

Федеральное агентство по образованию
Государственное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
Владимирский государственный университет

О.Н. САХНО Т.А. ТРИФОНОВА

ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Учебное пособие

В трех частях

Часть 1

Владимир 2007

УДК 579.26
ББК 28.4
С22

Рецензенты:

Кандидат биологических наук, доцент кафедры ботаники
Владимирского государственного педагогического университета
Л.С. Скрипченко

Кандидат биологических наук,
доцент кафедры биологии и почвоведения
Владимирского государственного университета
Е.Б. Маленюк

Печатается по решению редакционно-издательского совета
Владимирского государственного университета

Сахно, О. Н.

С22 Экология микроорганизмов : учеб. пособие. В 3 ч. Ч. 1 /
О. Н. Сахно, Т. А. Трифонова ; Владим. гос. ун-т. – Влади-
мир : Изд-во Владим. гос. ун-та, 2007. – 64 с.
ISBN 5-89368-714-0

Основное внимание уделено роли микроорганизмов в глобальных циклах элементов (N, S, P, Fe). Рассмотрено развитие микробов в их естественных средах обитания, механизмы приспособления к экстремальным условиям.

Предназначено для студентов специальностей «Экология» (020801), «Охрана окружающей среды и рациональное использование природных ресурсов» (280201), «Биология» (020201) 3-го и 4-го курсов всех форм обучения, изучающих дисциплины «Экология микроорганизмов», «Основы микробиологии и биотехнологии», «Общая микробиология и основы вирусологии».

Табл. 1. Ил. 6. Библиогр.: 6 назв.

УДК 579.26
ББК 28.4

ISBN 5-89368-714-0

© Владимирский государственный
университет, 2007

Предисловие

Экология микроорганизмов – одно из направлений современной микробиологии и экологии. Микроорганизмы составляют половину всей живой биомассы Земли, они населяют практически все местообитания животных и растений, занимая также экстремальные ниши, где растения и животные развиваться не могут.

Микроорганизмы катализируют уникальные и важнейшие реакции живого мира: они расщепляют мертвую органическую биомассу, способны к фотосинтезу, в том числе без выделения кислорода, участвуют в глобальных циклах элементов (С, N, S, P, Са и др.), необходимых растениям и животным.

Предлагаемое издание призвано расширить круг знаний студентов-экологов, а также биологов смежных дисциплин в области многообразной и масштабной деятельности микроорганизмов по формированию и поддержанию устойчивости биосферы.

В первой части данного учебного пособия основное внимание уделено роли микроорганизмов в глобальных геохимических процессах. Рассмотрено развитие микробов в их естественных средах обитания, механизмы приспособления к экстремальным условиям. Представлены сведения об основных процессах, механизмах взаимодействия и функциональных связях в системе «микроорганизм и среда».

1. ПРЕВРАЩЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ ОРГАНИЧЕСКИХ И МИНЕРАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА

1.1. Глобальный цикл соединений азота

Азот – это незаменимый биогенный элемент, так как он входит в состав белков и нуклеиновых кислот. Круговорот азота – один из самых сложных, поскольку включает как газовую, так и минеральную фазы и одновременно один из самых идеальных круговоротов. Это пример саморегулирующегося цикла с большим резервным фондом в атмосфере (рис. 1). Воздух на 78 % состоит из азота и представляет собой крупнейший «резервуар» системы.



Рис. 1. Глобальный цикл азота и микроорганизмы, участвующие в нем

1.2. Биологическая фиксация атмосферного азота

Основная масса азота на Земле находится в газообразном состоянии. Практически запас азота нашей планеты неисчерпаем – $3,8 \cdot 10^{15}$ т N_2 .

Азот – довольно инертный элемент, поэтому редко встречается в связанном состоянии. Процесс фиксации атмосферного азота лимитирует все остальные звенья превращения азота. Он может стать доступным для живых организмов только в связанной форме, т.е. в результате азотфиксации. По значению этот процесс можно сравнить с фотосинтезом: установлено, что общая продукция микробной фиксации азота составляет до 330 млн т/г.

Способность к биологическому связыванию молекулярного азота присуща только прокариотам. Небиологические процессы фиксации азота (грозовые разряды, действие УФ-лучей, работа электрического оборудования и двигателей внутреннего сгорания) в количественном отношении несущественны, так как все вместе дают не более 0,5 % связанного азота. Промышленный синтез аммиака из газообразных H_2 и N_2 составляет около 5 %. Таким образом, свыше 90 % общей фиксации азота обусловлено метаболической активностью определенных бактерий.

Микроорганизмы, фиксирующие молекулярный азот атмосферы, называют азотфиксаторами, или дiazотрофами, т.е. использующими как N_2 , так и связанные формы азота. Азотфиксаторы известны среди 100 родов бактерий, среди которых такие функциональные группы, как анаэробные клостридии, сульфат-редуцирующие бактерии, энтеробактерии, фотосинтезирующие анаэробы, метанотрофы, спириллы, псевдомонады, актиномицеты, цианобактерии и др. Азотфиксаторы делят на 3 группы в зависимости от их взаимоотношений с растением:

1) живущие в симбиозе с растением – симбиотические азотфиксаторы;

2) ризосферные (корневые) и филлосферные (листовые) бактерии, обитающие на поверхности подземных и надземных органов растений и находящиеся с ними в синтрофных взаимоотношениях – ассоциативные азотфиксаторы;

3) не связанные непосредственно с растением – свободно-живущие азотфиксаторы.

Симбиотическая азотфиксация

Симбиотическая азотфиксация – это способность бактерий связывать молекулярный азот, находясь в симбиозе с высшими растениями. Более чем 1300 видов бобовых растений и более 200 видов небобовых древесных и кустарниковых пород (ольха, облепиха, лох и др.) имеют клубеньки на корнях. Некоторые (например, тропическое растение сесбания) образуют клубеньки на корнях и стеблях. Образование клубеньков (бородавчатых наростов) вызывают микроорганизмы, выделенные М. Бейеринком в 1888 г. и названные клубеньковыми бактериями. Бактерии в клубеньках питаются органическими соединениями, синтезированными растением, а растение получает из клубеньков связанные соединения азота.

Клубеньковые бактерии относятся преимущественно к роду *Rhizobium*, а также к роду *Bradyrhizobium*. В 80 – 90-х гг. XX столетия из клубеньков, образующихся на стеблях тропических бобовых растений, выделены новые формы клубеньковых бактерий. Так, из стеблевых клубеньков *Sesbania rostrata* – влаголюбивого бобового растения, живущего в Центральной Африке, изолирована клубеньковая бактерия, названная *Azorhizobium caulinodans*, а из стеблевых клубеньков тропических бобовых растений – *Aeschynomene indica* и *Aeschynomene scarba* – впервые выделены клубеньковые бактерии, содержащие в клетках бактериохлорофилл *a* и обладающие способностью к фотосинтезу. Они были названы *Photorhizobium thompsonianum*.

Клубеньковые бактерии характеризуются видовой специфичностью (избирательностью) по отношению к растению-хозяину. Определенный вид бактерий обычно образует клубеньки только на одном или нескольких видах бобовых растений. Так, *Rhizobium leguminosarum* инфицирует горох, вику, кормовые бобы и чечевицу; *Rhizobium phaseoli* – фасоль; *Bradyrhizobium ja-*

ponicum – сою; *Bradyrhizobium lupini* – люпин; *Bradyrhizobium vigna* – вигну, маш, арахис и т.д. Иногда наблюдается не только видовая, но и сортовая специфичность клубеньковых бактерий.

Видовая специфичность клубеньковых бактерий может нарушаться, и тогда они дают перекрестное заражение, т.е. заражают разные, не очень близкие виды бобовых растений. В таких случаях бобовое растение слабо фиксирует азот атмосферы.

Взаимодействие клубеньковых бактерий с корневой системой бобового растения начинается с привлечения (аттракции) клеток бактерий его корневыми выделениями. Подвижные бактерии, способные к хемотаксису, быстрее заражают растения, чем неподвижные. К хемоаттрактантам корневых волосков относятся флавоноиды и изофлавоноиды. В процессе распознавания принимают участие также лектины, способствующие прикреплению бактерий к корневым волоскам. Лектины – это белки, или гликопротеиды, лишенные ферментативной активности, но способные обратимо и избирательно связывать углеводы и углеводные детерминанты биополимеров без изменения их ковалентной структуры. Лектины синтезируются фактически всеми живыми организмами и в связи с этим, видимо, играют роль в межорганизменных взаимодействиях всех уровней. Так, например, лектины, образуемые бактериями рода *Azospirillum*, являющимися симбионтами многих небобовых растений, в частности злаковых, участвуют в адгезии соответствующих штаммов к корням пшеницы. Помимо адгезии лектины микроорганизмов выполняют и другие функции, активно влияя на растения непосредственно и опосредованно. Лектины *Azospirillum brasilense* избирательно влияют на прорастание семян, подавляя прорастание семян пшеницы при концентрации 0,5 мг/мл раствора и, наоборот, стимулируя при концентрации 10 мкг/мл. Лектины синтезируются также и растениями. Они могут определять хозяйскую специфичность, реагируя с капсульными полисахаридами на поверхности клубеньковых бактерий, а также могут выполнять для растений защитную роль. В частности, лектины пшеницы способны подавлять рост некоторых грибов.

Флавоноиды и изофлавоноиды индуцируют экспрессию бактериальных *nod*-генов, которые отвечают за синтез веществ, называемых *Nod*-факторами, обеспечивающих межвидовое взаимодействие. В настоящее время известны более 24 веществ, продуктов экспрессии *nod*-генов, большинство из них ферменты.

Бактерии, проникая через корневые волоски внутрь клеток растения, формируют там инфекционную нить, которая передвигается к основанию волоска и клеткам эпидермиса, при этом бактерии постепенно переходят в цитоплазму растительных клеток, образуя клубеньки, внутри которых и протекает процесс азотфиксации.

Клетки клубеньковых бактерий, перешедшие в цитоплазму растительных клеток, трансформируются в своеобразные образования – бактериоиды. Бактериоиды в 3 – 5 раз больше по размерам, чем обычные клетки, причем их форма меняется.

Первоначально палочковидные бактерии становятся шаровидными, грушевидными, вильчатыми или ветвистыми в зависимости от вида растения. Бактериоиды не делятся и составляют до 50 % массы клубенька. Фактически бактериоиды становятся азотфиксирующими органеллами клеток бобового растения-хозяина. Поэтому их называют азотосомами. Особенность таких микробно-растительных взаимодействий состоит в том, что бактерии родов *Rhizobium* и *Bradyrhizobium* фактически не способны к активной фиксации атмосферного азота вне связи с растениями, тогда как представители рода *Azorhizobium* обладают такой способностью.

В азотфиксации главную роль играет вещество леггемоглобин – пигмент, родственная гемоглобину. В образовании леггемоглобина участвуют и растение, и бактерии: протетическая группа (протогем) синтезируется бактериями, а белковый компонент (апогемоглобин) образуется при участии растения. Леггемоглобин непосредственно не участвует в фиксации молекулярного азота, так как бактериоиды могут связывать азот и без этого пигмента. Однако леггемоглобин обладает высоким сродством к кислороду, что облегчает его диффузию через клетку растений к бактериоиду. В результате бактериоиды получают кислород в коли-

честве, достаточном для их роста и получения энергии. В то же время в клубеньке не возникает слишком высокого парциального давления кислорода, которое могло бы оказывать ингибирующее влияние на фиксацию азота бактероидами.

Клубеньки, образованные активными и неактивными клубеньковыми бактериями, различают по ряду признаков. Клубеньки, образовавшиеся при инфицировании неактивными клубеньковыми бактериями, содержат мало леггемоглобина и имеют зеленоватый цвет. Клубеньки, образованные активными штаммами, окрашены в розовый цвет. Кроме того, активные расы клубеньковых бактерий образуют многочисленные клубеньки на главном корне, а на боковых их бывает мало.

Способность к симбиозу у клубеньковых бактерий обычно детерминирована плазмидными генами: *hos*-гены обуславливают узнавание хозяина; *nod*-гены определяют способность образовывать клубеньки; *nif*-гены – способность к связыванию молекулярного азота. Плазмиды, в которых локализованы указанные гены, называют *sym*-плазмидами (от англ. *symbiosis inducing*). У разных видов, а в ряде случаев и штаммов клубеньковых бактерий число и размеры плазмид сильно варьируют. Так, отдельные штаммы бактерий могут иметь до семи плазмид молекулярной массой от 80 до 4000 МД.

Формирование симбиоза бобовых растений с клубеньковыми бактериями обеспечивается согласованными взаимодействиями геномов растений и бактерий. Процесс возникновения и функционирования симбиотического сообщества сопровождается изменением экспрессии некоторых растительных и бактериальных генов. Проявлением экспрессии генов служит возникновение в растении специфичных белков в ответ на инфицирование его клубеньковыми бактериями. Идентифицировано около 40 растительных белков-нодулинов, появляющихся лишь в клубеньках.

У многих небобовых растений также существуют корневые клубеньки, способные связывать молекулярный азот. Фиксация азота в таких случаях, как и у бобовых, основана на симбиозе с прокариотами. У древесной и кустарниковой растительности

клубеньки чаще всего образуются азотфиксирующими актиномицетами, в частности представителями рода *Frankia*. Симбиотические отношения *Frankia* могут возникнуть с более чем 200 видами двудольных древесных растений, принадлежащих к восьми семействам, среди которых казуарина (*Casuarina*), ольха (*Alnus*), облепиха (*Hippophae*), восковница (*Myrica*), куропаточья трава (*Dryas*), лох (*Elaeagnus*), шефердия (*Shepherdia*). При проникновении в растения часть гиф *Frankia* превращается в морфологически уникальные структуры, способные к азотфиксации и называемые везикулами. Бактерии рода *Frankia* способны к азотфиксации и в свободноживущем состоянии, т.е. без контакта с растением.

Клубеньки обнаружены у большой группы травянистых растений – злаковых, осоковых, лютиковых и др. В клубеньках этих растений выявлены микробные ассоциации, состоящие из двух-трех видов микроорганизмов, которые представлены грамположительными и грамотрицательными бактериями. Установлено, что в клубеньках осуществляется азотфиксация, однако роль отдельных бактерий в ней пока не определена.

В последнее время из клубеньков на растениях, не относящихся к бобовым, – тропическом кустарнике *Trema orientalis* (семейство крапивных) и близком к нему *Parasponia parviflora* – выделены бактерии, близкие к клубеньковым бактериям бобовых. Указанные бактерии способны заражать бобовые растения и образовывать клубеньки. Их относят к роду *Rhizobium*. Из клубеньков на листьях тропических кустарников *Pavetta* и *Psychotria* выделены азотфиксирующие бактерии, отнесенные к роду *Klebsiella* (*Klebsiella rubescens*). Листовые клубеньки также обогащают растение азотом. Поэтому в Индии, Шри-Ланке и других странах листья *Pavetta* используют как зеленое удобрение.

