

Экология микроорганизмов

Учебное пособие

Гуреева М.В.

Грабович М.Ю.

Рецензент: Корнеева Ольга Сергеевна, д.б.н., профессор, зав. кафедрой биохимии и биотехнологии Воронежского государственного университета инженерных технологий

Место подготовки пособия: Воронежский государственный университет, медико-биологический факультет, кафедра биохимии и физиологии клетки

Точный читательский адрес:

студенты 3 курса, специальность 05.03.06 Экология и природопользование

студенты 2 курса магистратуры, специальность 06.04.01 Биология

Оглавление

Введение.....	6
1. Основные понятия общей экологии: абиотические факторы (аутэкология), популяции (демэкология), сообщества (синэкология), экосистемы.....	8
2. История и основные этапы развития микробиологической экологии	11
3. Экофизиология микроорганизмов.....	14
3.1. Отношение к температуре	14
3.2. Кислотность среды	16
3.3. Активность воды и соленость	17
3.4. Редокс-потенциал и кислород	17
3.5. Свет	18
3.6. Концентрация питательных веществ.....	19
3.7. Местоположение.....	19
3.8. Дифференциация и переживание неблагоприятных условий.....	20
3.9. Экологические ниши микроорганизмов.....	21
3.10. Экстремофильные микроорганизмы	22
3.10.1. Классификация экстремофильных микроорганизмов.....	24
4. Особенности экологической стратегии микроорганизмов во взаимоотношениях с микроорганизмами, животными и растениями	27
4.1. Экологические стратегии микроорганизмов	27
4.1.1. r- и K-стратегии	27
4.1.2. Континуум копиотрофии-олиготрофии.....	28
4.1.3. Концепция конкурент, стрессоустойчивый, рудеральный (C-S-R)	30

4.2. Взаимодействие микроорганизмов и растений	32
4.2.1. Производство и разрушение микробами химических соединений	33
4.2.2. Фитопатогены	33
5. Круговорот биогенных элементов.....	36
5.1. Цикл серы	36
5.1.1. Восстановление сульфатов	38
5.1.1.1. Разложение органических веществ	38
5.1.1.2. Анаэробное окисление метана (АОМ) сульфатом	40
5.1.1.3. Сульфатредуцирующие микроорганизмы (SRM).....	42
5.1.2. Окисление сульфидов	43
5.1.2.1. Специализированные окислители сульфида.....	45
5.1.2.2. Образование пирита.....	47
5.1.2.3. Сульфидизация органических веществ	48
5.2. Цикл азота	49
5.2.1. Денитрификация	51
5.2.2. Диссимиляционное восстановление нитратов до аммония (аммификация)	55
5.2.3. Нитрификация	56
5.2.3.1. Автотрофная нитрификация	57
5.2.3.2. Гетеротрофная нитрификация	59
5.2.3.3. Комаммокс	59
5.2.4. Анаммокс	61
5.2.5. Азотфиксация.....	64
5.3. Цикл фосфора	69
6. Микробные процессы в биотехнологии окружающей среды	74

6.1. Роль микроорганизмов в очистке воды.....	74
6.2. Биodeградация.....	76
6.2.1. Биodeградация пластиков.....	76
6.2.2. Биodeградация нефти.....	86
6.3. Биоремидиация загрязненных почв и грунтов	92
6.4. Биотехнология металлов.....	97
Литература	101

Введение

В настоящее время микробная экология переживает революцию, которая отразится на микробиологии, экологии и науке об экосистемах. Быстрое накопление молекулярных данных раскрывает огромное микробное разнообразие, большое количество некультивируемых микробных групп и новые микробные функции. Огромное количество данных требует применения теории для обеспечения организации, структуры, механистического понимания и, в конечном итоге, предсказательной силы, имеющей практическую ценность, но применение теории в микробной экологии в настоящее время очень ограничено.

Бактерии и археи играют важную роль в процессах земной системы. Они распространены повсеместно, обладают огромной метаболической и физиологической универсальностью и важны практически для всех биогеохимических циклах - подсчитано, что микробный углерод и азот, соответственно, эквивалентны и в десять раз превышают запасы углерода и азота в растениях. Несмотря на небольшие размеры ($\sim 10^{-6}$ м), они многочисленны (более 10^{30} особей во всем мире). Их филогенетическое и физиологическое разнообразие значительно больше, чем у животных и растений, и их взаимодействия с другими формами жизни, соответственно, более сложны.

Понимание экологии микроорганизмов, возможно, является одной из самых серьезных интеллектуальных проблем, стоящих перед современной экологией. Несмотря на это, применения теории в микробной экологии крайне не хватает. Подобно тому, как экологическая теория возникла из естествознания, чтобы делать обобщенные выводы из конкретных наблюдений за организмами в их среде, так и микробиологам нужна теория, чтобы интерпретировать множество наблюдений, которые были сделаны с тех пор, как ван Левенгук впервые увидел «анималкулы» более 300 лет назад. С ростом

зависимости от конкретных микробных процессов (например, очистка сточных вод, промышленное химическое производство, фармацевтическое производство и биоремедиация) и осознанием того, что многие неспецифические микробные процессы, такие как биогеохимический цикл, необходимы для устойчивости экосистемы, понимание факторов, которые контролируют эти процессы, имеют решающее значение.

Для экологии растений и животных существует устоявшаяся теория, но различия между микроорганизмами и «макро» организмами и степень, в которой эти различия ограничивают применимость существующей теории к микробной экологии, часто создают тупик, который молчаливо принимается и редко подвергается сомнению. Обычно упоминаемые различия включают небольшой размер микроорганизмов, высокие темпы роста популяции, высокие темпы и степень распространения, огромное количество микроорганизмов и уникальные аспекты их биологии (такие как парасексуальность или чрезвычайно выносливые стадии покоя). Однако широта распространения многих из этих признаков среди микроорганизмов в природе неизвестна. Более того, наличие этих признаков не обязательно препятствует применению существующей экологической теории к микроорганизмам. Кроме того, относительно большие масштабы времени и пространства, в которых изучается большинство микроорганизмов, не обязательно препятствуют применению существующей теории. Задача, стоящая перед микробными экологами, да и вообще всеми экологами, состоит в том, чтобы найти соответствующий теоретический подход к организму, системе, масштабу и интересующему вопросу (Prosser et al., 2007).

1. Основные понятия общей экологии: абиотические факторы (аутэкология), популяции (демэкология), сообщества (синэкология), экосистемы

Микроорганизмы обитают во всех природных средах и являются обязательными компонентами любой экологической системы и биосферы в целом. Они обнаруживаются в почве, воде, воздухе, на растениях, в организме человека и животных. Выяснение экологии микроорганизмов служит основой для понимания явлений паразитизма, природно-очаговых и зоонозных заболеваний, а также для разработки противопаразитических мероприятий в борьбе с различными инфекционными болезнями.

Поскольку экология микроорганизмов является частью общей экологии, в ней используются все термины общей экологии.

Понятие экология ввел в 1866г. немецкий зоолог Эрнст Геккель. Оно состоит из двух греческих слов: *oikos* - дом, жилище, местопребывание и *logos* - слово, учение. Следовательно, экология - это наука о доме и месте пребывания. Э.Геккель определил экологию как науку о взаимоотношениях живых организмов с окружающей средой, в которую входят все условия существования. В дальнейшем это понятие значительно расширилось. По мере развития технического прогресса экология приобрела новое качество: научной основы для рационального (разумного) природопользования, охраны окружающей среды и прогноза изменения окружающей среды под воздействием человека.

В современном понимании:

ЭКОЛОГИЯ - это наука о взаимоотношениях живых организмов со средой обитания и закономерностях изменений организмов и их сообществ под воздействием природных и антропогенных факторов.

В экологии выделяется несколько разделов.

Аутэкология — раздел экологии, изучающий взаимоотношения организма с окружающей средой. Предметом изучения данного раздела является воздействие абиотических факторов на организм. Абиотические факторы по их физической природе и воздействию на организм могут значительно отличаться друг от друга, однако характер зависимости показателей жизнедеятельности организма от уровней этих факторов очень схож.

Для любого абиотического фактора существует интервал, в пределах которого показатели состояния организма изменяются мало или не меняются вовсе, оставаясь на оптимальном уровне. Соответственно, этот интервал называется *зона или область оптимума*. Более низкие уровни фактора не обеспечивают нормальное функционирование организма, и называются *зоной лимитирования*. Избыточные значения фактора также могут подавлять жизнедеятельность организма и называются *зоной ингибирования*.

Существуют также крайне высокие и крайне низкие значения фактора, которые организм уже не в состоянии переносить. Крайние пределы изменения фактора, при которых возможно существование организма, называются *пределами толерантности*. Организмы с широкими пределами толерантности называют *эврибионтами*, а организмы, способные существовать лишь в узких пределах определенного фактора – *стенобионтами*.

Существует также огромное количество абиотических факторов, для которых значение экологического оптимума в принципе лишено смысла. К ним относятся *ксенобиотики* – вещества, как правило ядовитые, не существовавшие в природе до того как были синтезированы человеком. (Нетрусов, 2014)

Демэкология, экология популяций — раздел общей экологии, объектами изучения которого являются изменение численности популяций, отношения групп внутри них. В рамках демэкологии выясняются условия, при

которых формируются популяции. Демэкология описывает колебания численности различных видов под воздействием экологических факторов и устанавливает их причины.

Популяция - любая способная к самовоспроизведению совокупность особей одного вида, более или менее изолированная в пространстве и времени от других аналогичных совокупностей того же вида.

Синэкология — раздел экологии, изучающий многовидовые сообщества организмов — *биоценозы*.

Биоценоз, или сообщество – это система надорганизменного уровня, имеющая специфические свойства и характеристики, отличающие ее от популяции или организма. К таким характеристикам относят:

Видовой состав сообщества, то есть перечень видов, из которого оно состоит;

Видовое богатство, или биоразнообразие, то есть число видов в сообществе;

Наличие разнообразных биоценотических связей между видами, самые важные из которых – *трофические (пищевые) связи*.

Одно из основных понятий экологии - *экосистема*, или экологическая система. Это биологическая система (*биогеоценоз*), состоящая из сообщества живых организмов (*биоценоз*), среды их обитания (*биотоп*), системы связей, осуществляющей обмен веществ и энергии между ними.

С точки зрения структуры в экосистеме выделяют:

- климатический режим, определяющий температуру, влажность, режим освещения и прочие физические характеристики среды;
- неорганические вещества, включающиеся в круговорот;
- органические соединения, которые связывают биотическую и абиотическую части в круговороте вещества и энергии;
- продуценты — организмы, создающие первичную продукцию;

- макроконсументы, или фаготрофы, — гетеротрофы, поедающие другие организмы или крупные частицы органического вещества;
- микроконсументы (сапротрофы) — гетеротрофы, в основном грибы и бактерии, которые разрушают мёртвое органическое вещество, минерализуя его, тем самым возвращая в круговорот.

Последние три компонента формируют биомассу экосистемы.

С точки зрения функционирования экосистемы выделяют следующие функциональные блоки организмов (помимо автотрофов):

- биофаги — организмы, поедающие других живых организмов,
- сапрофаги — организмы, поедающие мёртвое органическое вещество.

Данное разделение показывает временно-функциональную связь в экосистеме, фокусируясь на разделении во времени образования органического вещества и перераспределении его внутри экосистемы (биофаги) и переработки сапрофагами. Между отмиранием органического вещества и повторным включением его составляющих в круговорот вещества в экосистеме может пройти существенный промежуток времени, например, в случае соснового бревна, 100 и более лет.

Все эти компоненты взаимосвязаны в пространстве и времени и образуют единую структурно-функциональную систему.

2. История и основные этапы развития микробиологической экологии

Экология микроорганизмов является наукой, которая специальным образом изучает взаимоотношения между микроорганизмами и окружающей средой.

Термин «микробная экология» стал широко употребляться в середине XX века, однако предпосылки для создания данной науки появились значительно раньше. Еще Левенгук проводил экологически ориентированные ра-

боты с микробами: наблюдал за ними в капле дождевой воды (их естественной среде обитания) и выявил действие перца на микроорганизмы (влияние окружающей среды). В конце XIX – начале XX века С.Н. Виноградский и Бейеринк разработали принципы элективных культур, что можно считать рождением науки «экология микроорганизмов». Виноградскому принадлежит идея использовать градиенты света, сульфида и кислорода («колонка Виноградского») для изучения природных популяций сульфидокисляющих фотоавтотрофных бактерий, сульфатвосстанавливающих и хемоавтотрофных сульфид- и сероокисляющих бактерий, одновременно присутствующих в одном местообитании и осуществляющие взаимозависимые процессы (рис. 1).

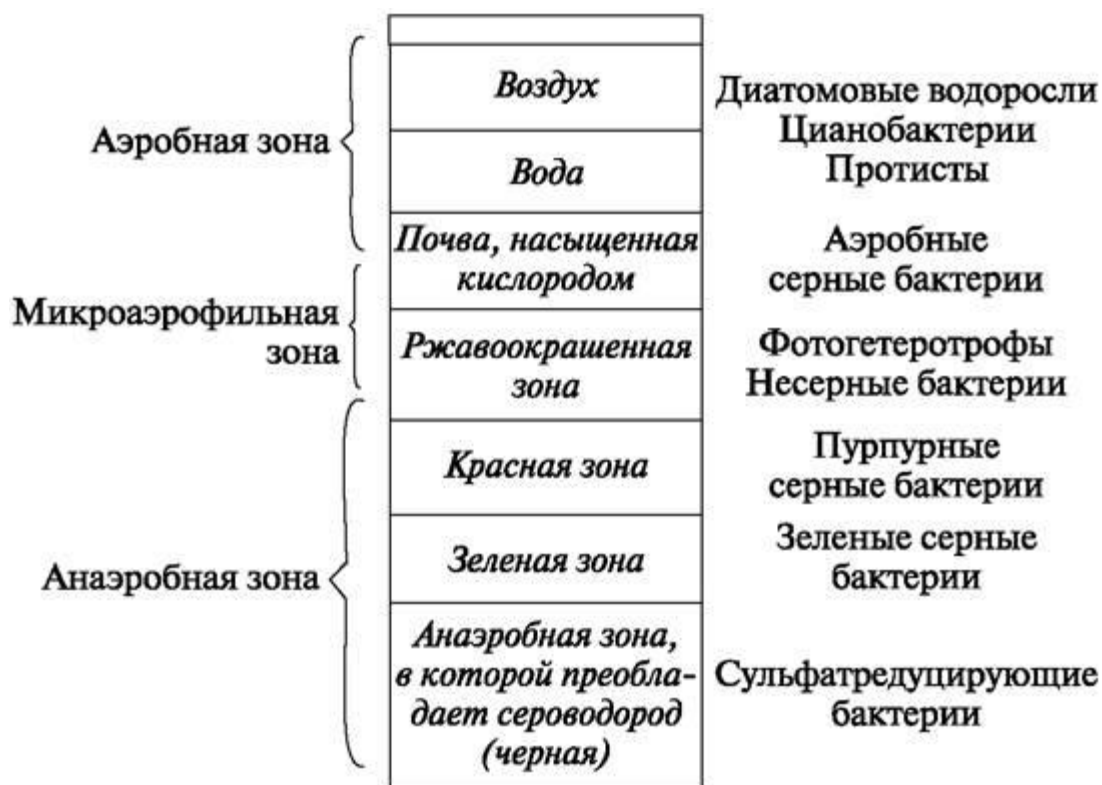


Рис. 1. Колонка Виноградского.

«Колонка Виноградского» – модель прокариотной экосистемы в высоком стеклянном цилиндре, где разложение органического вещества в иле с гипсом на дне даёт сероводород (не за счёт гниения, как думали тогда, а за

счёт ещё неизвестной в то время сульфатредукции), а выше развиваются стратифицированные слои пурпурных серобактерий (за счёт неизвестного тогда аноксигенного фотосинтеза). В целом колонка моделирует сообщество цианобактериального мата, который сейчас служит прототипом прокариотной биосферы докембрия – специального объекта исследования сообществ микроорганизмов. «Колонка Виноградского» стала «тотемом», символом общей микробиологии.

Группы бактерий развиваются вдоль градиента изменяющихся условий: сверху вниз в среде возрастает содержание сульфидов, убывает содержание кислорода. Цианобактерии используют для синтеза первичной продукции энергию света (фотосинтез), железooksисляющие бактерии, пурпурные несерные бактерии, пурпурные серные бактерии и зелёные серные бактерии образуют органическое вещество в ходе хемосинтеза.

Гетеротрофные бактерии, располагающиеся под слоем цианобактерий, получают энергию за счёт окисления органического вещества с помощью кислорода, а сульфатвосстанавливающие бактерии – с помощью кислорода, входящего в состав сульфатов (осуществляя анаэробное дыхание, в данном случае – сульфатное) (Заварзин, 2006).

Последующее развитие микробиологии было связано с выделением микроорганизмов из природных местообитаний, определением их метаболического потенциала и роли в биогеохимических циклах азота и серы. В течение XX века было выделено в чистые культуры и описано множество новых видов микроорганизмов. Они были обнаружены повсюду: в почве, воде, воздухе, в животных и растениях. Было показано, что микроорганизмы способны жить в широком диапазоне температуры, pH, солёности. Однако практически ни в одной из природных проб не встречаются организмы в виде чистых культур, что указывает на наличие большого количества межвидовых

взаимодействий в природных экосистемах. Также было продемонстрировано, что микроорганизмы обладают сенсорами, то есть способны к фото- и хемотаксису.

Всесторонним прорывом в микробной экологии стала разработка высокопроизводительных методов секвенирования ДНК и РНК и широкого спектра молекулярных подходов, основанных на быстро растущей базе данных информации о последовательностях. Методы количественной ПЦР, флуоресцентной гибридизации *in situ*, секвенирования одноклеточного генома и т. д. лежат в основе большей части того, что мы сейчас знаем о генах, клетках и сообществах микроорганизмов. Большая возможность метагеномного секвенирования для идентификации геномов, собранных из метагеномов (MAG), привела к открытию многих некультивируемых линий бактерий и архей (Anantharaman et al., 2018).

3. Экофизиология микроорганизмов

Развитие микроорганизма в природе определяется его биологическими особенностями, энергетическим обменом, кинетикой роста, регуляцией, способностью к адаптации, стратегией, границами устойчивости к факторам внешней среды и т.д. Изучение экофизиологии позволяет представить возможную роль микроорганизма в сообществе, его экологическую нишу, потенциальное место в экосистеме.

Рассмотрим основные физико-химические факторы, характеризующие условия среды обитания микроорганизмов.

3.1. Отношение к температуре

Действие температуры на рост микроорганизмов может быть обусловлено ее влиянием на скорость химических реакций и на состояние вязкости мембран или конформацию белков. В отличие от теплокровных животных, микроорганизмы не в состоянии регулировать свою температуру, хотя их

жизнедеятельность может вызывать изменение температуры окружающей среды (например, в «саморазогревающихся» кучах компоста»).

С повышением температуры скорость роста микроорганизмов вначале увеличивается, достигая максимальной. Дальнейшее увеличение температуры ведет к необратимой инактивации клеточных компонентов, прежде всего денатурации белка и нуклеиновых кислот, и к гибели клеток. Для большинства микроорганизмов характерен весьма незначительный интервал между оптимальной и максимальной температурой. При минимальной температуре и дальнейшем ее понижении микроорганизмы в большинстве своем не гибнут, а могут длительное время (до наступления теплого сезона) сохранять жизнеспособность. Это свойство микроорганизмов используется при их длительном хранении в коллекциях культур.

По отношению к температуре микроорганизмы подразделяют на несколько групп:

- *Мезофилы*. Растут при умеренной температуре. Оптимальная температура роста близка к температуре человеческого тела (30-37 °С) или чуть ниже (20-25 °С), а максимальная обычно соответствует максимальному нагреву почвы (40-45 °С).
- *Психрофилы*. Растут при температурах ниже 20 °С (оптимум ниже 15 °С). Одна из причин психрофилии – тепловая денатурация белков при повышении температуры.
- *-Психротрофные (психроактивные) микроорганизмы*. Также растут при 0 °С, но в отличие от психрофилов имеют более высокие оптимальную (20-25 °С) и максимальную (35 °С) температуры роста. Это приспособление микроорганизмов к сезонным изменениям климата.
- *Термофилы* – это микроорганизмы, имеющие оптимум развития при температуре выше 50 °.

3.2. Кислотность среды

Кислотность среды является важным фактором, определяющим существование прокариот. С одной стороны, концентрация ионов водорода непосредственно влияет на клетку, ее электрический заряд, состояние мембраны, возможность протекания окислительно-восстановительных реакций, с другой стороны, - косвенно, определяя ионное состояние металлов, кислот, их доступность и токсичность. Значения реакции среды различных природных вод и растворов, где развиваются микроорганизмы (от pH 1-2 в кислых источниках и рудничных стоках до pH 10-12 в содовых озерах), покрывают практически весь диапазон возможных значений pH (0-14). Жизнедеятельность микроорганизмов может приводить к изменению pH среды. Окисление сульфида до серной кислоты тионовыми бактериями, нитрификация и многие виды брожения вызывают подкисление среды. К подщелачиванию среды приводит дезаминирование белков и аминокислот аммонификаторами, разложение мочевины уробактериями, а также фотоассимиляция CO₂.

По отношению к pH среды микроорганизмы подразделяются на ряд физиологических групп.

Нейтрофилы развиваются при pH среды близком к нейтральному (pH 6-8). Это условия большинства природных водоемов, многих почв, растительных и животных организмов.

Ацидофилы – микроорганизмы, развивающиеся при низких значениях pH (pH < 6). Среди них выделяют облигатные и факультативные (*ацидотолерантные*), способные расти в нейтральных условиях. Примером ацидофилов могут служить молочнокислые, уксуснокислые бактерии, некоторые виды грибов.

Алкалифилы – микроорганизмы, предпочитающие значения pH 8,5 и выше. Уробактерии, многие цианобактерии могут быть факультативными алкалифилами, то есть способны расти и в нейтральной среде.

3.3. Активность воды и соленость

Важной характеристикой местообитаний микроорганизмов является доступность воды, которую выражают как величину ее активности (a_w), рассчитываемую как отношение давления пара жидкости к давлению пара дистиллированной воды. Значения a_w , при которых возможен рост микроорганизмов, составляют от 0,99 до менее 0,7.

Одной из причин снижения активности воды может быть концентрация солей. По отношению к солености микроорганизмы подразделяют на ряд групп.

Пресноводные (негалофильные) микроорганизмы. Обычно развиваются при солености $\leq 0,01\%$, могут выдерживать соленость до 3%.

Галотолерантные организмы имеют оптимум солености около 3,5%. Это большинство морских микроорганизмов, например представители родов *Alteromonas*, *Vibrio*, *Photobacterium*.

Умеренные галофилы растут в диапазоне солености 5-15%.

Экстремальные галофилы развиваются в растворах начиная от концентрации NaCl 12-15 % и до насыщенных растворов.

Помимо концентрации солей повышенное осмотическое давление и низкая активность воды создаются высокой концентрацией органических веществ. Приспособленные к таким условиям организмы называют *осмофилами* – это спироплазмы, размножающиеся в нектаре цветов, мицелиальные грибы и дрожжи, обитающие в вареньях, сиропах, сухофруктах.

