

Министерство образования Российской Федерации
Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова

Н.Ю. Филина, Н.В. Верховцева

Экологическая физиология микроорганизмов

Часть 1.
Физиология микроорганизмов

Учебное пособие

Ярославль 2001

ББК Е47я73

Ф53

Филина Н.Ю., Верховцева Н.В.

Экологическая физиология микроорганизмов. Часть 1. Физиология микроорганизмов: Учеб. пособие / Яросл. гос. ун-т. Ярославль, 2001. 92 с.

ISBN 5-8397-0141-6

Пособие предназначено для студентов биологических факультетов университетов, обучающихся по специальности «Экология» и «Биология». В нем изложены на современном научном уровне основные разделы курса: метаболизм прокариот, участие основных физиологических групп эубактерий и архебактерий в круговоротах важнейших биогенных элементов - углерода, кислорода, азота, серы и фосфора в природе, отмечена экологическая роль бактерий - участников вышеперечисленных геохимических циклов и их реальные и возможные области применения в биотехнологических процессах.

Рецензенты: кафедра микробиологии Ярославской государственной медицинской академии; канд. биол. наук Т.Ф. Черняковская

ISBN 5-8397-0141-6

© Ярославский государственный университет, 2001

© Н.Ю. Филина,
Н.В. Верховцева, 2001

Глава 1. Метаболизм прокариот

Обмен веществ, или *метаболизм*, представляет собой совокупность процессов распада и синтеза, обеспечивающих поддержание, рост и размножение организмов. Обмен веществ складывается из энергодающих процессов - *катаболизма* и из энергозависимых процессов синтеза макромолекул - *анаболизма* (рис. 1.1).

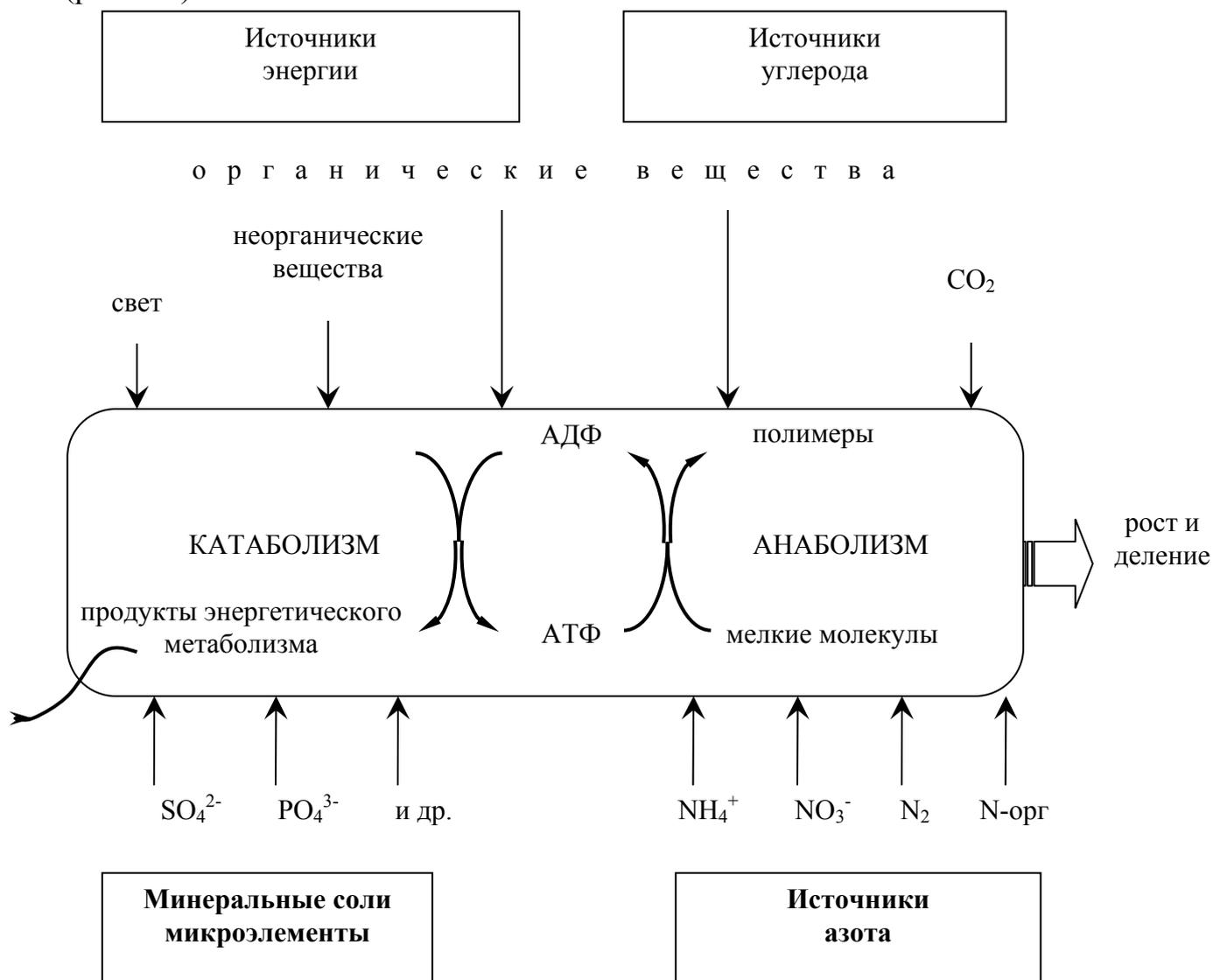


Рис. 1.1. Схема метаболизма бактерий (по И.П. Бабьевой, Г.М. Зеновой, 1989)

Существует *принцип биохимического единства*, который заключается в универсальности определенных процессов и явлений. Так, универсальны «строительные блоки» (например, белки состоят из аминокислот), кванты биологической энергии (АТФ), генетический код, пути расщепления сахаров, дыхательная цепь и т.д. На фоне этого единства у микроорганизмов прослеживается много специфического в процессах катаболизма и анаболизма, что выражается различиями источников энергии, источников углерода и восстано-

теля (донор водорода или электронов). Источником последнего либо служат реакции катаболизма, либо он поступает извне. С учетом вышеизложенного в настоящее время известны восемь различных типов питания у микроорганизмов (табл. 1.1).

Таблица 1.1

Возможные типы питания микроорганизмов

Источник энергии	Доноры электронов	Источник углерода	
		Органические соединения	СО ₂
Свет (<i>фото-</i>)	органические соединения (<i>фотооргано-</i>)	фотоорганогетеротрофия (1)	Фотоорганоавтотрофия (5)
	неорганические соединения (<i>фотолито-</i>)	фотолитогетеротрофия (2)	фотолитоавтотрофия (6)
Окислительно-восстановительные реакции (<i>хемо-</i>)	органические соединения (<i>хемооргано-</i>)	хемоорганогетеротрофия (3)	Хемоорганоавтотрофия (7)
	неорганические соединения (<i>хемолито-</i>)	хемолитогетеротрофия (4)	хемолитоавтотрофия (8)

Итак, по виду энергии, используемой микроорганизмами, их делят на *фототрофные* (световая энергия) и *хемотрофные* (энергия окислительно-восстановительных реакций, или химическая энергия). По источникам углерода (или по углеродным субстратам, или по субстратам анаболизма) они дифференцируются на две главные группы — *автотрофы*, фиксирующие СО₂ для конструктивного метаболизма, и *гетеротрофы*, нуждающиеся в готовых органических веществах различной степени сложности. По донору электрона различают *литотрофов* (неорганический источник) и *органотрофов* (органические вещества).

Из всех типов питания у живых организмов наиболее распространены два: фотолитоавтотрофия и хемоорганогетеротрофия. Первый из них реализуется у высших растений, водорослей и ряда фототрофных прокариот. Второй – хемоорганогетеротрофия - свойственна человеку, многоклеточным животным, а также простейшим, грибам и многим прокариотам.

Только среди прокариот есть организмы, способные к хемолитоавтотрофии или к хемолитогетеротрофии, т.е. получающие энергию при окислении неорганических соединений и ассимилирующие в результате этого соответственно: СО₂ или органические вещества. Известны также только бактерии, относящиеся к категории фотоорганогетеротрофов, и виды, способные к фотоорганоавтотрофии.

Есть микроорганизмы, способные переходить от одного типа питания к другому, например от фотоавтотрофии к хемогетеротрофии. Такие организмы называют *миксотрофами*. В микробиологии под *миксотрофией* понимается способность организмов использовать одновременно разные источники энергии или синтезировать один и тот же компонент клеток из разных соединений углерода, например фиксировать по автотрофному пути CO_2 и утилизировать одновременно в биосинтетических процессах органические вещества. Так, некоторые фототрофные бактерии могут расти и при наличии света, и в темноте, поскольку они способны не только использовать энергию света, но осуществлять аэробное дыхание, а иногда и другие энергетические процессы. Известны также бактерии, одновременно способные и к хемолитоавтотрофии, и к хемолитогетеротрофии. Такие микроорганизмы называют *факультативными хемолитоавтотрофами*, или *факультативными автотрофами*. Но правильнее говорить о типах питания, к которым способен тот или иной организм, поскольку их может быть несколько.

Однако ряд микроорганизмов отличается постоянством своих потребностей в питании и соответственно — постоянством процессов метаболизма. В их числе есть *облигатные* фототрофы, использующие в качестве источника энергии только свет, и виды, которые облигатно зависят в своем росте от окисления неорганических веществ, т.е. относящиеся к *облигатным* хемолитотрофам.

Процессы катаболизма создают в клетке вещества с *макроэргическими связями* (при разрыве таких связей выделяется большое количество энергии; вещества с такими связями можно рассматривать как «энергетическую валюту» живой клетки). Наиболее универсальное соединение такого типа - *аденозинтрифосфат (АТФ)*, который образуется в результате реакций *фосфорилирования*.

У микроорганизмов различают три типа фосфорилирования:

- 1) субстратное;
- 2) фотофосфорилирование;
- 3) окислительное фосфорилирование.

Появление этих типов реакций связано с ходом эволюции жизни на нашей планете. И если у высших организмов - растений и животных - преобладает один из типов энергетического метаболизма, то у более древних прокариот имеются все указанные типы.

Наиболее примитивным способом получения энергии являются процессы субстратного фосфорилирования - *брожения*. Это окислительно-восстановительные процессы превращения органических соединений, сопровождающиеся выходом энергии. Брожение протекает без участия молекулярного кислорода (O_2) - в *анаэробных* условиях, т.е. это окисление анаэробного типа. Электрон от окисляемого органического вещества переносится на другую часть органических молекул (т.е. на субстрат), выступающих в роли акцептора. Высвобождаемая на окислительном этапе процесса энергия запасается в молекулах АТФ. В среде накапливаются низкомолекулярные окисленные и восстановленные продукты - результат расщепления исходных молекул сбраживаемо-

го субстрата. Брожению подвергаются углеводы, спирты, органические кислоты, аминокислоты, пурины и пиримидины. Продуктами брожения являются органические кислоты, спирты, ацетон, CO_2 и H_2 . Обычно накапливаются несколько продуктов, но по основному из них различают брожение спиртовое, молочнокислое, маслянокислое и др.

Фотофосфорилирование подробно описано в главе 2.1. настоящего пособия.

Окислительное фосфорилирование - тип энергетического метаболизма, в котором различают *аэробное* дыхание (осуществляется в присутствии O_2 ; заключается в переносе электрона на молекулярный кислород в дыхательной цепи) и *анаэробное* дыхание (осуществляется в отсутствие O_2 ; перенос электрона на неорганические акцепторы — сульфаты, нитраты, карбонаты).

Дыхательная цепь или электротранспортная цепь (ЭТЦ). Электроны с окисленных субстратов (доноров электронов) поступают в дыхательную цепь, где проходят через ряд этапов, опускаясь постепенно на все более низкие энергетические уровни, и акцептируются соединением, служащим конечным акцептором электронов. Перенос электронов по ЭТЦ сопряжен с генерированием энергии в форме АТФ. ЭТЦ состоят из большого числа локализованных в мембране переносчиков, с помощью которых электроны передаются или вместе с протонами (т.е. в виде атомов водорода), или без них. Компонентами цепи, локализованной в мембране, являются переносчики белковой (флавопротеины, FeS-белки, цитохромы) или небелковой (хиноны) природы. Флавопротеины и хиноны осуществляют перенос атомов водорода, а FeS-белки и цитохромы — электронов.

Кроме основных биогенных элементов - *макроэлементов* (C, O, N, P, H, S, K, Na, Cl, Ca, Fe, Mg) и *микроэлементов* (Cu, Co, Si, W, Zn и др.), микроорганизмы нуждаются в специфических веществах, отсутствие которых лимитирует их рост, и поэтому они носят название *факторов роста*. Такими факторами у бактерий могут быть витамины, аминокислоты, пуриновые основания и т.п. Независимые от факторов роста микроорганизмы принято называть *прототрофами*, а нуждающиеся в каком-либо ростовом факторе - *ауксотрофами*.

Совокупность микроорганизмов, способных осуществлять одну и ту же общую физиологическую функцию в цепи превращения веществ в природе, в микробиологии принято называть *физиологической группой*. Примерами могут служить физиологические группы микроорганизмов, участвующих в превращениях азота (нитрификаторы, аммонификаторы, денитрификаторы, азотфиксаторы) или серы (серобактерии, тионовые бактерии, сульфатвосстанавливающие бактерии) и др.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
Катаболизм		
Анаболизм		
Принцип биохимического единства		

Фото- и хемотрофы		
Авто- и гетеротрофы		
Лито- и органотрофы		
Миксотрофы		
Факультативные и облигатные (по отношению к чему-нибудь) бактерии		
Макроэргические связи		
Субстратное фосфорилирование		
Окислительное фосфорилирование		
Фотосинтетическое фосфорилирование		
Аэробный		
Анаэробный		
Макроэлементы		
Микроэлементы		
Факторы роста		
Прототрофы		
Ауксотрофы		
Физиологическая группа бактерий		

Глава 2. Физиологические процессы микроорганизмов круговорота углерода и кислорода

2.1. Аноксигенный фотосинтез

Микроорганизмы, подобно зеленым растениям, способны синтезировать органическое вещество из неорганических соединений, используя при этом энергию солнечного света, т.е. осуществляют процесс фотосинтеза. К фотосинтезу способны следующие группы автотрофных бактерий (их называют *фототрофными*):

- 1) пурпурные бактерии;
- 2) эритробактерии и другие бактерии, образующие хлорофилл а;
- 3) зеленые бактерии;
- 4) гелиобактерии;
- 5) цианобактерии;
- 6) прохлорофиты;
- 7) галобактерии.

Как эволюционно более древний, бактериальный фотосинтез имеет свои особенности, по которым он отличается от фотосинтеза зеленых растений. В-первых, бактериальный фотосинтез происходит обычно в анаэробных (т.е. бес-

кислородных) условиях, и, во-вторых, в процессе фотосинтеза, осуществляемого бактериями, не выделяется молекулярный кислород (O_2), т.е. бактериальный фотосинтез - *аноксигенный*. Следует отметить, что имеются исключения: у цианобактерий (или сине-зеленых водорослей) и прохлорофит, имеющих фотосистему II, процесс фотосинтеза происходит по типу фотосинтеза зеленых растений и сопровождается выделением O_2 , т.е. является *оксигенным*.

Способность микроорганизмов существовать за счет энергии света обусловлена наличием у них специфических фоторецепторных молекул - фотосинтетических пигментов, качественный и количественный состав которых видоспецифичен и зависит от условий культивирования бактерий-фототрофов. В целом, фотосинтетические пигменты микроорганизмов обеспечивают поглощение света с длиной волны в области 300 - 1100 нм.

Пигменты фототрофных бактерий относят к двум классам химических соединений:

- 1) пигменты, в основе которых лежит тетрапирольная структура (хлорофиллы, бактериохлорофиллы, фикобилипротеины);
- 2) пигменты, основу которых составляют длинные полиизопреноидные цепи (каротиноиды).

Особенностью химического строения молекул фотосинтетических пигментов является наличие системы сопряженных двойных связей, от количества которых зависит способность пигментов улавливать бедные энергией кванты света, а также защита каротиноидами хлорофилла от синглетного кислорода.

Пигментный состав фотосинтезирующих бактерий позволяет им использовать весь диапазон длин волн падающей на Землю солнечной энергии. Обращает на себя внимание большое различие в спектрах поглощения у представителей разных групп фототрофов и прежде всего - существенные сдвиги в максимумах поглощения хлорофиллов в красной области спектра. Экологическое значение этого явления состоит в избегании конкуренции за свет между разными группами фотосинтезирующих микроорганизмов. Что касается эволюции спектров поглощения хлорофиллов, то очевидна тенденция к перемещению в коротковолновую часть спектра с более высоким энергетическим уровнем.

Хлорофиллы. Хлорофиллы прокариотических организмов называют *бактериохлорофиллами*. Их больше 10 видов, из них идентифицировано шесть основных: *a, b, c, d, e, g*. Бактериохлорофиллы *a, b* и *c* существуют в нескольких модификациях.

Пурпурные бактерии содержат либо бактериохлорофилл *a*, либо бактериохлорофилл *b*. В первом случае бактерии поглощают свет с длиной волны до 950 нм, во втором случае - максимум поглощения сдвинут в более длинноволновую область спектра и приходится на 1020 – 1030 нм, а граница поглощения продвинута вплоть до 1100 нм. Дальше бактериохлорофилла *b* не поглощает ни один известный фотосинтетический пигмент.

Основными хлорофильными пигментами зеленых бактерий являются бактериохлорофиллы *c* (основной максимум поглощения в клетке – 750 – 760 нм), *d*

(720 - 740 нм) или *e* (710 - 720 нм), незначительно различающиеся между собой по спектрам поглощения, кроме них в небольшом количестве содержится бактериохлорофилл *a*. Наличие этих пигментов позволяет зеленым бактериям использовать свет с длиной волны вплоть до 840 нм.

У облигатно анаэробных фотосинтезирующих гелиобактерий *Heliobacterium chlorum* и *Heliobacillus mobilis* обнаружен необычный бактериохлорофилл *g* с максимумом поглощения 790 нм.

В клетках бактерий с кислородным типом фотосинтеза (цианобактерии и прохлорофиты) содержатся хлорофиллы, характерные для фотосинтезирующих эукариот. У цианобактерий - хлорофилл *a*, в клетках прохлорофит - хлорофиллы *a* и *b*. Присутствие этих пигментов обеспечивает поглощение света с длиной волны до 750 нм.

Фикобилипротеины - красные и синие пигменты, содержащиеся только у цианобактерий. Эти пигменты обеспечивают поглощение света в области 450 - 700 нм и с высокой эффективностью (больше 90%) передают поглощенный свет на хлорофилл, т.е. фикобилипротеины являются вспомогательными пигментами.

Каротиноиды также относят к вспомогательным фотосинтетическим пигментам, которые содержат все фототрофы. Состав каротиноидов у бактерий разнообразен. Наряду с пигментами, одинаковыми у разных групп, для каждой из них характерны определенные каротиноиды или наборы последних. Например, у пурпурных бактерий выделено свыше 50 видов каротиноидов, именно эти пигменты ответственны за яркую окраску колоний - от пурпурно-фиолетового до желтого цвета.

Каротиноиды поглощают свет в синем и зеленом участках спектра, т.е. в области длин волн 400 - 450 нм. Функции каротиноидов:

- 1) поглощают кванты света в коротковолновой области спектра, которые затем передаются на хлорофиллы; эффективность передачи энергии для разных видов каротиноидов колеблется от 30 до 90%;
- 2) участие в осуществлении реакции фототаксиса;
- 3) участие в защите клетки от токсических эффектов синглетного кислорода.

Фотосинтетический аппарат бактерий организован по-разному. Это проявляется как в химической природе составляющих его компонентов (состав пигментов, состав переносчиков электронов), так и в структурной организации в клетке. Компоненты фотосинтетического аппарата:

- 1) светособирающие пигменты (П), поглощающие энергию света и передающие ее в реакционные центры;
- 2) фотохимические реакционные центры (РЦ), где происходит трансформация электромагнитной формы энергии в химическую;
- 3) фотосинтетические электронтранспортные системы (ЭТС), обеспечивающие перенос электронов, сопряженный с запасанием энергии в форме АТФ.

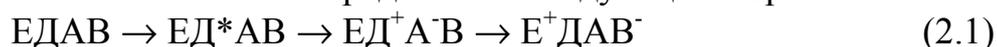
Локализация светособирающих пигментов в разных группах фототрофов различна. У пурпурных бактерий, гелиобактерий и прохлорофит светособи-

рающие пигменты в виде комплексов с белками интегрированы в мембраны. В клетках зеленых бактерий и цианобактерий основная масса светособирающих пигментов находится в особых структурах, прикрепленных к поверхности мембраны, но не являющихся ее компонентом. Это хлоросомы зеленых бактерий и фикобилисомы цианобактерий.

Два компонента фотосинтетического аппарата - РЦ и ЭТС - всегда локализованы в клеточных мембранах, представленных цитоплазматической мембраной (ЦПМ) и у большинства фотосинтезирующих бактерий развитой системой внутривитоплазматических мембран - производных ЦПМ.

Фотосинтетическое фосфорилирование - процесс преобразования электромагнитной формы энергии в химическую (АТФ), сопряженный с переносом электронов по фотосинтетической ЭТС.

При поглощении кванта света реакционным центром первичный донор электронов (Д: бактериохлорофиллы *a*, *b*, *g*; хлорофилл *a*) переходит в возбужденное состояние (D^*), в котором становится активным восстановителем, и переносит электрон на первичный акцептор электронов (А: бактериофеофитин *a* и *b* у пурпурных бактерий; бактериофеофитин *a* и бактериохлорофилл *c* у зеленых бактерий; бактериохлорофилл *g* у гелиобактерий; хлорофилл *a* и феофитин *a* у цианобактерий; у прохлорофит - неизвестен). Чтобы предотвратить возвращение электрона на D^+ , вторичный акцептор (В: убихиноны и менахины у пурпурных бактерий; менахины и FeS-белки у зеленых бактерий; FeS-белки и хиноно-подобные соединения у гелиобактерий; FeS-белки и пластохиноны у цианобактерий; у прохлорофит - неизвестен) принимает электрон от первичного акцептора и стабилизирует таким способом разделение зарядов. Для дальнейшей стабилизации этого разделения вторичный донор электронов (Е: почти всегда цитохромы *c*) отдает электрон на молекулу первичного донора (D^+). Все вышеописанные этапы можно представить следующим образом:



Индукцированные светом перемещения электрона в РЦ приводят к переносу его на вторичный акцептор с отрицательным потенциалом; далее электрон поступает на переносчики электронов ЭТС, расположенной в непосредственной близости от РЦ. Последним переносчиком, с которого электроны возвращаются на хлорофилл РЦ, служит в большинстве случаев цитохром *c*. Возвращение электрона по ЭТС - темновой процесс и осуществляется в соответствии с электрохимическим градиентом без затраты энергии. Вышеуказанный процесс получил название *циклического транспорта электронов*.

Однако электрон, оторванный от первичного донора РЦ, может по цепи, состоящей из других переносчиков (флавопротеины), не возвращаться на хлорофилл, а передаваться на НАД(Ф)⁺ или окисленный ферредоксин. Таким образом, электрон, покинувший молекулу хлорофилла, выводится из «системы». Таким образом, с одной стороны возникает однонаправленный незамкнутый электронный поток, получивший название *нециклического транспорта электронов*; а с другой стороны - возникает проблема дефицита электронов для

восстановления первичного донора электронов (хлорофилла или бактериохлорофилла).

У пурпурных и зеленых нитчатых бактерий функционирует только циклический, а у остальных групп фототрофов - как циклический, так и нециклический перенос электронов.

Поток электронов по цепи переносчиков на определенных этапах сопряжен с направленным перемещением протонов (H^+) через мембрану, что приводит к созданию протонного градиента, используемого для синтеза АТФ в процессе *фотосинтетического фосфорилирования*.

Фосфорилирование, сопряженное с циклическим потоком электронов, получило название *циклического фотофосфорилирования*. Соответственно, *нециклическим фотофосфорилированием* называют синтез АТФ, сопряженный с нециклическим электронным транспортом.

Основным или единственным источником углерода для конструктивных процессов у фототрофных бактерий является углекислый газ (CO_2) - предельно окисленное углеродное соединение. Фиксация CO_2 у прокариот происходит в восстановительном цикле трикарбоновых кислот и в восстановительном пентозофосфатном цикле. Для превращения CO_2 в структурные компоненты клетки и клеточные метаболиты необходимо ее восстановление до уровня углеводов, белков, липидов. Проблему восстановителя и источника электронов фототрофные бактерии «решают» за счет экзогенного донора электронов, которым могут быть H_2 , H_2S , S^0 , $S_2O_3^{2-}$, органические кислоты, спирты, сахара и даже некоторые ароматические соединения.

Пути автотрофной фиксации CO_2 :

1) Восстановительный цикл трикарбоновых кислот (ЦТК), или цикл Арнона, в основе которого лежат реакции восстановительного карбоксилирования органических кислот. Фиксация CO_2 по восстановительному ЦТК не получила широкого распространения среди фотосинтезирующих эубактерий. По этому пути CO_2 фиксируется у зеленых серобактерий, у некоторых водородных и сульфатовосстанавливающих бактерий, гелиобактерий.

2) Восстановительный пентозофосфатный цикл, или цикл Кальвина. Акцептором CO_2 выступает вещество углеводной природы - активированная молекула пентозы. По этому пути CO_2 фиксируется у пурпурных и зеленых фототрофных бактерий, цианобактерий, прохлорофит, а также у хемоавтотрофных бактерий.

Фотосинтез галобактерий. Галобактерии относятся к архебактериям, в природе занимают экстремальные экологические ниши - высококонцентрированные или насыщенные растворы солей (соленые озера, щелочные озера, естественные солеварни и засоленные почвы). Оптимальный рост наблюдается в 3,5 - 5,0 М растворе NaCl, т.е. галобактерии являются типичными экстремальными галофилами.

У этой группы бактерий (в частности, у вида *Halobacterium salinarium*) была обнаружена способность осуществлять *фотосинтез безхлорофильного типа*. В ЦПМ бактерий был обнаружен *бактериородопсин* - белок, ковалентно связан-

ный с каротиноидом, обладающий способностью к светозависимому переносу протонов (H^+) через мембрану, приводящему в конечном итоге к синтезу АТФ. Фотофосфорилирование, обнаруженное у галобактерий, - единственный пример превращения энергии света в химическую энергию АТФ без участия ЭТС.

Эритробактерии и другие аэробные бактерии, образующие бактериохлорофилл *a*. К этой группе относятся следующие рода: *Erythrobacter*, *Erythromicrobium*, *Roseobacter*, *Roseococcus*, *Porphyrobacter*, *Photorizobium*, а также некоторые виды факультативных метилотрофов р. *Methylobacterium*.

Наряду с бактериохлорофиллом *a*, эритробактерии образуют ряд каротиноидов. Состав каротиноидов у разных видов может отличаться. Из-за наличия большого количества каротиноидов культуры аэробных бактерий, образующих бактериохлорофилл *a*, имеют обычно оранжевую или розовую окраску.

