

## تشکیل پیریت اتوزنیک به روش ژئومیکروبیولوژی در آزمایشگاه و کاربرد آن در رسوب- های دریایی جنوب شرق ژاپن

محمد حسین محمودی قرائی\*<sup>۱</sup>، سمانه کیانپور<sup>۱</sup>، رضا موسوی حرمی<sup>۱</sup>، منصور مشرقی<sup>۲</sup>

۱- گروه زمین شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

۲- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد

(دریافت مقاله: ۸۸/۱۲/۲۳، نسخه نهایی: ۸۹/۴/۳)

**چکیده:** دسته‌هایی از باکتری‌های رسوب‌های دریایی نانکای در جنوب شرق ژاپن و نیز دسته‌های آرکی در تولید متان و تشکیل کانی-های اتوزنیک از قبیل پیریت نقش چشمگیری دارند. پیریت اتوزنیک در آزمایشگاه در شرایط بی‌هوازی، بدون نور و در محیط کشت ایده آل با باکتری‌های احیا کننده سولفات، تشکیل گردید. این باکتری‌ها مزوفیل و هتروتروف هستند. pH و Eh محیط کشت در رشد این میکروارگانیسم‌ها و کانی‌سازی پیریت اتوزنیک در شرایط آزمایشگاهی از اهمیت خاصی برخوردارند، ضمن اینکه ترکیب شیمیایی مواد موجود در محیط کشت و مواد آلی در رسوب‌های حوضه نانکای نیز به‌عنوان عوامل شیمیایی نقش مهمی را در این امر ایفا می‌کنند. ماتریکس آلی (EPS) که در برگرفته‌ی سلول باکتری‌های احیا کننده سولفات است، نقش موثری در ورود الکترون حاصل از احیا سولفات به داخل سلول باکتری‌های احیا کننده سولفات دارد. در واقع، یون آهن فرو موجود در حوضه رسوبی نانکای با ترکیب-های تشکیل دهنده ماتریکس آلی واکنش داده و به‌عنوان رابطی به‌منظور انتقال الکترون‌ها به داخل سیتوپلاسم سلول عمل کرده و در نهایت باعث تغذیه‌ی این گونه میکروب‌ها می‌شود. ماتریکس آلی در برگرفته‌ی سلول باکتری‌ها منجر به تجمع آن‌ها در بیوفیلم‌های موجود در رسوب‌های این حوضه می‌شود. نتایج به دست آمده بر تشکیل پیریت اتوزنیک دلالت می‌کند که ناشی از احیا سولفات بوسیله ژئوباکتری‌های احیا کننده‌ی سولفات در بیوفیلم‌های موجود در نمونه‌های رسوبی مورد بررسی است.

**واژه‌های کلیدی:** پیریت اتوزنیک، ژئوباکتری، احیا سولفات، بیوفیلم، حوضه نانکای.

### مقدمه

سلول خود به کار برند. پروکاریوت‌های احیا کننده‌ی سولفات [Sulfate Reducing Prokaryotes, SRP] عموماً در محیط‌های احیایی و بی‌هوازی غنی از سولفات فعال هستند. آب اقیانوس‌ها معمولاً غنی از سولفات و دارای غلظت بیش از ۳۰ میلی مول (mM) است [۲]. باکتری‌های احیا کننده سولفات از لحاظ اکوفیزیولوژی محیط‌های دریایی اهمیت زیادی دارند [۳]، زیرا این باکتری‌ها در رسوب‌های شیب قاره با فعالیت بیولوژیکی بالا، بیش از ۵۰ درصد از کانی‌سازی کربن

باکتری‌های احیا کننده سولفات [Sulphate-reducing Bacteria (SRB)] گروه بزرگی از میکروارگانیسم‌های پروکاریوتی بی‌هوازی (باکتری‌ها و آرکی‌ها) هستند که نقش مهمی در بسیاری از فرایندهای بیوژئوشیمیایی ایفا می‌کنند [۱]. این باکتری‌ها به‌طور گسترده‌ای در طبیعت و به ویژه در رسوب‌های دریایی وجود دارند و می‌توانند سولفات محلول در آب دریا را به‌عنوان دریافت کننده‌ی الکترون برای تغذیه‌ی

\* نویسنده مسئول، تلفن-نمبر: ۸۷۹۷۲۷۵ (۰۵۱۱)، پست الکترونیکی: gharaie2000@yahoo.com

تشکیل بیوفیلیم در رسوب‌های اعماق دریا می‌شود. ماتریکس آلی (Extracellular Polymeric Substance [EPS])، که به وسیله‌ی باکتری‌ها در پیرامون سلول آن‌ها ترشح می‌شود، در اجتماع آن‌ها به صورت بیوفیلیم کمک می‌کند [۱۰]. EPS تأثیر فراوانی در تشکیل کانی‌های اتوزنیک موجود در رسوب‌ها دارد. باکتری‌های مؤثر در فرایندهای زمین‌شناسی را ژئومیکروب یا ژئوباکتری می‌نامند [۱۱].

پیریت اتوزنیک در رسوب‌های دریایی نسبتاً عمیق تا عمیق گودال نانکای (Nankai Trough) با بررسی‌های سنگ‌نگاشتی و میکروسکوپ الکترونی (SEM, EDS) قابل مشاهده است. در این پژوهش، رسوب‌های به دست آمده از فرورفتگی نانکای به منظور بررسی دقیق‌تر نقش انبوهه‌های میکروبی در تشکیل پیریت اتوزنیک مورد بررسی آزمایشگاهی قرار گرفته است تا شرایط تشکیل پیریت حاصل از فعالیت‌های میکروبی در رسوب‌های دریایی را روشن سازد.

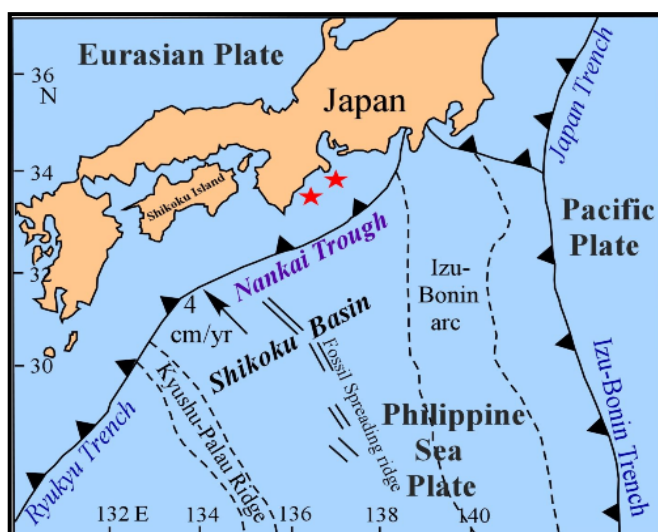
#### زمین‌شناسی منطقه‌ی مورد بررسی

منطقه‌ی مورد بررسی در جنوب شرقی ژاپن در غرب اقیانوس آرام، و در عرض جغرافیایی ۳۳-۳۴ درجه شمالی و طول جغرافیایی ۱۳۶-۱۳۷ درجه‌ی شرقی واقع شده است. منطقه‌ی مرزی صفحات همگرا بین پهنه‌های اورازیا و دریای فیلیپین به عنوان گودال نانکای شناخته شده و در گستره‌ی جنوبی هونشو (Honsho)، یکی از چهار جزیره اصلی ژاپن، قرار دارد (شکل ۱).