3.4. Редокс-потенциал и кислород

Микроорганизмы используют энергию окислительно-восстановительных реакций, поэтому одним из важнейших факторов, влияющих на их развитие, является окислительно-восстановительный потенциал Eh. Кислород является фактором, определяющим окислительно-восстановительные усло-

вия среды, а также служит важнейшим катаболическим субстратом, акцептором электронов для аэробных микроорганизмов. По отношению к кислороду микроорганизмы делятся на *аэробные*, использующие O_2 как акцептор электронов при дыхании, и *анаэробные*, не нуждающиеся в O_2 . К аэробам относятся многие тионовые, нитрифицирующие бактерии, разнообразные организмы, в том числе большинство актиномицетов и грибов. *Микроаэрофилы* (например водные спириллы) нуждаются в низких концентрациях O_2 и обладают повышенным сродством к нему, что позволяет им развиваться в зонах пониженной концентрации O_2 .

Выделяют также *факультативных аэробов* (факультативных анаэробов), которые могут переключаться с кислородного метаболизма на бескислородный, например с дыхания на брожение. Классическим примером их служат дрожжи. К ним относятся и некоторые фототрофы (например пурпурные несерные бактерии), осуществляющие фотосинтез в анаэробных условиях на свету, но способные к анаэробному дыханию в темноте.

3.5. Свет

Солнечный свет, используемый в реакциях фотосинтеза, служит источником энергии для подавляющего большинства экосистем на Земле. Наличие света для фототрофов является лимитирующим фактором, в связи с чем представители данной группы микроорганизмов выработали ряд приспособлений для более эффективного улавливания света. Большинство фототрофных организмов способны к фототаксису и могут занимать местоположение с оптимальной освещенностью. Другим способом адаптации к свету является изменение в зависимости от интенсивности освещения содержания фотосинтетических пигментов, количества тилакоидов, светособирающих ловушек, площади фотосинтетических мембран.

Фототрофные микроорганизмы различаются по отношению к освещению: от светолюбивых до обитающих при низкой освещенности на глубине водоемов.

Рассматривая свет в качестве экологического фактора, важно отметить и антимикробное действие коротковолнового излучения. Одним из механизмов адаптации к свету высокой интенсивности и защиты от активных форм фотосенсибилизированного кислорода служит синтез каротиноидных пигментов. Характерным примером может служить яркая окраска микроорганизмов, обитающих в условиях высокой освещенности: в воздухе, на поверхности скал.

3.6. Концентрация питательных веществ

По отношению к концентрации субстрата все микроорганизмы делят на *копиотрофы*, организмы-колонизаторы, растущие при его высокой концентрации, и *олиготрофы* – преимущественно медленно растущие формы, использующие питательные вещества в очень низкой концентрации. У олиготрофов имеются специальные приспособления к росту при низких концентрациях питательных веществ: форма клеток, обеспечивающая высокое отношение поверхности к объему (например, у спиروهет), образование выростов у протейобактерий, или мицелиальная организация, позволяющая захватывать значительные пространства, осуществляя «активный поиск пищи», а также подвижность и связанные с ней реакции таксиса в направлении субстрата.

3.7. Местоположение

Подавляющее большинство микроорганизмов встречается в природе в иммобилизованном (прикрепленном) состоянии: в виде биопленок, образуя погруженные в слизь микроколонии, или в виде наростов на твердых субстратах. Большое значение прикрепление имеет для обитающих в текучих водах кренофильных микроорганизмов. Многие из них имеют форму одетой

чехлом нити, один конец которой прикрепляется к субстрату, а другой конец, омываемый текущей водой с растворенными питательными веществами, развевается в потоке. Прикрепленные микроорганизмы находятся в ином физиологическом состоянии по сравнению с взвешенными в воде подвижными бактериями. Это может быть обусловлено генетически контролируемой физиологической дифференциацией, сменой стадии жизненного цикла (например, *Caulobacter* из подвижной стадии расселения переходит в прикрепленную репродуктивную стадию с характерным образованием стебелька). Кроме того, условия, создающиеся в биопленке или макроскопических полисахаридных структурах (например, вязкость, влажность, градиент O₂, содержание питательных веществ, наконец, плотность популяции микроорганизмов и расстояния между клетками вплоть до связанных с ними «социальных» явлений и «кворум-эффекта»), значительно отличаются от условий окружающей биопленку среды. Яркое выражение это получает в «архитектуре» микробных сообществ.

3.8. Дифференциация и переживание неблагоприятных условий

Многие микроорганизмы имеют сложные циклы развития и способны к дифференциации, которая может быть естественной стадией в цикле их развития или является ответом на изменение условий. Важнейшее значение для выживания в неблагоприятных условиях имеет образование покоящихся форм: цист, конидий, акинет, экзо- и эндоспор. Наиболее устойчивы к разнообразным неблагоприятным физическим и химическим воздействиям эндоспоры (образуются бактериями *Bacillus*, *Clostridium* и др.), способные сохранять жизнеспособность в течение десятков, сотен и более лет.

Другим случаем приспособления к неблагоприятным условиям некоторые авторы рассматривают так называемое некультивируемое состояние (потеря способности прорасти на питательных средах), свойственное некоторым не образующим спор бактериям. Это регулируемый многостадийный

процесс, возникающий в ответ на снижение температуры, голодание и ряд других стрессовых факторов.

3.9. Экологические ниши микроорганизмов

У каждого микроорганизма имеется определенное *местообитание* — участок пространства, где он живет, размножается, где его можно обнаружить. Понятие *экологическая ниша* подразумевает совокупность условий, в которых возможно существование вида. В общей экологии экониша рассматривается как абстрактное многомерное пространство, в котором каждая ось (а число их может быть бесконечно велико) представляет собой некоторый фактор. По мнению Г. А. Заварзина, фундаментальной нише в микробиологии наиболее соответствует физиологическая группа организмов (т.е. группа с определенными функциональными свойствами), например, азотфиксаторы, нитрификаторы, сульфатредукторы, метаногены и т.д.

Экологические ниши могут быть узкими и широкими, что связано с узкой (специалисты) или широкой (генералисты, например, псевдомонады или пурпурные несерные бактерии) специализацией организмов по метаболическим возможностям.

Согласно правилу Гаузе, два вида со сходными пищевыми потребностями не могут занимать одну экологическую нишу. Поэтому реализованная экологическая ниша, т. е. занимаемая организмом в действительности, всегда оказывается более узкой, чем потенциальная, т.е. та, которую организм с данными свойствами мог бы занять. Например, в чистой культуре многие пурпурные серные бактерии хорошо растут не только за счет использования H_2S , но и как органотрофы (скажем, на среде с малатом), однако в природе в этих условиях их вытесняют более конкурентоспособные пурпурные несерные бактерии. Другой типичный пример — организмы-целлюлозолитики, кото-

рые могут предпочитать глюкозу и другие легко метаболизируемые субстраты, однако вследствие низкой конкурентоспособности вынуждены ограничиваться более трудно утилизируемой целлюлозой.

Связи между нишами могут быть *трофическими* (функциональными) и *топическими* (по характеру местообитания) (Нетрусов, 2014).

3.10. Экстремофильные микроорганизмы

Экстремальные микроорганизмы, также называемые «экстремофилами» (от латинского *extremus*, «экстремальный», и греческого *philiā* (φιλία), «любовь»), - это организмы, которые процветают в физически или геохимически экстремальных условиях, которые обычно губительны для большей части жизни на Земле. Таким образом, эти микроорганизмы обитают в средах, характеризующихся чрезвычайно экстремальными температурами и / или значениями pH, высокой или низкой ионной силой, высоким давлением или недостаточной доступностью питательных веществ. Чтобы расти в оптимальных условиях в этих экстремальных экосистемах, они развили молекулярные адаптации, влияющие на физиологию, метаболизм, передачу сигналов клеток и т. д. Считалось, что экстремофильные организмы немногочисленны, а их присутствие ограничено экстремальными экосистемами. Однако исследования, проведенные за последние два десятилетия, показали, что они более разнообразны и многочисленны, чем предполагалось изначально. Экстремофильные организмы широко распространены во всех трех доменах жизни, но большинство из них принадлежат к домену Археи. Экстремофильные организмы можно классифицировать по разным критериям, но наиболее полезная классификация устанавливает группы на основе условий окружающей среды, в которых они оптимально растут (см. ниже). Из-за экстремальных закономерностей, характеризующих их метаболизм и физиологию, экстремофилы стали хорошими моделями обучения в следующих областях знаний:

(i) *Понимание происхождения жизни на Земле.* Изучение экстремофилов улучшает понимание физико-химических параметров, определяющих жизнь на Земле, и может дать представление о том, как возникла жизнь на Земле. Постулаты, подтверждающие, что примитивная Земля имела экстремальные условия окружающей среды и что жизнь возникла в жарких средах, привели к теории, что экстремофилы могут быть остатками первобытных форм жизни и, таким образом, являются моделями древней жизни.

(ii) *Изучение возможности существования внеземной жизни (астробиология).* Экстремофилы, особенно те, которые способны существовать под действием нескольких экстремальных факторов, являются хорошими модельными организмами для проведения исследований в различных дисциплинах, охватывающих такие области, как изучение адаптации к суровым условиям, биогеохимический круговорот элементов. Таким образом, исследования экстремофилов имеют значение для изучения происхождения жизни и поиска жизни на других планетных и небесных телах. Особый интерес представляют психрофилы, так как большинство тел Солнечной системы заморожены. С другой стороны, некоторые экстремофильные микробы проявляют необычные биохимические свойства, которые также представляют интерес для астробиологии, поскольку внеземная среда может благоприятствовать жизненным формам, построенным из элементов, которые обычно не встречаются в живых организмах на Земле. Таким образом, знания о биогеохимических циклах (C, N, S и O) в экстремальных условиях могут быть использованы в качестве модели для изучения круговорота элементов в астробиологии.

(iii) *Возможные применения в биотехнологии.* Благодаря молекулярной адаптации экстремофилов к окружающей среде на их примере открывается множество новых молекул и даже метаболических путей. Это важная

область для исследований и промышленного производства коммерчески значимых биомолекул, таких как каротиноиды (пигменты), антибиотики, ферменты, биоразлагаемые пластики, например, полигидроксиалканоаты. Экстремофильные ферменты, например, полезны в промышленных процессах из-за их способности оставаться активными в жестких условиях. Например, экстремофилы-денитрификаторы могут использоваться в биоремедиации и в качестве источника ферментов для создания электродов для определения нитратов / нитритов.

3.10.1. Классификация экстремофильных микроорганизмов

Экстремофилов можно разделить на две большие группы:

1) экстремофильные организмы, которым для роста требуются одни или несколько экстремальных условий;

2) экстремотолерантные организмы, которые могут выдерживать экстремальные значения одного или нескольких физико-химических параметров, хотя оптимально растут в «нормальных» условиях.

Напротив, термин «*мезофил*» относится к микробам, которые лучше всего растут при умеренной температуре (обычно от 20 до 45 ° C) и обычно при pH от 6 до 8. Экстремофильные микроорганизмы в основном классифицируются по условиям, в которых они растут. В таблице 1 представлены основные группы, сформированные по этому критерию. Некоторые экстремофилы адаптируются одновременно к нескольким стрессам, и их называют «полиэкстремофилами». Это случай галоалкалофилов (комбинация галофильных и алкалофильных профилей: концентрация соли от 2 до 4 М и значения pH 9 или выше) или термоацидофилов (комбинация термофильных и ацидофильных профилей: температуры 70–80 ° C и pH между 2 и 3).

Таблица 1. Классификация экстремофильных микроорганизмов

Термин	Фактор	Пределы
Ацидофилы	pH	≥ 3
Алкалифилы	pH	≥ 9
Галофилы	Высокая концентрация соли	1–4 М
Гипертермофилы и термофилы	Высокая температура	Гипертермофилы: выше 80 °C Термофилы: 45–122 °C
Пьезофилы (также известны как барофилы)	Высокое давление	~1100 бар
Психрофилы (также известны как криофилы)	Низкая температура	≤ -15 °C
Радиофилы (также известны как радиорезистентные)	УФ-излучение, космическое излучение, рентгеновское излучение	От 1500 до 6000 Гр
Ксерофилы	Условия обезвоживания	Относительная влажность $\leq 50\%$

Помимо этих групп экстремофильных микробов, некоторые микробы, растущие в мезофильных условиях, при значениях pH около нейтральных

(6,5–8) и умеренной ионной силе, демонстрируют необычную метаболическую способность: могут переносить или даже метаболизировать значительные концентрации тяжелых металлов или других соединений с токсическим действием для большинства организмов. Это тот случай, когда микробы переносят или метаболизуют мышьяк, кадмий, цинк или ртуть. Однако эти микроорганизмы нельзя считать экстремофилами по классическим определениям. Хотя экстремофилы включают представителей всех трех доменов жизни, то есть бактерий, архей и эукариев, большинство из них относятся к археям. Вот несколько примеров гиперэкстремальных фенотипов: штамм архей *Methanopyrus kandleri* 116 растет при высоких температурах от 98 ° C до 122 ° C, род *Picrophilus* (например, *Picrophilus torridus*) включает наиболее известные в настоящее время ацидофильные организмы, способные расти при pH 0,06. Чрезвычайно галофильные микробы входят в состав семейств *Halobacteriaceae* и *Haloferacaceae*. Среди бактерий стоит упомянуть не только цианобактерии, но и такие роды, как *Thermus* (из которых были выделены несколько ферментов, которые могут быть использованы в биотехнологии) или *Salinibacter*, представители которых обитают в чрезвычайно жарких или соленых средах соответственно. Среди эукариот несколько родов грибов (по отдельности или в симбиозе) были изолированы из экстремальных сред, таких как районы добычи полезных ископаемых, щелочные экосистемы, горячие или холодные пустыни, глубокий океан и гиперсоленые регионы, такие как Мертвое море. Тем не менее, с точки зрения высокой устойчивости к экстремальным условиям, одним из самых впечатляющих эукариотических полиэкстремофилов является тихоходка, микроскопическое беспозвоночное, способное впасть в режим гибернации и, таким образом, выживать при температурах от –272 ° C до 151 ° C, условиях вакуума (наложение экстремального обезвоживания), давление 6000 атм, а также воздействие рентгеновских лучей и гамма-лучей (Martinez-Espinosa, 2020).

4. Особенности экологической стратегии микроорганизмов во взаимоотношениях с микроорганизмами, животными и растениями

Экологическая стратегия – это сформировавшиеся в различных условиях естественного отбора способы взаимодействия организма с окружающей средой. Благодаря разным реакциям определенных организмов на одинаковые изменения условий среды возможно оптимальное развитие популяций, а также переживание ими неблагоприятных условий.

В отличие от экологии животных и растений, существует беспрецедентное разнообразие микроорганизмов с очень разнообразными физиологическими характеристиками даже среди членов одной таксономической принадлежности (например, уровень рода / вида). Следовательно, экстраполяция жизненной стратегии одного микроорганизма на другие близкородственные микроорганизмы может быть ошибочной. В настоящее время остается открытым вопрос, имеет ли ответ микробной активности глубокие корни в филогении. Тем не менее, на основе сходства функционально доминирующих физиологических характеристик (т. е. микробных черт) были сделаны обобщения в попытке создать унифицированную концептуальную модель, в которой определяемая жизненная стратегия представляет собой совокупность физиологических черт, выбранных под давлением абиотической и биотической среды (Но et al., 2017).

4.1. Экологические стратегии микроорганизмов

4.1.1. r- и K-стратегии

Эволюционные стратегии улучшения роста можно разделить на r- или K-стратегии. Первая стратегия соответствует эволюционному увеличению скорости роста, тогда как вторая соответствует увеличению максимального количества организмов или вместимости.

Что определяет стратегии, которые будут приняты в процессе эволюции? В нестабильной или непредсказуемой окружающей среде преобладает

r-стратегия, так как в этом случае ключевую роль играет способность быстрого размножения, а адаптационные механизмы, позволяющие конкурировать с другими организмами, ввиду быстро изменяющихся условий не столь важны. Если окружающая среда более-менее постоянная, то в ней преобладают организмы с K-стратегией, так как в этом случае на первое место выходит способность успешно конкурировать с другими организмами в условиях ограниченных ресурсов. Популяция K-стратегов, как правило, постоянна и близка к максимально возможной в данных условиях (Komori et al., 2018).

4.1.2. Континуум копиотрофии-олиготрофии

Олиготрофия и копиотрофия - физиологические черты. Олиготрофные и копиотрофные микроорганизмы различаются по кинетике роста и средству к субстрату для метаболизма (например, копиотрофы могут характеризоваться более высокой константой Михаэлиса-Ментен, K_s и максимальной удельной скоростью роста), и, следовательно, стабильностью плотности популяции, а также эффективности использования ресурсов и геномным особенностям (например, размер генома, количество оперонов гена рРНК). Хотя консенсуса в отношении того, что строго определяет олиготрофов и копиотрофов, не достигнуто, считается, что микроорганизмы, связанные с этими жизненными стратегиями, обладают определенными физиологическими чертами, которые определяют их реакцию на изменения окружающей среды (например, доступность ресурсов). Многие из этих характеристик, включая размер генома, количество оперонов рРНК, механизмы передачи сигналов и транскрипции, присущи микроорганизмам и отражают их способность эффективно усваивать и использовать ресурсы.

Олиготрофы характеризуются своей способностью расти при низких концентрациях субстрата (например, углерода в нано- и пиколярном диа-

пазоне) и, как правило, обладают более высокой эффективностью использования субстрата. То есть, по сравнению с копиотрофами, олиготрофы имеют более высокий выход биомассы на каждую единицу потребляемого субстрата. Следовательно, олиготрофы демонстрируют относительно медленный рост и менее реагируют на резкую доступность ресурсов. Вместо этого олиготрофы используют бедную питательными веществами среду с низкими потоками энергии. Напротив, копиотрофы более чувствительны к источникам углерода при их наличии.

Помимо углерода, другие ресурсы, такие как наличие азота, также, по видимому, определяют преобладающие жизненные стратегии сообществ почвенных микробов. Считается, что в условиях отсутствия азота преобладают олиготрофы, которые более эффективно поглощают питательные вещества из устойчивых органических веществ почвы, при условии, что другие питательные вещества не являются ограничивающими.

Было сделано несколько постулатов относительно причин, по которым копиотрофы не могут расти при низких концентрациях углеродного субстрата, или, наоборот, неспособность олиготрофов развиваться при высоких уровнях субстрата. Неспособность копиотрофов расти при низкой концентрации субстрата включает в себя относительно более низкое сродство к субстрату в сочетании с отсутствием адекватного механизма регуляции голодания. Неспособность олиготрофов развиваться при высоких уровнях субстрата менее очевидна; постулируемые причины включают дисбаланс роста, вызванный истощением энергии из-за внезапной доступности транспортируемых неметаболических субстратов, и осмотический шок, вызванный импортом внезапно доступных веществ в клетку. Хотя кинетику роста и параметры использования субстрата можно определить с использованием относительно стандартных методологий, отсутствие изолятов мешает охарактеризовать жизненные стратегии подавляющего большинства еще не культивируемых

микроорганизмов в окружающей среде. Следовательно, в экологических исследованиях стратегии микробной жизни обычно выводятся из их относительной реакции на доступность ресурсов, то есть углерода и азота. Ожидается, что копиотрофные микроорганизмы будут расти и увеличиваться в численности при высоких режимах субстрата, тогда как микробные популяции, численность которых увеличивается на поздних сукцессионных стадиях после истощения легкодоступного субстрата, вероятно, олиготрофны. Например, олиготрофы были изолированы в большем количестве на органически управляемых сельскохозяйственных угодьях, где в качестве почвенных добавок использовалось разное количество компостированного навоза, содержащего относительно мало питательных веществ. Следовательно, физико-химический статус почвы (например, биодоступность углерода и азота) может указывать на преобладающую микробную жизненную стратегию в окружающей среде (Ho et al., 2017).

4.1.3. Концепция конкурент, стрессоустойчивый, рудеральный (C-S-R)

Концепция C-S-R Грайма (конкуренты (C), стрессоустойчивые (S) и рудеральные (R) изначально была предложена для растений. Она преодолевает некоторые ограничения других моделей, классифицируя стратегии жизненного цикла растений в соответствии с функциональными характеристиками, связанными с реакциями на два основных фактора окружающей среды, а именно на стресс и повреждение. Под стрессом понимаются устойчивые неблагоприятные условия окружающей среды (например, низкое плодородие почвы и ограниченная доступность света), тогда как повреждение относится к событиям, ведущим к значительной потере функциональной биомассы (например, пожар и ветровал). Структура C-S-R определяет три основные стратегии жизненного цикла. «Конкуренты» преуспевают в условиях низкого стресса и низкого уровня повреждений, где они получают конку-

рентное преимущество за счет задержки воспроизводства, чтобы инвестировать в структуры, которые оптимизируют приобретение ресурсов. «Стрессоустойчивые» переносят неоптимальные условия окружающей среды из-за стратегий сохранения ресурсов, таких как производство долгоживущей биомассы, что увеличивает эффективность использования ресурсов в долгосрочной перспективе. «Рудеральные» справляются с частыми повреждениями, полагаясь на высокую способность колонизации, быстрое производство дешевой биомассы и короткие репродуктивные циклы. Согласно этой схеме, ни один вид не может противостоять одновременно высоким уровням стресса и повреждений, что препятствует существованию четвертой стратегии жизненного цикла.

Помимо исследования растений, структура C-S-R использовалась для изучения функциональных вариаций в сообществах коралловых рифов и микоризных грибов. В микробиологической экологии ее применяли для изучения стратегий жизненного цикла аэробных метанотрофных бактерий.

Аэробные метанотрофы представляют собой уникальную группу микроорганизмов, способных окислять метан до диоксида углерода с помощью фермента метанмонооксигеназы, и на сегодняшний день к ним относится менее 30 родов, принадлежащими филам (*Alphaproteobacteria*, *Gammaaproteobacteria* и *Verrucomicrobia*). Интерпретация функциональных характеристик метанотрофов как жизненных стратегий в рамках концепции корпоративной социальной ответственности позволяет достичь трехстороннего компромисса между членами сообщества с возможностью (i) быстро извлечь выгоду из доступности ресурсов в производственной среде (конкуренты), (ii) повторно колонизировать и установить в средах, подверженных частым нарушениям (рудералы), и (iii) выдерживать и сохранять в неблагоприятных условиях и стрессе (стрессоустойчивые). Следовательно, помимо

использования физиологических признаков, участвующих в захвате ресурсов (например, сродства к субстрату, эффективности использования субстрата) для назначения копиотрофных / олиготрофных жизненных стратегий, континуум C-S-R позволяет классифицировать микроорганизмы на основе целого набора признаков, обеспечивающих устойчивость и выживаемость в суровых условиях. Действительно, многие микроорганизмы, в том числе метанотрофы, возвращаются в обратимое метаболически неактивное состояние (покой) в ответ на неблагоприятные условия (Chagnon et al., 2013).

На рисунке 2 приведена схема использования разными видами метанотрофных бактерий той или иной экологической стратегии при изменении условий окружающей среды (Но et al., 2013).

