

БИОТИЧЕСКИЕ СВЯЗИ В ДИСПЕРСНЫХ ГРУНТАХ: КЛАССИФИКАЦИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ЗНАЧЕНИЕ

BIOTIC STRUCTURAL BINDING IN DISPERSIVE SOILS: CLASSIFICATION, MORPHOLOGY, SIGNIFICANCE

ИВАНОВ П. В.

Научный сотрудник кафедры инженерной и экологической геологии геологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, к.г.-м.н., г. Москва, pvivanov@yandex.ru

САФОНОВ А. В.

Старший научный сотрудник Института физической химии и электрохимии им. А.Н. Фрумкина РАН, к.х.н., г. Москва

НИКОЛАЕВА С. К.

Доцент кафедры инженерной и экологической геологии геологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, к.г.-м.н., г. Москва, sk.niko@geol.msu.ru

МАНУЧАРОВА Н. А.

Профессор кафедры биологии почв факультета почвоведения Московского государственного университета им. М.В. Ломоносова, д.б.н., г. Москва

ЧЕРНОВ М. С.

Старший научный сотрудник кафедры инженерной и экологической геологии геологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, к.г.-м.н., г. Москва, chernov@geol.msu.ru

БУРДЕНКО Т. В.

Студент кафедры инженерной и экологической геологии геологического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова, г. Москва

Ключевые слова:

дисперсные грунты; микробный комплекс; живая составляющая; структурообразование; структурные связи; микробиологические процессы.

Аннотация

В статье рассматриваются вопросы биогенного структурообразования в дисперсных грунтах. Среди биотических структурных связей предлагается выделять биогенные, образованные при непосредственном участии клеток микроорганизмов, и биогенно обусловленные, формирующиеся за счет продуктов метаболизма микроорганизмов. Проведено лабораторное моделирование процессов формирования биотических структурных связей в дисперсных песчаных и глинистых грунтах. С помощью растрового электронного микроскопа изучена морфология этих связей, описан характер взаимодействия живых клеток с твердыми структурными элементами грунта, а также исследовано

IVANOV P. V.

Researcher of the Department of Engineering and Ecological Geology, Faculty of Geology, Lomonosov Moscow State University, PhD (Candidate of Science in Geology and Mineralogy), Moscow, pvivanov@yandex.ru

SAFONOV A. V.

Senior researcher of the Frumkin Institute of Physical Chemistry and Electrochemistry RAS, PhD (Candidate of Science in Chemistry), Moscow

NIKOLAYEVA S. K.

Assistant professor of the Department of Engineering and Ecological Geology, Faculty of Geology, Lomonosov Moscow State University, PhD (Candidate of Science in Geology and Mineralogy), Moscow, sk.niko@geol.msu.ru

MANUCHAROVA N. A.

Professor of the Department of Soil Biology, Faculty of Soil Science, Lomonosov Moscow State University, DCs (Doctor of Science in Biology), Moscow

CHERNOV M. S.

Senior researcher of the Department of Engineering and Ecological Geology, Faculty of Geology, Lomonosov Moscow State University, PhD (Candidate of Science in Geology and Mineralogy), Moscow, chernov@geol.msu.ru

BURDENKO T. V.

Student of the Department of Engineering and Ecological Geology, Faculty of Geology, Lomonosov Moscow State University, Moscow

Keywords:

dispersive soil; microbial complex; biotic component; structural binding; microbial processes.

Abstract

The paper covers the issues of biotic structural binding in dispersive soils. Among biotic structural bonds we propose to emphasize biogenic (caused by microflora) and biogenic-dependent (caused by products of microbial metabolism) structural bonds. Laboratory modeling of the formation of biotic structural bonds was performed on a range of sands and clays. Using Scanning electronic microscopy the morphology of these bonds was observed; the interaction between solid soil particles and microbial cells was described; the biofilms on clay particles were studied. Experiments showing the significance of biotic bonds in macroaggregates formation and decrease of stress-strain properties of soils are discussed.

строение биопленок на глинистых агрегатах в грунтах. Опытным путем показано, что биогенное структурообразование приводит к агрегации частиц в крупные агрегаты, а также к снижению показателей прочностных свойств грунтов.

Введение

Поведение грунтов (в том числе в основании инженерных сооружений) во многом определяется характером взаимодействия и связей между их отдельными структурными элементами. Традиционно в грунтоведении принято разделение структурных связей в грунтах по природе взаимодействия между частицами на физические, физико-химические и химические. Химические связи обусловлены взаимным притяжением молекул и атомов. Физические связи формируются под воздействием физических полей различной природы (электрического, магнитного, механических напряжений и др.). Физико-химические связи возникают за счет физико-химических поверхностных процессов и явлений [2].

Наряду с этими типами структурных связей в грунтоведении принято выделять биотические (биогенные) структурные связи. Под ними подразумеваются любые связи, образованные с участием живой составляющей грунта. При этом различают биоэлектростатические структурные связи, формирующиеся за счет заряда живых и мертвых клеток и их притяжения частицами грунта, биохимические структурные связи за счет продуктов метаболизма организмов, а также фитогенные и зоогенные структурные связи, образованные в результате жизнедеятельности растений и животных соответственно [2].

По мнению авторов, выделение в одном ряду с физическими, физико-химическими и химическими связями биотических не является логически правильным. Связи с участием живых клеток и продуктов их метаболизма могут образовываться за счет физического, физико-химического и химического взаимодействий. Так, клетки бактерий и мицелий грибов и актиномицетов могут адсорбироваться на твердых частицах грунта (физико-химические связи) для извлечения необходимых питательных элементов [5, 16, 18, 21]. За счет имеющегося у клеток заряда образуются биоэлектростатические структурные связи (физическое взаимодействие) [2]. При развитии в грунте мицелиальных организмов мицелий может механически опутывать частицы и тем самым скреплять их [16, 18, 21]. Вещества, выделяющиеся в ходе метаболизма микроорганизмов, могут проявлять склеивающие или поверхностно-активные свойства, а также быть агрессивными к другим компонентам грунта [4, 5, 17], способствуя тем самым как образованию, так и разрушению контактов между его твердыми структурными элементами. Под воздействием микроорганизмов в грунтах могут формироваться или разрушаться цементирующие вещества [15], что определяет возникновение и распад химических связей между частицами грунта.

Таким образом, структурные связи биогенного происхождения имеют различную природу, и среди них целесообразно выделять химические, физические и физико-химические. Следовательно, при классифицировании структурных связей в грунтах на первом этапе возможно их разделение на биотические и абиотические, а внутри этих двух типов – на химические, физические и физико-химические.

Связи биотического происхождения к настоящему времени изучены слабо. Исследование механизмов их формирования, вопросов морфологии, прочности, развития, устойчивости при внешних воздействиях, изменения в процессе преобразования состава и свойств грунта во времени является актуальной задачей грунтоведения. Многообразие микроорганизмов в грунтах и процессов их жизнедеятельности обуславливает сложности в определении природы конкретных взаимодействий, выделения и изучения отдельных биотических контактов. Считается, что биопленка, формирующаяся на поверхности твердых грунтовых частиц, через которую могут взаимодействовать структурные элементы грунта, имеет сложное строение и состоит из живых и мертвых клеток микроорганизмов, продуктов их метаболизма, органического вещества субстратов, а также катионов порового раствора, мобилизованных за счет микробной жизнедеятельности [3]. Структурные элементы грунта, покрытые единой биопленкой, могут контактировать в нескольких точках. Каждый индивидуальный контакт может осуществляться как через живые и мертвые клетки, так и через продукты метаболизма, а также за счет неорганических агентов. Многообразие этих контактов внутри индивидуальной биопленки формирует биотическую структурную связь между этими элементами.