Азотфиксирующие симбионты обогащают почву азотом в следующей степени: однолетние бобовые (фасоль, соя, вика, бобы, горох, чечевица) накапливают 40 – 110 кг/га азота в год, многолетние (клевер, люцерна) – 150 – 220, тропическое бобовое *Sesbania rostrata* – от 324 (сухой сезон) до 458 (влажный сезон), небобовые растения – 150 – 300 кг/га азота в год.

Ассоциативная азотфиксация

К настоящему времени известно более 200 видов (24 рода) ассоциативных diaзотрофов: *Azospirillum*, *Achromobacter*, *Arthrobacter*, *Beijerinckia*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Aquaspirillum*, *Xanthobacter* и др. Для них характерна колонизация корней растений без образования выраженных морфологических структур, но с положительным эффектом на продуктивность растения.

Впервые ассоциативные азотфиксирующие бактерии были обнаружены в 1974 – 1976 гг. бразильским ученым И. Доберейнером в ризосфере и ризоплане тропических травянистых растений. Изучение таких бактерий позволило выделить среди них несколько видов: *Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans*.

Азоспириллы – это спиралевидные грамотрицательные аэробные (микроаэрофильные) бактерии.

Рост и развитие ассоциативных бактерий связаны с поступлением к ним от растений легкодоступных источников углерода и энергии в виде корневых выделений (сахаров, органических кислот, других органических веществ), а также корневого опада и опада. Последующие наблюдения выявили, что бактерии рода *Azospirillum* встречаются в ризоплане различных растений и в более северной зоне, хотя доминируют в зоне южных почв.

В ризосфере небобовых растений достаточно широко распространены и азотфиксирующие бактерии родов *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Escherichia*, *Erwinia* и *Citrobacter* (семейства *Enterobacteriaceae*). Бактерии перечисленных родов представляют собой грамотрицательные палочки, подвижные (за исключением представителей рода *Klebsiella*), факультативные анаэробы. Они выносят довольно низкое значение реакции среды и в большом количестве обнаруживаются под лесными насаждениями, произрастающими на подзолистых почвах. В зоне умеренного климата такие бактерии обитают под травянистыми небобовыми растениями.

Азотфиксация в ризоплане овощных культур осуществляется в основном факультативно анаэробными бактериями, среди

которых доминируют энтеробактерии, главным образом представители рода *Klebsiella*. Активным азотфиксатором оказался вид *Klebsiella planticola*. Обнаружены азотфиксирующие виды рода *Bacillus*: *B. polymyxa*, *B. macerans*, *B. azotofixans* (последний выделен на корнях злаков в тропиках).

В ризосфере на корнях кукурузы, сорго и риса обнаружен новый вибриоидный организм – *Herbaspirillum seropedicae*, способный к фиксации азота в условиях ассоциативного симбиоза. На корнях злаковых и других небобовых растений распространены представители рода *Pseudomonas*, среди которых имеется ряд азотфиксаторов. Например, ассоциативный азотфиксатор *P. raucimobilis* часто встречается под рисом.

Ассоциативная азотфиксация протекает практически во всех почвах в прикорневом пространстве или на корнях различных небобовых растений и играет большую роль в их азотном питании. Достаточно высокий уровень азотфиксации обнаружен в ризосфере тропических растений – сорго, кукурузы, сахарного тростника, паспалум и др. В почвах зоны умеренного климата азотфиксация выявлена в ризосфере разнообразных небобовых растений-зерновых, корне и клубнеплодных, овощных культур, пастбищных и дикорастущих злаков, растений влажных и суходольных лугов, лесных трав. В хорошо окультуренных почвах под рисом азотфиксация достигает особенно высокого уровня и протекает в среднем со скоростью 45 – 80 кг/га азота в год, а иногда даже до 330 кг/га азота в месяц. В то же время под пшеницей и под кукурузой, культивируемыми на красноземных почвах, фиксируется соответственно около 20 и 10 кг/га азота в год.

Активность ассоциативной азотфиксации определяется количеством органических веществ – корневых выделений и корневого опада, поступающих в прикорневую зону небобовых растений.

Ассоциативная азотфиксация может также осуществляться в филлосфере, или филлоплане, т.е. на поверхности растений (листьев, стеблей). Здесь обитают так называемые эпифитные бактерии, среди которых широко распространены азотфиксаторы. Доминируют бактерии семейства *Enterobacteriaceae*, преимущест-

венно рода *Erwinia* (*Erwinia herbicola*). Эти бактерии развиваются и фиксируют азот, используя выделения органических и минеральных соединений, главным образом углеводов и органических кислот при экзосмосе, а также летучие органические вещества (альдегиды и пр.).

Диазотрофы обнаруживаются в ассоциациях не только с растениями, но и с животными. Доказана способность к азотфиксации у бактерий кишечной группы рода *Klebsiella*, живущих в качестве комменсалов в пищеварительном тракте человека.

Азотфиксация свободноживущими микроорганизмами

Среди свободноживущих азотфиксирующих бактерий наибольший интерес представляют виды родов *Clostridium* и *Azotobacter*.

Первым из свободноживущих азотфиксаторов был открыт С.Н. Виноградским в 1893 г. *Clostridium pasteurianum*. Это анаэробная бактерия, вызывающая масляно-кислое брожение, имеет палочковидные клетки длиной 1,5 – 8 и шириной 0,8 – 1,3 мкм. Молодые клетки имеют перитрихально расположенные жгутики, в старых образуются споры. При спорообразовании клетки утолщаются посередине или на конце. В присутствии кислорода воздуха *C.pasteurianum* может развиваться только при наличии в среде аэробных бактерий, поглощающих кислород. Клетки накапливают запасное питательное вещество – гранулезу (полисахарид, близкий к крахмалу). В период образования спор гранулеза постепенно исчезает. Организм мало чувствителен к реакции среды и встречается как в кислых (рН 4,5 – 5,5), так и в щелочных (рН 8 – 9) почвах.

Источником азота для бактерии рода *Clostridium* могут служить соли аммония, азотной кислоты и многие содержащие азот органические соединения. При отсутствии указанных соединений бактерии усваивают молекулярный азот. Источником углерода для *C.pasteurianum* может служить широкий набор углеродсодержащих соединений – моносахариды, дисахариды, некоторые полисахариды (декстрин, крахмал) и органические кислоты. Развиваясь на питательных средах с углеводами, *C.pasteurianum* разла-

гает их с образованием масляной и уксусной кислот, диоксида углерода и водорода. Освобождающаяся при сбраживании углеводов энергия частично идет на усвоение молекулярного азота атмосферы.

Способность фиксировать азот атмосферы свойственна и другим видам рода *Clostridium* (*C.butyricum*, *C.acetobutylicum*, *C.pectinovorum*, *C.felsineum* и др.). Анаэробные азотфиксаторы широко распространены в природе. Они встречаются почти повсеместно в почвах и загрязненных водоемах.

Аэробная бактерия, также усваивающая молекулярный азот, *Azotobacter chroococcum* была открыта голландским микробиологом М. Бейеринком в 1901 г. Клетки азотобактера плеоморфны – от палочковидных до кокковидных. Молодые клетки азотобактера представляют собой подвижные палочки размерами $2 - 3 \times 4 - 6$ мкм. Позже они превращаются в крупные кокки диаметром до 4 мкм и теряют жгутики. Кокковидные клетки располагаются одиночно, парами, часто окружены слизистой капсулой и содержат разные включения (жир, крахмал, поли- β -гидроксимасляную кислоту и др.) У кокковидных клеток некоторых видов азотобактера появляется толстая оболочка, и они превращаются в цисты.

Из описанных видов азотобактера наиболее изучены *A.chroococcum*, *A.beijerinckii*, *A.vinelandii* и *A.paspali*. Эти виды отличаются по размерам и форме клетки, а также по некоторым другим признакам, в частности пигментации колоний. Так, колонии *A.chroococcum* имеют бурый, почти черный цвет, *A.vinelandii* выделяют желтый пигмент с зеленой флуоресценцией, *A.paspali* также продуцируют желтый пигмент.

Все виды азотобактера являются аэробами. Источником азота для них могут служить соли аммония, нитриты, нитраты и аминокислоты. В отсутствие связанных форм азота азотобактер фиксирует молекулярный азот.

Азотобактер способен использовать большой набор органических соединений – моно- и дисахариды, некоторые полисахариды (декстрин, крахмал), многие спирты, органические кислоты, в том числе ароматические.

Азотобактер проявляет высокую потребность в органических веществах, поэтому в больших количествах встречается в хорошо удобренных почвах.

Для роста бактерии нуждаются в элементах минерального питания, особенно в фосфоре и кальции. Для энергичной азотфиксации требуется молибден, который входит в состав ферментов, катализирующих процесс усвоения азота.

Отмеченные физиологические особенности характеризуют экологию данного организма. Азотобактер обитает в высокоплодородных, достаточно влажных почвах с нейтральной или близкой к ней реакцией среды. При недостаточной влажности большинство клеток отмирает. В черноземных, каштановых и сероземных почвах, благоприятных для рассматриваемого микроорганизма, его обнаруживают в значительных количествах только весной. При летнем иссушении почвы остаются единичные клетки. В зоне подзолистых и дерново-подзолистых почв азотобактер можно найти в огородных и пойменных почвах, богатых органическими соединениями, с оптимальным рН 6,8 – 7,2.

К семейству *Azotobacteriaceae* относят и азотфиксирующих бактерий рода *Azomonas*: *A.agilis*, *A.insignis* и *A.macrocytogenes*. Первые два вида обитают в водоемах, третий – в почвах. В отличие от азотобактера они могут расти и фиксировать азот при рН 4,6 – 6,9 и даже 4,3. Распространены в тропических почвах.

К этому же семейству относятся и бактерии рода *Beijerinckia*. От азотобактера они отличаются значительной кислотостойкостью, кальцифобностью и некоторыми другими свойствами. Они могут расти и фиксировать азот даже в среде с рН 3,9, являются аэробами.

Впервые бактерии рода *Beijerinckia* выделены из кислых тропических почв (рН 4,5 – 5,2) Малайзии, Бангладеш и Бирмы. Описан ряд видов бактерий данного рода – *B.indica*, *B.mobilis*, *B.fluminensis*, *B.derxii*. Они широко распространены в кислых почвах субтропической и тропической зон. Реже встречаются в почвах зоны умеренного климата.

К свободноживущим фиксаторам молекулярного азота семейства *Azotobacteriaceae* относятся также виды рода – *Derxia*, выделенные из почв Индии с рН 6,5. Представитель данного рода *Derxia gummosa* – развивается в почвах с рН 4,5 – 6,5, однако лучше растет при рН 5,1 – 5,5. Виды данного рода распространены в почвах тропической зоны – Индии, Индонезии, тропической Африке, Южной Америке.

Способность к фиксации молекулярного азота, помимо представителей рода *Clostridium* и семейства *Azotobacteriaceae*, присуща и многим другим микроорганизмам: фототрофным бактериям, цианобактериям, хемолитоавтотрофным бактериям, метилотрофным, сульфатвосстанавливающим, метаногенам и др. Известно уже более ста видов микроорганизмов, обладающих способностью к фиксации азота атмосферы.

В воде рисовых полей, в различных водоемах распространены азотфиксирующие анаэробные фототрофные пурпурные серобактерии (*Cromatium*, *Thiocapsa*, *Thiocystis* и др.), пурпурные несерные бактерии (*Rhodospirillum*, *Rhodopseudomonas* и др.) и зеленые серобактерии (*Chlorobium*, *Pelodictyon* и др.).

Среди аэробных цианобактерий, способных фиксировать N_2 , преобладают представители родов *Nostoc*, *Anabaena*, *Calothrix*, *Cylindrospermum*, *Tolypothrix*, *Scytonema* и др. Усвоение молекулярного азота у цианобактерий происходит в гетероцистах (клетки с толстой клеточной стенкой), куда ограничен доступ кислорода. Обнаружены также негетероцистные азотфиксирующие цианобактерии – это представители родов *Synechocystis*, *Synechococcus*, *Chroococcidiopsis*, *Oscillatoria*, *Lyngbya*, *Microcoleus*.

Цианобактерии распространены во всех почвенно-климатических зонах, однако лучше развиваются в почвах с нейтральной реакцией среды. Многие цианобактерии живут в симбиозе с другими организмами, например, с грибами, образуя лишайники, или с высшими растениями. Так, у водного папоротника *Azolla*, который растет на поверхности затопленных рисовых полей, в полостях листьев обитает *Anabaena azollae*. Подобного рода симбиоз обнаружен между печеночниками и *Nostoc*.

Наибольшее значение фототрофные анаэробные бактерии и цианобактерии имеют, главным образом, в переувлажненных и затопленных почвах (болота, рисовники и т.д.), где они могут связывать до 20 – 50 кг/га азота в год.

В затопляемых почвах рисовых полей при разложении растительных остатков образуются газообразные соединения – H_2 , CH_4 , CO_2 , которые могут служить источниками энергии для некоторых азотфиксирующих бактерий. Например, *Corynebacterium autotrophicum* окисляет водород и ассимилирует CO_2 , т.е. способна к хемолитоавтотрофии и одновременно к фиксации азота атмосферы.

Способность к азотфиксации имеется и у метилотрофных бактерий родов *Methylomonas*, *Methylobacterium* и *Methylococcus*, которые в аэробных условиях могут жить, окисляя только метан или метиловый спирт. Известны анаэробные сульфатвосстанавливающие бактерии – азотфиксаторы, относящиеся к родам *Desulfotomaculum* и *Desulfovibrio*. Такие бактерии широко распространены в водоемах и почвах, где в анаэробных условиях идет микробное разложение растительных и животных остатков. Выделены, описаны и многие другие свободноживущие азотфиксирующие бактерии.

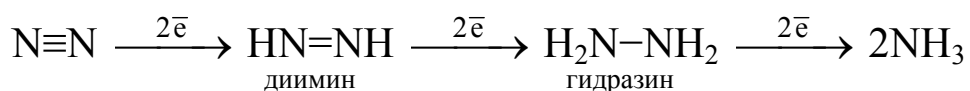
Суммарная деятельность свободноживущих бактерий в природных субстратах, в частности в почвах, приводит к накоплению азота. Так, в пахотные почвы зоны умеренного климата за счет свободноживущих азотфиксаторов ежегодно поступает от 26 до 86 кг/га азота в год, в почвы тропической зоны – до 100 и более. Считают, что в среднем в пахотных почвах России свободноживущие азотфиксаторы связывают до 20 кг/га азота в год.