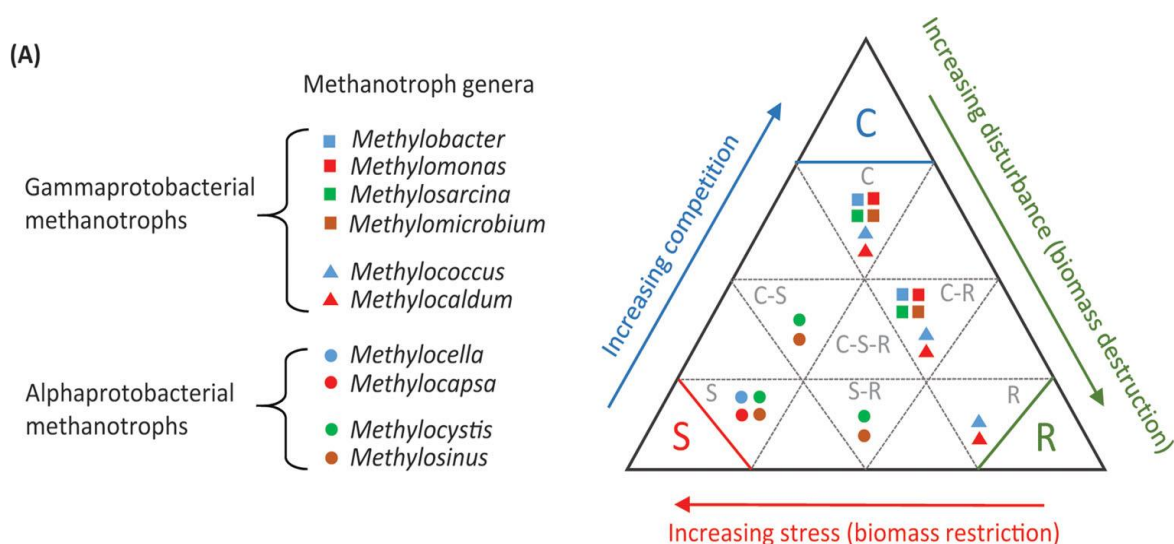


Рис. 2. Преобладающий состав метанотрофного сообщества в почве рисовых полей.

4.2. Взаимодействие микроорганизмов и растений

Различают две основных группы микробно-растительных взаимодействий: производство и разрушение микроорганизмами химических соединений и фитопатология.

4.2.1. Производство и разрушение микробами химических соединений

Получая от растений органическое вещество, почвенные микроорганизмы поставляют им доступные соединения азота и фосфора, синтезируют фитогормоны и витамины, подавляют численность почвенных фитопатогенов.

Схема взаимодействия микробов и растений приведена на рисунке 3 на примере цикла азота.

Газообразный азот переводится в форму аммиака или иона аммония азотфиксирующими бактериями (дiazотрофами). Далее бактерии, осуществляющие первую стадию нитрификации (например, Нитрозомонас) превращают аммиак в нитрит. Бактерии, осуществляющие вторую стадию нитрификации (например, Нитробактер) превращают нитрит в нитрат. Нитрат может усваиваться растениями, а может удаляться из почвенного круговорота азота денитрифицирующими бактериями, которые переводят нитрат в газообразные продукты.

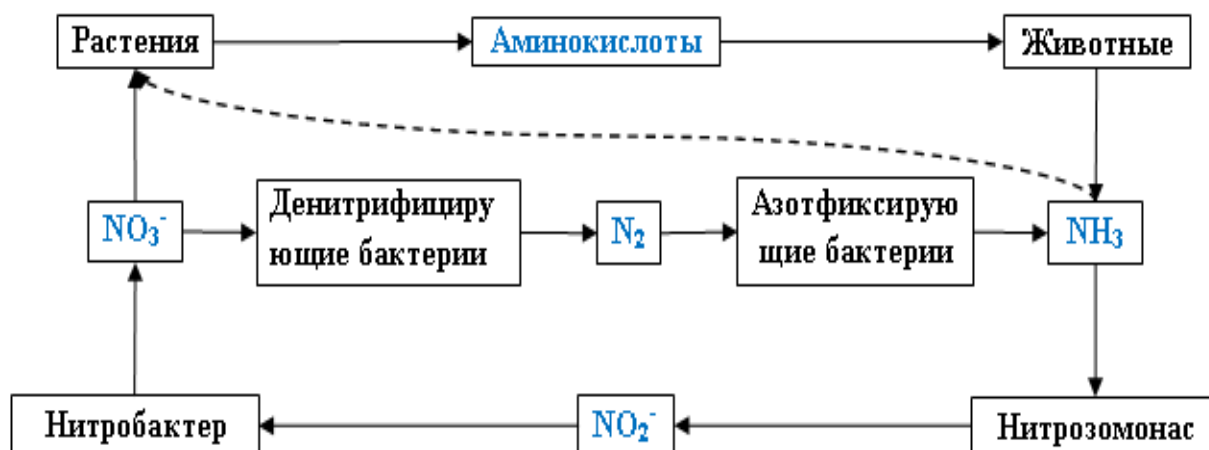


Рис. 3. Взаимодействие растений с бактериями на примере цикла азота.

4.2.2. Фитопатогены

Инфекционные болезни растений вызываются фитопатогенными бактериями. Заражение растений происходит через инфицированные семена,

почву, грунтовые и дождевые воды, насекомых. Главным источником инфекции является почва, так как в ней могут содержаться остатки неперегнивших полностью больных растений.

Фитопатогенные микроорганизмы сравнительно легко могут проникать в растения через естественные образования (чечевички, нектарники, желёзки, корневые волоски) и искусственные повреждения, даже ничтожные царапины. Некоторые микроорганизмы, способны вырабатывать ферменты, гидролизующие кутикулу растений и облегчающие внедрение возбудителя.

Попав в растение и достигнув критической концентрации в количественном отношении, микроорганизмы вызывают заболевания, называемые бактериозами. Различают общие бактериозы - поражение всего растения вследствие распространения возбудителя в сосудистой системе; и местные или очаговые - поражения на листьях, стволах, ветвях, корнях и корневищах, возникающие при интрацеллюлярном распространении микроба.

От начала заражения до момента проявления у растения симптомов болезни проходит инкубационный период, длительность которого различна и зависит от многих факторов: температуры, влажности, света, питания и др.

По совокупности анатомических и физиологических изменений определяют тип болезни растений:

- Камедетечения, смолотечения, слизетечения. Чаще всего вызываются бактериями рода *Erwinia* и грибами (класс *Ascomycetes*), в большинстве наблюдаются у лиственных и хвойных деревьев.
- Сухая и мокрая гниль. При этом размягчаются и разрушаются отдельные участки тканей и органов растения за счет жизнедеятельности бактерий (род *Pectobacterium*) и грибов (класс *Ascomycetes* и *Fungi imperfecti*).
- Мучнистая роса. На листьях и побегах возникает белый налет, который является следствием размножения грибов (класс *Ascomycetes*).

- Пожелтение, увядание, засыхание. Это заболевание чаще всего вызывается грибами (*Fungi imperfecti*), реже бактериями (род *Corynebacterium*), в ряде случаев заболевание носит неинфекционный характер.
- Чернь. На листьях и побегах появляется черная пленка вследствие развития сумчатых и несовершенных грибов или бактерий рода *Erwinia*.
- Ожог. Листья, молодые побеги, цветы, плоды буреют, чернеют. Возбудителями ожога являются бактерии рода *Erwinia*.
- Пятнистость. Некоторые бактерии (род *Pseudomonas*), грибы (класс *Ascomycetes* и *Fungi imperfecti*), вызывают образование пятен разного цвета, формы, размеров на листьях, семенах и плодах.
- Опухоли. Местное увеличение объема стволов, ветвей, корней, корневищ в виде наростов, вздутий, утолщений за счет гиперплазии клеток. Эти заболевания вызываются бактериями (род *Agrobacterium*), грибами и механическими повреждениями.
- Язвы. Проявляются в виде углублений, часто окруженных наплывом. Вызываются бактериями (род *Erwinia*), грибами, механическими повреждениями, низкой температурой.
- Мозаика листьев. На листьях появляются бледно окрашенные пятна, чередующиеся с нормально окрашенными участками. Вызываются вирусами.
- Ведьмины метлы. Образование побегов из спящих почек в результате развития бактерий (род *Rhizobium*), грибов (класс *Ascomycetes*) и вирусов.
- Деформация. Проявляется в изменении формы органов растения (искривление побегов, курчавость листьев, карликовость) вследствие поражения грибами (класс *Ascomycetes* и *Fungi imperfecti*), вирусами (семейство *Reoviridae*).

Существенно важным является, то обстоятельство, что в больных растениях заметно отклоняются от нормы обменные процессы вплоть до каче-

ственных изменений клеточных структур, что приводит к нарушению химического состава тканей и снижению содержания действующих начал в лекарственных растениях, и использование их в качестве сырья в аптечных и заводских условиях становится невозможным. Растительный организм обладает защитными механизмами, противодействующими внедрению и размножению фитопатогенных бактерий. К ним можно отнести особенности покровных тканей, высокую кислотность клеточного сока, образование биологически активных веществ - фитонцидов, подавляющих развитие микробов.

5. Круговорот биогенных элементов

5.1. Цикл серы

Микробное диссимиляционное восстановление сульфата до сульфида является преобладающим конечным путем минерализации органических веществ на бескислородном морском дне. Химическое или микробное окисление полученного сульфида устанавливает сложную сеть путей в цикле серы, ведущую к промежуточным формам серы и частично обратно к сульфату. Промежуточные продукты включают элементную серу, полисульфиды, тиосульфат и сульфит, которые являются субстратами для дальнейшего микробного окисления, восстановления или диспропорционирования. Открытый недавно перенос электронов на большие расстояния через сульфидоокисляющие кабельные бактерии еще больше усложняет ситуацию.

Круговорот серы в морских отложениях в первую очередь обусловлен диссимиляционным восстановлением сульфата (DSR) до сульфида анаэробными микроорганизмами. Большая часть сульфида в конечном итоге повторно окисляется до сульфата через различные промежуточные соединения серы в результате геохимических или микробных реакций с участием кислорода, нитрата, марганца [Mn (IV)], железа [Fe (III)] и других потенциальных

окислителей. Часть сульфидов осаждается вместе с железом и другими металлами или вступает в реакцию с органическими веществами и захоранивается на морском дне.

На рисунке 4 представлен цикл серы в морских отложениях, который будет обсуждаться в этой методичке. Эти процессы включают химические реакции, пути, катализируемые микробами, и их комбинацию. Восстановление сульфата (SO_4^{2-}) до сульфида ($\text{H}_2\text{S} + \text{HS}^- + \text{S}^{2-}$) происходит за счет окисления скрытого органического углерода (C_{org}), дополненного анаэробным окислением метана (CH_4) при подземном переходе сульфат-метан (SMT). Восстановление марганца и железа сосредоточено в направлении поверхностных отложений, но Fe (III) также погребен и действует как окислитель сульфида в более глубоких слоях отложений, где он частично связывает образовавшийся сульфид в виде сульфида железа (FeS) и пирита (FeS_2). Пирит является конечным продуктом образования минералов сульфида железа и обеспечивает глубинный сток серы. Различают два пути образования пирита: «полисульфидный путь» (1) и «путь H_2S » (2) (рис. 4).

Сульфидизация захороненного органического вещества обеспечивает дополнительный глубинный сток серы. Промежуточные формы серы, такие как элементарная сера (S^0), тиосульфат ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$), тетратионат ($\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$) и сульфит (SO_3^{2-}), образуются во время окисления сульфида, например, захороненным Fe (III). Эти промежуточные продукты могут быть восстановлены обратно до сульфида, окислены до сульфата или диспропорционированы с образованием как сульфида, так и сульфата. В богатых сульфидом отложениях часть сульфида диффундирует вверх к поверхностным осадкам, где она может быть окислена кабельными бактериями, крупными серными бактериями, такими как *Beggiatoa* spp., или другими, менее заметными окислителями сульфидов. Различные пути окисления сульфидов в конечном итоге зависят от кислорода (и в меньшей степени от нитрата) как основного окислителя и,

таким образом, потребляют значительную часть общего поглощения кислорода морским дном. Приток кислорода в отложения усиливается за счет биоирригации (вентиляции нор) донной макрофауной.

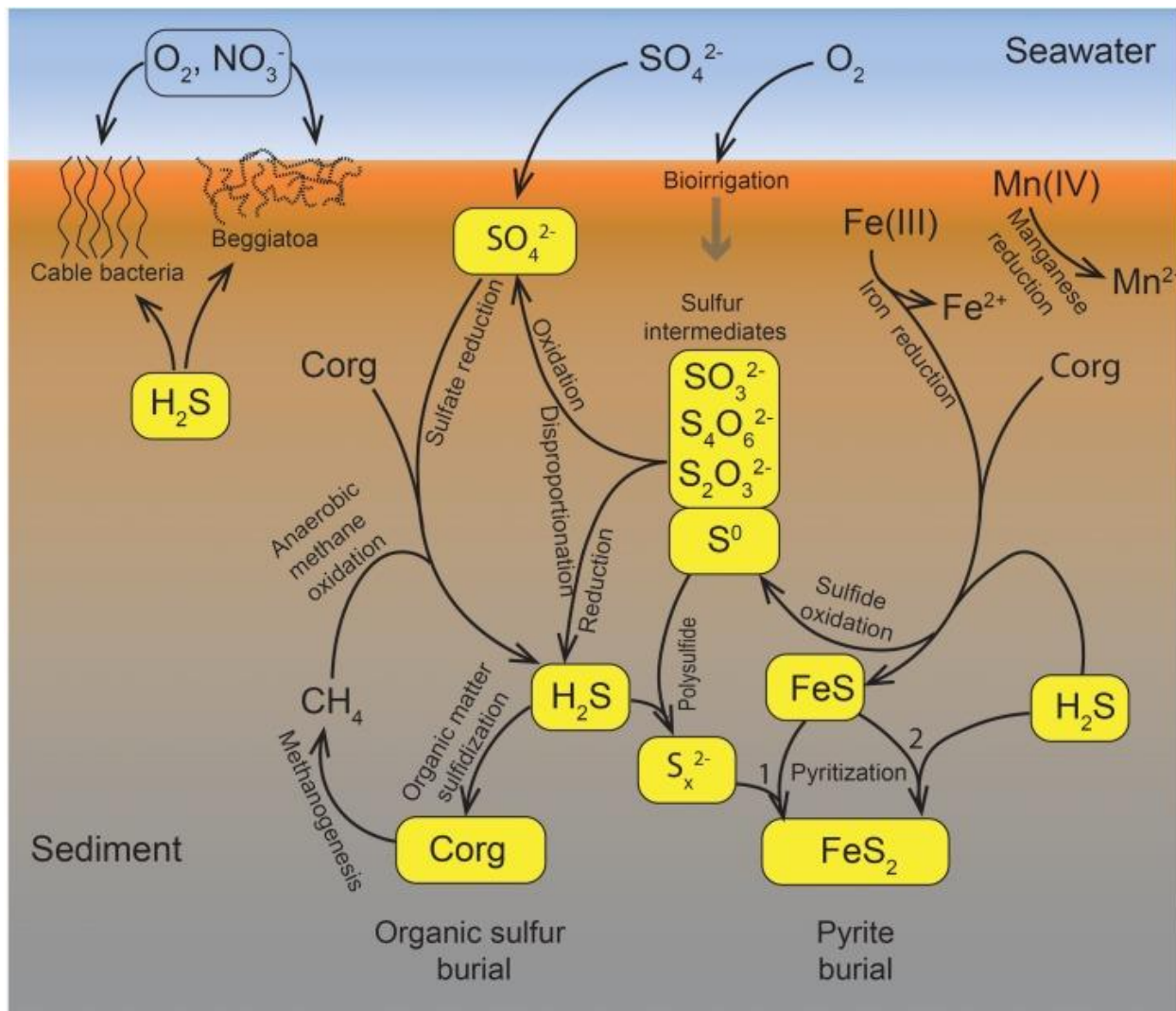


Рис. 4. Биогеохимический цикл серы в морских отложениях.

5.1.1. Восстановление сульфатов

5.1.1.1. Разложение органических веществ

Органические вещества, поступающие на морское дно, либо служат пищей для бентосных сообществ на поверхности отложений, либо захораниваются в нижележащих слоях. Кислород доступен для дыхания и химических

реакций у поверхности и возле нор донной микрофауны. Под этой смешанной поверхностной зоной морские отложения представляют собой бескислородный мир, населенный анаэробными микроорганизмами.

Из-за высокой концентрации сульфата в морской воде (28 мМ при солености океана 35), сульфат обычно проникает на несколько метров вниз на морское дно и снабжает сульфатредуцирующие микроорганизмы (SRM) акцептором электронов для дыхания. Анаэробная деградация органических веществ включает сложные микробные пищевые цепи, начиная с гидролиза макромолекулярных структур внеклеточными ферментами и образования органических молекул, достаточно мелких (обычно <600 дальтон, но для полисахаридов возможно больше), чтобы их могли усвоить бактерии или археи. Микробные клетки, которые поглощают небольшие органические молекулы, такие как сахара, аминокислоты, липиды, органические кислоты и т. д., сохраняют энергию и растут за счет многоступенчатых процессов ферментации, которые производят ряд летучих жирных кислот (ЛЖК), таких как формиат, ацетат, пропионат и бутират, а также H_2 и CO_2 . Эти продукты ферментации используются SRM при последующем конечном окислении сульфатом.

На глубине при высоких концентрациях сульфата окончательную деградацию подземных отложений берут на себя метаногенные археи, которые имеют гораздо более узкий спектр субстрата, в основном ограниченный H_2 / CO_2 и потенциально ацетатом. Преобладающий конечный процесс, будь то восстановление железа, сульфатредукция или метаногенез, не оказывает прямой обратной связи на начальную гидролитическую активность и, следовательно, не оказывает прямого влияния на общую скорость разложения органического вещества, которая имеет тенденцию к снижению в монотонным образом по сульфатной и метановой зонам (Рис. 5).

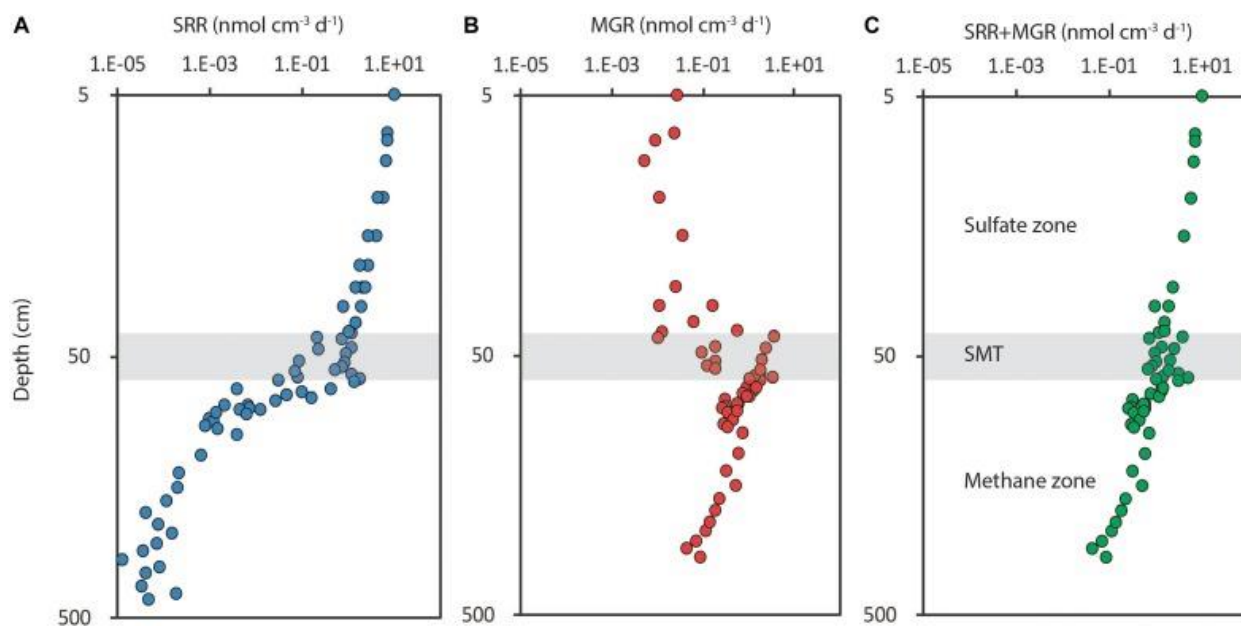


Рис. 5. Распределение по глубине скорости разложения органического вещества в морских отложениях Балтийского моря (бассейн Борнхольма) показано на графиках с двойным логарифмом для интервала глубин 5–500 см. (А) Скорости восстановления сульфата (SRR), которые резко падают там, где сульфат (почти) истощен ниже перехода сульфат-метан (SMT, серая зона на глубине 50 см); (В) скорости метаногенеза (MGR), которые низкие в сульфатной зоне и максимальные в SMT; (С) сумма скоростей восстановления сульфата и метаногенеза (SRR + MGR). Обратите внимание на непрерывность общих скоростей разложения во всех сульфатных и метановых зонах с небольшим пиком в SMT. Перерисовано из Veulig et al. (2018).

5.1.1.2. Анаэробное окисление метана (АОМ) сульфатом

Когда сульфат истощается на глубине, метаногенез становится завершающим процессом минерализации органического вещества. По оценкам, 3–4% глобального потока органического углерода на морское дно преобразуется в метан. Как показано на рисунке 5, скорость метаногенеза наиболее высока в самой верхней зоне метана, где градиент метана самый крутой. Большая часть метана, образующегося на континентальном шельфе и склонах от-

ложений, поэтому диффундирует вверх по этому градиенту, чтобы встретиться с сульфатом в SMT, где он количественно окисляется анаэробными метанотрофными археями (ANME). Сульфат служит акцептором электронов согласно следующему чистому уравнению химических веществ, растворенных в водной фазе:



Соотношение потоков сульфата и метана, диффундирующих в SMT, часто не равно 1: 1, как предсказывается стехиометрией в уравнении (1). Как правило, количество сульфата относится к количеству метана как 1,4 к 1. 40%-ный избыток сульфата используется для восстановления органосульфата, захороненного в SMT. Таким образом, метаногенез обеспечивает дополнительный источник метана для AOM в SMT.

Анаэробные окисляющие метан микроорганизмы были впервые обнаружены как синтрофные агрегаты архей ANME и сульфатредуцирующих бактерий в отложениях, богатых метаном и сульфатом. В настоящее время известно, что разные клады ANME образуют консорциумы с различными сульфатредуцирующими бактериями. ANME-1 и ANME-2 обычно связаны с SRB ветви *Desulfosarcina / Desulfococcus Deltaproteobacteria*. ANME-3 в основном связаны с SRB ветви *Desulfobulbus*, тогда как другие ANME, по-видимому, не образуют синтрофных агрегатов. Были предложены различные механизмы для объяснения анаэробного окисления метана сульфатом и того, как восстановительные эквиваленты передаются из ANME в связанный SRB. Перенос внеклеточных электронных носителей, таких как H_2 , термодинамически маловероятен и не может быть продемонстрирован экспериментально. Совсем недавно был предложен прямой межвидовой перенос электронов (DIET) между ANME и клетками SRB, возможно, связанный с большими

мультигемными цитохромами, обнаруженными в SRB. Такой DIET был подтвержден наблюдением, что электроны от ANME во время окисления метана могут переноситься на искусственные акцепторы электронов, а не на SRB.