آلی را بر عهده داشته [۴] و انرژی لازم برای رشد خود را از اکسایش هیدروژن یا ترکیب‌های آلی از طریق احیا سولفات به سولفید به دست می‌آورند [۵]، فرایندی که از نیمه‌ی دوم قرن نوزدهم به عنوان یک فرایند بیوژنیک شناخته شده است [۶]. سولفید برای ته نشینی پیریت بیشتر از احیای باکتریایی سولفات‌های محلول در آب‌های درون حفره‌ای به دست می‌آید، این فرایند، تولید  $H_2S$  کرده که با  $Fe^{2+}$  محلول واکنش می‌دهد. کانی پیریت اتوزنیک یکی از کانی‌های نوعی گل‌های دریایی غنی از مواد آلی است [۷]. کانی‌های آهن‌دار معمولاً شرایط شیمیایی و زیست-ژئوشیمی محیط‌های رسوب‌گذاری را نشان می‌دهند. حضور مواد آلی، ترکیب‌های گوگردی و فعالیت باکتریایی به ویژه در تشکیل کانی‌های آهن‌دار مؤثر هستند [۸].

بستر عمیق اقیانوس‌ها نیز مکان‌های مناسبی برای سکونت جاندارانی است که با میزان کم اکسیژن محلول یا حتی در غیاب اکسیژن قادر به زندگی هستند. چنین محیط‌هایی دارای سولفید هیدروژن و یا متان هستند. سولفید در این گونه رسوب‌ها از احیا سولفات به وسیله‌ی میکروب‌ها و فرایندهای غیر آلی در بستر دریاها و داخل رسوب‌های دریایی تشکیل می‌شوند. متان نیز معمولاً از احیا مواد آلی تحت فرایندهای بیوژنیک (متانوزن) و یا ترموزنیک در چنین محیط‌هایی تشکیل می‌شود [۹].

به طور کلی، تجمع باکتری‌ها در رسوب‌های دریایی باعث



شکل ۱ نقشه‌ی ژاپن و موقعیت گودال نانکای. محل‌های نمونه برداری با ستاره مشخص شده‌اند.

به منظور کشت باکتری‌های مورد نظر از روش ولسبوری و همکارانش [۱۴] استفاده شد، و بر اساس آن محیط کشت میکروبی در آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه فردوسی مشهد تهیه شد (شکل ۴).

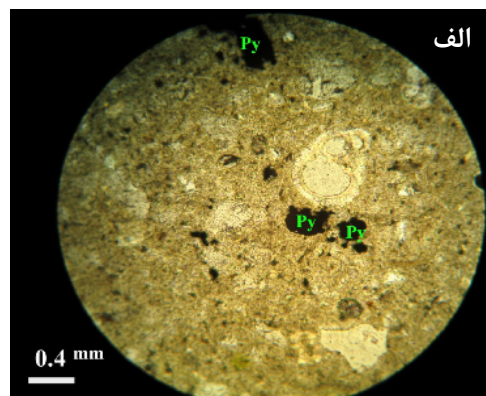
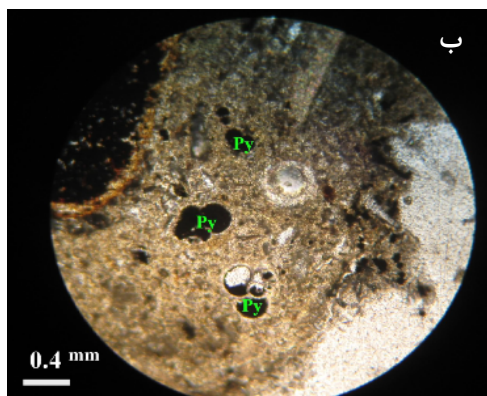
pH محیط کشت برابر با ۷٫۲ تنظیم شد (با pH متر accu-met مدل ۱۵) و Eh محیط نیز با ترکیب‌های شیمیایی خاصی تحت عنوان Resazurin تنظیم شد. میزان pH محیط کشت پس از افزودن محلول اشباع بی‌کربنات سدیم به ۸٫۳۷ می‌رسد. باکتری‌های احیا کننده سولفات در این محیط در pH قلیایی رشد می‌کنند و منجر به رسوب پیریت اتوژنیک می‌شوند. باکتری‌ها با محلول میانگیر فسفات از رسوب‌ها جدا شده و به محیط کشت افزوده شدند. دمای مناسب برای رشد باکتری‌های احیا کننده‌ی سولفات  $27^{\circ}\text{C}$  تنظیم شد. باکتری‌ها پس از رشد در شرایط مناسب رنگ آمیزی، و ویژگی‌های ریخت‌شناختی آن‌ها با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. پیریت تشکیل شده با باکتری‌ها، از محیط کشت جدا شده و تعداد ۵ نمونه با استفاده از میکروسکوپ الکترونی و آنالیز EDS در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد مورد بررسی قرار گرفتند.

تعداد ۱۰ نمونه مقطع نازک میکروسکوپی برای بررسی‌های سنگ‌شناسی تهیه شدند و ۲۰ نمونه که در شرایط کاملاً استریل و در یخچال نگهداری شده بودند به‌منظور بررسی باکتری‌ها و ارتباط آن‌ها با رسوب پیریت انتخاب شدند. با توجه به‌وجود فعالیت میکروبی در رسوب‌های گودال نانکای بر اساس داده‌های ایزوتوپی و نیز با در نظر گرفتن حضور باکتری‌های کربنات ساز و بیوفیلم‌های میکروبی [۱۵]، حضور باکتری‌های احیا کننده‌ی سولفات نیز در این حوضه‌ی رسوبی قابل انتظار است. بنابراین، محیط کشت به‌منظور رشد این باکتری‌ها آماده شد.

