

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Вятский государственный университет»
Биологический факультет
Кафедра микробиологии

Рекомендовано к использованию
в учебном процессе
протокол заседания кафедры
№ _____ от _____
Заведующий кафедрой,
доктор медицинских наук, профессор
_____ И.В. Дармов

И.В. Маракулин, И.Г. Широких

СПЕЦГЛАВЫ МИКРОБИОЛОГИИ

Конспект лекций

Учебное пособие

Киров 2011

Содержание

Модуль 1. «Основные механизмы обмена веществ и преобразования энергии у аэробных и анаэробных микроорганизмов. Типы брожения. Фотосинтез»

1. Лекция №1.1 «Общие представления об обмене веществ у микроорганизмов. Понятия анаболизма, катаболизма и метаболизма. Термодинамические закономерности обменных процессов у прокариот и эукариот. Понятия аэробноза и анаэробноза»4

2. Лекция №1.2 «Конструктивный и энергетический метаболизм микробной клетки. Общие принципы биосинтеза макромолекул у микроорганизмов. Пути метаболизма, приводящие к образованию макроэргов»22

3. Лекция №1.3 «Дыхание, брожение и фотосинтез микроорганизмов. Методы исследования обмена веществ у микроорганизмов».....57

Модуль 2. Микроорганизмы и окружающая среда. Действие биологических и химических факторов

4. Лекция №2.1 «Синэкология микроорганизмов. Экологические связи микробов (симбиоз, кооперация, комменсализм, конкуренция, паразитизм, хищничество)».....100

5. Лекция №2.2 «Особенности экологической стратегии микроорганизмов во взаимоотношениях с микроорганизмами, животными и растениями».....108

6. Лекция 2.3 «Особенности экологической стратегии микроорганизмов во взаимоотношениях с микроорганизмами, животными и растениями».....118

Модуль 3. «Микроорганизмы как биогеохимические объекты»

7. Лекция №3.1 «Микроорганизмы как агенты, вызывающие геохимические изменения. Участие микроорганизмов в круговоротах углерода и кислорода».....126

8. Лекция №3.2 «Участие микроорганизмов в синтезе и разложении природных веществ. Микроорганизмы- продуценты, консументы и редуценты».....142

9. Лекция №3.3 «Роль микроорганизмов в круговоротах азота, серы, фосфора, железа. Значение микроорганизмов в геологической истории Земли и улучшении плодородия почв»161

Модуль 1. «Основные механизмы обмена веществ и преобразования энергии у аэробных и анаэробных микроорганизмов. Типы брожения. Фотосинтез»

Лекция №1.1

Тема: "Общие представления об обмене веществ у микроорганизмов. Понятия анаболизма, катаболизма и метаболизма. Термодинамические закономерности обменных процессов у прокариот и эукариот. Понятия аэробноза и анаэробноза»

Вопросы:

1. Общие представления об обмене веществ у микроорганизмов. Понятия анаболизма, катаболизма и метаболизма.
2. Механизмы метаболизма у бактерий.
3. Дыхание и брожение у бактерий.
4. Фотосинтез.
5. Метаногенез.
6. Роль ферментов в обмене веществ у микроорганизмов.

1. Общие представления об обмене веществ у микроорганизмов. Понятия анаболизма, катаболизма и метаболизма.

Слайд №3 Обменом веществ, или метаболизмом называется совокупность протекающих в клетке процессов, обеспечивавших воспроизводство биомассы микроорганизмов. Клеточный метаболизм складывается из двух потоков реакций, имеющих разную направленность: энергетического и конструктивного метаболизма.

Энергетический метаболизм — это комплекс реакций, сопровождающихся мобилизацией энергии и преобразованием ее в электрохимическую ($\Delta\mu_n^+$) или химическую (АТФ) формы, которые затем могут использоваться во всех энергозависимых процессах.

Конструктивный метаболизм (биосинтезы) — поток реакций, в результате которых за счет поступающих извне веществ, строится вещество клеток; это процесс, связанный с потреблением свободной энергии,

запасенной в химической форме в молекулах АТФ или других богатых энергией соединений.

Слайд №4 В микробиологии для обозначения энергетических и конструктивных процессов пользуются терминами "*катаболизм*" и "*анаболизм*", имеющими отношение к распаду или синтезу органических молекул, происходящему соответственно с выделением или потреблением свободной энергии

Метаболические пути конструктивной и энергетической направленности состоят из множества последовательных ферментативных реакций и могут быть разделены на несколько этапов. На начальном — воздействию подвергаются молекулы, служащие исходными субстратами. Иногда эту часть метаболического пути называют *периферическим метаболизмом*, а ферменты, катализирующие первые этапы превращения субстрата, — периферическими. Последующие превращения включают ряд ферментативных реакций и приводят к образованию промежуточных продуктов (метаболитов), а сама цепь превращений объединяется под названием *промежуточного метаболизма*. Образующиеся на последних этапах конечные продукты используются для построения вещества клеток, а энергетических — выделяются в окружающую среду.

Конструктивные и энергетические процессы протекают в клетке одновременно. У большинства прокариот они тесно связаны между собой.

Метаболизм прокариот, как энергетический, так и конструктивный, отличается большим разнообразием. Такая особенность обусловлена различиями в наборе клеточных периферических ферментов, воздействующих на исходные субстраты, что позволяет им далее метаболизироваться по путям промежуточного метаболизма. В отличие от периферического промежуточный метаболизм разных видов прокариот не отличается существенным разнообразием.

1.1 Питание микробов

Слайд №5 Одно из основных свойств живого организма — обмен веществ, или метаболизм (**рисунок 1**).

Слайд №5 (продолжение). Метаболизм включает в себя два процесса:

1) поступление из окружающей среды питательных веществ, необходимых для синтеза составных частей микробной клетки (анаболизм, или ассимиляция);

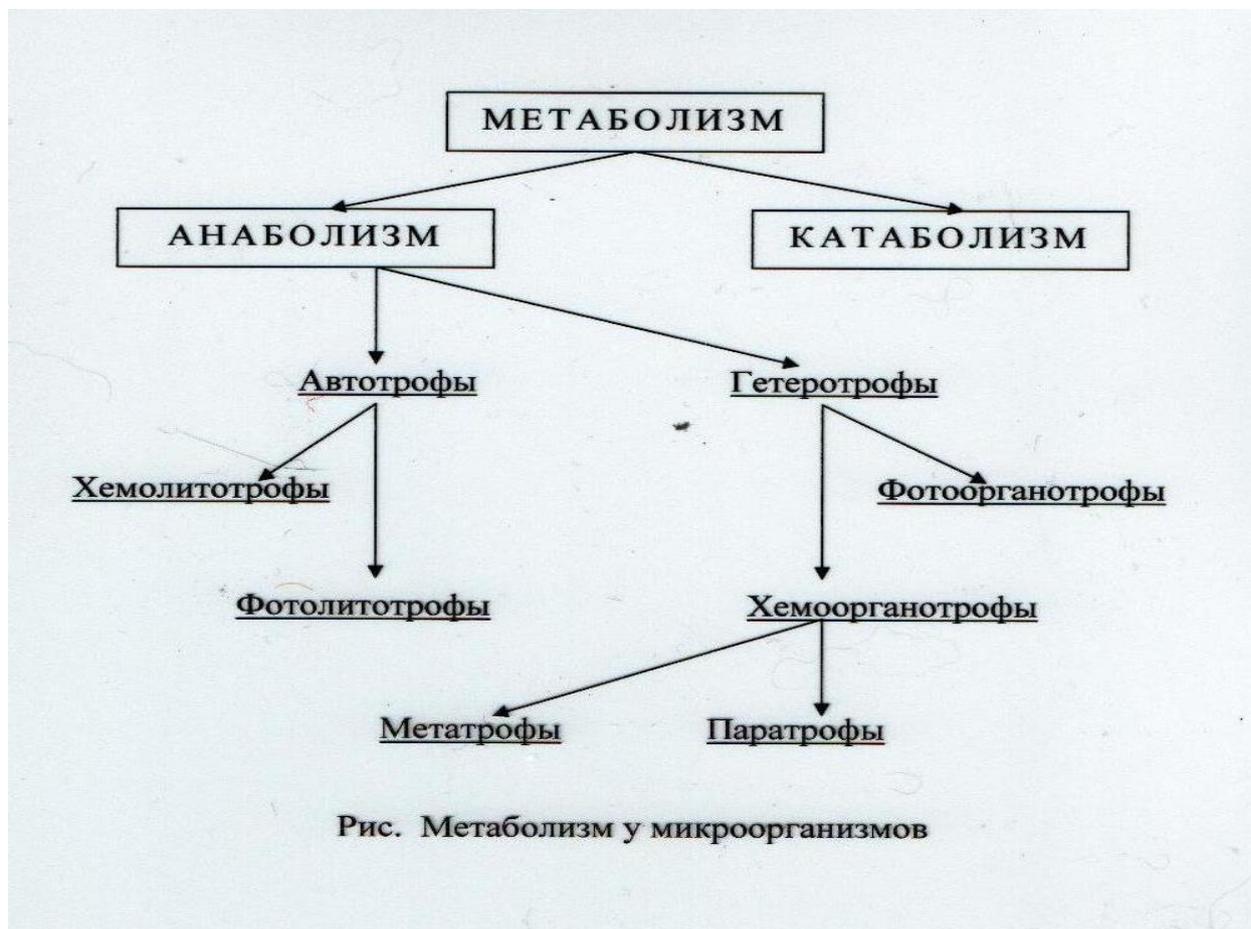


Рис. Метаболизм у микроорганизмов

2) выделение в окружающую среду продуктов жизнедеятельности (катаболизм или диссимиляция).

Однако деление это во многом условное, поскольку в живой клетке эти процессы взаимосвязаны.

Микроорганизмы могут получать углерод из неорганических и органических углеродсодержащих соединений, в связи с чем их делят на две большие группы: **автотрофы** и **гетеротрофы**.

В зависимости от того, какой источник энергии могут использовать прокариоты, их делят на **фототрофы** (источник энергии — свет) и **хемотрофы** (источник энергии — окислительно-восстановительные реакции). Организмы, у которых источниками (донорами) электронов в энергетическом процессе являются неорганические вещества, предложено

называть **литотрофными**, а те, у которых донорами электронов служат органические соединения, — **органотрофными**. В зависимости от источника энергии и природы донора электронов возможны четыре основных типа энергетического метаболизма: **хемолитотрофия, хемоорганотрофия, фотолитотрофия и фотоорганотрофия**.

Каждый тип энергетического метаболизма может осуществляться на базе различных биосинтетических способностей организма. Выше уже отмечалось деление всех прокариот в зависимости от особенностей конструктивного метаболизма на две группы: авто- и гетеротрофов. Следовательно, можно выделить 8 сочетаний типов энергетического и конструктивного метаболизма, которые отражают возможности поддержания определённого типа обменных процессов (питания) прокариот (**таблица 1**).

Слайд №6. Подавляющее число прокариот сосредоточено в группе с хемоорганогетеротрофным типом питания. Такая же неравномерность в распределении по типам питания присуща и фотосинтезирующим прокариотам. Большинство (цианобактерии, пурпурные и зеленые серобактерии) относится к группе с фотолитоавтотрофным способом питания. Часто для характеристики способа питания прокариот пользуются более общими понятиями, чем приведенные в **таблице 1**, употребляя для этого сочетания только двух признаков: источник энергии (фото-, хемо-) + источник углерода для построения веществ тела(авто-,гетеро-).

ТАБЛИЦА - Типы обменных процессов у микроорганизмов-прокариот

Источник энергии	Донор электронов	Источник углерода	Способ существования	Представители прокариот
Окислительно-восстановительные реакции	неорганические соединения (H ₂ , H ₂ S, NH ₃ , Fe ²⁺ и др.)	CO ₂	хемолитоавтотрофия	нитрифицирующие, тионовые, водородные бактерии; ацидофильные железобактерии
		органические соединения	хемолитогетеротрофия	метанобразующие археобактерии, водородные бактерии
	органические соединения	CO ₂	хемоорганавтотрофия	факультативные метилотрофы, окисляющие муравьиную кислоту
		органические соединения	хемоорганогетеротрофия	большинство прокариот*
Свет	неорганические соединения (H ₂ O, H ₂ S, S ⁰ , и др.)	CO ₂	фотолитоавтотрофия	цианобактерии, пурпурные и зеленые бактерии**
		органические соединения	фотолитогетеротрофия	некоторые цианобактерии, пурпурные и зеленые бактерии
	органические соединения	CO ₂	фотоорганавтотрофия	некоторые пурпурные бактерии
		органические соединения	фотоорганогетеротрофия	пурпурные и некоторые зеленые бактерии, галобактерии, некоторые цианобактерии

* Все животные, грибы

** Высшие растения

Слайд №6 (продолжение) Автотрофы (хемолитотрофы, фотолитотрофы) получают углерод из диоксида углерода (CO₂) воздуха и создают органическое вещество при помощи энергии, освобожденной в процессе окисления некоторых минеральных соединений (хемосинтез), или энергии Солнца (фотосинтез).

Фотолитотрофы (цианобактерии, пурпурные серобактерии и другие микробы) обладают фотосинтезирующей способностью, так как содержат пигменты (красящие вещества). Пигменты фотолитотрофов по своему составу близки к хлорофиллу зеленых растений. Фотобактерии, как и растения, создают органическое вещество, используя углерод из диоксида углерода (CO₂) и энергию Солнца. Автотрофы могут жить в чисто минеральных средах. Они не способны усваивать более сложные соединения углерода и поэтому не являются патогенными для животных.

Гетеротрофы (хемоорганотрофы) — микроорганизмы, которые для питания используют углерод из готовых органических соединений. Эта группа наиболее многочисленна по своему составу. Она включает в себя как сапрофитов, так и паразитов. Сапрофиты, или метатрофы, питаются мертвой тканью животных и растений. Паразиты, или паратрофы, используют для питания органические соединения живых организмов и ведут паразитический образ жизни. В эту группу входят микроорганизмы-возбудители инфекционных болезней.