За счет каротиноидов эритробактерии поглощают свет в области 400 – 550 нм, за счет бактериохлорофилла - при 800 - 817 и 830 - 875 нм, который образует в клетках комплексы с белками. Однако способность аэробных бактерий, образующих бактериохлорофилл *a*, расти в автотрофных условиях - не обнаружена.

Интересно, что основная часть известных видов рассматриваемых бактерий растет только в присутствии молекулярного кислорода, в отличие от «истинных» фототрофов. Более того, образование бактериохлорофилла *a* зависит от O_2 и происходит интенсивнее в темноте. Обнаружено, что свет подавляет аэробное дыхание некоторых видов бактерий. Это говорит о том, что свет может использоваться данными микроорганизмами как источник энергии. Однако при непрерывном освещении подавляется синтез бактериохлорофилла *a* у большинства видов.

Из вышеизложенного следует, что рассматриваемые бактерии могут использовать энергию света как дополнительный источник энергии только при чередовании периодов свет/темнота. Растут в условиях, когда свет является единственным источником энергии, по крайней мере те виды, которые изучались, видимо, неспособны. Поэтому их предлагается называть квазифототрофами, или парафотосинтезирующими организмами.

Гелиобактерии. Известно два рода гелиобактерий - *Heliobacterium* и *Heliobacillus*. Осуществляют аноксигенный фотосинтез. Все компоненты фотосинтезирующего аппарата у этих бактерий локализованы в ЦПМ. В его состав входит особый хлорофилл, получивший название бактериохлорофилла *g* (максимумы поглощения в клетках при 788 - 790, 718, 670, 575 и 375 нм). Кроме того, гелиобактерии синтезируют каротиноиды, из которых основным (а в некоторых случаях, возможно, единственным) является нейроспорин. Бактериохлорофилл *g* и нейроспорин имеют зеленую окраску. Это определяет цвет культур гелиобактерий.

Сначала считали, что гелиобактерии относятся к облигатным фототрофам. Недавно появились данные о том, что разные виды этих микроорганизмов могут расти в анаэробных условиях в темноте за счет брожения пирувата, но го-

раздо хуже, чем на свету. Отмечено также, что при наличии пирувата эти микроорганизмы могут фиксировать N_2 как при освещении, так и в темноте.

В отличие от многих других фототрофных прокариот, гелиобактерии широко распространены в почвах, особенно в почвах рисовых полей, причем даже сухих. Это объясняется тем, что гелиобактерии образуют эндоспоры, сохраняющие жизнеспособность клеток в неблагоприятных условиях в течение длительного времени.

Экология и роль фототрофных бактерий в природе. Большинство фототрофных бактерий обитает в анаэробных зонах водоемов, в мелководных прудах, медленно текучих водах, в озерах и морских бухтах.

На распространение фотосинтезирующих бактерий в природе наибольшее влияние оказывают три экологических фактора - свет, молекулярный кислород и питательные вещества. Потребности в разных частях солнечного спектра для фотосинтеза определяется составом светособирающих пигментов. Бактерии с кислородным типом фотосинтеза (цианобактерии и прохлорофиты) поглощают свет в том же диапазоне длин волн, что водоросли и высшие растения. Пурпурные и зеленые бактерии часто развиваются в водоемах под более или менее плотным поверхностным слоем, состоящим из цианобактерий и водорослей, эффективно поглощающих свет до 750 нм. Фотосинтез пурпурных и зеленых бактерий в этих условиях связан со способностью бактериохлорофиллов поглощать свет в красной и инфракрасной областях спектра, выходящих за пределы поглощения хлорофиллов (вплоть до 1100 нм). Некоторые фотосинтезирующие бактерии могут расти в водоемах на значительных глубинах, куда проникает только свет голубой и зеленой частей спектра (450 – 550 нм), что осуществляется за счет активности каротиноидов.

По отношению к молекулярному кислороду фототрофные бактерии весьма разнообразны - от строгих анаэробов до организмов, у которых O_2 образуется внутриклеточно. Многие виды - факультативные анаэробы, есть аэротолерантные формы и микроаэрофилы.

По отношению к питательным веществам - от облигатной зависимости от органических соединений (гелиобактерии, некоторые пурпурные бактерии) до способности расти на минеральной среде (цианобактерии, несимбиотические прохлорофиты).

К другим факторам внешней среды, определяющим рост фототрофных бактерий, относятся рН, температура, концентрация солей.

В группе цианобактерий достигнуто наибольшее приспособление к широкому диапазону внешних условий, определившее их почти повсеместное распространение. Эти микроорганизмы встречаются во льдах и горячих источниках (70 - 80°C), в пресных водоемах, морях, океанах, в почвах и пустынях. В экономическую проблему выросло наблюдаемое в ряде водоемов чрезмерное массовое развитие цианобактерий - «цветение воды», поскольку виды, доминирующие в этом процессе, токсичны для беспозвоночных, рыб и домашних животных.

Некоторые бактерии - фототрофы существуют в ассоциациях с другими организмами (зеленые бактерии с хемоорганотрофными бактериями; прохлорофиты с асцидиями; цианобактерии с грибами, мхами, папоротниками, водорослями, высшими растениями). Если в симбиозах один из компонентов – азотфиксирующие цианобактерии (см. раздел 3.1), они снабжают партнера связанным азотом. В других случаях конкретная природа связей между симбионтами неясна.

Фототрофные бактерии, особенно цианобактерии, играют значительную роль в круговороте углерода и азота, а пурпурные и зеленые бактерии - еще и серы. Сделаны определенные шаги на пути практического использования фототрофных бактерий. Например, азотфиксирующих цианобактерий используют для повышения плодородия рисовых полей; культивирование пурпурных бактерий и цианобактерий в промышленных масштабах для получения кормового белка и перспективного источника энергии - молекулярного водорода (H₂).

Советуем обратить внимание!

<i>Понятие</i>	<i>Определение</i>	<i>Что это значит</i>
Фототрофные бактерии		
Аноксигенный фотосинтез		
Оксигенный фотосинтез		
Бактериохлорофиллы		
Фикобилипротеины		
Каротиноиды		
Фотосинтетический аппарат		
Реакционный центр (РЦ)		
Электронтранспортные системы (ЭТС)		
Циклический транспорт электронов		
Нециклический транспорт электронов		
Циклическое фотофосфорилирование		
Нециклическое фотофосфорилирование		
Цикл трикарбоновых кислот		
Пентозофосфатный цикл		
Фотосинтез галобактерий		
Бактериородопсин		
Эритробактерии		
Экологическая роль фототрофов в природе		

2.2. Хемосинтез

Бактерии могут синтезировать органическое вещество за счет химической энергии, получаемой при окислении неорганических соединений. Этот процесс был впервые описан выдающимся отечественным микробиологом

С.Н. Виноградским в конце прошлого века и назван *аноргоксидацией*; потом в науку вошел другой термин, обозначающий суть процесса, - *хемосинтез*. С.Н. Виноградский по этому поводу писал: «...органическое вещество на земном шаре образуется при жизнедеятельности живых существ не только в процессе фотосинтеза, но и в процессе хемосинтеза».

Хемоавтотрофы известны только среди бактерий. Донорами электронов или водорода для них могут служить следующие восстановленные неорганические соединения: аммиак (NH_4^+), нитрит (NO_2^-), угарный газ (CO), сероводород (H_2S), элементарная сера (S^0), тиосульфат ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), сульфит (SO_3^{2-}), тритионат ($\text{S}_3\text{O}_6^{2-}$), тетраионат ($\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$), молекулярный водород (H_2) и ионы Fe^{2+} и Mn^{2+} . Источником углерода для хемосинтезирующих бактерий служит CO_2 , фиксация которого происходит за счет энергии окисления внешнего неорганического донора электронов. Развитие хемолитотрофных или хемоавтотрофных микроорганизмов зависит от наличия в среде перечисленных соединений и от окислительно-восстановительных условий. В связи с этим, в природе они развиваются на границах раздела аэробной и анаэробной зон.

Некоторые виды микроорганизмов - облигатные хемолитоавтотрофы, другие - факультативные. К последним относятся, например, карбоксидобактерии и водородные бактерии. В отсутствие органических веществ они используют энергию окисления CO или H_2 для фиксации CO_2 , а при наличии органических соединений переходят на гетеротрофный тип питания, т.е. ведут себя, как миксотрофы.

Кроме того, выделена бактерия *Stibiobacter senarmontii*, окисляющая соединения сурьмы ($\text{Sb}^{3+} \rightarrow \text{Sb}^{5+}$) в виде минерала сенармонтита и растущая в автотрофных условиях.

Значительную часть хемолитоавтотрофов составляют микроорганизмы, относящиеся к аэробам и факультативным анаэробам, однако есть и строгие анаэробы.

Особенности электронтранспортных (дыхательных) цепей (ЭТЦ) у хемолитоавтотрофных бактерий. ЭТЦ хемолитоавтотрофов содержат те же типы переносчиков, что и ЭТЦ у хемоорганогетеротрофов. Разнообразие наблюдается только на периферических участках энергетического метаболизма, так как для окисления неорганических соединений, связанного с получением энергии, необходимы соответствующие ферментные системы.

Используемые в качестве доноров электронов неорганические соединения различаются окислительно-восстановительными потенциалами. Это определяет место включения в ЭТЦ электронов окисляемого субстрата (рис. 2.2).

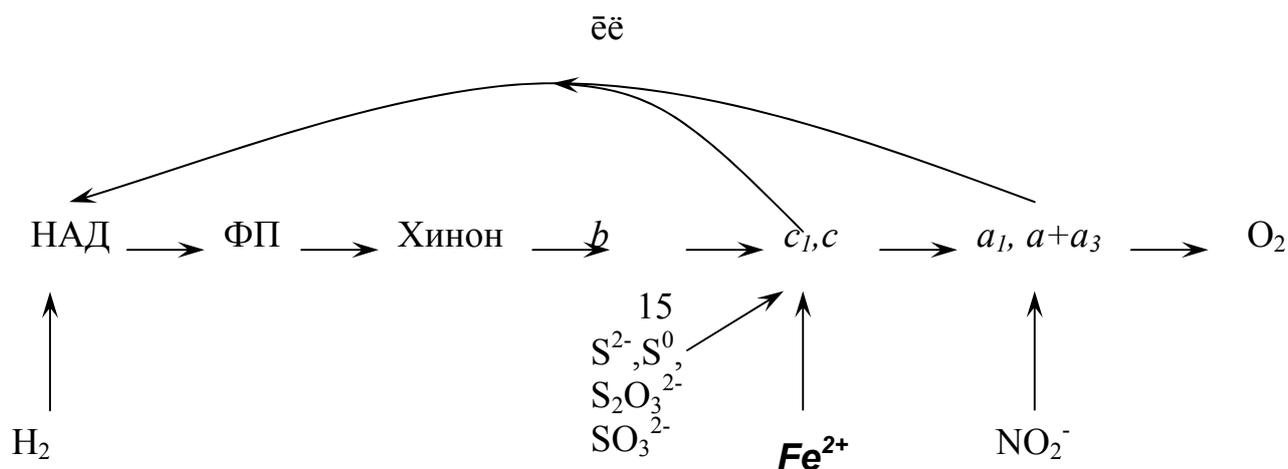


Рис. 2.2. Окисление различных неорганических субстратов аэробными хемолитоавтотрофными бактериями с участием ЭТЦ и восстановление НАД⁺ в результате обратного переноса электронов (Гусев, Минеева, 1992)

Примечание: ФП - флавопротеин, а, в, с - цитохромы

При окислении молекулярного водорода (H₂) водородными бактериями электроны с субстрата включаются в ЭТЦ на уровне НАД⁺; при окислении соединений серы разной степени восстановленности бесцветными серобактериями - на уровне цитохромов с, на этот же уровень поступают электроны при окислении двухвалентного железа (Fe²⁺) ацидофильными железобактериями; а при окислении нитритов (NO₂⁻) нитрификаторами - на уровне цитохрома a₁. Включение электронов с субстратов на уровне цитохромов приводит к тому, что:

1) в ЭТЦ функционирует только один генератор Δμ_{H+} (у хемоорганогетеротрофов их три), деятельность которого приводит к образованию АТФ; именно поэтому хемолитоавтотрофам необходимо использовать в процессе роста большое количество энергетического субстрата;

2) у большинства хемолитоавтотрофных бактерий (за исключением водородоокисляющих) в процессе переноса электронов в ЭТЦ не образуется восстановитель НАД·H₂, необходимый для биосинтетических процессов.

В тех случаях, когда место включения электронов с окисляемого субстрата находится ниже энергетического уровня, на котором образуется НАД·H₂, работает система *обратного переноса электронов*, которая «поднимает» электроны по ЭТЦ в сторону более отрицательного потенциала, необходимого для восстановления молекул НАД⁺. Обратный перенос электронов требует затраты энергии, и часть синтезированных на конечном этапе в ЭТЦ молекул АТФ тратится на образование восстановителя. Таким образом, у аэробных хемолитоавтотрофных бактерий ЭТЦ работает в двух направлениях:

1) осуществляет транспорт электронов для получения энергии в форме АТФ;

2) осуществляет обратный перенос электронов (против окислительно-восстановительного потенциала), идущий с затратой энергии в форме АТФ, чтобы синтезировать восстановитель.

Такая работа ЭТЦ создает большую нагрузку на конечный этап дыхательной цепи, в результате этого у аэробных хемолитоавтотрофов конечный участок ЭТЦ развит очень сильно. Эти бактерии (особенно железобактерии и нит-

риффикаторы) характеризуются исключительно высоким содержанием цитохромов *c* и *a*, во много раз превышающем их содержание у гетеротрофов.

Жизнь без Солнца, или рифтовые экосистемы. Высокопродуктивные рифтовые экосистемы целиком зависят от геотермальной энергии и существуют за счет процессов жизнедеятельности хемолитоавтотрофных микроорганизмов. Уникальной особенностью рифтовых сообществ живых организмов является их полная независимость от энергии Солнца.

Важно отметить, что области, где сконцентрированы гидротермальные системы, довольно многочисленны и охватывают около 1/3 площади дна Мирового океана. Они располагаются в области выхода высокотемпературных источников на больших глубинах, куда не проникает солнечная радиация. Полная независимость от энергии Солнца, впрочем, не совсем верна. В этом случае для процессов хемосинтеза, осуществляемого аэробными прокариотами, используется растворенный в воде O_2 , который является результатом фотосинтеза, прошедшего в другом месте.

В основе пищевых цепей рифтовых животных (членистоногие, моллюски, кольчатые черви, кишечнополостные, погонофоры; гидротермальная фауна насчитывает около 500 видов многоклеточных животных) лежит, главным образом, органическое вещество, синтезированное в процессе бактериального хемосинтеза (в некоторых случаях - метанотрофии). При этом микроорганизмы могут быть свободноживущими, прикрепленными (в виде бактериальных обрастаний и матов), а также эндо- и экзосимбионтами. Бактериальная продукция на дне океана представляет собой дополнительное органическое вещество, количество которого сопоставимо или даже превышает количество планктонного органического вещества, достигшего дна. Продукты хемосинтеза бактерий - единственный источник питания для животных гидротермальной фауны, высочайшая концентрация биомассы рифтовых сообществ, превышающая 50 кг на 1 м^2 , не свойственна обычным сообществам животных морского дна.

Советуем обратить внимание!

<i>Понятие</i>	<i>Определение</i>	<i>Что это значит</i>
Хемосинтез		
Хемолитоавтотрофы		
Обратный перенос электронов		
Рифтовые экосистемы		

2.2.1. Аэробные хемолитоавтотрофные бактерии

К хемолитоавтотрофам, растущим в аэробных условиях, относят бактерий следующих физиологических групп:

- 1) *Нитрифицирующие бактерии* (или нитрификаторы) подробно рассмотрены в п. 3.3 пособия;
- 2) *Бесцветные серные бактерии* (или бесцветные серобактерии);

- 3) Железобактерии;
- 4) Водородокисляющие бактерии (или водородные бактерии);
- 5) Карбоксидобактерии (или СО-окисляющие бактерии).

2.2.1.1. Бесцветные серные бактерии

Бесцветные серные бактерии окисляют неорганические соединения серы. Среди них встречаются и автотрофные, и гетеротрофные микроорганизмы, относящиеся к разным систематическим группам. Есть серобактерии, которые накапливают в клетках серу, и виды, которые такую способность не проявляют.

К числу бесцветных серобактерий, откладывающих в клетках серу, относятся как одноклеточные, так и многоклеточные формы, образующие цепочки клеток - *трихомы*. К одноклеточным серобактериям принадлежат представители родов *Achromatium*, *Thiobacterium*, *Macromonas*, *Thiovulum*, *Thiospira*, *Bilophococcus*. Бактерии рода *Bilophococcus* образуют внутриклеточные структуры - *магнетосомы* (кристаллы минерала магнетита Fe₃O₄, окруженные билипидной мембраной), благодаря чему проявляют способность к *магнитотаксису* - направленному передвижению вдоль линий магнитного поля Земли. Многоклеточные (нитчатые) бесцветные серобактерии составляют семейство *Beggiatoaceae*, которое включает роды *Beggiatoa*, *Thioploca*, *Thiothrix* и *Thiospirillopsis*. Все они образуют трихомы, способные к скользящему движению.

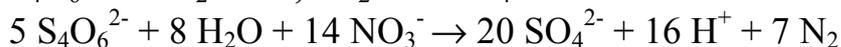
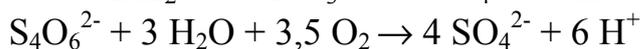
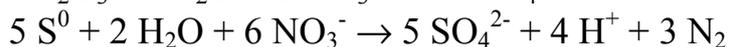
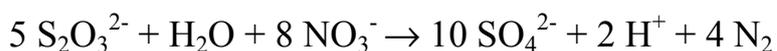
Известен ряд бактерий, которые серу в клетках не накапливают, но окисляют сероводород и/или другие соединения серы, что обеспечивает рост многих из них в автотрофных условиях. Часть таких микроорганизмов называют *тионовыми бактериями* или *тиобактериями* для отличия их от видов, которые накапливают в клетках серу. К ним относят представителей родов *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiodendron*, *Thiospaera* и некоторых других.

Кроме того, окислять сероводород, а также молекулярную серу и расти в автотрофных условиях могут бактерии рода *Sulfobacillus* и представители археобактерий, относящиеся к родам *Sulfolobus* и *Acidianus*. Окисление серобактериями разных соединений серы и молекулярной серы обычно ведет к образованию сульфатов (табл. 2.2).

Таблица 2.2

Продукты окисления хемолитотрофными бактериями соединений серы (по Е.Н. Кондратьевой, 1996)

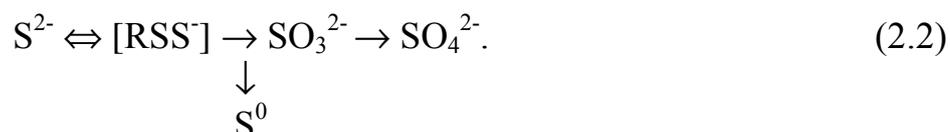
Реакции
$S^{2-} + 2 H^+ + 0,5 O_2 \rightarrow H_2O + S^0$
$S^{2-} + 2 O_2 \rightarrow SO_4^{2-}$
$S^0 + H_2O + 1,5 O_2 \rightarrow SO_4^{2-} + 2 H^+$
$S_2O_3^{2-} + H_2O + 2 O_2 \rightarrow 2 SO_4^{2-} + 2 H^+$
$SO_3^{2-} + 0,5 O_2 \rightarrow SO_4^{2-}$
$CNS^- + 2 H_2O + 3 O_2 \rightarrow SO_4^{2-} + CO_2 + NH_4^+$



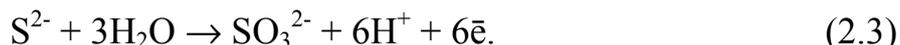
Однако иногда этот процесс идет не до конца, и обнаруживаются не полностью окисленные продукты. В этом случае имеет значение характер используемых соединений серы, особенности микроорганизмов, которые их окисляют, и условия роста культур.

Окисление хемолитоавтотрофными бактериями сероводорода, как и у фототрофных бактерий, ведет к образованию в большинстве случаев серы (которая может откладываться внутриклеточно), а затем сульфата. Лишь некоторые пресноводные бактерии рода *Beggiatoa* окисляют сероводород только до серы. По имеющимся данным, окисление хемолитоавтотрофными бактериями сульфида связано с участием цитохромов типа *c*, которые входят в состав дыхательной электронтранспортной цепи (ЭТЦ). Но сам путь окисления S^- изучен недостаточно.

Одно из предположений состоит в том, что окислительный метаболизм S^- у хемотрофных бактерий начинается с образования сульфид-сульфгидрильного комплекса (RSS^-), связанного с мембранами. Если это так, то сера является не прямым и, во всяком случае, не первым продуктом превращения сероводорода:



Возможно окисление сероводорода и без промежуточного образования серы. Так, полагают, что у *Thiobacillus denitrificans* в окислении S^{2-} участвует фермент *сульфитредуктаза*:



Следует также отметить, что сера, которая обнаруживается в клетках или в среде при окислении различными прокариотами сероводорода и некоторых других соединений серы, по последним данным, представляет собой длинноцепочечные политионаты. В присутствии воды они образуют мицеллы и глобулы (диаметром до 1 мкм). Поэтому правильнее говорить об образовании микроорганизмами не элементной серы, а политионатов, или «гидрофильной серы». Однако традиционно их продолжают называть скоплениями серы.

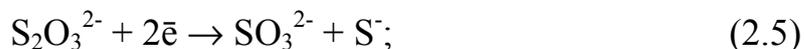
Установлено, что хемотрофные бактерии могут использовать разные формы молекулярной серы, но наиболее быстро окисляется сера в орторомбической или полимерной форме. Считается, что для использования бактериями серы, важен непосредственный контакт с клетками.

У ряда представителей рода *Thiobacillus* (*T. ferrooxidans*, *T. thiooxidans*) установлено наличие мембрансвязанного фермента, участвующего в окислении серы. Этот фермент представляет собой оксигеназу, катализирующую окисление серы с образованием сульфата:



Значительно больше данных имеется в отношении метаболизма у хемолитотрофных бактерий тиосульфата, который может подвергаться разным превращениям в зависимости от того, какие ферменты на него воздействуют:

1. превращаться в сульфид и сульфит под действием *тиосульфатредуктазы*:



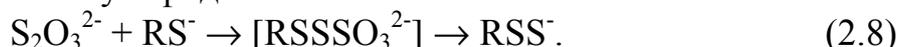
2. расщепляться с образованием серы и сульфита в результате действия *родоназы* или другого фермента аналогичного характера:



3. окисляться до тетраионата при участии тиосульфатоокисляющего фермента (*тиосульфат: цитохром с оксидоредуктазы*):

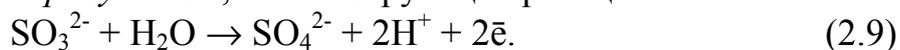


4. превращаться в полисульфид:



При этом в качестве побочных продуктов могут образовываться полиионаты.

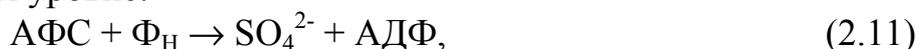
Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что начальные пути окисления одних и тех же соединений серы разными хемотрофными прокариотами могут различаться. Однако центральное место в их метаболизме принадлежит сульфиту. Разные виды хемолитотрофных серобактерий проявляют активность *сульфит: цитохром оксидоредуктазы*, катализирующей реакцию:



Часть хемотрофных серобактерий наряду с сульфит: цитохром оксидоредуктазой содержит *аденилсульфатредуктазу*, что позволяет им синтезировать *аденилсульфат*:



В результате последующих реакций, в которых участвуют неорганический фосфат (Φ_H) или пирофосфат ($\Phi\Phi_H$), происходит образование сульфата и синтез АТФ на субстратном уровне:



или



Главным результатом окисления хемолитотрофными прокариотами неорганических соединений серы является синтез АТФ, сопряженный с функционированием дыхательной ЭТЦ, т.е. мембранное фосфорилирование с участием H^+ -АТФазы. ЭТЦ у бесцветных серобактерий, окисляющих неорганические соединения серы, является укороченной, как и у остальных групп хемолитоавтотрофных бактерий. Электроны от окисляемых соединений серы поступают в ЭТЦ на уровне хинонов и цитохромов.

Источником углерода у бесцветных серобактерий могут служить CO_2 (у хемолитоавтотрофов) и органические вещества (у хемолитогетеротрофов). Авто-

трофная ассимиляция CO_2 происходит в ребулезобифосфатном цикле и имеет место у родов *Thiobacillus*, *Thiomicrospira*, *Thiosphaera*, *Thermothrix* и *Beggiatoa*. В отличие от этого, автотрофная ассимиляция CO_2 у архебактерий *Sulfolobus* и *Acidianus*, видимо, происходит по пути, похожему на восстановительный цикл трикарбоновых кислот.

Некоторые серобактерии проявляют способность к миксотрофии. Это выражается в том, что серобактерии фиксируют CO_2 через цикл Кальвина и окисляют неорганический субстрат (тиосульфат, тетратионат), но одновременно используют органические соединения (глюкозу или ацетат) как источники углерода и энергии. Пути использования факультативно автотрофными серобактериями органических веществ в принципе не отличаются от таковых у многих гетеротрофов, но у разных видов могут различаться. Полное окисление органических веществ у таких бактерий обычно связано с функционированием цикла трикарбоновых кислот.

Экологическая роль и практическое значение бесцветных серобактерий. Хемотрофные прокариоты, окисляющие сероводород и другие неорганические соединения серы, а также молекулярную серу, имеют широкое распространение. Они присутствуют в различных пресных и соленых водоемах, сточных водах, донных осадках, в почве, в месторождениях сульфидных минералов и серы, в угольных шахтах и других местах, где имеются возможности для их роста.

К широко распространенным формам принадлежат бактерии родов *Beggiatoa* и *Thiobacillus*, среди которых есть пресноводные и морские штаммы, проявляющие сравнительную устойчивость к H_2S . Нередко бактерии этого рода растут в виде налетов (пленок) в иловых отложениях разных озер, в ручьях и других водоемах, а также образуют пластинки в толще воды на границе распространения H_2S и O_2 . Обычно это наблюдается в водоемах, где рН близко к 7,0 или немного выше. В тех же местах нередко присутствуют представители родов *Thiothrix*, *Thiovulum*, *Macromonas* и другие бактерии, откладывающие в клетках серу. Встречаются они в составе микробных матов, часто формирующихся в серных источниках и других водоемах. Основным местом обитания архебактерий *Sulfolobus* и *Acidianus* являются горячие ($80 - 85^\circ\text{C}$) серные источники с низким (до 2,0) значением рН. Значительное число серобактерий обнаруживается в сточных водах. В них числе найдены нитчатые бактерии (*Thiothrix*), а также ряд видов, относящихся к хемолитоавтотрофам, в основном представители рода *Thiobacillus*. Между отдельными серобактериями могут складываться тесные взаимоотношения. Например, рост ацидофильных тиобацилл иногда становится возможным в результате развития нейтрофильных видов этих микроорганизмов, поскольку в процессе своего роста они снижают рН среды.