Поэтому в настоящей работе предлагается выделение подтипов биотических структурных связей не по природе взаимодействия между частицами, а относительно главного фактора формирования такой связи. Тогда *биогенными* структурными связями следует называть структурные связи, образованные при непосредственном участии клеток микроорганизмов за счет явлений различной природы – наличия заряда и формирования электростатических связей, физико-химической адгезии клеток к частицам грунта, механического спутывания частиц мицелиальными клетками и т.д. Под *биогенно обусловленными структурными связями* следует понимать структурные связи химической и физико-химической природы, сформированные за счет выделения различных продуктов метаболизма, в том числе биоцемента. Многообразие этих структурных связей внутри одной биопленки вокруг двух твердых структурных элементов грунта формирует биотический контакт между этими частицами.

Считается, что в 1 г грунтов даже глубоких горизонтов содержится порядка 10^6 клеток бактерий [2, 3]. При этом в таких грунтах ведущую роль играют абиогенные структурные связи. По мере убывания содержания кислорода и органического вещества с глубиной в грунтах наблюдается уменьшение численности метаболической активности микроорганизмов,

следовательно, и количества биогенных и биогенно обусловленных связей и контактов. Однако если первый тип связей обусловлен наличием химически активных центров на поверхности клеток (компонентов клеточной стенки, экзополисахаридов и т.д.) и его вклад может изменяться не столь существенно, то второй тип обусловлен именно физиологическими процессами в активных живых клетках и требует наличия физиологически активной части сообщества, следовательно, его вклад будет уменьшаться более резко.

При смене условий микроорганизмы могут быстро подстраиваться под новые параметры среды обитания, существенно увеличивая концентрацию клеток, активность и зачастую изменяя тип метаболических процессов, влияя тем самым на состав, строение и свойства грунтов. Изменение условий обитания микроорганизмов происходит не только при привнесении в грунт дополнительных питательных веществ (при загрязнении грунтов органическими и неорганическими веществами, например нефтепродуктами, канализационными стоками или минеральными удобрениями), но и за счет изменения температурного, влажностного режимов и концентрации кислорода в порах (например, при проходке горных выработок и вскрытии котлованов при строительстве). В результате микробиологического воздействия аборигенной и привнесенной биоты преобразуются абиотические и формируются новые биотические структурные связи, изменяются состав и строение грунтов, что может сказаться на показателях их свойств, в том числе прочностных и деформационных.

Поскольку структурные особенности и характер контактов между твердыми элементами во многом определяют свойства грунтов, интерес представляет изучение морфологии и механизмов формирования биотических структурных связей в грунтах и их влияния на строение и свойства грунтов. Целью работы являлось лабораторное моделирование биогенного структурообразования в дисперсных грунтах, изучение морфологии биотических структурных связей и оценка их влияния на строение и свойства грунтов.

Объекты исследования и методы

Исследования проводились на серии образцов природных грунтов различной дисперсности. Были изучены: мелкий флювиогляциальный песок четвертичного возраста ($f, lg Q_{I\text{dns}} - Q_{II\text{ms}}$), отобранный на площадке строительства жилого дома в г. Долгопрудном; пылеватый аллювиальный песок (aQ_{III}), отобранный на II надпойменной террасе р. Томь в окрестностях г. Томска; аллювиальный суглинок (aQ_{III}), отобранный на I надпойменной террасе р. Москвы в районе г. Звенигорода; морская глина юрского возраста ($J_{\text{ох}}$), отобранная на площадке строительства ст. м. «Окская» в г. Москве; а также бентонитовые глины Зырянского (N_1) и Таганского ($Pg_{1,2}$) месторождений.

Методом люминесцентной микроскопии с использованием красителя, реагирующего с ДНК, [9] оценивалась общая численность микроорганизмов

в изученных грунтах. При таком подсчете получаемое значение биомассы микроорганизмов включает активные клетки, организмы в состоянии анабиоза и отмершие клетки (все вещество, содержащее ДНК). Концентрация клеток исходного природного (аборигенного) микробного комплекса в образцах составляла 0,03–0,21 мг/г грунта (табл. 1); наибольшая численность микроорганизмов характерна для аллювиального суглинка, отобранного у поверхности и содержащего значительное количество органического вещества (до 1%).

Лабораторное моделирование процессов формирования биотических структурных связей в грунтах проводили активированием их природных микробных комплексов органическими соединениями или вносили активные культуры микроорганизмов. К части образцов (аллювиальный суглинок, морская глина и флювиогляциальный песок) добавляли 0,1 н раствор глюкозы в количестве 1 мл на 10 г грунта.

К образцам бентонитовых глин и аллювиального песка добавляли подземную воду, отобранную на территории АО «Сибирский химический комбинат» (АО «СХК»), г. Северск в Томской обл. В этот водоносный горизонт производят закачку нитратсодержащих отходов. Природный микробный комплекс водоносного горизонта при внесении дополнительных питательных веществ способен практически полностью устранять нитратное загрязнение на небольшом участке водотока [14]. Исходное содержание микроорганизмов в воде составляло 0,01 мг/мл, что является достаточно высоким показателем для жидкой фазы. Дополнительно в грунты вносили питательные вещества – раствор глюкозы (2 г/л), ацетата (2 г/л) и нитратов (1 г/л). При такой обработке сторонние микроорганизмы дополняли аборигенный микробный комплекс, формируя новое микробиологическое сообщество с высокой численностью и физиологической активностью клеток.

Формирующиеся при активизации микробного комплекса биотические структурные связи изучались с помощью растрового электронного микроскопа (РЭМ). Были проведены две серии микроскопии с различной пробоподготовкой.

Часть исследований проводилась на кафедре инженерной и экологической геологии МГУ им. М.В. Ломоносова на микроскопе LEO 1450VP (Carl Zeiss, Германия). Аллювиальный плейстоценовый суглинок и морская глина юрского возраста высушивались на воздухе, к порошку грунтов добавляли 0,1 н раствор глюкозы и при влажности оптимального уплотнения (дополнительно определенной экспериментально) пасту помещали в форму и уплотняли под нагрузкой 3 МПа в течение 5 минут. Образцы выстаивались 7 суток в воздушно-влажных условиях (в эксикаторе над водой), после чего из образца вырезали шайбу высотой около 0,5 см. Далее образцы подвергались вакуумной морозной сушке – быстрому замораживанию (с помощью жидкого азота) с последующей сублимацией льда в условиях вакуума. Такая пробоподготовка способствует сохранению исходной структуры образца при удалении воды [10]. При этом не до конца ясно, как вакуумная морозная сушка

влияет на живые клетки. Известно, что лиофильную сушку широко применяют в биологии и медицине при изучении многоклеточных тканей [13], однако в микробиологической практике существует мнение, что при сублимации разрушаются клеточные стенки бактерий. На этом явлении, в частности, основан метод определения биомассы грунтов путем морозной сушки образца и последующего определения растворимого органического вещества [20]. Таким образом, следует предположить, что при лиофильной сушке отдельные клетки микроорганизмов будут разрушаться, в то время как многоклеточные ткани и клетки с более плотными стенками (в том числе гифы грибов и мицелий актиномицетов, а также споры грибов и бактерий) будут сохраняться в образце.

К образцам бентонитовых глин добавляли подземную воду и питательный раствор, получая грунтовую суспензию. Пробу для микроскопии высушивали на воздухе непосредственно перед проведением анализа. В этом случае нарушалась структура глинистого грунта (происходила осадка), при высушивании твердые частицы приобретали ориентацию и агрегировались в крупные агрегаты, при этом микроорганизмы, адсорбированные на твердых частицах, в основном сохраняли свое положение и форму. Исследования проводились на микроскопе Vega//Tescan (Чехия) в Палеонтологическом институте РАН. Флювиогляциальные и аллювиальные пески высушивались на воздухе.