Фотоорганотрофы (несерные пурпурные бактерии) являются факультативными анаэробами, которые могут развиваться как на свету, так и в темноте. Необходимую энергию они получают не только от Солнца, но и в результате окисления органических веществ.

1.2 Роль отдельных химических элементов и факторов роста в клеточном обмене

Слайд №7 .Азот. Входит в состав жизненно важных компонентов микробной клетки — белков и нуклеиновых кислот. Источники азота для микробов разные, в связи с чем их делят на группы: **аминоавтотрофы** и **аминогетеротрофы**. Первые из них синтезируют белок из минеральных или простейших соединений азота, а также из воздуха; вторые используют главным образом готовые аминокислоты. Аминоавтотрофный тип питания свойствен большинству почвенных микробов, аминогетеротрофный — патогенным и некоторым сапрофитам. Установить резкую грань между автотрофами и гетеротрофами не всегда удается. Некоторые патогенные микробы во внешней среде ведут сапрофитный образ жизни, и наоборот, некоторые сапрофиты в зависимости от состояния макроорганизма могут вызывать заболевания. Так, клубеньковые бактерии (аминоавтотрофы) при большом содержании в среде азотсодержащих веществ теряют способность образовывать клубеньки на корнях бобовых растений, используя азот, находящийся в почве.

Слайд №8 Микробная клетка нуждается в минеральных веществах. Потребность в них невелика, но без некоторых элементов невозможен рост и развитие организма.

Калий. Активизирует ферментативные системы, ускоряет течение физиологических процессов, в связи с чем его нельзя заменить другими элементами.

Магний. Входит в состав хлорофилла у зеленых и пурпурных серобактерий, активизирует карбоксилазу, пептидазу и другие ферменты. Магний в клетке находится в виде ионов.

Фосфор. Входит в состав нуклеиновых кислот, в живой клетке находится в форме окисла (оксида) P_2O_5 , принимает активное участие в процессах дыхания (окисления).

Сера. Один из компонентов белков, входящих в состав аминокислот: цистина, цистеина и метионина. Большинство микробов усваивают серу из сернокислых солей. Серо- и тионовые бактерии используют молекулярную серу.

Железо. Необходимо в малых количествах. Оно входит в состав дыхательных ферментов, ускоряет процессы окисления.

Микроэлементы нужны микробной клетке еще в меньших количествах, но их отсутствие или недостаток ведут к нарушению нормального роста и развития. *Молибден, бор, марганец, кобальт, медь* и другие микроэлементы являются компонентами многих ферментов и витаминов.

Факторы роста. Активаторы биологических процессов по своему действию напоминают витаминopodobные соединения. Ничтожное количество активаторов в среде изменяет обмен веществ, ведет к увеличению массы микробных клеток. Особенно большую потребность в них испытывают те микроорганизмы, которые не способны синтезировать витамины. Некоторые микробы вырабатывают относительно большое количество факторов роста. В связи с этим, например, пропионовокислые бактерии применяют в промышленности для получения витамина B_{12} и других биологически активных веществ.

2. Механизмы метаболизма у микробов

Слайд №9 Питательные вещества в микробную клетку поступают разными способами. Наиболее простой из них — *пассивная диффузия*, при которой перемещение веществ происходит вследствие разности их концентрации по обе стороны цитоплазматической мембраны. Путем пассивной диффузии через цитоплазматическую мембрану кроме воды проходят лишь некоторые вещества. Скорость такой диффузии невелика. Она осуществляется без затраты энергии.

При более высокой концентрации веществ в окружающей среде (*плазмолиз*) происходят сморщивание цитоплазмы и отделение ее от оболочки. Наступает состояние расслабления и вялости, которое приводит к

гибели клетки. Подобное явление наблюдается в природе, а иногда его создает искусственно для консервирования продуктов питания человек. Варенье готовят, огурцы солят, капусту квасят путем повышения концентрации растворов углеводов или солей и создания среды, неблагоприятной для развития микробов, что способствует сохранению продукта.

Обратное явление, называемое *деплазмолизом*, наблюдается при очень низкой концентрации солей в окружающей среде. Жидкость проникает внутрь клетки до тех пор, пока концентрация веществ в клетке и концентрация веществ в окружающей среде не станут равными. Обычно этому предшествует разрыв оболочки. Это происходит, если микробы попадают в дистиллированную воду. Следовательно, как плазмолиз, так и деплазмолиз неблагоприятно влияют на микробов и часто приводят их к гибели.

Перенос веществ субстрата в клетку может осуществляться также и белками-переносчиками *пермеазами* (транслоказами). Место их синтеза и локализации — цитоплазматическая мембрана. Ферменты пермеазы присоединяют к активному центру молекулу вещества субстрата и переносят ее с наружной поверхности мембраны на внутреннюю, а затем в цитоплазму. Движущей силой такого процесса, который называется *облегченной диффузией*, служит не только разница в концентрации веществ по обе стороны мембраны, но и ферменты-переносчики (трансаминазы).

Большинство веществ поступает в микробную клетку против градиента концентрации путем активного переноса их *пермеазами*. Такой процесс требует затраты метаболической энергии (АТФ), которая образуется клеткой в результате окислительно-восстановительных реакций.

Труднорастворимые и крупномолекулярные органические соединения (белки, жиры, углеводы) проникают в микробную клетку после их гидролиза экзоферментами, а минеральные — при диссоциации на ионы. Поступившие в клетку вещества становятся затем источником строительного материала и энергии. Выход продуктов метаболизма из микробной клетки осуществляется с помощью пермеаз путем пассивной или облегченной диффузии.

3. Дыхание и брожение у микроорганизмов

3.1 Механизмы дыхательного процесса

Слайд №10 Дыхание микробов представляет собой биологическое окисление различных органических соединений и некоторых минеральных веществ. В итоге окислительно - восстановительных процессов и брожения образуется тепловая энергия, часть которой используется микробной клеткой, а остальное количество выделяется в окружающую среду. В настоящее время окисление определяют как процесс отнятия водорода (дегидрирование), а восстановление — его присоединение.

Способность соединений или элементов отдавать или принимать электроны обуславливается окислительно-восстановительным потенциалом.

Энергия, освобождаемая в процессе окислительно-восстановительных реакций, накапливается в макроэргических соединениях АДФ и АТФ (аденозиндифосфат и аденозинтрифосфат). Эти соединения имеют макроэргические связи, обладающие большим запасом биологически доступной энергии.

Датский учёный Йенс Скоу установил, что движение электрического потенциала в клетке осуществляется с помощью фермента АТФ-аза, который назван им «калий-натриевым насосом». Пол Бойер более детально изучил «генератор» — аденозинтрифосфатазу (АТФ-аза) — фермент, который принимает активное участие в синтезе АТФ из АДФ и неорганического фосфата.

За открытие фермента АТФ-азы, так называемого «калий-натриевого насоса», переносящего ионы в клетке, за описание внутреннего преобразования химической энергии в высокоэнергетическую форму аденозинтрифосфата (АТФ) и электрической энергии в асимметричное распределение ионов по биологическим мембранам Йенсу Скоу, Полу Бойеру и Джону Уолкеру в 1997 г. присуждена Нобелевская премия по химии.

3.2 Типы дыхания микроорганизмов

По типу дыхания микробов делят на **аэробов, анаэробов и факультативных анаэробов**. Аэробы хорошо растут на поверхности среды, которая соприкасается с воздухом. Анаэробы в такой среде жить не могут, поскольку они приспособлены к существованию при более низком окислительно-восстановительном потенциале.

3.2.1 Аэробное дыхание микроорганизмов. Это процесс, при котором последним акцептором водорода (протонов и электронов) является

молекулярный кислород. В результате окисления главным образом сложных органических соединений образуется энергия, которая выделяется в среду или накапливается в макроэргических фосфатных связях АТФ. Различают полное и неполное окисление.

Полное окисление. Основным источником энергии у микроорганизмов — углеводы. При их расщеплении получается важный промежуточный продукт — пировиноградная кислота (пируват). Полное окисление пировиноградной кислоты происходит в цикле трикарбоновых кислот (цикл Кребса) и дыхательной цепи.

Слайд № (без №) В результате расщепления глюкозы в аэробных условиях процесс окисления идет до конца — до образования диоксида углерода и воды с выделением большого количества свободной энергии:



Неполное окисление. Не все аэробы доводят реакции окисления до конца. При избытке углеводов в среде образуются продукты неполного окисления, в которых заключена энергия. Конечными продуктами неполного аэробного окисления сахара могут быть органические кислоты: лимонная, яблочная, щавелевая, янтарная и другие, которые образуются плесневыми грибами. Так же осуществляется аэробное дыхание уксуснокислыми бактериями, в которых при окислении этилового спирта образуется не диоксид углерода и вода, а уксусная кислота и вода.

Слайд №11



Окисление этилового спирта уксуснокислыми бактериями может идти и дальше — до появления диоксида углерода и воды, при этом освобождается большое количество энергии:

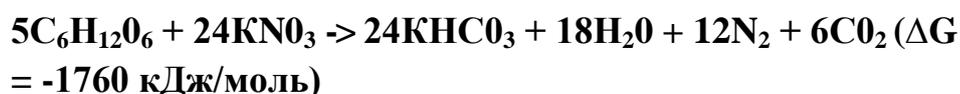


3.2.2 Анаэробное дыхание микроорганизмов.

Осуществляется без участия молекулярного кислорода. Различают собственно анаэробное дыхание (нитратное, сульфатное) и брожение. При анаэробном дыхании акцептором водорода являются окисленные неорганические соединения, которые легко отдают кислород и превращаются

в более восстановленные формы. Так проходят денитрификация и десульфификация (сульфатредукция).

Слайд №12 Нитратное дыхание — восстановление нитратов до молекулярного азота — проходит по схеме:



Сульфатное дыхание — восстановление сульфатов до сероводорода, сопровождающееся выделением такого же количества энергии:



$$(\Delta G = -1760 \text{ кДж/моль})$$

Процесс восстановления нитратов до молекулярного азота индуцируется молибденсодержащим ферментом- нитратредуктазой. Если в среде содержится кислород, функция нитратредуктазы подавляется. Поэтому восстановление нитратов происходит только в анаэробных условиях.

3.3 Брожение

Это процесс расщепления органических углеродсодержащих соединений в анаэробных условиях. Оно характеризуется тем, что последним акцептором водорода служит молекула органического вещества с ненасыщенными связями. Вещество при этом разлагается только до промежуточных продуктов, представляющих собой сложные органические соединения (спирты, органические кислоты). Заключенная в них энергия не используется микробами, а образовавшаяся в небольших количествах энергия выделяется в окружающую среду.

Слайд №13 При брожении молекулы глюкозы (гексозы) освобождается 166 кДж/моль, что примерно в 17 раз меньше, чем при аэробном окислении того же вещества:



При окислении глюкозы различают три фазы:

- 1) гликолиз (путь Эмбдена—Мейергофа—Парнаса);
- 2) окислительное декарбоксилирование (цикл Кребса);
- 3) окислительное фосфорилирование (дыхательная цепь, в которой происходит перенос водорода и электронов).

3.4 Гликолиз

Слайд № (без №) Это фаза, общая для анаэробного и аэробного дыхания, две другие фазы наблюдаются только в аэробных условиях. Гликолиз представляет собой совокупность последовательно протекающих окислительно-восстановительных реакций (около 10), в результате которых одна молекула глюкозы расщепляется на две молекулы пировиноградной кислоты. Процесс проходит в анаэробных условиях. При гликолизе чистый выход АТФ составляет две молекулы и освобождаются четыре атома водорода:



Глюкоза Пировино- Чистый выход
 градная
 кислота

При дальнейшем превращении продуктов расщепления глюкозы в аэробных условиях (цикл Кребса, окислительное фосфорилирование) образуется энергия, которая идет на синтез АТФ. При полном окислении одной молекулы глюкозы выход АТФ составляет 38 молекул. В аэробных условиях количество энергии, образующейся в виде АТФ, в 19 раз больше, чем при анаэробном брожении. Поэтому с энергетической точки зрения анаэробное дыхание по сравнению с аэробным считается малоэффективным.

Все виды брожений до образования пировиноградной кислоты протекают одинаково. Дальнейшее превращение пировиноградной кислоты зависит от свойств микроба. Гомоферментативные молочнокислые бактерии превращают ее в молочную кислоту, дрожжи — в этиловый спирт и т. д.

4. Фотосинтез

Слайд №15 Фотосинтез — процесс, при котором происходит превращение световой энергии в химическую. Специальные пигменты микроорганизмов (цианобактерии) и растений с помощью солнечной энергии из диоксида углерода (CO₂) и воды (H₂O) образуют органические вещества и кислород, благодаря чему поддерживается жизнь на Земле.

Фотосинтетический аппарат представлен тремя компонентами: антенной, РЦ (реакционный центр) и ЭТЦ (электронно-транспортная цепь). В антенне сосредоточены светособирающие пигменты: бактериохлорофиллы и каротиноиды. Реакционный центр (РЦ) воспринимает световую волну

длиной 870—875нм и переносит ее на бактериохлорофилл с электронно-транспортной цепи (ЭТЦ), в которой содержится несколько цитохромов.

Фотосинтез может быть *окисленным* и *аноксигенным*. Окисленный фотосинтез среди прокариот осуществляют только *цианобактерии* и *прохлорофиты*. При этом из воды образуется кислород, который выделяется во внешнюю среду. В аноксигенном фотосинтезе участвуют особые пигменты: бактериохлорофилл *A* и реже бактериохлорофилл *B*, а также каротиноиды.

5. Метаногенез

Метанобразующие бактерии принадлежат к археобактериям. По форме — это палочки и кокки. Спор в чистых культурах не образуют. В стенках таких бактерий отсутствует пептидогликан, поэтому установить окраску по Граму невозможно. облигатные анаэробы широко распространены в природе. Встречаются в преджелудках жвачных животных, а также во многих водоемах: прудах, озерах, затопляемых рисовых полях, отдельных районах Мирового океана. Обычно в таких местах происходит разложение органических веществ с образованием H_2 , CO_2 и других соединений. Метановые бактерии завершают процесс разложения растительных и животных остатков. Используют водород (H_2) для восстановления двуокиси углерода (CO_2) до метана.