Во многих случаях деятельность хемотрофных серобактерий в природе тесно связана с активностью ряда других микроорганизмов, прежде всего сульфат- и серовосстанавливающих прокариот, поскольку они часто являются основными продуцентами H_2S в природе.

Хемолитоавтотрофные серобактерии вступают в симбиотические отношения и играют важную роль в жизнедеятельности некоторых беспозвоночных животных (погонофор, моллюсков), а именно обеспечивают их органическими веществами. Этим объясняется присутствие таких беспозвоночных в местах, где содержится H_2S или другие неорганические соединения серы, которые могут окислять имеющиеся у них симбионты.

Хемотрофным серобактериям принадлежит также активная роль в круговороте серы в природе, а именно в окислении H_2S и других соединений серы с образованием элементарной серы и серной кислоты (см. п. 4.5. пособия). Особенно большое значение в этом процессе, видимо, принадлежит хемолитоавтотрофным серобактериям, а среди них - тиобациллам. Но и другие гетеротрофные серобактерии могут достаточно активно участвовать в серном цикле.

Таким образом, наряду со многими фототрофными бактериями хемотрофные бактерии участвуют в удалении из водоемов ряда соединений серы, в том числе H_2S , который токсичен для многих других организмов, в том числе для растений и животных. Наряду с сульфатвосстанавливающими бактериями, хемотрофные серобактерии, видимо, играют определенную роль в формировании некоторых месторождений серы. Но они могут быть причиной разрушения серных руд, вызывая их окисление с образованием серной кислоты. Такой процесс интенсифицируется при разработке серных месторождений, когда создаются аэробные условия. С другой стороны, способность некоторых хемотрофных серобактерий воздействовать на нерастворимые сульфидные минералы имеет большое практическое значение, что позволяет увеличить добычу металлов из бедных руд. Наибольший интерес в этом плане представляет бактерия *Thiobacillus ferrooxidans*, уже нашедшая применение в гидрометаллургии. Но привлекают внимание в этом плане и другие тиобациллы, а также архебактерии (*Sulfolobus*, *Acidianus*, *Metallosphaera*), отдельные представители которых помимо соединений серы могут окислять также железо (Fe^{2+}) и другие металлы.

Растворение вмещающих пород под действием серной кислоты, которую образуют серобактерии, может увеличивать выход нефти. С помощью хемотрофных серобактерий возможна очистка от H_2S и других соединений серы не только природных водоемов, но и сточных вод, а также промышленных газов. Так, показано, что иммобилизованные клетки *T. thioparus* могут быть использованы для удаления из стоков H_2S , метилмеркаптана и диметилсульфида. Для очистки от сероводорода природного газа предлагается использовать *T. denitrificans*, а для обессеривания каменного угля – *T. ferrooxidans* и архебактерии *Sulfolobus*.

Однако хемотрофные серобактерии, главным образом из числа тиобацилл, вызывают выветривание некоторых горных пород, способствуют разрушению каменных и железобетонных сооружений, коррозии трубопроводов и металлического оборудования в шахтах, а также порче резиновых шлангов.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
Бесцветные серобактерии		
Тионовые бактерии		
Политионаты		
Экологическая роль бесцветных серобактерий		

2.2.1.2. Железобактерии

Существуют две трактовки термина «железобактерии». С.Н. Виноградский (1888) применял его в отношении микроорганизмов, для которых, как он полагал, окисление двухвалентного железа в трехвалентное ($Fe^{2+} \rightarrow Fe^{3+}$) является энергетическим процессом. Однако еще раньше Г. Молиш (1882), а затем ряд других исследователей стали называть железобактериями не только микроорганизмы, которые окисляют соединения двухвалентного железа, но осаждают и концентрируют на поверхности клеток, а иногда и в клетках гидроксиды железа. Такая способность присуща значительному числу бактерий, относящихся к разным систематическим группам. Многие из них являются гетеротрофами, они распространены в водоемах с $pH \geq 7,0$, участвуют в образовании ржавых осадков (охры) в железистых источниках, дренажных трубах, болотах (болотные руды) и заболоченных почвах. Часть таких микроорганизмов окисляют и марганец ($Mn^{2+} \rightarrow Mn^{4+}$). По всей видимости, при их участии происходит образование железомарганцевой руды в некоторых озерах.

К хемолитоавтотрофным железобактериям в настоящее время относят несколько видов - *Galionella ferruginea*, *Thiobacillus ferrooxidans*, *Leptospirillum ferrooxidans*, термоацидофильные архебактерии *Sulfolobus acidocaldarius* и *Acidianus brierleyi*. Выделены еще несколько штаммов умеренно термофильных и факультативно хемолитотрофных бактерий, окисляющих Fe^{2+} .

В аэробных условиях при нейтральных значениях pH двухвалентное железо химически неустойчиво и очень быстро переходит в Fe^{3+} . Поэтому для хемолитотрофов, окисляющих железо в присутствии O_2 , благоприятнее значения $pH < 4,0$, при которых Fe^{2+} достаточно устойчиво к химическим превращениям и его больше содержится в среде в растворимом состоянии. Тем не менее на примере *G. ferruginea* показано, что существование хемолитотрофных железобактерий при сравнительно высоком значении pH (оптимум pH для этого вида лежит в пределах 5,0 - 6,0) возможно. Все остальные известные бактерии, автотрофно окисляющие Fe^{2+} , представлены ацидофильными формами. Оптимальное значение pH для их роста, как правило, ниже 4,5 (2,0 - 3,0).

К облигатным хемолитотрофным бактериям относят *T. ferrooxidans* и *L. ferrooxidans*; к факультативным - представителей рода *Sulfobacillus*, архебактерий *S. acidocaldarius* и *A. brierleyi*, а также ряд выделенных штаммов, окисляющих Fe^{2+} , но не идентифицированных в систематическом отношении; *G. ferruginea* может расти в миксотрофных условиях.

В качестве окисляемых субстратов *T. ferrooxidans* использует Fe^{2+} , S^0 , тиосульфат и тетратионат (поэтому данный вид относят еще к хемоавтотрофным

бесцветным серобактериям), а также медь (Cu^+) и уран (U^{4+}). Однако рост культуры отмечен лишь при использовании Fe^{2+} и Cu^+ , хотя окисление клетками *T. ferrooxidans* урана ($\text{U}^{4+} \rightarrow \text{U}^{6+}$) сопровождалось фиксацией CO_2 .

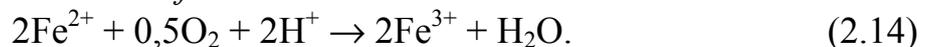
Характерным свойством *T. ferrooxidans* является способность окислять различные сульфидные минералы, содержащие железо, медь, сурьму, молибден, никель, уран и другие металлы. В этом случае окислению подвергается сульфидная сера. Но при наличии в минералах (например, в пирите, FeS_2) двухвалентного железа, происходит окисление последнего. В халькозине (Cu_2S) окисляется также медь.

По своим физиологическим свойствам *L. ferrooxidans* очень похожа на *T. ferrooxidans*, но окисляет только Fe^{2+} . Соединения серы как доноры электронов не использует. Некоторые исследователи рассматривают *L. ferrooxidans* как штамм *T. ferrooxidans*, утративший способность окислять соединения серы.

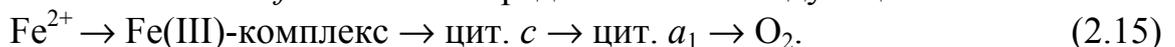
Представители рода *Sulfobacillus* могут окислять наряду с Fe^{2+} и неорганические соединения серы, а также пирит, арсенит, халькопирит, антимонит, ковеллин и некоторые другие сульфидные минералы. Лучший рост наблюдается в присутствии Fe^{2+} и органических соединений, но сульфобациллы могут расти и за счет автотрофной фиксации CO_2 .

S. acidocaldarius и *A. brierleyi* способны использовать в качестве доноров электронов серу и сульфидные минералы. Обнаружено также, что клетки и экстракты клеток *S. acidocaldarius* могут окислять арсенит (As^{2+}) и арсенат (As^{3+}).

Данные о том, как происходит окисление хемоавтотрофными бактериями железа, относятся в основном к *T. ferrooxidans*:



Полагают, что в этом процессе участвует Fe(III) -комплекс, который находится в клеточной стенке бактерии. Этот комплекс функционирует как окислитель Fe^{2+} с передачей электронов либо на цитохром *c*, либо (или затем) на медь-содержащий белок *рустицианин*. Всего у *T. ferrooxidans* обнаружены три цитохрома типа *c*. Кроме того, в состав дыхательной цепи *T. ferrooxidans* входит цитохром a_1 , выполняющий функцию терминальной оксидазы. Таким образом, дыхательная ЭТС *T. ferrooxidans* представляется следующей:



T. ferrooxidans содержит хиноны, а также цитохромы *v* и *c*, образующие *vc*₁-комплекс. Вероятно, они участвуют в восстановлении НАД в результате обратного переноса электрона от Fe^{2+} , редокс-потенциал которого более +700 мВ.

Показано также, что функционирование дыхательной ЭТС *T. ferrooxidans* ведет к синтезу АТФ в результате создания протондвижущей силы. Однако эффективность окисления Fe^{2+} , как и большинства других неорганических субстратов, значительно меньше, чем многих органических веществ. По имеющимся расчетам, для образования 1 г сухой биомассы *T. ferrooxidans* необходимо окислить более 150 г Fe^{2+} , тогда как при синтезе *E. coli* (хемоорганогетеротрофная бактерия) той же биомассы за счет использования глюкозы расход этого субстрата составляет примерно 2 г.

Ассимиляция *T. ferrooxidans* CO₂, как и у других тиобацилл, происходит в результате функционирования цикла Кальвина. Таким же путем ассимилируют CO₂ в автотрофных условиях *G. ferruginea* и *Sulfobacillus*. В отличие от этого, автотрофная ассимиляция CO₂ архебактериями, окисляющими Fe²⁺ связана с системой, похожей на восстановительный цикл трикарбоновых кислот.

Экологическая роль и практическое значение железобактерий. Из хемолитоавтотрофных железобактерий только *G. ferruginea* обитает в нейтральных и слабощелочных водоемах, остальные известные виды распространены в местах, где pH среды не превышает 4,0 - 4,5, а часто бывает ниже.

Например, *T. ferrooxidans* обнаруживается в кислых серных источниках и некоторых озерах, а также в кислых водах месторождений сульфидных минералов и дренажных водах угольных шахт. Из месторождений сульфидных минералов выделена *L. ferrooxidans*, а также ряд не идентифицированных пока в систематическом отношении штаммов железобактерий. Встречаются в таких местах при высокой температуре (60 - 80°C) и железоокисляющие архебактерии родов *Sulfolobus* и *Acidianus*. Но чаще они обнаруживаются в термальных кислых источниках, где присутствует сера.

Способность *T. ferrooxidans* и некоторых других микроорганизмов воздействовать на сульфидные минералы имеет большое практическое значение. На этом основаны методы бактериально-химического выщелачивания ряда металлов из бедных руд в целях увеличения их добычи.

В настоящее время действуют и разрабатываются опытные установки для извлечения с помощью микроорганизмов марганца, золота и ряда других драгоценных и редких металлов.

В промышленных масштабах бактериальное выщелачивание (обычно с участием *T. ferrooxidans*) используют при получении из некоторых руд меди и урана. Сущность методов выщелачивания с использованием *T. ferrooxidans* сводится к окислению этой бактерией, а также химическим путем сульфидных минералов с переводом металлов в растворимую форму и затем их осаждению в результате обменной реакции с железом. С помощью *T. ferrooxidans* осуществляют также селективное удаление пирита и арсенопирита из золотоносных руд.

Перспективными микроорганизмами для выщелачивания металлов из ряда сульфидных минералов являются и некоторые другие представители тиобацилл и отдельные представители архебактерий.

Хорошие результаты дает использование в этих целях смешанных культур бактерий. Например, *T. ferrooxidans* и *Thiobacillus thiooxidans*, *L. ferrooxidans* и *T. thiooxidans* или *Thiobacillus organoparus*.

Отрицательным результатом деятельности *T. ferrooxidans* и других ацидофильных железоокисляющих бактерий является усиление коррозии трубопроводов и металлического оборудования в шахтах, а также разрушение каменных строений и железобетонных сооружений.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
Железобактерии		
Хемолитоавтотрофные железобактерии		
Дыхательная цепь железобактерий		
Экологическая роль железобактерий		

2.2.1.3. Водородокисляющие бактерии

Синоним: водородные бактерии

В настоящее время известно значительное число фото- и хемотрофных микроорганизмов, окисляющих молекулярный водород (H_2). По количеству таких бактерий больше, чем видов, способных окислять другие неорганические субстраты.

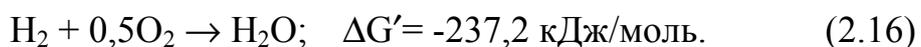
Почти все фототрофные пурпурные и зеленые бактерии используют H_2 в качестве донора электронов при ассимиляции CO_2 и в других процессах. Окислять молекулярный водород могут также отдельные представители цианобактерий.

К числу хемотрофных микроорганизмов, способных окислять H_2 , относятся представители разных систематических групп. Среди них есть авто- и гетеротрофы, аэробные и анаэробные виды.

Хемолитоавтотрофные прокариоты, способные расти за счет окисления H_2 в аэробных условиях, принято называть *водородными бактериями*. Лишь некоторые виды водородных бактерий могут окислять H_2 , используя кроме молекулярного кислорода (O_2) другие акцепторы электронов, и расти в анаэробных условиях.

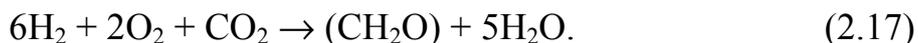
В настоящее время известны более 30 водородных бактерий, которые относятся к разным систематическим группам. Это представители родов *Alcaligenes*, *Azospirillum*, *Aquaspirillum*, *Bradyrhizobium*, *Paracoccus*, *Hydrogenobacter*, *Hydrogenophaga*, *Xanthobacter*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Bacillus*, *Streptomyces* и др. Как водородные могут рассматриваться и некоторые серобактерии (*T. denitrificans*), некоторые пурпурные бактерии (виды родов *Rhodobacter*, *Rhodopseudomonas*, *Chromatium*).

Окисление водородными бактериями H_2 может обеспечивать все энергетические потребности клеток и в аэробных условиях соответствует следующему уравнению:

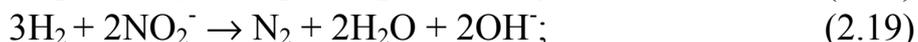
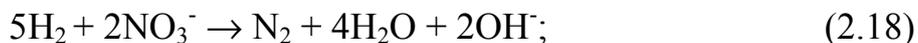


Кроме того, молекулярный водород служит исходным донором электронов для ассимиляции CO_2 и других биосинтетических реакций, имеющих восстановительный характер, например при фиксации N_2 . Поэтому, в растущих культу-

рах водородных бактерий, как рассчитано для *Alcaligenes eutrophus*, потребление клетками H_2 , CO_2 и O_2 с образованием биомассы (CH_2O) близко к следующему уравнению:



В анаэробных условиях, когда конечными акцепторами электронов служат нитраты или закись азота, итог их восстановления при окислении бактериями H_2 выглядит таким образом:



Способность водородных бактерий использовать H_2 , как и у других организмов, определяется наличием ферментов, носящих название *гидрогеназ*. Они катализируют как окисление H_2 , так и его образование:



Образование водородными бактериями гидрогеназ часто коррелирует с возможностью ассимиляции ими CO_2 по автотрофному пути. У большинства водородных бактерий этот процесс идет через цикл Кальвина.

Для некоторых водородных бактерий показано, что они могут одновременно использовать органические соединения, а также H_2 и CO_2 , т.е. проявляют способность к миксотрофии. Во многих случаях органические вещества, которые могут обеспечивать рост водородных бактерий и как источники энергии, и как основные источники углерода, используются предпочтительнее, чем H_2 и CO_2 .

Переключение водородных бактерий с хемолитоавтотрофии на хемоорганогетеротрофию может быть связано с репрессирующим действием органических веществ на синтез гидрогеназ, а также с ингибированием активности этих ферментов. Во многих случаях органические вещества снижают способность водородных бактерий к автотрофной фиксации CO_2 , а иногда она подавляется полностью.

Экологическая роль и практическое значение водородных бактерий. Водородные бактерии присутствуют в разных почвах и во многих водоемах, преимущественно пресных. Термофильные виды, относящиеся к родам *Bacillus*, *Hydrogenobacter* и *Calderobacterium*, растут в горячих источниках. Отмечены водородные бактерии в компостах и сточных водах, где активно идет разложение органических веществ. Водородные бактерии, как и серобактерии, обнаружены в трофосомах погонофор (*Riftia pachyptila*). Обнаружено присутствие водородных бактерий в микробных матах, основным компонентом которых являются цианобактерии, способные выделять не только O_2 , но и H_2 .

Большинство водородных бактерий являются нейтрофилами и растут при значениях pH 6,0 - 8,0, есть ацидофилы, для которых предпочтительным является диапазон pH 2,5 - 5,0.

Водородные бактерии давно привлекают к себе внимание в связи с рядом проблем практического значения:

1) как продуценты кормового белка; отобраны штаммы бактерий и созданы установки для их выращивания, это позволяет быстро получать высокие концентрации биомассы с содержанием до 70% белка;

2) как продуценты поли-β-гидроксибутирата. Это соединение можно использовать в медицинской, пищевой и других видах промышленности для получения пленок, пакетов, бутылей и т.д.

3) изучается целесообразность использования водородных бактерий как продуцентов полисахаридов и некоторых аминокислот;

4) водородные бактерии могут быть источником некоторых практически важных ферментов, прежде всего гидрогеназ, представляющих интерес как заменители платины и других благородных металлов в топливных элементах.

Важным аспектом изучения водородных бактерий является выяснение возможности их использования в изолированных системах (космических кораблях, подводных лодках и т.д.) для удаления из воздуха CO₂ и утилизации других отходов с регенерацией H₂O и получения дополнительной пищи в виде образуемой биомассы.

Советуем обратить внимание!

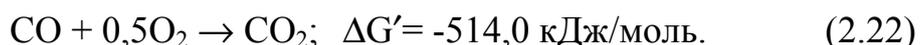
Понятие	Определение	Что это значит
Водородные бактерии		
Аэробные и анаэробные водородные бактерии		
Гидрогеназы		
Экологическая роль водородных бактерий		

2.2.1.4. Карбоксидобактерии

Синонимы: СО-окисляющие бактерии, СО-использующие бактерии, карбокситрофные бактерии, карбокситрофы

К этой физиологической группе относится ряд аэробных и анаэробных бактерий, использующих СО (угарный газ) как источник углерода и энергии. Большинство этих микроорганизмов помимо СО окисляют молекулярный водород (H₂). К карбоксидобактериям относят представителей следующих родов: *Alcaligenes, Acinetobacter, Pseudomonas, Rhizobium, Azotobacter, Azomonas, Arthrobacter, Bacillus, Streptomyces* и др.

Окисление карбоксидобактериями СО в аэробных условиях соответствует следующему уравнению:



С учетом образующейся биомассы (CH₂O), использование оксида углерода, по расчетам для *Pseudomonas carboxydovorans*, выглядит таким образом:



Окисление аэробными карбокситрофами СО с образованием СО₂ катализирует особая дегидрогеназа (СО: акцептор-оксидоредуктаза):



Как видно из уравнения, реакция происходит с участием воды и акцептора электронов (А), природа которого до сих пор не установлена. Известно только, что ни НАД(Ф), ни флавины реакцию не поддерживают. Таким образом, действие СО-дегидрогеназ у карбокситрофных бактерий дает возможность этим микроорганизмам не только получать энергию, необходимую для роста, но и снабжают их углекислотой, используемой для биосинтеза веществ клеток. Есть также данные, что СО-дегидрогеназы обладают гидрогеназной активностью и могут катализировать такую реакцию:



Однако, по всей видимости, использование карбокситрофами молекулярного водорода в качестве окисляемого субстрата зависит от присутствия особого фермента, т.е. гидрогеназы.

Синтез АТФ у карбокситрофов связан с функционированием электрон-транспортной цепи (ЭТЦ), которая наиболее исследована у *Ps. carboxydovorans*. По имеющимся данным, ЭТЦ этой бактерии разветвлена. В том случае, когда рост культур происходит в присутствии органических веществ, в их окислении могут участвовать НАД-зависимые дегидрогеназы, а терминальной оксидазой служит цитохром a_1 . При окислении *Ps. carboxydovorans* СО или H_2 , электроны поступают в ЭТЦ скорее всего на уровне цитохромов. Возможно, что акцептором электронов, который взаимодействует с СО-дегидрогеназой, у *Ps. carboxydovorans* является цитохром ν -561. Полагают также, что в случае окисления *Ps. carboxydovorans* СО терминальной оксидазой служит цитохром ν -563, который проявляет значительно большую устойчивость к оксиду углерода, чем цитохром a_1 .

При росте в хемолитоавтотрофных условиях в присутствии СО карбоксидобактерии в качестве источника углерода используют CO_2 , которую ассимилируют через цикл Кальвина.

Экологическая роль и практическое значение карбоксидобактерий. СО относится к следовым газам, загрязняющим атмосферу. Основным источником оксида углерода являются автомобильный транспорт и промышленные предприятия. Кроме того, имеются природные источники СО: фотохимическое окисление метана в тропосфере, вулканические газы, лесные пожары, а также различные организмы.

Образование оксида углерода происходит при распаде порфиринов, флавоноидов, серина и некоторых других органических веществ. К числу организмов, выделяющих в значительном количестве СО, принадлежат гемолитические стрептококки, некоторые грибы и водоросли. В небольшом количестве СО образуют высшие растения и животные.

Микроорганизмы, окисляющие СО в присутствии молекулярного кислорода, обнаруживаются во многих почвах и разных водоемах. Легко можно выделить их из загрязненных почв городов, а также некоторых сточных вод.

В практическом отношении карбоксидобактерии интересны:

1) в плане использования таких микроорганизмов для очистки среды от СО, токсичного для большинства живых организмов;

2) как возможные продуценты белка и других практически важных продуктов на основе использования H_2 без предварительной очистки его от CO .

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
Карбоксидобактерии		
Дыхательная цепь карбоксидобактерий		
Экологическая роль карбоксидобактерий		

2.2.2. Анаэробные хемолитоавтотрофные бактерии

Строго анаэробные хемолитоавтотрофы представлены следующими физиологическими группами бактерий:

- 1) *Сульфатвосстанавливающие бактерии* (или сульфатредукторы) подробно рассмотрены в п. 4.2. пособия;
- 2) *Серовосстанавливающие бактерии* (или сероредукторы) подробно рассмотрены в п. 4.3. пособия;
- 3) *Гомоацетатные бактерии*;
- 4) *Метанобразующие бактерии* (или метаногены).

2.2.2.1. Гомоацетатные бактерии

Синонимы: ацетогенные, гомоацетогенные, гомоацетогены

Гомоацетатные бактерии - физиологическая группа облигатно анаэробных микроорганизмов, использующих углекислый газ как конечный акцептор электронов и образующих ацетат согласно реакции:



Донором электронов у хемолитоавтотрофных гомоацетогенов является молекулярный водород. Показано, что ряд гомоацетатных бактерий способен к росту на CO_2 как на единственном источнике углерода и энергии. Ключевыми ферментами при синтезе ацетата у этих бактерий является *CO-дегидрогеназа*, *форматдегидрогеназа* и *гидрогеназа*. Представители этой группы могут также использовать для роста C_1 -соединения (метанол, формиат, окись углерода) и ряд органических соединений, прежде всего углеводы, жирные кислоты, этанол.

К гомоацетатным бактериям относятся различные в таксономическом отношении организмы, принадлежащие к родам *Clostridium*, *Acetobacterium*, *Acetoanaerobium*, *Acetogenium*, *Eubacterium*, *Sporomusa* и др. Среди них имеются мезофильные и термофильные виды. Гомоацетатные бактерии входят в более обширную в видовом отношении группу ацетогенов, у которых в ряде случаев помимо ацетата конечными продуктами могут быть H_2 , CO_2 , формиат, бутират, пропионат и др.

При росте гомоацетатных бактерий в хемоорганогетеротрофных условиях на средах, содержащих сахара́ и ряд других органических веществ, они осуще-

ствляют брожение этих субстратов с образованием ацетата. Так, гомоацетатная бактерия *Clostridium thermoaceticum* осуществляет брожение глюкозы с образованием трех молекул уксусной кислоты:



Из трех молекул уксусной кислоты две получаются из пирувата, а одна - из CO_2 . Смысл образования ацетата из CO_2 в процессе брожения глюкозы (и др. соединений) состоит, очевидно, в том, что оно обеспечивает окисление субстрата и синтез АТФ. Подобным же путем происходит синтез ацетата из CO_2 и у других гомоацетатных бактерий (*C. formicoaceticum*, *Peptostreptococcus productus*, *Acetobacterium woodii*).

У хемолитоавтотрофных гомоацетатных бактерий, использующих в качестве донора электронов молекулярный водород, в этом процессе участвует гидрогеназа, которая катализирует окисление H_2 . При этом синтез ацетата происходит из двух свободных молекул CO_2 .

Уникальность хемолитоавтотрофных гомоацетатных бактерий состоит в том, что ни восстановительный пентозофосфатный цикл Кальвина, ни восстановительный цикл трикарбоновых кислот не действуют при ассимиляции CO_2 . Фиксация углекислого газа у них происходит нециклическим путем, и первым продуктом фиксации клеточного углерода является ацетил-КоА. Литотрофные ацетогены получают АТФ при восстановлении углекислоты водородом в ацетат при участии тетрагидрофолатных ферментов. Такой же путь фиксации CO_2 функционирует у других анаэробных бактерий - метаногенов (см. п. 2.2.2.2) и сульфатредукторов (см. п. 4.2).

Экологическая роль гомоацетатных бактерий. Гомоацетогены, способные к литотрофному росту на $H_2 + CO_2$ широко распространены в природе. Источником выделения таких бактерий служат сточные воды, осадки из метантенков, образцы ила пресных и соленых водоемов, почвы, гидротермы. Кроме того, гомоацетогенные бактерии обнаружены в рубце жвачных животных (*Eubacterium limosum*), в кишечнике ряда животных, в том числе крыс, кроликов, морских свинок, дельфинов, а также человека. В значительном количестве такие бактерии присутствуют в кишечнике термитов и тараканов, где активно идет разложение целлюлозы под действием других симбионтных микроорганизмов. В числе гомоацетогенов, найденных у термитов, обнаружен новый вид *Sporomusa termitida*.

Гомоацетатные хемолитоавтотрофные бактерии участвуют в круговороте углерода в природе, а также в процессе утилизации H_2 , образующегося в анаэробных условиях в результате разложения разных органических веществ.