Для оценки влияния биогенного структурообразования в грунтах на их строение и свойства также проводили анализ микроагрегатного состава грунтов пипеточным методом с пробоподготовкой по методике Н.А. Качинского (длительное взбалтывание с водой) [12]. Исследования проводились на образцах исходных грунтов, в момент максимальной микробной активности, а также после спада микробной активности на 28–30-е сутки после внесения питательного вещества.

С целью изучения влияния жизнедеятельности

микроорганизмов на прочностные характеристики песчаных грунтов проводились сдвиговые испытания с помощью сдвигового прибора СПКА измерительно-вычислительного комплекса АСИС-1 «Геотек» (Россия). Испытания осуществлялись на седьмые и тридцатые сутки с момента привнесения в грунт раствора глюкозы, а также на исходных образцах (без глюкозы). Применялась схема быстрого недренированного сдвига, испытание происходило при постоянной скорости деформации (2 мм/мин). Сдвиговые испытания проводились на грунтах средней плотности. На воздушно-сухом образце песков были определены плотности в максимально рыхлом и плотном сложениях [12]. Их среднее значение принималось как плотность скелета грунта (при практически нулевой гигроскопической влажности), которая пересчитывалась на плотность сложения грунта с учетом задаваемой в опыте влажности. Влажность грунта при трех определениях была постоянной.

Для искусственно уплотненных образцов на основе аллювиального плейстоценового суглинка и морской глины юрского возраста для различных временных интервалов (0, 4, 7, 10, 14, 21, 24 и 30 суток) определяли массу, геометрические размеры и влажность (весовым методом), рассчитывали плотность сложения и скелета, а также пористость и коэффициент водонасыщения образцов. На прессе МП-2С (Россия) определяли временное сопротивление образцов одноосному сжатию. Определяли прочность трех образцов, и рассчитывалось среднее значение. По результатам испытания строились кривые изменения временного сопротивления одноосному сжатию в ходе сукцессии сообщества микроорганизмов.

Результаты и их обсуждение

Преобразование микробного комплекса исследуемых грунтов

При однократном внесении питательного вещества (раствора глюкозы) происходила активизация

Таблица 1

Биомасса микробных комплексов в грунтах до и после искусственной активизации			
ОБРАЗЕЦ	Общая биомасса, мг/г грунта		Коэффициент прироста биомассы
	аборигенного микробного комплекса	при максимальной микробной активности	
Песок мелкий f ₁ lgQ ₁ dns-Q ₁₁ ms	0,08	0,40	5
Песок пылеватый aQ _{III}	<0,01*	0,07*	7
Суглинок легкий пылеватый aQ _{III}	0,21	0,40	2
Глина легкая пылеватая J ₃ ox	0,08	0,20	2,5
Глина бентонитовая N ₁ (Зырянское месторождение)	<0,01*	0,07*	7
Глина бентонитовая Pg _{1,2} (Таганское месторождение)	<0,01*	0,06*	6

* Примечание: при подсчете биомассы (на световом микроскопе) учитывались только активные клетки.

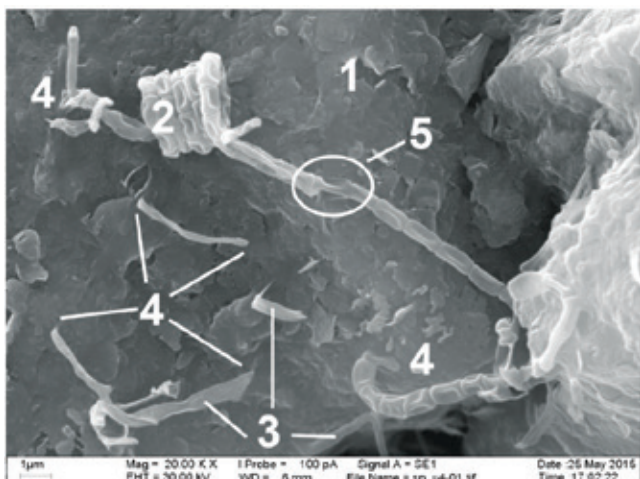


Рис. 1. Множественные контакты микроорганизмов с агрегатом в образце аллювиального суглинка: 1 – грунтовый микроагрегат; 2 – колония клеток бактерий, формирующая цепь и спирали; 3 – мицелий микроорганизмов; 4 – места проникновения клеток в микроагрегат; 5 – адгезионный контакт отдельной клетки колонии с микроагрегатом (пробоподготовка – вакуумная морозная сушка) (фото М.С. Чернова)

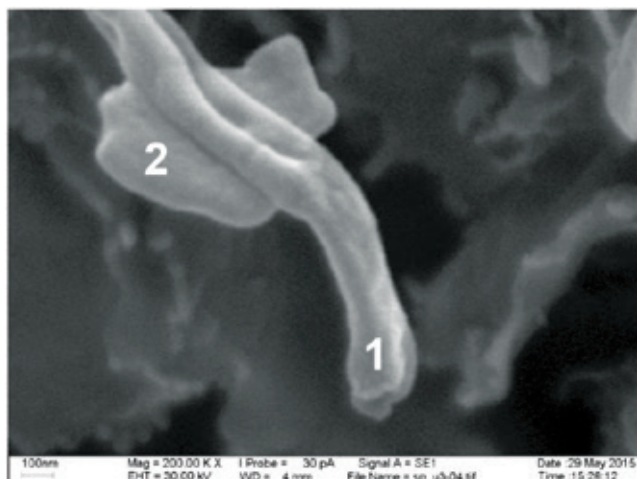


Рис. 2. Мицелиальная колония микроорганизмов (1), плотно прикрепившаяся к твердой частице (2) в образце аллювиального суглинка на 7-е сутки после увлажнения глюкозой (пробоподготовка – вакуумная морозная сушка) (фото М.С. Чернова)

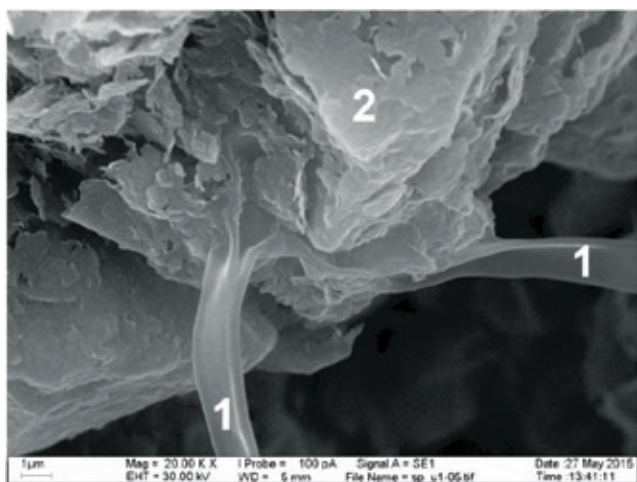


Рис. 3. Взаимодействие крупного агрегата (2) и нитевидной клетки (колонии клеток) микроорганизмов (1) в образце аллювиального суглинка (пробоподготовка – вакуумная морозная сушка) (фото М.С. Чернова)

микробного комплекса с отчетливым максимумом биомассы на 7–10-е сутки после обработки (табл. 1). После потребления глюкозы (7–14-е сутки) вследствие отсутствия других питательных веществ клетки так же быстро отмирали или переходили в неактивное состояние. После 21–30 суток эксперимента в грунтах формировался устойчивый микробный комплекс с активностью и биомассой в 1,5–2,0 раза выше, чем в контрольных образцах [7]. Вероятно, микробный комплекс после стрессовых преобразований, связанных сначала с избытком, а затем нехваткой органических веществ, приходил в некоторое состояние постоянной численности и активности, когда процессы деления, отмирания клеток и разложения органического вещества оказывались сбалансированы.