Метан — горючий газ, который получают из органических отходов и используют для обогрева теплиц, животноводческих помещений, населенных пунктов. Так, в Китае работает более 7 млн биогазовых заводов, в Индии — 75 тысяч гобар-заводов, перерабатывающих навоз. В Японии при переработке отходов получают до 4,5млрд m^3 метана. Таким путем не только осуществляется очистка окружающей среды, но и происходит накопление сравнительно недорогого топлива, которое можно использовать в сельскохозяйственном производстве.

6. Роль ферментов в обмене веществ у микроорганизмов

6.1 Общая характеристика ферментов

В каждом организме (животном, растительном или микробной клетке) все время происходят сложные процессы превращения веществ. Важное значение в этих процессах играют ферменты (энзимы) — биологические катализаторы белковой природы, причем не только белковой.

Ферменты микробов делят на эндо- и экзоферменты. Эндоферменты прочно связаны с цитоплазмой, осуществляют дальнейшее расщепление поступающих питательных веществ и превращение их в составные части клетки. Экзоферменты выделяются в окружающую среду, где производят превращение питательных веществ в более простые соединения, которые проходят через оболочку микробной клетки и служат пластическим материалом.

В 1898 г. ученик Луи Пастера Эмиль Дюкло предложил называть ферменты по веществу, на которое они действуют, с добавлением окончания «-аза». Например, фермент, действующий на крахмал, называют *амилаза*, на жиры — *липаза*, на белки — *протеиназа*.

До настоящего времени сохранились старые названия ферментов. Так, фермент желудочного сока называют *пепсином*, фермент слюны — *птиалином*, фермент поджелудочной железы — *трипсином* и т.д.

6.2 Свойства ферментов

Слайд №17 Все процессы, которые протекают в микробной клетке, полностью зависят от активности ферментов. Ферменты растворимы в воде, растворах солей, кислот, щелочей. Они имеют большие молекулярную массу и электрический заряд. Ферменты — это в основном белковые комплексы. По форме — это кристаллы, которые могут выпадать из растворов. Существуют две группы ферментов:

однокомпонентные, или белковые, в состав которых входит белок-носитель (апофермент);

простетические, с активной группой (коферменты).

В отдельности белковая и простетическая группы не обладают ферментативной активностью и только после соединения приобретают активные свойства ферментов.

Специфичность действия — одно из наиболее характерных свойств ферментов. Они способны реагировать только с определенными химическими веществами или группой родственных соединений. Например, фермент лактаза расщепляет только молочный сахар, уреазы гидролизуют мочевины, каталазы разрушают пероксид водорода и т. д.

Каталитическая активность проявляется в очень малых количествах. Один грамм амилазы может разложить 1т крахмала, 1г химозина — свернуть 12т молока, 1г пепсина способен расщепить 50кг коагулированного белка, одна молекула каталазы при 40°С в течение секунды разрушает 550тыс. молекул пероксида водорода. Таким образом, существует большое несоответствие между количеством фермента и действием, которое он оказывает на вещество.

Ферменты термолабильны. Они легко инактивируются при нагревании. При 50—60°С ферменты снижают свою активность, при 80°С происходит инаktivация большинства из них, а при 100°С наступает полное разрушение. Это объясняется прежде всего тем, что большинство ферментов имеет белковую природу. Оптимальная температура их действия 30—50°С, для ферментов же животного происхождения — 37—40°С.

Ферменты действуют при определенном рН. Реакция среды, в которой ферменты проявляют свою активность, разная. Пепсин действует в кислой среде (рН 1,5—2,5), трипсин — в слабощелочной (рН 7,8—8,7), каталаза и уреазы — в нейтральной (рН 7).

Ферменты не изменяются к концу реакции, не входят в состав конечных продуктов. Они нетоксичны. Это важное свойство имеет большое значение для многих отраслей народного хозяйства. Если бы ферменты сказались ядовитыми, невозможно было бы использовать многие продукты ферментации, особенно в пищевой промышленности и медицине.

6.3 Классификация ферментов

В настоящее время известно более 2000 ферментов, поэтому возникла необходимость в научно обоснованной их классификации. Согласно классификации, разработанной специальной комиссией Международного биохимического союза (1961), все ферменты объединены в шесть классов: оксидоредуктазы, трансферазы, гидролазы, лиазы, изомеразы, лигазы, или синтетазы.

6.3.1 Оксидоредуктазы — окислительно-восстановительные ферменты. Они ускоряют процессы восстановления и окисления различных веществ, играют большую роль в процессах дыхания микробов.

6.3.2 Трансферазы — ферменты переноса. Они переносят отдельные группы, радикалы и атомы как между отдельными молекулами, так и внутри их (метильные, карбоксильные и другие группы; группы, содержащие азот,

фосфор, серу, альдегидные и кетонные остатки и т. д.). Представители этого класса — аминотрансферазы, фосфаттрансферазы и др. Аминотрансферазы переносят аминогруппу с одной аминокислоты на другую. Фосфаттрансферазы переносят фосфатный остаток с АТФ на глюкозу и фруктозу.

6.3.3 Гидролазы — ферменты, ускоряющие реакции гидролиза, т. е. процесса расщепления сложных веществ на более простые с присоединением молекулы воды. Они имеются у многих микроорганизмов. В эту группу входят: эстеразы, расщепляющие сложные эфиры, образованные органическими кислотами и спиртами; фосфатазы, гидролизующие сложные эфиры, образованные спиртами и фосфорной кислотой; глюкозидазы, расщепляющие глюкозидные связи в углеводах и их производных; пептидазы, ускоряющие гидролиз амидов, аминокислот и других соединений.

6.3.4 Лиазы — ферменты, отщепляющие от субстратов негидролитическим путем ту или иную группу (реакция между углеродом и кислородом, азотом, серой, галоидом). Наиболее важное значение из них имеют карбоксилаза, альдегидлиаза (альдолаза) и др.

6.3.5 Изомеразы — ферменты, ускоряющие перемещение внутри молекул водорода, фосфора и двойных связей, что имеет важное значение в обмене веществ. К этой группе относятся фосфогексоизомераза, триозофосфоизомераза и др.

6.3.6 Лигазы или синтетазы — ферменты, ускоряющие синтез сложных соединений из более простых за счет распада пиррофосфорных связей (в АТФ или других богатых энергией пиррофосфатах). Лигазы играют большую роль в синтезе белков, нуклеиновых кислот, жирных кислот и других соединений. Ферментативную активность бактерий и грибов широко используют в промышленности для приготовления уксусной, молочной, щавелевой, лимонной кислот; молочных продуктов (сыр, ацидофилин, кумыс); в виноделии, пивоварении и др.

Лекция №1.2

Тема: «Конструктивный и энергетический метаболизм микробной клетки. Общие принципы биосинтеза макромолекул у микроорганизмов. Пути метаболизма, приводящие к образованию макроэргов»

Вопросы:

1. Общие принципы биосинтеза макромолекул у микроорганизмов

1.1 Взаимосвязь конструктивного и энергетического обмена

1.2 Участие отдельных химических элементов в конструктивном метаболизме

1.3 Углеродные соединения, используемые в реакциях биосинтеза

1.4 Пировиноградная кислота - ключевой метаболит катаболических и анаболических (синтетических) процессов

2. Синтез структурных компонентов микробной клетки

2.1 Компонентный состав бактериальной клетки

2.2 Биосинтез аминокислот и белков

2.3 Биосинтез нуклеотидов и нуклеиновых кислот

2.4 Биосинтез олиго- и полисахаридов

2.5 Биосинтез жиров и липидов

3. Пути метаболизма, приводящие к образованию макроэргов.

3.1 Энергетические ресурсы микробной клетки

3.2 Общая характеристика энергетических процессов

4. Характеристика высокоэнергетических соединений.

4.1 АТФ-универсальная форма химической энергии в клетке

4.2 Электрохимический трансмембранный градиент ионов ($(\Delta\mu_{H^+})$)- вторая универсальная форма клеточной энергии

5. Роль высокоэнергетических соединений в клеточном метаболизме.

5.1 Специализированное применение двух универсальных форм энергии

5.2 Роль других соединений с богатыми энергией связями

5.3 Роль пиридиновых нуклеотидов в метаболизме

5.4 Энергетические затраты микробной клетки

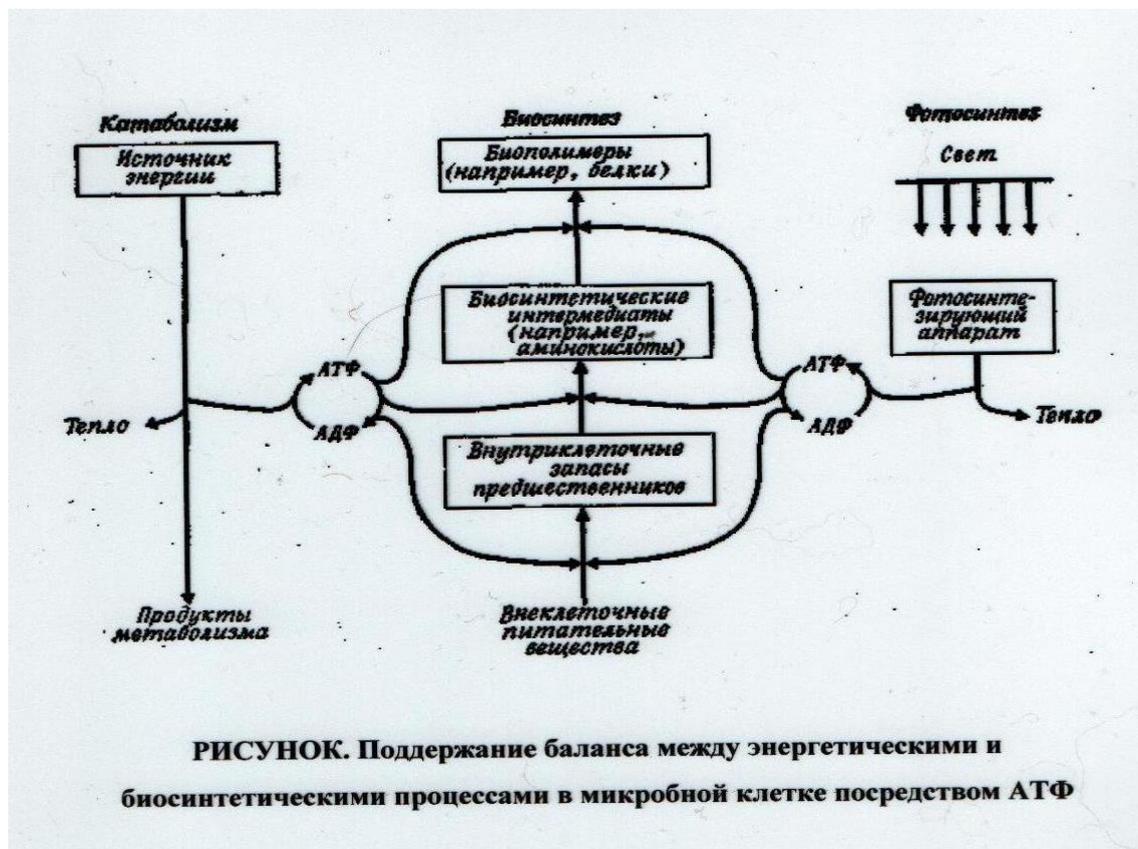
5.5 Консервирование энергии в микробной клетке.

1. Общие принципы биосинтеза макромолекул у микроорганизмов

1.1 Взаимосвязь конструктивного и энергетического обмена

Слайд №3 Конструктивный метаболизм - это совокупность биосинтетических реакций включения низкомолекулярных соединений в клеточные полимеры. Комплекс этих реакций иногда называют пластическим обменом.

Слайд №4 Для удобства понимания конструктивный и энергетический обмена рассматриваются, как правило, по отдельности. Однако разграничить процессы получения энергии и процессы, связанные с конструктивным метаболизмом, крайне сложно, так как они тесно взаимосвязаны. Особенно трудно произвести это разделение в том случае, когда одно и то же вещество потребляется и для построения клетки и как энергетический субстрат. Связующие звенья процессов распада и биосинтеза — продукты неполного окисления, поскольку они используются не только для получения энергии, но и как строительный материал. Поэтому иногда даже не возникает необходимость в глубоком окислении субстрата для получения возможно большего количества энергии. Бактериальная клетка всегда поддерживает гибкий (в зависимости от условий внешней среды) баланс между реакциями катаболизма и анаболизма (рисунок 1).



Слайд №5 Образование аденозинтрифосфата (АТФ) представляет собой основной механизм, с помощью которого запасается и перераспределяется некоторое количество свободной энергии; большая часть энергии рассеивается в виде тепла. АТФ может служить донором фосфатной группы для множества промежуточных продуктов обмена (интермедиатов), переводя их в активированную форму. Стандартная свободная энергия (ΔG) интермедиатов при этом повышается настолько, что позволяет им в фосфорилированной форме участвовать в термодинамически выгодных процессах ($-\Delta G$). В то же время подобная реакция с участием нефосфорилированной формы реагирующего вещества была бы термодинамически невыгодной ($+\Delta G$). Фосфорилирование гексоз — первый этап как в процессах синтеза полимерных углеводов, так и при катаболическом разложении сахаров.

Таким образом, фосфорилированный углевод может быть трансформирован в компонент цитоплазмы (полисахарид), либо ферментирован на более простые вещества. Эти разнонаправленные превращения ключевых интермедиатов в фосфорилированной форме позволяют клетке сбалансированно регулировать пути катаболизма и биосинтеза.

1.2 Участие отдельных химических элементов в конструктивном метаболизме

Слайд №6 1.2.1 Азот. Наряду с углеродом, водородом и кислородом, азот является одним из четырех основных элементов, участвующих в построении клетки. В расчете на сухие вещества в клетках его содержится приблизительно 10%. Природный азот бывает в окисленной, восстановленной и молекулярной формах. Подавляющее большинство прокариот усваивают азот в восстановленной форме. Это соли аммония, мочевины, органические соединения (аминокислоты или пептиды). Окисленные формы азота, главным образом нитраты, также могут потребляться многими прокариотами. Так как азот в конструктивном клеточном метаболизме используется в форме аммиака, нитраты перед включением в органические соединения должны быть восстановлены.