Имеются данные, что гомоацетатные бактерии нередко образуют ассоциации с метанобразующими прокариотами и другими микроорганизмами. Ацетат, образуемый гомоацетогенами, может обеспечивать рост бактерий, которые способны его использовать. Кроме того, гомоацетатные бактерии проявляют способность разлагать некоторые органические вещества (возможно, даже ацетат) с выделением H_2 и CO_2 . Но такой процесс возможен лишь при условии, если парциальное давление H_2 в среде остается очень низким. В природных усло-

виях это достигается его быстрым окислением другими микроорганизмами, поэтому разложение ряда органических веществ гомоацетогенами возможно только в *синтрофной ассоциации* с другими водородокисляющими видами. Например, в синтрофных анаэробных системах, состоящих из метаногенов, сульфатредукторов и гомоацетогенов, H_2 играет ключевую роль в регуляции жизнедеятельности всего сообщества. Сульфатвосстанавливающие бактерии, имеющие большее сродство к молекулярному водороду, являются наиболее конкурентноспособными. При удалении H_2 из системы благодаря наличию гидрогеназы становится возможным образование с помощью гомоацетогенных бактерий в качестве конечного продукта ацетата, который затем используется для синтеза метана (CH_4) метаногенами.

В настоящее время ассоциации анаэробов, растущие на CO , CO_2 и H_2 , рассматриваются в качестве возможных продуцентов уксусной кислоты в промышленных масштабах.

Советуем обратить внимание!

<i>Понятие</i>	<i>Определение</i>	<i>Что это значит</i>
Гомоацетатные бактерии		
Ацетил-КоА-путь фиксации CO_2		
Синтрофные ассоциации		
Экологическая роль карбоксидобактерий		

2.2.2.2. Метанобразующие бактерии

Синоним: метаногены

Метанобразующие бактерии представляют собой достаточно большую и разнообразную физиологическую группу анаэробных прокариот, процесс образования метана для которых сопряжен с получением энергии. Среди них отмечены хемоавтотрофы и хемогетеротрофы. Многие штаммы - облигатные или факультативные автотрофы. Способны восстанавливать молекулярную серу до сульфида, однако эта реакция, по-видимому, не связана с ростом. Некоторые виды фиксируют атмосферный азот.

Метанобразующие бактерии относятся к архебактериям. По морфологии и трофическим потребностям они делятся на три группы:

- 1) метаногены, использующие в качестве источника углерода и энергии $H_2 + CO_2$, формиат или $H_2 +$ метанол; к ним относятся рода: *Methanobacterium*, *Methanobrevibacter*, *Methanosphaera*, *Methanothermus*;
- 2) метаногены, использующие в качестве источника углерода и энергии $H_2 + CO_2$, формиат или спирты + CO_2 ; к ним относятся рода: *Methanococcus*,

Methanocorpusculum, *Methanoculleus*, *Methanogenium*, *Methanolacinia*, *Methanomicrobium*, *Methanoplanus*, *Methanospirillum*;

3) метаногены, использующие в качестве субстрата для роста триметиламин или ацетат; к ним относятся рода: *Methanococcoides*, *Methanohalophilus*, *Methanlobus*, *Methanosarcina*, *Methanotherix*.

Отличие метаногенов от других организмов состоит в том, что все метаногены - это строго анаэробные микроорганизмы, образующие в качестве основного продукта метаболизма метан.

Наиболее универсальным источником углерода и энергии для большинства метанобразующих бактерий (а для некоторых - единственным источником) является газовая смесь $H_2 + CO_2$:



В этой реакции молекулярный водород служит только в качестве источника энергии или электронов. Источником протонов при образовании метана, как показано, является вода.

Следующим по распространенности у метаногенов источником углерода и энергии служит формиат:

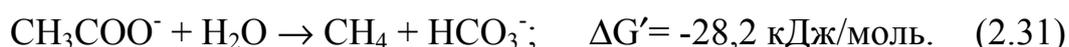


Считается, что на первом этапе формиат превращается в CO_2 и H_2 , а затем CO_2 восстанавливается до CH_4 . Есть и другая точка зрения, согласно которой формиат может восстанавливаться до CH_4 без предварительной дегидрогенизации.

Метанобразующие бактерии могут использовать угарный газ в качестве единственного источника углерода и энергии. CO диспропорционируется до CO_2 и CH_4 в соответствии со следующим уравнением:

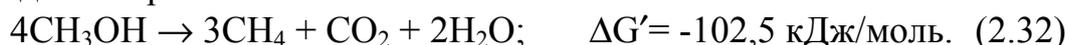


Ряд метаногенов в качестве источника углерода и энергии использует ацетат:



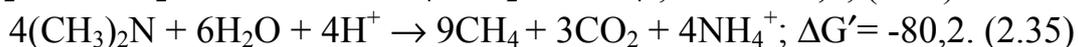
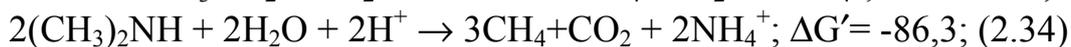
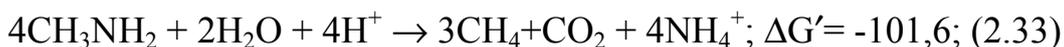
Для некоторых метанобразующих бактерий ацетат является единственным и незаменимым энергетическим и углеродным субстратом. Кроме того, ацетат может выступать в роли ростового фактора для многих метаногенов, использующих H_2 . Представители рода *Methanobrevibacter* требуют для роста значительных количеств ацетата, а *Mbr. ruminantium* синтезирует из ацетата около 60 % углеродсодержащих соединений клетки.

Метанол также может использоваться многими метаногенами в качестве источника углерода и энергии:



Превращение метанола проходит через реакцию дисмутации, в процессе которой одна молекула этого субстрата окисляется до формиата, другая - восстанавливается до CH_4 и H_2 . Формиат и H_2 снова включается в метаболизм бактерий.

Некоторые метаногены способны использовать метиламины как субстраты для роста и метаногенеза (в кДж/моль):



Многие метанобразующие бактерии кроме основных субстратов для роста и метаногенеза требуют введения в среду дополнительных ростовых факторов: дрожжевой экстракт, ацетат, триптиказа, жидкость рубца и метантенка, витамины, микроэлементы (никель, кобальт, молибден, селен, вольфрам).

У некоторых метанобразующих бактерий обнаружена способность продуцировать значительные количества H_2S путем диссимиляционной сероредукции в присутствии S^0 в качестве акцептора электронов и обычных энергетических субстратов (H_2 или метанол).

У метанобразующих бактерий процесс метанообразования сопряжен с синтезом АТФ. У некоторых видов метаногенов (*Methanosarcina barkeri*, *Methanococcus thermolithotrophicus*) обнаружены в качестве переносчиков электронов в ЭТЦ ферредоксин и цитохромы *b* и *c*. Последние обнаружены и у других видов метанобразующих микроорганизмов, способных использовать в качестве энергетических субстратов соединения, содержащие метильную группу (метанол, метилированные амины и ацетат). Бактериальное метанообразование рассматривают как анаэробное дыхание, включающее окислительное фосфорилирование и хемиосмотический процесс.

У хемолитоавтотрофных метаногенов, способных синтезировать все компоненты клеток из CO_2 , фиксация углекислоты происходит по нециклическому ацетил-КоА пути, функционирующему и у ацетогенных бактерий (см. п. 2.2.2.1.), и у сульфатредукторов (см. п. 4.2.). Ключевым промежуточным соединением этого пути является ацетил-КоА, синтезирующийся из двух молекул CO_2 . Одна молекула углекислоты восстанавливается до метанола, вторая - восстанавливается при участии СО-дегидрогеназы до СО. Метильные и карбоксильные группы участвуют в образовании активированной уксусной кислоты. В свою очередь, из ацетил-КоА образуется пируват, из которого через реакции ЦТК или другими путями синтезируются клеточные вещества.

Наряду с CO_2 , автотроф *Methanobacterium thermoautotrophicum* и другие метаногены способны использовать в биосинтетических процессах ацетат. В присутствии H_2 и CO_2 *Mbr. ruminantium* и *Mbr. smithii* растут только при наличии ацетата. При этом примерно 60% углерода в соединениях клеток *Mbr. ruminantium* образуется из ацетата и 40% из углекислоты. Другой автотроф *Mb. thermoautotrophicum* использует обычно ацетат в меньшей степени, чем CO_2 . Экзогенный ацетат в конструктивный метаболизм включается через ацетил-КоА, а далее в серии реакций, функционирующих в восстановительном ЦТК.

Есть данные об использовании метаногенами в биосинтетических процессах пирувата, сукцината и некоторых других соединений углерода, но они ограничены.

Экологическая роль и практическое значение метанобразующих бактерий.

Распространение метаногенов связано с местами, где происходит разложение органических веществ без доступа воздуха. К таковым относятся: болота; донные отложения озер, рек, морей; почвы, осадки бытовых сточных вод; рубец жвачных животных; кишечник рыб и беспозвоночных; мертвая древесина (ксилема) живых деревьев. Показано, что по крайней мере треть человеческой популяции образует метан как конечный продукт кишечной ферментации. Существенным источником биогенного метана оказались термиты. Метаногены найдены в подземных водах и осадочных породах, различных гидротермальных источниках. Описаны метаногены - эндосимбионты анаэробных цилиатов и сапропелевых амёб.

Жизнеспособные клетки метаногенов и современный метаногенез встречаются в бескислородных зонах и микроразнообразиях природных экосистем со значениями окислительно-восстановительного потенциала от - 395 до +170 мВ. Величины рН природных образцов, где обнаружено бактериальное метанобразование, были в пределах 3,0 - 11,0; температура - от 4°C до 97°C и даже до 250°C при давлении 265 атм в пробах из гидротермальных источников. Метаногены и метаногенез выявлены в пластовых жидкостях нефтяных месторождений с минерализацией до 170 г/л, микробное метанобразование наблюдалось в илах озер с соленостью придонных вод более 200 г/л.

Жизнеспособные клетки метанобразующих бактерий в океанических осадках обнаружены до глубины 2 м, а в осадках Каспийского моря и Калифорнийского залива - до глубины 12 м. Методом радиоизотопов современный микробиологический метаногенез в осадках Каспийского моря прослеживается до глубины 114 м.

Самые многочисленные популяции метаногенов - 10^7 кл/мл встречаются в осадках бытовых сточных вод, а также в содержимом рубца и кишечника. В иловых отложениях пресноводных озер - от 10^2 до 10^4 кл/мл, в морских осадках - 10^2 - 10^3 кл/мл.

Поскольку главным экологическим фактором, определяющим развитие метаногенов, является наличие в среде H_2 , в природе существуют *ассоциации между водородвыделяющими и метанообразующими бактериями*. Метаногены растут в комплексе с такими водородобразующими видами, как *Ruminococcus albus*, *R. flavefaciens*, *Selenomonas ruminantium*, *Clostridium cellulosum*, некоторыми сульфатредукторами и другими бактериями. Примером такой микробной ассоциации может служить микробоценоз рубца жвачных животных, обеспечивающий разложение целлюлозы, пектина и др. органических соединений.

В результате деятельности метаногенов образуется $(5,3 - 10,0) \cdot 10^8$ т метана в год, что составляет более 65% от общей его продукции. Таким образом, очевидно, что данные микроорганизмы играют основную роль в образовании CH_4 в природных условиях и составляют важнейшее звено в анаэробном разложении органических веществ на конечном этапе (см. п. 2.3), а также в геохимическом цикле углерода.

В практическом отношении метанообразующие бактерии интересны:

1) как продуценты витамина В₁₂; накопительная культура термофильных метаногенов, применяемая для промышленного брожения отходов ацетонобутиловых и спиртовых производств, синтезирует до 4000 мкг витамина В₁₂ на 1 г сухой биомассы;

2) получение газообразного топлива - биогаза (содержит 50 - 70% СН₄) путем сбраживания метаногенами бытовых, промышленных, сельскохозяйственных и др. отходов; одновременно решается проблема утилизации отходов и предохранения окружающей среды от загрязнения органическими веществами различного происхождения; кроме того, образующийся в процессе ферментации осадок, обогащенный соединениями азота, фосфора и микроэлементами, используется как органическое удобрение;

3) возможно применение метанобразующих бактерий для разработки микробиологического метода повышения нефтеотдачи пластов.

Советуем обратить внимание!

<i>Понятие</i>	<i>Определение</i>	<i>Что это значит</i>
Метанобразующие бактерии		
Ацетил-КоА-путь фиксации СО ₂		
Ассоциации водородвыделяющих и метанобразующих бактерий		
Экологическая роль метаногенов		

2.3. Минерализация органического вещества

В предыдущих главах мы рассказали о том, что микроорганизмы способны создавать органическое вещество из неорганических соединений в процессах фото- и хемосинтеза, т.е. в экосистемах могут играть роль первичных продуцентов. Однако, если рассматривать эту проблему глобально, вклад бактерий в образование органического вещества даже за счет этих двух процессов не так значителен, как, например, у зеленых растений за счет одного процесса фотосинтеза. Тем не менее, в другой роли - в роли редуцентов (деструкторов, минерализаторов) органических соединений естественного или искусственного происхождения микроорганизмам нет равных. Обусловлено это следующими характерными особенностями: во-первых, бактерии разлагают в аэробных условиях все классы органических соединений, такой способности нет у эукариотических гетеротрофов, за исключением некоторых грибов; во-вторых, бактерии минерализуют органические вещества в анаэробных условиях.

Следующие главы посвящены деструкции органического вещества в природе в результате деятельности некоторых физиологических групп микроорганизмов.

2.3.1. Углеводородоокисляющие бактерии

Синоним: нефтеокисляющие бактерии

Эта физиологическая группа прокариот способна разлагать сырую нефть и ее составляющие - углеводороды как *алифатического*, так и *ароматического* ряда. Микроорганизмы по сути являются единственной группой организмов, многие представители которой обладают высокой активностью усвоения углеводородов.

К настоящему времени известно свыше 1000 штаммов углеводородоокисляющих бактерий: бактерии, дрожжи, мицелиальные грибы. Из бактериальных родов наиболее известны: *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Micrococcus*, *Bacillus* и др.

Коронелли и др. показали, что в природных углеводородоокисляющих бактериоценозах, формирующихся в хронически загрязненных нефтью водах свыше 90 % составляют родококки. В водах с низким уровнем загрязнения и в водах, содержащих много бытовых сбросов, количество родококков ниже – 60 - 80%. На основании вышеизложенного авторы делают вывод, что количество бактерий рода *Rhodococcus* тем выше, чем более загрязнена нефтью экосистема - от полного отсутствия в чистой акватории до почти 100%-ного в сильно загрязненной. Так, в незагрязненных водах Мексиканского залива родококки полностью отсутствовали, а углеводородоокисляющий ценоз состоял почти полностью из представителей рода *Pseudomonas*.

Ведущая роль родококков в загрязненных экосистемах связана:

- 1) с высокой способностью этих бактерий к окислению углеводородов, удельная углеводородоокисляющая активность родококков в 70 раз превышает таковую у псевдомонад;
- 2) с феноменальной устойчивостью к неблагоприятным факторам внешней среды; выживаемость родококков под действием солнечного УФ, при низкой температуре и в условиях полного голодания значительно выше, чем у других бактерий, использующих углеводороды.

Считается, что бактерии родов Rhodococcus и Pseudomonas являются основными компонентами углеводородоокисляющих ценозов водных экосистем, а третье место принадлежит роду Arthrobacter.

Нефтеокисляющая микрофлора обладает различным набором углеводороддеградирующих ферментов, а сам процесс минерализации нефти является многостадийным и требует ассоциации различных видов микроорганизмов, члены которой вступают между собой в очень сложные и далеко еще не выясненные взаимоотношения. При этом роль групп бактерий, дрожжей, мицелиальных грибов и их видов на различных стадиях окисления углеводородов различна. В экспериментальных условиях в смешанных культурах наблюдалась сукцессия микробных популяций, изменение численности отдельных видов, смена доминирующих видов.

Микробиологическая деградация нефти. Самоочищение природных сред (почвы и воды) от нефтяного загрязнения обеспечивается комплексом физико-химических и биологических превращений нефти.

Выделяют два типа биохимического окисления углеводородов микроорганизмами:

- 1) трансформация углеводородов в обычные промежуточные продукты, используемые для построения клеточного вещества, при этом микроорганизмы способны утилизировать их как единственный источник углерода и энергии;
- 2) превращение углеводородов в промежуточные продукты, которые не усваиваются микробной клеткой, либо используются не полностью как ростовой субстрат, либо являются более токсичными.

В процессе разложения нефти микроорганизмами можно выделить следующие стадии:

- 1) прямой контакт углеводородов с поверхностью клетки;
- 2) поглощение путем пассивной диффузии и растворение углеводорода в липидных структурах клетки;
- 3) внутриклеточное окисление с воздействием ферментных систем на углеводороды.

Механизмы окисления углеводородов различных классов отличаются. Окисление *n*-алканов или неразветвленных парафинов с прямой цепью атомов углерода осуществляется гетеротрофными бактериями (за исключением метанооксиляющих), распространенными повсеместно. Они являются обычным компонентом незагрязненных экосистем, и этим определяется высокая способность последних к самоочищению при попадании нефти. Окисление парафинов могут выполнять сапротрофные микобактерии и родственные им формы, ряд видов псевдомонад, некоторые роды дрожжей и мицелиальных грибов.

Превращение *n*-алканов происходит следующим образом: субстрат → первичные спирты → альдегиды → жирные кислоты → β- (реже α-) окисление.

Окисление ароматических углеводородов идет очень медленно, особенно это касается полиароматических соединений. Проникая в клетку, ароматические вещества могут нарушать проницаемость мембран, блокируют некоторые ферменты, т.е. действуют как клеточные яды. Несмотря на их высокую токсичность, существуют микроорганизмы, способные их расщеплять. Это представители родов *Nocardia*, *Pseudomonas* и некоторые грибы.

Огромная роль в утилизации ароматических соединений принадлежит процессам соокисления, но при неполном окислении в среде могут накапливаться более токсичные и даже мутагенные продукты. Считается, что окисление ароматических углеводородов не является свойством рода или вида микроорганизмов, это штаммовый признак.

Адаптироваться бактериям к условиям хронического загрязнения помогают *плазмиды* (внехромосомные факторы наследственности). Так, из загрязненных нефтью районов плазмиды обнаружены у 21% штаммов морских бактерий, выделенных из сырой нефти как единственном источнике углерода, и у 17%

штаммов, выделенных на полиароматических углеводородах. 50% плазмидсодержащих штаммов имели несколько плазмид и поэтому обладали способностью утилизировать большее разнообразие углеводородов нефти.

Факторы, ограничивающие микробиологическую деградацию нефти:

1. Низкая концентрация биогенных элементов - N, P, Fe.

2. Низкая концентрация кислорода. Процесс окисления углеводородов нефти - аэробный. Для окисления 1 мг углеводородов необходимо 3,0 - 3,7 мг O₂. Кислород является лимитирующим фактором в анаэробных зонах и часто в донных осадках.

3. Низкая температура. Процесс деструкции нефти при температуре ниже 5°C происходит крайне медленно, а загрязнение бассейнов с низкой среднегодовой температурой особенно опасно. Известны термофильные и термотолерантные микроорганизмы, ассимилирующие углеводороды.

4. Высокое гидростатическое давление замедляет разложение углеводородов микроорганизмами. В донных осадках на глубинах при низких температурах нефть сохраняется длительное время. Барофильные (выдерживающие высокое гидростатическое давление) нефтеокисляющие бактерии неизвестны.

Экологические последствия деградации нефти микроорганизмами. Могут быть благоприятные и отрицательные.

Микроорганизмы играют значительную роль в минерализации углеводородов нефти. Например, доля окисления нефти морскими бактериями в среднем составляет 50 - 60% с колебаниями от 20 до 98% в зависимости от экологических условий.

Кроме того, углеводородокисляющие микроорганизмы, выделяя прижизненно и поставляя в среду после отмирания много разнообразных органических веществ, стимулируют в зонах своего массового развития размножение других гетеротрофных микроорганизмов.

Из отрицательных последствий можно выделить следующие:

1) интенсивное потребление кислорода в зонах развития углеводородокисляющих микроорганизмов, которое лимитирует развитие других аэробов;

2) возможное накопление продуктов неполного разложения ароматических углеводородов, обладающих токсичным и мутагенным действием;

3) изменение микробоценоза и развитие микроорганизмов, таксономически близких к патогенам *Mycobacterium tuberculosis* (палочка Коха; возбудитель туберкулеза), *M. leprae* (возбудитель лепры или проказы), *Corynebacterium diphtheriae* (возбудитель дифтерии), *Candida albicans* (возбудитель кандидозов различной локализации), *Pseudomonas aeruginosa* (синегнойная палочка; возбудитель гнойничковых поражений).

Экологическая роль углеводородокисляющих микроорганизмов. В последние годы, когда разливы нефти, вызываемые катастрофами танкеров, авариями при добыче нефти, при разгерметизации нефтепроводов, приняли угрожающие размеры и приносят огромный урон, проведено значительное количество исследований по разработке физико-химических и биологических способов борьбы с очагами этого загрязнения. Биологические методы можно разделить на две

группы: метод стимулирования природного углеводородокисляющего микробценоза и метод внесения (*интродукции*) микроорганизмов-деструкторов нефти извне. В обоих случаях углеводороды нефти деградируют до CO₂ и H₂O. Для интродукции в нефтезагрязненные почвы и водоемы используют углеводородокисляющие бактерии с высокой активностью оксигеназного ферментного комплекса - *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*. Согласно работам Ившиной и др., интродукция в нефтезагрязненную почву родококков (*R. erythropolis* и *R. ruber*) - активных деструкторов алифатических и ароматических углеводородов стимулирует процесс деградации нефти на 20 - 25%.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
Минерализация (деструкция) органического вещества		
Углеводородокисляющие бактерии		
Алифатические углеводороды		
Ароматические углеводороды		
Деградация нефти		
Плазмиды		
Интродукция микроорганизмов		
Экологическая роль углеводородокисляющих бактерий		

2.3.2. Целлюлозоразлагающие бактерии

Синонимы: целлюлозоразрушающие; целлюлозные; целлюлозолитики

Целлюлозоразлагающие бактерии являются физиологической группой микроорганизмов, способных использовать целлюлозу в качестве единственного источника углерода и энергии. К наиболее известным родам целлюлозоразлагающих бактерий относятся: аэробные - *Cellulomonas*, *Cellvibrio*, *Cytophaga*, *Sporocytophaga*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Polyangium*, *Sporangium*, *Archangium* и др.; анаэробные - *Clostridium*, *Acetovibrio*, *Anaerocellum*, *Bacteroides*, *Butyrivibrio*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Micromonospora* и др.

В настоящее время известны представители около 50 родов целлюлозоразлагающих грибов. Среди них преобладают роды: *Penicillum*, *Aspergillum*, *Fusarium*, *Cladosporium*.

Целлюлоза, составляющая в среднем 40% массы сухих растений, - одно из самых распространенных веществ в природе. Представляет собой полисахарид, в котором цепочки β-D-глюкозы соединены между собой гликозидной связью (1 - 4). Линейные макромолекулы целлюлозы связаны между собой водородными связями. В растительных клетках молекулы целлюлозы объединены в пучки-мицеллы, которые образуют микрофибриллы, соединенные в свою очередь в макрофибриллы. Воск и пектин, входящие в состав природных целлюлозных волокон, придают им еще большую прочность и устойчивость к хими-

ческим агентам. Несмотря на то, что целлюлоза является достаточно инертным материалом к разного рода воздействиям, целлюлозоразлагающие бактерии тем не менее способны использовать этот полимер в качестве единственного источника углерода и энергии за счет сложной ферментной системы - *целлюлазы*.

В аэробных условиях целлюлоза микроорганизмами разлагается с образованием CO_2 , воды и биомассы. При этом некоторые бактерии выделяют в среду сахара и летучие жирные кислоты.

В анаэробных условиях целлюлоза разлагается в большинстве случаев до ацетата, CO_2 и H_2 . Кроме того, синтезируются формиат, этанол, лактат, бутират, пропионат, сукцинат и пируват. Эти вещества служат субстратом для других анаэробных бактерий, принимающих участие в разложении органического вещества на его терминальных этапах. Таким образом, разложение целлюлозы в природе является многоступенчатым процессом.

Экология целлюлозоразлагающих бактерий и интенсивность разложения целлюлозы в природе. Среди целлюлозоразлагающих бактерий встречаются аэробные и анаэробные виды, которые широко распространены в почвах, пресных и соленых водах, донных осадках, обнаруживаются также в компосте и рубце животных. Жизнеспособные клетки встречаются при значениях окислительно-восстановительного потенциала от - 300 до +580 мВ, при значениях рН 2 - 9 с оптимумом в области рН 6 - 8. В процессе роста бактерии этой физиологической группы снижают рН среды до значений 4 - 5 за счет образования значительных количеств органических кислот, тем самым способны подавлять развитие других микроорганизмов.

Температура имеет большое значение для развития целлюлозоразлагающих бактерий. Оптимумы развития мезофильных форм находятся при 28 - 37°C. При температурах 50°C развиваются термофилы, оптимумы развития которых составляют 58 - 75°C. Активное разложение целлюлозы наблюдается при низких температурах 2 - 4°C, характерных для глубоководных осадков морей и океанов.

Максимальная численность целлюлозоразлагающих бактерий в водной толще пресных водоемов достигает 10^5 кл/мл, морей - 10^3 кл/мл и зависит от времени года. В донных осадках пресных и соленых водоемов содержание целлюлозоразлагающих бактерий на несколько порядков выше, чем в водной толще. Этому способствует концентрация целлюлозы и *биогенных элементов* в осадках. Содержание аэробных видов в илах достигает 2 - 10^5 кл/мл сырого ила, анаэробных - 10^6 кл/мл сырого ила.

Большое количество жизнеспособных клеток аэробных и анаэробных целлюлозоразлагающих бактерий выявляется на листьях и стеблях макрофитов. Их численность достигает 10^6 кл/г растений.

Определение скорости разложения целлюлозы в водной толще различных водоемов показывает, что этот процесс активно идет в *фотической зоне*, где синтезируется целлюлоза фитопланктоном, а также в *хемоклине*, где концентрируется взвесь. Показано, что скорость разложения целлюлозы положительно коррелирует с численностью целлюлозоразлагающих бактерий и заметно сни-

жается с повышением солености и концентрации O_2 , понижением температуры, концентрации целлюлозы и биогенных элементов. Так, было подсчитано, что за сутки в аэробных условиях разлагается 0,12 - 1,30%, а в анаэробных - 0,47 - 0,60% целлюлозы. Наибольшая скорость данного процесса (до 1,30%) выявлена в рыбных прудах.

Целлюлозоразлагающий биоценоз. В деградации целлюлозы в природе участвуют не только целлюлозоразлагающие бактерии, но и представители других физиологических групп микроорганизмов. Поэтому говорят о *целлюлозоразлагающем биоценозе*.