Привнесение в грунты питательных веществ и активного микробного комплекса (подземных вод территории ОАО «СХК») привело к постепенной активизации микробного сообщества, к 20–25-м суткам после обработки количество биомассы вновь сформировавшегося микробного сообщества оказалось в 6–7 раз больше, чем в исходном грунте (см. табл. 1).

Степень активизации микробного комплекса путем добавления питательных веществ была максимальна в грунтах с незначительным количеством природного органического вещества (песчаные грунты и мономинеральные бентонитовые глины). В аллювиальном песке при люминесцентной микроскопии отмечено большое количество спор, которые при внесении питательного вещества активно развивались. Наименьший отклик на внесение глюкозы и потенциальную микробиологическую активность проявлял грунт с большим количеством органического вещества растительного происхождения – аллювиальный плейстоценовый суглинок, отобранный в зоне современного почвообразования. Органическое вещество, которое содержалось в грунте, являлось легкодоступным для микроорганизмов, что обуславливало высокую биомассу в исходном грунте. Привнесение дополнительных питательных веществ активизировало микробный комплекс в меньшей степени, чем в грунтах с незначительным содержанием органического вещества.

Морская глина юрского возраста содержит большое количество органического вещества, которое в процессе диагенеза преобразовалось в более сложные соединения. Увлажнение сухого порошка раствором глюкозы, вероятно, привело к частичному растворению этого вещества, оно стало доступным для микроорганизмов, поэтому помимо искусственно внесенного питательного вещества в грунте находились дополнительные источники, и, как и в случае с аллювиальным плейстоценовым суглинком, абсолютное значение коэффициента прироста биомассы оказалось низким.

Подобные явления описаны в литературе для почв. Так, микробные комплексы чернозема и серой лесной почвы слабо реагируют на внесение дополнительного питательного вещества хитина, тогда как в пустынных песчаных почвах Монголии наблюдается многократное увеличение численности и активности микроорганизмов [8].

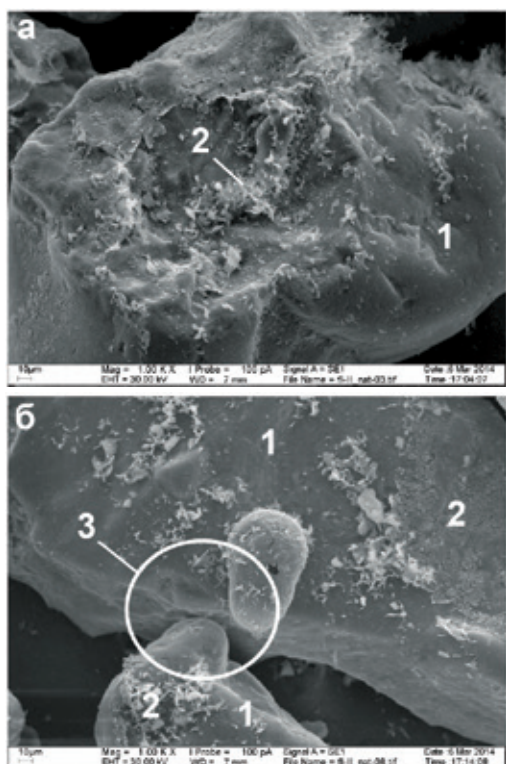


Рис. 4. РЭМ-изображения зерна природного мелкого флювиогляциального песка (а) и точечный контакт между зернами (б): 1 – кварцевое зерно, покрытое тонкой глинистой рубашкой; 2 – места утолщения глинистых рубашек в активных зонах зерен; 3 – точечный контакт между зернами (пробоподготовка – высушивание на воздухе) (фото М.С. Чернова)

Биогенные структурные связи, образованные за счет микробных клеток

При развитии микроорганизмов в грунтах в них формировались биотические структурные связи за счет индивидуальных клеток или через биопленки сложного строения.

Как отмечалось выше, при пробоподготовке методом вакуумной морозной сушки в грунтах, по предположению авторов, разрушались индивидуальные клетки бактерий, частично сохранялись клетки с толстыми стенками, мицелиальные организмы и развитые бактериальные колонии. Следует, однако, отметить, что при анализе РЭМ-изображений не всегда представлялось возможным визуально различить колонии бактериальных клеток, мицелиальные бактерии или грибные гифы. Грибной мицелий определялся по характерному большому размеру (более 2–3 мкм). В некоторых бактериальных колониях были хорошо различимы все отдельные клетки, тогда как в других наблюдались лишь отдельные перегородки между клетками, что позволило сделать вывод, что все образование представлено бактериальными организмами. Колонии, где такие границы не видны, вероятнее всего, являлись мицелием актиномицетов.

По мере развития в грунте клетки плотно прикреплялись к твердым частицам для извлечения необходимых элементов. Такие организмы были хорошо различимы на РЭМ-изображениях – они представляли собой «уплощенные» клетки, проникающие в глинистые рубашки вокруг зерен или агрегаты (рис. 1–5).

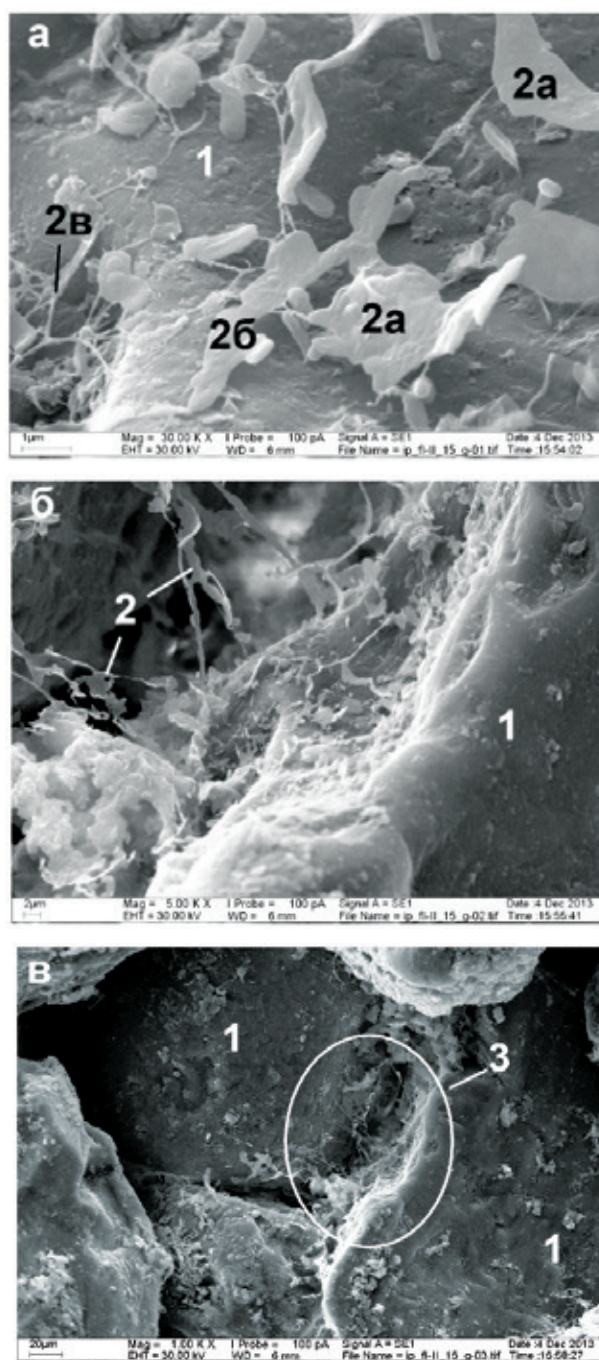


Рис. 5. РЭМ-изображения структуры природного мелкого флювиогляциального песка в момент максимальной микробной активности при различных увеличениях: а – 30 000; б – 5000; в – 1000: 1 – поверхность кварцевого зерна, покрытого «матом» из колоний и клеток (2) различной формы (2а – изометричные, 2б – нитевидные, 2в – мицелиальные), которые формируют биогенный контакт между соседними зернами (3) (пробоподготовка – высушивание на воздухе) (фото М.С. Чернова)

