

Účast' baktérií na zvetrávacích procesoch silikátov

Katarína Jablonovská¹, Iveta Štyriaková a Peter Javorský²

Participation of bacteria in weathering processes of silicates

Biological processes presented by the metabolic activity of different species of bacteria adhered at the mineral surfaces are a part of the geochemical processes. These bacteria accelerate, by the production of organic acids into the minerals structural bonds, the leaching of elements and their subsequent and gradual transformation to the secondary minerals. Microbial destructions of silicates are studied in order to processing low-quality mineral raw-materials and the remediation of soils, sediments and waters contaminated by industrial pollutants. The samples of material, used in our research, were obtained at 9 deposits of non-metallic raw-materials in Slovakia. The sediment sample was taken from the area of Baikal Lake. The presence of microorganisms in the matrix most frequently was determined by a subsequent isolation of microorganisms and identification of bacterial species presented in the silicate matrix. The species of *Bacillus* and *Pseudomonas* genus were the common representative of the microorganisms.

Key words: *Bacillus* sp., silicate bacteria, weathering, nonmetalliciferous raw material,

Úvod

Mikroorganizmy zohrávajú významnú úlohu v rozpúšťaní silikátových štruktúr v horninovom zvetrávacom procese a genéze ílových minerálov (Štyriaková a Štyriak, 2000). Schopnosť baktérií deštruovať silikátové minerály naznačujú zaujímavé biochemické procesy prebiehajúce v hypergénnej zóne (Štyriaková, 2002). Štúdium vlastností mikroorganizmov, zúčastňujúcich sa mnohých prírodných procesov, môže byť významné z hľadiska využívania vhodných mikroorganizmov nielen pri ekologickej likvidácii mnohých priemyselných odpadov, ale najmä v procesoch zlepšovania kvality rôznych druhov nerudných surovín.

Mikroorganizmy rodu *Bacillus* zohrávajú dôležitú úlohu pri rozpúšťaní silikátov v procese zvetrávania horninového prostredia (Karavaiko a kol., 1980). Tesič a Todorovič navrhli dokonca druh *Bacillus circulans* nazvať „silikátovými baktériami“. Zvetrávanie hornín vytvára veľké objemy kaolínových ílov (hlin), kremenných pieskov a sľudy, ako aj iných minerálov, najmä oxidov železa a titánu. Vonkajšie pozorovania a laboratórne pokusy ukazujú, že mikróby môžu urýchľovať zvetrávacie reakcie alumosilikátových minerálov pri priamom kontakte s minerálnymi zdrojmi produkciou organických a anorganických kyselín, vytváraním komplexotvorných ligandov s kovmi, menením redoxných podmienok, alebo sprostredkovaním tvorby sekundárnych minerálnych fáz. Niektoré kmene baktérií týmto spôsobom uvoľňujú kationy z biotitu (Si, Fe, Al), plagioklastu a živca (Si, Al) vo väčšej miere, než sa uvoľňuje abiotickými procesmi (Štyriaková a Štyriak, 2000).

V článku sú opísané nasledovné bakteriálne rody, ktoré sa zúčastňujú deštruktívnych procesov silikátov.

1. *Bacillus* sp. – ich existencia je odvodená od tvorby endospór a od spôsobu ich aktivity vo vhodných životných podmienkach. Tento rod obsahuje štyridsaťosem druhov, z ktorých prevažná časť žije saprofytycky v pôde a vode (Buchanan a kol., 1974).
2. *Pseudomonas* sp. – väčšina študovaných kmeňov skvapalňuje želatínu, redukuje dusičnany na dusitany, netvorí indol, H₂S, acetoin, sú katalázopozitívne. Príslušníci tohto rodu žijú saprofytycky v pôde, vo vode a v morskom prostredí, kde sa podieľajú pri mineralizácii organickej hmoty.
3. *Leuconostoc* sp.- sú heterofermentatívne, z glukózy tvoria D(-) kyselinu mliečnu, kyselinu octovú, etanol a CO₂, sú katalázonegatívne, netvorí indol, nereduujú dusičnany a nehydrolizujú arginín. Typovým druhom je *Leuconostoc mesenteroides* známy tým, že tvorí zo sacharózy dextran mazľavej konzistencie.
4. *Corynebacterium* sp.- taxonomické členenie tohto rodu je značne obtiažne. Delí sa do troch skupín:
 - o Do prvej skupiny sú zaradené druhy vyznačujúce sa patogenitou pre človeka i zvieratá. Najdôležitejším zástupcom je *Corynebacterium diphtheriae*.
 - o Druhá skupina je charakteristická menšou mierou pleomorfie. Patria sem väčšinou rastlinné patogény.
 - o Do tretej skupiny sú zaradené nepatogénne druhy, ktoré boli izolované z pôdy.