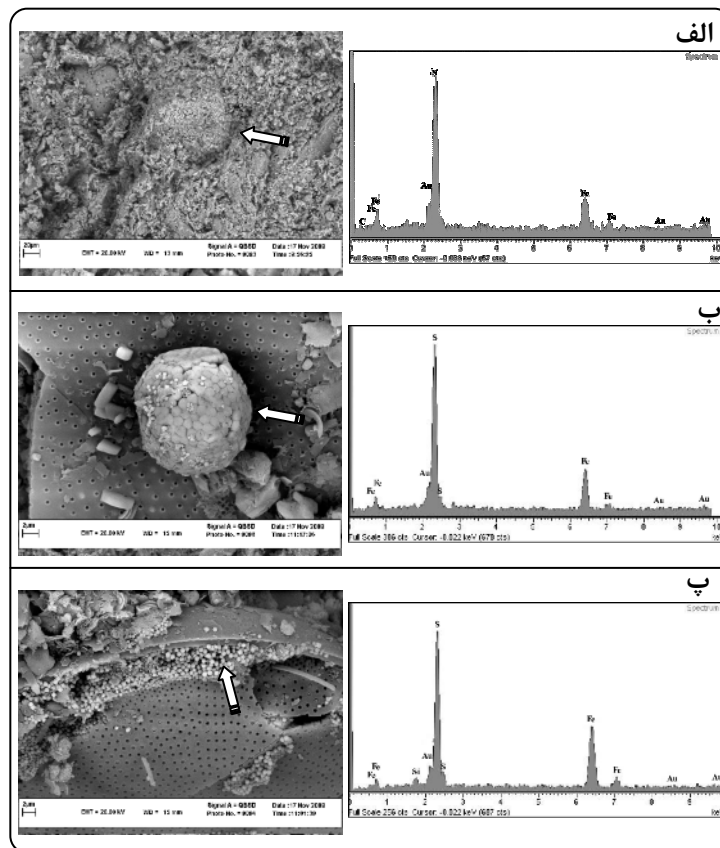
وجود هیدرات متان روی حاشیه‌ی قاره‌ای گودال نانکای و بیشتر در رسوب‌های درشت دانه با خاستگاه آواری تأیید شده است [۱۲]. زون پایداری هیدرات‌های متان در این منطقه با بررسی‌های ژئوفیزیکی و با استفاده از داده‌های BSR (Bottom Simulating Reflector) مشخص شده است. زون پایداری هیدرات متان تا اعماق ۲۰۰ - ۵۰۰ متری داخل رسوب‌های کف اقیانوس گسترش دارد و بر حضور گسترده‌ای از هیدرات متان در این منطقه دلالت می‌کند [۱۳]. وجود هیدرات متان در این حوضه‌ی رسوبی فعالیت انواع باکتری‌های موجود در رسوب‌ها را کنترل می‌کند. این میکروب‌ها تأثیر زیادی بر تشکیل کانی‌های اتوژنیک از جمله پیریت دارند.

### روش بررسی

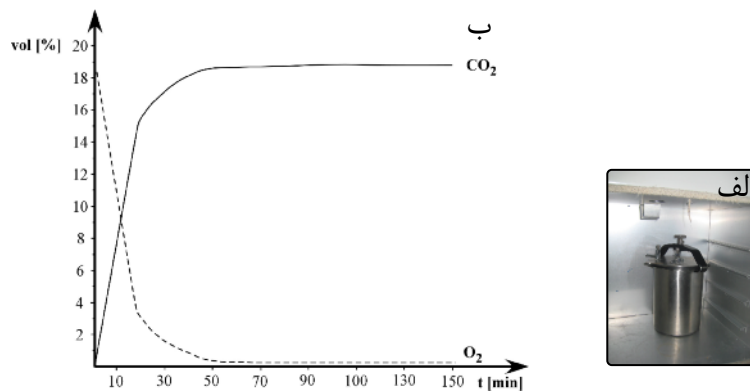
نمونه‌های مورد بررسی با مغزه گیر پیستونی (Piston Corer) از رسوب‌های کف دریا و از اعماق حدود ۹۱۰ تا ۲۰۳۳ متری نسبت به سطح آب دریا گرفته شدند. این مغزه‌ها حاوی حدود ۳ تا ۵ متر از رسوب‌های نرم کف حوضه‌ی رسوبی است. نمونه‌های مورد بررسی از سطحی‌ترین رسوب‌های بستر دریا تا عمق ۳ متری زیر آن انتخاب شدند. در این پژوهش تعداد ۴۰ نمونه از ۵ مغزه‌ی مختلف مورد بررسی قرار گرفتند و به‌منظور بررسی‌های کانی‌شناسی، از طریق آنالیز پراش پرتو X (XRD) با دستگاه MAC Science مدل MXP-3 در دانشگاه توکیو ژاپن انجام شد. برای بررسی‌های سنگ‌نگاشتی از ۱۰ نمونه رسوب‌های نرم مقاطع نازک میکروسکوپی تهیه شدند و ۹ نمونه به‌منظور مشاهده با میکروسکوپ الکترونی در آزمایشگاه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد، مدل LEO1450-VP انتخاب شدند. وجود پیریت به‌دنبال بررسی‌های رسوب‌شناسی و با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، در رسوب‌های حوضه‌ی رسوبی نانکای مشاهده شد (شکل‌های ۲ و ۳).



شکل ۲ مقاطع نازک پیریت اتوژنیک در رسوب‌های دریایی گودال نانکای. الف) پیریت اتوژنیک به مقدار کم در زمینه‌ی رسوب‌ها. ب) پیریت اتوژنیک در حجره‌های فرامینفرا.



شکل ۳ تصاویر میکروسکوپ الکترونی و آنالیز EDS پیریت در رسوب‌های دریایی گودال نانکای. الف) تشکیل پیریت فرمبوتیدال در زمینه رسوب‌ها. ب و پ) تشکیل پیریت اتوژنیک و فرمبوتیدال در حجره فرمینیفرا.



شکل ۴ الف) ظرف بی‌هوازی که دارای حجم ۲٫۵ لیتری است. ب) نمودار نشان دهنده‌ی میزان دی‌اکسید کربن موجود در ظرف بی‌هوازی. میزان دی‌اکسید کربن در حجم ۲٫۵ لیتری داخل ظرف به حدود ۱۹٪ حجم ظرف می‌رسد.

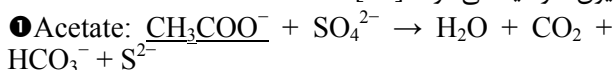
**بحث و بررسی**

ذره‌ای در سطوح ضعیف و ریزدرزه‌های وابسته به آن از فراوانی بیشتری برخوردار بوده و باعث گسترش بیوفیلم‌های میکروبی در آن شده است (شکل ۵). بیوفیلم میکروبی در مقاطع نازک میکروسکوپی به شکل خطوط تیره نامنظم و به طور پراکنده قابل مشاهده است (شکل ۵). بیوفیلم، اجتماعی از میکروب-هاست که در آن باکتری‌ها به وسیله‌ی ماتریکس آلی (ماتریکس پلی مری خارج سلولی، EPS) پیرامون آن‌ها تجمع می‌کنند

رسوب‌های بستر گودال نانکای بیشتر ریز دانه و در حد سیلت و رس بوده و به رنگ خاکستری تیره است که احتمالاً نشان دهنده‌ی وجود مواد آلی است. مشاهدات دقیق سنگ‌نگاشتی بر وجود آثار میکروبی فراوان در نمونه‌های مورد بررسی دلالت دارد (شکل ۵). تمرکز مواد آلی حاصل از فعالیت‌های میکروبی علاوه بر سطح نمونه‌های مورد بررسی و حضور در فضاهای بین

کشت به‌عنوان مواد مغذی، کنترل pH و Eh محیط کشت، دما، ایجاد شرایط بی‌هوازی، وجود مواد آلی و عدم وجود نور به شرح زیر اشاره کرد.