Биохимия азотфиксации

Молекула N_2 чрезвычайно прочна. Чтобы разорвать три связи между двумя атомами в молекуле N_2 , необходимо затратить 941 кДж/моль, поэтому восстановление N_2 до NH_3 химическим путем – очень энергоемкий процесс. Фиксация молекулярного азота осуществляется с помощью ферментной системы – нитро-

геназы, состоящей из двух компонентов: малого, содержащего железо и серу (Fe-белок), и большого, в состав которого входят молибден, железо и сера (MoFe-белок). MoFe-белок содержит два атома Mo и около 30 атомов Fe. Атомы молибдена участвуют в активации молекулы азота, а соединения железа используются как переносчики электронов. У некоторых азотфиксаторов вместо молибдена или наряду с ним в составе большой субъединицы обнаружен ванадий, у других найдена нитрогеназа, содержащая только железо.

Для функционирования нитрогеназы необходим источник энергии в виде АТФ, ионы магния и восстановитель с низким окислительно-восстановительным потенциалом. У *S.pasteurianum* непосредственным донором электронов для восстановления N_2 служит восстановленный ферредоксин – железосодержащий водорастворимый белок-фермент, электроны с которого поступают сначала на Fe-белок нитрогеназы. Восстановленный Fe-белок образует комплекс с молекулами Mg и АТФ, что приводит к сдвигу окислительно-восстановительного потенциала FeS-центра белка от -290 до -400 мВ. Это делает возможным последующий перенос активированных электронов на MoFe-белок, в активном центре которого происходит восстановление N_2 (рис. 2). Перенос одного электрона на MoFe-белок сопровождается гидролизом как минимум двух молекул АТФ. Так как за один раз FeS-центрами ферредоксина, Fe- и MoFe-белков может быть перенесено не более двух электронов, а для восстановления N_2 до аммиака необходимо шесть электронов, следовательно, процесс должен состоять не меньше чем из трех последовательных стадий восстановления:



При этом для восстановления одной молекулы N_2 требуется не менее 12 молекул АТФ. Таким образом, процесс азотфиксации связан с затратой большого количества клеточной энергии. Для ассимиляции 1 мг N_2 *S.pasteurianum* в процессе брожения перерабатывается примерно 500 мг сахара. Источниками протонов,

электронов и АТФ служат процессы брожения (у анаэробных азотфиксаторов), дыхания (у аэробных азотфиксаторов) и фотосинтеза (у цианобактерий, пурпурных и зеленых серных бактерий).

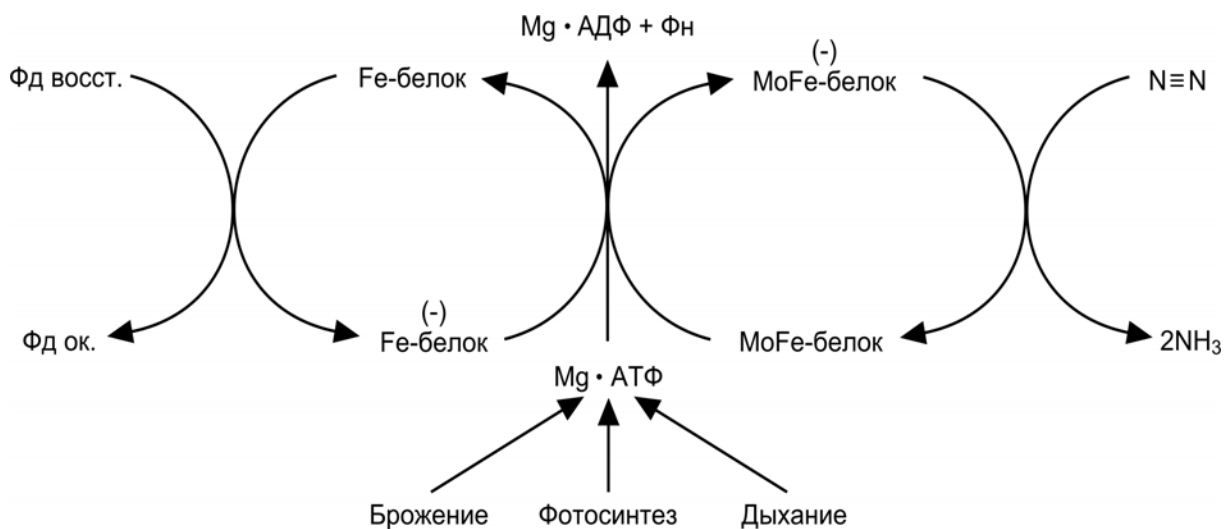
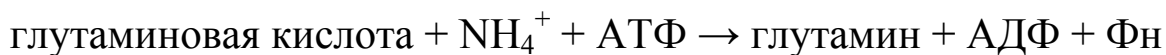


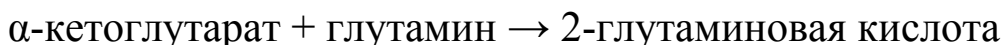
Рис. 2. Функционирование нитрогеназы;
(-) – восстановленная форма белка

Нитрогеназа может восстанавливать не только молекулярный азот, но и ацетилен (HC≡CH), азид, закись азота, цианид, нитриты, изонитрилы и протоны. В отсутствие N₂ нитрогеназа катализирует выделение молекулярного водорода в реакции, протекающей с затратой АТФ.

Аммиак, образовавшийся в процессе фиксации N₂, включается в молекулу глутаминовой кислоты в реакции, катализируемой глутаминсинтетазой:



Затем с помощью глутаматсинтазы осуществляется перенос амидной группы на молекулу α-кетоглутарата:



Азот, накопленный биологическим путем, находится в органических соединениях, главным образом в белке в аминной фор-

ме. Активность нитрогеназы снижается и подавляется при наличии более выгодного источника азота, чем атмосферный азот, например ионов аммония (switch-off-effect).

Нитрогеназная система азотфиксаторов чувствительна к кислороду. В снижении ингибирующего действия кислорода определенную роль играют морфолого-цитологические и физиолого-биохимические особенности клеток, в частности капсулы и дополнительные клеточные покровы, увеличение скорости дыхания (многие из diaзотрофов имеют разветвленную дыхательную цепь). Нитчатые цианобактерии для разобщения процессов азотфиксации и фотосинтеза формируют специальные дифференцированные клетки – гетероцисты. Представители рода *Gloeothese* (одноклеточные цианобактерии) способны к аэробной азотфиксации за счет наличия мощного чехла, окружающего клетки. Возможны конформационные изменения нитрогеназной системы. Поступление молекулярного кислорода в бактериоиды контролируется леггемоглобином – цитоплазматическим гемопротеином, в синтезе которого участвуют и растение, и бактерии-симбионты. Недавно был выделен микроорганизм *Streptomyces thermoautotrophicus*, нитрогеназная система которого нечувствительна к кислороду, а сам актиномицет способен к окислению CO. Другие особенности нитрогеназной системы этого микроорганизма – независимость от АТФ и неспособность восстанавливать ацетилен, в то время как «обычные» нитрогеназы восстанавливают ацетилен, азид и цианид.

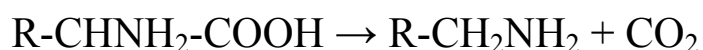
1.3. Аммонификация

Азот, фиксированный микроорганизмами, используют растения и превращают его в растительный белок; растения поедают животные – образуется животный белок. Белки животных и растительных остатков, попадая в почву, подвергаются минерализации до аммонийных солей. Часть растительных остатков трансформируется в темноокрашенное, содержащее азот вещество, – гумус.

Разложение белков и других азотсодержащих соединений при участии микроорганизмов (минерализация) называют аммонификацией, так как при этом происходит отщепление аминокислотной группы от аминокислоты с выделением свободного аммиака в процессе дезаминирования.

Молекулы белков и большинства пептидов велики и не могут проходить через цитоплазматическую мембрану микроорганизмов. Поэтому они расщепляются экзоферментами. Протеолитические ферменты, или протеазы, выделяемые клетками микроорганизмов в окружающую среду, осуществляют гидролиз ряда пептидных связей в молекулах белков. Образующиеся при этом полипептиды и олигопептиды поступают внутрь клеток микроорганизмов, где разрушаются внутриклеточными протеолитическими ферментами – пептидазами – до свободных аминокислот. В дальнейшем аминокислоты могут участвовать в синтезе белка и других полимеров, а также подвергаться переаминированию, дезаминированию или декарбоксилированию. Процесс отщепления аминокислотной группы с высвобождением аммиака может протекать как внутри клетки, так и внеклеточно.

В результате декарбоксилирования аминокислот образуются CO_2 и первичные амины:

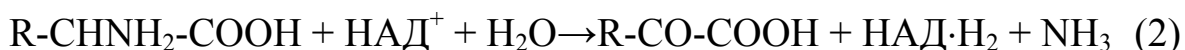


Наиболее известны из них путресцин и кадаверин, возникающие в результате декарбоксилирования орнитина и лизина при анаэробном разложении белка.

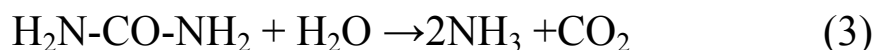
Дезаминирование может происходить при участии молекулярного кислорода:



с помощью НАД-зависимых дегидрогеназ:



или в форме гидролиза:



Дезаминирование, при котором происходят окислительные (1, 2) или гидролитические (3) преобразования углеродного скелета аминокислот, получило название окислительного или гидролитического дезаминирования соответственно.

При дезаминировании некоторых аминокислот (аланина, аспарагиновой, глутаминовой кислот) образуются α -кетокислоты (пировиноградная, α -кетоглутаровая, щавелево-уксусная), принадлежащие к числу промежуточных продуктов клеточного катаболизма. Большинство же возникающих при этом органических кислот подвергается сначала предварительным превращениям, приводящим к появлению соединений, способных прямо включаться в основные катаболические пути клетки. Например, распад L-лейцина в конечном итоге приводит к образованию ацетил-КоА-исходного субстрата ЦТК. Такова энергетическая сторона метаболизма бактерий-аммонификаторов. Для аммонификаторов характерно использование широкого круга органических соединений, в том числе сахаров, органических кислот, которые они, как правило, предпочитают белкам. Форм, приспособленных к использованию только белков, немного.

При аэробном распаде белка основными конечными продуктами процесса бывают CO_2 , аммиак, сульфаты и вода. В анаэробных условиях при распаде белка образуются аммиак, амины, CO_2 , органические кислоты (жирные и ароматические – бензойная, ферулиновая и др.), меркаптаны, а также вещества с неприятным запахом – индол, скатол и сероводород.

Наиболее активные аммонификаторы – это представители грамположительных споровых бактерий из рода *Bacillus* (*B. mycooides*, *B. cereus*, *B. subtilis*) и рода *Clostridium* (*C. sporogenes*, *C. putrificus*). Из не образующих эндоспоры форм к аммонификаторам относятся виды грамположительных бактерий родов *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, грамотрицательные виды рода *Proteus* (*P. vulgaris*), *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. aeruginosa*), а также актиномицеты и грибы.

Процесс аммонификации в быту известен как «гниение», поскольку при этом происходит накопление продуктов, обла-

дающих неприятным специфическим запахом. Роль гнилостных бактерий в природе огромна, поскольку доля белка в тканях отмерших растений и животных велика, а аммонифицирующие микроорганизмы осуществляют минерализацию белков, разлагая их в конечном счете до CO_2 , NH_3 и H_2S .

Аммонификация производных белка – пептидов и аминокислот – представляет собой наиболее динамичное звено в цикле азота, хотя этому процессу подвержены и другие азотсодержащие органические соединения – производные нуклеиновых кислот, пуриновые и пиримидиновые основания, мочевины и мочевая кислота, азотсодержащий полисахарид хитин, гуминовые кислоты и др.

1.4. Нитрификация

Образующийся при микробном разложении азотсодержащих органических соединений аммиак частично адсорбируется в почве, потребляется как источник азота в процессе метаболизма почвенных микроорганизмов и в аммонийной форме растениями (иммобилизуется), выделяется в атмосферу, а также окисляется в нитриты и нитраты в процессе нитрификации.

Нитрификация является единственным в цикле азота процессом, ведущим к образованию окисленных форм азотистых соединений. Нитрифицирующие бактерии получают энергию в результате окисления восстановленных соединений азота (аммиака, азотистой кислоты). Впервые чистые культуры этих бактерий получил С.Н. Виноградский в 1892 г., установивший их хемолитоавтотрофную природу. Все нитрифицирующие бактерии выделены в семейство Nitrobacteriaceae. Это одноклеточные грамотрицательные бактерии. Среди нитрифицирующих бактерий есть палочковидные, эллиптические, сферические, извитые и дольчатые, плеоморфные клетки. Размеры клеток колеблются от 0,3 до 1 мкм в ширину и от 1 до 3 мкм в длину. Существуют подвижные и неподвижные формы с полярным, субполярным и перитрихальным жгутикованием.

Размножаются бактерии-нитрификаторы в основном делением, за исключением *Nitrobacter*, для которого характерно почкование. Почти у всех нитрификаторов хорошо развита система внутрицитоплазматических мембран, значительно различающихся по форме и расположению в клетках отдельных видов.

Все нитрифицирующие бактерии разделены на две группы в зависимости от того, какую фазу процесса они осуществляют. Первую фазу – окисление солей аммония до солей азотистой кислоты (нитритов) – осуществляют аммонийокисляющие бактерии (роды *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*, *Nitrosolobus*, *Nitrosovibrio*). Наиболее детально к настоящему времени изучен *Nitrosomonas europaea*. Он представляет собой короткие овальные палочки размерами $0,8 - 1 \times 1 - 2$ мкм. В жидкой культуре клетки *Nitrosomonas* проходят ряд стадий развития. Две основные из них представлены подвижной формой и неподвижными зооглеями. Подвижная форма обладает субполярным жгутиком или пучком жгутиков.

Вторую фазу нитрификации – окисление нитритов до нитратов – осуществляют нитритоокисляющие бактерии, относящиеся к родам *Nitrobacter*, *Nitrospira* и *Nitrococcus*. Наиболее изучен *Nitrobacter winogradskyi*, однако описаны и другие виды (например *Nitrobacter agilis*). Клетки нитробактера имеют удлиненную, клиновидную или грушевидную форму, более узкий конец часто загнут в клювик, размеры клеток – $0,6 - 0,8 \times 1 - 2$ мкм. При почковании дочерняя клетка обычно подвижна, так как имеет один полярный жгутик. Известно чередование в цикле развития подвижной и неподвижной стадий.