¹ Mgr. Katarína Jablonovská, Ing. Iveta Štyriaková, PhD, Ústav geotechniky SAV, Watsonova 45, 043 53 Košice, jablonov@saske.sk
bacil@saske.sk

² Ing. Peter Javorský, FBERG TU, Park Komenského 19, 043 84 Košice,
(Recenzovaná a revidovaná verzia dodaná 9. 9. 2005)

5. *Saccharomyces sp.*- typickým spôsobom vegetatívneho rozmnožovania kvasiniek je pučanie. Najznámejším druhom z askomycét je pôvodca alkoholového kvasenia *Saccharomyces cerevisiae* existujúci prevažne v diploidnej fáze. Kvasinky patria medzi dôležitých zástupcov priemyselných technológií (Rosypal a kol., 1981)

Materiál a metodika

V experimentoch zameraných na izoláciu a identifikáciu mikroorganizmov, ktoré by sa mohli zúčastňovať transformácie silikátových hornín a minerálov boli použité vzorky odobraté z nerudných ložísk uvedených v tab. 1.

Tab. 1. Vzorky silikátových hornín a minerálov nerudných ložísk
Tab. 1. Samples of silicate rocks and non-metallic raw materials

Vzorka číslo	Vzorka horniny	Lokalita
1	kremenný piesok	Šaštín
2	granit	Rudník
3	perlit	Lehódka pod Brehmi
4	keramický íl	Gregorová Vieska
5	keramický íl	Točnica
6	kaolín, kremenec	Zlámanec
7	kaolín	Karlové Vary
8	bentonit	Jelšový Potok
9	pôda	izolát UFHZ SAV
10	sediment	jazero Bajkal

Izolácia mikroorganizmov z práškových vzoriek bola vykonaná na selektívnych agarových platniach (G+ fenylalkoholový agar a G- MacConkeyho agar) v konštantných podmienkach pri 25 °C. Ako základné taxonomické kritérium pre rodovú identifikáciu baktérii bolo použité farbenie podľa Grama. Morfológia izolátov bola sledovaná pomocou optického mikroskopu ECLIPSE E 400, Japonsko.

Bakteriálne izoláty (G+) a (G-) boli identifikované pomocou BBL CRYSTAL™ Identification System (Becton-Dickinson, USA). Test je založený na enzýmovom rozklade špecifických substrátov testovanými baktériami a následnej detekcie týchto reakcií pomocou indikátorových systémov. Odpočítané farebné skóre jednotlivých mikroorganizmov a vzniknutý číselný kód bol následne vyhodnocovaný použitím programu BBL CRYSTAL ID System Electronic Codebook.

Výsledky a diskusia

Zo vzoriek hornín, minerálov a sedimentov bolo vyizolovaných 15 bakteriálnych izolátov, z ktorých bolo identifikovaných 10 rozdielnych bakteriálnych druhov. Z nerudného ložiska Šaštín boli identifikované dva bakteriálne druhy: *Bacillus sphaericus* a *Pseudomonas putida*.

Baktérie druhu *Bacillus sphaericus* prejavili tieto pozitívne biochemické reakcie: FPH-L –fenylalanin, FPY-kyselina L-pyrogútámová, PHO –p-n-p fosfát, PAM – α -D-maltozid.

Druh *Pseudomonas putida* preukazoval pozitívne biochemické reakcie: GGL- γ -L-glutamyl p-nitroanilid, MNS – manóza, PRO-prolín nitroanilid, URE – močovina, GLY – glycín, CIT – citrát, MLO-malonát, TTC-tetrazólium, ARG-arginín, LYS-lyzín.