ترکیب مواد موجود در محیط کشت به‌عنوان مواد مغذی: از مواد مغذی موجود در محیط کشت می‌توان سولفات‌های فلزی، به ویژه سولفات آهن، سولفات منیزیم و نیز مقداری سولفات کلسیم را نام برد، که این سولفات‌ها در رشد باکتری‌های احیا کننده سولفات از اهمیت خاصی برخوردارند [۱۹]. استات و لاکتات نیز به‌عنوان دو ترکیب شیمیایی مهم در محیط کشت باعث رشد ژئوباکتری احیا کننده سولفات (SRB) می‌شوند. باکتری احیا کننده سولفات، استات و لاکتات را به‌عنوان دهنده‌های الکترون (electron donors) برای رشد به‌کار می‌گیرند [۲۰]. این دو ترکیب شیمیایی بنابر معادلات زیر و با فعالیت‌های حیاتی SRB در شرایط آزمایشگاه منجر به تولید یون سولفید می‌شوند [۱۹]:

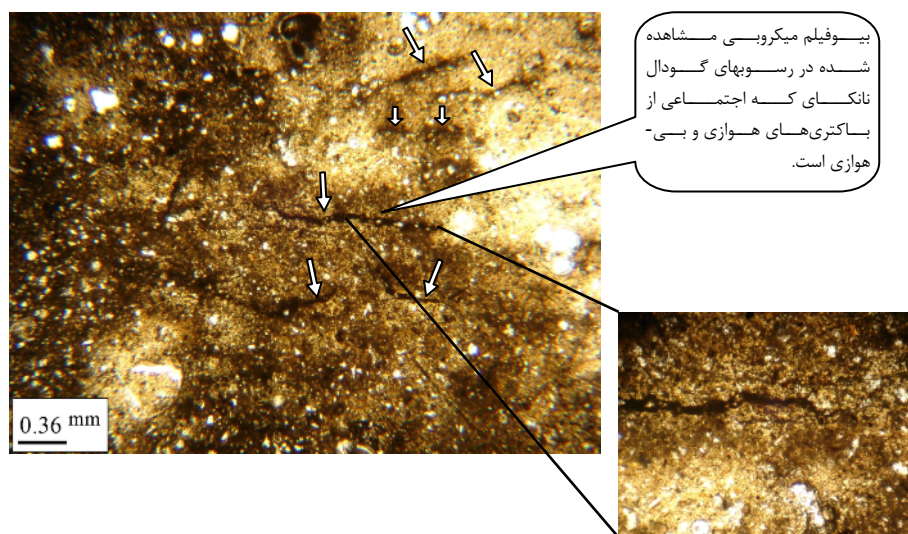


استات تولید شده از معادله‌ی شماره ② مجدداً به احیا سولفات به وسیله‌ی SRB کمک کرده و در نهایت منجر به تولید یون-های سولفید می‌شود. در محیط آزمایشگاه یون سولفید با آهن فروری موجود در محیط کشت واکنش داده و منجر به تشکیل رسوب سیاه رنگ پیریت شده است.

[۱۰]. وجود باکتری‌ها در بیوفیلم بستگی به تشکیل ماتریکس پلی‌مری خارج سلولی (EPS) دارد. ماتریکس آلی تشکیل دهنده‌ی بیوفیلم‌ها در رسوب انواع کانی‌ها تأثیر دارند [۱۶]. این انبوه‌های میکروبی شامل انواع گوناگون، به ویژه آرکی‌های اکسید کننده متان و باکتری‌های احیا کننده سولفات هستند که با مواد آلی، کربنات و پیریت اتوزنیک همراه می‌شوند. باکتری‌های احیا کننده سولفات در شرایط بی‌هوازی منجر به احیا سولفات و تشکیل پیریت اتوزنیک می‌شوند [۱۷].

با استفاده از بررسی‌های سنگ نگاشتی (شکل ۲) و میکروسکوپ الکترونی (شکل ۳)، پیریت اتوزنیک به‌طور پراکنده در زمینه‌ی رسوب‌های گودال نانکای و در حجره‌ی بعضی از فرامینیفرا مشاهده می‌شود. هم چنین وجود بیوفیلم‌های قابل مشاهده در مقاطع نازک میکروسکوپی معرف فعالیت باکتری‌ها در ایجاد آن است (شکل ۵). احیا سولفات به وسیله‌ی باکتری-های احیا کننده سولفات در بیوفیلم‌ها رخ می‌دهد [۱۸]. ساختار و فعالیت باکتری‌های موجود در این رسوب‌ها می‌تواند باعث تغییراتی در ترکیب شیمی آب منفذی شده و در نهایت منجر به ته‌نشست پیریت در رسوب‌ها شود.

شرایط محیط رسوبگذاری کانی پیریت اتوزنیک در گودال نانکای و ارتباط آن با باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفته است. پیریت اتوزنیک در شرایط آزمایشگاهی حاصل فعالیت باکتری‌های احیا کننده سولفات تشکیل شد. از فاکتورهای اصلی برای رشد این باکتری‌ها و رسوب پیریت در شرایط آزمایشگاهی می‌توان به ترکیب مواد موجود در محیط



شکل ۵ تصویر میکروسکوپی از بیوفیلم موجود در رسوب‌های فرورفتگی نانکای (ppl). پیکان‌ها نشان دهنده‌ی بیوفیلم‌های میکروبی است که به شکل خطوط تیره‌ی نامنظم و پراکنده قابل مشاهده‌اند. ماتریکس آلی باکتری‌ها در تشکیل این بیوفیلم‌ها اهمیت فراوانی دارد. ماتریکس آلی به صورت هاله‌ی شفاف پیرامون باکتری‌های احیا کننده سولفات در شکل ۷ به خوبی دیده می‌شود.

بوده و کانی پیریت اتوژنیک رسوب کرد. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که حضور مواد آلی در رسوب‌های گودال نانکای از اهمیت زیادی در رشد و فعالیت باکتری‌های احیا کننده سولفات برخوردار است. از انواع مواد آلی موجود در گودال نانکای می‌توان به کروژن (Kerogen)، (C15–C37) n- Alkanes، اسیدهای چرب [fatty acids (C12–C34)] و n-Alkanols (C14–C34) اشاره کرد [۲۳].