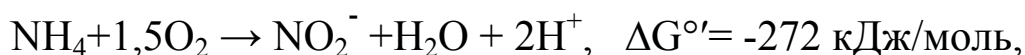
Все нитрифицирующие бактерии – облигатные аэробы; некоторые виды – микроаэрофилы. В последние годы обнаружена способность бактерий к анаэробному окислению аммиака. Этот процесс, получивший название «анаммокс», играет важную роль при очистке сточных вод. Осуществляющие его бактерии относятся к группе планктомицетов.

Большинство нитрификаторов – облигатные автотрофы, рост которых ингибируется органическими соединениями в кон-

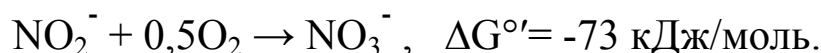
центрациях, обычных для гетеротрофов. С использованием ^{14}C -соединений показано, что облигатные хемолитоавтотрофы могут включать в состав клеток некоторые органические вещества, но в весьма ограниченной степени. Основным источником углерода остается CO_2 , ассимиляция которого осуществляется в восстановительном пентозофосфатном цикле. Только для некоторых штаммов *Nitrobacter* показана способность к медленному росту в среде с органическими соединениями в качестве источника углерода и энергии.

Процесс нитрификации локализован на цитоплазматической и внутрицитоплазматической мембранах. Ему предшествуют поглощение NH_4^+ и перенос его через ЦПМ с помощью медьсодержащей транслоказы.

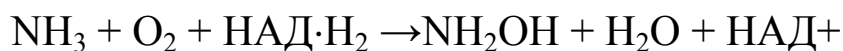
Первую фазу нитрификации можно выразить уравнением



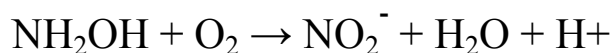
вторую фазу –



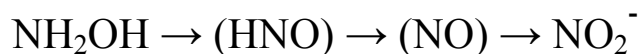
При окислении аммиака до нитрита атом азота теряет 6 электронов. Предполагается, что субстратом для нитрификации первой фазы, видимо, является не аммоний, а аммиак, который превращается в нитрит в результате двух последовательных реакций. В первой из них участвует Cu -содержащая, мембраносвязанная монооксигеназа, которая катализирует присоединение к молекуле аммиака одного атома O_2 ; второй взаимодействует, вероятно, с $\text{НАД}\cdot\text{H}_2$, что приводит к образованию H_2O :



Гидроксиламин далее ферментативно окисляется до нитрита:

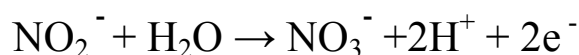


Полагают, что сначала гидроксиламин превращается в нитроксил (HNO), а также оксид азота в связанной форме:



Окисление гидроксиламина сопряжено с функционированием дыхательной электронтранспортной цепи (ЭТЦ), в которую входят цитохромы типов *c* и *a*, а также терминальная оксидаза. Конечным акцептором служит молекулярный кислород. Транспорт электронов по ЭТЦ сопровождается переносом двух протонов через мембрану, приводящим к созданию протонного градиента и синтезу АТФ. Часть энергии $\Delta\mu\text{H}^+$, видимо, расходуется на образование НАД·Н, необходимого для ряда биосинтетических реакций в результате обратного переноса электрона, так как редокс-потенциал гидроксиламина недостаточен для его прямого восстановления.

Вторая фаза нитрификации сопровождается потерей двух электронов. Окисление нитрита до нитрата, катализируемое молибден-содержащим ферментом мембраносвязанной нитритоксидоредуктазой, локализовано на внутренней стороне цитоплазматической мембраны и происходит следующим образом:



В состав ЭТЦ нитрификаторов второй фазы входят цитохромы *a*₁, *c*₁ и *aa*₃. Электроны поступают на цитохром *a*₁ и через цитохром *c*₁ на терминальную оксидазу *aa*₃, где акцептируется молекулярным кислородом. В условиях высокого содержания в среде молекулярного кислорода функцию терминальной оксидазы может выполнять цитохром *o*. При этом происходит перенос через мембрану 2H^+ . Поток электронов от NO_2^- на O_2 происходит с участием очень короткого отрезка дыхательной цепи. Так как E_0 пары $\text{NO}_2^-/\text{NO}_3^-$ равен +420 мВ, восстановитель образуется в процессе энергозависимого обратного переноса электронов. Большая нагрузка на конечный участок дыхательной цепи объясняет высокое содержание цитохромов *c* и *a* у нитрифицирующих бактерий.

Автотрофные нитрификаторы распространены в почве, а также различных пресных и соленых водоемах, в сточных водах, на горных породах, на каменных и железобетонных строениях. В своей деятельности нитрификаторы развиваются совместно с

микроорганизмами, осуществляющими минерализацию (аммонификацию) азотсодержащих органических веществ и приводящими к накоплению исходного субстрата нитрификации – аммиака.

Процесс нитрификации, являясь важным звеном в круговороте азота в природе, имеет как положительные, так и отрицательные стороны. Переведение азота из аммонийной формы в нитратную способствует обеднению почвы азотом, поскольку нитраты легко вымываются из почвы. Кроме того, нитраты восстанавливаются в результате денитрификации до N_2 , что также обедняет азотный запас почвы. В то же время нитраты – хорошо используемый растениями источник азота. Однако в растительном организме соли азотной кислоты перед включением в синтез должны быть восстановлены, на что тратится энергия. Аммоний же используется непосредственно. В связи с этим предложено использовать ингибиторы нитрификации, синтезированные на пиридиновой основе (нитропирин и др.), для повышения эффективности азотных удобрений. К положительным следствиям нитрификации следует также отнести подкисление почвы, улучшающее растворимость и, следовательно, доступность некоторых жизненно необходимых элементов, в первую очередь фосфора и железа.

Многие хемоорганогетеротрофные бактерии, принадлежащие к родам *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Nocardia*, *Streptomyces*, *Corinebacterium*, и отдельные виды грибов из родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Cladosporium* способны окислять аммиак, гидроксилламин и другие восстановленные соединения азота (амиды, амины, гидроксамовые кислоты, алифатические и ароматические нитросоединения, оксимы и др.) до нитритов и нитратов. Процесс нитрификации этих организмов, однако, не приводит к получению ими энергии. Одна из предполагаемых схем процесса выглядит следующим образом:

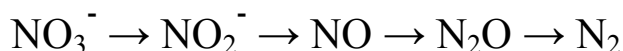


Изучение природы этого процесса, получившего название гетеротрофной нитрификации, показало, что, возможно, он связан с разрушением образуемой бактериальными культурами перекиси водорода с помощью пероксидазы. Образующийся при этом активный кислород окисляет NH_3 до NO_3^- .

Гетеротрофная нитрификация встречается в естественных условиях (почвах, водоемах и других субстратах). Она может приобретать главенствующее значение, особенно в атипичных условиях (например при высоком содержании органических С- и N-соединений в щелочной почве и т.п.). Гетеротрофные микроорганизмы не только способствуют окислению азота в таких условиях, но и вызывают образование и накопление токсичных веществ, вредных для человека и животных, в связи с чем в настоящее время изучается возможность их образования в природе.

1.5. Денитрификация

Денитрификация – это процесс восстановления нитратов до нитритов и далее до какой-либо из газообразных форм азота (оксида азота, закиси азота и молекулярного азота):



Способность к денитрификации обнаружена у многих почвенных и водных прокариот, среди них фото- и хемотробы. Наиболее часто она встречается у грамположительных бактерий из родов *Bacillus* и *Micrococcus*, а также у грамотрицательных бактерий, принадлежащих к роду *Pseudomonas*. Денитрификаторы – факультативные анаэробы, переключающиеся на денитрификацию только в отсутствие кислорода. В аэробных условиях эти микроорганизмы осуществляют процесс кислородного дыхания.

В анаэробных условиях денитрификаторы используют нитраты и нитриты как конечные акцепторы электронов при окислении органических или неорганических субстратов для получения энергии. В тех случаях, когда донорами электронов служат орга-

нические соединения, денитрификацию осуществляют хемоорганогетеротрофы, а если неорганические – хемолитоавтотрофы. Большинство денитрификаторов – хемоорганотрофы. Использование в качестве конечного акцептора электронов нитратов позволяет им окислять органические субстраты полностью (до CO_2 и H_2O) по обычным катаболическим путям. Переходящий на переносчики водород поступает в дыхательную цепь.

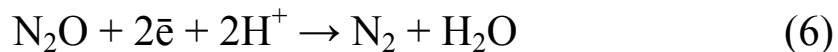
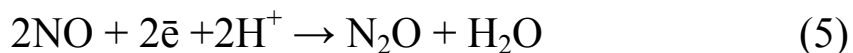
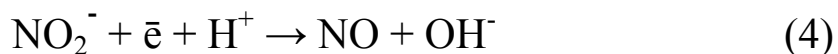
Изменение свободной энергии при окислении одной молекулы глюкозы молекулярным кислородом ($\Delta G_0' = -2870$ кДж/моль) того же порядка, что и окисление этого же субстрата в анаэробных условиях нитратом, восстанавливающимся до нитрита ($\Delta G_0' = -1770$ кДж/моль) или молекулярного азота ($\Delta G_0' = -2700$ кДж/моль). Таким образом, энергетические возможности окисления глюкозы с участием нитрата сопоставимы с энергетическими возможностями процесса аэробного дыхания. Запасание клеткой полезной энергии при денитрификации зависит от организации электронного транспорта, свойств и локализации соответствующих редуктаз. Электронтранспортные цепи денитрификаторов в анаэробных условиях содержат все основные типы связанных с мембранами переносчиков: флавопротеины, хиноны (убихинон, менахинон или нафтохинон), цитохромы типа *b*, *c*. Цитохромоксидазы в этих условиях не синтезируются.

Полный процесс денитрификации состоит из четырех восстановительных этапов, каждый из которых катализируется специфической мембраносвязанной редуктазой. Нитратредуктазы всех денитрификаторов структурно сходны между собой (содержат Mo-FeS-белки) и катализируют восстановление нитрата до нитрита в соответствии с уравнением



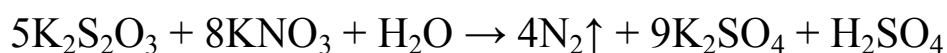
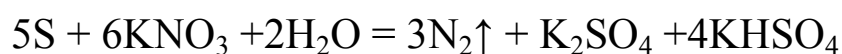
С дыхательной цепью нитратредуктазы сопряжены на уровне цитохрома *b*. В аэробных условиях нитратредуктаза не образуется.

Нитритредуктазы (4) и, вероятно, редуктазы окиси (5) и закиси (6) азота акцептируют электроны на уровне цитохрома *c*, осуществляя следующие реакции:



В дыхательной цепи денитрификаторов при переносе электронов на нитрат функционируют два генератора $\Delta\mu\text{H}^+$ (вместо трех при переносе электронов на O_2). Процесс восстановления нитрата до нитрита локализован на внутренней стороне ЦПМ. По другим данным, ферментный комплекс имеет трансмембранную ориентацию, в результате чего поглощенные из цитоплазмы протоны переносятся на противоположную сторону, где участвуют в нитратредуктазной реакции. В любом варианте это приводит к созданию трансмембранного протонного градиента нужного направления. Таким образом, при денитрификации перенос двух электронов сопряжен с трансмембранным переносом четырех протонов, т.е. энергетический выход составляет примерно 70 % по сравнению с аэробным дыханием.

Полное восстановление нитратов до газообразных продуктов (NO_2 , N_2O , N_2) могут осуществлять только прокариоты. В наибольшей степени способность к полному восстановлению нитратов распространена у представителей родов *Pseudomonas* (*P.fluorescens*, *P.stutzeri*, *P.aeruginosa*) и *Bacillus* (*B.licheniformis* и др.). К хемолитоавтотрофным бактериям-денитрификаторам относят *Thiobacillus denitrificans*, *Thiomicrospira denitrificans*, *Paracoccus denitrificans*. Сероокисляющие *Thiobacillus denitrificans* и *Thiomicrospira denitrificans* способны размножаться в анаэробных условиях, используя в качестве источника энергии и восстановителя элементарную серу или тиосульфат. Нитрат восстанавливается до газообразного азота:



В обмене веществ *Paracoccus denitrificans* нитраты выступают окислителями водорода (H_2), восстанавливаясь при этом полностью до N_2 .

Восстановление нитратов может происходить также и химическим путем за счет водорода, образующегося в анаэробных условиях. Этот процесс называют косвенной денитрификацией. Рассмотренный выше процесс биологического восстановления нитратов – прямая денитрификация.

Иногда денитрификацию называют анаэробным нитратным дыханием, или диссимиляционной нитратредукцией, хотя это не совсем верно. Так же, как и денитрификация, диссимиляционная нитратредукция осуществляется в анаэробных условиях, а клетка получает энергию за счет использования NO_3^- как конечного акцептора электронов вместо кислорода. Однако образования восстановленных газообразных форм азота в этом процессе не происходит, а восстановление нитрата заканчивается образованием нитрита. Способностью к нитратному дыханию обладают как эукариотические микроорганизмы (водоросли, грибы, дрожжи), так и многие прокариоты (представители более 70 родов).

Восстановление нитрата в реакциях конструктивного метаболизма, не приводящее к получению энергии, называется ассимиляционной нитратредукцией. Способность к ассимиляции нитрата характерна для растений, некоторых грибов и бактерий. В целом процесс можно охарактеризовать следующими реакциями, которые катализируются редуктазами:



Аммонийный и нитратный азот, поглощенные микробными клетками, включаются в органические азотсодержащие полимеры клеточных компонентов и временно выводятся из круговорота азота, т.е. происходит их иммобилизация.

Способность к ассимиляционной нитратредукции необязательно облигатно связана со способностью к денитрификации. Например, *Pseudomonas aeruginosa* обладает обеими метаболическими активностями; у *Rhodopseudomonas sphaeroides* обнаружена способность к денитрификации, но не к ассимиляции нитрата;

наконец, многие эубактерии могут ассимилировать нитрат, но не могут осуществлять денитрификацию. Оба процесса восстановления нитрата различаются по ряду признаков (см. таблицу). Информация об ассимиляционной нитратредукции и денитрификации закодирована в разных генах.