На первых этапах разложения целлюлозы участвуют целлюлозоразрушающие бактерии, имеющие сложную ферментную систему - целлюлазу для разложения инертного к разного рода воздействиям природного материала - целлюлозы. В аэробных условиях основным продуктом разложения целлюлозы является CO_2 , в бескислородных условиях разложение целлюлозы - многоступенчатый процесс, анаэробные целлюлозоразлагающие бактерии образуют разнообразный набор веществ - глюкозу, жирные кислоты, CO_2 и H_2 . Эти соединения служат субстратом для различных физиологических групп микроорганизмов, в том числе для метанобразующих и сульфатовосстанавливающих бактерий. Конечными продуктами разложения целлюлозы в анаэробных условиях являются газообразные соединения: CH_4 , CO_2 , H_2 , H_2S , которые могут мигрировать из мест функционирования целлюлозоразлагающего биоценоза.

В целлюлозоразлагающем биоценозе существуют тесные метаболические взаимоотношения, которые влияют на протекание процесса разложения целлюлозы. Снижение концентрации продуктов деградации целлюлозы благоприятствует развитию самих целлюлозоразрушающих бактерий.

Роль целлюлозоразлагающих бактерий в природе. Разложение целлюлозы является крупнейшим процессом в круговороте углерода в природе. Известно, что большая часть ассимилированного в фотосинтезе углерода CO_2 стабилизируется в молекулах целлюлозы, входящей в состав клеточных стенок растений. Поэтому для постоянного круговорота углерода в природе необходим непрерывный процесс разложения целлюлозы до низкомолекулярных соединений, который осуществляют аэробные и анаэробные целлюлозоразрушающие бактерии. До 51% углерода разложившейся целлюлозы приходится на долю CO_2 , который вновь возвращается в атмосферу и может быть использован в процессе фотосинтеза. Обилие целлюлозы в природных экосистемах определяет важное значение бактерий этой физиологической группы в круговоротах углерода и кислорода. Несомненно также влияние этих бактерий на деятельность микроорганизмов круговорота серы и азота.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
Целлюлозоразлагающие бактерии		

Целлюлоза		
Целлюлаза		
Биогенные элементы		
Целлюлозоразлагающий биоценоз		
Экологическая роль целлюлозоразлагающих бактерий		

*
* *

Органическое вещество может разлагаться и в аэробных, и в анаэробных условиях. К этому причастны гетеротрофные прокариоты различных таксономических и физиологических групп.

Минерализация органических соединений автохтонного и аллохтонного происхождения в аэробных и микроаэробных условиях при участии аэробных и факультативно анаэробных гетеротрофных бактерий происходит с образованием, главным образом биомассы и низкомолекулярных соединений - CO_2 , H_2O , NH_3 , H_2S и т.д.

Анаэробная биodeградация органических соединений происходит в три-четыре последовательных этапа (см. рис. 2.3).

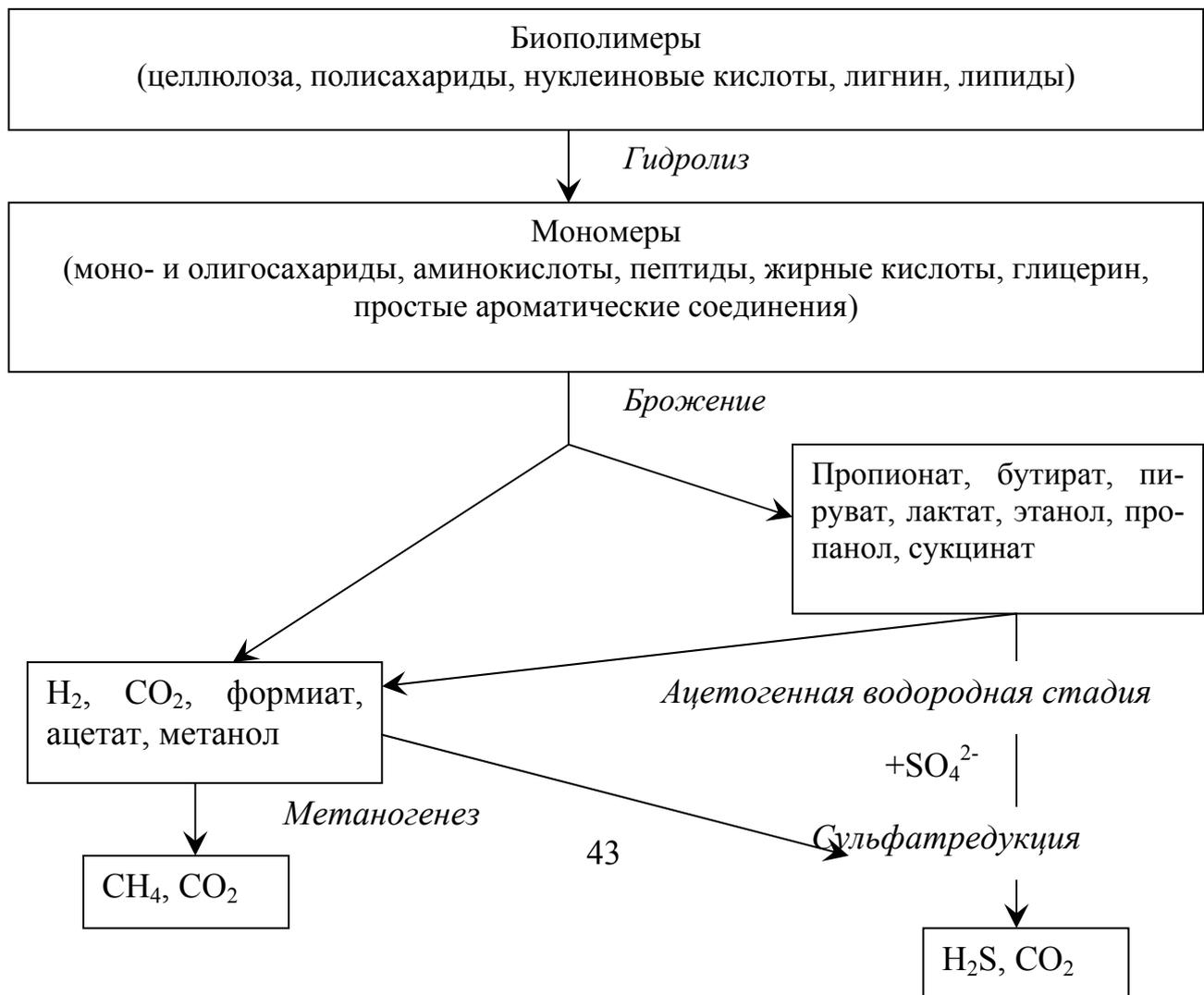


Рис. 2.3. Процессы анаэробного разложения органического вещества в природе (по С.И. Кузнецову, Г.А. Дубининой, 1989)

Начальной стадией разрушения полимерных органических веществ является их гидролиз до мономеров - насыщенных органических кислот и спиртов. К анаэробным бактериям, осуществляющим этот процесс в природе, относятся, например, некоторые представители рода *Clostridium*, которые воздействуют на такие высокомолекулярные соединения, как белки, углеводы и пр. Особенно важное значение имеет анаэробная деградация целлюлозы, которая в огромных количествах образуется растениями - до $5,0 \cdot 10^{10}$ т ежегодно.

На втором этапе действуют микроорганизмы, сбразивающие образованные на первой стадии органические кислоты и спирты с продуцированием, главным образом, летучих жирных кислот и H_2 . Среди микроорганизмов, осуществляющих такой процесс, существует несколько специализированных групп бактерий, различающихся по продуктам брожения. К ним относятся ацетогенные бактерии, включающие более узкоспециализированную группу, осуществляющую гомоацетатное брожение, маслянокислые и молочнокислые бактерии, метаногены. В результате сбразивания органического вещества в большинстве случаев происходит образование молекулярного водорода (ацетогены и метаногены не выделяют H_2). Так, выделение H_2 обнаружено у некоторых сульфатредукторов в отсутствие сульфатов в среде при окислении пирувата, лактата, формиата и этанола. У многих фототрофов (пурпурных, зеленых, цианобактерий) выделение H_2 происходит как в процессе фотосинтеза, так и в ходе темного метаболизма.

На третьей, ацетогенной или водородной стадии, различные восстановленные продукты брожения превращаются в ацетат, H_2 и CO_2 при участии главным образом ацетогенных бактерий.

На четвертой, последней, стадии анаэробной деструкции органических веществ ряд продуктов брожения при участии высокоспециализированных групп метаногенов и сульфатредукторов расходуется с образованием метана (CH_4) и сероводорода (H_2S), соответственно. Между сульфатредукторами и метанобразующими бактериями могут складываться разные взаимоотношения. С одной стороны, иногда в результате деятельности сульфатредукторов выделяется H_2 и/или ацетат, обеспечивающие рост метаногенов. С другой - сульфатредукторы составляют конкуренцию для метаногенов за органический субстрат, поскольку в энергетическом отношении восстановление сульфатов более выгодно, чем образование метана. В результате, образование CH_4 нередко начинается после использования SO_4^{2-} сульфатредукторами.

2.4. Круговорот углерода и кислорода

Круговорот углерода - основной геохимический цикл на планете, обеспечивающий стабильность углерод - кислородной системы Земли (рис. 2.4).

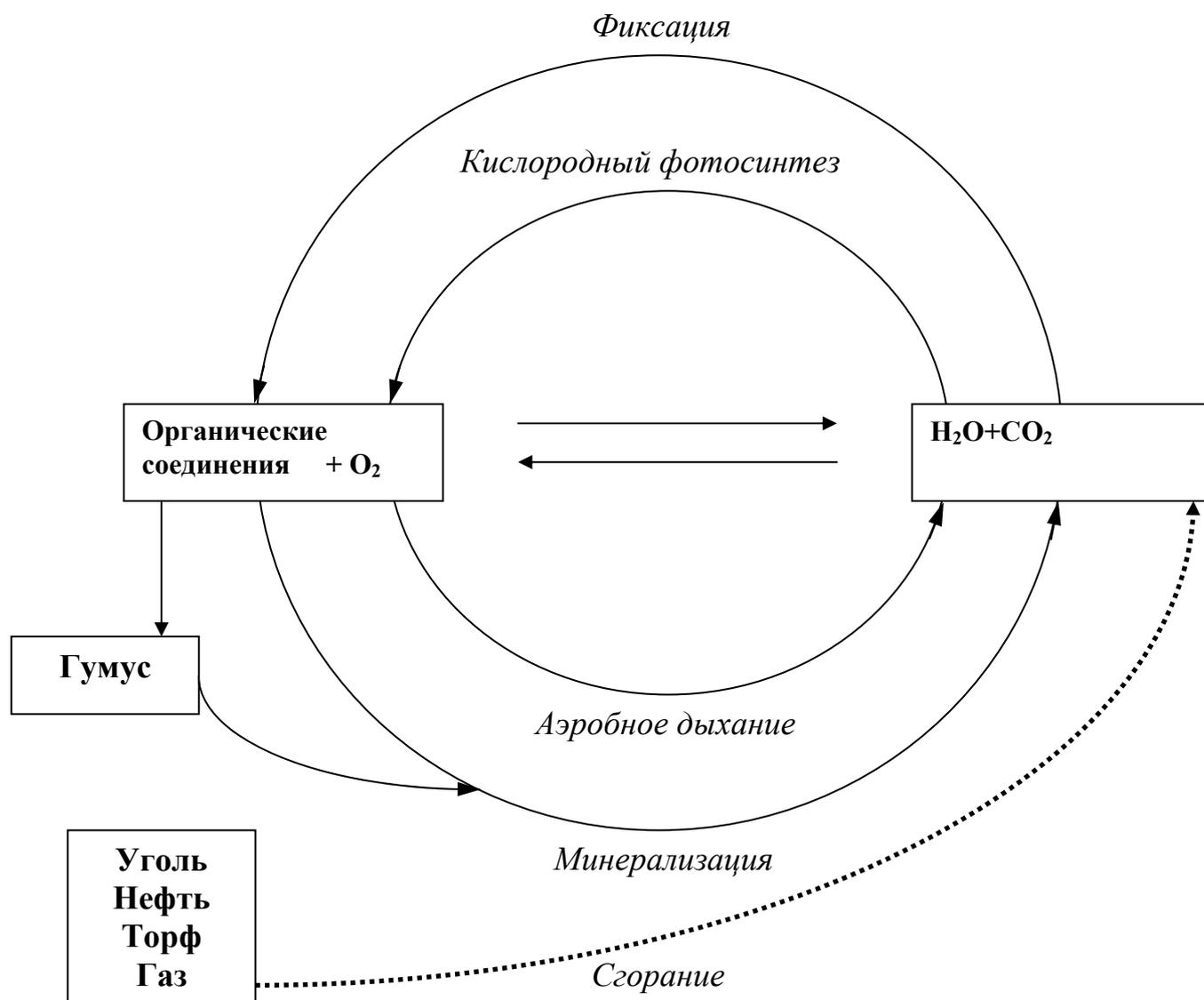


Рис. 2.4. Схема биологического цикла углерода и кислорода
(по К.А. Лукомской, 1987)

Углерод - основной строительный элемент, входящий в состав всех органических соединений. В цикле углерода, объединяющем в единый круговорот все живые организмы, можно выделить два важнейших звена, имеющих планетарные масштабы и связанных с выделением и поглощением кислорода:

1) фиксация CO₂ из атмосферы и восстановление его до уровня органических веществ клетки в процессах фото- и хемосинтеза; кислородный фотосинтез растений и некоторых прокариот идет с выделением O₂;

2) минерализация органических веществ с выделением CO_2 и затратой O_2 , осуществляемая различными физиологическими группами микроорганизмов.

В результате этих процессов происходит возврат углекислого газа в атмосферу, что и определяет содержание этого газа в ней на одном, хотя и минимальном уровне (0,03%).

Из CO_2 создается вся первичная органическая продукция, которая составляет по разным оценкам от $33 \cdot 10^8$ до $80 \cdot 10^9$ т в расчете на углерод. Биологическое связывание углекислого газа происходит в процессах фотосинтеза (см. п. 2.1), хемосинтеза (см. п. 2.2) и гетеротрофной фиксации. Последняя представляет собой *гетеротрофную ассимиляцию* - присоединение CO_2 к готовым углеродным субстратам. Считается, что более 10% углерода биомассы гетеротрофных микроорганизмов может быть из CO_2 . Основная масса первичной продукции представлена различными соединениями растительного происхождения. В состав этих соединений входят растворимые в воде вещества (сахара, органические кислоты, спирты), слабо растворимые (гемицеллюлоза), нерастворимые (крахмал, пектин, целлюлоза, воска, жиры, смолы, углеводороды) и особо труднорастворимое вещество - лигнин. По массе из вышеперечисленных веществ в растениях преобладают целлюлоза, гемицеллюлоза и лигнин.

Минерализация органического вещества происходит и в аэробных, и в анаэробных условиях (см. п. 2.3), в конечном итоге процесс идет до простых соединений - CO_2 , H_2O , NH_3 , H_2S , CH_4 и др.

Часть углерода на нашей планете закреплена в форме, не участвующей в круговороте. Это так называемый *условно захороненный углерод* гумуса почвы, горючих сланцев, известняка, торфа, нефти, газа и каменного угля. Без вовлечения этого углерода в хозяйственную сферу деятельности человека он полностью оказался бы изъятым из геохимического цикла углерода. Добыча горючих ископаемых привела к быстрой минерализации этих запасов, их сжигание сопровождается выделением CO_2 , который вступает в круговорот углерода. К тому же, нефть, торф и газ, извлеченные из недр Земли, в аэробных условиях становятся доступными для микробного разложения. Гумус почвы тоже разрушается почвенными микроорганизмами и вовлекается в круговорот углерода. Постепенно включается в общий геохимический цикл и углерод горючих сланцев и известняков, подвергающихся выветриванию.

Параллельно процессам трансформации углеродсодержащих веществ осуществляется и цикл трансформации кислорода.

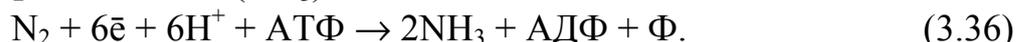
Кислород - самый распространенный химический элемент на Земле: он составляет по массе большую часть гидросферы в составе воды (~ 86%), почти половину минералов литосферы (47%) и в свободном состоянии находится в атмосфере (~ 23%). Его наличие в воздухе определяет все основные химические реакции на поверхности нашей планеты. В биомассе живых организмов содержится около 70% кислорода в составе всех важнейших макромолекул клетки - белков, жиров, углеводов, нуклеиновых кислот и т.п.

O₂ выделяется в процессе оксигенного фотосинтеза растений, цианобактерий и прохлорофит, а процессы минерализации органических веществ, наоборот, протекают с поглощением кислорода из атмосферы и включением его в состав различных соединений. Кислород также тратится на процессы дыхания аэробных организмов и сжигания ископаемого топлива.

Глава 3. Физиологические процессы микроорганизмов круговорота азота

3.1. Азотфиксация: биохимические реакции и микроорганизмы, способные к этому процессу

Использовать запасы молекулярного азота (N₂), содержащиеся в большом количестве в атмосфере (78,1% по объему), способны только прокариоты, в процессе осуществления *азотфиксации*, которая заключается в связывании и восстановлении N₂ до аммиака (NH₃):



Способность прокариот к ассимиляции молекулярного азота обусловлена действием ферментного комплекса - *нитрогеназы* и происходит с затратой энергии в форме АТФ. Помимо азотфиксации, нитрогеназа катализирует энергозависимую реакцию образования молекулярного водорода (H₂):



Этой способностью к образованию свободного H₂ обладают многие азотфиксаторы.

Связывать молекулярный азот прокариоты могут либо самостоятельно (свободноживущие и ассоциативные азотфиксаторы), либо в симбиозе с высшими растениями (симбиотические азотфиксаторы).

Свободноживущие азотфиксаторы. К ним принадлежат представители самых различных физиологических групп аэробных и анаэробных бактерий. В анаэробных условиях в фиксации азота участвуют представители родов *Clostridium*, *Azospirillum*, *Bacillus*; сульфатвосстанавливающие бактерии родов *Desulfovibrio* и *Desulfotomaculum*; энтеробактерии *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Ervinia herbicola*; некоторые пурпурные серные бактерии; пурпурные несерные бактерии - рода *Rhodospirillum*; некоторые зеленые серобактерии; очень многие цианобактерии - роды *Anabaena*, *Zyngbia*, *Nostoc*, *Oscillatoria*; гелиобактерии роды *Heliobacterium* и *Heliobacillus*. В аэробных условиях особенно эффективно связывают азот виды рода *Azotobacter* (около 20 мг N₂/г использованного углеродного субстрата).

Фиксация азота свободноживущими цианобактериями также имеет существенное значение. Например, на рисовых полях они связывают 30 – 50 кг N₂ на 1 га в год. Цианобактерии одни из первых заселяют бедные почвы. Их можно

встретить в самых экстремальных местообитаниях - и в Антарктиде при температурах, близких к точке замерзания, и в горячих источниках. Существуют цианобактерии либо самостоятельно, либо в симбиозе с грибами, формируя лишайники. Во внутренних водоемах и в некоторых областях океана ежегодно наблюдается массовое развитие цианобактерий, так называемое «цветение воды».

Симбиотические азотфиксаторы. Традиционно главное внимание ученых в этой области привлекает классический союз между клубеньковыми бактериями рода *Rhizobium* с бобовыми растениями. Инвазия бактериями корневых волосков у растения приводит к образованию вздутий на корнях - клубеньков, хорошо заметных невооруженным глазом. Такой эволюционно сложившийся союз взаимовыгоден обоим партнерам. Так, бактерии (а внутри клубенька - *бактероиды* - клетки неправильной формы) взяли на себя функцию фиксации N_2 и поставки связанного азота для конструктивного метаболизма растения - хозяина. Считается, что около 95% связанного азота переходит в виде ионов аммония (NH_4^+) в цитоплазму растения-хозяина, который, в свою очередь, снабжает бактериоиды органическими веществами (углеводами) и высокоэнергетическими соединениями, а также обеспечивает условия для функционирования чувствительного к кислороду нитрогеназного комплекса. В целом, это создает для симбиотических азотфиксаторов оптимальные условия существования.

Метаболическая связь между растениями-хозяевами и симбиотическими азотфиксаторами глубокая и физиологически отрегулированная. Так, молекулярный азот фиксируют только те клубеньки, в которых имеется пигмент *леггемоглобин*. Образование данного соединения - это специфический результат симбиоза: растение-хозяин синтезирует *апогемоглобин* (белок без простетической группы), а бактерии синтезируют простетическую группу - *гем*. Этот пигмент обладает высоким сродством к кислороду. Его физиологическая роль заключается, во-первых, в снабжении бактериоидов достаточным количеством кислорода для роста и получения энергии в процессе кислородного дыхания и, во-вторых, в связывании избытка O_2 , неблагоприятного для активной работы фермента нитрогеназы.

У некоторых растений, не относящихся к бобовым, тоже имеются корневые клубеньки, способные к фиксации N_2 . В случае эндосимбионтов чаще всего у таких растений выступают актиномицеты рода *Frankia*. Растениями-хозяевами могут быть как древесные, так и травянистые растения. Они широко распространены и первыми поселяются в тех местах, где почва бедна азотом. Накопление азота в почве при участии таких растений может достигать 150 - 300 кг на 1 га в год и имеет, поэтому, большое хозяйственное значение. К растениям, наиболее эффективно связывающим азот, относятся ольха, облепиха и другие, менее эффективны в этом отношении восковица и лох.

Цианобактерии тоже могут быть фиксирующими азот партнерами в симбиозе с высшими растениями. Например, у водного папоротника *Azolla* цианобактерии *Anabaena azollae* содержатся в полостях листьев. *Azolla* растет на поверхности затопленных рисовых полей и может при надлежащей агротехнике

полностью удовлетворить потребность риса в азоте. Накопление азота в почве в результате симбиоза *Anabaena azollae* с *Azolla* составляет около 300 кг на 1 га в год. Сходный симбиоз наблюдается между печеночниками (*Blasia pusilla*, *Anthoceros punctatus*, *Peltigera*) и цианобактериями рода *Nostoc*.

Ассоциативная азотфиксация. Явление повышенной микробной азотфиксирующей активности на поверхности подземных (*ризосфера*) и надземных (*филлосфера*) органов растений получило название *ассоциативной азотфиксации*. Необходимо подчеркнуть, что речь идет не о симбиотических взаимоотношениях бактерий-азотфиксаторов с растениями, подобных классическому союзу бактерий рода *Rhizobium* с бобовыми растениями, а о концентрировании свободноживущих азотфиксаторов в области ризосферы и филлосферы растений различных таксономических рангов. Так, доля азотфиксаторов в ризосфере злаковых трав составляет в среднем около 65%, а в почве, удаленной от корней, - лишь около 23%.

Эти экологические ниши имеют необходимое энергетическое обеспечение для бактерий в виде органических и минеральных соединений. Кроме того, в области ризосферы создаются условия, способствующие активизации нитрогеназы - пониженное парциальное давление O_2 , постоянный дефицит легкодоступных соединений азота, повышенная влажность и температура и т.п. Было отмечено, что добавление в почву легко ассимилируемых соединений углерода сильно и быстро стимулирует азотфиксацию, причем этот эффект характерен для всех типов почв, вне зависимости от их свойств. Следовательно, азотфиксирующий генофонд почв достаточно богат, а деятельность гетеротрофных азотфиксирующих бактерий в них лимитирована главным образом недостатком легкодоступного энергетического субстрата (например, углеводов). Особенно высокого уровня ассоциативная азотфиксация достигает в ризосфере растений тропической зоны. Например, в хорошо окультуренных почвах под рисом азотфиксация протекает в среднем со скоростью 45 – 80 кг N_2 /га/год и даже 92 – 330 кг N_2 /га/мес.

Филлосфера - вторая экологическая ниша на поверхности растений, где может осуществляться ассоциативная азотфиксация. Благоприятствующими условиями для активной фиксации азота в филлосфере является высокое соотношение $C : N$, поддерживаемое за счет выделения органических соединений, главным образом углеводов и органических кислот, наличие влаги и сравнительно небольшие колебания температуры на поверхности листьев и стеблей за счет процесса транспирации. Отмечено, что высокого уровня ассоциативная азотфиксация достигает в филлосфере мхов - до 6 - 64 кг N_2 /га/год.

Помимо хорошо известных - азотобактера, клостридий, клубеньковых бактерий - способность к ассоциативной азотфиксации обнаружена у представителей многих других родов бактерий: *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Corynebacterium*, *Derxia*, *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, *Vibrio* и др.

В последние годы появились сообщения о приуроченности определенных видов азотфиксирующих микроорганизмов к ризосфере различных травяни-

стых растений. Такие азотфиксирующие системы было предложено называть «ассоциативными симбиозами». Считается, что азотфиксация в таких системах протекает с высокой скоростью. Одна из наиболее известных ризосферных ассоциаций между тропическим злаком *Paspalum notatum* и *Azotobacter paspali* может фиксировать в год до 90 кг N₂/га. В ризосфере маиса, сорго, риса, пшеницы и тропических пастбищных злаков широко распространены бактерии *Azospirillum*; в ризосфере сахарного тростника - бактерии рода *Beijerinckia*.

Экологическая роль азотфиксации. Итак, азотфиксация - это один из важнейших природных процессов, в результате которого огромные воздушные запасы газообразного неорганического азота превращаются биологическим путем в связанную форму, которая используется в конструктивном метаболизме прокариот (свободноживущие азотфиксаторы), прокариот и растений (симбиотические азотфиксаторы). Далее азот передается по трофической цепи в экосистеме, при осуществлении следующих ступеней его круговорота в природе. Поскольку запасы молекулярного азота атмосферы могут использоваться только рядом прокариотических организмов, и только они делают доступным его для эукариотических организмов, можно говорить о важном экологическом значении (снабжении биосферы одним из важнейших биогенных элементов) этого физиологического процесса микроорганизмов в природе.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
Азотфиксация		
Нитрогеназный комплекс		
Свободноживущие азотфиксаторы		
Симбиотические азотфиксаторы		
Ассоциативная азотфиксация		
Экологическая роль Азотфиксации		

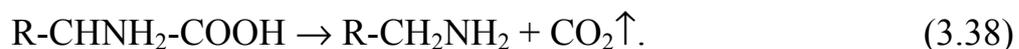
3.2. Аммонификация

Процесс распада азотсодержащих органических веществ (аминокислот, пептидов, белков и т.п.), сопровождающийся выделением аммиака и солей аммония в окружающую среду, получил название *аммонификации*.

Использование в качестве источника углерода и энергии аминокислот и белков требует от микроорганизмов соответствующего набора ферментов. Белки сначала вне клетки расщепляются протеолитическими ферментами, катализирующими разрыв определенных пептидных связей, на отдельные фрагменты - пептиды, которые затем поглощаются клеткой и расщепляются внутриклеточными протеолитическими ферментами до отдельных аминокислот. Дальнейшее их превращение проходит по двум направлениям: 1) аминокислоты непосредственно используются в конструктивном метаболизме для

построения белков, т.е. без изменения химического строения самих аминокислот; 2) аминокислоты используются в энергетическом метаболизме бактерий, т.е. процесс сопровождается изменением структуры аминокислот. В последнем случае аминокислоты подвергаются декарбоксилированию или дезаминированию.