عدم وجود نور: لوله‌های آزمایش درون ظرف بی‌هوای (شکل ۴ الف) گذاشته شدند تا شرایط بی‌هوای، به‌صورتی که در بالا بدان اشاره شد، ایجاد شود که در این حالت باکتری‌ها در محیطی فاقد نور رشد می‌کنند.

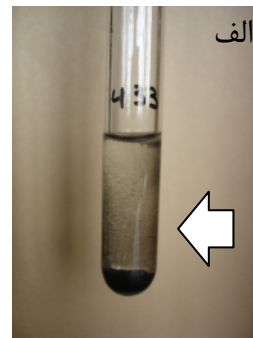
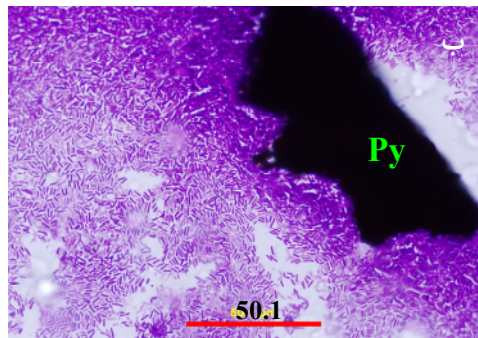
در محیط آزمایشگاه به محض اینکه باکتری‌ها از شرایط بی‌هوای خارج شده و در برابر نور قرار گیرند، فعالیت آنها و ادامه تشکیل پیریت متوقف می‌شود.

رشد مثبت این باکتری‌ها در شرایط آزمایشگاهی با رسوب سیاه رنگی مشخص می‌شود که پس از گذشت ۸ روز از فعالیت باکتری‌ها در شرایط مناسب و در لوله آزمایش رسوب می‌کند (شکل ۶ الف). ماهیت پیریت اتوژنیک به رنگ تیره با بررسی‌های با میکروسکوپ نوری، الکترونی و آنالیز EDS به اثبات رسید (شکل‌های ۷ و ۸). وجود باکتری‌های باسیلی شکل احیا کننده سولفات همراه با بلورهای پیریت بیانگر فعالیت حیاتی قابل توجه این باکتری‌ها در محیط آزمایشگاهی است (شکل ۵). رشد باکتری‌ها در چنین شرایطی نشان می‌دهد که باکتری‌های احیا کننده سولفات در رسوب‌های نانکای از نوع هتروتروف (باکتری‌هایی که از کربن آلی تغذیه می‌کنند) بوده و دمای مورد نیاز برای ادامه‌ی حیات آن‌ها ۲۷ درجه سانتی‌گراد است و در واقع این باکتری‌ها مزوفیل (بین ۲۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد) هستند.

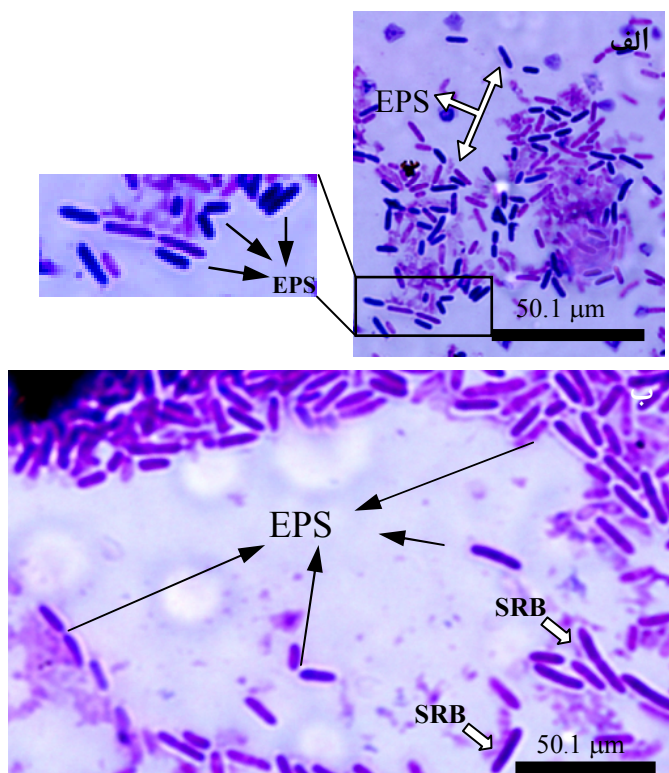
کنترل pH و Eh محیط کشت و دما: این دو عامل در رسوب پیریت اهمیت زیادی دارند به ویژه که در رسوب‌های گودال نانکای باکتری‌های احیا کننده سولفات مسئول رسوب کانی پیریت هستند. معمولاً باکتری‌های احیا کننده سولفات در دمای بین ۲۰ تا ۳۵ درجه سانتی‌گراد فعال بوده [۲۱] و در واقع مزوفیل (Mesophile) هستند [۲۲]. بر اساس نتایج آزمایشگاهی، SRB موجود در رسوب‌های گودال نانکای در دمای ۲۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، pH برابر با ۸٫۳۷ و Eh زیر صفر رشد می‌کند.

شرایط بی‌هوای: منظور از شرایط بی‌هوای میزان وجود دی‌اکسید کربن محیط کشت است که باید میزان دی‌اکسید کربن داخل ظرف بی‌هوای پس از گذشت ۱۵۰ دقیقه تقریباً به ۱۹٪ حجم ۲٫۵ لیتری ظرف بی‌هوای برسد (شکل‌های ۴ الف و ب). در چنین شرایطی است که باکتری‌های احیا کننده سولفات رشد می‌کنند. بنابراین باید داخل حوضه‌ی رسوبی نیز چنین شرایطی برای رشد و فعالیت باکتری‌های احیا کننده‌ی سولفات وجود داشته باشد تا در این صورت پیریت اتوژنیک در زمینه‌ی رسوب‌ها و یا حفره‌های فرامینفرا رسوب کند. دی-اکسید کربن در حوضه‌های رسوبی دارای هیدرات متان، به وسیله‌ی باکتری‌های متانوتروف قابل انتشار است که شرایط مناسبی را برای رسوب پیریت بیوژنیک مهیا می‌کنند.