Различия между ассимиляционной нитратредукцией и денитрификацией

Признак	Ассимиляционная нитратредукция	Денитрификация
Локализация в клетке	В цитоплазме	В мембранах
Отношение к энергетическому метаболизму	Не связана с получением клеточной энергии	Связана с синтезом АТФ
Отношение к O ₂	Нечувствительна к O ₂	O ₂ ингибирует активность и репрессирует синтез NO ₃ ⁻ и NO ₂ ⁻ – редуктаз
Отношение к NH ₃	Репрессирует синтез ферментов	—
Судьба конечного продукта	Входит в состав азотсодержащих клеточных компонентов	Выделяется из клетки

Денитрифицирующие бактерии широко распространены в почвах, особенно во влажных и богатых неразложившимися органическими остатками, в ризосферах, а также в илах пресных и морских водоемов. Денитрификация – одна из причин обеднения почв азотом и неполного использования растениями вносимых в почву азотных удобрений. Особенно существенен этот процесс в переувлажненных почвах, а также в тех случаях, когда минеральные азотные удобрения вносят в форме нитратов совместно с навозом или другими органическими удобрениями. Потери азотных удобрений в почвах в результате денитрификации могут составлять от 5 до 80 %. Один из способов борьбы с денитрификацией – рыхление почвы, создающее в ней аэробные условия, что заставляет денитрифицирующие бактерии перестраивать электрон-

транспортные системы, осуществляя перенос электронов на O_2 , а не на нитраты. В то же время этот процесс имеет большое экологическое значение в связи с тем, что он восстанавливает баланс азота в атмосфере, являясь единственным источником атмосферного азота, а также предохраняет водоемы от чрезмерного попадания в них нитратов, вымываемых из почв. В результате микробиологической денитрификации в атмосферу ежегодно поступает из почв и водоемов 270 – 330 млн т азота.

Контрольные вопросы

1. Назовите основные группы азотфиксирующих микроорганизмов.
2. В чем сущность симбиоза растений с азотфиксирующими бактериями?
3. Какие растения вступают в симбиотические отношения с клубеньковыми бактериями?
4. Какие микроорганизмы выполняют ассоциативную азотфиксацию?
5. Назовите свободноживущие микроорганизмы, фиксирующие азот атмосферы.
6. Почему азотфиксирующие микроорганизмы называют diaзотрофами?
7. Какова роль леггемоглобина в азотфиксации?
8. Перечислите механизмы защиты нитрогеназы от кислорода.
9. Какие микроорганизмы являются наиболее активными аммонификаторами?
10. В чем заключаются первая и вторая фазы нитрификации и какие микроорганизмы их осуществляют?
11. Какое значение в природе имеет процесс нитрификации?
12. Что такое гетеротрофная нитрификация?
13. В чем заключается отличие ассимиляционной нитратредукции от денитрификации?
14. В чем заключается отличие диссимиляционной нитратредукции от денитрификации?
15. Что такое прямая и косвенная денитрификация?
16. Каково экологическое значение денитрификации?

2. ТРАНСФОРМАЦИЯ СОЕДИНЕНИЙ СЕРЫ БАКТЕРИЯМИ

2.1. Биогенный цикл соединений серы

Сера относится к числу макроэлементов (содержится в клетке в концентрации 0,15 – 0,20). Она входит в состав серосодержащих аминокислот: цистина, цистеина, метионина, а также в некоторые витамины (биотин, тиамин, пантотеновая кислота), в кофермент А, участвующий более чем в 60 ферментативных реакциях. Формирование третичной структуры белков осуществляется за счет образования дисульфидных мостиков (-S-S-) между различными участками полипептидной цепи. Очень много серы содержится в составе кератина – белка волос, в нем содержание цистеина и цистина достигает 18 %.

Сера в изобилии присутствует в земной коре, среднее ее содержание 0,047 %. В природе сера образует свыше 420 минералов, например самородную серу S, пирит FeS₂, галенит PbS, сфалерит ZnS, гипс CaSO₄·2H₂O, мирабилит Na₂SO₄·10H₂O (глауберова соль). В почве сера встречается в форме сульфатов – CaSO₄·2H₂O, Na₂SO₄, K₂SO₄, (NH₄)₂SO₄, сульфидов – FeS₂, Na₂S, ZnS и органических соединений. В нефти также встречаются органические соединения серы. Валовые запасы серы в почве сравнительно невелики, и растения часто испытывают недостаток в ней. Растения и грибы потребляют серу в виде аниона SO₄²⁻, животные – в составе белков.

Биогенный круговорот серы в биосфере протекает при активном участии прокариот и как нельзя более полно характеризует многообразие их метаболических возможностей (рис. 3).

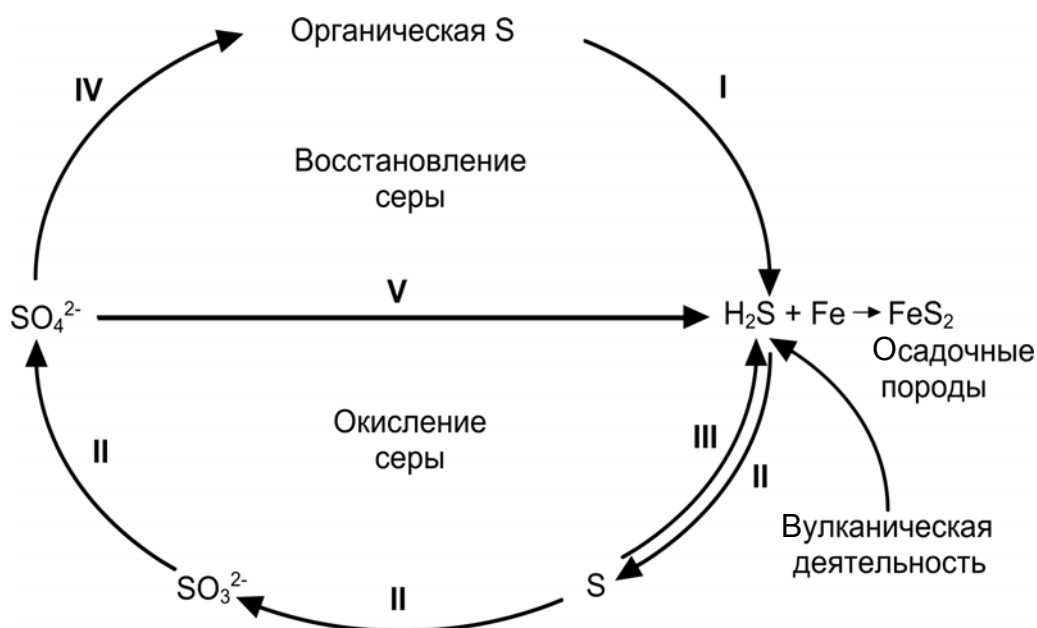


Рис. 3. Биогенный цикл серы

При минерализации белковых соединений (гниение, аммонификация) сера в основном выделяется в виде сероводорода H_2S (на рис.3 процесс обозначен цифрой I). Интенсивность запаха гниющего белка демонстрирует количество в нем серосодержащих аминокислот – чем сильнее пахнет сероводородом, тем больше их было в составе белкового продукта. Именно поэтому тухлые яйца имеют более неприятный запах, чем, например, гниющие мясо или грибы. Аммонификацию проводят бактерии родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Proteus*, *Clostridium* и других, а также грибы.

2.2. Окисление соединений серы

Выделяющийся при гниении сероводород, а также поступивший из недр земли (сероводородные источники) в ходе небиологических геологических процессов последовательно окисляется прокариотами (на рис. 3 обозначен цифрой II). Микроорганизмы, окисляющие соединения серы, можно разделить на три группы: фотосинтезирующие (окрашенные) бактерии, бесцветные серобактерии и тионовые бактерии.

Фотосинтезирующие пурпурные и зеленые серные бактерии (*Chromatium*, *Chlorobium* и др.) преимущественно обитают в вод-

ной среде (пруды, морские лагуны, озера и т.д.), где имеется H_2S . Большой роли в почвах не играют. Эти микроорганизмы являются фотолитоавтотрофами, окисляют сероводород и серу в анаэробных условиях на свету. Источником энергии для автотрофной ассимиляции CO_2 у них служит свет, донором водорода для восстановления $CO_2 - H_2S$. Фотосинтез при этом не сопровождается выделением O_2 .

Серобактерии окисляют сероводород кислородом воздуха и могут откладывать капли серы внутри клетки. Предполагают, что сера, которую откладывают в клетках бесцветные серобактерии, может быть использована как акцептор электронов при окислении органических веществ в анаэробных условиях, например при нахождении бактерий в илах. Считают также, что окисление сероводорода иногда может иметь защитное значение для бесцветных серобактерий, не обладающих каталазной активностью. В этом случае образующаяся в клетках перекись водорода выступает окислителем сероводорода и восстанавливается до воды.

К серобактериям относят микроорганизмы различного происхождения: нитчатые скользкие и неподвижные (образующие многоклеточные трихомы) серобактерии родов *Beggiatoa*, *Thiothrix*, *Thioploca*, *Thiospirillum* и других, серобактерии с гигантскими одиночными клетками (*Achromatium*, *Macromonas* и *Thiovulum*) и относительно мелкие формы (*Thiospira* и *Thiobacterium*). Одноклеточные серобактерии имеют сферическую, овальную, палочковидную или извитую формы, есть подвижные и неподвижные, грамотрицательные. Нитчатые формы встречаются главным образом в грязевых водоемах, возможно их развитие в затопленных почвах, содержащих восстановленные формы серных соединений.

Лишь немногие штаммы серобактерий удается выращивать в виде чистых культур на минеральной среде с сероводородом. Чаще они требуют присутствия небольших количеств органических веществ. Таким образом, среди серобактерий имеются хемолитоавтотрофные и хемолитогетеротрофные виды.

В отличие от серобактерий группа тионовых бактерий изучена лучше. Эти формы при окислении сероводорода не откладывают серу внутри клеток, большинство из них – хемолитоавтотрофы. Они представляют собой единую в морфологическом и биохимическом отношении группу организмов. Все тионовые бактерии, за исключением небольшого числа денитрифицирующих видов, – аэробы и способны использовать энергию окисления восстановленных соединений серы в серную кислоту для ассимиляции углерода, образования веществ клетки и для других функций. Окисление проходит по схеме



причем на каждом этапе выделяется энергия в виде АТФ. Большинство тионовых бактерий, являющихся аэробами, использует в качестве окислителя кислород. Анаэробные виды, такие как денитрифицирующие бактерии, используют в качестве окислителя нитрат-анионы:



Это уникальный процесс, демонстрирующий удивительные метаболические возможности прокариот – окисление живым существом серы азотной кислотой для получения энергии. Некоторые тионовые бактерии способны кроме окисления серы использовать для своей жизнедеятельности окисление других соединений, например органических веществ или закисного железа.

Морфологически тионовые бактерии представляют собой мелкие палочки с округлыми концами и одним полярным жгутиком, этим они напоминают типичные псевдомонады. Различают группу автотрофных тиобацилл, развивающихся в кислой среде (например *Acidithiobacillus thiooxidans*), окисляющих ионы железа (*A. ferrooxidans*), развивающихся в нейтральной среде (*Thiobacillus thioparus*) и денитрифицирующих (*T. denitrificans*). К этой группе относятся основные виды тиобацилл. В последнее время обнаружены сероокисляющие бактерии, способные к жизнедеятельности при рН 2 – 3 и температуре 70 – 75 °С и сохраняющие жизнеспособность при 90 °С. Это термоацидофильные архебактерии,

факультативные хемолитоавтотрофы рода *Sulfolobus*. Распространены они в термальных серных источниках.

Существуют также гетеротрофные тиобациллы, развивающиеся в нейтральной или щелочной среде (*T. novellus*).

Конечным продуктом окисления серы у всех тионовых бактерий является сульфат. Ниже приведена схема окисления тиосульфата у различных тиобацилл, подтвержденная экспериментальными данными (рис. 4).

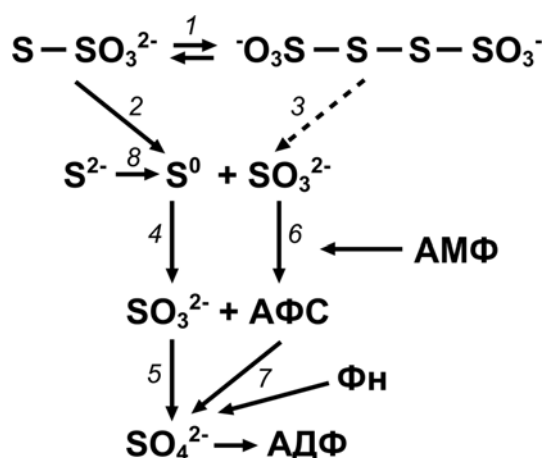


Рис. 4. Схема окисления тиосульфата

По этой схеме тиосульфат либо превращается в тетратионат под действием тиосульфатоксиляющего фермента 1, либо расщепляется на серу и сульфит при участии тиосульфатрасщепляющего фермента – роданезы 2. По-видимому, при низкой концентрации сульфата идет прямое расщепление, а при высоком его содержании – образование тетратионата. Под действием неизученного

фермента 3 тетратионат гидролизуется с восстановлением в тиосульфат, серу и сульфит. Окисление серы ведет к образованию сульфита, но не тиосульфата. Реакцию осуществляет сероокисляющий фермент 4, который, возможно, является оксигеназой. Окисление сульфита может осуществляться сульфитоксидазой (сульфитцитохром с-оксидоредуктазой 5) или проходит с участием АМФ, аденилилсульфатредуктазы 6, АДФ-сульфуриказы 7 и идет с субстратным фосфорилированием. Акцептором электрона сульфатредуктазы может быть цитохром с, окисление которого, по-видимому, связано с окислительным фосфорилированием, однако неизвестно, какое количество АТФ синтезируется в результате потери атомом серы $8\bar{e}$ при окислении сульфида до сульфата. Ферментная система, окисляющая сульфид до элементарной серы, неизвестна (8). Однако легко можно наблюдать быстрое

внутриклеточное образование элементарной серы хемолитотрофами, использующими сероводород.

Хемотрофы, окисляющие серу, обитают в морских и пресных водах, содержащих O_2 , в аэробных слоях почв разного типа, в кислых горячих серных источниках, кислых шахтных водах, в водоемах со щелочной средой и высокой концентрацией $NaCl$. Хемолитоавтотрофные серобактерии обнаружены на глубине 2600 – 6000 м в местах, где на поверхность дна океана из недр земной коры выходят горячие источники. Вода источников, называемая гидротермальной жидкостью, имеет температуру до $350\text{ }^\circ\text{C}$, не содержит O_2 и NO_3^- , но обогащена H_2S , CO_2 и NH_4^+ . На дне океана гидротермальная жидкость смешивается с окружающей морской водой, имеющей температуру $2\text{ }^\circ\text{C}$, которая, наоборот, не содержит H_2S и характеризуется достаточно высокими уровнями O_2 и NO_3^- . Эти области отличаются также высоким давлением и полным отсутствием света и соответственно растительности. Тем не менее вокруг выходов гидротермальной жидкости были обнаружены в больших количествах беспозвоночные животные: гигантские живущие в трубках черви *Riftia pachyptila* длиной до 2,5 м и толщиной до 5 см, крупные белые двустворчатые моллюски и мидии, креветки, крабы, имелись также рыбы. Пищей всем этим животным служат хемолитоавтотрофные бактерии, окисляющие сероводород и производящие органическое вещество, составляя первое звено трофической цепи в экосистеме гидротермальных источников.