Слайд №7 Восстановление нитратов до аммиака осуществляется посредством последовательного действия двух ферментов: нитрат- и нитритредуктазы. Нитратредуктаза катализирует НАД-Н₂ (никотинамидадениндинуклеотид) - зависимое восстановление нитрата до нитрита, а затем нитритредуктаза катализирует восстановление NO₂⁻ до NH₃.

Молекулы мочевины и органических соединений также должны быть подвергнуты соответствующим ферментативным воздействиям, сопровождающимся высвобождением аммиака.

Известна способность некоторых видов микроорганизмов использовать молекулярный азот атмосферы. Этим свойством обладают многие прокариоты, принадлежащие к разным группам: эу- и архебактерий, аэробы и анаэробы, фототрофы и хемотрофы, свободноживущие и симбиотические формы. Фиксация молекулярного азота также приводит к восстановлению его до аммиака.

Слайд №8 1.2.2 Сера и фосфор. Сера входит в состав аминокислот (цистин, цистеин, метионин), витаминов и кофакторов, некоторых ферментов (биотин, липоевая кислота, кофермент А и др.), а фосфор является компонентом нуклеиновых кислот, фосфолипидов, коферментов. В природе сера находится в форме неорганических солей, главным образом сульфатов, в виде молекулярной (элементной) серы или входит в состав органических соединений. *Большинство прокариот для биосинтетических целей потребляют серу в форме сульфата, который при этом восстанавливается до уровня сульфида.* Основной формой фосфора в природе являются фосфаты, которые используются прокариотами.

Слайд №9 1.2.3 Ионы металлов. Всем микроорганизмам необходимы металлы, которые используются в форме катионов неорганических солей. Некоторые из них (магний, кальций, калий, железо) нужны в достаточно

высоких концентрациях, потребность в других (цинк, марганец, натрий, молибден, медь, ванадий, никель, кобальт)- невелика. Роль перечисленных выше металлов определяется тем, что они входят в состав основных клеточных метаболитов и, таким образом, участвуют в осуществлении жизненно важных функций микроорганизма.

1.3 Углеродные соединения, используемые в реакциях биосинтеза

Для биосинтеза клеточных компонентов необходимы низкомолекулярные соединения (например, сахара или аминокислоты). Мономеры, необходимые для построения основных клеточных компонентов, могут быть синтезированы клеткой или поступать в готовом виде из окружающей среды. При наличии таких предшественников в окружающей среде они непосредственно вовлекаются в различные биосинтетические процессы. Однако гораздо чаще бактериям приходится самим синтезировать большую часть молекул предшественников из доступных исходных продуктов.

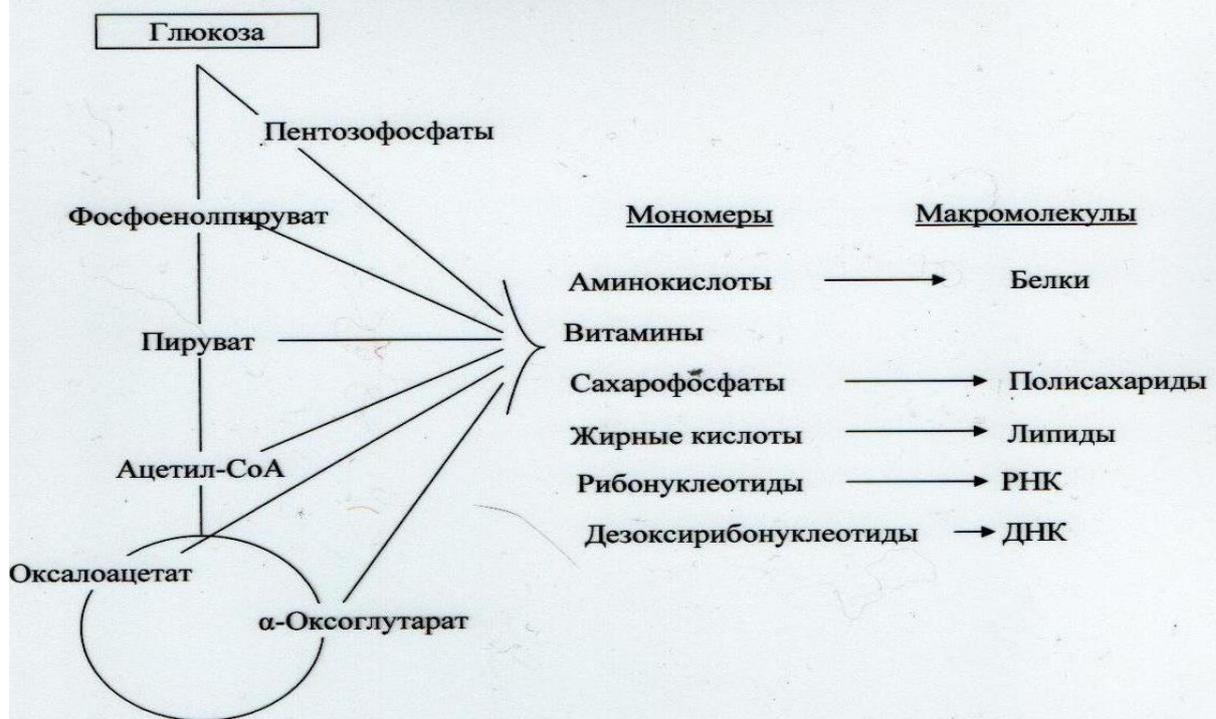


РИСУНОК - Общая схема биосинтеза клеточного материала из глюкозы

Слайд №10 На рисунке 2 представлена общая схема биосинтеза клеточного материала из глюкозы, показывающая основные направления получения из низкомолекулярных веществ (мономеров) макромолекулярных соединений (белков, полисахаридов, липидов, нуклеиновых кислот), которые являются важными структурными микробной клетки.

1.3.1 Использование углерода бактериями с различным типом питания для биосинтеза компонентов клетки

В конструктивном метаболизме основная роль принадлежит углероду, поскольку все соединения, из которых построены живые организмы, — это соединения углерода. Прокариоты способны использовать любое известное углеродное соединение в своем метаболизме.

Слайд №11 В зависимости от источника углерода, необходимого для конструктивного метаболизма, все прокариоты делятся на две группы:

автотрофы, к которым принадлежат организмы, способные синтезировать все компоненты клетки из углекислоты, и

гетеротрофы, источником углерода для конструктивного метаболизма которых служат органические соединения. (Термин "автотрофия" означает питающийся самостоятельно, "гетеротрофия"— питающийся другими; от греческих слов: autos—сам, heteros— другой, trophe — пища).

Понятия "авто-" и "гетеротрофия" характеризуют тип конструктивного метаболизма микроорганизмов.

Наибольшая степень гетеротрофности присуща прокариотам, относящимся к облигатным внутриклеточным паразитам, т.е. организмам, которые могут жить только внутри других живых клеток. Паразитический образ жизни привел к редукции некоторых метаболических путей у этих видов микроорганизмов.

Паразитические прокариоты можно выращивать на богатых питательных средах. Эти среды, как правило, содержат белки или продукты их неглубокого гидролиза (пептиды), полный набор витаминов, фрагменты нуклеиновых кислот и т. д. Для приготовления питательных сред такого состава используют мясные гидролизаты, цельную кровь или ее сыворотку. Виды, способные расти при создании подходящих условий на искусственных питательных средах, а не только в организме хозяина, называют факультативными паразитами.

Следующую группу прокариот составляют так называемые сапрофиты — гетеротрофные организмы, которые в отличие от других микроорганизмов не зависят, но нуждаются в готовых органических соединениях. (Термин "сапрофиты" происходит от греческих слов *sapros* — гнилой и *phyton* — растение).

Они используют продукты жизнедеятельности других организмов или разлагающиеся растительные и животные ткани. К сапрофитам относится большая часть бактерий. Степень требовательности к субстрату у сапрофитов весьма различна. В эту группу входят организмы, которые могут расти только на достаточно сложных субстратах (молоко, гниющие растительные остатки), т.е. им нужны в качестве обязательных элементов питания углеводы, органические формы азота в виде набора аминокислот, пептидов, белков, все или часть витаминов, нуклеотиды или готовые компоненты, необходимые для синтеза нуклеиновых кислот (азотистые основания, пятиуглеродные сахара). Чтобы удовлетворить потребность этих гетеротрофов в элементах питания, их обычно культивируют на средах, содержащих мясные гидролизаты, автолизаты дрожжей, растительные экстракты, молочную сыворотку.

Особую группу гетеротрофных прокариот, обитающих в водоемах, составляют олиготрофные бактерии, способные расти при низких концентрациях в среде органических веществ. Организмы, предпочитающие высокие концентрации питательных веществ, относят к копиотрофам. (Термины происходят от греческих слов: *oliaos* — малый и *trophe* — пища, латинского *copia* — изобилие).

1.4 Пировиноградная кислота - ключевой метаболит катаболических и анаболических (синтетических) процессов

Превращение глюкозы в пировиноградную кислоту у аэробов и анаэробов катализируется ферментами гликолиза. Обратный процесс — превращение пировиноградной кислоты в глюкозу — центральный путь биосинтеза моно- и полисахаридов. Таким образом, пировиноградная кислота занимает центральное место в обмене веществ у бактерий. Особую ценность имеет свойство пирувата постепенно высвобождать энергию в ходе последовательных реакций катаболизма. При этом пировиноградная кислота служит энергетическим субстратом не только при распаде углеводов, но и белков, так как окислительное дезаминирование аминокислот приводит к образованию кетокислот, а также пирувата.

Слайд №12 .В пластическом обмене пируват служит источником синтеза углеводов, белков, жиров и других соединений. *Таким образом, пировиноградная кислота или любое соединение, превращение которого ведёт к образованию пирувата, может быть единственным органическим веществом, обуславливающим рост и развитие бактерий.*

2. Синтез структурных компонентов микробной клетки

2.1 Компонентный состав бактериальной клетки

Слайд №13 Клетки бактерий содержат от 70 до 90% воды. Основную

ТАБЛИЦА - КОМПОНЕНТНЫЙ СОСТАВ БАКТЕРИАЛЬНОЙ КЛЕТКИ (на примере *E. coli*)

Компонент	Общее количество, % от сухих веществ клетки	Количество молекул в клетке	Число разных видов молекул в клетке
Белок	55,0	2350000	1850
РНК (всего), из них:	20,5		
23S рРНК		18700	1
16S рРНК		18700	1
5S рРНК		18700	1
тРНК		198000	60
иРНК		1380	600
ДНК	3,1	2	1
Липиды	9,1	22000000	
Липополисахариды	3,4	1430000	1
Пептидогликан	2,5	1	1
Гликоген	2,5	4300	1
Метаболиты, кофакторы, ионы	3,5		800

массу сухих веществ, на долю которых приходятся остальные 10-30%, составляют белки, нуклеиновые кислоты, липиды и полисахариды. Несколько процентов сухого вещества клеток приходится на низкомолекулярные органические вещества и соли (таблица 1).

Макромолекулы, составляющие основную массу сухих веществ клетки это полимеры, построенные из мономерных частиц. Образованию полимеров предшествует синтез составляющих их мономеров. В случае полисахаридов — это различные моносахара, нуклеиновых кислот — рибо- и дезоксирибонуклеотиды, белков — аминокислоты. Исключение составляют липиды, не являющиеся полимерами, так как молекулы в них не соединены между собой ковалентными связями.

Слайд № 14 Липиды — гетерогенный класс клеточных компонентов, выделенный на основании их растворимости в неполярных растворителях (эфир, бензол, хлороформ) и нерастворимости в воде. К ним относят жиры, фосфолипиды, стероиды, изопреноиды и поли-β-оксибутират. Липиды подразделяют на два больших класса: липиды, содержащие жирные кислоты,

связанные эфирной связью и липиды, состоящие из повторяющихся пятиуглеродных изопреновых фрагментов.

Большое значение имеют сложные липиды. Они представляют собой сложный эфир глицерола, в котором две спиртовые группы этерифицированы жирными кислотами, а третья - остатком фосфорной кислоты или сахаром.

Углеводные полимеры построены на основе повторяющихся единиц одного, двух или более типов углеродных соединений, например, полисахарид гликоген, построенный из остатков глюкозы, или пептидогликан клеточной стенки, образованный чередованием N-ацетилглюкозамина и N-ацетилмурамовой кислоты.

Полимерные молекулы белков и нуклеиновых кислот синтезируются на матрице, которая и определяет последовательность составляющих их мономеров. Возможности для синтеза разнообразных по функциям и структуре клеточных метаболитов реализуются на стадии сборки полимеров путем различных сочетаний аминокислот. В основе огромного количества разных белков лежат комбинации из 20 аминокислот, а чтобы зашифровать весь объем генетической информации одной клетки или многоклеточного организма оказалось достаточным комбинации из 4 нуклеотидов.

2.2 Биосинтез аминокислот и белков

2.2.1 Аминокислоты. Большинство микроорганизмов способны самостоятельно синтезировать *de novo* все двадцать аминокислот, из которых строятся белки. Основное назначение источников азота, поступающих в бактериальную клетку, это формирование аминных (NH_2) и иминных (NH) групп в молекулах аминокислот, нуклеотидов, гетероциклических оснований и других химических компонентов. При этом азотсодержащие вещества являются сырьём для пластического обмена но могут включаться и в энергетический метаболизм.

Наиболее доступные минеральные источники азота в природе — аммонийный ион (NH_4^+) и аммиак (NH_3), легко проникают в клетки и просто трансформируются в амино- и иминогруппы.

Слайд №15 Углеродные скелеты аминокислот образуются из промежуточных продуктов обмена. Аминогруппы вводятся путем прямого аминирования или трансаминирования. Перевод неорганического азота в органические соединения происходит всегда через аммиак. Нитраты, нитриты и молекулярный азот предварительно восстанавливаются до

аммиака (ассимиляционная нитратредукция) и только после этого включаются в состав органических соединений (рисунок 3, а,б,в).