5.1.1.3. Сульфатредуцирующие микроорганизмы (SRM)

Сульфатредукторы составляют очень разнообразную группу анаэробных микроорганизмов, в основном из домена бактерии. К продуктам их ферментации относятся, прежде всего, H_2 и ЛЖК, а также многие другие субстраты, такие как углеводороды или ароматические соединения. Многие SRM принадлежат к *Deltaproteobacteria*, включая членов отрядов *Desulfovibrionales* и *Desulfobacterales*. *Desulfotomaculum* - это грамположительные бактерии, которые обладают способностью образовывать эндоспоры. SRM, обнаруженные в морских отложениях, в основном принадлежат к некультивируемым группам, которые лишь отдаленно связаны с культивируемыми сульфатредукторами. Среди распространенных SRM, некоторые из которых действительно имеют культивируемых родственников, находятся дельтапротеобактерии *Desulfobacteraceae* (в частности, из кластера *Desulfococcus* и *Desulfosarcina*) и *Desulfobulbaceae*. Глубже в отложениях преобладают другие таксоны SRM, такие как филы *Firmicutes*, *Chloroflexi* и *Atribacteria*. Недавние геномные данные из морских и наземных подземных сред выявили потенциальную способность к восстановлению сульфатов или сульфитов во многих других бактериальных и архейных типах, которые ранее не были связаны с этим процессом.

Функциональное значение столь широкого разнообразия SRM для цикла серы в настоящее время не известно. Известные SRM используют один и тот же DSR-путь восстановления сульфата, который проиллюстрирован на рисунке 6. Сульфат захватывается из окружающей среды переносчиками сульфата и активируется АТФ в цитоплазме ферментом АТФ-сульфурилазой

(Sat) с образованием аденозин-5'-фосфосульфата (APS). APS восстанавливается до сульфита аденилилсульфатредуктазой (Apr), которая получает электроны от мембраносвязанного комплекса переноса электронов (ETC). (Би)сульфит далее восстанавливается до H₂S диссимиляторным (би)сульфитредуктазным (Dsr) комплексом через трисульфид, связанный с DsrC. Образовавшийся H₂S пассивно диффундирует через клеточную мембрану.

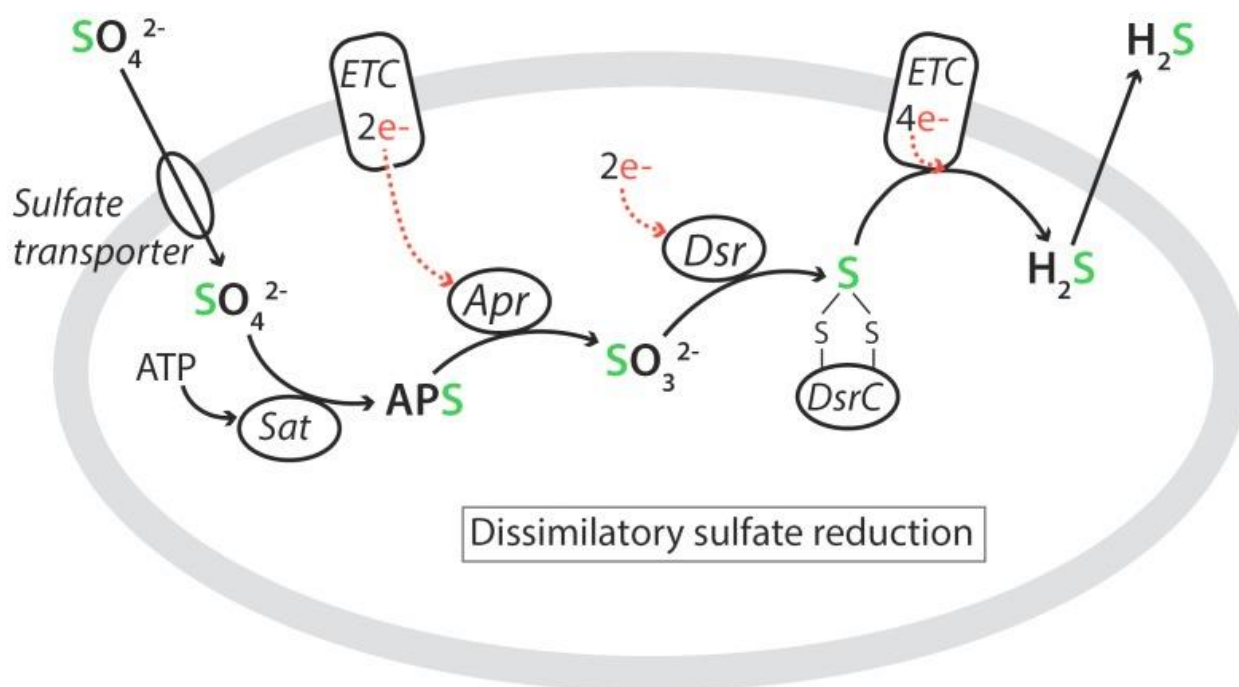


Рис. 6 Метаболический путь диссимиляционного восстановления сульфата. Sat, АТФ-сульфурилаза; APS, аденозин-5'-фосфосульфат; Apr, аденилилсульфатредуктаза; Dsr, диссимиляторная (би)сульфитредуктаза; ETC, электрон-транспортная цепь. Сера выделена зеленым, а перенос электронов на серу показан красным. На основании Santos et al. (2015) и Sim et al.(2017).

5.1.2. Окисление сульфидов

Оценки баланса массы и градиенты диффузии сульфида показывают, что значительная часть сульфида, образующегося в результате восстановления сульфатов в морских отложениях, подвергается повторному окислению. Это повторное окисление происходит различными биологическими и геохи-

мическими путями, образуя множество реакционноспособных промежуточных продуктов (рис. 7). Степень повторного окисления сульфидов зависит от количества и типа доступного окислителя, а также от присутствия микроорганизмов.

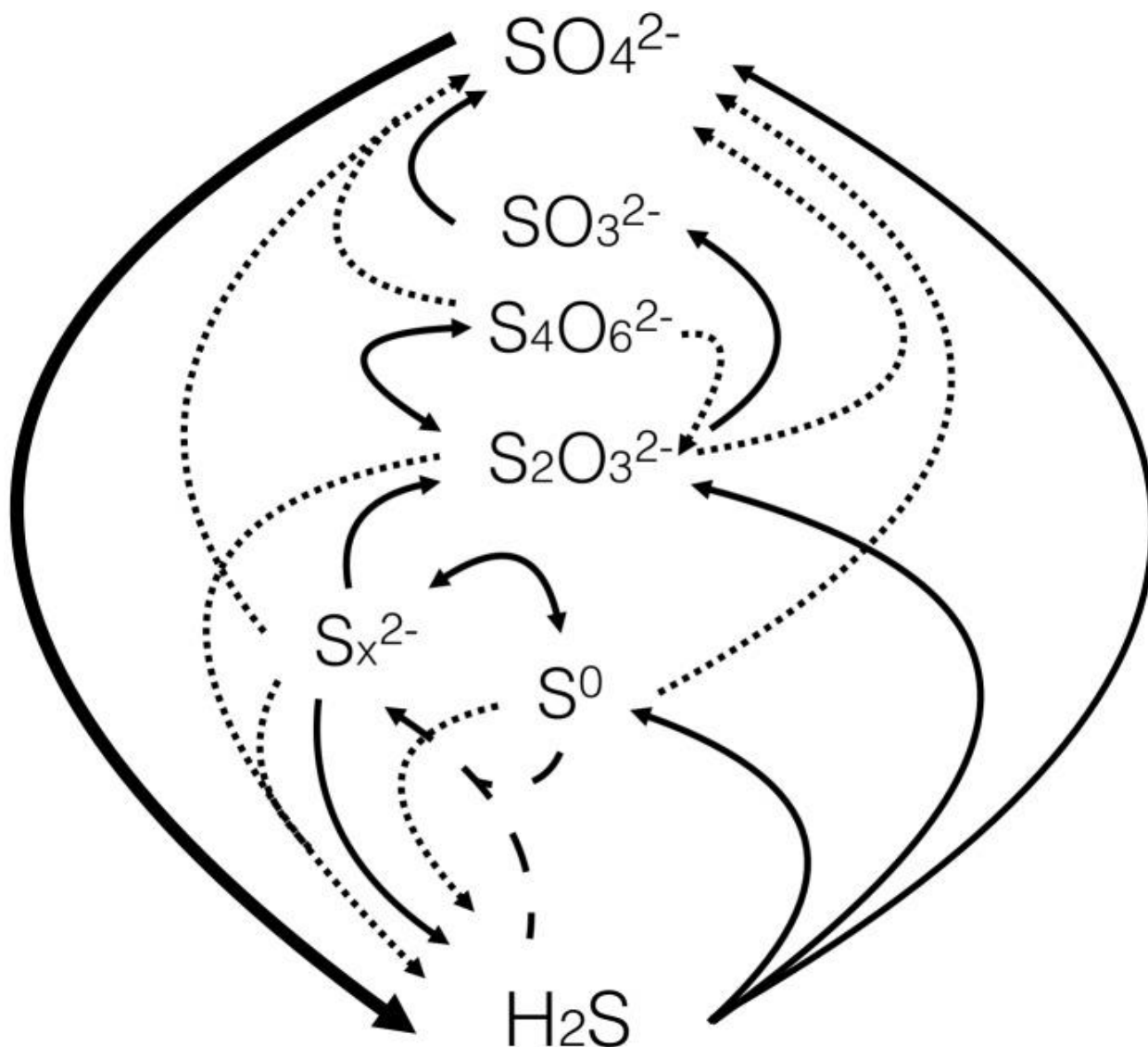


Рис. 7. Обзор процессов и основных неорганических форм цикла серы. Большая черная стрелка показывает восстановление сульфата, тонкие черные линии показывают окисление, а пунктирные линии представляют реакции диспропорционирования.

5.1.2.1. Специализированные окислители сульфида

Наиболее заметными микроорганизмами, ответственными за окисление сульфидов, являются крупные специализированные окислители сульфидов из семейства *Beggiatoaceae*, филум Гаммапротеобактерии, такие как нитчатые *Beggiatoa* и *Thioploca* или сферические *Thiomargarita*. Следует отметить, что посредством секвенирования одиночных клеток морфологически идентичных серных бактерий эта таксономия была пересмотрена Salman et al. (2011), которые предложили выделить в семействе *Beggiatoaceae* на новых родов в статусе *Candidatus*. Эти крупные бактерии обычно обитают в поверхностном слое богатых органическими веществами отложений, где они могут использовать вертикальные химические градиенты сульфидов и окислителей (нитратов и кислорода).

Бактерии развили интересные приспособления для преодоления пространственного или временного разрыва между сульфидом и окислителями, например подвижность и запасание нитрата и элементной серы. Нитрат запасается в вакуолях в концентрации до нескольких сотен мМ и может поддерживать клеточное дыхание от нескольких дней до месяцев. Элементарная сера, образующаяся в качестве промежуточного продукта во время окисления сульфида, накапливается в инвагинациях мембраны в цитоплазме и служит богатым энергией донором электронов в течение длительного периода времени. Нити скользят вверх и вниз в кажущемся окисленным поверхностном осадке толщиной в несколько сантиметров по случайным (*Beggiatoa*) или ориентированным (*Thioploca*) паттернам движения. *Thiomargarita*, напротив, практически неподвижна, но чрезвычайно большие клетки диаметром в несколько сотен мкм обладают достаточной емкостью, чтобы выдерживать сульфидное или нитратное голодание в течение нескольких месяцев.

Только недавно было обнаружено, что эта же экологическая ниша используется также для цепочек длиной в несколько сантиметров, состоящих

из сотен и тысяч бактерий, которые теперь называются кабельными бактериями. Эти бактерии охватывают вертикальный промежуток между сульфидом и кислородом в самых верхних нескольких сантиметрах многих богатых сульфидами прибрежных отложений. Интересно, что они разделяют две половинки реакции в окислительно-восстановительном процессе окисления сульфида, так что основная подповерхностная часть кабеля окисляет сульфид без непосредственного доступа к окислителю. Вместо этого электроны от сульфида передаются вверх по кабелю, по-видимому, через несколько непрерывных периплазматических нитей, чтобы достичь вершины кабеля, который передает электроны кислороду, завершая тем самым окислительно-восстановительный процесс аэробного окисления сульфида. Перенос электрона к кислороду потребляет протоны и, таким образом, генерирует отчетливый пик pH на границе кислород-бескислородный (уравнение 2). Поскольку большинство других процессов окисления в этих условиях имеют тенденцию к снижению pH, пик pH является убедительным показателем активности кабельных бактерий:

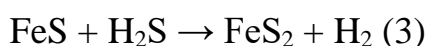


Кабельные бактерии также могут использовать нитраты в качестве акцептора электронов. Размер их сообщества может вырасти до более чем километра нитей (почти 10^9 клеток) на cm^2 и, таким образом, эффективно конкурировать с *Beggiatoa*. Окисляя восстановленную серу и железо в поверхностных отложениях, они могут предотвратить или замедлить выброс сульфида в периоды аноксии придонной воды в прибрежных водах. Для идентифицированных бактерий были предложены названия двух родов со статусом Candidatus, *Electrothrix* и *Electronema*, относящиеся к дельтапротеобактериям, семейство *Desulfobulbaceae*, члены которых, как известно, являются сульфатредукторами. В настоящее время не известны кабельные бактерии, использующие DSR-путь.

Градиент кислорода и сульфида в пористых прибрежных отложениях также может быть заселен хемоавтотрофными бактериями, живущими внутри беспозвоночных, такими как олигохеты или нематоды. Большинство этих симбиотических бактерий являются хемоавтотрофными окислителями сульфидов и переносятся в поверхностных отложениях внутри своих хозяев мейофауны.

5.1.2.2. Образование пирита

Образование пирита (FeS_2) представляет собой основное захоронение серы, поскольку пирит стабилен в геологических временных масштабах в бескислородных условиях. Как правило, пирит образуется в результате реакции сульфида с захороненными минералами трехвалентного железа, первоначально образуя смесь элементной серы, полисульфидов и минералов двухвалентного железа. На протяжении многих лет предлагались различные общие реакции, приводящие к образованию пирита в морских отложениях, в зависимости от исходного реагирующего железа и разновидностей серы. Однако утверждалось, что, несмотря на это потенциальное разнообразие, важны только два механизма реакции: реакция между FeS и H_2S («путь H_2S »; Уравнение 3) и реакция между FeS и полисульфидом («полисульфидный путь»; уравнение 4).



Эти механизмы реакции описывают конкретную стадию образования пирита, а не чистую конверсию железа и сульфида в пирит (путь реакции). Кинетические параметры были экспериментально определены для обеих реакций. Стадия, ограничивающая скорость, - это производство и растворение FeS , а также производство реактивной серы (т. е. полисульфида).

Однако недавно был предложен новый механизм реакции образования пирита, поскольку экспериментальные скорости образования пирита не

могли быть объяснены традиционной моделью Рикарда (1975). По этому новому механизму комплексное соединение Fe (II) с поверхностью реагирует с сульфидом с образованием присоединенного предшественника Fe (II) S²⁻ к пириту. Затем этот вид образует FeS₂ за счет равновесия с водной фазой. Было выдвинуто предположение, что этот механизм реакции особенно важен в средах с высокими концентрациями трехвалентного железа и низким содержанием сульфидов, например, в поверхностных отложениях и глубоко под SMT. Помимо этих неорганических экспериментов и геохимических реакций, микроорганизмы могут играть значительную роль в образовании пирита в морских отложениях, хотя их влияние на образование минералов сульфида железа не так просто определить. Например, было показано, что бактерии, диспропорционирующие элементную серу, увеличивают скорость образования пирита в культурах и, возможно, также в морских отложениях.

5.1.2.3. Сульфидизация органических веществ

Включение сульфида в органическое вещество может приводить к значительному накоплению сульфида в некоторых морских отложениях. Скорость может быть ниже, чем при образовании пирита, поэтому образование органической серы становится важным процессом только после того, как реактивное железо истощается. Образование органической серы, по-видимому, продолжается по всей толще осадка и может представлять собой сток для сульфидов после того, как реактивное железо израсходовано.

Сравнительно немного исследований сравнивали образование органической и неорганической серы в морских отложениях. Было обнаружено, что аутогенная органическая сера вносит почти такой же вклад в образование осадочной серы, как пирит. Более того, сульфидизация органических веществ может влиять на реакционную способность органических соединений, возможно, ингибируя микробную деградацию, и может влиять на изотопную

динамику поровой воды и твердых фаз посредством изотопного обмена (Jorgensen et al., 2019).

5.2. Цикл азота

Цикл азота - один из важнейших биогеохимических циклов Земли, с большими естественными потоками азота из атмосферы в наземные и морские экосистемы через несколько биологических процессов. Он включает такие пути, как фиксация азота, нитрификация, ассимиляция нитратов / аммония, диссимиляционное восстановление нитрата до аммиака (аммификация), анаэробное окисление аммиака (анаммокс), полное окисление аммиака (комаммокс) и денитрификация (Рис. 8).

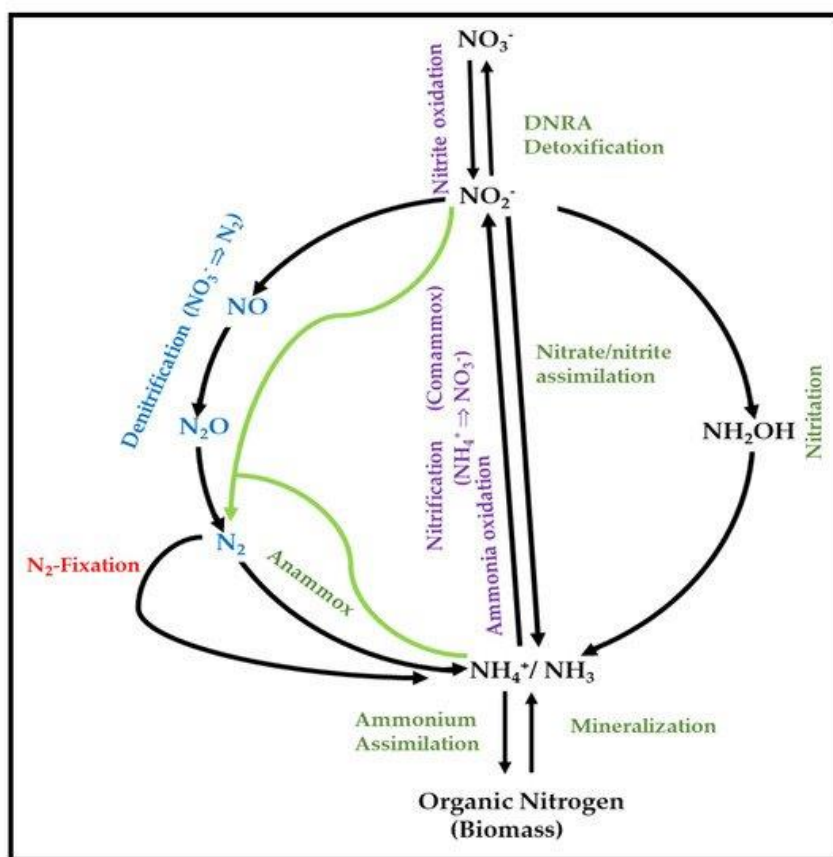


Рис. 8. Основные процессы цикла азота.

Вкратце, NO_3^- и NH_4^+ могут использоваться в качестве источников азота для роста в аэробных условиях (ассимиляционное восстановление нитратов / ассимиляция аммония). NO_3^- также может быть конечным акцептором электронов для дыхания в условиях аноксии (денитрификации) или акцептором электронов в окислительно-восстановительном процессе, направленном на удаление избыточной мощности восстановителя посредством диссимиляционного восстановления нитрата. Диссимиляционное восстановление NO_3^- , нитратное дыхание или денитрификация часто эквивалентно используются в литературе, а промежуточными продуктами являются NO_2^- , NO и N_2O .

Однако диссимиляционный путь относится к неассимиляционным реакциям, которые напрямую не связаны с генерацией протонной движущей силы. Диссимиляционное восстановление нитратов до аммония (аммификация) также возможно в анаэробных или микроаэробных условиях. С другой стороны, NO_2^- может быть восстановлен до NH_4^+ , который затем выводится из организма благодаря процессу, называемому $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$ аммификацией.

Некоторые организмы могут окислять NH_4^+ или NO_2^- , используя путь, называемый нитрификацией, в то время как другие организмы, такие как некоторые планктомицеты, окисляют NH_4^+ и используют NO_2^- в качестве акцептора респираторных электронов по пути, называемому анаммокс. Недавно открытие новых представителей рода *Nitrospira*, способных катализировать обе стадии нитрификации (окисление аммиака и окисление нитрита), позволило предложить организмы «комаммокс», также называемые «полными окислителями аммиака». Наконец, фиксация молекулярного азота позволяет нескольким микроорганизмам восстанавливать N_2 до NH_4^+ , чтобы обеспечить растения азотом. Растения не способны фиксировать собственный азот, но некоторые из них (в основном бобовые) фиксируют азот с по-

мощью симбиотических анаэробных микроорганизмов (в основном ризобий). Таким образом, азотфиксация, наряду с фотосинтезом, является основой всего живого на Земле.

Свободноживущие diaзотрофные микроорганизмы также играют важную роль в осуществлении азотфиксации в экосистемах, таких как океаны и экстремальных средах, таких как среда переднего поля ледника, пустынные экосистемы, или горячие источники. Благодаря этим микробам фиксация азота является решающим путем для создания лабильных запасов азота и облегчения колонизации высших растений в олиготрофных почвах перед полями ледников или горячих источников. Хемолитотрофная азотфиксация при высоких температурах (до 92 °С) привлекла внимание ученых, изучающих раннюю эволюцию жизни и азотный цикл, а глубоководные гипертермофильные метаногены и процессы их азотфиксации были тщательно изучены. Большинство из упомянутых путей используется прокариотами, хотя азотфиксация также затрагивает растения и связанные с ними ризобии, а ассимиляция нитратов / аммония может наблюдаться как у прокариот, так и у эукариот (Martínez-Espinosa, 2020).

5.2.1. Денитрификация

Денитрификация (восстановление нитрата) — сумма микробиологических процессов восстановления нитратов до нитритов и далее до газообразных оксидов и молекулярного азота. В результате их азот возвращается в атмосферу и становится недоступным большинству организмов.

Микроорганизмы обладают способностью восстанавливать нитраты в процессах как биосинтеза, так и катаболизма (рис. 9). Восстановление нитратов, осуществляемое при биосинтезе и приводящее к образованию азотсодержащих клеточных компонентов, носит название *ассимиляционной нитрат-редукции*. Такой процесс способны выполнять растения и многие микроорга-

низмы. В процессе диссимиляционной нитратредукции, или денитрификации, нитраты используются как окислители органических веществ вместо молекулярного кислорода, что обеспечивает микроорганизмы необходимой энергией. При этом происходит восстановление нитратов до таких конечных газообразных продуктов, как NO, N₂O или N₂ (в зависимости от вида микроорганизма и условий среды).