По мере роста колонии в грунте, вероятно, возникали механические напряжения, что приводило к отрыву отдельных частиц от агрегата (см. рис. 2). Это подтверждает мнение [4, 5], что прочность адгезии клетки к твердым частицам существенна и превышает прочность индивидуальных абиотических контактов в грунте. Клетки и колонии клеток проникали в глинистые рубашки и агрегаты (см. рис. 1, 3), скрепляя тем самым несколько соседних агрегатов и формируя биогенный контакт между ними.

В исходном образце флювиогляциального песка

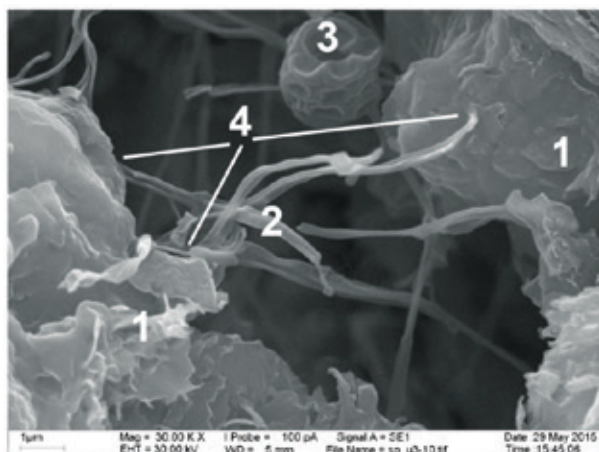


Рис. 6. Общий вид биогенного контакта в образце морской глины юрского возраста на 7-е сутки после увлажнения глюкозой: 1 – частицы грунта (микроагрегаты); 2 – мицелиальные колонии клеток; 3 – спиралевидная колония бактерий; 4 – места прикрепления клеток к частицам грунта (пробоподготовка – вакуумная морозная сушка) (фото М.С. Чернова)

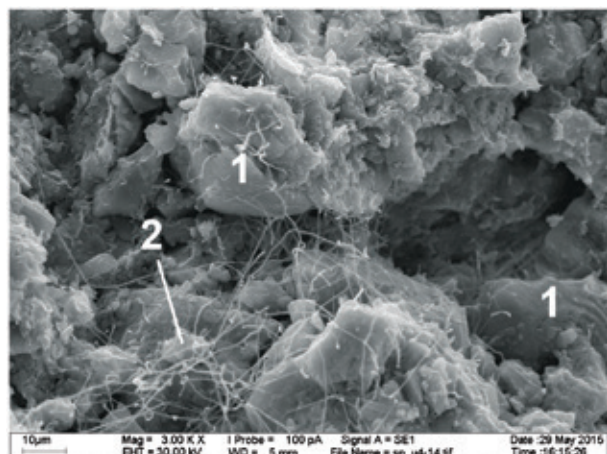


Рис. 7. Формирование крупного макроагрегата за счет биогенных связей в образце аллювиального суглинка: 1 – твердые частицы и агрегаты; 2 – нити микроорганизмов (пробоподготовка – вакуумная морозная сушка) (фото М.С. Чернова)

было отмечено низкое (около 3 % по массе) содержание глинистых частиц. Поэтому глинистые пленки на кварцевых зернах были достаточно тонкими и утолщались только на активных участках (сколах и дефектах) зерен (см. рис. 4, а). При подготовке пробы к анализу отмечалась идеальная сыпучесть препарата, образец не держал форму, поэтому следует говорить об изучении отдельных зерен песка и контактов, образовавшихся при формировании пробы. Структурные связи имели физическую природу – за счет трения и механического зацепления в песке формировались точечные контакты (см. рис. 4, б).

В период высокой микробной активности поверхность кварцевых зерен в песчаном грунте покрывалась «матом» из колоний клеток различной формы, которые прикреплялись к глинистой рубашке зерна в отдельных точках (см. рис. 5, а). Колонии и клетки формировали крупные ветвящиеся нити (см. рис. 5, б), которые присоединялись к глинистой рубашке соседнего зерна, образуя биогенный контакт.

Пространство между частицами заполнялось неоднородным матриксом из биомассы и глинистого материала – биопленкой (см. рис. 5, в). Образец приобрел и держал форму, поэтому можно говорить об изучении реальной структуры грунта.

Исходные механические абиотические контакты в песках были точечными, следовательно, структурная связь между соседними зёрнами определялась их взаимодействием в одной точке. Биогенные связи формировались за счет прикрепления нескольких нитей к обоим структурным элементам, а значит, они контактировали в нескольких точках.

В глинистых грунтах мицелиальные клетки и колонии бактерий глубоко проникали в несколько соседних агрегатов, которые в исходном грунте не контактировали за счет абиогенных связей. Таким образом, в грунте формировались новые биогенные контакты между отдельными глинистыми агрегатами (рис. 6). Множество таких контактов определяло формирование макроагрегатов, состоящих из «исходных» глинистых частиц, скрепленных друг с другом за счет биогенных структурных связей (рис. 7).

Биогенно обусловленные структурные связи и строение биопленки

Высушивание проб на воздухе позволило изучить формирующиеся вокруг твердых структурных элементов грунта в момент высокой микробной активности биопленки, состоящие из живых и отмерших клеток, продуктов их метаболизма, тонкодисперсных компонентов грунта и неорганических веществ и соединений.

В образце аллювиального песка содержалось около 10 % пылевато-глинистых частиц, поэтому здесь на зернах за счет микробной активности формировалась заметная биопленка, а индивидуальные биогенные контакты были неразличимы (рис. 8). Соседние зерна контактировали через биопленку, внутри которой следовало предполагать существование множества биогенных связей за счет клеток и колоний микроорганизмов, а также биогенно обусловленных связей за счет продуктов их метаболизма (рис. 9).

В глинистых грунтах формирующиеся биопленки оказались толще, они равномерно покрывали все агрегаты, и было невозможно различить отдельные структурные элементы грунта. Во многом это было связано с высушиванием образцов на воздухе, что не позволяло сохранить исходную структуру и текстуру глин. На РЭМ-изображениях отдельные компоненты биопленки практически неразличимы, хотя можно выделить изометричные клетки бактерий, мицелиальные клетки, крупные гифы грибов и редкие индивидуальные биогенные контакты (рис. 10–12).

Таким образом, при искусственной активизации микробных комплексов в грунтах формировались биопленки сложного строения, отдельные элементы которых можно было рассмотреть с помощью РЭМ при пробоподготовке путем высушивания проб на воздухе. При этом нарушалась структура грунта и не были видны ее отдельные твердые структурные элементы. Индивидуальные биогенные контакты были также практически не видны.