Medzi baktériami vyizolovanými z nerudného ložiska Lehôtka pod Brehmi bol identifikovaný druh *Bacillus sphaericus*, s prejavom týchto pozitívnych biochemických reakcií: FPH-L-fenylalanín, FPY-kyselina L-pyrogútámová, PHO-p-n-p fosfát, ARG-arginín, ktoré sú dokumentované obr. 1.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	FCT	FPH	FTR	FHO	TRE	SUC	ARA	BGL	PHO	URE
2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	FGC	FGS	FAR	FGN	LAC	MNT	GLR	PCE	PAM	ESC
1	—	+	—	—	—	—	—	—	—	+
	FVA	FPY	FGA	FIS	MAB	MTT	FRU	PLN	PGO	ARG
	0	1	0	0	0	0	0	0	0	5

Obr.1. Identifikačné číslo druhu *Bacillus sphaericus* identifikované BBL systémom podľa pozitívnych biochemických reakcií

Fig. 1. Identification number of *Bacillus sphaericus* determined by the BBL system after positive biochemical reaction

Baktérie rodu *Corynebacterium diphtheriae* izolované z nerudného ložiska Gregorova Vieska boli identifikované týmito pozitívnymi biochemickými reakciami: FPH-L-fenylalanín, FGS - α -D-glukozid, FTR-L-tryptofán, FAR-L-arginín, ARG-arginín.

Vyizolovaný bakteriálny druh *Pseudomonas aeruginosa* sa preukazoval reakciami: PHO-p-nitrofenyl fosfát, CGL- γ -L-glutamyl p-nitroanilid, PHE-p-nitro-DL-fenylalanín, PRO-prolín nitroanilid, URE-močovina, GLY-glycín, CIT-citrát, MLO-malonát, TTC-tetrazólium, GAL-galaktóza, ARG-arginín, LYS-lyzín.

Z nerudného ložiska Točnica boli na základe biochemických reakcií identifikované druhy *Bacillus brevis* a *Pseudomonas stutzeri*.

Bacillus brevis: FGC-4MU- β -D-glukozid, FPH-L-fenylanín, FGS- α -D-glukozid, FPY-kyselina L-pyrog glutámová, FTR-L-tryptofán, FHO-4MU-fosfát, FGN-4MU- β -D-glukuronid, BGL-p-n-p D-glukozid, PLN-prolín+leucín-p-nitroanilid, PHO-p-n-p fosfát, PAM- α -D-maltozid, PGO- α -D-galaktozid, ESC-eskulín, ARG-arginín.

Pseudomonas stutzeri: GGL- γ -L glutamyl p-nitroanilid, PRO-prolín nitroanilid, URE-močovina, GLY-glycín.

Biochemické reakcie baktérii vyizolovaných z nerudného ložiska Zlámanec indikovali prítomnosť troch bakteriálnych druhov:

Corynebacterium aquaticum: FGC-4MU- β -D-glukozid, FPH-L-fenylalanín, FGS- α -D-glukozid, FTR-L-tryptofán, FHO-4MU-fosfát, FGN-4MU- β -D-glukuronid, BGL-p-n-p β -D-glukozid, PCE-D-celobióza, PLN-prolín+leucín-p-nitroanilide PHO-p-n-p fosfát, PAM- α -D-maltozid, PGO- α -D-galaktozid, ESC-eskulín, ARG-arginín.

Pseudomonas aeruginosa: PHO-p-nitrofenyl fosfát, GGL- γ -L-glutamyl p-nitroanilid, MNS- manóza, BGL-p-nitrofenyl α - β -glukozid, PHE-p-nitro-DL-fenylalanín, PRO-prolín nitroanilid, URE-močovina, GLY-glycín, CIT-citrát, MLO-malonát, TTC-tetrazólium, GAL-galaktóza, ARG-arginín, LYZ-lyzín.