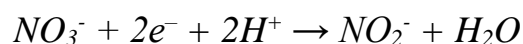
Рис. 9. Реакции ассимиляционной и диссимиляционной нитратредукции.

В аэробных условиях денитрификаторы в первую очередь используют растворенный кислород для окисления соединений как более энергетически выгодный путь, и только при его недостатке более интенсивно восстанавливают нитраты, поэтому в присутствии кислорода денитрификация протекает медленно. В отсутствие кислорода денитрификация в сооружениях очистки сточных вод протекает быстро, поскольку это способ анаэробного дыхания бактерий-денитрификаторов, хотя он часто лимитируется недостатком доступного углеродного субстрата, необходимого для восстановления нитрата. Эффективность денитрификации зависит от источника и концентрации, соотношения количества органического углерода и нитратов, содержания нитратов, нитритов, pH, концентрации кислорода, окислительно-восстановительного потенциала, наличия токсичных веществ, температуры воды содержания солей. Эти факторы неодинаково влияют на скорость отдельных восстановительных процессов, в результате чего конечные и промежуточные

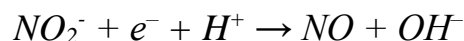
продукты денитрификации имеют различный состав. Источником органического углерода при денитрификации могут быть любые легкоокисляемые органические соединения (спирты, углеводы, органические кислоты, продукты распада белков, активный ил, отходы производства гидролизного спирта и т.п.). Денитрифицирующие бактерии не образуют целлюлолитических и протеолитических ферментов, поэтому они не расщепляют целлюлозу, белки и другие природные полимеры.

У истинных денитрификаторов нитрат последовательно восстанавливается через нитрит до газообразной закиси азота и молекулярного азота N_2 по схеме:

Первый этап: восстановление нитрата до нитрита, катализируют молибденсодержащие ферменты нитратредуктазы:



Второй этап: восстановление нитрита до оксида азота, катализируют нитритредуктазы:



Молекулярный кислород ингибирует активность нитрата- и нитритредуктазы, а также репрессирует синтез. Соответственно данные реакции (восстановление нитрата до нитрита и восстановление нитрита оксида азота) могут протекать только в том случае, когда кислород полностью отсутствует или когда его концентрация незначительна.

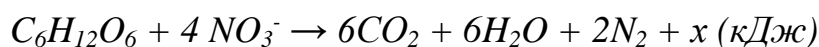
Третий этап: катализируют редуктазы оксида азота, восстановление нитрита до оксида азота.



Четвертый этап: катализируют редуктазы закиси азота, восстановление закиси азота в молекулярный азот.:



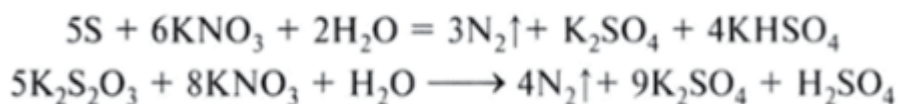
Общую реакцию нитратного дыхания, где конечным акцептором электронов – нитраты, а окисляемым субстратом является глюкоза, можно записать следующим образом:



К нитратному дыханию способное большое число родов бактерий, При этом первый этап — переход нитратов в нитриты — способны осуществлять разнообразные микроорганизмы, в том числе и эукариоты — водоросли, дрожжи и грибы. Полную денитрификацию до молекулярного азота проводят только прокариоты. Большинство из них— факультативно анаэробные хемоорганотрофы многих родов, использующие нитраты как окислители органических субстратов. При этом последние окисляются до CO_2 и H_2O , как и в акте кислородного дыхания, а азот теряется в газообразных формах.

В наибольшей степени способность к полному восстановлению нитратов распространена у представителей родов *Pseudomonas* (*P. fluorescens*, *P. stutzeri*, *P. aeruginosa*) и *Bacillus* (*B. Licheniformis* и др.).

К хемолитоавтотрофным бактериям-денигрификаторам относят *Thiobacillus denitrificans*, *Thiomicrospira denitrificans*, *Paracoccus denitrificans*. Сероокисляющие *Thiobacillus denitrificans* и *Thiomicrospira denitrificans* способны размножаться в анаэробных условиях, используя в качестве источника энергии и восстановителя элементарную серу или тиосульфат. Нитрат восстанавливается до газообразного азота:



В обмене веществ *Paracoccus denitrificans* нитраты выступают окислителями водорода (H_2), восстанавливаясь при этом полностью до N_2 (Авдеенков и Чистяков, 2019).

5.2.2. Диссимиляционное восстановление нитратов до аммония (аммификация)

Диссимиляционное восстановление нитратов до аммония (DNRA) или аммификация нитратов / нитритов - это анаэробный энергодающий процесс. Микробы, которые проводят аммификацию, окисляют органическое вещество и используют нитрат в качестве акцептора электронов, восстанавливая его до нитрита, а затем до аммония ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{NO}_2^- \rightarrow \text{NH}_4^+$). И денитрифицирующие, и нитратные аммонифицирующие бактерии будут конкурировать за нитраты в окружающей среде, хотя аммификация действует для сохранения биодоступного азота в виде растворимого аммония, а не для производства газообразного азота.

Диссимиляционное восстановление нитратов / нитритов до аммония катализируется микроорганизмами, кодирующими цитохром *c₅₅₂* нитритредуктазы (кодируемые генами *nrfA*) или NADH-зависимые нитритредуктазы (кодируемые генами *nirB*), которые часто некорректно относят к ассимиляционным нитритредуктазам. Согласно имеющимся ограниченным знаниям, восстановление NO_2^- до NH_4^+ может служить реакцией акцептора электронов при дыхании (дыхательная аммификация) или сбросом электронов для восстановления NADH при сбраживании сложных органических веществ (бродильная аммификация).

Пути денитрификации и аммификации конкурируют за общие субстраты, $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$, и, таким образом, стимуляция одного будет репрессировать другой. Предыдущие исследования показали, что аммификация предпочтительнее в средах с высоким содержанием органического углерода (C) и ограниченным поступлением азотистых акцепторов электронов ($\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$).

Потенциальное значение аммификации как ключевой реакции, определяющей судьбу химически активного азота в окружающей среде, рассматривалось десятилетиями, хотя и не хватало достаточных доказательств. Наблюдение за преобладанием аммификации над денитрификацией, т. е. более высокой продукцией NH_4^+ , чем продукцией $\text{N}_2\text{O} + \text{N}_2$ в результате восстановления $\text{NO}_3^- / \text{NO}_2^-$, было ограничено несколькими конкретными сильно восстановленными морскими средами. Тем не менее, образование $^{15}\text{NH}_4^+$ в результате восстановления $^{15}\text{NO}_3^-$ как в исследованиях на колонке *in situ*, так и в экспериментах по инкубации почвы *ex situ* подтвердило наличие активности аммификации в почве. Кроме того, обилие генов *nrfA* в нескольких секвенированных метагеномах почвы позволяет предположить, что микробы, способные к аммификации, могут быть многочисленными в почвенных сообществах. Было предпринято мало попыток изолировать и исследовать аммифицирующие организмы из почв, предположительно из-за относительной незначительности вклада аммификации в богатых азотом почвах, например, в удобренных сельскохозяйственных почвах, где судьба азота наиболее актуальна для глобального биогеохимического цикла.

Аммификация было обнаружено в различных почвенных местообитаниях, включая лесса, луга, высокогорные пахотные земли и пустыни (Neo et al., 2020).

5.2.3. Нитрификация

Нитрификация, последовательное аэробное окисление аммиака до нитрата через нитрит, является центральным процессом круговорота азота (N). С одной стороны, нитрификация истощает запас доступного аммония, лучшего доступного источника азота для производства биомассы. С другой стороны, продукты нитрификации нитрита и нитрата широко используются в качестве акцепторов электронов. С антропогенной точки зрения роль нитрификации резко различается. Он способствует потере азота из удобренных

сельскохозяйственных почв за счет образования нитрита и нитрата, двух соединений, которые быстро восстанавливаются до азотсодержащих газов, включая мощный парниковый газ закись азота (N₂O). Кроме того, нитриты и нитраты могут легко вымываться из матрицы почвы и таким образом попадать в грунтовые воды и водные экосистемы. Повышенная доступность азота в этих системах вызывает повышение продуктивности с огромными последствиями, включая эвтрофикацию рек и озер, цветение водорослей и образование мертвых зон в прибрежных районах. Напротив, нитрификация представляет собой начальный этап цикла N при биологической очистке сточных вод, когда хорошо организованная микробная активность приводит к удалению избыточных соединений азота (Koch et al., 2019).

5.2.3.1. Автотрофная нитрификация

Традиционно считается, что нитрификация проходит в две стадии, которые осуществляются разными микроорганизмами.

Первая стадия — окисление аммиака до нитрита, которое осуществляют *нитрозные* бактерии. В их названии есть приставка Nitroso: *Nitrosomonas*, *Nitrosococcus*, *Nitrospira*. Реакция протекает по следующему механизму:

1. $\text{NH}_3 + \text{O}_2 + \text{НАДН}_2 \rightarrow \text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} + \text{НАД}^+$
2. $\text{NH}_2\text{OH} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{HNO}_2 + 4\text{H}^+ + 4\text{e}^-$
3. $1/2\text{O}_2 + 2\text{H}^+ + 2\text{e}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}$

Предполагается, что на первом этапе субстратом является именно аммиак, а не аммоний, поэтому процесс не идёт в кислой среде. Первую реакцию катализирует аммиакмонооксигеназа, фермент с очень низкой субстратной специфичностью, окисляющий также метан, оксид углерода, циклогексан, фенол, бензиловый спирт, однако со скоростью на порядки ниже. Гидроксиламин (NH₂OH) ингибирует работу фермента.

Следующую реакцию осуществляет гидроксиламинооксидоредуктаза, расположенная в периплазме. Окислителем в них служит цитохром *c*, с него электрон передаётся на убихинон, а затем транспортируется далее в ЭТЦ. Образование НАД(Ф)Н для фиксации углекислого газа в цикле Кальвина происходит путём обратного переноса части электронов.

Вторая стадия — окисление нитрита до нитрата, осуществляемое *нитратными* бактериями. В их названии содержится приставка Nitro: почвенный род *Nitrobacter* и водные *Nitrospira*, *Nitrococcus*, *Nitrospina*. Процесс протекает следующим образом:



Реакция катализируется нитрит: нитрат-оксидоредуктазой, локализованной в ЦПМ. Далее электроны передаются на цитохромы дыхательной цепи. Образование НАД(Ф)·Н для фиксации углекислого газа также происходит путём обратного переноса электронов.

Нитрозных и нитритных бактерий ранее выделяли в семейство *Nitrobacteraceae*, сейчас с развитием геносистематики их рода разнесены по разным подклассам протеобактерий. Оптимальная для их развития температура 25—30 °С и рН 7,5—8,0. В кислой среде процесс не идет. Все эти бактерии — граммотрицательные хемолитоавтотрофы, использующие энергию окисления соединений азота для синтеза органических веществ из углекислого газа. Некоторые из них способны переключаться на хемоорганогетеротрофный метаболизм, однако ни одного хемолитогетеротрофа среди данных организмов найдено не было. Морфологически эти группы разнообразны, в большинстве своем мелкие, подвижные, с полярным или перитрихиальным жгутикованием.

5.2.3.2. Гетеротрофная нитрификация

Особо выделяют *гетеротрофную нитрификацию*, происходящую у многих бактерий и грибов и связанную с окислением аммиака и азота органических соединений без использования полученной энергии, попутно с окислением органического вещества и, предположительно, посредством кислорода, образуемого при разложении пероксида водорода. Удельная активность этого процесса на 2-4 порядка ниже, чем в случае автотрофной нитрификации, однако именно с ним связано происхождение чилийской селитры а также вся нитрификация в почвах и водоемах с низкими значениями рН.

5.2.3.3. Комаммокс

В 2015 году неожиданно были открыты микроорганизмы, которые способны осуществлять процесс полной нитрификации, что бросило вызов строгому разделению труда между двумя нитрификационными гильдиями и, таким образом, вызвало сдвиг парадигмы в нашем понимании нитрификации. Примечательно, что в более ранних теоретических исследованиях уже обсуждались существование и возможные ниши комаммокс (COMAMMOX - COMplete AMMonium OXidation) - микроорганизмов. Была высказана гипотеза, что прекращение нитрификации может снизить метаболические затраты для клетки по сравнению с выполнением всего пути, что приведет к более высоким темпам роста, но к снижению урожайности. Однако высокая урожайность, постулируемая для комаммокс-организмов, может быть выгодной в ограниченных питательными веществами, медленных системах, способствующих росту, с низкой скоростью вымывания клеток, как, например, в биопленках. Действительно, первые накопительные комаммокс-культуры были получены из образцов биопленок. Удивительно, но при анализе метагеномов этих накопительных культур обе исследовательские группы определили набор генов для полной нитрификации в рамках генома, отнесенного к *Nitrospira*. Представители рода *Nitrospira* были определены как ключевые

NOB в разнообразных природных и искусственных системах, но предполагалось, что они включают только автотрофных окислителей нитрита. Все известные комаммокс *Nitrospira* принадлежат к линии II, наиболее широко распространенной в окружающей среде кладе этого разнообразного рода, которую филогенетически можно разделить по крайней мере на шесть линий. Основываясь на филогенетическом анализе субъединицы A аммиачной монооксигеназы (АМО), фермента, который окисляет аммиак до гидроксиламина, комаммокс-бактерии могут быть далее разделены на две монофилетические сестринские клады, обозначенные как клады A и B (рис. 10). Все описанные комаммокс-культуры, полученные к настоящему времени, содержат представителей клады A и были получены из искусственных систем. Кроме того, анализ геномов, собранных в метагеноме (MAG) клады B комаммокс *Nitrospira*, дал первое геномное понимание этой группы, до сих пор отсутствовавшего в культивируемом представителе. С момента открытия полностью нитрифицирующих нитроспир многочисленные исследования изучали их распространение и численность в окружающей среде, а также их потенциальные метаболические возможности с помощью (мета) геномного анализа. Кроме того, физиологические исследования первой чистой комаммокс-культуры выявили жизненно важную информацию о кинетике нитрификации полных по сравнению с каноническими нитрификаторами.

Поскольку комаммокс-бактерии не образуют монофилетическую группу внутри линии *Nitrospira* II, комаммокс и канонические нитритокисляющие *Nitrospira* не могут быть различимы с помощью методов на основе 16S рРНК. Поэтому обычно используют другие молекулярные методы для обнаружения полных нитрификаторов в образцах окружающей среды, такие как метагеномика и ПЦР-анализ функциональных генов. В дополнение к этим уже применяемым методам, комаммокс-*Nitrospira* можно визуализировать *in situ* с использованием ген-направленного FISH метода для обнаружения гена

amoA, который кодирует субъединицу А АМО, или с помощью иммуофлуоресценции, нацеленной на белок АМО, подобно АОВ.

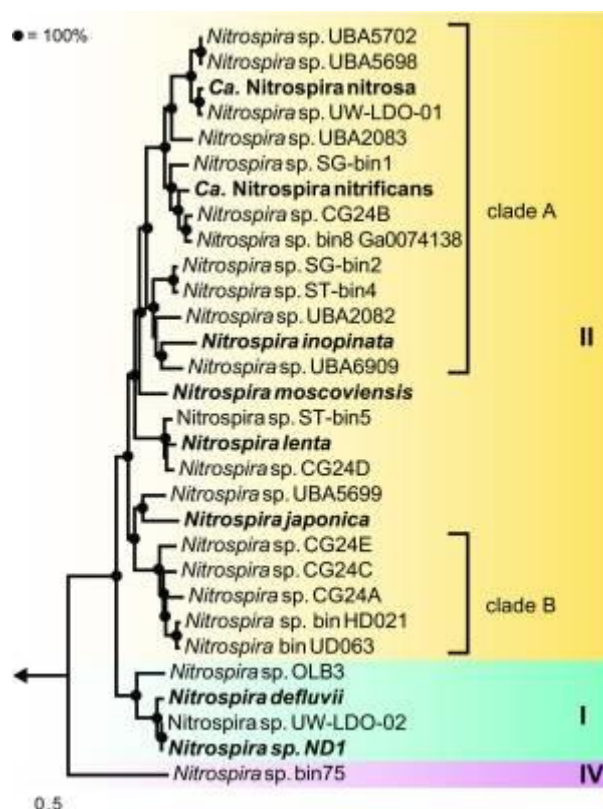
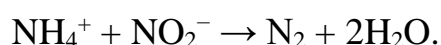


Рис. 10. Филогенетический анализ рода *Nitrospira* по 91 основному гену. Из Koch et al., 2019.

МАГ, относящиеся к комаммокс-*Nitrospira*, были идентифицированы в основном в метагеномах, полученных из инженерных систем, но также и из природных экосистем, таких как удобренная почва. Для подходов, основанных на ПЦР, широко используемым функциональным маркером аэробного окисления аммиака является ген *amoA* (Koch et al., 2019).

5.2.4. Анаммокс

Анаммокс-бактерии могут катализировать окисление аммония нитритом в качестве акцептора электронов в бескислородных условиях. Реакция протекает согласно уравнению:



На данный момент процесс показан для 19 видов из 6 родов со статусом *Candidatus* (*Brocadia*, *Kuenenia*, *Jettenia*, *Scalindua*, *Anammoxoglobus* и *Anammoximicrobium*) из различных природных и антропогенных экосистем.

Процесс анаммокс получил значительное внимание как экономичный и экологически безопасный процесс удаления азота из сточных вод. Что еще более важно, анаммокс-бактерии были обнаружены повсеместно в бескислородных средах и, как было установлено, ответственны за 24-67% потерь азота в морских отложениях и 20-40% в толще субкислых вод Черного моря и залива Дульсе. Недавние исследования продемонстрировали еще больший процент (до 100%) потерь азота в морской среде. Эти экспериментальные данные показывают, что анаммокс-бактерии выполняют ключевую роль в глобальном круговороте азота.

Остается ответить на важный экологический вопрос: что формирует состав сообщества анаммокс-бактерий? Из-за внутри- и межвидовой конкуренции, происходящей в естественной среде, считается, что анаммокс-бактерии занимают разные ниши в естественной среде в зависимости от физиологических свойств отдельных видов или группы видов. Следовательно, накопительная или чистая культура анаммокс-бактерий с последующей физиологической характеристикой имеет важное значение для понимания экологической дифференциации анаммокс-бактерий. Среди 19 идентифицированных видов анаммокс-бактерий, 10 видов были выделены в накопительные культуры, что позволило исследовать и физиологические характеристики. Таким образом, прямые исследования микробной конкуренции могут быть выполнены с использованием этих отдельных накопительных культур (Zhang and Okabe, 2020).

Активность и популяции анаммокс-бактерий были обнаружены в различных бескислородных экосистемах, включая морские, солоноватые, прес-

новодные и почвенные. Кроме того, популяции анаммокс-бактерий были обнаружены даже в суровых условиях окружающей среды, включая гидротермальные источники, гиперсоленые бассейны, морской лед, вечномерзлый грунт и загрязненные нефтью поля. Эти отчеты показывают, что анаммокс-бактерии повсеместно распространены в бескислородных экосистемах.

Географическое распределение анаммокс-бактерий указывает на то, что они, вероятно, имеют специфичные для рода и вида среды обитания. Например, анаммокс-бактерии, относящиеся к роду «*Ca. Scalindua*» были обнаружены исключительно в морской среде. Кроме того, обилие «*Ca. Scalindua*» увеличивается с увеличением солености в устьевых районах.

Активность анаммокса сильно зависит от местных условий окружающей среды. Например, активность анаммокса в южной части Тихого океана значительно варьировалась в зависимости от глубины воды. Самым важным параметром окружающей среды является концентрация растворенного кислорода (DO). Помимо DO, следующие параметры окружающей среды повлияли на численность анаммокс-бактерий и / или активность анаммокса: концентрация NO_x^- , концентрация сульфидов, реакционная способность отложений, уровень оксида марганца, температурное соотношение NH_4^+ к NO_x^- . Возможно, что эти параметры окружающей среды также влияют на микробную активность конкурентов, которые потребляли NH_3 или NO_2^- (т.е. аэробные окислители аммиака и аэробные окислители нитрита). Ранее сообщалось о микробной конкуренции между анаммокс-бактериями и археями, окисляющими аммиак, и между анаммокс-бактериями и нитрит-окислителями в морских водоемах и отложениях. Денитрификаторы являются другими конкурентами анаммокс-бактерий по сравнению с NO_x^- , тогда как денитрификаторы могут также поставлять NO_2^- в процесс анаммокса; то есть денитрификаторы восстанавливают NO_3^- до NO_2^- , а образовавшийся NO_2^- впоследствии используется в процессе анаммокса (Oshiki et al., 2016).

5.2.5. Азотфиксация

Азотфиксирующие бактерии, азотфиксаторы, усваивают молекулярный азот атмосферы (N_2) и переводят его в органические соединения. Имеют большое значение в круговороте азота в природе, снабжении растений его усвояемыми формами. Ежегодно азотфиксирующие бактерии вовлекают в азотный фонд почвы нашей планеты до 190 млн. т азота. В процессе азотфиксации молекулярный азот восстанавливается до аммиака, который реагирует с кетокислотами, образуя аминокислоты. Источником энергии для восстановления азота служат процессы дыхания у аэробных бактерий и брожения у анаэробных. В почве наиболее распространены свободноживущие бактерии (*Azotobacter*, представители рода *Clostridium* и др.), бактерии, живущие в симбиозе главным образом с высшими растениями (например, клубеньковые бактерии на корнях бобовых), цианобактерии и другие микроорганизмы. В почвах умеренного пояса свободноживущие бактерии фиксируют до 20 кг/га азота. Некоторые азотфиксаторы используются для приготовления бактериальных удобрений.

Атомы в молекуле азота связаны прочной тройной ковалентной связью, из-за чего он практически не вступает в реакции окисления-восстановления в нормальных условиях без применения катализаторов и не может использоваться растениями и животными. Микроорганизмы для восстановления азота используют целую серию ферментов, важнейшим из которых является нитрогеназа. Она закодирована генами *nif*-комплекса, которые широко распространены у бактерий и архей, но не встречаются у эукариот. Процесс азотфиксации достаточно энергоёмкий, для ассимиляции 1 зота требуется не менее 12 молекул АТФ, то есть для использования 1 мг азота анаэробным микроорганизмам требуется около 500 мг сахарозы.

Экологические группы азотфиксаторов

Азотфиксаторы – это физиологическая, а не таксономическая группа микроорганизмов.

Азотфиксирующие бактерии подразделяют на три группы: симбиотические, свободноживущие и ассоциативные.

Симбиотические азотфиксаторы усваивают молекулярный азот, только находясь в симбиозе с растением. Особо важное значение имеет симбиоз между клубеньковыми бактериями рода *Rhizobium* и бобовыми растениями. К симбиотическим азотфиксаторам относятся также бактерии рода *Bradyrhizobium* (симбиоз с люпином, соей, вигной, машем, арахисом и т. д.), бактерии рода *Azorhizobium* (симбиоз с бобовыми растениями). Бактерии родов *Rhizobium*, *Bradyrhizobium* и *Azorhizobium* входят в α -подгруппу протеобактерий и формируют корневые и стеблевые (*Azorhizobium*) клубеньки у бобовых растений.