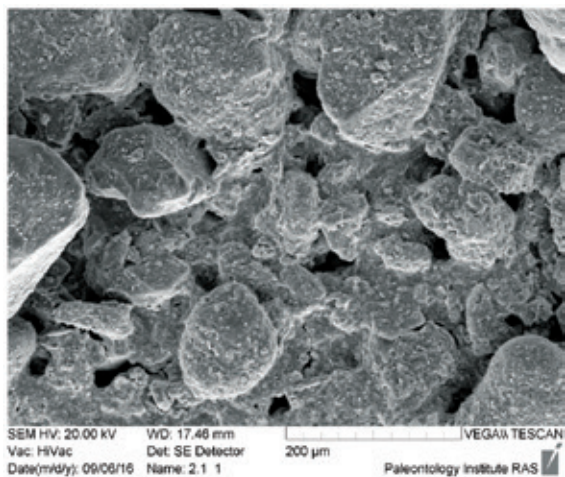


Рис. 8. Общий вид зерен аллювиального песка, покрытых биопленкой (пробоподготовка – высушивание на воздухе) (фото Е.А. Жегалло)

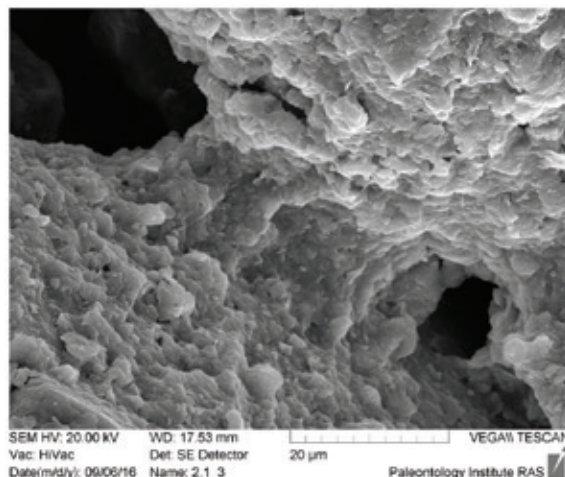


Рис. 9. Контакт двух зерен аллювиального песка, покрытых биопленкой (пробоподготовка – высушивание на воздухе) (фото Е.А. Жегалло)

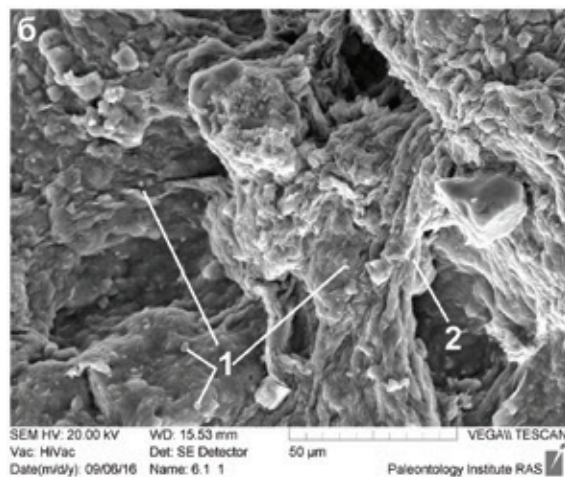
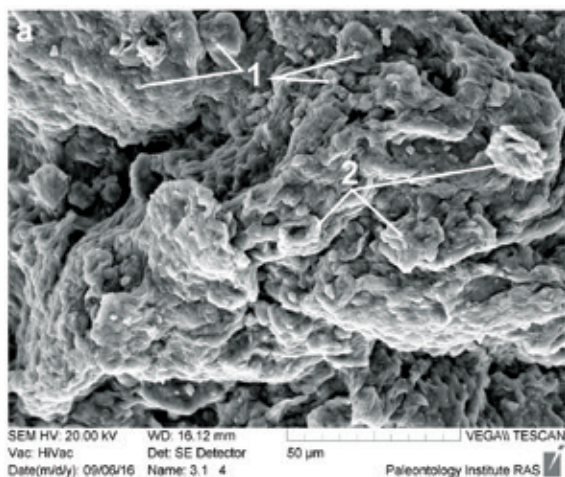


Рис. 10. Общий вид структуры бентонитовых глин (а – зырянской; б – таганской), покрытых биопленкой: 1 – клетки бактерий; 2 – гифы грибов (пробоподготовка – высушивание на воздухе) (фото Е.А. Жегалло)

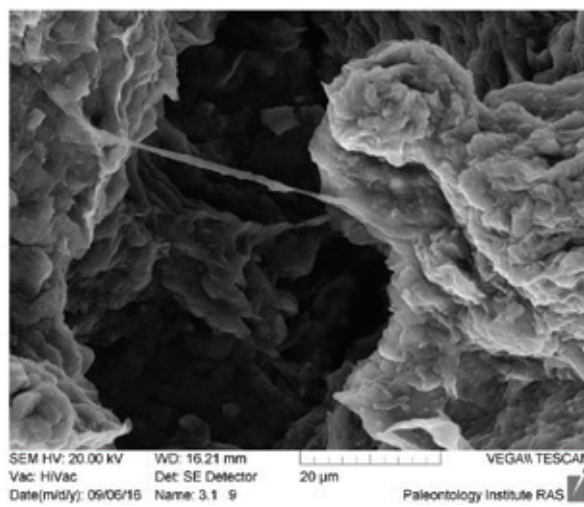
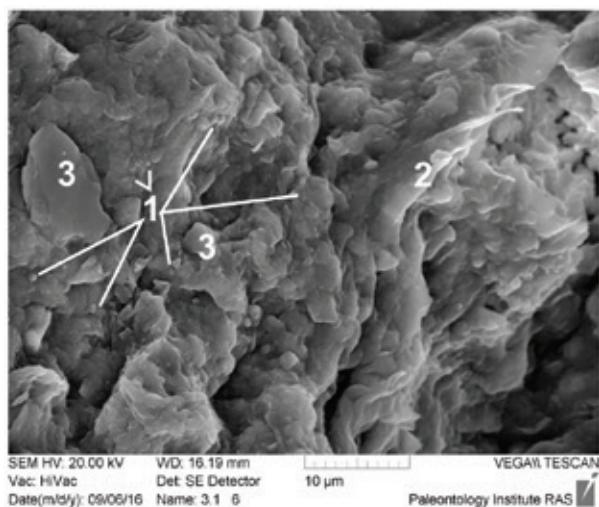


Рис. 11. Строение биопленки зырянского бентонита: 1– клетки бактерий; 2 – мицелиальные колонии и клетки; 3 – отдельные твердые частицы (пробоподготовка – высушивание на воздухе) (фото Е.А. Жегалло)

Рис. 12. Индивидуальный биогенный контакт в образце зырянского бентонита (пробоподготовка – высушивание на воздухе) (фото Е.А. Жегалло)