У гидротермальных источников обитают различные животные, симбиотически связанные с хемоавтотрофными бактериями. Некоторые моллюски содержат эндосимбионтов в жабрах, где те могут легко получать кислород и углекислый газ из воды, а сероводород животное поглощает своей вытянутой в длину ногой, которая погружена в источник, где концентрация сульфида наиболее высокая. Из ноги сероводород переносится кровью в жабры, где окисляется бактериями.

Подобные симбиозы обнаружены и в других местах, богатых H_2S , в том числе в мангровых и травяных соленых болотах, у

мест просачивания нефти, в районах сброса сточных вод. Число видов беспозвоночных, в которых найдены такие эндосимбионты, достаточно велико, и список этот постоянно растет.

Важное следствие открытия симбиозов, компонентом которых являются хемолитоавтотрофные бактерии, – существование экосистем, в которых первичными продуцентами служат не фотоавтотрофные, а хемолитоавтотрофные организмы.

Серу могут окислять многие хемоорганогетеротрофные микроорганизмы, например некоторые виды родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, актиномицетов и грибов (*Penicillium*, *Aspergillus*). Хемоорганогетеротрофные организмы окисляют серу в присутствии органических веществ. Такое превращение представляется для них побочным процессом в главном направлении метаболизма. Окисление серы хемоорганогетеротрофными микроорганизмами идет довольно медленно и слабо.

Окисление восстановленных соединений серы до сульфитов и сульфатов, осуществляемое прокариотами, приводит к подкислению окружающей среды, что может иметь положительные и отрицательные последствия. Подкисление почвы приводит к переводу нерастворимых минеральных соединений в растворимую и доступную для растений форму, например, нерастворимые фосфаты превращаются в растворимые дигидрофосфаты. В то же время бактерии, окисляющие сульфид железа (минерал пирит) в заброшенных железорудных шахтах, подкисляют вытекающую из шахт воду до pH ниже 2, что может вызвать кислотное загрязнение водоемов. Накопление кислоты в почве вызывает порчу и разрушение различных сооружений.

Сероокисляющие бактерии широко используются в деятельности человека:

- тионовые бактерии, окисляя нерастворимые сульфиды металлов в составе бедных руд, переводят их в растворимые сульфаты, из которых легко извлечь металл. Так, стоимость меди, полученной микробиологическим выщелачиванием, в 2,5 раза ниже, чем полученной традиционными способами. Микробиологи-

ческий способ разработки полезных ископаемых применяют во многих странах мира;

- опыление картофеля элементарной серой препятствует развитию парши: бактерии окисляют серу и подкисляют среду, а возбудители парши кислотонеустойчивы;

- внесение в почву элементарной серы используется в мелиорации для рассоления карбонатных почв: выделившаяся серная кислота переводит нерастворимый карбонат кальция в растворимый сульфат, который вымывается из почвы;

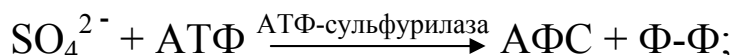
- серные бактерии окисляют серу в составе низкокачественного каменного угля, сжигание его меньше загрязняет атмосферу.

2.3. Восстановление неорганических соединений серы

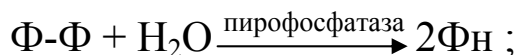
Восстановление серы и ее окисленных соединений возможно в двух различных процессах.

1. Сера и ее окисленные соединения могут использоваться микро- и макроорганизмами в качестве источников серы, необходимых для реакций биосинтеза. Усвоение данных соединений сопровождается восстановлением серы в биосинтетических процессах. В этом случае говорят об ассимиляционном восстановлении серы, сульфита, тиосульфата, а также об ассимиляционной сульфатредукции, когда восстанавливается сульфат (на рис. 3 обозначен цифрой IV). Потребление сульфатов, связанных почвой (CaSO_4 , Na_2SO_4 , MgSO_4), особенно велико у растений, богатых белками, например у бобовых, но максимально – у крестоцветных, которые в больших количествах синтезируют серосодержащие горчичные масла. Ежегодно сера выносится из почвы с урожаем, дефицит ее в почве с ростом урожаев постоянно увеличивается, тем более, что обычные, так называемые безбалластные минеральные удобрения серы не содержат. Если растворимые сульфаты закрепляются в клетках микроорганизмов, процесс называют иммобилизацией серы. Этот процесс имеет место всегда при выращивании бактерий на среде, где источником серы служат сульфаты. При этом происходит восстановление сульфата до

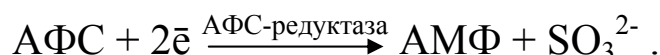
сульфида, входящего в состав серосодержащих аминокислот (цистин, цистеин, метионин), при участии комплекса ферментов:



АФС-аденозинфосфосульфат, или аденилилсульфат



Ф-Ф-пирофосфат



Последующее восстановление сульфита до сульфида осуществляется с помощью ассимиляционной сульфитредуктазы, катализирующей перенос шести электронов на сульфит без образования каких-либо свободных промежуточных соединений



2. Сера и ее окисленные соединения могут использоваться некоторыми бактериями и археями в качестве конечного акцептора электронов. Прокариоты, которые образуют сульфид при восстановлении соединений серы разной степени окисленности (сульфата, сульфита, тиосульфата), а также молекулярной (элементарной) серы, называются сульфидогенами (на рис. 3 обозначены цифрами III и V).

Процессы восстановления соединений серы при использовании их в качестве конечного акцептора электронов называют анаэробным дыханием, выделяя сульфатное и серное дыхание.

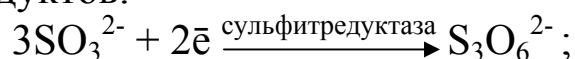
Сульфатное дыхание, или диссимиляционная сульфатредукция

Сульфатное дыхание, или диссимиляционная сульфатредукция, – это использование сульфатов в качестве акцепторов электронов при окислении разных субстратов с образованием сероводорода.

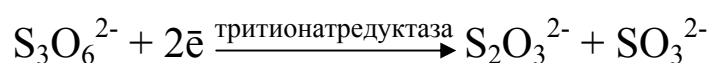
Основные отличия диссимиляционной сульфатредукции от ассимиляционной сводятся к следующему: диссимиляционное восстановление сульфата присуще только узкому кругу высоко-

специализированных бактерий; активность процесса диссимиляционной сульфатредукции намного выше, чем ассимиляционной, следствием чего является накопление в среде больших количеств H_2S ; различны механизмы обоих процессов.

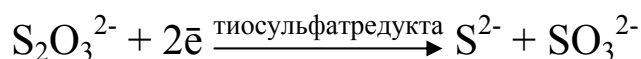
До стадии образования аденозинфосфосульфата и его последующего восстановления до сульфита оба процесса идут одинаково. Механизм восстановления SO_3^{2-} до H_2S при диссимиляционной сульфатредукции до конца не выяснен. Обсуждаются два пути. Согласно первому из них восстановление сульфита до сульфида (как и при ассимиляционном восстановлении сульфата) катализируется одним ферментом – альтернативной диссимиляционной сульфитредуктазой. Более вероятен второй путь, по которому этот процесс протекает трехступенчато с участием сульфит-, тритионат- и тиосульфатредуктазы и сопровождается образованием тритионата и тиосульфата в качестве свободных промежуточных продуктов:



тритионат



тиосульфат



При этом во второй и третьей реакциях регенерируется сульфит, служащий субстратом первой реакции.

Не исключено, что у разных представителей группы восстановление сульфита до сульфида происходит по одно- или трехступенчатому пути. У сульфатвосстанавливающих бактерий обнаружены три типа сульфитредуктаз, участвующих в диссимиляционных процессах. Все они содержат сходные простетические группы, имеющие гемоподобную структуру и названные сирогемом. Простетические группы в белковом комплексе находятся в разном окружении. Подобные простетические группы не найдены в ферментах какого-либо иного типа.

Сульфатредукторы относятся к двум доменам – Bacteria (около 20 родов) и Archaea (Archaeoglobus). Это чаще всего стро-

гие анаэробы. Формы клеток вибриоидные, сферические или палочковидные, у ряда видов имеющие жгутики. По типу энергетического обмена сульфатредукторы – окислители; для них единственным конечным акцептором электронов служат окисленные соединения серы (сульфат, тиосульфат, сульфит). Некоторые виды могут использовать в качестве акцепторов электронов и нитраты, восстанавливая их до нитритов, а затем до аммония; фумарат, восстанавливая его до сукцината, а также структурный аналог сульфата селенат, восстанавливая его до селенита ($\text{SeO}_4^{2-} \rightarrow \text{SeO}_3^{2-}$). При восстановлении сульфата (тиосульфата, сульфита) до сероводорода донорами электронов для этих микроорганизмов служат молекулярный водород (он обеспечивает возможность их роста в хемолитоавтотрофных и/или хемолитоорганотрофных условиях) или некоторые органические соединения (лактат, формиат, пируват, жирные кислоты, спирты и др.), окисление которых бывает полным (до CO_2 и H_2O) или неполным (обычно до ацетата и CO_2). Кроме сульфатного дыхания многие десульфатирующие бактерии способны получать энергию в процессе брожения. В этом случае бактерии растут на средах с органическими субстратами без сульфатов. Состав продуктов брожения довольно разнообразен.

Таким образом, основные способы существования сульфатредуцирующих бактерий включают хемоорганотрофию (источники энергии – брожение или окисление органических субстратов в процессе сульфатного дыхания) или хемолитотрофию (источник энергии – анаэробное окисление H_2 с акцептированием электронов на SO_4^{2-}) в сочетании с конструктивным метаболизмом гетеротрофного или автотрофного типов.

Среди микроорганизмов-сульфатредукторов можно выделить три подгруппы. Первая подгруппа – представители рода *Desulfotomaculum*. Это грамположительные, образующие эндоспоры, как правило, подвижные бактерии. Все известные виды растут на синтетических средах простого состава, дрожжевой экстракт существенно стимулирует такой рост. Часть видов способна к автотрофии. Ко второй подгруппе относят не образую-

щие спор грамотрицательные бактерии, способные окислять органические соединения с образованием ацетата и CO_2 . Это представители родов *Desulfobulbus*, *Desulfomicrobium*, *Desulfovibrio*, *Thermodesulfobacterium*. Третья подгруппа – представители значительного числа родов бактерий, например *Desulfobacter*, *Desulfobacterium*, *Desulfococcus* и другие, а также сульфатвосстанавливающие археи (*p.Archaeoglobus*), способные полностью окислять органические субстраты.

Типичные местообитания прокариот, осуществляющих процесс диссимиляционной сульфатредукции, – это бескислородные осадки и придонный слой в пресноводных, морских и сильно соленых водоемах, пластовые воды нефтяных месторождений. Сульфатредукторы – активные участники процесса межвидового переноса водорода. Они могут также создавать ассоциации с микроорганизмами на основе образования сероводорода и /или ацетата. Часто они развиваются вместе с пурпурными и зелеными серобактериями, использующими в качестве донора электронов возникающий при сульфатредукции сероводород. Прокариоты, способные к сульфатному дыханию, встречаются в качестве симбионтов в желудочно-кишечном тракте ряда животных, а также в техногенных местообитаниях: в трубопроводах тепловой водной сети, в очистных сооружениях.

Сульфатредуцирующие бактерии наносят определенный ущерб, разрушая материалы, неустойчивые к сероводороду. Указанные организмы разлагают нефтяные продукты, загрязняют сероводородом промышленный газ и т.д. Деятельность сульфатредуцирующих бактерий – одна из причин коррозии металлического оборудования в анаэробной зоне. Считают, что ущерб от коррозии трубопроводов под землей наполовину может быть отнесен за счет этих микроорганизмов.

Сероводород токсичен, поэтому при накоплении его в почве растительность быстро погибает. Если сероводород образуется в водоеме, то растения и животные в нем также гибнут. В некоторых озерах, лиманах и даже в открытом море на определенной

глубине (в Черном море на глубине 200 м) сероводород накапливается в таком количестве, что полностью подавляет развитие большинства живых существ.

В то же время бактерии, восстанавливающие сульфаты, играют большую роль в геологических процессах. Они образуют H_2S , участвующий в образовании серных руд. При окислении сероводорода серными бактериями появляются залежи серы промышленного значения. Сульфатредуцирующие бактерии участвуют и в образовании сульфидных руд.

Особо следует отметить важную роль термофильных сульфатвосстанавливающих прокариот, обитающих в морских и наземных гидротермальных экосистемах, в геотермальных водах подземной гидросферы. К настоящему времени изучено около 20 видов термофилов-сульфатредукторов, относящихся к пяти родам бактерий (*Desulfotomaculum*, *Thermodesulfobacterium*, *Thermodesulfovibrio*, *Desulfacinum*, *Thermodesulforhabdus*) и одному роду архей (*Archaeoglobus*). Они представляют собой филогенетически и физиологически гетерогенную группу, хотя все являются облигатными анаэробами, способными к литотрофному росту с молекулярным водородом. Эти микроорганизмы могут также окислять широкий спектр несбраживаемых субстратов. Значительное число их видов способно к автотрофии, следовательно, они играют роль продуцентов в гидротермальных экосистемах. В то же время представители родов *Desulfotomaculum*, *Desulfacinum*, *Thermodesulforhabdus* – обязательные участники процесса деструкции органического вещества гидротерм.

Серное дыхание

Серное дыхание – это диссимиляционное восстановление элементной серы и ее окисленных соединений (но не сульфата) с образованием сероводорода. Прокариоты, способные к серному дыханию, играют в термальных микробных сообществах еще более важную роль, чем сульфатредукторы. Они являются наиболее значимыми первичными продуцентами органического вещества в

анаэробных микробных сообществах гидротерм и его универсальными деструкторами (представители гипертермофильных архей родов *Thermoproteus* и *Pyrobaculum* способны за счет серного дыхания осуществлять полную минерализацию органического вещества в анаэробных условиях).

Прокариоты, использующие элементную серу как акцептор электронов, представлены несколькими родами бактерий и шестью родами архей. Бактерии – в основном мезофильные (роды *Desulfuromonas*, *Desulfovibrio*, *Desulfomicrobium*) и умеренно термофильные (роды *Desulfurella*, *Hirpea*), археи – гипертермофильные, оптимальная температура для роста большинства из них 80 – 105 °С (например *Thermofilum*, *Pyrodictium*, *Acidianus* и др.). Бактерии грамотрицательные, чаще всего встречаются палочки, вибрионы, иногда – со жгутиком. Морфология клеток архей – кокки, палочки, почкующиеся палочки, диски.