Актиномицеты рода *Frankia* также обитают в качестве эндосимбионтов в клубеньках, которые образуются на корнях небобовых растений, как древесных и кустарниковых, так и травянистых, среди которых ольха, облепиха, стланник, казуарина, восковница, лох, шефердия, куропаточья трава и др.

Некоторые симбиотические азотфиксаторы, относящиеся к роду *Klebsiella*, образуют клубеньки на листьях кустарников *Pavetta* и *Psychotria*.

Цианобактерии *Anabaena azollae* образуют симбиотическую ассоциацию с водным папоротником *Azolla* (цианобактерии находятся в листовых полостях папоротника), внося большой вклад в азотфиксацию на рисовых плантациях, где этот папоротник растет на поверхности покрывающей почву воды.

Цианобактерии рода *Nostoc* вступают в симбиоз с мхамипеченочниками и тропическим растением *Gunnera macrophylla*.

Симбиотические цианобактерии присутствуют в лишайниках, представляющих собой ассоциацию этих прокариот с грибами. Благодаря тому, что цианобактерии осуществляют азотфиксацию и имеют фотоавтотрофный тип метаболизма, нуждаясь для роста только в CO_2 , N_2 и минеральных солях, лишайники первыми заселяют неорганические среды, создавая условия для развития других организмов.

К свободноживущим азотфиксаторам относятся некоторые виды бактерий рода *Clostridium* (*C. pasteurianum*, *C. butyricum*, *C. acetobutyricum*, *C. felsineum*, *C. pectovorum* и др.), бактерии родов *Azotobacter*, *Azomonas*, *Beijerinckia*, *Derxia*, большинство аноксигенных фототрофных бактерий, многие цианобактерии, факультативные анаэробы (*Klebsiella pneumoniae*, *Bacillus polymyxa*), хемолитоавтотрофные бактерии (*Xanthobacter autotrophicus*, *Alcaligenes latus*), метилотрофные (бактерии родов *Methylomonas*, *Methylobacterium* и *Methylococcus*), сульфатредуцирующие (бактерии родов *Desulfotomaculum* и *Desulfovibrio*) и метаногенные бактерии.

Ассоциативные азотфиксаторы – бактерии, обитающие в ризоплане (на поверхности корней), ризосфере (в почве, окружающей корни) и филлосфере (на листьях, стеблях) растений, т. е. живущие в ассоциации с высшими растениями.

К активным азотфиксаторам, развивающимся в ризосфере и ризоплане различных растений, относятся бактерии азоспириллы (*Azospirillum lipoferum*, *A. brasilense*, *A. amazonense*, *A. halopraeferans* и др.), *Klebsiella planticola*, *Herbaspirillum seropedicae*, представители рода *Pseudomonas* и др.

Бактерии, обитающие в филлосфере, называются эпифитными, среди которых имеются азотфиксаторы, например *Pantoea agglomerans*.

Реакцию восстановления молекулярного азота до аммиака катализирует фермент нитрогеназа. Синтез нитрогеназы детерминируют *nif*-гены (от англ. Nitrogen fixation), которые находятся в хромосоме (*Klebsiella*,

Bradyrhizobium) или мегаплазмиде (*Rhizobium*). Кроме *nif*-генов в азотфиксации участвуют продукты *fix*-генов.

Известны три типа ферментов нитрогеназ. Наиболее распространенный тип содержит молибден, в других типах этого фермента вместо молибдена присутствует ванадий или железо. Некоторые азотфиксирующие бактерии в зависимости от наличия в среде молибдена или ванадия способны синтезировать два или даже три (*Azotobacter* spp.) типа нитрогеназ.

Все типы нитрогеназ состоят из двух белковых компонентов.

Компонент 1 – это собственно нитрогеназа, или MoFe-белок (динитрогеназа, или молибдоферредоксин); компонент 2 – это редуктаза динитрогеназы, или Fe-белок (FeS-белок, или азоферредоксин).

MoFe-белок (мол. масса примерно 240 кДа) состоит из четырех субъединиц двух типов, т.е. представляет собой $\alpha_2\beta_2$ -тетрамер. Этот тетрамерный белок связан с MoFe-кофактором, выполняющим роль каталитического сайта восстановления N_2 .

Fe-белок – гомодимер, состоящий из двух идентичных субъединиц, α_2 – димер (мол. масса примерно 60 кДа), соединенных через $[Fe_4S_4]$ -центр. Fe-белок принимает электроны от восстановленного ферредоксина или флаводоксина и передает их на MoFe-белок в АТФ-зависимой реакции.

Фермент нитрогеназа высокочувствителен к молекулярному кислороду – он инактивируется на воздухе и в аэробных условиях его синтез прекращается. Таким образом, фиксация азота представляет собой строго анаэробный процесс. Поэтому чувствительность нитрогеназы к O_2 не затрудняет осуществление азотфиксации у строгих анаэробов, но является лимитирующим фактором в случае аэробов и факультативных анаэробов. Тем не менее эти бактерии способны осуществлять азотфиксацию при низком содержании молекулярного кислорода в среде благодаря наличию у них специальных защитных механизмов:

1) У клубеньковых бактерий нитрогеназный комплекс защищен леггемоглобином, который связывает кислород и не передает дальше. При симбиозе клубеньковых бактерий с растениями в синтезе леггемоглобина задействованы два участника: растения обеспечивают синтез белковой части, а прокариоты синтезируют гем.

2) У аэробных бактерий при высокой концентрации кислорода наблюдается конформационное изменение нитрогеназы: фермент сворачивается таким образом, что активный центр прячется от кислорода, но при этом замедляется процесс азотфиксации.

3) У бактерий рода *Azotobacter* наблюдается дихотомия терминального участка дыхательной цепи (рис. 11). Дихотомия ЭТЦ обеспечивает связывание избытка кислорода: путь $\text{cyt } b \rightarrow \text{cyt } c \rightarrow \text{cyt } aa_3 \rightarrow \text{O}_2$ – это энергодающий процесс, а путь $\text{cyt } b \rightarrow \text{cyt } d \rightarrow \text{O}_2$ – это футильный (холостой) сброс электронов без синтеза АТФ.

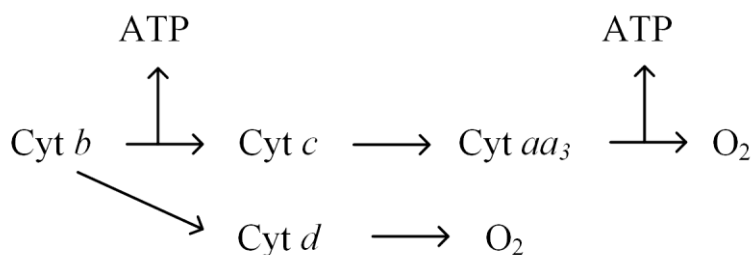


Рис. 11. ЭТЦ у бактерий рода *Azotobacter*

4) У цианобактерий есть особые клетки – гетероцисты, которые не участвуют в делении, а в них происходит фиксация газообразного азота. Гетероцисты, в отличие от вегетативных клеток, имеют три дополнительные оболочки, которые не проницаемы для газов. Азот поступает в гетероцисты через микроплазмодесмы, соединяющие вегетативные клетки с гетероцистой.

5.3. Цикл фосфора

Фосфор является важным элементом для жизни, и в природе он почти всегда присутствует в степени окисления +5. Именно в этом состоянии фосфор образует фосфоэфирные связи в основных биохимических веществах, таких как фосфолипиды, нуклеиновые кислоты и нуклеотиды. В большинстве океанов растворенные фосфаты с различной степенью протонирования со степенью окисления +5 (в первую очередь HPO_4^{2-}) фактически являются единственной формой фосфора. Однако заметным исключением из этого правила являются поверхностные воды олиготрофных круговоротов океана, где содержание растворенного органического фосфора (ДОФ) может превышать содержание фосфата в 10 раз. Около 5-10% ДОФ находится в форме фосфонатов (связи C – P), которые представляют собой органические молекулы с фосфором в степени окисления +3. Таким образом, концентрации растворенных фосфонатов потенциально могут соперничать с концентрацией фосфатов в олиготрофных поверхностных слоях океана (Van Mooy et al., 2015).

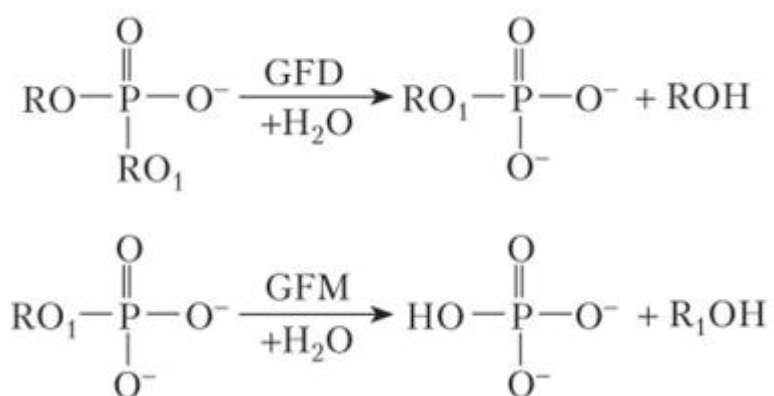
Резервным фондом фосфора является литосфера, в частности, горные породы и отложения, сформированные на ранних этапах геологической эволюции нашей планеты. Фосфор в основном присутствует в скалах и почве, а при попадании в морскую воду «уводится» из цикла в виде нерастворимых минеральных солей. В связи с этим крупнейшим резервуаром фосфора на Земле являются осадки на океаническом дне. На суше фосфор встречается в растворимых и нерастворимых формах органических и минеральных соединений. Растворимый фосфор — это анион ортофосфата (РОф), осаждаемый Ca^{2+} , Mg^{2+n} Fe^{2+} при нейтральном и слабощелочном pH. При еще более высоких значениях pH он снова может переходить в растворимую форму, связывая ионы Na^+ . При значениях pH, характерных для почвы, фосфор может находиться также в формах гидрофосфата (HPO_4^{2-}) и дигидрофосфата

(H_2PO_4^-). В почве фосфор содержится, в основном, в составе труднорастворимых веществ и становится доступным растениям только после расщепления их микроорганизмами. Идентифицировано более 200 форм минерального фосфора в почвах. Наиболее часто встречающиеся соединения — это апатиты с общей формулой $\text{M}_{10}(\text{PO}_4)_6\text{X}_2$, где М — металл, а Х — галоген. От общего органического фосфора почвы инозитолфосфат составляет от 15 до 30%, на нуклеотиды приходится 2—5% и на фосфолипиды — 1-2%. Большая часть органического фосфора находится в неидентифицированных соединениях. Одна из известных форм органического фосфора — фосфонаты.

С момента открытия фосфонатов появилось много информации о биологическом происхождении и биогеохимической роли этих молекул. Азотфиксирующая цианобактерия *Trichodesmium*, обитатель олиготрофных круговоротов, содержит ~ 10% своего клеточного фосфора в виде фосфонатов. Несколько классов планктонных цианобактерий, гетеротрофных бактерий и архей, по-видимому, несут гены для синтеза, обработки и / или поглощения фосфонатов, включая молекулы фосфоната с низким молекулярным весом (НММ) метилфосфоновой кислоты (MPn) и 2-аминоэтилфосфоновой кислоты (2-АЭП). *Trichodesmium* способен расти с фосфонатами в качестве единственного источника фосфора, и считается, что разложение MPn этими и другими микроорганизмами способствует аэробному производству метана в круговоротах океана. В дополнение к фосфонатам, разновидности фосфита с различной протонностью, которые также содержат фосфор в степени окисления +3, также могут играть роль в биогеохимии олиготрофных круговоротов. Штаммы цианобактерий рода *Prochlorococcus*, которые вместе составляют единственную наиболее многочисленную группу фитопланктона в олиготрофных круговоротах, способны расти на фосфите как на единственном источнике фосфора. Эти организмы также несут гены поглощения фосфита и окисления до фосфата, как и *Trichodesmium*.

Круговорот фосфора проще, чем циклы других макроэлементов, и заключается в переходе органических фосфорсодержащих соединений в фосфаты, которые могут использоваться растениями и другими автотрофами. Доступный фосфор высвобождается также в результате выветривания горных пород. При «уводе» фосфора в морские осадки он может надолго выпасть из круговорота. Считается, что механизмы возврата фосфора в цикл не достаточно эффективны и не компенсируют его потерь. Микробный цикл фосфора отражает его движение между неорганическим и органическим пулами и между нерастворимой и растворимой формами. Микроорганизмы играют главную роль в растворении, иммобилизации (связывании) и минерализации фосфора. Существует три основных механизма, позволяющих растворять минеральные формы фосфора и делать их доступными для растений: хелатирование, восстановление железа в фосфорных минералах и подкисление. Все три механизма дестабилизируют минералы, содержащие фосфор. Так, органические соединения, образуемые микроорганизмами, такие как оксалат, могут связывать Ca^{2+} , Mg^{2+} и Fe^{2+} , тем самым переводя фосфор в растворимое состояние. Двухвалентное железо обладает большей растворимостью, чем трехвалентное, поэтому фосфорные минералы, содержащие Fe^{2+} , более растворимы. При замещении трехвалентного железа двухвалентным, например, в анаэробных условиях, концентрация доступного фосфора существенно возрастает. Образование микроорганизмами кислых продуктов (неорганических кислот — азотистой, азотной, серной и угольной) приводит к растворению минералов фосфора. Именно поэтому перед внесением фосфатных удобрений значительный эффект дает смешивание почвы с навозом и серой, которую тиобациллы преобразуют в серную кислоту. Растворение фосфорных минералов микроорганизмами можно легко проследить чашечным методом по образованию прозрачных зон растворения осадков минералов вокруг колоний в чашках Петри.

Органический фосфор, составляющий от 30 до 50% всего фосфора в почве, должен превратиться в минеральный, чтобы стать доступным для растений. Фосфолипиды и нуклеиновые кислоты минерализуются быстро, а инозитолфосфаты — медленно. Минерализация проходит быстрее при повышенных температурах, слабощелочной или нейтральной реакции почвы и при высоком содержании органического фосфора. Бактерии, активно минерализующие фосфор, составляют до 10% от общей микробной популяции почвы. Это преимущественно ризосферные организмы родов *Bacillus*, *Micrococcus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas* и некоторые грибы. Органические соединения фосфора подвергаются минерализации под действием их гидролаз фосфорных эфиров (фосфатаз) в соответствии с реак-



цией

где GFD и GFM — гидролазы фосфорных ди- и моноэфиров соответственно. Моноэстеразы фосфата обладают четко выраженными оптимумами pH при 6,5 («кислые фосфатазы») и 11,0 («щелочные фосфатазы»). Фосфатазы микроорганизмов могут быть внеклеточными. Отдельные фосфатазы могут иметь мультисубстратную специфичность.

Пониженное содержание фосфора в почве стимулирует образование фосфатаз и минерализацию лабильных органических соединений, содержащих фосфор. Для полного расщепления фосфорных диэфиров (R—O—P—O—R₁) необходимо воздействие нескольких ферментов. Почвы с высокими

концентрациями неорганического фосфора подавляют фосфатазные активности и снижают скорость минерализации органического фосфора. Еще один тип ферментов — фитазы, находят у многих организмов, но их активность невелика вследствие невысокой концентрации фитина в почвах. За один каталитический акт фитаза снимает одну фосфатную группу в молекуле фитина.

Концентрация фосфора в клетках микроорганизмов обычно в 10 раз выше, чем в растительных. Фосфор может составлять от 0,5 до 1,0% грибного мицелия и от 1 до 3% биомассы бактерий. Большая часть фосфора у микроорганизмов содержится в РНК (от 30 до 50%). При низких концентрациях фосфора в почве микроорганизмы связывают (иммобилизуют) его в биомассе, лишая растений доступного фосфора. Бактерии также запасают фосфор в виде полифосфатов (волютина), накапливая его в больших, чем им требуется, количествах. Это приводит к тому, что фосфор переводится в недоступную растениям форму. Быстрота связывания зависит от скорости роста микроорганизма и доли фосфора в органических соединениях. Для оптимального развития почвенной микробиоты содержание фосфора должно составлять 0,3% от общего количества органических соединений, расходуемых на рост. Дефицит фосфора можно создать, добавляя в почву избыток углерода.

Симбиозы корней растений с мицелием грибов или актиномицетов (микориза или актинориза) вносят существенный вклад в общее фосфорное питание растений четырьмя основными способами:

- 1) мицелиальные симбионты растворяют минеральные соединения фосфора, выделяя органические кислоты и CO_2 в процессе дыхания;
- 2) микориза (актинориза) увеличивает объемы почвы, из которых фосфор может поступать в растение, поскольку она значительно расширяет всасывающую поверхность;

- 3) поглощение фосфора микоризой (актиноризой) по сравнению с корневой системой растений происходит при более низких его концентрациях в почве;
- 4) некоторые мицелиальные симбионты выделяют кислые фосфатазы, минерализующие органический фосфор почвы.

Производство и использование в быту фосфорсодержащих препаратов приводят к загрязнению речных и озерных вод и вызывают их культурную евтрофикацию. В недавнем прошлом фосфаты широко использовали в моющих средствах для эффективного связывания катионов Ca^{2+} и Mg^{2+} , придающих воде жесткость и препятствующих хорошей работе детергентов. В настоящее время использование фосфатов в моющих препаратах запрещено, поскольку сточные воды с избытком фосфатов вызывают резкую вспышку развития водорослей и цианобактерий в пресных водоемах и прибрежных зонах морей, что может привести к негативным экологическим последствиям. В настоящее время во многих штатах США законодательно ограничено количество общего фосфора, которое может быть внесено в почву вокруг чувствительных к евтрофикации озер и рек, таких как водоемы долины реки Гудзон. На очистных сооружениях строго контролируют уровень фосфора в сточных водах после их обработки, при необходимости осажая фосфор химическими соединениями.

6. Микробные процессы в биотехнологии окружающей среды

6.1. Роль микроорганизмов в очистке воды

Сейчас нет ни одной технологии очистки стоков крупных городов, в которой не использовались бы микроорганизмы. Все мы знаем домашние фильтры для очистки воды: в них удаляются в основном крупные частицы. Существуют системы с обратным осмосом, в которых удаляются даже анионы и катионы — вода становится близка к дистилляту. Для крупных городов применять такие системы очень дорого. Нужно производить специальные

мембраны, которые будут задерживать вредные соединения. И если в масштабах одной семьи такие мембраны по карману, то, если их применять для очистки коммунальных сточных вод на уровне городов, стоимость этого процесса вырастет в несколько раз. А вот с помощью микроорганизмов очищать воду значительно дешевле. Поэтому по всему миру в очистных сооружениях используют возможности микробных сообществ.

Микроорганизмы могут справиться практически с любыми соединениями, которые есть в сточных водах, кроме некоторых ксенобиотиков. Мы знаем, что даже к антибиотикам рано или поздно развивается устойчивость: микробы учатся бороться с химическими соединениями, синтезированными человеком. А все компоненты бытовых сточных вод — органические вещества, многие соли — это очень хороший субстрат. С точки зрения микроорганизмов они, конечно, не очищают воду — они просто в ней живут, поедают разные вещества и, сами того не зная, оказывают нам помощь.

Микробное сообщество в очистных сооружениях формируется само, независимо от нашего желания. Можно ему чем-то помогать, если хорошо понимать, как оно живет, но создавать искусственную микробиологическую систему не нужно. Например, процесс денитрификации — удаления нитратов — напрямую зависит от содержания органического вещества. Донор электронов — органическое вещество, акцептор — нитрат, поэтому для того, чтобы процесс пошел быстрее, нужно просто добавить низкомолекулярное органическое вещество, съедобное для микробов. Если по каким-то причинам состав сточных вод меняется, то меняется и микробное сообщество. Например, такое происходит во время Масленицы, когда люди активно жарят блины и в сточных водах становится больше масла.

Технологически достаточно построить правильное очистное сооружение, создать необходимые условия и подождать, пока оно заселится нуж-

ными микробами. Ждать придется несколько недель, но потом сформированное микробное сообщество, активный ил, будет работать вечно, пока есть сточная вода. Основной резервуар любого очистного сооружения — это аэротенк, представляющий собой огромную ванну, куда поступает вода после предварительной очистки от крупных частиц и отстаивания взвесей. В аэротенках живут аэробные микроорганизмы, и нужно правильно обеспечить режим подачи кислорода. Расчет необходимых условий — задача специалистов-микробиологов и технологов. Если все рассчитано правильно, в резервуаре образуются флоккулы активного ила — сообщества микроорганизмов, которые обеспечивают максимально эффективное потребление загрязняющих веществ из воды.

6.2. Биodeградация

Биodeградация (биологический распад, биоразложение) — это преобразование сложных веществ с помощью биологической активности. Основными биологическими агентами, осуществляющими биоразрушение, являются микроорганизмы, обладающие широким набором ферментов и высокой лабильностью метаболизма. Именно они способны разлагать широкий спектр химически стойких соединений, тем самым возвращая основные химические элементы в глобальные циклы и предотвращая накопление «мертвых» остатков на поверхности Земли. В данной главе мы рассмотрим биodeградацию пластиков и нефти.

6.2.1. Биodeградация пластиков

Синтетические полимеры широко используются в производстве материалов, применяемых в промышленности, медицине, строительстве и автомобилестроении. По данным экспертов, почти половину всего бытового мусора составляют именно полимерные отходы. Отходы из этих материалов долго и плохо разлагаются, загрязняя почву и воду. Для утилизации пластиковых отходов чаще всего используют сжигание или захоронение. Однако

наиболее экологически чистым способом переработки пластиков является биodeградация.

На рисунке 12 представлены основные синтетические полимеры, производимые в мире в последние годы. Некоторые из них подвергаются биodeградации с использованием различных групп микроорганизмов.