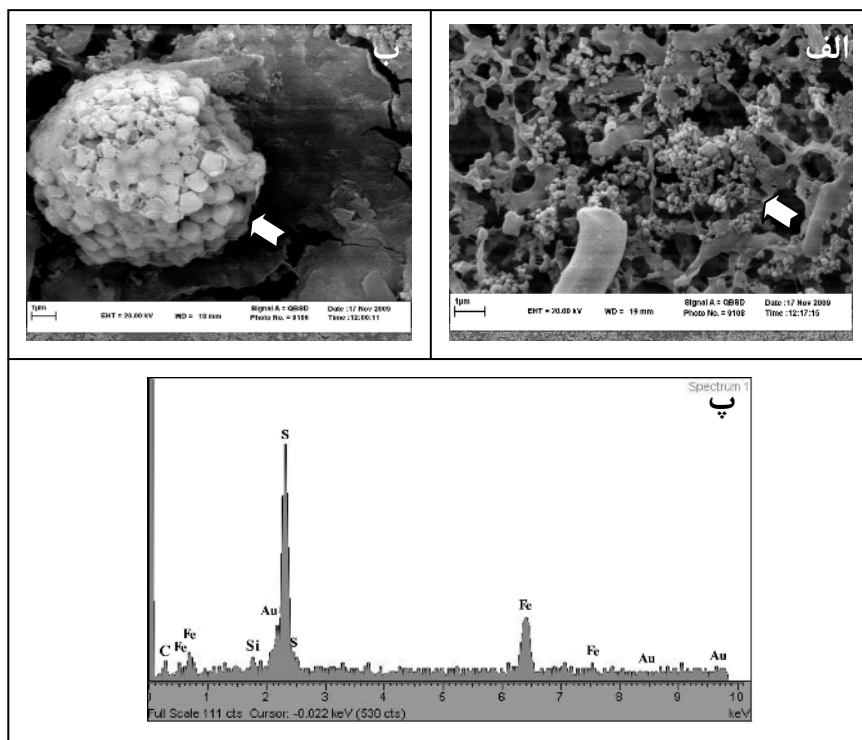
مواد آلی موجود در رسوب‌ها: باکتری‌ها در اثر محلول میانگیر فسفات ۱۵٪ مولار از رسوب‌ها جدا شده و به تنهایی و بدون حضور مواد آلی به محیط کشت تلقیح شدند ولی در این حالت هیچ‌گونه رشد و فعالیتی از آن‌ها مشاهده نشد. لذا به منظور رشد باکتری‌های احیا کننده سولفات، رسوب مورد بررسی مستقیماً به محیط کشت اضافه شده و از این طریق مواد آلی موجود در رسوب‌ها به‌عنوان ماده اصلی مغذی برای فعالیت آن‌ها مورد استفاده قرار گرفت. در نتیجه باکتری‌ها فعال



شکل ۶ تشکیل پیریت اتوژنیک در آزمایشگاه. الف) به شکل رسوب سیاه رنگ ب) پیریت اتوژنیک همراه باژئوباکتری‌های باسیلی شکل احیا کننده-ی سولفات (میکروسکوپ نوری).



شکل ۷ تصویر میکروسکوپی باکتری‌های احیا کننده‌ی سولفات (SRB) موجود در رسوب‌های نانکای که در شرایط آزمایشگاه درون محیط کشت ایده‌آل خود رشد کردند. الف و ب) ماتریکس آلی (EPS) (هاله شفاف) پیرامون سلول باسیل‌های احیا کننده سولفات را نشان می‌دهد. ماتریکس آلی باعث تشکیل بیوفیلم در رسوب‌های فرورفتگی نانکای شده است، که در شکل ۵ قابل مشاهده‌اند.



شکل ۸ تصاویر میکروسکوپ الکترونی و آنالیز EDS از رسوب پیریت اتوژنیک در شرایط آزمایشگاهی با باکتری‌های احیا کننده‌ی سولفات. الف) در زمینه‌ی تصویر بافت فیلتر کاغذی جدا کننده ذرات مشاهده می‌شود. ب) پیریت فرمبوتیدال. پ) آنالیز EDS پیریت اتوژنیک.

۱- میزان سولفات موجود در آب منفذی، ۲- میزان احیای میکروبی و ۳- میزان آهن موجود در رسوبها. میزان پیریت اتوژنیک مشاهده شده در مقاطع نازک میکروسکوپی از رسوبهای نانکای بسیار کم است که معرف پایین بودن میزان یون سولفات در آب منفذی رسوبهاست. ولی در شرایط ایده آل آزمایشگاه که یون سولفات در محیط کشت مایع به اندازه کافی وجود دارد، کانی پیریت اتوژنیک تشکیل شده در محیط کشت مایع بیشتر از کانی پیریت اتوژنیک تشکیل شده در حوضه نانکای است. بنابراین با توجه به نتایج به دست آمده در آزمایشگاه، می توان نتیجه گرفت که یکی از عوامل مؤثر در پراکندگی و فراوانی کم کانی پیریت اتوژنیک مشاهده شده در مقاطع نازک میکروسکوپی، میزان پایین یون سولفات در آب منفذی رسوبهای حوضه نانکای بوده است.

با در نظر گرفتن نتایج حاصل از آزمایشگاه، کانی پیریت اتوژنیک در حوضه نانکای نتیجه‌ای از واکنش فعالیت بیولوژیکی باکتری‌های احیا کننده سولفات با محیط است. فرایند کانی‌سازی تحت تأثیر میکروارگانیسم‌ها یا Biologically-induced mineralization نتیجه‌ی واکنش بین فعالیت بیولوژیکی میکروارگانیسم‌ها و محیط است [۱۷، ۲۴]. به عبارتی باکتری احیا کننده سولفات در اثر تبدیل سولفات محلول در آب به سولفید، باعث تغییرات ژئوشیمی محیط اطراف خود به ویژه آب منفذی می‌شود. این باکتری‌ها از این طریق به رسوبگذاری پیریت اتوژنیک در حوضه نانکای کمک می‌کنند. بنابراین می‌توان گفت که پیریت اتوژنیک در رسوبهای گودال نانکای یک ارگانومینرال است [۲۹، ۲۴، ۱۷]. باکتری‌های احیا کننده سولفات در دیگر حوضه‌های رسوبی از قبیل دریای سیاه نیز منجر به رسوب پیریت اتوژنیک می‌شوند [۳۰]. این گونه فعالیت‌های باکتریایی می‌تواند در حوضه‌های مشابه خلیج فارس و دریای خزر که دارای هیدرات متان هستند نیز وجود داشته باشد. بنابراین در صورت وجود کانی پیریت در رسوب‌های این حوضه‌ها می‌توان از ساز و کار ارائه شده در تفسیر و چگونگی تشکیل آن‌ها استفاده کرد. از سوی دیگر می‌توان به فعالیت SRB در دوران‌های گذشته زمین-شناسی نیز اشاره کرد.