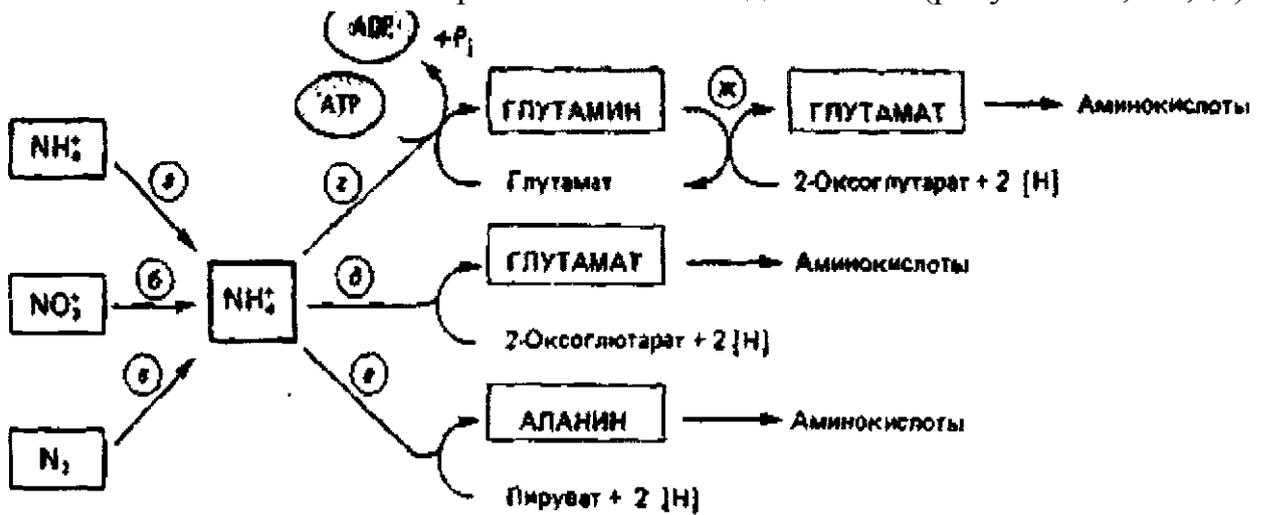


Рисунок 3 Важнейшие пути ассимиляции азота в микробной клетке.\

Ионы аммония, содержащиеся в питательной среде, непосредственно поглощаются клетками (а). Ионы нитрата при ассимиляционной нитратредукции (б), а молекулярный азот (N_2) при фиксации азота (в) восстанавливаются до ионов аммония. В органические соединения аммонийный азот переводится либо при участии АТФ путем образования глутамина, либо без затраты АТФ путем прямого восстановительного аминирования 2-оксоглутарата или пирувата.

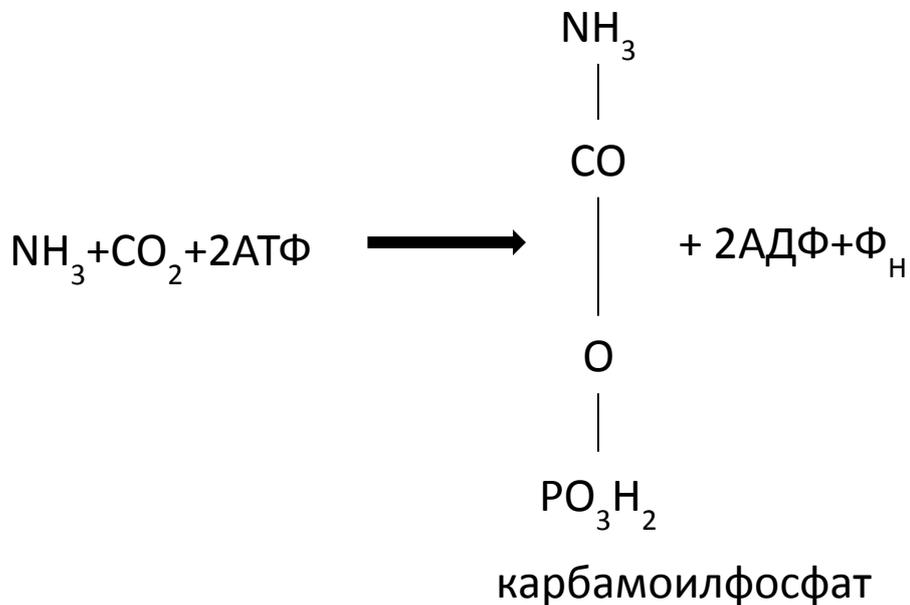
Лишь немногие из аминокислот образуются в результате прямого аминирования свободными ионами NH_4^+ .

Большинство аминокислот получают свою аминогруппу от одной из первичных аминокислот в результате трансаминирования. Из свободных аминокислот в цитоплазме количественно преобладает глутаминовая кислота (больше половины всего «пула» аминокислот).

Слайд №16 .Таким образом, глутаминовая кислота и глутамин прямо или косвенно служат донорами амино- и амидогрупп при синтезе практически всех аминокислот и других азотсодержащих органических соединений. Аспарагин используется только для синтеза белковых молекул. Во все остальные аминокислоты азот вводится посредством реакций переаминирования, катализируемых соответствующими аминотрансферазами, при этом во всех реакциях одним из компонентов является глутаминовая кислота :

глутаминовая кислота + щавелевоуксусная кислота \longrightarrow аспарагиновая кислота + α -кетоглутаровая кислота.

Слайд №17 .Еще одним путем включения азота аммиака в состав органических соединений является реакция, приводящая к образованию карбамоилфосфата:



Дальнейшее использование азота карбамоилфосфата происходит по двум путям: для синтеза пиримидинов и аргинина.

Слайд №18 У многих микроорганизмов хорошо изучены пути синтеза всех двадцати аминокислот. Особенностью биосинтеза аминокислот является использование общих биосинтетических путей. Так, 19 из 20 аминокислот, входящих в состав белков, можно по способу их биосинтеза разделить на 5 групп. Только одна аминокислота (гистидин) образуется по отдельному биосинтетическому пути.

В обобщённом виде группирование синтезируемых аминокислот по признаку единства их метаболических предшественников и путей биосинтеза представлено в таблице 2.

Таблица - ГРУППЫ АМИНОКИСЛОТ С ОБЩИМИ МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ ПРЕДШЕСТВЕННИКАМИ И ПУТЯМИ БИОСИНТЕЗА

Предшественник	Метаболический путь, приводящий к образованию предшественника	Аминокислоты с общими биосинтетическими путями
Щавелевоуксусная кислота	Цикл трикарбоновых кислот, реакции карбоксилирования	аспарагиновая кислота аспарагин лизин метионин треонин изолейцин
α-Кетоглутаровая кислота	Цикл трикарбоновых кислот	глутаминовая кислота глутамин аргинин пролин
3-Фосфоглицериновая кислота	Гликолиз, цикл Кальвина	серин глицин цистеин
Пировиноградная кислота	Гликолиз, путь Энтнера-Дудорова	аланин валин лейцин
Фосфоенолпировиноградная кислота + Эритрозо-4-фосфат	Гликолиз, окислительный пентозофосфатный путь	триптофан тирозин фенилаланин
5-Фосфорибозил-1-пирофосфат + АТФ	Окислительный пентозофосфатный путь	гистидин

2.2.2 Пептиды и белки. Бактериальная клетка способна синтезировать несколько тысяч различных белков, каждый из которых содержит в среднем 200 аминокислотных остатков. Информация, направляющая синтез этих белков, закодирована в ДНК. Синтез полипептидной цепи происходит в цитоплазме клетки на рибосомах в сочетании с молекулой матричной (мРНК) или информационной РНК (иРНК), которая синтезируется на матрице ДНК в процессе транскрипции.

Информация, содержащаяся в молекулах мРНК, транслируется в полипептидную цепь при участии особого класса молекул РНК, известных

как тРНК. Многофункциональность тРНК позволяет им присоединяться к определённым аминокислотам, связываться с рибосомой и узнавать определённые последовательности из трёх нуклеотидов (кодон) в составе мРНК. Узнаваемый кодон соответствует конкретной аминокислоте; нужная аминокислота «подаётся» при помощи узнающей её молекулы тРНК к концу растущей полипептидной цепочки. Так образуется будущая молекула белка.

2.3 Биосинтез нуклеотидов и нуклеиновых кислот

2.3.1 Пуриновые и пиримидиновые нуклеотиды.

Из мононуклеотидов построены нуклеиновые кислоты (РНК, ДНК) клеток. Кроме того, мононуклеотиды входят в состав многих коферментов и участвуют в осуществлении различных каталитических функций. Центральное место в биосинтезе мононуклеотидов занимает синтез пуриновых и пиримидиновых азотистых оснований.

Многие прокариоты способны использовать содержащиеся в питательной среде готовые пуриновые и пиримидиновые основания, их нуклеозиды и нуклеотиды.

Слайд №19 Образование пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов *de novo* из низкомолекулярных соединений происходит независимыми друг от друга путями. Источник рибозилфосфатной части всех нуклеотидов — 5-фосфорибозил-1-пирофосфат — образуется после взаимодействия рибозо-5-фосфата с АТФ. Дезоксирибонуклеотиды образуются путём восстановления соответствующих рибонуклеотидов. Пуриновые нуклеотиды построены на основе фосфорибозилпирофосфата, с которого и начинается их синтез. Девятичленное пуриновое кольцо синтезируется последовательным присоединением аминогрупп и мелких углеродсодержащих групп, причём все интермедиаты биосинтеза — рибонуклеотиды.

Пиримидиновые нуклеотиды формируются при последовательных превращениях карбоксилсодержащих интермедиатов, начиная с карбамоилфосфата. Рибозофосфатный остаток присоединяется только после того, как шестичленное пиримидиновое кольцо полностью синтезировано из аспарагиновой кислоты и карбамоилфосфата.

2.3.2 Нуклеиновые кислоты. Большинство синтезируемых нуклеотидов используются для синтеза РНК и ДНК, небольшая часть используется для синтеза коферментов и богатых энергией соединений. Основная часть бактериальной ДНК находится в виде двухцепочечной кольцевой молекулы — бактериальной хромосомы. В процессе репликации хромосома с высокой точностью удваивается, что обеспечивает передачу

генетической информации дочерним клеткам. Синтез ДНК из субстратов-мономеров четырёх дезоксирибонуклеотидтрифосфатов (дАТФ, дГТФ, дЦТФ и дТТФ), катализируют ДНК-полимеразы. При этом на каждой одиночной цепи ДНК происходит синтез новой комплементарной цепи: ДНК-полимеразы встраивают нуклеотиды в соответствии с правилами водородного связывания (Гуанин против Цитозина, Аденин против Тимина). Процесс удвоения клеточной ДНК называют репликацией. Если цепь ДНК служит матрицей, на которой полимеризуется цепь РНК (мРНК), то этот процесс называют транскрипцией.

2.4 Биосинтез олиго- и полисахаридов

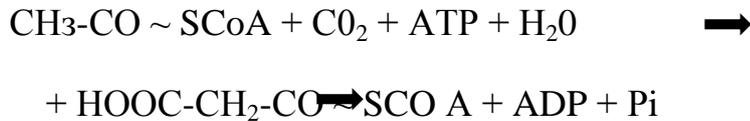
На долю внутриклеточных олиго- и полисахаридов может приходиться до 60% сухой массы бактериальной клетки, тогда как количество синтезируемых внеклеточных полисахаридов может во много раз превышать массу бактерии. При отсутствии сахаров в окружающей среде бактерии синтезируют их из доступных источников углерода. Например, бактерии, растущие на средах, содержащих трёхуглеродные соединения, синтезируют гексозофосфаты из пирувата с помощью реакций, характерных для фруктозодифосфатного пути. Бактериальные олиго- и полисахариды образуются путём присоединения к акцепторным молекулам остатков сахаров из нуклеозиддифосфосахаров. Например, трегалоза, содержащая два остатка глюкозы, образуется из уридиндифосфатглюкозы и глюкозо-6-фосфата.

Если прокариоты выращивать на средах, где источник углерода — одно-, двух- или трёхуглеродные соединения, то необходимые сахара (в первую очередь C_6) они должны синтезировать из имеющихся в среде источников углерода. У подавляющего большинства автотрофов на среде с двуокисью углерода (CO_2) в качестве единственного источника углерода сахара синтезируются в реакциях восстановительного пентозофосфатного цикла. У гетеротрофов на среде с C_2 и C_3 -соединениями для синтеза необходимых сахаров используются в значительной степени реакции катаболических процессов, например в гликолитическом пути.

Слайд №21 Процесс, обеспечивающий синтез C_6 -углеводов из неуглеводных соединений, например, аминокислот, глицерина, молочной кислоты, получил название глюконеогенеза.

2.5 Биосинтез жиров и липидов

Слайд №22 .Жирные кислоты с длинной цепью синтезируются путем конденсации и восстановления ацетатных групп. Для повышения реакционной способности метильная группа ацетилкофермента А сначала карбоксилируется в биотинзависимой реакции с образованием малонил-кофермент А:



В последующих реакциях конденсации карбоксильная группа снова отщепляется в виде двуокиси углерода. Синтез жирных кислот происходит при участии мультиферментного комплекса.



Жирные кислоты синтезируются отдельно, а затем с помощью эфирной связи включаются в липиды. Число типов жирных кислот у каждого вида бактерий строго определено. У прокариот преимущественно встречаются насыщенные жирные кислоты.

Полиненасыщенные жирные кислоты, содержащие две и более двойных связей, найдены только у цианобактерий.

Пути, ведущие к синтезу фосфолипидов, состоят из нескольких этапов. Исходным субстратом служит фосфодиоксиацетон (промежуточное соединение гликолитического пути), восстановление которого приводит к образованию 3-фосфоглицерина. К последнему затем присоединяются два остатка жирных кислот. Продуктом реакции является фосфатидная кислота. Активирование ее и последующее присоединение к фосфатной группе серина, инозита, глицерина или другого соединения приводят к синтезу фосфатидилсерина, фосфатидилинозита и фосфатидилглицерина соответственно.

