породы могли происходить и в докембрии. При этом формировались субстраты, на которых в дальнейшем поселялись более высокоорганизованные растения, которые, в свою очередь, своими корневыми выделениями ускорили процесс образования почвенного слоя.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Афанасьев А.П. О механизмах выветривания магнезиально-железистых слюд. // Кора выветривания. Вып. 18. М.: Наука, 1973. С. 89–100.

Браун Т. Рентгеновские методы изучения и структура глинистых минералов. М.: Мир, 1965. 600 с.

Вернадский В.И. Очерки геохимии. М.–Л.–Грозный–Новосибирск, 1934. 380 с.

Гаузе Г.Ф., Преображенская Т.П., Свешникова М.А., Терехова Л.П., Максимова Т.С. Определитель актиномицетов. М.: Наука, 1983. 245 с.

Глазовская М.А., Добровольская Н.Г. Геохимические функции микроорганизмов. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1984. 153 с.

Градусов Б.П. Смешанослойные минералы в почве. М.: Наука, 1976. 126 с.

Домрачева Л.И. «Цветение» почвы и закономерности его развития. Сыктывкар, 2005. 336 с.

Звягинцев Д.Г., Зенова Г.М. Экология актиномицетов. М.: ГЕОС, 2001. 257 с.

Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2005. 445 с.

Каравайко Г.И. Микробная деструкция силикатных минералов. / Тр. ин-та микробиологии им. С.Н. Виноградского. Вып. XII. Юбилейный сборник к 70-летию института. Отв. ред. В. Ф. Гальченко. М.: Наука, 2004. 423 с.

Костов И. Минералогия. М.: Мир, 1971. 584 с.

Омарова Е.О. Экспериментальные циано-актиномицетные ассоциации: дисс. ... канд. биол. наук. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2007. 141 с.

Польнов Б.Б. О геологической роли организмов // Вопросы географии. Сб. 33. 1953. С. 45–64.

Польнов Б.Б. Геологические и биохимические циклы в почвообразовании. Избр. тр. М.: Изд-во АН СССР, 1956. 751 с.

Соколова Т.А., Дронова Т.Я., Толпецкая И.И. Глинистые материалы в почвах. Тула: Гриф и К, 2005. 336 с.

Сушкина Н.Н., Цюрупа И.Г. Микрофлора и первичное почвообразование. М.: Изд-во Моск. ун-та, 1973. 158 с.

Цюрупа И.Г. Роль микроорганизмов в выветривании алюмосиликатов и образовании подвижных легкомигрирующих соединений // Кора выветривания. Вып. 13. М.: Недра, 1973. С. 3–38.

Структурно-функциональная роль почв и почвенной биоты в биосфере. М.: Наука, 2003. 364 с.

Чижикова Н.П., Зенова Г.М., Манучаров А.С., Омарова Е.О., Орлеанский В.К. Изменения в структуре глинистых минералов под влиянием альгобактериальных сообществ // Почвоведение. 2005. № 8. С. 1012–1015.

Ehrlich H.L. How microbes influence mineral growth and dissolution. // Chemical Geology. 1996. V. 132. P. 5–9.

Kalakoutskii L.V., Zenoza G.M., Soina V.S., Likhacheva A.A. Associations of Actinomycetes With Algae. // Actinomycetes. 1990. V. 1(2). P. 27–42.

Omarova E.O., Zenoza G.M., Chizhikova N.P., Orleanskiy V.K. Role of Al-gobacterial Associations in Soil Forming Process. // Abstracts of 18th World Congress of Soil Science «Frontiers of Soil Science-Technology and the Information Age». Philadelphia, Pennsylvania, USA. 2006. P. 409.

Stanier R.Y., Kunisawa R., Mandel M., Cohen-Bazire G. Purification and properties of unicellular blue-green algae (order Chlorococcales) // Bacteriol. Rev. 1971. V. 35. P. 171–205.