#### برداشت

ژئوباکتری‌های احیا کننده سولفات، گروه مهمی از ژئومیکروبا در رسوب‌های دریایی هستند که منجر به رسوب پیریت اتوژنیک می‌شوند. البته پیریت گودال نانکای به شکل

پس از رنگ آمیزی باکتری‌ها و بررسی‌های میکروسکوپ نوری، ماتریکس آلی (EPS) به وضوح و به صورت هاله‌ی شفاف پیرامون باکتری قابل رویت است (شکل ۷) که می‌تواند در تشکیل بیوفیلم و نیز کانی زایی پیریت اتوژنیک مؤثر باشد. از تشکیل دهنده‌های ماتریکس EPS می‌توان به گروه‌های ویژه پلیمری از قبیل هیدروکسیل - (R-OH)، اسیدهای کربوکسیلیک - (R-COOH)، اسیدهای آمینه - (R-NH<sub>2</sub>)، سولفاتاتی (R-O-SO<sub>3</sub>H)، سولفوناتی (R-SO<sub>3</sub>H) و سولفویدریل - (SH-) اشاره کرد. این گروه‌های بنیانی قادر به جذب کاتیون‌هایی مانند  $Mg^{+2}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $Fe^{+2}$  هستند [۲۴]. آهن فرو موجود در ساختار ماتریکس آلی پیرامون باکتری‌ها (EPS) به‌عنوان رابط (electron shuttle) عمل کرده و الکترون‌های آزاد شده از واکنش آنیون‌های سولفات در حال تبدیل به آنیون‌های سولفید را از خارج سلول به‌درون پلاسما هدایت می‌کنند [۲۵]. در واقع باکتری‌های احیا کننده سولفات از الکترون حاصل از تبدیل یون سولفات به سولفید برای تأمین انرژی مورد نیاز خود استفاده می‌کنند [۲۶]. در نهایت یون سولفید ایجاد شده در محیط کشت (معادله‌های شماره ۱ و ۲) با یون‌های آهن فرو موجود در محیط کشت واکنش داده و منجر به رسوب پیریت در شرایط آزمایشگاهی شده است. در این شرایط تنها باکتری‌های باسیلی شکل رشد کرده و باعث احیای سولفات می‌شوند.

لازم به یادآوری است که در گودال نانکای به دلیل وجود مقادیر زیادی هیدرات متان که به دنبال بررسی‌های ژئوفیزیکی به اثبات رسیده است [۱۳] احیا سولفات و اکسایش متان در شرایط بی‌هوازی و در اعماق بیش از ۱/۵ متر هم‌زمان و به وسیله باکتری‌های احیا کننده سولفات و آرکی‌های اکسید کننده متان انجام می‌شود [۲۷] که در این صورت باعث افزایش قلیایی شدن محیط و تبدیل یون سولفات به سولفید می‌شود. در شرایط احیایی آهن به شکل آهن فرو در گودال نانکای وجود دارد و واکنش بین دو آنیون سولفید و یک کاتیون آهن باعث رسوب پیریت اتوژنیک در این حوضه رسوبی می‌شود. از طرفی افزایش قلیایی آب منفذی به ته نشینی بلورهای اتوژنیک کلسیت نیز منتهی می‌شود [۱۵]. آنیون سولفات ( $SO_4^{2-}$ ) موجود در رسوب‌های گودال نانکای از آب دریا و یا از اکسایش  $H_2S$  به وسیله باکتری‌های اکسید کننده سولفور در سطح رسوب‌های تشکیل می‌شود [۲۸]. بنابراین، سه فاکتور مهم به خاطر تشکیل پیریت اتوژنیک در رسوب‌های این حوضه عبارتند از:



Edition. Cambridge University Press. (2007) pp. 117-140.

[4] Jørgensen B. B., "Mineralization of organic matter in the sea bed - the role of sulphate reduction. *Nature*.", 296 (1982) 643-5.

[5] Pereira C., Shelley A., Haveman and Voordouw G., "Biochemical, genetic and genomic characterization of anaerobic electron transport pathways in sulphate-reducing *Delta proteobacteria*. In: *Sulphate-reducing Bacteria Environmental and Engineered Systems*.", Barton, L. L., and Hamilton, W. A., 2007. First Edition. Cambridge University Press. (2007) pp. 215-240.

[6] Sass H., Cypionka H., "Response of sulphate-reducing bacteria to oxygen. In: *Sulphate-reducing Bacteria Environmental and Engineered Systems*. Barton, L. L., and Hamilton, W. A., 2007.", First Edition. Cambridge University Press. (2007) pp. 167-184.

[۷] تاکر موریس ای، ترجمه: سید رضا موسوی حرمی و اسدالله محبوبی. ۱۳۸۸. سنگ شناسی رسوبی. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. صفحه ۳۷۵.

[۸] داگلاس، دبلیو. لوویس، مک کونچی، دیوید، ترجمه: سید رضا موسوی حرمی و اسدالله محبوبی. ۱۳۸۲. رسوب شناسی کاربردی. مرکز نشر دانشگاهی تهران. صفحه ۲۳۱.

[9] Tunnicliffe V., Juniper S. K., Sibuet M., "Reducing Environments of the Deep-Sea Floor; In: *Ecosystems of the world 28, Ecosystems of the deep oceans, Edited by Tyler*", P.A., Amsterdam, The Netherlands. First edition. Elsevier Science, (2003) pp. 81-111.

[10] Warren L. A., "Biofilms and metal geochemistry: the relevance of micro-organism-induced geochemical transformations 11. In: *G. M. Gadd, K. T. Semple and H. M. Lappin-Scott. micro-organisms and earth systems -advances in geomicrobiology*.", First Edition. Society for General Microbiology. (2005) pp. 11-34.

[11] Ehrlich H. L., Newman D. K., "Geomicrobiology. Chapter 19: Geomicrobiology of Sulfur. Fifth Edition. Taylor and Francis Group", LLC. (2009) pp. 439-490.

[12] Martin V., Henry P., Nouze' H., Noblec M., Ashid Pascala G., "Erosion and sedimentation as processes controlling the BSR-derived heat flow on the Eastern Nankai margin.", *Earth and Planetary Science Letters*. 222 (2004) 131- 144.

[13] Matsumoto R., "Methane hydrate estimates from the chloride and oxygen isotopic anomalies - examples from the Blake Ridge and Nankai Trough sediments", *Ann. New York Academic Science*. 912 (2000) 39-50.