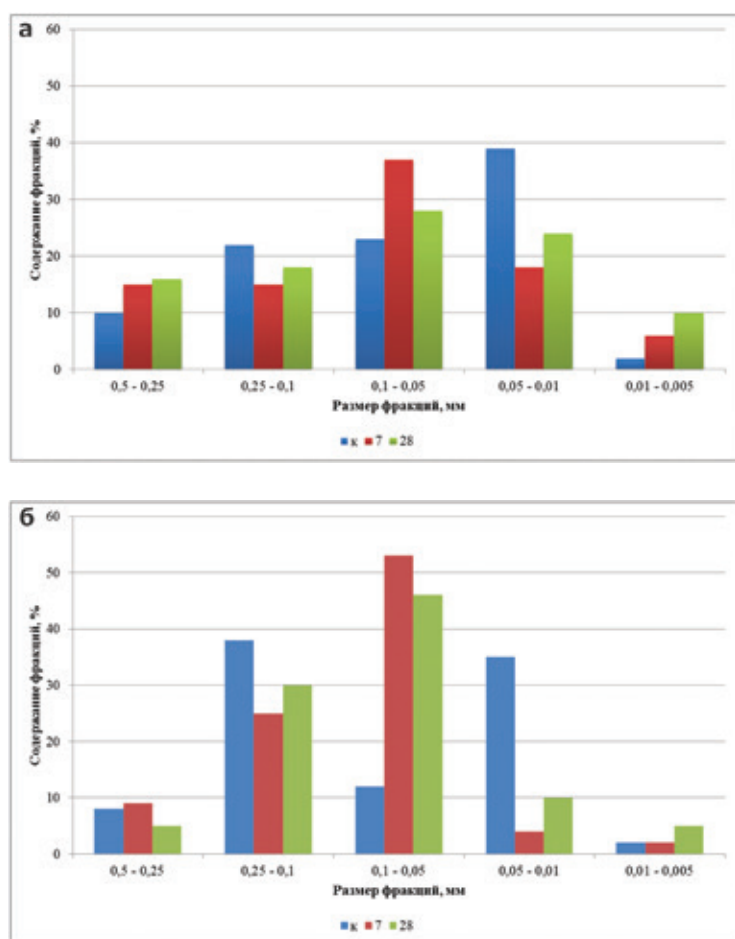


Рис. 13. Гистограммы микроагрегатного анализа аллювиального плейстоценового суглинка (а) и морской юрской глины (б): к – контрольный образец (исходный грунт); 7 – спустя 7 суток; 28 – спустя 28 суток после внесения питательного вещества

Тогда как вакуумная морозная сушка способствовала разрушению биопленки и отдельных клеток, при этом сохранялись развитые колонии и мицелиальные клетки, а также структура исходного образца, что позволяло изучить морфологию биогенных контактов между твердыми структурными элементами грунта.

Изменение строения и свойств грунтов за счет формирования биотических структурных связей

Таблица 2

Показатели прочностных свойств флювиогляциального песка до и после внесения питательного вещества			
Показатели прочностных свойств	Исходного грунта	В момент пика микробной активности	После спада микробной активности
Сцепление, МПа·10 ⁻³	1	9	4
Угол внутреннего трения, град.	33	28	37

Изучение микроагрегатного состава глинистых грунтов пипеточным методом позволило сделать вывод, что за счет формирования биогенных и биогенно обусловленных структурных связей происходила агрегация частиц грунта в крупные (>0,25 мм) и мелкие (0,1–0,05 мм) агрегаты (рис. 13). Подобные процессы описаны авторами ранее для образцов техногенных грунтов при активизации их микробного комплекса [6]. Увеличение содержания крупных агрегатов можно объяснить деятельностью мицелиальных организмов. Макроагрегаты, вероятно, формировались за счет адгезии и механического спутывания твердых структурных элементов мицелием грибов и актиномицетов [16, 19]. Значительное увеличение содержания агрегатов во фракции 0,1–0,05 мм следует объяснять адгезией клеток бактерий и формированием биоэлектростатических структурных связей в грунтах. Агрегаты такого размера по литературным данным формируются за счет клеток бактерий [18, 21].

При уменьшении биомассы агрегаты частично распадались, а частично удерживались, вероятно, биогенно обусловленными структурными связями – за счет органических продуктов метаболизма и их комплексов с компонентами грунта.

Для оценки влияния формирования биотических структурных связей на прочностные свойства флювиогляциального песчаного грунта были проведены его испытания на сдвиг. Из глинистых грунтов изготавливали искусственно уплотненные образцы, которые испытывались на одноосное сжатие.

На 7–9-е сутки сукцессии после внесения питательного вещества (период максимальной активности микроорганизмов) в образце песчаного грунта существенно возросло сцепление, а угол внутреннего трения уменьшился (табл. 2). К 30-м суткам показатель сцепления приблизился к исходным значениям, а угол внутреннего трения достиг значений, несколько превышающих исходные. Прочность искусственно уплотненных образцов глинистых грунтов на сжатие в этот период уменьшилась на 20–30% (рис. 14). Влажность, плотность скелета, пористость и другие показатели состава и свойств грунтов на разных сроках сукцессии микроорганизмов при этом практически не менялись. Рост сцепления в песках следует объяснять формированием биогенных связей и частичной заменой ими существовавших в грунте ранее контактов (преимущественно точечных, прочность которых в песках контролируется по большей части трением). Накопление органических веществ, прежде всего внеклеточных полисахаридов, а также возможное растворение железистого и карбонатного цемента приводило к снижению трения в системе, что отразилось на значениях угла внутреннего трения песков и прочности на одноосное сжатие глинистых грунтов. При снижении микробиологической активности биотические связи, вероятно, частично разрушались и вновь заменялись на абиогенные, чем можно объяснить снижение сцепления к 30-м суткам опыта. Увеличение трения в системах, а также существенный рост показателя прочности на одноосное сжатие в грунтах возможно

связать с формированием биоцемента и разложением органических продуктов метаболизма еще живыми микроорганизмами [7]. Однако эти предположения требуют дальнейших детальных исследований.

При снижении микробной активности показатели прочностных свойств и у песчаных, и у глинистых грунтов возвращаются к значениям, близким к исходным, что позволяет связывать такое изменение прочности именно с формированием новых биотических структурных связей и их разрушением при спаде микробной активности.

Прочность биотических связей.

Считается, что прочность прикрепления клеток к грунтовым частицам достаточно велика [4, 5]. При этом данных о прочности самой клетки/колонии клеток в литературе практически нет. Существуют оценки, что значение модуля сдвига живых клеток бактерий находится в диапазоне 10^{-1} – 10^5 Па [15]. Таким образом, следует предполагать, что прочность индивидуального биогенного контакта будет заметно ниже, чем абиогенных (коагуляционных и точечных). Однако это предположение требует специальных исследований.

На основании данных по изменению показателей прочностных свойств грунтов и РЭМ-изображений биогенных контактов между твердыми структурными элементами грунтов возможно предварительно оценить прочность отдельных биотических связей в грунтах.

Согласно теории прочности дисперсных грунтов В.И. Осипова и В.Н. Соколова [10, 11] прочность грунта определяется количеством и прочностью индивидуальных контактов между частицами. При формировании биогенных структурных связей количество контактов между соседними зернами увеличилось. Можно предположить, что в грунтах без активного микробного сообщества (исходные образцы) структурные связи между структурными элементами определялись локальными контактами за счет трения (механические контакты в песках), а также за счет физико-химического и химического взаимодействия (коагуляционные и цементационные контакты в глинистых грунтах). Формирующиеся биотические контакты связывали частицы и агрегаты в нескольких десятках точек (см. рис. 6–7), то есть количество контактов увеличилось на порядок. Прочность глинистых грунтов в момент пика микробной активности оказалась в среднем на 20–30% ниже, поэтому можно заключить, что прочность биогенных контактов в исследованных грунтах была в несколько раз ниже, чем абиогенных в аналогичных образцах без активизированных микроорганизмов. Применение РЭМ в дальнейшем может позволить точно оценить прочность биотических структурных связей. Анализ статистически достоверной выборки изображений с подсчетом точного количества контактов между отдельными структурными элементами грунта является задачей для будущих исследований. На данном этапе возможна лишь качественная оценка прочности биогенных контактов.