3. Пути метаболизма, приводящие к образованию макроэргов

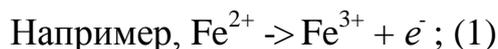
3.1 Энергетические ресурсы микробной клетки

Микроорганизмы могут использовать не все виды энергии, существующей в природе. Недоступными для них являются ядерная, механическая, тепловая виды энергии. Доступными внешними источниками энергии являются электромагнитная энергия (свет определенной длины волны) (физическая) и химическая (восстановленные химические соединения). Способностью использовать энергию света обладает большая группа фотосинтезирующих организмов, в том числе и прокариот, имеющих фоторецепторные молекулы нескольких типов (хлорофиллы, каротиноиды, фикобилипротеины). Для всех остальных организмов источниками энергии служат процессы окисления химических соединений.

Часто источниками энергии служат биополимеры, находящиеся в окружающей среде (полисахариды, белки, нуклеиновые кислоты), а также липиды. Прежде чем быть использованными, биополимеры должны быть гидролизованы до составляющих их мономерных единиц. Этот этап весьма важен по следующим причинам. Белки и нуклеиновые кислоты отличаются исключительным разнообразием. Количество видов белков исчисляется тысячами, после гидролиза, же образуется только 20 видов аминокислот. Все разнообразие нуклеиновых кислот (ДНК и РНК) после гидролиза сводится к 5 видам нуклеотидов. Таким образом, расщепление полимеров до мономерных единиц резко сокращает набор химических молекул, которые могут быть использованы организмом.

3.2 Общая характеристика энергетических процессов

Слайд №23. В самом общем виде процессы, способные служить источником энергии для прокариот, можно представить следующим образом:



В первой реакции окисление иона двухвалентного железа — это потеря электрона. Во втором примере окисление углеродного субстрата можно в равной мере рассматривать как отрыв от него водорода (дегидрирование) или независимое удаление двух протонов (H^+) и электронов (e^-). В биохимических процессах, как правило, перенос водорода осуществляется путем отдельного транспорта протонов и электронов: протоны выделяются в среду и при

необходимости поглощаются из нее, электроны обязательно должны быть переданы на соответствующие молекулы. Поэтому все окислительно-восстановительные превращения определяются по существу "перемещениями" электронов. Реакции, в которых имеется возможность отрыва электронов, могут быть использованы прокариотами для получения энергии.

Разнообразные соединения, способные окисляться, т.е. являющиеся источниками отрываемых электронов, называются *донорами электронов*. Поскольку электроны не могут существовать самостоятельно, они обязательно должны быть перенесены на молекулы, способные их воспринимать и, таким образом, восстанавливаться. Такие молекулы называются *акцепторами электронов*

Слайд №24 .У прокариот известны *три способа получения энергии*: разные виды брожения, дыхания и фотосинтеза. В процессах брожения в определенных окислительно-восстановительных реакциях образуются нестабильные молекулы, фосфатная группа которых содержит много свободной энергии. Эта группа с помощью соответствующего фермента переносится на молекулу АДФ, что приводит к образованию АТФ. Реакции, в которых энергия, освобождающаяся на определенных окислительных этапах брожения запасается в молекулах АТФ, получили название субстратного фосфорилирования. Их особенностью является катализирование растворимыми ферментами. Образующийся в восстановительной части окислительно-восстановительных преобразований сбраживаемого субстрата восстановитель (НАДН², восстановленный ферредоксин) переносит электроны на подходящий эндогенный акцептор электрона (пируват, ацетальдегид, ацетон и др.) или освобождается в виде газообразного водорода (H₂).

Слайд №25 .Многие прокариоты получают энергию в процессе *дыхания*. Они окисляют восстановленные вещества с относительно низким окислительно-восстановительным потенциалом (E_0), которые возникают в реакциях промежуточного метаболизма или являются исходными субстратами, например НАДН₂, сукцинат, лактат, NH₃, H₂S и др. (Таблица 1).

ТАБЛИЦА - ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫЕ ПОТЕНЦИАЛЫ (E_0' , мВ) ВЕЩЕСТВ, УЧАСТВУЮЩИХ В ЭНЕРГЕТИЧЕСКИХ ПРОЦЕССАХ У ПРОКАРИОТ

Окислительно-восстановительная система	E_0' , мВ
Пируват/ацетат + CO_2	-700
$\text{H}^+ + 1/2\text{H}_2$	-420
НАД(Ф) ⁺ /НАД(Ф)· H_2	-320
S^0/HS^-	-270
ФАД/ФАД· H_2	-220
ФМН/ФМН· H_2	-190
Менахинон окисл/восст	-74
Фумарат/сукцинат	+30
Цитохром <i>b</i> окисл/восст	+70
Убихинон окисл/восст	+100
Цитохром <i>c</i> окисл/восст	+220
Цитохром <i>a</i> окисл/восст	+290
$\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$	+433
$\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$	+772
$1/2 \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}$	+820

Окислительно-восстановительный потенциал (E_0) характеризует способность определенных веществ быть донорами или акцепторами электронов. Он может быть измерен экспериментально для любой окислительно-восстановительной системы. В соответствии с полученными значениями различные вещества образуют определенную шкалу окислительно-восстановительных потенциалов, которые принято отсчитывать относительно окислительно-восстановительного потенциала реакции диссоциации: $\text{H}_2 \leftrightarrow 2\text{H}^+ + 2\text{e}^-$ (диссоциация молекулы водорода на два атома водорода с выделением двух электронов).

Для измерения окислительно-восстановительных потенциалов в качестве стандартного электрода обычно используют водородный электрод — раствор, содержащий ионы водорода (H^+) с активностью, равной 1 ($\text{pH}=0$), и электрод из инертного металла в равновесии с молекулярным водородом (H_2) при давлении 1 атм. Его окислительно-восстановительный потенциал условно принят за 0 ($E_0 = 0$ В). Спонтанно или в присутствии соответствующих катализаторов окислительно-восстановительные системы с

отрицательными окислительно-восстановительными потенциалами восстанавливают протон (H) до молекулярного водорода (H₂). Окислительно-восстановительные системы с положительным электрохимическим потенциалом сами восстанавливаются до молекулярного водорода (H₂).

Окисление происходит в результате переноса электронов через локализованную в мембране дыхательную электронтранспортную цепь, состоящую из набора переносчиков, и приводит в большинстве случаев к восстановлению молекулярного кислорода до H₂O. Таким образом, в процессе дыхания молекулы одних веществ окисляются, других — восстанавливаются, т. е. окислительно-восстановительные процессы в этом случае всегда межмолекулярны.

Наиболее широко распространена у прокариот способность окислять *органические субстраты (гетеротрофы)*. Обнаружены также весьма специализированные группы прокариот, способные окислять различные неорганические субстраты (H₂, NH₄⁺, NO₂, H₂S, S⁰, S₂O₃²⁻, Fe²⁺ и др.) (автотрофы) с соответствующим восстановлением кислорода до H₂O. Наконец, прокариоты могут окислять органические и неорганические вещества с использованием в качестве конечного акцептора электронов не молекулярный кислород, а целый ряд органических и неорганических соединений (фумарат, CO₂, NO₃⁻, S⁰, SO₄²⁻, SO₃²⁻ и др.). Количество освобождающейся энергии определяется градиентом окислительно-восстановительных потенциалов при переносе электронов от донора к акцептору. Так, окисление иона водорода (H) молекулярным кислородом сопровождается освобождением значительно большего количества свободной энергии ($\Delta G_0' = -238$ кДж/моль), чем окисление никотинамиддинуклеотида (НАД-H⁺) фумаратом ($\Delta G_0' = -68$ кДж/моль).

Слайд №26 . У прокариот известны *три типа фотосинтеза*:

I — зависимый от бактериохлорофилла бескислородный фотосинтез, осуществляемый разными видами зеленых, пурпурных бактерий и гелиобактериями;

II — зависимый от хлорофилла кислородный фотосинтез, свойственный цианобактериям и прохлорофитам;

III - зависимый от бактериородопсина бескислородный фотосинтез, найденный у экстремально галофильных архебактерий.

В основе фотосинтеза I и II типа лежит поглощение солнечной энергии различными пигментами, приводящее к разделению электрических зарядов, возникновению восстановителя с низким и окислителя с высоким

окислительно-восстановительным потенциалом. Перенос электронов между этими двумя компонентами приводит к выделению свободной энергии.

В фотосинтезе III типа окислительно-восстановительные переносчики отсутствуют. В этом случае энергия в доступной для организма форме возникает в результате светозависимого перемещения иона водорода через мембрану.

Изучение у прокариот *электронтранспортных цепей*, функционирующих в процессах дыхания и фотосинтеза I и II типа, выявило принципиальное сходство между ними. В обеих системах электронного транспорта есть флавопротеины, хиноны, цитохромы и белки, содержащие негемовое железо, позволяющие переносить электроны вниз по термодинамической лестнице.

Таким образом, по существу электронтранспортные цепи I и II типов являются окислительными. Разнообразие в их организации обнаружено в широком наборе доноров и акцепторов электронов, и в конкретной организации самих цепей: химическом строении переносчиков, принадлежащих к одному типу, их наборе, расположении и т. д.

В процессах дыхания и фотосинтеза освобождающаяся при переносе электронов энергия запасается первоначально в форме *электрохимического трансмембранного градиента ионов водорода ($\Delta\mu_{H^+}$)* т. е. имеет место превращение химической и электромагнитной энергии в электрохимическую. Последняя затем может быть использована для синтеза АТФ. Поскольку в обоих процессах синтез АТФ обязательно связан с мембранами, реакции, приводящие к его образованию, получили название *мембранзависимого фосфорилирования*. Последнее подразделяется на два вида: *окислительное фосфорилирование* (АТФ образуется в процессе электронного переноса при окислении химических соединений) и *фотосинтетическое фосфорилирование* (синтез АТФ связан с фотосинтетическим электронным транспортом). Следует подчеркнуть, что принципы генерации АТФ при фотосинтезе и дыхании, т.е. механизмы мембранзависимого фосфорилирования, одинаковы. Таким образом, энергия, получаемая в процессах брожения, дыхания или фотосинтеза, запасается в определенных формах.

Слайд №27 .Существуют две универсальные формы энергии, которые могут быть использованы в клетке для выполнения разного рода работы: энергия высокоэнергетических химических соединений (химическая) и энергия трансмембранного потенциала ионов водорода (электрохимическая).

4. Характеристика высокоэнергетических соединений

4.1 АТФ- универсальная форма химической энергии в клетке

Слайд №28 .У бактерий существуют три основных типа богатых энергией химических соединений: *нуклеозидтрифосфаты, ацилфосфаты и ацилтиоэфиры* (соединения с высокоэнергетической тиоэфирной связью, например, ацетилкоэнзим А, сукцинилкоэнзим А). Самую большую группу составляют соединения с высокоэнергетической фосфатной связью: ацилфосфаты, фосфорные эфиры енолов (фосфоенолпируват), нуклеотидди- и трифосфаты (аденозинтрифосфат, гуанозинтрифосфат (ГТФ), уридинтрифосфат (УТФ), цитидинтрифосфат (ЦТФ), дезокситимидинтрифосфат(дТТФ)), а также аденозинфосфосульфат, креатинфосфат.

«БОГАТЫЕ» И «БЕДНЫЕ» ЭНЕРГИЕЙ СОЕДИНЕНИЯ, УЧАСТВУЮЩИЕ В МЕТАБОЛИЗМЕ МИКРООРГАНИЗМОВ. (Указана $\Delta G'_0$ - свободная энергия гидролиза при рН 7,0 в стандартных условиях)

Субстрат	- $\Delta G'_0$	
	кДж	ккал
Ацетилфосфат	44,0	10,5
Ацетоацетил-СоА	44,0	10,5
Ацил-АМФ	55,7	13,3
Креатинфосфат	37,7	9,0
Фосфоенолпируват	54,4	13,0
Простые фосфоэфиры	12,6	3,0
УДФ-глюкоза	31,8	7,6
Альдозо-1-фосфат	20,9	5,0
АТФ (->АДФ + Φ_H)	31,0	7,4
АТР (->АМР + Φ_H)	31,8	7,6

Примеры некоторых таких богатых и бедных энергией соединений приведены в таблице 2. Эти соединения характеризуются тем, что одна из входящих в состав молекулы групп имеет высокий энергетический потенциал. При переносе этой группы происходит разрыв связи, соединяющей ее с молекулой, что приводит к резкому уменьшению свободной энергии, заключенной в молекуле химического соединения. Такие

связи называются *высокоэнергетическими*, или *макроэргическими*. Присоединение группы с высоким энергетическим потенциалом к молекуле-акцептору повышает уровень ее свободной энергии, переводя молекулу в активированную форму, в которой это соединение может участвовать в биосинтетических реакциях.

Долгое время считали, что единственный тип энергетической валюты — высокоэнергетические химические соединения, а среди них прежде всего АТФ, однако, оказалось, что клетка располагает тремя типами энергетической валюты: наряду с АТФ такую роль выполняют протонный и натриевый потенциалы на биологических мембранах.

В то же время, неоспоримым является тот факт, что центральное место в процессах переноса химической энергии принадлежит системе аденозинтрифосфата. АТФ образуется в реакциях субстратного и мембранзависимого фосфорилирования.

Слайд №29 .Молекула АТФ содержит две макроэргические фосфатные связи, при гидролизе которых высвобождается значительное количество свободной энергии:



Отщепление последней фосфатной группы от молекулы АМФ приводит к значительно меньшему высвобождению свободной энергии:



Молекула АТФ обладает определенными свойствами, которые и привели к тому, что в процессе эволюции ей была отведена столь важная роль в энергетическом метаболизме клеток. Термодинамически молекула АТФ нестабильна, что вытекает из большой отрицательной величины свободной энергии (ΔG -свободной энергии) ее гидролиза. В то же время скорость неферментативного гидролиза АТФ в нормальных условиях очень мала, т.е. химически молекула АТФ высокостабильна. Последнее свойство обеспечивает эффективное сохранение энергии в молекуле АТФ, поскольку химическая стабильность молекулы препятствует тому, чтобы запасенная в ней энергия бесполезно рассеивалась в виде тепла. Малые размеры молекулы АТФ позволяют ей легко диффундировать в различные участки клетки, где необходим подвод энергии из вне для выполнения химической, осмотической или механической работы.