При декарбоксилировании аминокислот образуется CO_2 и первичные амины:



Наиболее известны из первичных аминов путресцин, кадаверин и агматин, возникающие в результате декарбоксилирования орнитина, лизина и аргинина при анаэробном разложении белка, соответственно.

Процесс дезаминирования аминокислоты состоит в отщеплении аминокруппы, приводящем к выделению в окружающую среду аммиака (аммонификация). *Окислительное* дезаминирование - наиболее распространенный тип распада аминокислот, состоит в окислительном преобразовании аминокислот. Например, при участии молекулярного кислорода:



или с помощью НАД-зависимых дегидрогеназ:



Может происходить и *гидролитическое* дезаминирование:



При дезаминировании некоторых аминокислот (аланина, аспарагиновой, глутаминовой аминокислот) образуются α -кетокислоты (пировиноградная, α -кетоглутаровая, щавелевоуксусная), принадлежащие к числу промежуточных продуктов клеточного метаболизма. Большинство же возникающих при этом органических кислот подвергаются сначала предварительным превращениям, которые приводят к появлению соединений, способных прямо включаться в основные катаболические пути клетки.

Для бактерий - аммонификаторов характерно использование широкого круга органических соединений, в том числе сахаров, органических кислот, которые, как правило, они предпочитают белкам. Форм, приспособленных к использованию только белков, немного. Группа бактерий, которая использует в качестве источника углерода только белки, представлена в основном грамположительными споровыми палочками, входящими в состав р. *Bacillus* (например, *B. subtilis*, *B. megaterium*). Из бесспоровых форм в группу аммонификаторов входят представители родов *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Mycobacterium*, *Proteus*.

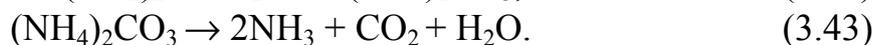
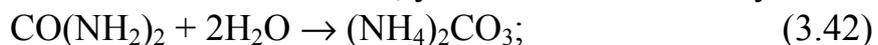
В процессе аммонификации белков в природе принимают участие различные группы микроорганизмов, постепенно сменяющие друг друга. В аэробных условиях аммонификацию белков начинают неспорообразующие бактерии, относящиеся к родам *Micrococcus*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Mycobacterium* и плесневые грибы. На смену им приходят различные виды бактерий рода *Bacillus*. На завершающих этапах в процессе аэробной аммонификации включаются актиномицеты. В анаэробных условиях процесс аммонификации ведут бактерии рода *Clostridium* (*Cl. sporogenes*, *Cl. cadaveris*, *Cl. paraputrificum* и др.).

Процесс аммонификации сложных белков включает первоначальное расщепление молекул на основные компоненты - белок и простетическую группу. Дальнейшая аммонификация белков осуществляется согласно вышеописанной схеме.

Аммонификация нуклеиновых кислот (ДНК, РНК) начинается с гидролитического расщепления их на мононуклеотиды при участии ферментов дезоксирибонуклеазы и рибонуклеазы. Далее от мононуклеотида отщепляется сначала остаток фосфорной кислоты, затем сахар. Образовавшиеся азотсодержащие основания разлагаются до мочевины и аминокислот, а последние в конечном итоге - до аммиака и органических кислот. Отщепленные от мононуклеотидов сахара в аэробных условиях окисляются до конечных продуктов CO_2 и H_2O , а в анаэробных условиях подвергаются медленному сбраживанию.

Дезаминированию могут подвергаться и органические азотсодержащие вещества небелковой природы, такие, как мочевина, мочевая и гиппуровая кислоты, входящие в состав мочи человека и животных. Мочевина является одним из продуктов жизнедеятельности грибов и образуется при гидролитическом распаде аргинина. Многие микроорганизмы способны использовать мочевину в качестве источника азота для синтеза собственных белков.

Под действием фермента *уреазы*, выделяемой микроорганизмами, происходит гидролиз мочевины с образованием углекислого аммония, который тотчас же разлагается на составные компоненты - аммиак, углекислый газ и воду:



Бактерии, разлагающие мочевину, получили название *уробактерий*. К ним относятся *Sporosarcina ureae*, *Micrococcus ureae* и др. Специфической чертой уробактерий является их способность развиваться в щелочной среде при значении рН 9 - 10, т.е. они являются *алкалофилами*.

Экологическая роль аммонификации. Процесс аммонификации в быту известен как «гниение», поскольку при этом происходит накопление продуктов, обладающих неприятным запахом: сероводорода, метилмеркаптана, первичных аминов, известных под названием «трупных ядов». Роль гнилостных бактерий в природе огромна. Доля белка в тканях умерших животных и растений велика, и аммонификаторы осуществляют минерализацию белков, разлагают их в конечном итоге до CO_2 , NH_3 , H_2S , выступая в роли редуцентов в экосистеме.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
Аммонификация		
Протеолитические ферменты		
Декарбоксилирование		
Дезаминирование		
Уреаза		
Уробактерии		
Экологическая роль аммонификации		

3.3. Автотрофная и гетеротрофная нитрификация

Под *нитрификацией* понимают биологическое превращение минеральных и органических соединений азота из восстановленного состояния в более окисленное.

Впервые чистые культуры нитрифицирующих бактерий получил С.Н. Виноградский в 1892 году, установивший их *хемолитоавтотрофную* природу. В 9-м издании Определителя бактерий Берги все нитрифицирующие бактерии выделены в семейство *Nitrobacteriaceae* и разделены на две группы - *аммонийокисляющие* и *нитритокисляющие* - в зависимости от того, какую фазу процесса окисления восстановленных соединений азота они осуществляют.

Первая фаза - окисление солей аммония до солей азотистой кислоты (нитритов). Ее осуществляют аммонийокисляющие бактерии (роды *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrosolobus* и др.):



NH_4^+ переносится через ЦПМ с помощью медьсодержащей *транслоказы* и поглощается клеткой. При окислении аммиака до нитрита атом азота теряет 6 электронов. Предполагается, что на первом этапе аммиак окисляется до гидроксиламина с помощью *монооксигеназы*, катализирующей присоединение к молекуле аммиака одного атома O_2 ; второй взаимодействует, вероятно, с НАД· H_2 , что приводит к образованию H_2O :



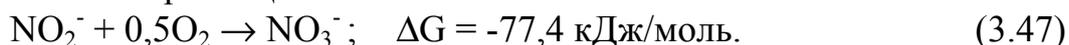
Гидроксиламин далее ферментативно окисляется до нитрита:



Электроны от NH_2OH поступают в дыхательную цепь на уровне цитохрома *c* и далее на терминальную оксидазу. Их транспорт сопровождается переносом двух протонов через мембрану, приводящим к созданию протонного градиента, энергия которого тратится на синтез АТФ.

Вторую фазу - окисление нитритов до нитратов осуществляют нитритокисляющие бактерии, относящиеся к родам *Nitrobacter*, *Nitrococcus* и др. Процесс

катализируется молибденсодержащим ферментом *нитритоксидазой* и локализован на внутренней стороне ЦПМ:



Электроны от NO_2^- поступают в дыхательную цепь на цитохром *a₁* и через цитохром *c* на терминальную оксидазу *aa₃*, где акцептируются молекулярным кислородом. Данный процесс сопровождается синтезом АТФ.

Все нитрифицирующие бактерии - грамотрицательные облигатные аэробы; некоторые виды - микроаэрофилы. Оптимальное значение рН среды для роста - 7,0 - 8,0. Большинство - облигатные автотрофы, рост которых ингибируется органическими соединениями в концентрациях, 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 - CO_2 . Только для некоторых штаммов рода *Nitrobacter* показана способность к медленному росту в среде с органическими соединениями в качестве источника углерода и энергии. Например, *Nitrobacter winogradskyi* способен использовать добавленный к минеральной среде ацетат для синтеза некоторых веществ клетки (белков, поли- β -гидроксibuтирата).

Многие хемоорганотрофные бактерии, принадлежащие к родам *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas* и др. способны окислять аммиак, гидроксилламин и другие восстановленные соединения азота до нитритов и нитратов. Процесс нитрификации хемоорганотрофных бактерий не приводит к получению энергии. Изучение природы этого процесса, получившего название *гетеротрофной нитрификации*, показало, что, возможно, он связан с разрушением образуемого бактериями пероксида водорода (H_2O_2) с помощью фермента *пероксидазы*. Образующийся при этом активный кислород окисляет NH_3 до NO_3^- . Скорость нитрификации у гетеротрофных бактерий в 10^3 - 10^4 раз меньше, чем у автотрофных.

Экологическая роль нитрификации. Нитрифицирующие бактерии являются самой распространенной группой хемолитоавтотрофных микроорганизмов в природе, что связано с наличием восстановленных форм азота в различных экосистемах - в почвах, рыхлых горных породах, термальных источниках, морской и пресной воде, в илах и т.п. Наиболее широко распространены аммонийокисляющие микроорганизмы, так как они могут использовать дополнительные источники энергии окисления CH_4 и CO , возможно, и NO_2^- как акцептор электронов.

Процесс нитрификации, являясь важным звеном в круговороте азота в природе, имеет как положительные, так и отрицательные стороны. Перевод азота из аммонийной формы в нитратную способствует обеднению почвы азотом. Это происходит в силу целого ряда причин. Во-первых, нитриты и нитраты легко вымываются из почвы. Во-вторых, продукты нитрификации восстанавливаются денитрификаторами (см. п. 3.4.) до газообразных продуктов азота - NO , N_2 . Кроме того, в условиях низкого окислительно-восстановительного потенциала в результате нитрификации образуется закись азота (N_2O). В связи с этим

появилась тенденция к ограничению нитрификации в почвах сельскохозяйственных угодий. Ведутся поиски веществ, способных специфически подавлять рост нитрифицирующих бактерий и служить своего рода «стабилизаторами» почвенного азота. В то же время, нитраты хорошо используются растениями в качестве источника азота. Связанное с нитрификацией подкисление почвы улучшает растворимость минералов (соли магния, кальция, железа и фосфорной кислоты) и, следовательно, повышают доступность некоторых жизненно необходимых элементов (биогенов), в первую очередь фосфора и железа.

Нитрифицирующие бактерии косвенно участвуют в разрушении разного рода сооружений, для которых строительным материалом служат известь и цемент (т.е. различных зданий, автострад и т.п.). Это связано с тем, что нитрификаторы окисляют аммиак, присутствующий в атмосфере или выделяющийся из фекалий животных, до азотной кислоты, известной своими «агрессивными» свойствами.

Практическое применение нитрифицирующих бактерий в настоящее время ограничено. Им принадлежит большая роль в аэробной очистке сточных вод. Предпринимаются попытки их использования в процессе обогащения полезных ископаемых.

Советуем обратить внимание!

<i>Понятие</i>	<i>Определение</i>	<i>Что это значит</i>
Автотрофная нитрификация		
Хемолитотрофы		
Аммонийокисляющие бактерии		
Нитритокисляющие бактерии		
Гетеротрофная нитрификация		
Хемоорганотрофы		
Биогенные элементы		
Экологическая роль нитрификации		

**3.4. Восстановление соединений азота
(нитратное дыхание, денитрификация,
ассимиляционная нитратредукция)**

Микроорганизмы восстанавливают нитрат для двух целей. Во-первых, подобно большинству растений, многие бактерии способны извлекать из данного процесса азот для синтеза азотсодержащих клеточных компонентов. Такая *ассимиляционная нитратредукция* может протекать и в аэробных и в анаэробных условиях. Во-вторых, возможна также *диссимиляционная нитратредукция*, или *нитратное дыхание*, при этом нитрат в анаэробных условиях служит конечным акцептором электронов. В обоих случаях нитрат восстанавливается с помощью молибденсодержащего фермента *нитратредуктазы*.

Итак, процесс восстановления нитрата до нитрита в системе энергетического метаболизма получил название *нитратного дыхания*, широко распространен среди эубактерий и обнаружен у представителей более 70 родов.

Значительно меньше бактерий, способных восстанавливать нитраты или нитриты до молекулярного азота (N₂):



Промежуточные продукты - окись азота (NO) и закись азота (N₂O) - газы.

Процесс восстановления NO₃⁻ или NO₂⁻ до какой-либо из газообразных форм азота получил название *денитрификации*. Значение процесса состоит в получении энергии в форме АТФ в анаэробных условиях. Денитрификацию способны осуществлять только прокариоты. «Полная» (NO₃⁻ или NO₂⁻ → N₂) и «усеченная» (NO₃⁻ → N₂O; N₂O или NO → N₂) денитрификация обнаружена у эубактерий, принадлежащих ко всем основным физиологическим группам: фототрофам и хемотрофам, грамположительным и грамотрицательным факультативным анаэробам. В наибольшей степени способность к денитрификации распространена у бактерий родов *Bacillus* и *Pseudomonas*.

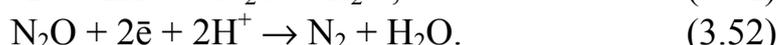
Все денитрификаторы - факультативные анаэробы, переключающиеся на денитрификацию только в отсутствие O₂, поэтому, вероятно, их приспособление к анаэробным условиям вторичного происхождения. Способность к денитрификации развилась после формирования механизмов использования O₂ как конечного акцептора электронов. Первым шагом на пути вторичного приспособления к анаэробным условиям явилось развитие нитратного дыхания. Следующий шаг - совершенствование способности использовать нитраты для акцептирования электронов в дыхательной цепи - привел к возникновению денитрификации.

Процесс денитрификации состоит из четырех восстановительных этапов, каждый из которых катализируется специфической, связанной с мембраной редуктазой. Нитратредуктазы всех денитрификаторов структурно сходны между собой (содержат Mo-FeS-белки) и катализируют восстановление нитрата до нитрита:



С дыхательной цепью нитратредуктазы сопряжены на уровне цитохрома *v*.

Нитритредуктазы и, вероятно, редуктазы окиси и закиси азота акцептируют электроны на уровне цитохрома *c*, осуществляя следующие реакции:



Большинство денитрификаторов - хемоорганогетеротрофы. Использование в качестве конечного акцептора электронов нитратов позволяет им окислять органические субстраты полностью - до CO₂ и H₂O по обычным катаболическим путям. Переходящий на переносчики водород поступает в дыхательную цепь.

Изменение свободной энергии при окислении одной молекулы глюкозы молекулярным кислородом (ΔG₀' = -2870 кДж/моль) того же порядка, что и окис-

ление 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 процесса окисления глюкозы с участием нитрата сопоставимы с энергетическими возможностями процесса аэробного дыхания.

Очень многие бактерии, способные использовать в качестве источника азота нитраты, должны иметь ферментативную систему для их восстановления, так как в конструктивном метаболизме азот участвует только в восстановленной форме. Восстановление нитрата до аммиака в системе реакций конструктивного метаболизма получило название *ассимиляционной нитратредукции* ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_3$). Аммиак используется для синтеза аминокислот и других азотсодержащих компонентов клетки.

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 зубактерии могут ассимилировать нитрат, но не могут осуществлять денитрификацию. Информация об ассимиляционной нитратредукции и денитрификации закодирована в разных генах.

Экологическая роль денитрификации. Местообитанием денитрификаторов являются пресные и морские водоемы, почвы разного типа, в связи с чем денитрификация широко распространена в природе. В то же время денитрификация имеет отрицательное значение, так как приводит к обеднению почв азотом. Потери азотных удобрений в почвах в результате денитрификации могут составлять от 5 до 80%.

Советуем обратить внимание!

Понятие	Определение	Что это значит
Ассимиляционная нитратредукция		
Диссимиляционная нитратредукция		
Денитрификация		
Нитратредуктаза		
Экологическая роль денитрификации		

3.5. Круговорот азота

Азот - один из главных биогенных элементов, входит в состав структурных белков клетки, ферментов, нуклеиновых кислот, АТФ и т.п. Большие запасы азота на нашей планете представлены его восстановленными и окисленными газообразными формами (N_2 , NH_3 , N_2O , NO , NO_2), которые входят в состав атмосферы Земли. Наибольшую часть атмосферных газов составляет молекулярный азот - 78,1% по объему или 75,6% по массе.

Азот - элемент с переменной валентностью (от -3 до +5), его биогенная миграция в природе связана с окислительными и восстановительными микробиологическими процессами. В геохимическом цикле (рис. 3.5) азот участвует в газообразной форме, в виде минеральных и органических соединений.

Круговорот азота разбивается на несколько основных звеньев, в которых главными агентами выступают микроорганизмы:

- 1) азотфиксация N_2 , сопровождающаяся восстановлением азота;
- 2) разложение органических азотсодержащих соединений – аммонификация - приводит к освобождению азота в форме NH_3 ;
- 3) NH_3 окисляется последовательно до NO_2^- и NO_3^- - нитрификация;
- 4) NO_3^- восстанавливается до N_2 - денитрификация;
- 5) NO_3^- и NH_3 ассимилируются растениями и микроорганизмами и переводятся в органические азотсодержащие вещества.

Все указанные выше процессы превращения соединений азота и физиологические группы микроорганизмов, участвующие в них подробно рассмотрены в главе 3 пособия.

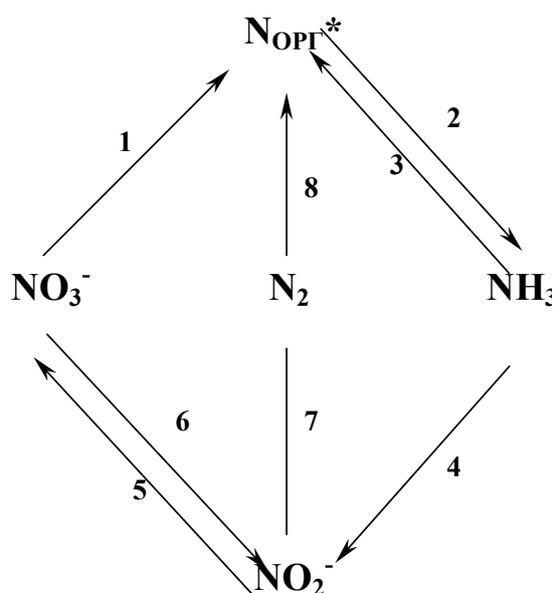


Рис. 3.5. Круговорот азота в природе. 1 - растения и микроорганизмы, ассимилирующие нитраты; 2 - микроорганизмы, разлагающие белки и другие азотсодержащие органические соединения (аммонификаторы); 3 - разные организмы, ассимилирующие аммоний; 4, 5 - нитрифицирующие хемолитоавтотрофные бактерии и гетеротрофные нитрификаторы; 6 - нитратовосстанавливающие бактерии; 7 - денитрифицирующие бактерии; 8 - азотфиксирующие бактерии.

Примечание. $N_{орг}^*$ - азотсодержащие органические соединения животных, растений и микроорганизмов

Азотфиксация - процесс, лимитирующий все остальные звенья цикла азота. Он имеет планетарное значение и по масштабам сопоставим с фотосинтезом. Суммарная годовая продукция азотфиксации в экосистемах составляет 175 - 190 млн. т. При этом, абиогенные процессы связывания азота, идущие в атмосфере (газовые разряды) или в области деятельности человека (работа двигателей внутреннего сгорания), дают всего 0,5% фиксированного азота, 5% азота в форме синтетического аммиака производят заводы азотных удобрений.

Процессу аммонификации подвержены белки и их производные - пептиды и аминокислоты, нуклеиновые кислоты и их дериваты - пуриновые и пиримидиновые основания, мочевины и мочевая кислота, азотсодержащий полисахарид

хитин и гумусовые кислоты. Процесс аммонификации носит универсальный характер и осуществляется многими микроорганизмами в широком диапазоне экологических условий.

Аммиак, образованный в процессе аммонификации, в природе сравнительно быстро окисляется нитрифицирующими бактериями до NO_2^- и NO_3^- . Нитраты, образованные в процессе автотрофной и гетеротрофной нитрификации (см. п. 3.3) в свою очередь могут претерпевать следующие превращения: 1) использоваться растениями и микроорганизмами в процессе ассимиляции; 2) вымываются в водоемы и вызывают их евтрофирование; 3) восстанавливаются до N_2 в результате денитрификации.

Процесс денитрификации осуществляется только прокариотами - представителями многих таксономических и физиологических групп. В природе этот процесс имеет широкие масштабы. В результате денитрификации в атмосферу ежегодно поступает 270 - 330 млн. т N_2 , т.е. этот процесс даже превышает объем азотфиксации. В результате денитрификации происходит восстановление баланса азота в атмосфере и предохранение водоемов от чрезмерного накопления в них нитратов (следовательно - от евтрофизации), вымываемых из почв.

Глава 4. Физиологические процессы микроорганизмов круговорота серы

4.1. Трансформация органических соединений серы и образование H_2S

Для живых организмов сера доступна в основном в форме растворимых сульфатов или в виде восстановленных органических соединений. При *минерализации* органических серосодержащих соединений сера переводится в неорганическую восстановленную форму и выделяется в виде H_2S . В освобождении серы из органических серосодержащих соединений (продукты метаболизма живых организмов, отмершие растительные и животные остатки) принимают участие сапротрофные микроорганизмы, способные к аммонификации (см. п. 3.2.). Такие бактерии называют еще *гнилостными*. При аммонификации серосодержащие белки и нуклеиновые кислоты разлагаются с образованием CO_2 , мочевины, органических кислот, аминов и, что важно для геохимического цикла серы, H_2S и меркаптанов (тиоспирты). Меркаптаны в аэробных условиях также окисляются с выделением H_2S .

Масштабы образования H_2S в процессе разрушения гнилостными бактериями органических серосодержащих соединений определяются величиной первичной продукции органического вещества и наиболее значимы в евтрофированных водоемах с анаэробными условиями.

4.2. Ассимиляционное и диссимиляционное восстановление сульфатов: сульфатвосстанавливающие бактерии

Синонимы: сульфатвосстанавливающие бактерии, сульфатредуцирующие бактерии, сульфатредукторы

Микроорганизмы восстанавливают сульфат для двух целей. Во-первых, подобно большинству растений, многие бактерии способны извлекать из данного процесса серу для синтеза серосодержащих клеточных компонентов. Такая *ассимиляционная сульфатредукция* может протекать и в аэробных, и в анаэробных условиях. Во-вторых, прокариоты способны осуществлять *диссимиляционную сульфатредукцию*, или *сульфатное дыхание*, при этом сульфат в анаэробных условиях служит конечным акцептором электронов.

Бактерии этой физиологической группы осуществляют диссимиляционную сульфатредукцию, т.е. используют сульфаты в качестве акцепторов электронов при окислении различных органических субстратов с образованием сероводорода (H_2S). Среди сульфатвосстанавливающих бактерий обнаружены микроорганизмы, способные к хемоорганогетеротрофии, хемолитогетеротрофии и хемолитоавтотрофии. У многих представителей группы выявлена способность к фиксации N_2 .

Всего известно более 50 видов сульфатредукторов, наиболее известными являются роды: *Desulfovibrio*, *Desulfomicrobium*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacterium*, *Desulfobacter*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfotomaculum*. Среди сульфатвосстанавливающих бактерий обнаружены архебактерии рода *Archeoglobus*.

Все сульфатредуцирующие бактерии - облигатные анаэробы; многие - строгие анаэробы, для их роста требуется не только отсутствие O_2 , но и низкий окислительно-восстановительный потенциал среды. В то же время некоторые штаммы проявляют устойчивость к O_2 и выживают при разной длительности аэрирования среды.

В качестве источника углерода и энергии в процессе восстановления сульфатов бактерии данной физиологической группы используют разнообразные органические субстраты: сахара, спирты, органические кислоты (в том числе жирные кислоты, содержащие до 18 углеродных атомов), аминокислоты, некоторые ароматические соединения. Основным неорганическим источником энергии служит H_2 , при этом возможен либо хемолитоавтотрофный рост с использованием CO_2 в качестве источника углерода, либо хемолитогетеротрофный - с использованием ацетата для биосинтетических целей.

В метаболическом отношении сульфатредукторов делят на следующие группы:

- 1) бактерии, окисляющие органические субстраты до ацетата и CO_2 ;
- 2) бактерии, полностью окисляющие органические вещества до CO_2 ;

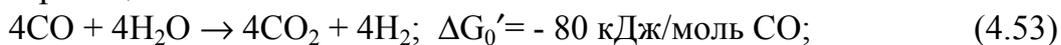
- 3) термофильный штамм VC-16, который относится к архебактериям;
- 4) штамм палочковидных бактерий, способных осуществлять сульфатредукцию при использовании сахаров.

Сульфатвосстанавливающие бактерии могут получать энергию для роста разными способами. Во-первых, некоторые виды растут на средах с органическими субстратами без сульфатов. В этом случае единственным источником энергии служит процесс брожения. Состав продуктов брожения довольно разнообразен. Так, пируват сбрасывается с образованием ацетата, малат - сукцината, пропионата, ацетата. Сахаролитические сульфатредукторы сбрасывают сахара до ацетата, этанола, лактата. Во всех случаях образуются также CO_2 и H_2 .

Во-вторых, диссимиляционная сульфатредукция - специфический способ получения энергии. Конечным акцептором электронов в электронтранспортной (дыхательной) цепи (ЭТЦ) служит сульфат (SO_4^{2-}). Кроме SO_4^{2-} , эту роль могут выполнять и другие соединения серы (тиосульфат, сульфит, молекулярная сера).

В последние годы обнаружена способность ряда сульфатвосстанавливающих бактерий к восстановлению в энергетическом процессе NO_3^- и NO_2^- до NH_4^+ , селената до селенита ($\text{SeO}_4^{2-} \rightarrow \text{SeO}_3^{2-}$), фумарата до сукцината, а также CO_2 .

Некоторые виды могут окислять CO в процессе сульфатредукции, осуществляя следующие реакции:



Для биосинтетических процессов при этом используется ацетат и CO_2 .

Некоторые сульфатвосстанавливающие бактерии способны расти автотрофно в условиях окисления H_2 , сопряженного с восстановлением SO_4^{2-} . Хемолитоавтотрофный рост обнаружен у представителей родов: *Desulfotomaculum*, *Desulfobacterium*, *Desulfobacter*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema*. Ассимиляция CO_2 у разных видов осуществляется по ацетил-КоА-пути или восстановительному ЦТК.

Таким образом, основные способы существования сульфатвосстанавливающих бактерий включают хемоорганотрофию (источники энергии - процессы брожения 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 типа.

Процесс получения энергии в результате сульфатного дыхания состоит из трех этапов:

- 1) отрыв электронов от энергетического субстрата;
- 2) перенос электронов по ЭТЦ;
- 3) присоединение электронов к веществам, функционирующим в качестве конечных акцепторов электронов.

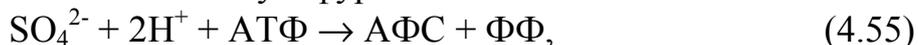
У сульфатредукторов этап отрыва электронов от энергетических субстратов катализируют различные *субстратные дегидрогеназы* (лактат-, пируват-, эта-

нолдегидрогеназы) и гидрогеназы. С помощью этих ферментов электроны передаются в ЭТЦ.