Среди серовосстанавливающих прокариот известны факультативные и строгие анаэробы, гетеротрофы и автотрофы (небольшое число хемолитоавтотрофных видов, например представители порядка *Thermoproteales*, и значительно большее – хемоорганотрофных, например представителей порядка *Thermococcales*). Почти все термофилы – облигатные анаэробы. Гипертермофильные археи способны к автотрофному росту и полному окислению за счет сероредукции белков, полисахаридов, но не низкомолекулярных несбраживаемых субстратов (летучих жирных кислот, спиртов и др.), как это характерно для термофильных сульфатредукторов. Гипертермофильные археи *Acidianus infernus*, *Desulfurolobus ambivalens* способны расти не только в анаэробных условиях, осуществляя серное дыхание и используя в качестве донора электронов H_2 , но и в аэробных, окисляя элементную серу до сульфата.

Экстремально термофильные археобактерии с оптимумом роста 80 °С и выше обнаруживаются только в горячих источниках и грунтах в зонах вулканической активности. Наиболее высокотемпературных представителей рода *Pyrodictium* выделяют из подводных морских горячих источников. Развиваясь интенсивно

в этих зонах, богатых, как правило, серой и сульфидами, серозависимые археобактерии проявляют активную геохимическую деятельность.

Таким образом, прокариоты, осуществляющие сульфатное и серное дыхание, активно участвуют в круговороте серы в природе, образуя сероводород. Они участвуют также в круговороте углерода. Особенно важную роль эти микроорганизмы играют в глубоководных гидротермах, где существуют специфические термофильные прокариотные экосистемы.

Контрольные вопросы

1. Назовите основные группы микроорганизмов, которые существуют за счет энергии, выделяющейся при окислении неорганических соединений серы.

2. В чем заключается принципиальное отличие серобактерий от тионовых бактерий?

3. Каковы местообитания и роль в природе хемотрофов, окисляющих серу?

4. Что такое диссимиляционная сульфатредукция и каковы ее отличия от ассимиляционной сульфатредукции?

5. Назовите типичные местообитания прокариот, осуществляющих диссимиляционную сульфатредукцию. Их роль в природе.

3. ПРЕВРАЩЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ СОЕДИНЕНИЙ ФОСФОРА

3.1. Биогенный цикл соединений фосфора

Фосфор, так же как и сера, относится к макроэлементам, в клетке его концентрация составляет 0,2 – 1,3 %. Фосфор входит в состав нуклеотидов и нуклеиновых кислот, некоторых белков (фосфопротеинов), фосфолипидов мембран, АМФ, АДФ, АТФ, НАДФ. Именно фосфат обуславливает гидрофильность фосфолипида, тогда как основная часть молекулы гидрофобна. Поэтому на границе раздела фаз в мембранах молекулы фосфолипидов ориентируются полярно, фосфатными концами наружу, а гидрофобное ядро молекулы прочно удерживается в липидном бислое, стабилизируя мембрану. Особо важную роль фосфор играет в энергетике клетки, поскольку именно в форме макроэргических эфирных связей фосфора запасается энергия живой клетки. Почти во всех метаболических путях участвуют те или иные фосфорные эфиры и/или нуклеотиды как аккумуляторы энергии: АТФ, АДФ, НАДФ·Н и т.д. Еще одна уникальная функция фосфора – фосфорилирование белков, которое регулирует такие процессы, как синтез РНК и белка, деление, дифференцировку клеток и многие другие.

Запасы фосфора, доступные живым существам, полностью сосредоточены в литосфере. Основными источниками неорганического фосфора являются изверженные породы (апатиты) или осадочные породы (фосфориты). Всего известно 190 минералов, содержащих фосфор. Неорганический фосфор из пород земной коры вовлекается в циркуляцию выщелачиванием и растворением в континентальных водах. При этом в процессе выветривания происходит разрушение минералов и горных пород под действием физических и химических атмосферных факторов, и продукты выветривания перемещаются водой, ветром, льдом или под воз-

действием силы тяжести с более высоких уровней на более низкие. Текучие воды приносят фосфор в водные экосистемы. Реки непрерывно обогащают океаны фосфатами, что способствует развитию фитопланктона, который служит пищей другим организмам моря, с последующим накоплением в тканях морских животных, в частности рыб. Обратное поступление фосфора из океана на сушу осуществляется главным образом птицами, питающимися рыбой, в виде гуано, а также в результате рыболовства.

Растения и грибы усваивают фосфор в виде ионов: фосфата PO_4^{3-} и ортофосфата H_2PO_4^- ; животные – в виде готовых органических веществ. В противоположность азоту и сере, которые в растительных и животных тканях находятся в восстановленной форме ($=\text{NH}_2$, $=\text{SH}$), фосфор входит в органические соединения в окисленной форме – в виде фосфата. Запасы фосфора в пахотном слое почвы велики – 2,3 – 3,4 т/га; это значительно больше, чем выносится из почвы с урожаем. Из данного количества две трети приходится на минеральные соли фосфорной кислоты, а треть – на содержащие фосфор органические соединения: органические остатки, гумус, фитаты. Большая часть соединений, в состав которых входит фосфор, слабо растворима в почвенном растворе. Это, с одной стороны, снижает потери фосфора из почвы вследствие вымывания, но с другой – ограничивает возможности использования его растениями. Таким образом, в почве отмечается не столько недостаток фосфора вообще, сколько дефицит доступного для растений фосфора. Сделать фосфор доступным для растений помогают микроорганизмы.

Биогенный круговорот фосфора представлен на рис. 5.



Рис. 5. Биогенный цикл фосфора

3.2. Превращение органических соединений фосфора

Значительное количество (до 30 – 35 %) фосфора в почве находится в органической форме, малодоступной для растений. Это нуклеиновые кислоты, фосфолипиды, фосфорсодержащие белки, фитин и его производные – инозитфосфаты (фитаты). Около половины органического фосфора почвы содержится в наиболее устойчивых к действию микроорганизмов инозитфосфатах. Особенно широко распространен инозитолгексафосфат (фитин).

Микроорганизмы, продуцирующие активные фосфатазы, способны отщеплять от этих органических фосфатов фосфорную кислоту, которая, взаимодействуя с катионами, переходит в соли фосфорной кислоты, доступные для растений (на рис. 5 процесс обозначен цифрами I и III). Органические соединения фосфора в нейтральных и щелочных почвах представлены в основном фитатами Ca и Mg, а в кислых – фитатами Fe и Al. Легче всего дефосфорилируются нуклеиновые кислоты, фитин разлагается медленно, лецитин по скорости разложения занимает среднее положение.

Органические соединения фосфора разлагаются бактериями родов *Pseudomonas*, *Bacillus* (*B. megaterium*, *B. mesentericus*), грибами родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Rhizopus*, *Trichothecium*, некоторыми актиномицетами и другими микроорганизмами. Разложение указанных соединений осуществляют также дрожжи (*Rhodotorula*, *Saccharomyces*, *Candida*, *Hansenula* и др.).

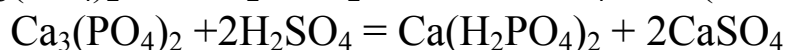
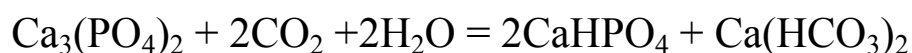
Меньшая часть получившихся фосфат-ионов усваивается (ассимилируется) растениями и микроорганизмами (на рис. 5 процесс обозначен цифрой II), а основная часть сразу же связывается катионами почвы с образованием нерастворимых и недоступных растениям фосфорных солей, прежде всего трехзамещенных солей кальция и магния: $Ca_3(PO_4)_2$ и $Mg_3(PO_4)_2$ (на рис.5 процесс обозначен цифрой IV).

3.3. Превращение неорганических соединений фосфора

Превратить нерастворимые фосфаты в растворимые и доступные гидро- и дигидрофосфаты (мобилизовать их) может воздействие кислот (на рис. 5 процесс обозначен цифрой V). Превращения идут по схеме



Корни растений, выделяя органические кислоты, сами проводят этот процесс, но основную роль в растворении ортофосфатов играют микроорганизмы. Специфичные микроорганизмы, растворяющие ортофосфаты кальция, железа и алюминия, не обнаружены. В этом процессе бактерии участвуют косвенно, выделяя в ходе метаболизма различные кислоты: нитрифицирующие бактерии – азотистую и азотную кислоты; серобактерии – серную; многие микроорганизмы в процессе дыхания выделяют углекислоту. Эти кислоты взаимодействуют с фосфатами и образуют кислые соли, доступные растениям:



Сходным образом действуют на фосфаты бактерии и грибы, образующие в процессах брожения и неполного окисления органические кислоты: молочную, масляную, уксусную, муравьиную и др. Среди них представители родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Penicillium*, *Aspergillus* и др.

Растворению (мобилизации) подвергаются и фосфорсодержащие первичные минералы почвы: фосфориты и апатиты. Наиболее легко мобилизуется фосфат марганца, хуже – фосфаты кальция и алюминия, совсем плохо – фосфат железа.

Растворение фосфатов можно считать побочным эффектом жизнедеятельности микроорганизмов, но активная жизнедеятельность почвенной микрофлоры существенно улучшает фосфорное питание растений. Поэтому такие агротехнические приемы, как внесение органических удобрений для «подкормки» мик-

роорганизмов, аэрация (рыхление) для усиления дыхания значительно повышают биологическую активность почвы (интенсивность обменных процессов микроорганизмов) и благоприятно сказываются на состоянии растений. Особенно активно мобилизация фосфора идет в прикорневой зоне растений (ризосфере), где сосредоточена огромная масса гетеротрофных микроорганизмов, использующая в качестве питательных веществ корневые выделения. Взаимоотношения ризосферных микроорганизмов и растений можно считать взаимовыгодным (мутуализм) симбиозом.

Часть растворимых фосфат-ионов, не ассимилированная растениями и микроорганизмами, вымывается из почвы и попадает в моря и океаны. Там фосфор отлагается в виде осадочных пород. Это связано с беспрестанным осаждением органических веществ, в частности обогащенных фосфором остатков рыб, фрагменты которых, не использованные в пищу детритофагами и деструкторами, постоянно накапливаются на дне морей. Органический фосфор, осевший на небольшой глубине, может быть возвращен в круговорот после минерализации, однако это не распространяется на отложения на дне глубоководных зон, которые занимают 85 % общей площади океанов. Фосфаты, отложенные на больших морских глубинах, выключаются из биосферы и не могут больше участвовать в круговороте. Поэтому круговорот фосфора полностью не замкнут. Механизм возвращения фосфора из океанов на сушу совершенно не способен компенсировать потери этого элемента на осаждение. Лишь очень малая часть фосфора возвращается в круговорот по пищевым цепям морских животных. Возвращаться на сушу фосфор может только в составе гуано морских птиц и путем рыболовства. Таким образом, общий поток превращений фосфора представляет собой осадочный биогеохимический цикл с образованием в океане «недоступных хранилищ». Перевод нерастворимых фосфатов в доступную для растений форму – главное звено в вовлечении фосфора в биологический цикл.

Фосфор наряду с азотом и калием оказывает максимальное положительное влияние на урожайность, поэтому эти три элемента вносят в больших количествах в виде удобрений. Однако азотно-фосфорные удобрения могут оказывать отрицательное влияние на окружающую среду: азот и фосфор смываются дождевыми и талыми водами с полей и попадают в водоемы. Кроме того, фосфаты содержатся в значительных количествах в сточных водах, несущих остатки моющих средств (детергентов). Бытовые детергенты содержат от 15 до 60 % биологически разрушаемого фосфата.

Промышленные, бытовые и сельскохозяйственные сточные воды вызывают эвтрофикацию озер – увеличение концентрации в воде питательных веществ. Это приводит к взрывоподобному размножению первичных продуцентов – водорослей и цианобактерий, получивших обильную минеральную подкормку, т.е. к «цветению» водоема. Чрезмерная численность водорослей приводит к их несвоевременному отмиранию. Это, в свою очередь, вызывает интенсивное размножение аэробных гнилостных бактерий. Они быстро расходуют кислород, растворенный в воде. Из-за его нехватки начинают гибнуть рыбы и другие животные, растения. Кроме того, при «цветении» воды образуются токсины, особенно при размножении цианобактерий. Токсины увеличивают гибель животных, что особенно опасно в рыбоводческих хозяйствах.

Сходные процессы идут и при «цветении» воды в океане. Там токсины накапливаются в теле моллюсков и ракообразных, питающихся водорослями, затем попадают в организм человека и вызывают отравление и паралич. Пастбища, страдающие от перевыпаса, сведение лесов, обнажение почвы вокруг строительных участков, карьеров, шахт, овраги, полевые дороги, распашка целинных и залежных земель, т.е. все, что увеличивает ветровую и особенно водную эрозию почвы, способствует попаданию биогенных элементов в водоемы и их эвтрофикации. Кислотные дожди, увеличивая растворение фосфатов, также усиливают ее.

В крайних случаях зарастания водоемы аэрируют или (и) применяют химические вещества (альгициды) для уничтожения буйно размножившихся водорослей. Однако альгициды оказывают отрицательное влияние и на другие водные растения и животных. Для очистки «зацветших» озер производят сбор водорослей вручную или специальными драгами. Однако удалить основную массу фитопланктона (микроскопические водоросли и цианобактерии) этим способом не удастся. Собранные водоросли используют как органическое удобрение.

Уменьшение кислотного загрязнения атмосферы, ослабление эрозии почв, очистка сточных вод – главные пути сохранения неизменным круговорота фосфора в биосфере.

Контрольные вопросы

1. В каких формах фосфор может находиться в почве?
2. Что такое мобилизация фосфатов и какова роль микроорганизмов в этом процессе?
3. Почему круговорот фосфора не является полностью замкнутым?

4. УЧАСТИЕ БАКТЕРИЙ В ПРЕВРАЩЕНИИ СОЕДИНЕНИЙ ЖЕЛЕЗА

4.1. Биологический цикл превращений железа

Железо поступает в биологический круговорот после мобилизации его из минералов и комплексных органических соединений железа, представленных в почве гуминовыми соединениями. Растительные организмы усваивают неорганические соединения

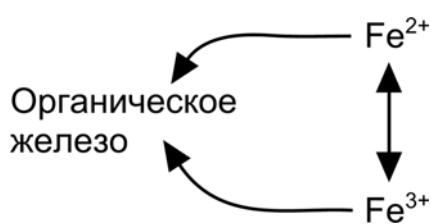


Рис. 6. Биологический цикл превращений железа

железа, находящиеся в почве в растворимом виде. Существенную роль в трансформации железа в природе, в частности в переводе нерастворимых его соединений в растворимые и обратно, играют микроорганизмы.