Leuconostoc cisteum: FGC-4MU- β -D-glukozid, SUC-sacharóza, MNT-manitol, GLR-glycerol, FRU-fruktóza, BGL-p-n-p β -D- glukozid, PHO-p-n-p fosfát, PAM- α -D-maltozid, PGO- α -D-galaktozid, ESC-eskulín, ARG-arginín

Vzorka materiálu z nerudného ložiska Karlové Vary prejavila prítomnosť druhu *Corynebacterium aquaticum*

Z nerudného ložiska Jelšovský potok bol vyizolovaný a identifikovaný bakteriálny druh *Bacillus pumilus*, prejavujúci sa týmito biochemickými reakciami: FGC-4MU- β -D-glukozid, FPH-L-fenylalanín, FGS- α -D-glukozid, FPY-kyselina L-pyrog glutámová, FTR-L-tryptofán, FGN-4MU- β -D-glukuronid, BGL-p-n-p β -D-glukozid, PLN-prolín +leucín-p-nitroanilid, PHO-p-n-p fosfát, PAM - α -D-maltozid, PGO- α D-galaktozid, ESC-eskulín, ARG-arginín.

Vo vzorkách sedimentov z okolia jazera Bajkal boli identifikované druhy *Bacillus sphaericus* a *Bacillus megaterium*.

Bacillus megaterium: FPH-L-fenylalanín, FTR-L-tryptofán, FHO-4MU-fosfát, FGC-4MU- β -D-glukozid, FGS- α -D-glukozid, SUC-sacharóza, BGL-p-n-p β -D-glukozid, PHO-p-n-p fosfát, PAM- α -D-maltozid, ESC-eskulín, PGO- α D-galaktozid, ARG-arginín. Identifikácia *Bacillus megaterium* BBL systémom podľa pozitívnych biochemických reakcií je uvedená na obr. 2.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-
	FCT	FPH	FTR	FHO	TRE	SUC	ARA	BGL	PHO	URE
2	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+
	FGC	FGS	FAR	FGN	LAC	MNT	GLR	PCE	PAM	ESC
1	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
	FVA	FPY	FGA	FIS	MAB	MTT	FRU	PLN	PGO	ARG
	2	6	4	4	0	4	0	4	7	3

Obr. 2. Identifikačné číslo druhu *Bacillus megaterium* identifikované BBL systémom podľa pozitívnych biochemických reakcií

Fig. 2. Identification number of *Bacillus megaterium* determined by the BBL system after positive biochemical reaction

Záver

Všetky zóny profilu zvetrávania sa vytvárajú súčasne v procese vzájomného pôsobenia hornín, cirkulujúcich roztokov, prítomných mikroorganizmov a ich metabolitov. Rozširovanie poznatkov účasti tzv. „silikátových baktérií“ v oblasti biotransformačných procesov v alumosilikátovom prostredí poskytuje priestor na ich aplikáciu v remediácii a biodegradácii organických a anorganických polutantov pôd, sedimentov a vôd.

Podakovanie: Táto práca bola podporovaná Agentúrou na podporu vedy a techniky prostredníctvom finančnej podpory č. APVT-51-006304 a VEGA č. 2/5033/5.

Literatúra – References

- Buchanan, R., E, Gibbons, N., E., Cowan, S., T., Holt, J., G., Liston, J., Murray, R., G., E., Niven, C., F., Ravin, A., W., Stanier, R., Y.: *Bergeys Manual of Determinative Bacteriology, Eight Edition, The William & Wilkins Company, Baltimore. 1974, pp.61-217*
- Karavaiko, G., I., Frutsko, Z., A., Melnikova, E., O., Avakyan, Z., A., Ostroushko, Y., I.: Role of mikroorganisms in spodumene degradation, *Microbiologia, 1980, pp. 49, 547*
- Rosypal, S., Hoďák, K., Martinec, T., Kocur, M.: *Obecná bakteriologie, Státní pedagogické nakladatelství, Praha. ,1980, pp. 635-664*
- Štyriaková, I.: Biotransformačné procesy primárnych a sekundárnych minerálnych štruktúr mikroorganizmov, rodu *Bacillus*, *Doktorantská dizertačná práca, Košice. 2000, pp. 71-83*
- Štyriaková, I.: Aktivita baktérii v biogeochemických procesoch, *In: Ďurža, O, Rapant S (red.): Geochémia. 2002, pp. 87-89.*