И наконец, еще одно свойство молекулы АТФ, обеспечившее ей центральное место в энергетическом метаболизме клетки. Высвобождение свободной энергии при гидролизе АТФ составляет — 31,8 кДж/моль. Если сравнить эту величину с аналогичными величинами для ряда других

фосфорилированных соединений, то мы получим определенную шкалу. На одном из ее полюсов будут расположены фосфорилированные соединения, гидролиз которых приводит к высвобождению значительного количества свободной энергии (высокие отрицательные значения ΔG - свободной энергии). Это так называемые "высокоэнергетические соединения". На другом полюсе будут располагаться фосфорилированные соединения, свободная энергия (ΔG) гидролиза которых имеет невысокое отрицательное значение ("низкоэнергетические" соединения). Пример высокоэнергетического соединения — фосфоенолпировиноградная кислота ($\Delta G_o' = -58,2$ кДж/моль), низкоэнергетического — глицеро-1-фосфат ($\Delta G_o' = -9,2$ кДж/моль). АТФ на этой шкале занимает промежуточное положение, что и дает ему возможность наилучшим образом выполнять энергетические функции: переносить энергию от высокоэнергетических к низкоэнергетическим соединениям.

4.2 Электрохимический трансмембранный градиент ионов (ΔM_n^+) - вторая универсальная форма клеточной энергии

В течение длительного времени считали, что АТФ и другие высокоэнергетические соединения, находящиеся в равновесии с ним, представляют собой единственную форму энергии, которая может использоваться живыми клетками во всех энергозависимых процессах. Вопрос о характере связи между транспортом электронов, с одной стороны, и превращением фосфорных соединений, с другой, долгое время оставался неясным. Было установлено, что использование энергетических ресурсов (органических или неорганических соединений при дыхании, света - при фотосинтезе) связано с переносом электронов по цепи, состоящей из белковых и небелковых компонентов, способных к обратимому окислению и восстановлению.

В результате этого переноса освобождающаяся на отдельных участках дыхательной или фотосинтетической цепи энергия трансформируется в химическую энергию фосфатных связей АТФ. Молекулярный механизм фосфорилирования, сопряженный с электронным транспортом, был неизвестен.

Позднее были получены экспериментальные данные о существовании еще одной формы энергии, также используемой клеткой для совершения разного рода работы. Открытие этой формы энергии принадлежит английскому биохимику Питеру Митчеллу (P. Mitchell), разработавшему в 60-х гг. хемиосмотическую теорию энергетического сопряжения,

объясняющую превращение(трансформацию) энергии, освобождающейся при электронном транспорте, в энергию фосфатной связи АТФ.

Слайд №30 .Согласно теории П. Митчелла при переносе электронов по окислительно-восстановительной цепи, локализованной в мембранах определенного типа, называемых *энергопреобразующими*, или *сопрягающими*, происходит неравномерное распределение протонов (H^+) в пространстве по обе стороны мембраны (рисунок 1).

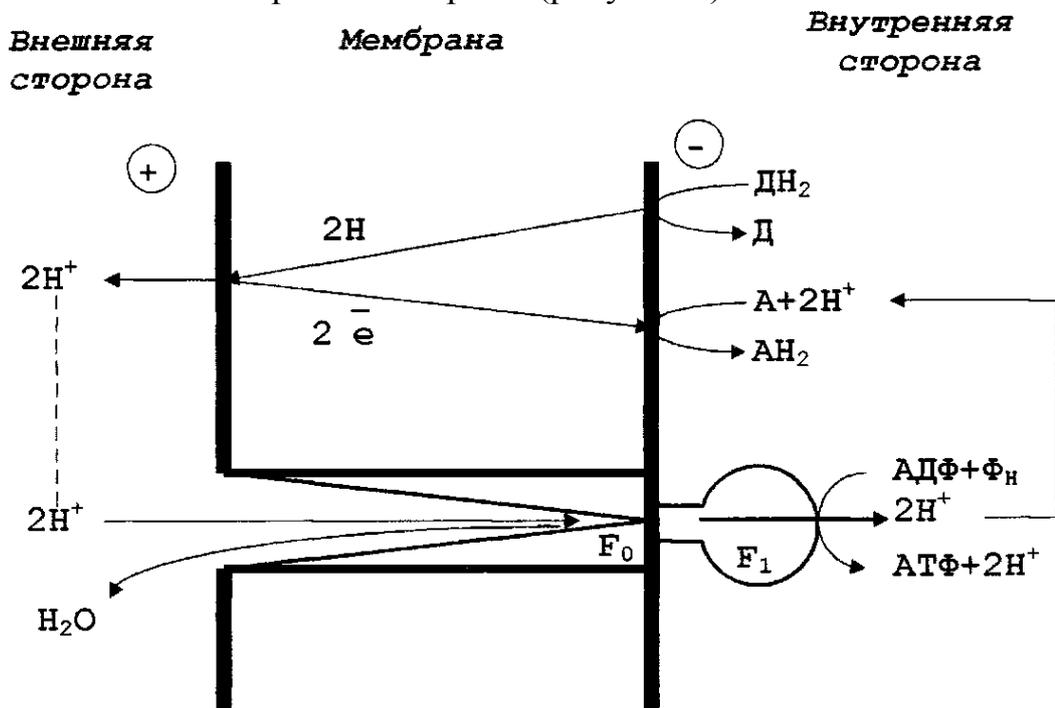


Рисунок 1. Схема переноса электронов и протонов по электронтранспортной цепи и протонной АТФ-синтазы

Д - донор электронов, А - акцептор электронов, F_0F_1 - компоненты H^+ -АТФ-синтазы

Предложенная им модель предусматривает определенное расположение переносчиков электронов в сопрягающей мембране. В сопрягающих мембранах два атома водорода движутся от внутренней стороны цитоплазматической мембраны к наружной с помощью переносчика водорода (например, хинона). Затем два электрона возвращаются к внутренней стороне мембраны с помощью соответствующего электронного переносчика (например, цитохрома), а два протона освобождаются во внешнюю среду.

Таким образом, в каждой окислительно-восстановительной цепи два атома водорода (H^+) переносятся из цитоплазмы клетки во внешнюю среду.

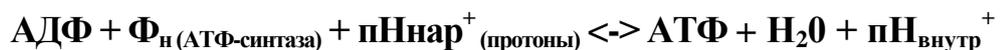
Расположение переносчиков электронов в цитоплазматической мембране прокариот таково, что при работе любой электронтранспортной цепи (фотосинтетической или дыхательной) во внешней среде происходит накопление ионов водорода (протонов), приводящее к подкислению среды, а в клеточной цитоплазме — их уменьшение, сопровождающееся ее подщелачиванием, т.е. на мембране возникает ориентированный поперек (трансмембранный) градиент ионов водорода.

Поскольку атомы водорода (H^+)— химические частицы, несущие положительный заряд, неравномерное их накопление по обе стороны мембраны приводит к возникновению не только химического (концентрационного) градиента этих частиц, но и ориентированного поперек мембраны электрического поля (суммарный положительный заряд, где происходит накопление атомов H^+ , и отрицательный заряд по другую сторону мембраны).

Таким образом, при переносе электронов на цитоплазматической мембране возникает трансмембранный электрохимический градиент ионов водорода, обозначаемый символом (ΔM_H^+), и измеряемый в вольтах (В, мВ), который состоит из электрического (трансмембранная разность электрических потенциалов Δ) и химического (концентрационного) компонентов (градиент концентраций $H^+ - \Delta pH$).

Итак, в соответствии с хемиосмотической теорией П. Митчелла, энергия, освобождаемая в результате работы электронтранспортной цепи, первоначально накапливается в форме трансмембранного градиента ионов водорода. Разрядка образующегося электрохимического градиента (ΔM_H^+) происходит с участием локализованного в той же мембране протонного АТФ-синтазного комплекса: атомы H^+ возвращаются по электрохимическому градиенту ионов водорода ΔM_H^+ через H^+ -АТФ-синтазу, при этом без возникновения каких-либо промежуточных высокоэнергетических соединений из АДФ и неорганического фосфата образуется АТФ.

Слайд №31 .Локализованная в мембране H^+ -АТФ-синтаза катализирует реакции синтеза и гидролиза АТФ в соответствии с уравнением:



Реакция, протекающая слева направо, сопряжена с транспортом атомов H^+ по электрохимическому градиенту ионов водорода (ΔM_H^+), что приводит к его разрядке и синтезу АТФ. Протекающая в противоположном направлении реакция гидролиза АТФ, сопровождающаяся переносом атомов водорода против градиента, приводит к образованию (или возрастанию) электрохимического градиента ΔM_H^+ на мембране. Таким образом, АТФ-

синтазный ферментный комплекс служит механизмом, обеспечивающим взаимное превращение двух форм клеточной энергии: электрохимический градиент \leftrightarrow АТФ ($\Delta M_H^+ \leftrightarrow$ АТФ), устройством, сопрягающим процессы окислительной природы с фосфорилированием.

Энергия в форме протонного градиента (ΔM_H^+) может использоваться в различных энергозависимых процессах, локализованных на мембране. Синтез АТФ за счет протонного градиента (ΔM_H^+) можно рассматривать как пример химической работы. С использованием энергии протонного градиента (ΔM_H^+) могут осуществляться и другие виды химической работы в клетке: синтез пиррофосфата, катализируемый связанным с мембраной ферментным комплексом; обратный перенос электронов, приводящий к восстановлению НАД(Ф)⁺ (никотинамидадинуклеотидафосфата).

Энергия в форме протонного градиента ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) используется для поглощения ДНК в процессе генетической трансформации и для переноса белков через мембрану. Движение многих прокариот обеспечивается энергией протонного градиента ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$). Важная роль принадлежит протонному градиенту ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) или одной из его составляющих в



осуществлении процессов активного транспорта молекул и ионов через ЦПМ прокариот.

Слайд №32 Все это позволяет рассматривать энергию в форме протонного градиента (наряду с АТФ) как широко используемую внутри клетки. Преобразование энергии в клетке прокариот схематически изображено на рисунке 3.

Как видно из этой схемы, АТФ и электрохимический градиент ионов водорода $\Delta\mu_{\text{H}^+}$ можно считать двумя взаимно превращаемыми "энергетическими валютами" клетки, каждая из которых способна служить источником энергии для выполнения химической, осмотической, механической работ.

5. Роль высокоэнергетических соединений в клеточном метаболизме

5.1 Специализированное применение двух универсальных форм энергии

АТФ участвует в реакциях, протекающих в цитоплазме, то есть в форме АТФ энергией обеспечиваются все процессы, протекающие в водной среде. К числу последних относится большинство биосинтетических реакций. Помимо этого АТФ служит источником энергии для протекания ряда мембранозависимых процессов.

Энергия протонного градиента связана исключительно с мембранами, которые являются необходимым компонентом для его образования. Поэтому энергией в форме протонного градиента ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) могут обеспечиваться только процессы, локализованные на мембране. Таким образом, у протонного градиента ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) более узкая область приложения. В то же время использование клеткой энергии в форме протонного градиента ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) имеет определенные преимущества: протонный градиент ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) в форме его электрической составляющей — более удобная форма энергии для внутри- и межклеточной транспортировки. Скорость переноса энергии посредством диффузии АТФ в цитоплазме значительно медленнее, чем скорость передачи протонного градиента ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) по мембранам.

Энергия в форме протонного градиента ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) не содержится в виде определенных порций, как это имеет место в молекуле АТФ. При гидролизе макроэргической фосфатной связи АТФ освобождается определенное количество энергии ($\Delta G_0 = -31,8$ кДж/моль). Если для сопряженного эндергонического процесса требуется меньшее количество энергии, оставшаяся часть рассеивается в виде тепла. При использовании энергии в форме трансмембранного потенциала потерь, обусловленных запасанием энергии в виде порций, не происходит. С этим связано и еще одно

преимущество при использовании клеткой энергии в форме протонного градиента (ΔM_H^+), а именно-не существует нижнего порога для его образования.

5.2 Роль других соединений с богатыми энергией связями

Из выше изложенного понятна первостепенная роль АТФ в «улавливании» части свободной энергии, которая становится доступной при

ТАБЛИЦА - БОГАТЫЕ ЭНЕРГИЕЙ СОЕДИНЕНИЯ (ПОМИМО АТФ), АКТИВИРУЮЩИЕ МЕТАБОЛИЧЕСКИЕ ИНТЕРМЕДИАТЫ И ОБЕСПЕЧИВАЮЩИЕ ТАКИМ ОБРАЗОМ ПРОТЕКАНИЕ НЕКОТОРЫХ РЕАКЦИЙ БИОСИНТЕЗА

Богатые энергией соединения	Обеспечивает активацию предшественника для биосинтеза следующих молекул
Гуанозин —Ф~Ф~Ф (ГТФ)	Белки
Уридин —Ф~Ф~Ф (УТФ)	Пептидогликаны клеточной стенки бактерий
Цитидин —Ф~Ф~Ф (ЦТФ)	Фосфолипиды
Дезокситимидин —Ф~Ф~Ф (дТТФ)	Липополисахариды клеточной стенки бактерий
Ацил~S~КоА(ацилкофермент А)	Жирные кислоты

катаболических реакциях, и роль АТФ в поддержании биосинтетических реакций путем фосфорилирования и, следовательно, активации некоторых промежуточных метаболитов биосинтеза. Часть этих промежуточных метаболитов биосинтеза также содержит богатые энергией связи. АТФ непосредственно участвует в большинстве таких реакций активации, вместе с тем на определенных этапах метаболизма в них участвуют и другие химически активные специфические метаболиты, содержащие богатые энергией связи. Все богатые энергией соединения могут образоваться за счет затраты одной или двух богатых энергией связей АТФ, но иногда они образуются непосредственно в катаболических реакциях.

Слайд №33 Эти соединения перечислены, в таблице 3 вместе с примерами реакции активации, в которых они участвуют.