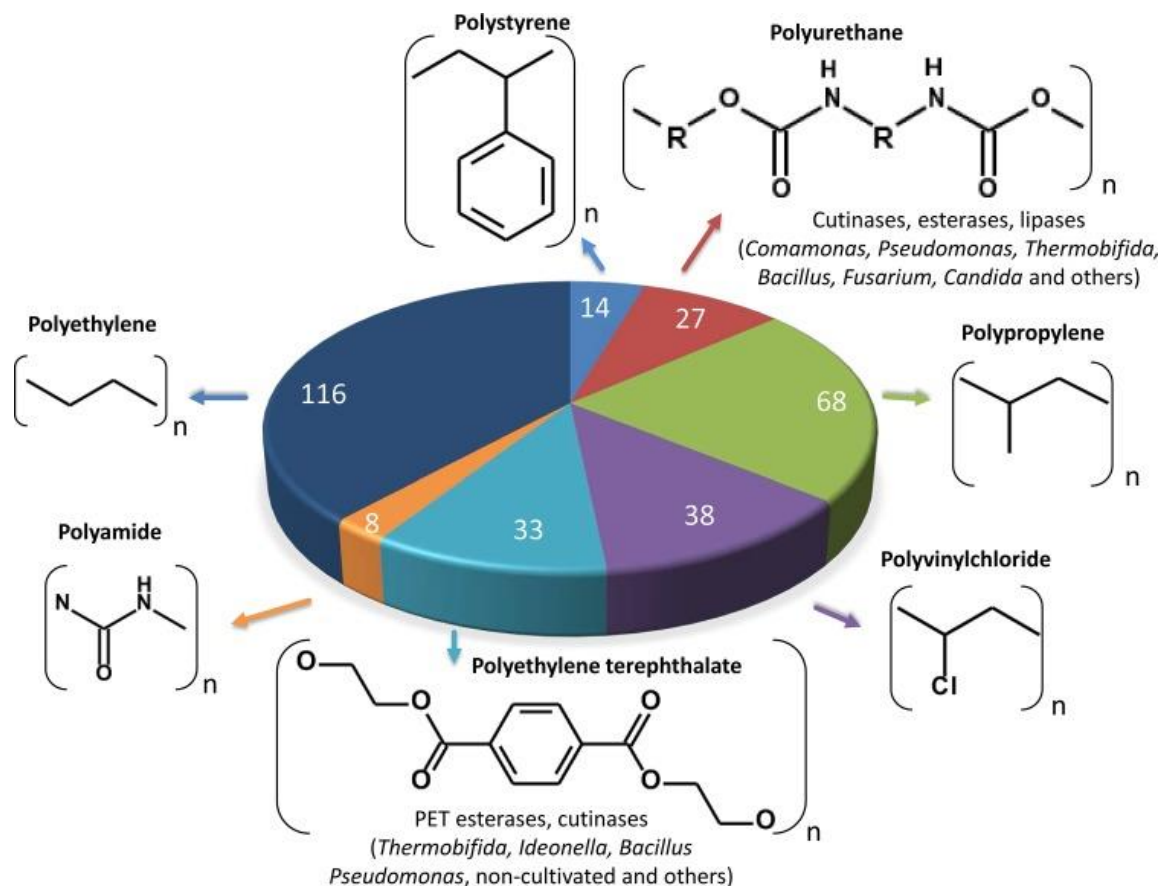


Рис. 12. Основные синтетические полимеры, произведенные в мире в 2016 году. Числа на диаграмме указывают на глобальное годовое производство (в миллионах тонн) указанного синтетического полимера. Мономеры изображены над диаграммой. Указаны названия родов бактерий, продуцирующих проверенные ферменты с доступными белковыми последовательностями, которые, как известно, участвуют в расщеплении высокомолекулярных полимеров.

Полиэтилентерефталат.

Полиэтилентерефталат (ПЭТ) в основном используется для производства ПЭТ-бутылок, ПЭТ-пленки и волокон в текстильной промышленности. ПЭТ - это полярный линейный полимер, состоящий из повторяющихся звеньев ароматической терефталевой кислоты и этиленгликоля.

В настоящее время описано лишь несколько бактерий и грибов способных к частичному разложению ПЭТ до олигомеров или мономеров. Все известные гидролазы ПЭТ имеют относительно низкую скорость оборота. Интересно, что большинство бактериальных изолятов, способных к деградации ПЭТ, являются членами грамположительными актинобактериями. Наиболее охарактеризованные экземпляры относятся к родам *Thermobifida* и *Thermomonospora*. Ферменты, участвующие в деградации (например, ПЭТ-гидролаза и танназа), представляют собой типичные сериновые гидролазы, например кутиназы (ЕС 3.1.1.74), липазы (ЕС 3.1.1.3) и карбоксилэстеразы (ЕС 3.1.1.1).

Для бактерии *Ideonella sakaiensis* описано использование ПЭТ в качестве основного источника энергии и углерода. В дополнение к ПЭТ-гидролазе в геноме *I. sakaiensis* кодирует второй фермент, который пока что является уникальным и имеет большое сходство с группой танназ, способных разлагать моно (2-гидроксиэтил) терефталевую кислоту. ПЭТ-гидролаза в качестве секретлируемого фермента продуцирует промежуточную моно (2-гидроксиэтил) терефталевую кислоту (МНЕТ). МНЕТ усваивается клеткой и гидролизуется МНЕТase. Полученные мономеры затем используются для метаболизма бактерий.

В настоящее время помимо ферментов *I. sakaiensis* известно, что разлагать ПЭТ могут еще четыре фермента из видов *Thermobifida*, один из *Saccharomonospora* и один из типа *Thermomonospora*. Эти актинобактериальные ферменты часто являются Ca^{2+} -зависимыми, и они частично ингибируются высвобождаемыми продуктами гидролиза.

К гидролизу ПЭТ способны также кутиназы грибов. Наиболее яркими примерами являются кутиназы типов *Fusarium* и *Humicola*.

В дополнение к описанным выше подходам, основанным на активности, был разработан крупномасштабный глобальный поиск в существующих базах данных генома и метагеномов на основе скрытой марковской модели (НММ) на предмет наличия потенциальных гидролаз ПЭТ (31). Используя этот подход, в бактериальных и архейных геномах и метагеномах было идентифицировано > 800 потенциальных ПЭТ-гидролаз, а несколько ферментов были функционально проверены (например, ПЭТ2, ПЭТ4, ПЭТ6 и ПЭТ12). Эти данные предполагают, что гены, кодирующие гидролазу ПЭТ, глобально распределены в морских и наземных метагеномах.

Полиуретаны.

Полиуретаны (PUR) можно синтезировать с использованием различных полиэфирных или сложных полиэфирполиолов. PUR представляет собой полимер органических звеньев, связанных карбаматом. Дополнительное включение ароматических кольцевых структур оказывает влияние на физические и химические свойства полимера. PUR - это широко используемый синтетический полимер для производства пен, изоляционных материалов, текстильных покрытий и красок для предотвращения коррозии.

На сегодняшний день сообщается только о биоактивности, которая действует на PUR на основе сложного эфира. Биоразложение было достигнуто либо бактериями, либо грибами. Среди бактерий, способных разлагать PUR, наиболее часто упоминаются грамотрицательные бетапротеобактерии из рода *Pseudomonas*. Одним из первых ферментов, действующих на PUR, была липаза PueB из *Pseudomonas chlororaphis*. Этот организм кодирует по крайней мере один дополнительный фермент, активный в отношении PUR, который был обозначен как липаза PueA.

Еще один пример биодеструктора PUR - *Comamonas acidovorans* ТВ-35. Этот штамм продуцирует PUR-активный фермент, который является эстеразой и был назван PudA.

Известно, что кутиназы из *Thermobifida*, которые, как известно, расщепляют полиэтилентерефталат, также действуют на PUR. Это может быть связано с низкой специфичностью данных ферментов.

Способность к деструкции PUR показана еще для нескольких грибов: *Fusarium solani*, *Candida ethanolica* и *Candida rugosa*. У *C. rugosa* ключевым ферментом метаболизма PUR является липаза, а для *C. ethanolica* и *F. solani* ферменты еще не идентифицированы. Другие разлагающие PUR грибы принадлежат к комплексу *Cladosporium cladosporioides*, включающему виды *Cladosporium pseudocladosporioides*, *Cladosporium tenuissimum*, *Cladosporium asperulatum* и *Cladosporium montecillanum*, и еще три грибка идентифицированные как *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogen* и *Aspergillus flavus*. В случае *A. flavus* предполагается, что за деградацию ответственны секретируемые эстеразы. Однако ни один определенный фермент еще не был связан с наблюдаемой активностью.

Полиэтилен.

Полиэтилен (PE) состоит из длинноцепочечных полимеров этилена и производится в виде полиэтилена высокой плотности (HD-PE) или низкой плотности (LD-PE). PE химически синтезируется путем полимеризации этана, и его свойства сильно различаются, так как боковые цепи могут быть получены в зависимости от производственного процесса. Такие модификации в основном влияют на кристалличность и молекулярную массу. Полимер наиболее часто используется в упаковочной промышленности в качестве одного из основных упаковочных материалов.

Возможная деградация PE связана с удивительно большим количеством бактериальных родов. Среди них были грамотрицательные виды, относящиеся к родам *Pseudomonas*, *Ralstonia* и *Stenotrophomonas*, а также многие грамположительные таксоны (например, *Rhodococcus*, *Staphylococcus*, *Streptomyces*, *Bacillus* и другие). Кроме того, сообщалось о родах грибов, связанных с предполагаемой деградацией PE; к ним относятся *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Penicillium* и другие. Кроме того, несколько исследований связали микробы, разлагающие ПЭ, со сложным микробиомом кишечника беспозвоночных.

Примечательно, что почти во всех вышеупомянутых исследованиях микроорганизмов, разлагающих ПЭ, авторы сообщали о разложении полимеров с использованием коммерческих полимеров, которые, возможно, содержали химические добавки, и разложение определялось путем измерения потери веса и инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье (FTIR). Поскольку потеря веса и изменения структуры поверхности, скорее всего, связаны с разложением химических добавок, которые часто составляют значительную часть полимера, результаты этих исследований необходимо проверить с использованием более передовых технологий. Ни одно из этих исследований не выявило биохимических механизмов и ферментов, участвующих в распаде PE. В рамках этой концепции более поздняя публикация идентифицировала производную *Penicillium* лакказы как потенциально участвующую в распаде PE. К сожалению, не было проведено ни одной детальной биохимической характеристики, и ни одна последовательность белка или соответствующего гена не была депонирована.

Полиамид.

Полиамид (РА) представляет собой полимер повторяющихся звеньев алифатических, полуароматических или ароматических молекул, связанных амидными связями. Поскольку мономеры для изготовления этого полимера

могут быть очень разнообразными, существует множество различных типов синтетических полиамидов, самыми популярными из которых являются нейлон и кевлар. Синтетические полиамиды в основном используются в текстиле, автомобилестроении, коврах и спортивной одежде.

Примечательно, что протеины, как и натуральный шелк, сами по себе являются полиамидами. Исходя из этого, следует ожидать, что природа выработала ферменты, которые действуют на эти неродные полимеры. Однако на сегодняшний день не известно ни одного микроорганизма, способного полностью разрушить интактный высокомолекулярный полимер. Напротив, существует несколько исследований бактерий, действующих на линейные или циклические олигомеры нейлона с довольно короткой длиной цепи. В одном из первых исследований было описано, что разные бактерии растут на различных олигомерах, полученных в результате производства нейлона. В сточных водах нейлоновых заводов накапливаются 8-капролактамы, 6-аминогексановая кислота, циклический димер 6-аминогексановой кислоты и олигомеры 6-аминогексановой кислоты. Эти соединения могут служить источником углерода и азота для специально адаптированных бактерий. Одной из первых описанных бактерий, растущих на этих смесях олигомеров, была *Flavobacterium* sp. штамм KI72, который позже был переименован в *Achromobacter guttatus* KI72, а затем недавно назван *Arthrobacter* sp. штамм KI72. Изоляты *Arthrobacter*, разлагающие нейлоновый олигомер, кодируют в своих геномах различные гидролазы и несколько аминотрансфераз, участвующих в начальной деградации олигомеров и последующем метаболизме. В случае штамма KI72 соответствующие гены расположены на дополнительной плазмиде pOAD2.

Для начального гидролиза циклических и линейных олигомеров 6-аминогексаноата необходимы три основных фермента. Первый представляет собой циклическую димергидролазу (NylA), второй - димергидролазу (NylB), а третий - олигомерную гидролазу эндо-типа (NylC).

Совсем недавно сообщалось, что на нейлон действуют различные морские бактерии: *Bacillus cereus*, *Bacillus sphaericus*, *Vibrio furnissii* и *Brevundimonas vesicularis*. Однако гены и ферменты, связанные с разложением нейлона, еще предстоит идентифицировать.

Единственный фермент, который, как сообщалось, действует на высокомолекулярные нейлоновые волокна, был классифицирован как марганец-зависимая пероксидаза и был получен из грибка белой гнили. Фермент имел молекулярную массу 43 кДа и зависел от присутствия лактата и других альфа-гидроксикислот. К сожалению, последовательность гена или белка не была определена.

Полистирол.

Полистирол (ПС) [поли (1-фенилэтен)] – полимер, состоящий из мономеров стирола. ПС - широко используемый синтетический полимер в упаковочной промышленности, но из этого полимера также изготавливают многие предметы повседневного обихода (коробки для компакт-дисков, пластиковые столовые приборы, чашки Петри и т. д.).

К сожалению, на сегодняшний день не известен фермент, способный разрушить высокомолекулярный полимер. Однако недавно Крюгер и его коллеги опубликовали первый отчет об идентификации грибов бурой гнили, способных атаковать полистирол, с помощью реакций Фентона, управляемых гидрохиноном. В этом предварительном исследовании *Gloeophyllum striatum* DSM 9592 и *Gloeophyllum trabeum* DSM 1398 вызывали значительную деполимеризацию после 20 дней инкубации. Наиболее активные штаммы *Gloeophyllum* вызывали снижение молекулярной массы почти на

50%. В более раннем исследовании грибы белой гнили *Pleurotus ostreatus*, *Phanerochaete chrysosporium* и *Trametes versicolor* и гриб бурой гнили *Gloeophyllum trabeum* были связаны с деполимеризацией полистирола при совмещении с лигнином. Хотя это первые и многообещающие отчеты о разложении высокомолекулярного полимера, ферменты, участвующие в реакции деполимеризации, еще предстоит выяснить. Как уже указывалось выше, потеря веса могла быть вызвана разложением химических добавок.

Хотя не известно ни одной бактерии, способной разлагать полимер, известно большее количество родов бактерий, которые способны метаболизировать мономерный стирол в качестве единственного источника углерода. Разложение стирола у бактерий хорошо изучено у *Pseudomonas*, *Xanthobacter*, *Rhodococcus*, *Corynebacterium* и других. Похоже, это широко распространенный метаболизм. В аэробных условиях стирол окисляется двумя разными путями, а именно: (i) атакуя боковую виниловую цепь и (ii) довольно неспецифическое ароматическое кольцо, образуя, в первую очередь, промежуточные соединения 3-винилкатехол, фенилуксусную кислоту и 2-фенилэтанол. Эти промежуточные соединения направляются в цикл Кребса после расщепления кольца. Деградация винильной боковой цепи включает действие трех ключевых ферментов: стиролмонооксигеназы, стиролоксид-изомеразы и фенилацетальдегиддегидрогеназы. Стиролмонооксигеназа атакует боковую виниловую цепь, высвобождая эпоксиستيرол, который затем подвергается изомеризации с образованием фенилацетальдегида. Последний окисляется до фенилуксусной кислоты с участием дегидрогеназы. У *P. putida* фенилуксусная кислота активируется до фенилацетил-кофермента А (CoA), а затем подвергается β -окислению с образованием ацетил-CoA, который непосредственно вводится в цикл Кребса. Соответствующие гены оксигенации боковых цепей часто расположены в одном консервативном кластере генов, часто обозначаемом *styABC(D)*.

Прямое расщепление кольца стирола инициируется дигидроксилированием ароматического кольца. Эта реакция катализируется 2,3-диоксигеназой, а затем - 2,3-дигидродиолдегидрогеназой. Два основных продукта, которые образуются, - это стирол-цис-гликоль и 3-винилкатехол. Последний затем может быть разложен путем последующего мета- или ортодеградации с образованием акриловой кислоты, ацетальдегида и пирувата. Этот путь довольно неспецифичен для общей деградации различных ароматических соединений, таких как фенол или толуол.

Получаемые фенилацетальдегиды представляют интерес для различных отраслей промышленности, поскольку их можно рассматривать как строительные блоки для производства различных химических веществ тонкой очистки или фармацевтических соединений. Они могут служить исходным материалом для синтеза ароматизаторов, ароматизаторов, фармацевтических препаратов, инсектицидов, фунгицидов или гербицидов. Недавние исследования также показали, что *Pseudomonas putida*, *Rhodococcus zopfii* и другие Грам-отрицательные виды могут превращать полистирол (т.е. стирольное масло) в биоразлагаемый полимерный полигидроксиалканоат или другие ценные соединения. Подход включает в себя в качестве первого шага пиролиз полистирола до стирольного масла. Затем стирольное масло на второй стадии превращается в полигидроксиалканоат или другие соединения. Хотя общая концепция этого двухэтапного процесса интригует, он может оказаться невозможным в больших масштабах, поскольку пиролиз - это процесс, который протекает при 520 ° C, и это требует больших энергетических затрат.

Поливинилхлорид и полипропилен.

Поливинилхлорид (ПВХ) и полипропилен (ПП) являются важными полимерами, производимыми в больших количествах, чем вышеупомянутые полимеры. ПВХ является третьим наиболее часто производимым полимером,

и только полиэтилен и полипропилен производятся с более высокими объемами производства. ПВХ состоит из повторяющихся звеньев хлорэтила, а ПП - из повторяющихся звеньев пропан-1,2-диильных звеньев. Не смотря на огромные мировые объемы их производства, вряд ли имеется какая-либо достоверная информация о микробной деградации этих важных полимеров. Не известны определенные ферменты или пути, ответственные за разложение любого из этих двух высокомолекулярных полимеров (Danso et al., 2019).

6.2.2. Биodeградация нефти

Способность микроорганизмов к деструкции углеводородов (УВ) нефти и нефтепродуктов лежит в основе многих биотехнологий, направленных на улучшение экологических условий, в том числе, биотехнологии восстановления нефтезагрязненных почв и водных акваторий. Считается, что наиболее распространенными в загрязненных местах обитания являются бактерии родов: *Rhodococcus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter* и *Acinetobacter*. Именно этим организмам, принадлежащим к углеводородоокисляющей группе, отводится основная роль в процессах естественного самоочищения почв от нефтяных загрязнений. Углеводородоокисляющие микроорганизмы способны окислять алканы, ароматические углеводороды, смолы и асфальтены в условиях широкого диапазона температур – от минус 5 до +75 °С. Микробному воздействию подвергаются практически все известные углеводороды. Кроме того, важную роль в деградации углеводородов играют вещества с поверхностно-активными свойствами, которые превращают нефтяную пленку в мелкодисперсную эмульсию, что приводит к увеличению площади контакта нефтяных капелек с бактериями и улучшает аэрацию. Процесс биодеструкции углеводородов нефти сопровождается изменением физико-химических свойств, группового и индивидуального углеводородного состава нефтей. Следует отметить, что нефть – многокомпонентная система, поэтому

процесс ее биодegradации носит сложный характер и зависит от ее физико-химического состава.

Начальное внутриклеточное разрушение органических загрязнителей является окислительным процессом, катализируемым оксигеназой и пероксидазой. Продукты расщепления затем превращаются в пируват, фумарат, сукцинат или иные промежуточные продукты, вовлекаемые в метаболизм. Далее продукты деградации органических загрязнителей могут участвовать в биосинтезе клеточной биомассы за счет центральных метаболитов - предшественников.

Деструкция органических загрязнителей опосредована специфическими ферментными системами и цепью последующих превращений (Fritsche, Hofrichter, 2000). В большинстве случаев, метаболизм **парафиновых углеводов** с участием микроорганизмов начинается с терминального окисления концевой метильной группы в спирт и, далее, через альдегид до соответствующей жирной кислоты. Дальнейшее окисление углеводорода протекает по пути, который известен как бета-окисление жирных кислот, при котором за каждый цикл длина цепочки жирной кислоты укорачивается на два углеродных атома. Как правило, ферменты, участвующие в этом процессе, обладают низкой специфичностью и могут участвовать в утилизации углеводов с различным числом углеродных атомов. Твердые парафины с числом углеродных атомов больше 30 утилизируются значительно медленнее.

Непредельные алифатические углеводороды в основном легко окисляются микроорганизмами. Однако некоторые из олефинов могут быть токсичными для отдельных групп микроорганизмов. Хотя низкомолекулярные моноароматические углеводороды являются токсичными для подавляющего большинства микроорганизмов, но в низких концентрациях некоторые виды бактерий и грибов относительно быстро утилизируют эти соединения.

Метаболические превращения **моноароматических углеводов**, как правило, включают реакции гидроксирования, и, только после этого, ароматическое кольцо расщепляется по пути орто- или мета- расщепления. Следует отметить, что пути распада ароматических соединений у разных микроорганизмов чрезвычайно разнообразны. Варьировать могут и стадии, предшествующие их расщеплению, и характер самого расщепления.

После первичной атаки микроорганизмов в нефтезагрязненной среде остаются алканы с очень длинной цепью, полициклические нафтены, полиароматические углеводороды и смеси веществ, составляющие фракцию смол и асфальтенов. Все эти вещества не могут быть метаболизированы отдельными микроорганизмами, и их деструкция в природных условиях связывается с действием смешанных популяций микроорганизмов, т.е. сообществ, для которых характерны отношения кооперации, комменсализма и взаимопомощи.

Н-алканы, основная группа УВ нефти, активно разлагаются в морских экосистемах, в аэробных условиях утилизируются несколькими путями. Деструкция н-алканов со средней длиной цепи в клетках *Pseudomonas putida*, содержащих плазмиду ОСТ, инициируется алкан - гидроксилазой. В клетках *Pseudomonas putida* (ОСТ) окисление н-алкана начинается с терминальной метильной группы, в результате чего образуются н-спирты, которые далее окисляются мембрансвязанной алкоголь дегидрогеназой до альдегидов. Затем альдегиды трансформируются в жирную кислоту и затем в ацил СоА альдегиддегидрогеназой и ацил Со-А синтезасой, соответственно (рис. 2).

Сообщается также путь деградации УВ нефти, в результате которого образуются вторичные спирты. В этом случае, н-алканы окисляются монооксигеназой до вторичных спиртов, затем кетонов, и наконец, жирных кислот. В клетках штамма *Acinetobacter* М-1, н-алканы превращаются в н-алкильнпе-

роксиды, и эти молекулы в дальнейшем метаболизируются в соответствующий альдегид. Первый фермент, участвующий в этом процессе содержит ФАД⁺ и Cu²⁺, в качестве протетической группы (Maeng *et al.*, 1996).

Многие виды дрожжей, например, *Candida maltosa*, *Candida tropicalis* и *Candida apicola*, были исследованы на предмет способности к утилизации n-алканов. Первый этап деградации алканов (терминальное гидроксильное окисление) и катализируется P450 монооксигеназой.

Катаболические пути деструкции **разветвленных алканов** были выявлены для нескольких бактерий, например, штамм *Rhodococcus BPM 1613* деградировал phytane (2,6,10,14-tetramethylhexadecane), norpristane (2,6,10-trimethylpentadecane) и farnesane (2,6,10-trimethyldodecane) с помощью бета-окисления.

Циклоалканы, включая конденсированные, разлагаются по механизму соокисления. При этом наблюдается формирование циклических спиртов и кетонов. Кислород включается монооксигеназой в циклические кетоны, и циклическое кольцо расщепляется (рис. 13).