اتوزنیک به طور پراکنده تشکیل می‌شود. پیریت در آزمایشگاه در شرایط بی‌هوازی، بدون نور و در دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد رسوب می‌کند. شرایط بی‌هوازی در حوضه ی نانکای به وجود دی‌اکسید کربن بستگی دارد. CO<sub>2</sub> در حوضه ی رسوبی از طریق فعالیت باکتری‌های متانوتروف منتشر می‌شود. میزان دی‌اکسید کربن در شرایط آزمایشگاه باید حدود ۱۹٪ حجم ۲/۵ لیتری ظرف بی‌هوازی باشد. چنین شرایطی از طریق فعالیت میکروارگانیسیم‌های متانوتروف در حوضه‌ی رسوبی نانکای ایجاد می‌شود. pH و Eh محیط کشت به عنوان عوامل فیزیکی موثر در رشد این گونه باکتری‌ها و در نتیجه تشکیل پیریت در رسوب‌های دریایی حوضه‌ی نانکای از اهمیت خاصی برخوردارند. ماتریکس آلی (EPS) پیرامون باکتری‌ها منجر به انبوه شدن بیوفیلم‌های موجود در رسوب‌ها می‌شود. آهن فروری موجود در آب منفذی جذب ماتریکس آلی شده و به‌عنوان رابطی برای جابه جایی الکترون‌های حاصل از احیا سولفات به درون سلول باکتری‌هاست. در نتیجه، این عمل از طرفی باعث رشد این میکروارگانیسیم‌ها می‌شود و از طرف دیگر در شرایط بی‌هوازی یون سولفید تشکیل شده حاصل از فعالیت باکتری‌ها با یون آهن فرو در آب منفذی واکنش داده و پیریت اتوزنیک رسوب می‌کند. کانی پیریت اتوزنیک به‌دنبال فرایند کانی‌سازی، تحت تأثیر میکروارگانیسیم‌ها و به‌عبارتی در اثر واکنش‌های بیولوژیکی بین باکتری‌ها و محیط (به ویژه آب منفذی) تشکیل شده و ارگانومینرال نامیده می‌شود. در نتیجه با توجه به ساز و کار تشکیل پیریت در محیط آزمایشگاه می‌توان شرایط کم و بیش مشابهی را در گودال نانکای جهت تشکیل ارگانومینرال پیریت اتوزنیک در نظر گرفت.

#### مراجع

[1] Barton L. L., Hamilton W. A., "Sulphate-reducing Bacteria Environmental and Engineered Systems. First Edition", Cambridge University Press, 2007 pp. 1-523.

[2] Thauer R. K., Stackebrandt E., Hamilton W. A., "Energy metabolism and phylogenetic diversity of sulphate-reducing bacteria. In: Barton, L. L., and Hamilton, W. A., *Sulphate-reducing Bacteria Environmental and Engineered Systems*", First Edition. Cambridge University Press, (2007) pp. 1-38.

[3] Rabus R., Strittmatter A., "Functional genomics of sulphate-reducing prokaryotes Sulphate-reducing Bacteria. In: *Sulphate-reducing Bacteria Environmental and Engineered Systems*. Barton, L. L., and Hamilton, W. A., 2007.", First

- Dissertation, Department of Biotechnology*", Lund University, Sweden. (2004) pp. 198.
- [23] Saito H., Suzuki N., "Terrestrial organic matter controlling gas hydrate formation in the Nankai Trough accretionary prism", offshore Shikoku, Japan. *Journal of Geochemical Exploration*. 95 (2007) 88–100.
- [24] Dupraz C., Pamela Reid R., Braissant O., Decho W., Norman R., Visscher T., "Processes of carbonate precipitation in modern microbial mats." *Earth-Science Reviews*. 96 (2009) 141-162.
- [25] Barreto M., Jedlicki E., Holmes D.S., "Identification of a gene cluster for the formation of extracellular polysaccharide precursors in the chemolithoautotroph *Acidithiobacillus ferrooxidans*", *Application Environment Microbiology*. 71 (2005) 2902–2909.
- [26] Widdel F., Musat F., Knittel K., Galushko A., "Anaerobic degradation of hydrocarbons with sulphate as electron acceptor. In: *Sulphate-reducing Bacteria Environmental and Engineered Systems. Barton*", L. L., and Hamilton, W. A., 2007. First Edition. Cambridge University Press. (2007) pp. 256-304.
- [27] Chen Y., "Methane-derived carbonate from the Gulf of Mexico and the Nankai Trough: Are related to gas hydrate dissociation? Theses of Ph.D", University of Tokyo. (2005) pp. 187.
- [28] Colwell F., Matsumoto R., Reed, "A review of the gas hydrates, geology", and biology of the Nankai Trough. *Chemical Geology*. 205 (2004) 391–404.
- [29] Perry R.S., McLoughlin N., Lynne B.Y., Sephton M.A., Oliver J.D., Perry C.C., Campbell K., Engel M.H., Farmer J.D., Brasier M.D., Staley J.T., "Defining biominerals and organominerals: direct and indirect indicators of life.", *Sedimentary Geology*. 201 (2007) 157–179.
- [30] Baumgartner L.K., Reid R.P., Dupraz C., Decho A.W., Buckley D.H., Spear J.R., Przekop K.M., Visscher P.T., "Sulfate reducing bacteria in microbial mats: Changing paradigms", new discoveries. *Sedimentary Geology*. 185 (2006) 131–145.
- [14] Wellsbury P., Goodman K., Cragg A., Parkes J., Paull C.K., The Geomicrobiology of deep marine sediments from Blake Ridge containing methane hydrate (SITES 994, 995, AND 997)1. In: Matsumoto, R., Wallace, P.J., and Dillon, W.P. (Eds.), *Proceedings of the Ocean Drilling Program, Scientific Results*. 164.
- [۱۵] کیانیپور س.، "ژئوشیمی و رسوبشناسی رسوبات دریایی عمیق (Nankai Trough) با تأکید بر منشأ کلسیت اتوزنیک"، پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه فردوسی مشهد، ۱۳۸۸، صفحات، ۲۸۹.
- [16] Konhauser K., "Introduction to Geomicrobiology", Blackwell Science Ltd. pp.171-179, 2007, p. 98.
- [17] Reitner J., Peckmann J., Blumenberg M., Michaelis W., Reimer A., Thiel V., "Concretionary methane-seep carbonates and associated microbial communities in Black Sea sediments. *Palaeogeography*", *Palaeoclimatology, Palaeoecology*. 227 (2005) 18–30.
- [18] Okabe S., "Ecophysiology of sulphate-reducing bacteria in environmental biofilms. In: *Sulphate-reducing Bacteria Environmental and Engineered Systems. Barton, L. L., and Hamilton*", W. A., First edition. Cambridge University Press. (2007) pp. 359-382.
- [19] Tang K., Baskaran V., Nemati M., "Bacteria of the sulphur cycle: An overview of microbiology", biokinetics and their role in petroleum and mining industries. *Biochemical Engineering Journal*. 44 (2009) 73–94.
- [20] Braissant O., Decho A. W., Dupraz C., Glunk C., Prezkop K. M., Visscher P. T., "Exopolymeric substances of sulfate-reducing bacteria: Interactions with calcium at alkaline pH and implication for formation of carbonate minerals. *Geobiology*", *Journal compilation*. Blackwell Publishing Ltd, (2009) pp. 1-10.
- [21] Moosa S., Nemati M., Harrison S.T.L., "A kinetic study on aerobic reduction of sulphate. Part I: Effect of sulphate concentration", *Chemical Energy Science* 57: 2773–2780.
- [22] Parawira W., "Anaerobic Treatment of Agricultural Residues and Wastewater, Doctoral