Косвенно оценить силу связей в грунтах

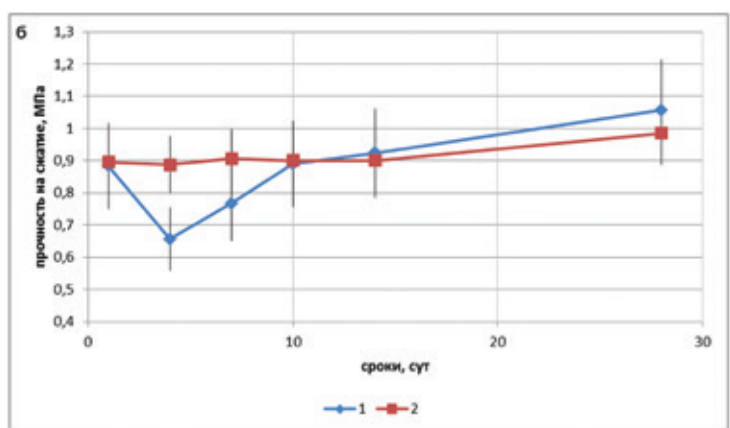
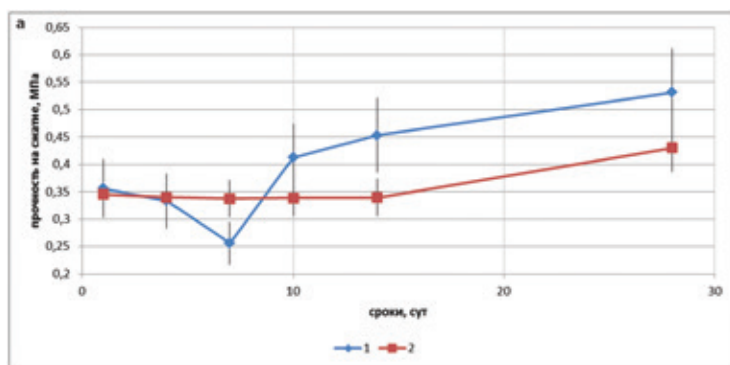


Рис. 14. Изменение временного сопротивления одноосному сжатию искусственно уплотненных образцов на основе: а – аллювиального плейстоценового суглинка; б – морской юрской глины; 1 – образцы с раствором глюкозы; 2 – образцы с водой

позволяет также коэффициент агрегированности по И.М. Горьковой [1], представляющий собой отношение содержания частиц «физической глины» (<0,005 мм) по данным гранулометрического и микроагрегатного анализов. Исходно высокие коэффициенты агрегированности (2,75 для аллювиального суглинка и 8,7 для морской юрской глины) в момент максимальной микробной активности заметно снизились (до значений 1,5 и 2,8 соответственно), то есть биогенные структурные связи оказались заметно слабее, чем абиотические коагуляционно-цементационные в исходных грунтах.

Заключение

При лабораторном моделировании процессов формирования биотических структурных связей в грунтах на образцах песчаных и глинистых грунтов отмечено, что высокая микробиологическая активность в грунтах привела к формированию биотических структурных связей. Эти связи образовались за счет самих клеток микроорганизмов и продуктов их метаболизма. При этом природа связей может быть физической, физико-химической и химической природы.

Таким образом, среди биотических связей целесообразно выделять биогенные, образованные при непосредственном участии клеток микроорганизмов,

и биогенно обусловленные, сформированные за счет выделения различных продуктов метаболизма, в том числе биоцемента.

В момент пика микробной активности за счет формирования биогенных и биогенно обусловленных контактов отмечена агрегация частиц грунта в крупные ($>0,25$ мм) и мелкие ($0,1-0,05$ мм) агрегаты, а также увеличение сцепления и уменьшение угла внутреннего трения песчаных и снижение сопротивления

одноосному сжатию глинистых грунтов.

Исследования проведены с применением оборудования, приобретенного в рамках реализации Программы развития Московского университета.

Авторы выражают благодарность старшему научному сотруднику Палеонтологического института им. А.А. Борисяка РАН Е.А. Жегалло за проведение РЭМ съемки образцов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горькова И.М. Физико-химические исследования дисперсных осадочных пород в строительных целях. М.: Стройиздат, 1975. 151 с.
2. Грунтоведение / под ред. В.Т. Трофимова. М.: Изд-во МГУ, Наука, 2005. 1024 с.
3. Дашко Р.Э., Власов Д.Ю., Шидловская А.В. Геотехника и подземная микробиота. СПб.: Институт «ПИ Геореконструкция», 2014. 280 с.
4. Звягинцев Д.Г. Почва и микроорганизмы. М.: Изд-во МГУ, 1987. 256 с.
5. Звягинцев Д.Г., Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв: учебник. М.: Изд-во МГУ, 2005. 445 с.
6. Иванов П.В., Николаева С.К., Манучарова Н.А., Гориколепов О.И. Изменение микроагрегатного состава техногенного грунта при активизации функционального микробного комплекса // Инженерная геология. 2014. № 5. С. 50–55.
7. Иванов П.В., Манучарова Н.А., Сафиуллина А.Д. Влияние активности и численности микроорганизмов на прочностные свойства песчаных грунтов Московского региона // Геоэкология. Инженерная геология. Гидрогеология. Геокриология. 2015. № 2. С. 158–165.
8. Манучарова Н.А., Власенко А.Н., Менько Е.В. Специфика хитиноподобного микробного комплекса в почвах, инкубируемых при различных температурах // Микробиология. 2011. Т. 80, № 2. С. 219–229.
9. Методы почвенной микробиологии и биохимии / под ред. Д.Г. Звягинцева. М.: Изд-во МГУ, 1991. 303 с.
10. Осипов В.И., Соколов В.Н. Глины и их свойства. Состав, строение и формирование свойств. М.: ГЕОС, 2013. 576 с.
11. Осипов В.И., Соколов В.Н., Румянцева Н.А. Микроструктура глинистых пород / под ред. Е.М. Сергеева. М.: Недра, 1989. 211 с.
12. Практикум по грунтоведению / под ред. В.Т. Трофимова и В.А. Королева. М.: Изд-во МГУ, 1993. 392 с.
13. Растровая электронная микроскопия для нанотехнологий. Методы и применение / под ред. У. Жу, Ж. Л. Уанга; пер. с англ.; 2-е изд. М.: БИНОМ, 2014. 600 с.
14. Сафонов А.В., Горбунова О.А., Герман К.Э., Захарова Е.В., Трегубова В.Е., Еришов Б.Г., Назина Т.Н. Микробиологические аспекты хранения радиоактивных отходов // Радиационная биология. Радиозэкология. 2015. Т. 5, № 3. С. 293–301.
15. Atekwana Est.A., Werkema D.D., Atekwana El.A. Biogeophysics: the Effects of Microbial Processes on Geophysical Properties of the Shallow Subsurface // Applied Hydrogeophysics. NATO Science Series. 2006. Vol. 71. S. 161–193.
16. Bearden B.N., Petersen L. Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on soil structure and aggregate stability of a vertisol // Plant and Soil. 2000. Vol. 218. S. 173–183.
17. Bronick C.J., Lal R. Soil structure and management: a review // Geoderma. 2005. 124. S. 3–22.
18. Dexter A.R. Advances in Characterization of Soil Structure // Soil Tillage Research. 1988. № 11. Pp. 199–238.
19. Nichols K.A., Halvorson J.J. Roles of Biology, Chemistry, and Physics in Soil Macroaggregate Formation and Stabilization // The Open Agriculture Journal. 2013. № 7. S. 107–117.
20. Rumpel C., Grootes P.M., Koegel-Knaber I. Characterisation of the microbial biomass in lignite-containing mine soils by radiocarbon measurements // Soil Biology & Biochemistry. 2001. № 33. S. 2019–2021.
21. Tisdall J.M. Possible role of soil microorganisms in aggregation in soils // Plant and Soil. 1994. Vol. 159. Pp. 115–121.