В качестве компонентов ЭТЦ идентифицированы FeS-белки (ферредоксины, рубредоксин), флаводоксин, менахион, цитохромы типа *b* и *c*. Особенностью дыхательной цепи многих сульфатвосстанавливающих бактерий является высокое содержание цитохрома c_3 , обладающего низким окислительно-восстановительным потенциалом ($E_0' \approx -300$ мВ). Цитохром c_3 , вероятно, участвует в акцептировании электронов с гидрогеназы. Все перечисленные выше соединения принимают участие в переносе электронов на SO_4^{2-} , но точная их последовательность и локализация на мембране не установлены. Известно, что окисление H_2 происходит на наружной стороне мембраны, а реакция восстановления на SO_4^{2-} - на внутренней. Из этого следует, что окисление H_2 , сопряженное с восстановлением на SO_4^{2-} , у хемолитотрофных сульфатредукторов связано с трансмембранным окислительно-восстановительным процессом. Перенос электронов по ЭТЦ сопровождается генерированием $\Delta\mu_{H^+}$.

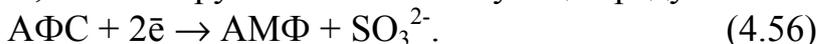
Последний этап, заключающийся в акцептировании сульфатов электронов с помощью серии редуктаз, представляет собой собственно диссимиляционную сульфатредукцию.

Известно восстановление сульфата до сульфида, входящего в состав серосодержащих аминокислот (цистин, цистеин, метионин), в конструктивном метаболизме большинства бактерий. Такой процесс получил название *ассимиляционной сульфатредукции* и имеет место всегда при выращивании бактерий на среде, где источником серы служат сульфаты. SO_4^{2-} при ассимиляции восстанавливается, чтобы сера могла включиться в органические соединения, так как в живых организмах сера встречается почти исключительно в восстановленной форме в виде сульфгидрильных (-SH) или дисульфидных (-S-S-) групп. *Бактерий, осуществляющих ассимиляционную сульфатредукцию, не относят к физиологической группе сульфатвосстанавливающих бактерий.* Активность процесса ограничена потребностями клетки в серосодержащих компонентах, а они не велики. Ассимилируется ровно столько питательных веществ, содержащих серу, сколько их необходимо для роста бактерий, поэтому никакие восстановленные продукты метаболизма серы не выделяются в окружающую среду. Ассимиляция сульфата начинается с его активирования с помощью АТФ в реакции, катализируемой АТФ-зависимой сульфурилазой:



где АФС - аденозинфосфосульфат, ФФ - пирофосфат.

У многих бактерий АФС подвергается еще одному фосфорилированию с участием АТФ, в результате которого образуется фосфоаденозинфосфосульфат. Затем АФС (или его фосфорилированное производное) восстанавливается с образованием сульфита в реакции, катализируемой соответствующей редуктазой:



Последующее восстановление сульфита до сульфида осуществляется с помощью ассимиляционной сульфитредуктазы, катализирующей перенос

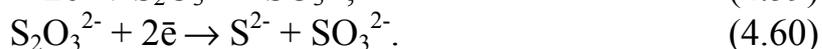
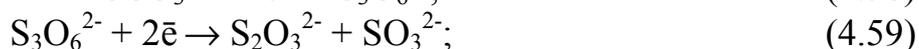
6 электронов на сульфит без образования каких-либо свободных промежуточных соединений:



Основные отличия диссимиляционной сульфатредукции от ассимиляционной:

- 1) диссимиляционное восстановление сульфата присуще только узкому кругу высокоспециализированных бактерий - сульфатредукторам;
- 2) активность процесса диссимиляционной сульфатредукции намного выше, чем ассимиляционной, следствием чего является накопление в среде больших количеств H_2S ;
- 3) 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, восстановление SO_3^{2-} до H_2S (как и при ассимиляционной сульфатредукции) катализируется одним ферментом. Более вероятен второй путь; по которому этот процесс протекает трехступенчато с участием сульфит-, тритионат- и тиосульфатредуктазы и сопровождается образованием тритионата ($\text{S}_3\text{O}_6^{2-}$) и тиосульфата ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) в качестве свободных промежуточных продуктов:



При этом в реакциях (4.59) и (4.60) регенерируется сульфит, служащий субстратом реакции (4.58).

Итак, окисление H_2 у хемолитоавтотрофных и у хемолитогетеротрофных или окисление органических веществ у хемоорганогетеротрофных сульфатредукторов в процессе диссимиляционной сульфатредукции идет с образованием АТФ. При использовании в качестве энергетических субстратов органических соединений в присутствии сульфата часть АТФ может синтезироваться в реакциях субстратного фосфорилирования, внося определенный вклад в общий энергетический метаболизм этих бактерий.

Экологическая роль и практическое значение сульфатвосстанавливающих бактерий. Сульфатредукторы широко распространены в соленых и пресных водоемах. В большом количестве они присутствуют в соленых озерах, донных отложениях морей и океанов, в подземных водах нефтяных и газовых месторождений, в месторождениях серы и сульфидных минералов. Выделяют сульфатредукторов из почв, сточных вод, пищеварительного тракта некоторых животных и других мест обитания.

Оптимальное значение рН среды для большинства сульфатредукторов примерно 7,0 и лишь для отдельных видов несколько ниже (6,0 - 6,5), рост этих микроорганизмов в природных условиях отличается в диапазоне значений рН от 4,5 - 5,0 до 8,5 - 9,0.

Лимитирующим фактором, от которого может зависеть рост тех или иных сульфатредукторов, является наличие в среде в достаточном количестве сульфатов. При недостатке SO_4^{2-} , а так же при его отсутствии, преимущество имеют те виды, которые могут использовать другие акцепторы электронов или способны к брожению.

В тех водоемах, где интенсивно растут сульфатредукторы, обычно присутствуют в значительном количестве микроорганизмы, окисляющие сероводород (например, пурпурные и зеленые серобактерии).

Разные взаимоотношения могут складываться между сульфатредукторами и метанобразующими бактериями. С одной стороны, иногда в результате деятельности сульфатредукторов выделяется H_2 и/или ацетат, обеспечивающие рост метаногенов. С другой - сульфатредукторы составляют конкуренцию для метаногенов за органический субстрат, поскольку в энергетическом отношении восстановление сульфатов более выгодно, чем образование метана. В результате, образование CH_4 нередко начинается после использования SO_4^{2-} сульфатредукторами.

Сульфатвосстанавливающие бактерии в ассоциации с другими микроорганизмами способны воздействовать на некоторые субстраты, которые их чистые культуры не утилизируют. Например, в нефтяных месторождениях распространена *синтрофная ассоциация микроорганизмов*, в состав которой входит бактерия, использующая ацетат с образованием H_2 , и сульфатредуктор *Desulfomicrobium apsheronum*, потребляющая H_2 .

Сульфатвосстанавливающие бактерии являются активными участниками процесса, получившего название *межвидового переноса молекулярного водорода*. Данный феномен заключается в следующем. Некоторые сульфатвосстанавливающие бактерии могут образовывать H_2 при росте в среде без сульфатов за счет процесса брожения. Причем ряд органических соединений ферментируется чистыми культурами сульфатредукторов, а отдельные субстраты - только в ассоциациях сульфатвосстанавливающих бактерий с другими микроорганизмами, поглощающими образующийся в данном процессе H_2 .

Кроме того, бактерии данной физиологической группы могут образовывать ассоциации с микроорганизмами и на другой основе, связанной, в частности, с образованием H_2S и/или ацетата.

Сульфатредуцирующие бактерии участвуют и в генезисе месторождений ряда сульфидных минералов, имеющих практическое значение. Они могут способствовать переводу многих металлов в нерастворимые соединения. Деятельность бактерий данной физиологической группы имеет, вероятно, значение для формирования в некоторых рудных месторождениях вторичных сульфидов.

Результаты геохимических исследований и данные лабораторных экспериментов свидетельствуют о том, что сульфатредукторы имеют прямое отношение к образованию осадочных месторождений самородной серы.

В практическом отношении сульфатвосстанавливающие бактерии интересны в следующих аспектах:

- 1) отмечена положительная роль сульфатредукторов в лечебных грязях;

2) использование этих микроорганизмов в гидрометаллургии для осаждения ряда металлов, находящихся в шахтных водах, а также попадающих в промышленные и бытовые стоки, что необходимо и для очистки воды;

3) удаление из дымовых газов диоксида серы с помощью *Desulfovibrio sp.*;

4) удаление из дренажных вод урана;

5) как источник гидрогеназ, поскольку эти ферменты имеют практическое значение, например, могут заменять платину в топливных элементах, а также использоваться для получения молекулярного водорода.

В то же время сульфатредуцирующие бактерии могут вызывать ряд нежелательных процессов:

1) образование этими бактериями в большом количестве H_2S может приводить в некоторых водоемах к замору рыбы и других гидробионтов; по той же причине сульфатредукторы иногда препятствуют нормальному росту растений, особенно - в рисовниках;

2) некоторые сульфатредукторы в присутствии органических веществ могут производить метилирование ртути (Hg^{2+}), образуемое при этом соединение более токсично, чем сама ртуть;

3) вызывает загрязнение природного газа и нефти;

4) деятельность сульфатредукторов является одной из основных причин коррозии металлических конструкций, порчи подземных трубопроводов, оборудования в нефтяных скважинах и в газовых месторождениях;

5) сульфатредукторы участвуют так же в коррозии подземных железобетонных тоннелей и способствуют разрушению каменных строений, в том числе памятников старины.

Поэтому предупреждение роста сульфатредукторов как микроорганизмов, наносящих большой экономический ущерб, является весьма серьезной проблемой.

Советуем обратить внимание!

<i>Понятие</i>	<i>Определение</i>	<i>Что это значит</i>
Сульфатвосстанавливающие бактерии		
Ассимиляционная сульфатредукция		
Диссимиляционная сульфатредукция или «сульфатное» дыхание		
Синтрофная ассоциация микроорганизмов		
Межвидовой перенос H_2		
Экологическая роль сульфатредукторов		

4.3. Серовосстанавливающие бактерии

Синонимы: сероредукторы;
бактерии, восстанавливающие молекулярную серу (S^0)

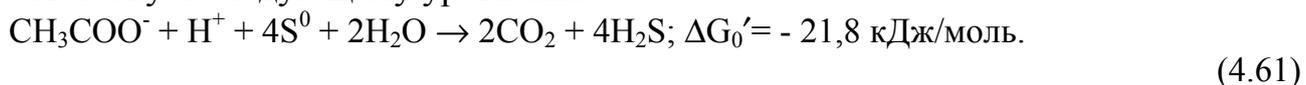
Серовосстанавливающие бактерии используют S^0 в качестве акцептора электронов при росте в анаэробных условиях, причем элементная сера восстанавливается до сероводорода (H_2S). Некоторые из таких бактерий могут использовать в качестве акцептора электронов и другие соединения, но сульфаты не восстанавливают.

В настоящее время известен широкий круг микроорганизмов, способных осуществлять сероредукцию или «серное» дыхание при окислении H_2 или органических веществ. Способность к восстановлению серы широко распространена среди представителей самых различных физиологических и таксономических групп. Однако, не всегда процесс восстановления S^0 способен обеспечивать рост культур. В ряде случаев, сероредукция (у некоторых цианобактерий, у пурпурных и зеленых фототрофных бактерий в темноте, у некоторых бродильщиков) служит лишь для «поддерживающего» метаболизма.

Среди серовосстанавливающих микроорганизмов имеются эубактерии и архебактерии, факультативные и строгие анаэробы, гетеротрофы и автотрофы.

Сероредукторы рода *Desulfuromonas* растут только в анаэробных условиях на простых синтетических средах, но содержащих ростовой фактор - биотин. Все виды данного рода - облигатные хемоорганогетеротрофы. В качестве источников углерода используют ацетат, пируват, сукцинат, глутамат, этанол, L-пропанол. В качестве акцепторов электронов кроме серы используют fumarat.

При наличии серы разные виды *Desulfuromonas* окисляют органические вещества полностью - до CO_2 и H_2O . Конечный результат окисления ацетата соответствует следующему уравнению:



Серовосстанавливающие бактерии рода *Desulfurella* в качестве источника углерода используют ацетат, пируват, пальмитат и стеарат. Органические вещества окисляются полностью - до CO_2 и H_2O . В качестве акцептора электронов бактерии этого рода используют только серу.

Desulfurella multipotens может также расти в хемолитоавтотрофных условиях за счет использования H_2 и CO_2 . Путь ассимиляции CO_2 данной бактерий не установлен.

К числу факультативных хемолитоавтотрофов относится сульфатредуцирующая бактерия *Desulfomicrobium apsheronum*, способная восстанавливать помимо SO_4^{2-} еще и S^0 . Другие представители сульфатвосстанавливающих бактерий, восстанавливающие серу (*Desulfovibrio gigas*, *Desulfomicrobium baculatum*), хотя и окисляют молекулярный водород, но нуждаются для роста в органических веществах.

Известны также несколько серовосстанавливающих бактерий, способных расти в микроаэробных и анаэробных условиях. В последнем случае они осуществляют анаэробное дыхание, используя в качестве акцептора электронов серу и некоторые другие соединения. Все они могут окислять H_2 , но нуждаются в органических веществах для биосинтетических процессов, т.е. проявляют способность к хемолитогетеротрофии. К числу таких сероредукторов относится *Wolinella succinogenes*. Эта бактерия помимо H_2 , окисляет формиат, а в качестве акцепторов электронов кроме серы использует SO_3^{2-} , $S_2O_3^{2-}$, N- диметилсульфоксид, NO_3^- , N_2O и фумарат.

Кроме того, способность восстанавливать серу, накапливаемую в клетках в качестве запасного продукта при окислении H_2S или тиосульфата, установлена у некоторых фототрофных пурпурных бактерий из рода *Chromatium*, когда они находятся в темноте в анаэробных условиях. Такая же способность обнаружена у цианобактерии *Oscillatoria limnetica*, а также у серобактерии рода *Beggiatoa*. Однако не доказано, что у этих бактерий сероредукция является энергодающим процессом.

Есть данные о способности восстанавливать серу у *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris* и *Alcaligenes sp.*, а также у некоторых строгих анаэробов, осуществляющих брожение сахаров: *Clostridium thermosulfurogenes*, *Cl. thermohydrosulfuricum*, *Thermoanaerobium brockii* и некоторыми другими.

Сера играет важную роль в метаболизме значительного числа архебактерий, относящихся к экстремальным термофилам или *гипертермофилам* (оптимальная температура для роста в области $80 - 105^\circ C$, минимальная граница роста 60° и выше, максимальная - до 110°). К числу таких бактерий относится *Acidianus infernus* и близкий к нему вид *Desulfurolobus ambivalens* (оба из порядка Sulfolobales). Эти бактерии могут расти и в аэробных и в анаэробных условиях. В аэробных условиях они окисляют серу с образованием сульфатов, а в анаэробных - восстанавливают серу до сероводорода, используя в качестве донора электронов молекулярный водород:



Такую же реакцию осуществляет, видимо, и строго анаэробная бактерия *Stygiolobus azoricus*, относящаяся к порядку Sulfolobales.

Все описанные выше представители архебактерий, восстанавливающие S^0 , являются облигатными автотрофами, при этом путь ассимиляции CO_2 у них неизвестен. Имеется еще ряд строго анаэробных архебактерий, относящихся к порядкам Thermococcales и Thermoproteales, восстанавливающих серу с образованием сероводорода.

Все представители порядка Thermococcales (два рода - *Thermococcus* и *Pyrococcus*) являются облигатными гетеротрофами. Растут на средах, содержащих пептиды, аминокислоты, дрожжевой экстракт, реже используют углеводы. Установлено, что рост бактерий улучшается при наличии серы в среде, а *T. stetteri* в отсутствие серы совсем не растет. В опытах с *P. furiosus* показано, что рост этой архебактерии ингибирует H_2 , образуемый в результате брожения органических веществ. При наличии S^0 в среде такой эффект не наблюдали. На

рост *P. woesei* H_2 ингибирующего действия не оказывает. Напротив, H_2 и S^0 необходимы для роста данной бактерии при использовании пептидов или крахмала. Поэтому считают, что данный вид способен к анаэробному дыханию, приводящему к восстановлению S^0 до H_2S при окислении H_2 , что является дополнительным источником энергии.

Среди археобактерий Thermoproteales есть хемоорганогетеротрофы и хемолитоавтотрофы. К облигатным хемоорганотрофам относятся представители следующих родов: *Desulfurococcus*, *Thermodiscus*, *Staphylothermus* и *Thermofilum*, а также *Pyrodictium abyssi* и *Pyrobaculum organotrophum*. К числу органических веществ, используемых этими микроорганизмами, относятся пептиды, дрожжевой экстракт, мясной экстракт, углеводы. Но у разных видов возможности их утилизации не одинаковы. Рост *Thermodiscus maritimus* и *P. abyssi* возможен в результате брожения некоторых органических веществ. Но остальные представители указанных родов растут лишь при наличии серы или ряда ее соединений, которые при этом восстанавливаются с образованием H_2S .

В отличие от этих микроорганизмов, *Thermoproteus neutrophilus*, *Tr. tenax*, *Pyrobaculum islandicum*, *Pyrodictulum occultum* и *Pd. brockii* растут в хемолитоавтотрофных условиях, осуществляя «серное» дыхание. При этом в качестве донора электронов они используют H_2 и фиксируют CO_2 .

Tr. tenax и *Pb. islandicum* растут также в присутствии серы на средах, содержащих органические соединения (крахмал, гликоген, глюкоза, фумарат, аминокислоты). Кроме S^0 , *Tr. tenax* может использовать в качестве акцептора электронов малат. Добавление дрожжевого экстракта стимулирует рост культур.

Экологическая роль серовосстанавливающих бактерий. Сероредукторы встречаются в пресных и соленых водах, донных отложениях и в почве. Одним из мест обитания некоторых сульфатвосстанавливающих бактерий альгобактериальные маты. Археобактерии порядка Sulfolobales широко распространены в горячих источниках. Представители порядка Thermococcales растут в морских сольфатарах при рН, близком к 7,0 и температуре 80 - 103°C, а также в горячих источниках. Археобактерии, относящиеся к порядку Thermoproteales, встречаются исключительно в биотопах с вулканической активностью и температурой 100°C и выше. В глубоководных морских гидротермах найдены представители родов *Pyrodictium*, *Staphylothermus* и *Thermodiscus*. Некоторые серовосстанавливающие бактерии, в частности представители рода *Desulfuromonas*, нередко встречаются в значительном количестве в тех же местах, где и сульфатвосстанавливающие бактерии. Установлено, что между сероредукторами рода *Desulfuromonas* и зелеными серобактериями (*Chlorobium*, *Prosthecochloris*) могут складываться тесные синтрофные взаимоотношения. Серовосстанавливающие бактерии, утилизирующие ацетат, используют его для биосинтеза веществ клеток и образуют H_2S , а фототрофная зеленая серобактерия окисляет сероводород (экзогенный донор электронов) с образованием S^0 , утилизируя CO_2 и ацетат в биосинтетических процессах. В случае образования из H_2S не только S^0 , но и SO_4^{2-} , в эту ассоциацию могут входить и сульфатредукторы.

Советуем обратить внимание!

<i>Понятие</i>	<i>Определение</i>	<i>Что это значит</i>
Серовосстанавливающие бактерии		
Сероредукция или «серное» дыхание		
Серовосстанавливающие архебактерии		
Гипертермофилы		
Экологическая роль сероредукторов		

4.4. Серо- и сероводородокисляющие микроорганизмы

Среди микроорганизмов, способных к окислению восстановленных соединений серы, выделяются три основные физиологические группы:

- 1) анаэробные фототрофные бактерии;
- 2) аэробные и факультативно анаэробные литотрофные эубактерии и архебактерии;
- 3) гетеротрофные сероокисляющие микроорганизмы.

Аэробные фототрофные бактерии. Это специфическая группа бактерий, осуществляющая аноксигенный фотосинтез в анаэробных условиях. В качестве доноров электронов используют восстановленные соединения серы, наиболее часто продуктами окисления являются SO_4^{2-} и S^0 . Молекулярная сера может откладываться внутриклеточно у некоторых фототрофных бактерий.

Более подробно эта физиологическая группа прокариот рассмотрена в п. 2.1. пособия.

Аэробные и факультативно анаэробные литотрофные эубактерии и архебактерии. Некоторые прокариоты в присутствии восстановленных соединений серы способны к литотрофному росту. В этом случае эти вещества используются бактериями как доноры электронов в энергетическом метаболизме, т.е. при их окислении в ЭТЦ синтезируется АТФ.

Окисление литотрофными прокариотами разных восстановленных соединений серы и молекулярной серы обычно ведет к образованию SO_4^{2-} . Однако не всегда этот процесс происходит до конца и в среде нередко обнаруживаются не полностью окисленные продукты (S^0 , SO_3^{2-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, $\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$).

Группа литотрофных серозависимых прокариот в основном включает представителей тионовых бактерий, экстремально термоацидофильных архебактерий, бесцветных серобактерий (см. п. 2.2.1.1), водородных бактерий (см. п. 2.2.1.3), а также некоторых представителей пурпурных бактерий, способных к литотрофному росту за счет окисления серных соединений в темноте.

Гетеротрофные сероокисляющие микроорганизмы. Некоторые облигатно гетеротрофные микроорганизмы способны окислять различные неорганические

соединения серы, но значение этого процесса в метаболизме этих бактерий до конца не выяснено. Среди гетеротрофных сероокисляющих бактерий преобладают виды рода *Pseudomonas*, осуществляющие неполное окисление тиосульфата до тетрагидрата.

Некоторые гетеротрофные бесцветные серобактерии способны окислять соединения серы пероксидом водорода, супероксидным радикалом, образующимся в клетках при окислении органических веществ:



Физиологический смысл этого процесса заключается в детоксикации токсичных продуктов неполного восстановления кислорода (H_2O_2 , O_2^-).

Полное окисление серных соединений до сульфата более характерно для микроскопических грибов (*микромикетов*), обитающих в почвах, обогащенных S^0 . Для некоторых видов родов микромикетов *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Fusarium*, *Mucor* и *Aurobasidium* показана способность к окислению молекулярной серы, тиосульфата и даже сульфидов металлов до сульфата, однако скорость такого окисления на один-два порядка ниже, чем у литотрофных бактерий.

Советуем обратить внимание!

<i>Понятие</i>	<i>Определение</i>	<i>Что это значит</i>
Фототрофные бактерии, окисляющие восстановленные соединения серы		
Литотрофные эу- и архебактерии, окисляющие восстановленные соединения серы		
Гетеротрофные сероокисляющие микроорганизмы		
Микромикеты		

4.5. Круговорот серы

Сера (S) - биогенный элемент, содержится в белках в составе аминокислот, в витаминах, гликозидах, коферментах, имеется в растительных эфирных маслах. Сера в изобилии присутствует в земной коре, в углях, сланцах, нефти, природных газах. Сера относится к элементам с переменной валентностью. Это обеспечивает ее подвижность. В виде неорганических соединений сера бывает в окисленной форме (сульфаты, полисульфаты), восстановленной форме (сульфиды) и молекулярной, осуществляя активный окислительно-восстановительный цикл. В природе сера претерпевает разнообразные химические и биологические превращения, переходя из неорганических соединений в органические и обратно, меняя валентность в пределах от - 2 до +6.

Циклические превращения серы (рис. 4.6) включают восстановительные и окислительные звенья, а также превращения серы без изменения ее валентности.

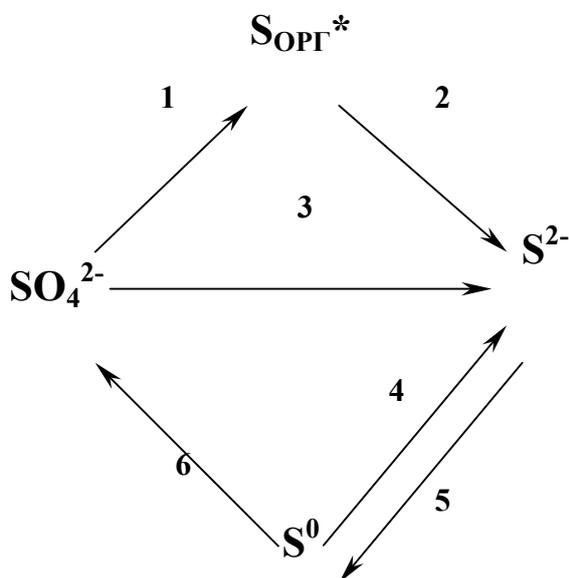


Рис. 4.6. Круговорот серы в природе.

1 - растения и микроорганизмы, ассимилирующие сульфаты; 2 - микроорганизмы, разлагающие белки и другие серосодержащие органические соединения; 3 - сульфатвосстанавливающие бактерии; 4 - серовосстанавливающие бактерии; 5, 6 - хемотрофные и фототрофные серобактерии.

Примечание. S_{org}^* - серосодержащие органические соединения животных, растений и микроорганизмов.

В таких превращениях участвует много разнообразных групп микроорганизмов, аэробных и анаэробных, хемо- и фототрофов, эубактерий и архебактерий.

Окислительная часть круговорота серы включает стадии от S^{2-} до SO_4^{2-} , которые могут протекать в зависимости от условий как чисто химически, так и с участием микроорганизмов. Окисление молекулярной серы и восстановленных неорганических и органических соединений серы происходит в аэробных и в анаэробных условиях с участием разных физиологических групп микроорганизмов. В аэробных условиях окислительные процессы осуществляют хемоавтотрофные прокариоты - серные бесцветные бактерии, тионовые бактерии, термоацидофильные архебактерии, а также некоторые типичные гетеротрофные бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas* и др. В анаэробных процессах участвуют фототрофные серные пурпурные и зеленые бактерии, осуществляющие бескислородный фотосинтез.

Восстановительная часть круговорота серы осуществляется преимущественно биологическим путем с доминирующей ролью прокариот в этом процессе. Восстановление сульфатов происходит в разных метаболических процессах. Так, SO_4^{2-} служит источником серы для растений и микроорганизмов. Этот процесс - ассимиляционная сульфатредукция - сопровождается восстановлением серы сульфатов до степени восстановленности серы в серосодержащих органических соединениях. В анаэробных условиях сульфаты восстанавливаются до сероводорода специфическими бактериями из группы облигатных анаэробов - сульфатредукторами в процессе диссимиляционной сульфатредукции. Сульфатвосстанавливающие бактерии представляют собой важнейшее звено в

круговороте серы и, как деструкторы органического вещества, - в круговороте углерода в природе. По имеющимся расчетам, этой физиологической группе бактерий принадлежит основная роль в образовании H_2S во многих озерах, а также в морях и океанах. Интенсивность диссимиляционной сульфатредукции в осадках Мирового океана в расчете на серу выражается величиной порядка $112 - 400 \cdot 10^6$ т в год. Гораздо меньше H_2S образуется при разложении микроорганизмами серосодержащих органических веществ ($6,0 - 6,5 \cdot 10^6$ т в год). Образующийся в донных отложениях морей и океанов сероводород в значительной степени превращается в нерастворимую форму - пирит (FeS_2) и выпадает в результате этого из круговорота серы. Оставшийся H_2S на границе анаэробной и аэробной зон активно окисляется, и лишь небольшая его часть поступает в атмосферу ($10 - 12 \cdot 10^6$ т в год).