Биологический цикл превращений железа показан на рис. 6.

4.2. Окисление соединений железа железобактериями

В вопросе о том, какие организмы следует относить к железобактериям, нет единого мнения. С.В. Виноградский впервые термин «железобактерии» применил для обозначения организмов, использующих энергию окисления Fe^{2+} до Fe^{3+} для ассимиляции CO_2 , т.е. способных существовать хемолитоавтотрофно. Х. Молиш к железобактериям относил все организмы, откладывающие вокруг клеток окислы железа или марганца независимо от того, связан ли этот процесс с получением клеткой энергии.

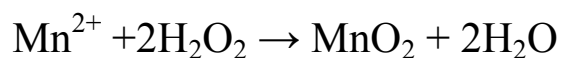
Накопление окислов железа и марганца на поверхности бактериальных клеток – результат двух взаимосвязанных процессов: аккумуляции (поглощения) клетками этих металлов из раствора и окисления, сопровождающегося обильным отложением нерастворимых окислов на поверхности бактерий. Процесс аккумуляции тяжелых металлов из растворов в основе имеет физико-химическую природу и в значительной мере обусловлен химическим составом и свойствами поверхностных структур клетки. Он включает связывание металлов внеклеточными структурами (капсулами, чехлами, слизистыми выделениями), клеточной стенкой и ЦПМ. Сорбционные свойства поверхностных структур определяются в большой степени суммарным отрицательным зарядом молекул, входящих в их состав. Поглощение металлов приводит к значительному концентрированию их вокруг клеток по отношению к среде. Коэффициент накопления для железа и марганца может достигать значений $10^5 - 10^6$.

Fe^{2+} подвергается быстрому химическому окислению молекулярным кислородом при $pH > 5,5$, что приводит к образованию нерастворимого $Fe(OH)_3$. Это соединение вместе с Fe^{2+} неспецифически связывается клеточными кислыми экзополимерами. Подобный тип накопления железа не зависит от метаболической активности клеток.

Однако окисление Fe^{2+} и Mn^{2+} последующим отложением нерастворимых окислов вокруг бактериальных клеток может быть результатом взаимодействия ионов металлов с продуктами бактериального метаболизма, в частности с H_2O_2 , образующейся в процессе окисления органических веществ при переносе электронов по дыхательной цепи. Перекись водорода, возникающая в качестве промежуточного или конечного продукта окисления, выделяется из клеток и накапливается в окружающих их структурах. В нейтральной или слабокислой среде окисление Fe^{2+} до Fe^{3+} происходит в результате непосредственного взаимодействия с H_2O_2 :



Окисление марганца при взаимодействии с H_2O_2 осуществляется при участии каталазы, выполняющей пероксидазную функцию. Mn^{2+} в этом случае служит донором электронов:



Описанные процессы протекают в капсулах, чехлах, слизистых выделениях, на поверхности клеточной стенки, в которых концентрируются все компоненты реакции: восстановленные формы железа и марганца, перекись водорода, каталаза. Физиологический смысл процессов окисления Fe^{2+} и Mn^{2+} – удаление H_2O_2 – токсического продукта клеточного метаболизма. В этом случае окисление железа и марганца не приводит к получению бактериями энергии. Такие бактерии составляют группу хемоорганогетеротрофных железобактерий. Они подразделяются на нитчатые и одноклеточные.

Нитчатые железобактерии разнообразны по морфологии, окисляют неорганические соединения железа в болотах, ручьях, железистых источниках, озерах, дренажных трубах и других влажных местах с образованием охристых осадков. Указанные микроорганизмы называют охрообразователями. Охристые осадки могут засорять водопроводные трубы при водоснабжении глубинными водами и дренажные системы, сооружаемые при осушении торфяно-болотных почв.

К нитчатым железобактериям относятся грамтрицательные аэробные бактерии, окруженные чехлом, в котором накапливается окисное железо. Наиболее широко распространены представители родов *Leptothrix* и *Sphaerotilus*. У одних видов нити неподвижны (*Leptothrix*), флексибактерии обладают способностью к скольжению (*Toxothrix*, *Spirothrix*). Оптимальный pH для роста – 6 – 8. Единственно возможный способ существования – хемоорганогетеротрофия, при этом представители рода *Sphaerotilus* предпочитают условия с относительно высоким содержанием органических веществ, а многие штаммы *Leptothrix* – среды с низким уровнем органики.

Leptothrix ochraceae – наиболее широко распространенная железобактерия, которая образует обильные скопления окислов

железа ржавого цвета в медленно текущих ручьях, на болотах, на выходе железистых источников. Несмотря на признанное участие в образовании болотных железных руд, относительно *L. ochraceae* до сих пор нет твердой уверенности, что это самостоятельный организм, а не форма роста другой бактерии, например *Sphaerotilus*.

Leptothrix образует тонкие железистые трубки, представляющие собой влагилица, которые всегда бывают гладкими, неветвящимися, иногда слегка волнистыми и на всем своем протяжении сохраняют строго одинаковый диаметр (внутренний – порядка 1, внешний – порядка 2 – 3 мкм). Поверхность влагилица имеет тонкую сетчатую структуру из косо расположенных нитей, которые иногда удается наблюдать и при помощи светового микроскопа. Влагилице *L. ochraceae*, подобно таковому у бактерий группы *Sphaerotilus*, образовано цепочкой цилиндрических клеток, которые обладают склонностью выскальзывать из него, поэтому только на одном конце трубки можно найти живой организм, вся остальная часть представляет собой покинутое влагилице. Клетки *L. ochraceae* напоминают клетки *Sphaerotilus*. В них также наблюдаются капли липидных включений, освободившиеся клетки подвижны, так как имеют жгутики. Клетки, покинувшие старые чехлы, начинают строить новые чехлы. Окисление Fe^{2+} *Leptothrix* осуществляет в результате действия перекиси водорода, которая образуется при окислении органических соединений и концентрируется в чехлах, поступающее туда железо окисляется и откладывается в виде гидроксида.

Бактерии группы *Toxotrix* встречаются сравнительно редко в холодных железистых источниках, образуя отдельные железистые нити, не переплетенные между собой. Возможно, что ожелезнению подвергается выделяемая при движении клеток слизь.

Помимо бесцветных к нитчатым железобактериям относятся и некоторые фотосинтезирующие эубактерии из группы цианобактерий и скользящих зеленых бактерий.

Одноклеточные железобактерии могут окислять железо в почвах (или других средах) с нейтральной реакцией среды при наличии закисного железа и органических веществ. К таким мик-

роорганизмам относят коринеформную бактерию *Arthrobacter siderocapsulatus* и стебельковую бактерию со спирально закрученными стебельками, образующую звездчатые комплексы клеток в виде розеток, – *Seliberia stellata*.

К хемоорганогетеротрофным бактериям, аккумулирующим железо в почвах, относят свободноживущие микоплазмы, объединенные в роды *Metallogenium*, *Gallionella*, *Siderococcus*. Им свойствен типичный для микоплазм полиморфизм: кокковидные клетки, от которых могут отходить тонкие нити, пучки переплетенных тонких нитей и т.д. На поверхности нитей откладываются окислы железа (*Gallionella*, *Siderococcus*) или железа и марганца (*Metallogenium*). Растут в нейтральной или кислой среде. Некоторые из них олиготрофы. Все аэробы или микроаэрофилы. Отложение окислов железа и марганца – результат химических реакций или функционирования перекисного пути и не имеет отношения к получению клетками энергии. Однако у представителей рода *Gallionella* была выявлена рибулозодисфосфаткарбоксилаза. Эти бактерии способны к хемоавтотрофному росту на минеральной среде, используя энергию окисления $Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$.

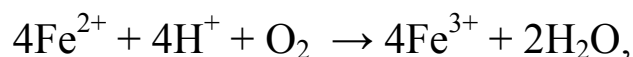
К типичным хемолитоавтотрофным железобактериям относят аэробные ацидофильные формы. Оптимальный pH их роста лежит ниже 4,5 (2 – 3). В этих условиях Fe^{2+} в присутствии O_2 устойчиво к химическому окислению. Для ацидофильных железобактерий установлена способность получать энергию в результате окисления двухвалентного железа.

Основным представителем железобактерий с энергетическим метаболизмом хемолитотрофного типа является *Thiobacillus ferrooxidans*, относящийся к группе тионовых бактерий и обладающий способностью получать энергию также в результате окисления различных восстановленных соединений серы. Окислять закисное железо с получением клеткой энергии способна и облигатно-ацидофильная бактерия *Leptospirillum ferrooxidans*, близкая по ряду свойств к *T.ferrooxidans*, но в отличие от последнего не окисляющая соединений серы. Выявлены термофильные

штаммы археобактерии *Sulfolobus acidocaldarius*, которые наряду с соединениями серы окисляют двухвалентное железо.

Leptospirillum ferrooxidans и большинство изученных штаммов *T. ferrooxidans* принадлежат к облигатным хемолитоавтотрофам, использующим энергию окисления железа для ассимиляции CO_2 , служащей основным или единственным источником углерода. Некоторые штаммы *T. ferrooxidans* оказались способными расти на средах с органическими соединениями, являясь, таким образом, факультативными хемолитоавтотрофами. Наконец, описаны термофильные бактерии, получающие энергию в результате окисления Fe^{2+} и нуждающиеся для роста в органических соединениях, т.е. осуществляющие метаболизм хемолитогетеротрофного типа.

Все перечисленные микроорганизмы развиваются в кислых средах (оптимум pH 2 – 3 и ниже). Они обитают в кислых рудничных водах, содержащих сульфиды разных металлов, в том числе пирит (FeS_2), а также в пиритизированных торфяниках, железистых источниках. Развиваясь в кислой среде (pH 1,4 – 6,0), где в растворе устойчив не только Fe^{2+} , но и Fe^{3+} , организм не образует оформленных отложений железа, но при этом идет реакция



что сопровождается незначительным изменением уровня свободной энергии ($\Delta G'_0$ при pH = 2 равно 33 кДж/моль). Поэтому для обеспечения энергией клетке необходимо «переработать» большие количества железа.

4.3. Восстановление окисленных соединений железа

В хорошо дренированных почвах и водоемах большая часть железа и марганца встречается в окисленном состоянии. При анаэробии, например, если почва насыщена водой, наблюдаются восстановительные процессы в основном как результат активности хемоорганогетеротрофных бактерий родов *Bacillus*, *Clostrid-*

ium и др. Окисные соединения железа и марганца восстанавливают многие гетеротрофные аэробные организмы, резко смещающие окислительно-восстановительный потенциал среды.

Роль микроорганизмов в восстановлении железа может заключаться:

1) в накоплении восстановленных продуктов (H_2S , H_2 , CH_4), выделяющихся при брожении и вступающих в реакцию с окисным железом;

2) непосредственном воздействии специфичной группы микроорганизмов на окисное железо, имеющее для нее энергетическое значение, подобное тому, которое осуществляется при процессе денитрификации.

4.4. Окисление органических соединений железа

Образование отложений железа в почве может происходить за счет разрушения органических комплексов железа. К бактериям, окисляющим органические соединения железа, относятся представители родов *Siderocapsa*, *Seliberia*, *Pedomicrobium*.

На стеклах обрастания по методу Холодного, заложенных в водоемах, можно наблюдать клетки *Siderocapsa*, если эти стекла поместить в корневой зоне растений, обитающих в воде, содержащей значительное количество железа.

Контрольные вопросы

1. Какие группы бактерий участвуют в трансформации соединений железа?

2. Напишите химическую реакцию, которую осуществляют хемоавтотрофные железобактерии для получения энергии.

3. Объясните, почему хемоавтотрофные железобактерии являются ацидофильными.

Библиографический список

1. *Бабьева, И. П.* Биология почв / И. П. Бабьева, Г. М. Зенова. – М. : Изд-во Моск. ун-та, 1989. – 336 с.
2. *Гусев, М. В.* Микробиология / М. В. Гусев, Л. А. Минеева. – М. : Academia, 2003. – 464 с. – ISBN 5-7695-1403-5.
3. *Емцев, В. Т.* Микробиология / В. Т. Емцев, Е. Н. Мишустин. – М. : Дрофа, 2005. – 445 с. – ISBN 5-7107-7750-1.
4. Практикум по микробиологии / под ред. А. И. Нетрусова. – М. : Academia, 2005. – 608 с. – ISBN 5-7695-1809-X.
5. *Теппер, Е. З.* Практикум по микробиологии / Е. З. Теппер [и др.]. – М. : Дрофа, 2004. – 256 с. – ISBN 5-7107-7437-5.
6. Экология микроорганизмов / под ред. А. И. Нетрусова. – М. : Academia, 2004. – 272 с. – ISBN 5-7695-1566-X.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие.....	3
1. ПРЕВРАЩЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ ОРГАНИЧЕСКИХ И МИНЕРАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА	4
1.1. Глобальный цикл соединений азота	4
1.2. Биологическая фиксация атмосферного азота	5
1.3. Аммонификация	20
1.4. Нитрификация	23
1.5. Денитрификация.....	28
Контрольные вопросы	33
2. ТРАНСФОРМАЦИЯ СОЕДИНЕНИЙ СЕРЫ БАКТЕРИЯМИ.....	34
2.1. Биогенный цикл соединений серы	34
2.2. Окисление соединений серы	35
2.3. Восстановление неорганических соединений серы	41
Контрольные вопросы	48
3. ПРЕВРАЩЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМАМИ СОЕДИНЕНИЙ ФОСФОРА	49
3.1. Биогенный цикл соединений фосфора	49
3.2. Превращение органических соединений фосфора.....	51
3.3. Превращение неорганических соединений фосфора.....	52
Контрольные вопросы	55
4. УЧАСТИЕ БАКТЕРИЙ В ПРЕВРАЩЕНИИ СОЕДИНЕНИЙ ЖЕЛЕЗА	56
4.1. Биологический цикл превращений железа	56
4.2. Окисление соединений железа железобактериями.....	56
4.3. Восстановление окисленных соединений железа	61
4.4. Окисление органических соединений железа	62
Контрольные вопросы	62
Библиографический список.....	63

Учебное издание

САХНО Ольга Николаевна
ТРИФОНОВА Татьяна Анатольевна

ЭКОЛОГИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ

Учебное пособие

Часть 1

Подписано в печать 27.03.07.
Формат 60x84/16. Усл. печ. л. 3,72. Тираж 100 экз.
Заказ
Издательство
Владимирского государственного университета.
600000, Владимир, ул. Горького, 87.