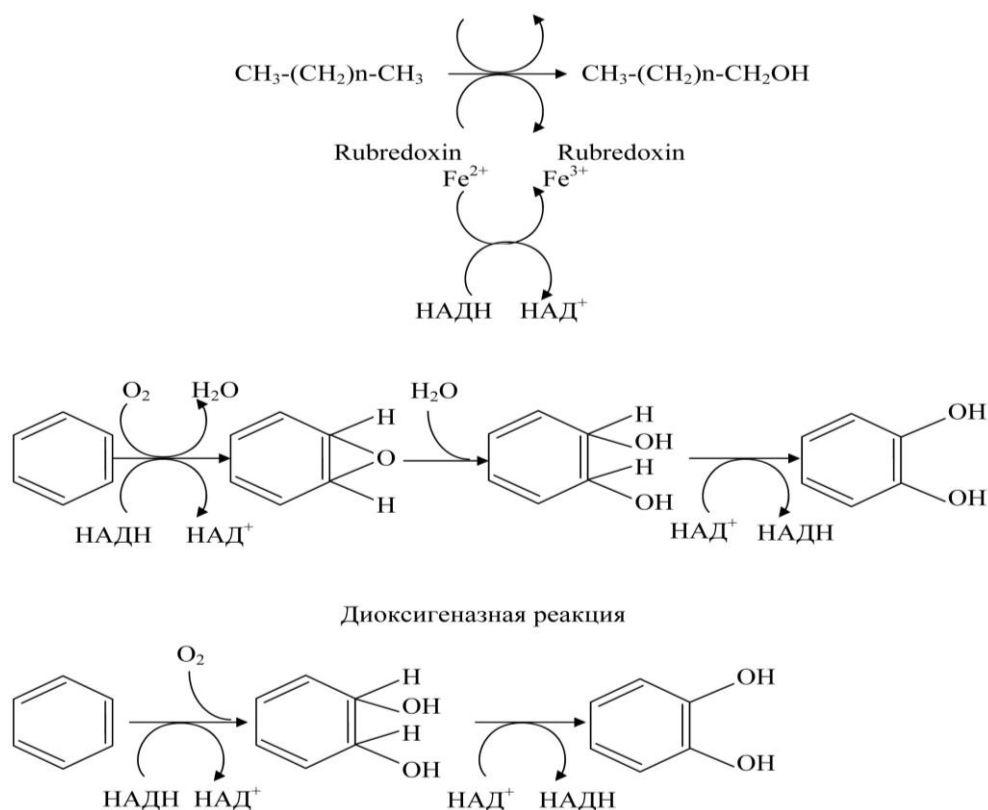


Рис. 13. Ферментативные реакции в деструкции углеводородов нефти

Этот промежуточный продукт затем превращается в 3-метилкатехол. У *Pseudomonas mendocina* KP1, толуол преобразуется в п-крезол 4-монооксигеназой, затем следует образование п-гидроксibenзоата путем окисления боковой метиловой цепи. У *Pseudomonas pickettii* PKO1, толуол окисляется толуол 3- монооксигеназой в м-крезол, который далее окисляется до 3-метилкатехола другой монооксигеназой. У *Burkholderia cepacia* G4, толуол метаболизируется до о-крезола толуол 2-монооксигеназой, это промежуточное вещество трансформируется другой монооксигеназой в 3-метилкатехол. Штамм *Burkholderia* sp. JS150 является уникальным в использовании нескольких путей метаболизма толуола.

Простые полициклические ароматические углеводороды (ПАУ), такие как нафталин, дифенил и фенантрен деградируются в аэробных усло-

виях. Деградация этих соединений, как правило, начинается дигидроксилированием одного из ароматических колец, затем следует расщепление дигидроксилированного кольца. Гидроксилирование кольца катализируется многокомпонентной диоксигеназой, которая состоит из редуктазы, ферредоксина и железо-серого белка, а расщепление кольца катализируется железосодержащим белком.

ПАУ, состоящие из четырех или более конденсированных ароматических колец, имеют очень низкую растворимость в воде и, как правило, адсорбируются на поверхности твердых тел. Эти характеристики являются одними из основных причин трудности биодеградации этих субстратов. Среди представителей *Mycobacteria* и *Sphingomonas* были выделены представители, которые способны деградировать ПАУ, состоящие из четырех и более конденсированных ароматических колец. Некоторые *Mycobacteria* минерализуют (деградируют в CO_2 и H_2O) пирен, флуорантен и бензопирен.

Асфальтены и смолы считаются стойким к биодеградации, однако Rontani и соавт. (1985) сообщили, что около половины компонентов асфальтенов ко-метаболически окисляются микробным консорциумом в присутствии C_{12} до C_{18} n-алканов.

Недавние исследования показали, что некоторые углеводороды могут окисляться в анаэробных условиях, при восстановлении нитратов, сульфатов, железа, метаногенезе или фотосинтезе.

Многие углеводороды, такие как алканы, алкены и ароматические углеводороды, включая бензол, толуол, ксилолы, этил и пропилбензены, триметилбензены, нафталин, фенантрен и аценафтен, подвержены анаэробной деградации. Пути деградации алканов и алкенов еще не ясны окончательно. Анаэробные бактерии штамм HD-1 растет на CO_2 в присутствии H_2 или тетрадекана. При отсутствии H_2 , тетрадекан окисляется, и основной промежуточный метаболический продукт является додеценом.

Особую роль в утилизации **полициклических ароматических углеводородов** играют процессы сопряженного метаболизма. Некоторые соединения расщепляются микроорганизмами только совместно с хорошо утилизируемыми субстратами. Такое превращение какого-либо вещества, которое само по себе не может быть использовано в присутствии, так называемого ко-субстрата, т.е. вещества, используемого клетками для роста, получило название кометаболизма или соокисления. Эти реакции не связаны с ростом микроорганизмов в том смысле, что в них не образуются промежуточные продукты, которые данный организм использовал бы для роста. Однако эти промежуточные продукты могут служить источником углерода для других членов сообщества (Narayana, 1997).

6.3. Биоремедиация загрязненных почв и грунтов

Процессы самовосстановления и самоочищения природы уже не справляются с поступающими в нее загрязняющими веществами, которые из атмосферы и водной среды переходят в почву и аккумулируются в ней. Соответственно растет востребованность технологий очистки почв. Их выбор определяется не только тем, что требующие очистки территории отличаются друг от друга по количеству загрязнений, почвенным и климатическим условиям, но и целями и задачами очистки, то есть планируемому использованию очищенной территории. Преимущества биоремедиационных технологий связаны с возможностями живых систем, особенно микроорганизмов, метаболизировать большое число различных органических веществ, с мягкостью воздействия на очищаемую среду, не приводящую к существенным изменениям основных почвенных показателей, и с относительно низкой стоимостью работ. К недостаткам биоремедиации почв относится низкая скорость биodeградации токсикантов и необходимость проведения тщательного предварительного обследования загрязненного участка для уточнения режимов биотехнологических работ.

Наличие, разработка и совершенствование технологий очистки почв определяется их растущей востребованностью как практических инструментов решения конкретных экологических и гигиенических задач. Следует отметить, что требующие очистки территории отличаются друг от друга по качеству и количеству загрязнений, почвенным и климатическим условиям и, главное, целям и задачам очистки, то есть планируемому использованию очищенной территории.

Для ремедиации почв успешно применяют технологии, которые воздействуют на сам загрязнитель, при этом происходит деструкция или окисление токсичных веществ или их трансформация в менее токсичные соединения.

Методы ремедиации, основанные на обработке токсикантов, классифицируются как физические, в том числе термические методы, химические, в том числе отверждение и стабилизация, и биологические методы – биоремедиация.

Биоремедиация – это комплекс методов очистки почв и вод, основанный на использовании биохимического потенциала микроорганизмов (бактерий, грибов), водорослей, высших растений. Важнейшее преимущество этих технологий заключается в их безопасности для окружающей среды: они основаны на процессах самоочищения живой природы, и, как правило, при этом отсутствуют вторичные отходы, образующиеся при других методах ремедиации. Биоремедиация – лечение жизнью (*bios* – жизнь, *remediatio* – лечение), очистка, восстановление с помощью живых организмов.

Успешное развитие биоремедиационных технологий для восстановления загрязненных почв началось в 1970-е гг., прежде всего, в связи с очисткой земель, остающихся после нефтедобычи, аварий при транспортировке и переработке нефти и применения нефтепродуктов. В этих биотехнологиях

используют как стимулирование местной почвенной микрофлоры, обладающей способностью к окислению нефтяных углеводородов, так и внесение в места загрязнения биопрепаратов-нефтедеструкторов (аугментация). Разрабатываются новые микробные препараты-деструкторы, специфичные к определенным видам углеводородных субстратов (мазуты, креозоты, битумы, полиароматические соединения), и новые технологические решения, позволяющие полностью ликвидировать последствия аварийных и систематических углеводородных загрязнений воды и почвы и восстановить природную, окружающую среду.

Преимущество биоремедиационных технологий связано с широчайшими возможностями живых систем, особенно микроорганизмов, метаболизировать в той или другой степени огромное число различных органических веществ. Кроме того, очень важно, что применение биоремедиационных технологий предполагает мягкое воздействие на очищаемую среду, не приводящую к существенным изменениям основных почвенных показателей. Важным моментом также является меньшая стоимость биоремедиации.

К недостаткам биологических процессов очистки и восстановления почв относятся низкая скорость биодegradации токсиканта и необходимость проведения предварительного обследования загрязненного участка для уточнения технологических режимов биотехнологических работ.

По принятой международной классификации биоремедиационные технологии делятся на три группы.

Биоремедиация *ex situ*:

- извлечение загрязненной почвы, перемещение ее на площадки обезвреживания, агротехнические работы;
- отмывание извлеченной почвы от загрязнения (в основном от нефти), возвращение на прежнее место и проведение мелиорации;

- экскавация почвы и проведение жидкофазной или твердофазной ферментации в биореакторах с добавлением биогенных элементов в аэробных или анаэробных условиях (несколько дней или месяцев, снижение концентрации ксенобиотика на 90–99%).

Биоремедиация *on site*:

- загрязненная почва остается на месте;
- проводятся мелиорация, биостимулирование, фиторемедиация (1–2 года, снижение концентрации токсиканта на 60–90%);
- загрязненная почва остается на месте, только при необходимости механически снимается верхний, сильно загрязненный слой почвы, далее проводятся обработка биопрепаратами-деструкторами и весь комплекс агротехнических работ (2–4 года или больше, снижение концентрации ксенобиотика до 90%).

Биоремедиация *in situ* (загрязнение находится под поверхностью почвы):

- биоventилирование – закачка воздуха, продолжительность – от нескольких дней до месяца, снижение концентрации ксенобиотика на 90–99%;
- биобарботирование – закачка питательных растворов, продолжительность – от нескольких дней до месяца, снижение концентрации ксенобиотика на 90–99%;
- биодеструкция при откачке жидкой фазы загрязнителя под вакуумом (продолжительность – от нескольких дней до месяца и года).

Большое распространение получили технологии с применением различных биопрепаратов, содержащих микроорганизмы, способные разрушать токсикант. Такие биопрепараты первого поколения (1980–1990-е гг.), как правило, содержали микроорганизмы-деструкторы одного вида и рода, например, известные в России бактериальные препараты «Путидойл», «Руден», или консорциум микроорганизмов, такие как препарат «Деворойл» (5

бактериальных культур и 2 дрожжевые), препарат серии «Биодеструктор» (два штамма бактерий), «Родер» (2 штамма бактерий).

Дальнейшие исследования и испытания разработанных препаратов позволили определить направление развития и конструирования биопрепаратов. Было показано, что эффективность биопрепаратов повышается при иммобилизации микроорганизмов-деструкторов на материалах, обладающих сродством к загрязнителю. Преимуществом биопрепаратов, состоящих из иммобилизованных на носителях микроорганизмов-деструкторов (в том числе биосорбентов), является более высокая выживаемость клеток микроорганизмов, что существенно увеличивает сроки хранения препаратов; носители могут содержать питательные компоненты, необходимые для поддержания деструктивной активности клеток, что упрощает технологический процесс применения биопрепаратов. Разработано много биопрепаратов, включающих и сорбенты, и микроорганизмы-деструкторы. Такие биосорбированные препараты можно отнести ко второму поколению. Это, например, препараты «Экойл», «Эколан», семейство препаратов «БАК» и другие. Они более технологичны, не требуют предварительной подготовки для применения, хотя и выявились сложности в производстве и поддержании их в производственных и лабораторных условиях.

Третье поколение современных биопрепаратов на основе смешанных культур и ассоциаций микроорганизмов имеет более широкие адаптационные возможности для использования. Они применяются не только для очистки почв и грунтов, но и для обезвреживания таких органических отходов, как креозот, сланцевые масла, отработанные машинные и моторные масла, смазочно-охлаждающие жидкости и другие углеводородные загрязнения. Для расширения сферы применения и эффективности в современные биопрепараты добавляют различные эмульгаторы, биодобавки, поверхностно-активные вещества и другие стимуляторы биологических процессов.

Происходит дальнейшее усложнение как методов получения таких биопрепаратов, так и технологий применения (Янкевич и др., 2015).

6.4. Биотехнология металлов

Возрастающая стоимость извлечения и переработки металлов из руд, наряду с истощением запасов высококачественного минерального сырья и усилением природоохранных мер, способствовали развитию новых технологий в горнодобывающей промышленности. Микробное выщелачивание было признано привлекательной альтернативой традиционным физическим и химическим методам обогащения руд благодаря сокращению потребления энергии, транспортных затрат и менее пагубному воздействию на окружающую среду

Обычно использование микроорганизмов при извлечении металлов преследует одну из двух целей: превращение (или окисление) нерастворимых сульфидов металлов в растворимые сульфаты или создание условий для лучшего взаимодействия химических веществ с поверхностью минерала и растворения необходимого металла. Примером первого процесса является превращение таких нерастворимых соединений меди, как ковеллин (CuS) или халькозин (Cu_2S), в растворимые сульфаты. Примером второго процесса служит извлечение железа, мышьяка и серы из золотоносного арсенопирита (FeAsS), вследствие чего оставшееся в минерале золото легче выделяется при помощи цианирования. Оба этих процесса являются окислительными. Если добываемый металл переводится в раствор, речь идет о биовыщелачивании. Когда же металл остается в руде – о биоокислении. Тем не менее, термин «биовыщелачивание» часто используется в обоих случаях.

Биологическое выщелачивание может быть применено к рудам, содержащим железо или восстановленные формы серы.

Прямое бактериальное выщелачивание происходит при физическом контакте бактериальных клеток с поверхностью минерала в несколько стадий, катализируемых ферментами:



В сумме:



Очевидно, что бактерии должны находиться в тесном контакте с поверхностью минерала. Механизм бактериального прикрепления и инициации растворения металлов пока не полностью понятен. Предположительно, бактерии прикрепляются не ко всей поверхности минерала, а предпочитают специфические участки дефектов кристаллической решетки.

При *непрямом биовыщелачивании* бактерии генерируют «окислитель», который химически окисляет сульфидный минерал. В кислых растворах таким окислителем служит Fe^{3+} , и растворение металла может быть описано следующей реакцией:



Для поддержания достаточного количества железа в растворе химическое окисление сульфидов металлов должно проводиться в кислых условиях при $\text{pH} < 5.0$. Двухвалентное железо, выделяющееся в данной реакции, может быть заново окислено до трехвалентного железомикробными бактериями (*At. ferrooxidans* или *L. ferrooxidans*).

При *непрямом выщелачивании* бактерии не нуждаются в контакте с поверхностью руды. Они выполняют только каталитическую функцию, ускоряя окисление Fe^{2+} до Fe^{3+} .

При $\text{pH} 2.0-3.0$ бактериальное окисление Fe^{2+} примерно в $10^5 - 10^6$ раз быстрее, чем химическое окисление. Выделяющаяся в процессе сера может быть окислена до серной кислоты бактериями *At. ferrooxidans*. Но окисление

серы бактериями *At. thiooxidans*, которые часто встречаются вместе с *At. ferrooxidans*, происходит гораздо быстрее:



Роль *At. thiooxidans*, вероятно, состоит в создании благоприятных условий для роста железобактерий, таких как *At. ferrooxidans* или *L. ferrooxidans*.

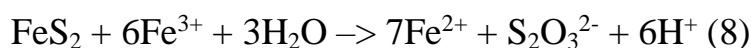
Хорошо известный пример процесса непрямого выщелачивания – выделение урана из руд, когда нерастворимый четырехвалентный уран окисляется до водорастворимого шестивалентного:



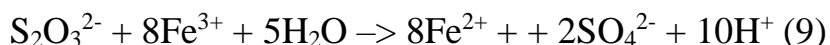
Окислитель четырехвалентного урана может производиться бактериями *At. ferrooxidans* посредством окисления пирита, который часто присутствует в урановых рудах.

Механизм непрямого биовыщелачивания через тиосульфат

Согласно данной гипотезе, как только клетка микроорганизма прикрепляется к поверхности не растворимого в кислоте сульфида металла (пирита FeS_2 , молибденита MoS_2 , тангстенита WS_2), ион трехвалентного железа (Fe^{3+}), содержащийся во внеклеточном экзополимерном слое, начинает непрямую атаку (действие) на сульфид металла согласно следующей реакции:

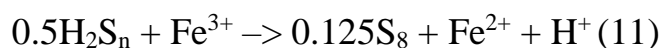
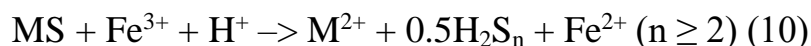


Тиосульфат является начальным промежуточным продуктом, который далее превращается в последующие промежуточные продукты (тетратионат, тритионат) с формированием сульфата в качестве конечного продукта общей реакции:



Полисульфидный механизм характерен для сульфидов, растворимых в кислотах (электронная структура которых позволяет им вступать в реакцию как с Fe^{3+} , так и с кислотами), таких как сфалерит (ZnS), халькопирит

(CuFeS₂) или галенит (PbS). В данном случае растворение сульфида происходит вследствие комбинированного действия Fe³⁺ и протонов. Основным промежуточным продуктом становится элементарная сера, которая относительно стабильна, но может окисляться до сульфата такими сероокисляющими бактериями, как *At. thiooxidans* и *At. caldus*:



Образующееся Fe²⁺ может быть вновь преобразовано в Fe³⁺ благодаря активности таких железоокисляющих бактерий, как *At. ferrooxidans* или представителей родов *Leptospirillum* и *Sulfobacillus*:



Таким образом, роль микроорганизмов заключается в образовании серной кислоты и Fe³⁺ (Кузякина и др., 2008).

Литература

1. Авдеенков П.П. Механизм денитрификации / П.П. Авдеенков, Н.Е. Чистяков // Наука, техника и образование. – 2019. – Vol. 4. – с. 19-22.
2. Г.А. Заварзин Гений естествознания: к 150-летию со дня рождения почётного члена АН СССР С.Н. Виноградского. // — Вестник российской академии наук, 2006, том 76, № 8, с. 722-736.
3. Кузякина Т.И. Биотехнология извлечения металлов из сульфидных руд / Т.И. Кузякина и др. // Вестник КРАУНЦ. Науки о земле. – 2008. - № 12. – с. 76-86
4. Экология микроорганизмов / под ред. А.И. Нетрусова. – М.: Юрайт, 2013. – 268 с.
5. Янкевич М.И. Биоремедиация почв: вчера, сегодня, завтра / М.И. Янкевич и др. // Междисциплинарный научный и прикладной журнал «Биосфера». – 2015. - Т. 7. - № 2. – с. 199-208.
6. Anantharaman K. Expanded diversity of microbial groups that shape the dissimilatory sulfur cycle // K. Anantharaman et al. ISME J. - 2018. – Vol. 12. – p. 1715–1728.
7. Beulig F. Control on rate and pathway of anaerobic organic carbon degradation in the seabed / F. Beulig et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. – 2018. – Vol. 115, p.367–372.
8. Chagnon P.-L. A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi / P.-L. Chagnon et al. // Trends in Plant Science. – 2013. – Vol. 9. – p.484-491
9. Danso D. Plastics: environmental and biotechnological perspectives on microbial degradation / D. Danso et al. // Applied and Environmental Microbiology. – 2019. – Vol. 85. - e01095-19.
10. Fritsche W. Aerobic degradation by microorganisms / W. Fritsche, M. Hofrichte // Biotechnology. – 2000. – Vol. 11b. – P. 146-155.

11. Harayama S. Polycyclic aromatic hydrocarbon bioremediation design // Curr. Opin. Biotechnol. – 1997. – Vol. 8. – P. 268-273.
12. Heo H. Physiological characterization of soil DNRA bacteria isolated via a colorimetric screening method implies involvement of NO_3^- in ecophysiological regulation of DNRA activity / H. Heo et al. // Applied Environmental Microbiology – 2020. – Vol. 86. - e01054-20.
13. Ho A. Revisiting life strategy concepts in environmental microbial ecology / A. Ho et al. // FEMS Microbiology Ecology. – 2017. - Vol. 93. - fix006.
14. Jørgensen B.B. The biogeochemical sulfur cycle of marine sediments / B.B. Jørgensen et al. // Frontiers in Microbiology. – 2019. – Vol. 10. - 849.
15. Koch H. Complete nitrification: insights into the ecophysiology of comammox *Nitrospira* / H. Koch et al. // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2019. – Vol. 103. – p.177-189
16. Komori T. Enhancement of K-strategy evolution in histidine utilization using a container with compartments / T. Komori et al. // Genes Cells. – 2018. – Vol. 23. – p.893–903.
17. M. Oshiki et al. // Environmental Microbiology. – 2016. – Vol. 18. – p. 2784–2796
18. Maeng J.H. Isolation and characterization of a novel oxygenase that catalyzes the first step of nalkane oxidation in *Acinetobacter* sp. strain M-1 / J.H. Maeng, Y. Sakai, Y. Tani et al. // J. Bacteriol. – 1996. – Vol. 178. – P. 3695-3700.
19. Martínez-Espinosa R.M. Microorganisms and their metabolic capabilities in the context of the biogeochemical nitrogen cycle at extreme environments / International Journal of Molecular Sciences. – 2020. – Vol. 21. – 4228.
20. Oshiki M. Ecology and physiology of anaerobic ammonium oxidizing bacteria /

21. Prosser J.I. The role of ecological theory in microbial ecology / J.I. Prosser et al. // *Nature Microbiology*. - 2007. - Vol. 5. - p. 384-392.
22. Rontani J.F. Analytical study of Asthart crude oil asphaltenes degradation / J.F. Rontani, F. Bosser-Joulak, E. Rambeloarisoa et al. // *Chemosphere*. - 1985. - Vol. 14. - P. 1413-1422.
23. Salman V. A single-cell sequencing approach to the classification of large,
24. Santos A.A. A protein trisulfide couples dissimilatory sulfate reduction to energy conservation / A.A. Santos et al. // *Science*. - 2015. - Vol. 350. - p.1541–1545.
25. Sim M.S. Quantification and isotopic analysis of intracellular sulfur metabolites in the dissimilatory sulfate reduction pathway / M.S. Sim et al. // *Geochim. Cosmochim. Acta*. - 2017. - Vol. 206. - p.57–72.
26. vacuolated sulfur bacteria / V. Salman et al. // *Syst. Appl. Microbiol.* - 2011. Vol. 34. - p.243–259.
27. Van Mooy B.A.S. Major role of planktonic phosphate reduction in the marine phosphorus redox cycle / B.A.S. Van Mooy et al. // *Science*. - 2015. - Vol. 348. - p. 783-785.
28. Zang L., Okabe S. Ecological niche differentiation among anammox bacteria / L. Zang and S. Okabe // *Water Research*. - 2020. - Vol. 171. - 115468