Сероводород также образуется в больших количествах при разложении органических серосодержащих соединений. Этот процесс обычно называют гниением. Гнилостные микроорганизмы могут быть аэробными и строго анаэробными. В основном это обычные сапротрофы родов *Bacillus*, *Clostridium* и др. Биогенная сера, поступающая в атмосферу в виде органических летучих соединений, в основном - продукт деятельности гнилостных микроорганизмов.

Помимо биологического цикла серы в атмосфере Земли происходят превращения серосодержащих газов без участия живых организмов. Сера в виде сернистого газа (SO_2) образуется в результате сжигания нефти, а частично появляется в форме H_2S и SO_2 при извержении вулканов. Эти соединения окисляются в атмосфере, и образующаяся серная кислота возвращается на поверхность земли и в почву. Вокруг промышленных районов таким путем происходит сильное подкисление почв вплоть до полной гибели растительности и образования так называемых «техногенных пустынь» вблизи химических предприятий.

Глава 5. Значение жизнедеятельности микроорганизмов в круговороте фосфора

В живой клетке фосфор входит в состав АТФ и других *высокоэнергетических соединений* (ВЭС), которые ответственны за перенос химической энергии между реакциями, дающими и поглощающими энергию. Кроме того, фосфор входит в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов, фосфорилированных сахаров и полифосфатов и др.

Проблема доступности фосфора для живых организмов является достаточно острой. Объясняется это двумя основными причинами:

- 1) дефицит геологических запасов фосфора, его содержание в земной коре составляет $9 \times 10^{-2}\%$;
- 2) быстрое и прочное связывание фосфора в природе; считается, что круговорот фосфора - осадочный. Также полагают, что океан является конечным

резервуаром, где накапливается фосфор, циркулирующий на Земле. Весь фосфор в океане имеет континентальное происхождение. Источником его являются магматические породы, продукты выветривания, которые поступают в океан с материковым стоком, главным образом, во взвеси рек. Подсчитано, что в океан ежегодно поступает с речным стоком и откладывается в донных отложениях свыше 10 млн. т фосфора в год. Между океаном и атмосферой обмена фосфором не происходит, и на сушу возвращается лишь малая его часть - с морепродуктами или в виде гуано.

В природной воде, донных отложениях и почвах фосфор присутствует в виде органических и минеральных соединений, соотношение которых меняется в зависимости от сезона, глубины и локальных условий.

В круговороте фосфора микроорганизмы играют важную роль. Она состоит в следующем:

1) растворение минеральных фосфатов (*ортофосфатов Ca, Fe, Al* и др.) при взаимодействии их с продуктами метаболизма микроорганизмов;

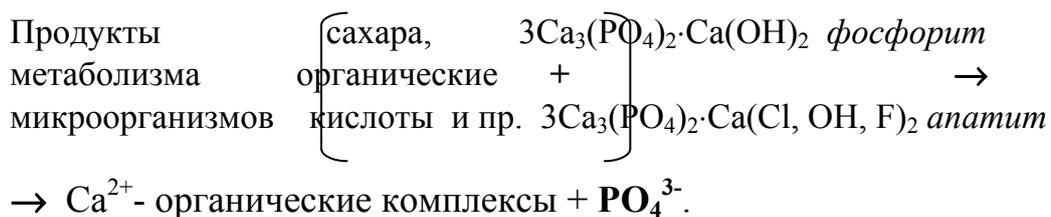
2) гидролиз органических фосфатов (*органофосфатов*) под действием ферментов - фосфатаз;

3) потребление доступного фосфора микроорганизмами и закрепление его в биомассе. Бактерии накапливают фосфор в значительно большем количестве (1,5 - 2,5%), чем высшие растения (0,05 - 0,5%). Бактерии, у которых эта способность хорошо выражена получили название *фосфатаккумулялирующих*. Накопление соединений фосфора в бактериальных клетках приводит к тому, что при развитии бактериальной популяции происходит концентрирование этого элемента.

Например, бактерии рода *Acinetobacter* способны поглощать 7 - 10% фосфора в пересчете на сухой вес в аэробных условиях. Представители этого рода повсеместно распространены в сточных водах, прудах, озерах, реках, ручьях, подземных водах и почвах разного типа. Считается, что аккумуляруемый фосфат превращается в клетках в органические фосфорсодержащие соединения, в частности в АТФ, а у фосфораккумулялирующих бактерий - еще и в полифосфаты различных металлов.

В разных типах почв микроорганизмы, способные растворять ортофосфаты Ca, могут составлять 5 - 95% от общей численности. Причем, бактерии способны разрушать даже такой стойкий фосфорсодержащий минерал как фторапатит в результате образования в процессе жизнедеятельности органических кислот. Последние могут являться метаболитами самых различных групп бактерий. Образующий в анаэробных условиях за счет деятельности сульфатвосстанавливающих бактерий сероводород (H_2S) также способствует переводу нерастворимых соединений фосфора в растворимые формы. Подкисление не единственный, хотя, по-видимому, главный механизм *биологической мобилизации фосфора* фосфатов Ca. Существует немало органических веществ - продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, которые связывают кальций сильнее, чем фосфорная кислота. В частности, многие органические соединения (органические кислоты, сахара и пр.) образуют с ионами Ca^{2+} недиссоциирующие хелат-

ные комплексы, при этом фосфор высвобождается в виде ионов PO_4^{3-} . В общем виде вышеуказанный процесс можно представить следующим образом:



Более устойчивы к растворению в результате жизнедеятельности микроорганизмов фосфаты Fe и Al, по сравнению с фосфатами Ca. Наиболее активны в этом отношении бактерии родов *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Cytophaga*. Растворение ортофосфатов Fe и Al происходит в результате конкурентного связывания металла продуктами жизнедеятельности микроорганизмов.

Количество бактерий, способных к разрушению ортофосфатов Ca, Fe и Al, в разных типах почв может составлять 1 - 50% от общей численности.

Концепция двухфазности микробиологической мобилизации фосфора из ортофосфатов. Считается, что процесс освобождения фосфора из органических соединений идет в две фазы.

1-я фаза - *неспецифическая*. Заключается в растворении ортофосфатов Ca, Fe и Al. Может осуществляться разнообразными микроорганизмами, в основном бактериями и микромицетами.

2-я фаза - *специфическая*. Заключается в ферментативном разрушении водорастворимых ортофосфатов с высвобождением ионов PO_4^{3-} . Эта фаза осуществляется специфической группой микроорганизмов, среди которой ведущую роль играют бактерии рода *Acinetobacter* и микроскопические грибы рода *Fusarium*.

Экологическая роль бактерий, мобилизующих фосфор. Бактерии, способные к аккумуляции или мобилизации соединений фосфора, широко распространены в природе. Это обитатели пресных и соленых вод, подземных вод, почв разного типа, месторождений фосфоритовых руд.

Фактически, бактерии, способные к мобилизации фосфора в виде ионов PO_4^{3-} из ортофосфатов и ортофосфатов, возвращают остаточный фосфор в биологический круговорот через трофические цепи живых организмов. Так, например, фосфор, освобожденный ризосферной микрофлорой, может быть использован растениями, а через них - далее по пищевым цепям.

Примем во внимание, что из общего пула фосфорных соединений в почве (в виде орто- и ортофосфатов) только 5% доступны растениям. Не решает проблему дефицита фосфора и внесение фосфорных удобрений. Считается, что из-за нерастворимости соединений фосфора, усвояемость сельскохозяйственными растениями этого элемента не превышает 25%, а может быть гораздо меньше.

Предлагается решить проблему дефицита фосфора для сельскохозяйственных растений путем использования жизнедеятельности почвенных микроорганизмов, мобилизующих фосфор из нерастворимых соединений.

Кроме того, на способности некоторых видов бактерий связывать фосфор и накапливать его в своей биомассе был разработан метод очистки сточных вод от орто- и полифосфатов. Конечные продукты такой очистки - известь $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ и гидроксилapatит $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$, содержащие 8 - 10% фосфора предлагается использовать в производстве удобрений.

Советуем обратить внимание!

<i>Понятие</i>	<i>Определение</i>	<i>Что это значит</i>
Высокоэнергетические соединения (ВЭС)		
Ортофосфаты		
Органофосфаты		
Фосфатаккумулялирующие бактерии		
Биологическая мобилизация фосфора.		
Специфическая и неспецифическая фазы биологической мобилизации фосфора		
Экологическая роль бактерий, мобилизующих фосфор		

Список сокращений

- АДФ** - аденозиндифосфат
- АМФ** - аденозинмонофосфат
- АТФ** - аденозинтрифосфат
- ДНК** - дезоксирибонуклеиновая кислота
- ОВ** - органическое вещество
- РНК** - рибонуклеиновая кислота
- ЦПМ** - цитоплазматическая мембрана клетки
- ЦТК** - цикл трикарбоновых кислот
- ЭТЦ** - электронтранспортная цепь
- АФС** - аденозинфосфосульфат
- ФФ** - пирофосфат

Словарь терминов

Архебактерии - одна из самых древних ветвей эволюции живых существ, новое царство органического мира, открытое Woese с соавт. (1978) в результате сравнительного анализа высоко консервативных информационных молекул (16 S и 18 S рРНК), измеряющих как эволюционные отношения, так и эволюционные расстояния между организмами. Архебактерии имеют общие с другими прокариотами свойства, а также ряд уникальных особенностей – структура липидов и полисахаридов в ЦПМ и клеточной стенке, рибосомальные белки в составе 16 S и 55 S рРНК и тРНК, особый тип фотосинтеза, синтез метана и специфических кофакторов, отсутствие тимина в «общей» ветви тРНК, способность некоторых видов размножаться при 100 °С и выше.

Ассоциация микроорганизмов (микробоценоз, микробное сообщество) - совокупность популяций разных видов микроорганизмов, обитающих в определенном биотопе. Количественный и качественный состав ассоциации микроорганизмов зависит от условий обитания, от миграционного потока из соседних биотопов, изменчивости микроорганизмов, а также от типа и выраженности внутривидовых взаимоотношений.

Гемолитические бактерии (гемофильные бактерии) - бактерии, вызывающие гемолиз - разрушение оболочки эритроцитов. В лаборатории выращивают на питательной среде, содержащей кровь теплокровных животных или человека. Гемолиз проявляется в просветлении непрозрачной взвеси эритроцитов («лаковая» кровь), на плотной питательной среде (5 - 10% кровяной агар) - в виде зон просветления вокруг колоний. Такие бактерии обитают в респираторном тракте человека и животных, условно-патогенны. Могут вызывать пневмонию, бронхит, отит, менингит и др. заболевания. К ним относятся рода *Haemophilus*, *Streptococcus* и др.

Грамотрицательные бактерии - бактерии, окрашивающиеся по методу Грама (метод дифференцированной окраски клеточных стенок бактерий; результат окрашивания - систематический признак бактерии) в красный цвет. К ним относятся рода *Escherichia*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Spirillum* и многие другие.

Грамположительные бактерии - бактерии, окрашивающиеся по методу Грама в темно-фиолетовый цвет. К ним относятся *Bacillus*, *Clostridium*, *Corynebacterium*, *Mycobacterium*, *Lactobacillus* и многие другие.

Микробоценоз - см. Ассоциация микроорганизмов.

Питательные среды бактериологические - жидкие, полужидкие или плотные субстраты, используемые для выращивания микроорганизмов в лабораторных и производственных условиях. Используют для выделения чистых культур бактерий из биогенных и абиогенных объектов; для определения культуральных и ферментативных свойств; а также устойчивости к химическим, физическим и биологическим факторам; для накопления микробной биомассы и продуктов биосинтеза; для хранения музейных культур. Питательные среды должны содержать в достаточном количестве неорганические соли, воду, источники углерода, азота, серы, в ряде случаев - ростовые факторы; питательные среды должны быть стерильными; иметь оптимальное значение рН и окислительно-восстановительного потенциала.

Плазмиды - внехромосомные генетические структуры бактерий. Представляют собой замкнутую молекулу двуничей ДНК с молекулярной массой $10^6 - 10^8$, связанную с белком. Локализуется в цитоплазме клетки (в свободном состоянии) или в состоянии интеграции с хромосомой. В ряде случаев плазмиды детерминируют определенный фенотипический признак: лекарственную (антибиотическую) резистентность, устойчивость к высоким концентрациям тяжелых металлов в среде, образование бактериоцина, способность утилизировать определенные органические субстраты, синтез токсинов и др., в иных случаях присутствие плазмид не связано с каким-либо легко тестируемым фенотипическим признаком. Это так называемые криптические плазмиды.

Сапротрофы (греч. *Sapros* - гнилой, *trophe* - пища, питание) - бактерии (а также грибы и простейшие), которые питаются мертвыми растениями, животными и их органическими остатками. Сапротрофы широко представлены в поверхностном слое почвы, в водоемах; на покровах растений, животных и человека. Выполняют функцию самоочищения воды и почвы, минерализуя органические вещества.

Синтрофия (греч. *Syn* - вместе, *trophe* - пища, питание) - способность двух или более видов бактерий осуществлять такой процесс, который ни один из них не может осуществлять по отдельности. Синтрофия является частным случаем симбиотических взаимоотношений между бактериями. Основой таких взаимоотношений может быть передача фактора роста; образование одним организмом субстрата, обеспечивающего развитие другого; удаление одним организмом продукта, токсичного для другого и т.п. Несколько механизмов синтрофии могут действовать одновременно.

Термофилы (термофильные бактерии) - группа микроорганизмов, нижняя граница роста которых выше 45°C . Оптимальная зона роста термофилов равна $45 - 50^{\circ}\text{C}$, но они могут размножаться и при более низких температурах (до 30°C). Среди термофилов выделяют несколько групп: 1) облигатные термофилы, имеющие температурный оптимум $65 - 70^{\circ}\text{C}$ и минимум выше $40 - 42^{\circ}\text{C}$; 2) факультативные термофилы с температурным максимумом $50 - 65^{\circ}\text{C}$ и ми-

нимумом менее 20°C; 3) термотолерантные бактерии с температурным максимумом 45 - 50°C; 4) экстремальные термофилы или гипертермофилы - бактерии с температурным оптимумом выше 70°C.

Чистая культура - совокупность микроорганизмов одного вида или варианта, полученная из одного образца материала и содержащаяся в определенном объеме воды (например, в пробирке, колбе и т.д.). Чистая культура из колонии обладает высокой однородностью свойств, поскольку она обычно происходит от одной особи.

Штаммом бактерий в микробиологии называется низшая инфраподвидовая систематическая категория, обозначающая идентифицированную чистую культуру какого-либо вида, подвида, варианта, выделенную из того или иного источника (организма, внешней среды). Штамм может отличаться от других штаммов этого вида одним или несколькими признаками, в том числе источником выделения. Обозначают штаммы произвольно: по месту выделения, порядковому номеру регистрации, отличительному признаку и др. Штаммы, имеющие особое значение для народнохозяйственных или научных целей, сохраняют в государственных коллекциях, на них выдаются авторские свидетельства.

Экосистема (греч. Oikos - жилище, местообитание; systema - сочетание, объединение) - совокупность совместно обитающих организмов и условий их существования, находящихся в закономерной связи друг с другом и образующих систему взаимообусловленных биотических и абиотических явлений и процессов. Понятие «экосистема» приложимо к объектам разной сложности и размеров. Можно выделить экосистему озера, пруда, леса, но может быть экосистема рубца жвачного животного, кишечного тракта дождевого червя или ризосферы растения. В экосистему входят сообщество организмов или биоценоз и физико-химические условия его обитания. Под «окружающими условиями» обычно понимают как биотические, так и абиотические компоненты экосистемы.

Эубактерии (истинные бактерии) - царство бактерий, к нему относятся все известные ныне бактерии, кроме архебактерий, которые выделены в отдельное царство. Имеют типичное для прокариот строение, клеточная стенка содержит пептидогликан, по строению клеточной стенки делятся на грамположительных и грамотрицательных, есть грамвариабельные виды. Авто- и гетеротрофы. Размножаются главным образом бинарным делением. Встречаются повсеместно – в почве, в пресных и соленых водоемах, в донных отложениях, в воздухе, на покровах тела и внутри всех известных организмов.

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Абдрашитова С.А., Каиргельдина Д.Р., Илялетдинов А.Н. Способность культуры *Citrobacter freundii* поглощать фосфаты // Микробиология. 1990. Т. 59, вып. 3. С. 432-436.
2. Бабьева И.П., Зенова Г.М. Биология почв. М.: Изд-во МГУ, 1989. 336с.
3. Балашова В.В., Дубинина Г.А. Микроорганизмы, окисляющие железо и марганец // Хемосинтез. М.: Наука, 1989. С. 101-122.
4. Беляев С.С. Метанобразующие бактерии: биология, систематика, применение в биотехнологии // Успехи микробиологии. 1988. Т. 22. С. 169-206.
5. Бонч-Осмоловская Е.А. Образование метана сообществами микроорганизмов // Успехи микробиологии. 1979. Т. 14. С. 106-123.
6. Бонч-Осмоловская Е.А. Сероредуцирующие бактерии и их участие в процессе анаэробной деструкции органического вещества // Хемосинтез. М.: Наука, 1989. С. 183-198.
7. Брода Э. Эволюция биоэнергетических процессов. М.: Мир, 1978. 304 с.
8. Веденина И.Я., Лебединский А.В. Превращение закиси азота при денитрификации, диссимиляционном образовании аммония // Успехи микробиологии. 1984. Т. 19. С. 135-165.
9. Виноградский С.Н. Микробиология почвы. М.: Изд-во АН СССР, 1952. 792 с.
10. Глазовская М.А., Добровольская Н.Г. Геохимические функции микроорганизмов. М.: Изд-во МГУ, 1984. 152 с.
11. Головачева Р.С. Аэробные термофильные хемолитотрофные бактерии, участвующие в круговороте серы // Успехи микробиологии. 1984. Т. 19. С. 166-202.
12. Грабович М.Ю. Участие прокариот в круговороте серы // Соросовский Образовательный Журнал. 1999. № 12. С. 16-20.
13. Громов Б.В., Павленко Г.В. Экология бактерий. Л.: Изд-во ЛГУ, 1989. 248 с.
14. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология. М.: Изд-во МГУ, 1992. 448 с.
15. Дубинина Г.А. Бесцветные серобактерии // Хемосинтез. М.: Наука, 1989. С. 76-100.
16. Жизнь микробов в экстремальных условиях // Под ред. Д. Кашнера. М.: Мир, 1981. 519 с.
17. Заварзин Г.А. Литотрофные микроорганизмы. М.: Наука, 1972. 324 с.
18. Заварзин Г.А. Значение хемосинтеза для формирования атмосферы // Микробиология. 1983. Т. 52, вып. 2. С. 340-347.
19. Ившина И.Б. Бактерии рода *Rhodococcus*. Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Пермь, 1997. 98 с.

20. **Квасников Е.И., Ключникова Т.М.** Микроорганизмы - деструкторы нефти в водных бассейнах. Киев: Наукова думка, 1982. 132 с.
21. **Кондратьева Е.Н.** Автотрофные прокариоты. М.: Изд-во МГУ, 1996. 312 с.
22. **Коронелли Т.В.** Поступление углеводов в клетки микроорганизмов // Успехи микробиологии. 1980. Т. 15. С. 99-111.
23. **Коронелли Т.В., Дермичева С.Г., Ильинский В.В. и др.** Видовая структура углеводородокисляющих бактериоценозов водных экосистем разных климатических зон // Микробиология. 1994. Т. 63, вып. 5. С. 917-923.
24. **Красильников А.П., Романовская Т.Р.** Микробиологический словарь-справочник. Минск: Изд-во «Асар», 1999. 400 с.
25. **Кузнецов С.И., Саралов А.И., Назина Т.Н.** Микробиологические процессы круговорота углерода и азота в озерах. М.: Наука, 1985. 213 с.
26. **Кузнецов С.И., Дубинина Г.А.** Методы изучения водных микроорганизмов. М.: Наука, 1989. 288 с.
27. **Лапо А.В.** Следы былых биосфер. М.: Знание, 1979. 176 с.
28. **Леин А.Ю., Москалев Л.И., Богданов Ю.А., Сагалевич А.М.** Гидротермальные системы океана и жизнь // Природа. 2000. № 5. С. 47-55.
29. **Лукомская К.А.** Микробиология с основами вирусологии. М.: Просвещение, 1987. 192 с.
30. **Ляликова Н.Н., Лебедева Е.В.** Нитрифицирующие бактерии и их роль в природе // Хемосинтез. М.: Наука, 1989. С. 32-47.
31. **Мишустина И.Е., Щеглова И.К., Мицкевич И.Н.** Морская микробиология. Владивосток: Изд-во Дальневост. ун-та, 1985. 184 с.
32. **Муромцев Г.С., Маршунова Г.Н., Павлова В.Ф., Зольникова Н.В.** Роль почвенных микроорганизмов в фосфорном питании растений // Успехи микробиологии. 1985. Т. 20. С. 174-198.
33. **Ножевникова А.Н., Савельева Н.Д., Крюков В.Р.** Биология водородных бактерий и карбоксиобактерий // Хемосинтез. М.: Наука, 1989. С. 48-75.
34. **Оборин А.А., Стадник Е.В.** Нефтегазопоисковая геомикробиология. Екатеринбург: УрО РАН, 1996. 408 с.
35. **Определитель бактерий Берджи:** В 2 т. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. М.: Мир, 1997.
36. **Пушева М.А.** Литотрофные гомоацетатные бактерии // Хемосинтез. М.: Наука, 1989. С. 170-182.
37. **Розанова Е.П., Назина Т.Н.** Сульфатвосстанавливающие бактерии (систематика и метаболизм) // Успехи микробиологии. 1989. Т. 23. С. 191-226.
38. **Романова А.К., Емнова Е.Е.** Метаболизм водородных бактерий и его регуляция факторами окружающей среды // Успехи микробиологии. 1980. Т. 15. С. 23-40.
39. **Самуилов В.Д., Олескин А.В.** Технологическая биоэнергетика. М.: Изд-во МГУ, 1994. 192 с.
40. **Саралов А.И., Чикин С.М., Банникова О.М. и др.** Распространение фосфатаккумулялирующих бактерий в фосфоритоносных породах, поверхност-

ных и подземных водах Западного Приуралья // Микробиология. 1999. Т. 68, № 3. С. 407-417.

41. **Стейнер Р., Эдельберг Э., Ингрэм Дж.** Мир микробов: В 3 т. М.: Мир, 1979.

42. **Умаров М.М.** Ассоциативная азотфиксация. М.: Изд-во МГУ, 1986. 136 с.

43. **Шлегель Г.** Общая микробиология. М.: Мир, 1987. 566 с.

44. **Moench T.T.** *Bilophococcus magnetotacticus gen. nov. sp. nov.*, a motile, magnetic coccus // *Antonie van Leeuwenhoek*. 1988. V. 54, № 6. P. 483-496.

45. **Geomicrobiology** // Ed. Henry Lutz. 1995. New York: Marcel Dekker Ink. 719 p.

Оглавление

ГЛАВА 1. МЕТАБОЛИЗМ ПРОКАРИОТ	3
ГЛАВА 2. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ МИКРООРГАНИЗМОВ КРУГОВОРОТА УГЛЕРОДА И КИСЛОРОДА.....	7
2.1. АНОКСИГЕННЫЙ ФОТОСИНТЕЗ.....	7
2.2. ХЕМОСИНТЕЗ	14
2.2.1. <i>Аэробные хемолитоавтотрофные бактерии</i>	17
2.2.1.1. Бесцветные серные бактерии.....	18
2.2.1.2. Железобактерии	23
2.2.1.3. Водородокисляющие бактерии.....	26
2.2.1.4. Карбоксибактерии.....	28
2.2.1. <i>Анаэробные хемолитоавтотрофные бактерии</i>	30
2.2.2.1. Гомоацетатные бактерии.....	30
2.2.2.2. Метанобразующие бактерии.....	32
2.3. МИНЕРАЛИЗАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКОГО ВЕЩЕСТВА	36
2.3.1. <i>Углеводородокисляющие бактерии</i>	37
2.3.2. <i>Целлюлозоразлагающие бактерии</i>	40
2.4. КРУГОВОРОТ УГЛЕРОДА И КИСЛОРОДА	45
ГЛАВА 3. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ МИКРООРГАНИЗМОВ КРУГОВОРОТА АЗОТА.....	47
3.1. АЗОТФИКСАЦИЯ: БИОХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ И МИКРООРГАНИЗМЫ, СПОСОБНЫЕ К ЭТОМУ ПРОЦЕССУ	47
3.2. АММОНИФИКАЦИЯ	50
3.3. АВТОТРОФНАЯ И ГЕТЕРОТРОФНАЯ НИТРИФИКАЦИЯ.....	53
3.4. ВОССТАНОВЛЕНИЕ СОЕДИНЕНИЙ АЗОТА (НИТРАТНОЕ ДЫХАНИЕ, ДЕНИТРИФИКАЦИЯ, АССИМИЛЯЦИОННАЯ НИТРАТРЕДУКЦИЯ).....	55
3.5. КРУГОВОРОТ АЗОТА	57
ГЛАВА 4. ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ МИКРООРГАНИЗМОВ КРУГОВОРОТА СЕРЫ	59
4.1. ТРАНСФОРМАЦИЯ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ СЕРЫ И ОБРАЗОВАНИЕ H ₂ S.....	59
4.2. АССИМИЛЯЦИОННОЕ И ДИССИМИЛЯЦИОННОЕ ВОССТАНОВЛЕНИЕ СУЛЬФАТОВ: СУЛЬФАТВОССТАНАВЛИВАЮЩИЕ БАКТЕРИИ	60
4.3. СЕРОВОССТАНАВЛИВАЮЩИЕ БАКТЕРИИ.....	66
4.4. СЕРО- И СЕРОВОДОРОДОКИСЛЯЮЩИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ	69
4.5. КРУГОВОРОТ СЕРЫ	70
ГЛАВА 5. ЗНАЧЕНИЕ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ МИКРООРГАНИЗМОВ В КРУГОВОРОТЕ ФОСФОРА	72
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	75
СЛОВАРЬ ТЕРМИНОВ	76
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА.....	79

Филина Наталия Юрьевна
Верховцева Н. . . адежда Владимировна

Экологическая физиология микроорганизмов
Часть 1
Физиология микроорганизмов

Редактор, корректор А.А. Антонова
Компьютерная верстка И.Н. Ивановой

Лицензия ЛР № 020319 от 30.12.96.

Подписано в печать 03.05.2001. Формат 60x84/16.
Бумага тип. Усл. печ. л. 5,35. Уч.-изд. л. 5,2.
Тираж 100 экз. Заказ

Оригинал-макет подготовлен
редакционно-издательским отделом ЯрГУ.

Отпечатано на ризографе.

Ярославский государственный университет.
150000 Ярославль, ул. Советская, 14.