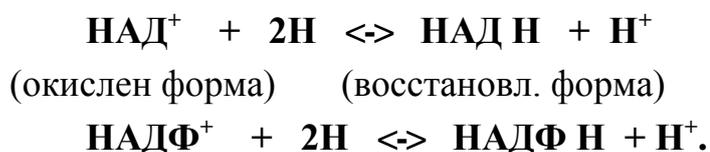
5.3 Роль пиридиновых нуклеотидов в метаболизме

Как и все остальные реакции окисления, биологическое окисление органических метаболитов представляет собой удаление электронов. В большинстве случаев на каждой стадии окисления метаболита происходит удаление двух электронов и одновременно потеря двух протонов. Этот процесс эквивалентен отнятию двух атомов водорода и называется *дегидрированием*. Наоборот, *восстановление* какого-либо метаболита представляет собой присоединение двух электронов и двух протонов и, следовательно, его можно рассматривать как *гидрирование*.

Посредниками в реакциях биологического окисления и восстановления чаще всего являются два пиридиновых нуклеотида: никотинамидадениндинуклеотид (НАД) и никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФ).

Оба эти пиридиновых нуклеотида легко могут претерпевать обратимое окисление и восстановление никотинамидной группы. Окисленная форма пиридиновых нуклеотидов содержит на один атом водорода меньше, чем восстановленная форма; кроме того, она имеет положительный заряд, позволяющий ей акцептировать при восстановлении второй электрон. Обратимые реакции окисления — восстановления НАД и НАДФ можно записать следующим образом:

Слайд №34



Функция пиридиновых нуклеотидов в метаболизме состоит в переносе восстановительного потенциала или в его образовании.

Каждая форма клеточной энергии может быть использована для осуществления химической, механической и осмотической работы, между ними существует определенное "*разделение труда*". Например, большинство биосинтезов обеспечивается энергией АТФ, активный транспорт — энергией протонного градиента ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$). Из этого следует, что клетке необходимо всегда иметь определенное количество энергии в той и другой легко мобилизуемой форме. Это может быть одной из причин существования в клетке двух взаимосвязанных энергетических пулов (резервуаров), между которыми при

необходимости легко может осуществляться перекачка энергии (см. рисунок 3).

Емкость обоих энергетических пулов невелика. Например, величина протонного градиента ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) поддерживается на уровне 200-250мВ. Внутриклеточная концентрация АТФ составляет около 2мМ. Это также указывает на каталитическую роль АТФ в клетке. Подсчитано, что для удвоения клеточной массы молекула АТФ должна около 10000 раз участвовать в реакциях гидролиза и синтеза.

5.3 Энергетические затраты микробной клетки

В растущей бактериальной культуре потребление энергии в первую очередь связано с процессами биосинтеза веществ, из которых состоит клетка. Количество энергии, необходимое для биосинтетических целей, в большой степени зависит *от* состава среды культивирования. Теоретически рассчитано, что при выращивании культуры бактерий гетеротрофов в среде с минеральными солями и глюкозой в качестве единственного источника углерода 1 моль АТФ затрачивается для синтеза 27г вещества клеток. Если же единственным источником углерода служит двуокись углерода (хемотробы), тогда использование того же количества АТФ приведет к синтезу только 5г вещества клеток.

Кроме энергетических затрат на биосинтетические процессы, связанных с ростом, определенная часть клеточной энергии всегда тратится на процессы, не связанные непосредственно с ростом. Последние получили название *процессов поддержания жизнедеятельности*. К специфическим функциям поддержания жизнедеятельности относятся: обновление клеточного материала, осмотическая работа, обеспечивающая поддержание концентрационных градиентов между клеткой и внешней средой, подвижность клетки и др. Энергию, расходуемую на осуществление перечисленных функций, обозначают как *энергию поддержания жизнедеятельности*.

5.4 Консервирование энергии в микробной клетке

Возможны такие условия, когда клетка запасает энергии больше, чем тратит. В этом случае она сталкивается с проблемой *консервирования энергии*. В молекулах АТФ энергия не хранится в течение длительного времени. Средняя продолжительность "жизни" молекул АТФ составляет около 1/3с. Энергия в форме протонного градиента ($\Delta\mu_{\text{H}^+}$) также не может накапливаться. Движение H^+ против градиента возможно только до

достижения определенного уровня, после которого возникшая разность концентраций и электрических зарядов будет тормозить поступление ионов водорода против градиента. Таким образом, в молекулах АТФ и в виде протонного градиента (ΔM_H^+) энергия находится в мобильной форме, призванной обеспечивать все идущие в настоящий момент энергозависимые процессы.

Проблема консервирования энергии решена прокариотами путем синтеза восстановленных высокополимерных молекул. Эти запасные энергетические вещества представлены полисахаридами, липидами, полипептидами, полифосфатами, отложениями серы (таблица 4).

Из полисахаридов в клетках откладываются гликоген, крахмал и крахмалоподобное вещество — гранулеза. Последняя -специфический запасной полисахарид анаэробных споровых бактерий группы клостридий. Названные полисахариды построены из остатков глюкозы. В неблагоприятных условиях они используются в качестве источника углерода и энергии.

ТАБЛИЦА - ЗАПАСНЫЕ ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЕ ВЕЩЕСТВА ПРОКАРИОТ

Запасное вещество	Структурные характеристики	Химический состав	Функции	Распространение
Гранулы гликогена (α -гранулы)	сферической формы, диаметр 20–100 нм	высокомолекулярные полимеры глюкозы	источник углерода и энергии	широко распространенный тип запасных веществ
Гранулы поли- β -оксимасляной кислоты	диаметр 100–1000 нм; окружены однослойной белковой мембраной 2–3 нм толщиной	98% полимера поли- β -оксимасляной кислоты, 2% белка	источник углерода и энергии	широко распространены только у прокариот
Гранулы полифосфата	диаметр приблизительно 500 нм, зависит от объекта и условий выращивания	линейные полимеры ортофосфата	источник фосфора и, возможно, энергии	распространенный тип запасных гранул
Гранулы серы	диаметр 100–800 нм; окружены однослойной белковой мембраной толщиной 2–3 нм	включения жидкой серы	донор электронов или источник энергии	пурпурные серобактерии, бесцветные бактерии, окисляющие H_2S
Углеводородные гранулы	диаметр 200–300 нм; окружены белковой оболочкой 2–4 нм толщиной	углеводороды того же типа, что и в среде	источник углерода и энергии	представители родов <i>Arthrobacter</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Mycobacterium</i> , <i>Nocardia</i> и другие прокариоты, использующие углеводороды

Липиды накапливаются в виде гранул, резко преломляющих свет и поэтому хорошо различимых в световой микроскоп. Запасным веществом такого рода является полимер β -оксимасляной кислоты, накапливающийся в клетках многих прокариот.

Другой широко распространенный тип запасных веществ многих прокариот — полифосфаты, содержащиеся в гранулах, называемых волютиновыми, или метахроматиновыми, зёрнами. Используются клетками как источник фосфора. Полифосфаты содержат макроэргические связи и, таким образом, являются депо энергии, хотя считается, что их роль как источника энергии незначительна.

Для прокариот, метаболизм которых связан с соединениями серы, характерно отложение в клетках молекулярной серы. Сера накапливается, когда в среде содержится сероводород, и окисляется до сульфата, когда весь сероводород среды оказывается исчерпанным. Для аэробных тионовых бактерий, окисляющих сероводород (H_2S), сера служит источником энергии, а для анаэробных фотосинтезирующих серобактерий она является донором электронов.

Молекулы запасных энергетических веществ представлены в виде высокомолекулярных полимерных молекул, плотно упакованы в гранулах и часто окружены белковой оболочкой. В таком виде они находятся в осмотически неактивном состоянии, что очень важно для клетки, так как в противном случае сосредоточение в цитоплазме большого числа молекул осмотически активных веществ оказало бы на клетку отрицательное действие.

Лекция №1.3

**Тема: «Дыхание, брожение и фотосинтез микроорганизмов.
Методы исследования обмена веществ у микроорганизмов»**

Вопросы:

1. Определение и природа дыхания, его типы

1.1 Определение дыхания микробов

1.2 Типы дыхания микроорганизмов

1.2.1 Аэробное дыхание микроорганизмов.

1.2.2 Анаэробное дыхание микроорганизмов

2. Механизм дыхательного процесса. Внутриклеточная локализация, строение и физиологическая функция электронтранспортных цепей.

2.1 Локализация и состав компонентов электронтранспортной (дыхательной) цепи

2.2 Строение и физиологические функции компонентов электронтранспортной цепи

2.3 Окислительно-восстановительные потенциалы

3. Определение и природа брожения

4. Сбраживаемые и несбраживаемые соединения, их роль в природном балансе.

5. Типы брожения у микроорганизмов

5.1 Гомоферментативное молочнокислородное брожение.

5.2 Нетипичное (гетероферментативное) молочнокислородное брожение.

5.3 Спиртовое брожение.

6. Спектральный состав солнечного света.

7. Фотосинтез и фотосинтезирующие микроорганизмы.

8. Особенности конструктивного метаболизма у фотосинтезирующих бактерий (биосинтетические процессы).

1. Определение и природа дыхания, его типы

1.1 Определение дыхания микробов

Термин "дыхание" впервые был введен для обозначения определенного процесса, связанного с жизнедеятельностью высших организмов (растений и животных). Два основных признака характеризуют этот процесс:

1) газообмен с внешней средой с обязательным участием кислорода;

2) дыхание является необходимым условием поддержания жизнедеятельности микроорганизма.

Слайд №3 .В свою очередь дыхание подразделяется на:

- 1) не связанное с запасанием энергии для клетки-свободное окисление;
- 2) окисление, сопряженное с запасанием энергии.

Свободное окисление — это реакции, в результате которых энергия выделяется в виде тепла. Реакции свободного окисления имеют важное значение для терморегуляции как у животных, так и у микроорганизмов

Слайд №4 .Окисление, сопряжённое с запасанием энергии.

В то время как большинство анаэробных микроорганизмов способно синтезировать АТФ только путём фосфорилирования на уровне субстрата, аэробы могут осуществлять более эффективную регенерацию АТФ. Они обладают особым аппаратом: дыхательной (электрон-транспортной) цепью и ферментом АТФ-синтазой; обе системы у прокариот находятся в плазматической мембране, а у эукариот- во внутренней мембране

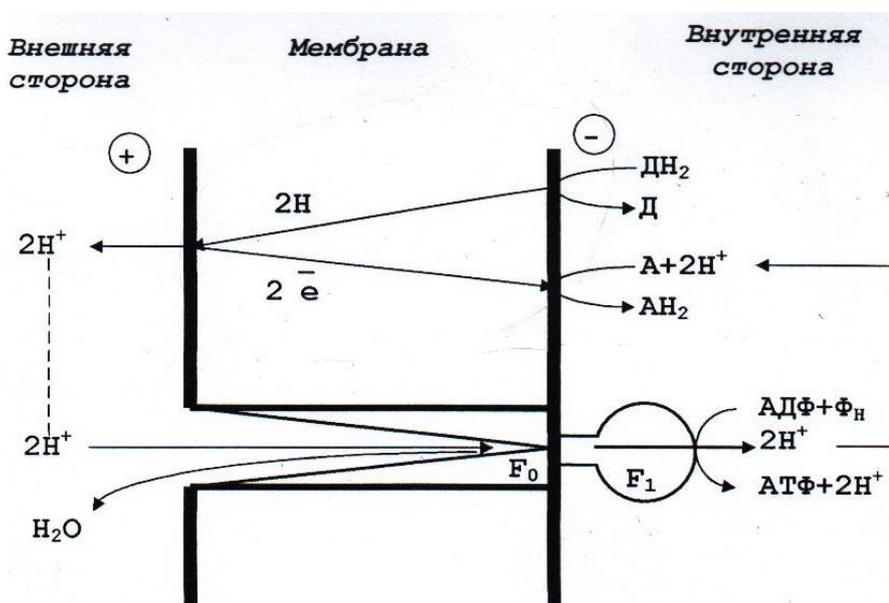


Рисунок 1. Схема переноса электронов и протонов по электронтранспортной цепи и протонной АТФ-синтазы

Д – донор электронов, А – акцептор электронов, F₀F₁ – компоненты H⁺-АТФ-синтазы

митохондрий. Восстановительные эквиваленты (атомы водорода или электроны), полученные клеткой из субстратов поступают в дыхательную цепь, расположенную в мембране, и электроны переносятся на кислород (O₂) (или другие терминальные акцепторы электронов). В дыхательной цепи происходят реакции, представляющие собой биохимический аналог сгорания водорода. От химического горения молекулярного водорода они

отличаются тем, что значительная часть свободной энергии переводится при этом в биологически доступную форму, т. е. в АТФ, и лишь небольшая доля рассеивается в виде тепла.

В настоящее время окисление определяют как процесс отнятия водорода (дегидрирование), а восстановление — его присоединение. Эти термины применяют к реакциям, связанным с переносом протонов и электронов или только электронов. При окислении вещества происходит потеря электронов, а при восстановлении — их присоединение. Перенос водорода и перенос электронов при дыхании — это эквивалентные процессы.

Таким образом, биологические преобразования в цитоплазме микробной клетки связаны с движением протонов и электронов, но это не простое электрическое движение, а сложный биохимический процесс, который осуществляется при помощи ферментов. Последние катализируют реакции, ускоряют разрыв ковалентных связей и тем самым снижают затраты энергии на активацию.

Энергия, освобождаемая в процессе окислительно-восстановительных реакций, накапливается в макроэргических соединениях АДФ и АТФ (аденозиндифосфат и аденозинтрифосфат). В процессе биологического окисления (дыхания) происходит освобождение энергии, которая вначале накапливается в трансмембранной разности электрических потенциалов (так как электрон проходит через мембрану) и трансмембранной разности концентрации ионов водорода. Образованная таким путём энергия электрохимического потенциала ионов водорода расходуется затем на синтез АТФ.

Слайд №5. Таким образом, дыхание бактерий представляет собой метаболический процесс ферментативного биологического окисления различных органических соединений и некоторых минеральных веществ, идущий как без, так и с образованием АТФ, в ходе которого органические или неорганические соединения служат донорами электронов (они при этом окисляются), а акцепторами электронов обязательно служат неорганические соединения (они при этом восстанавливаются).

1.2 Типы дыхания микроорганизмов

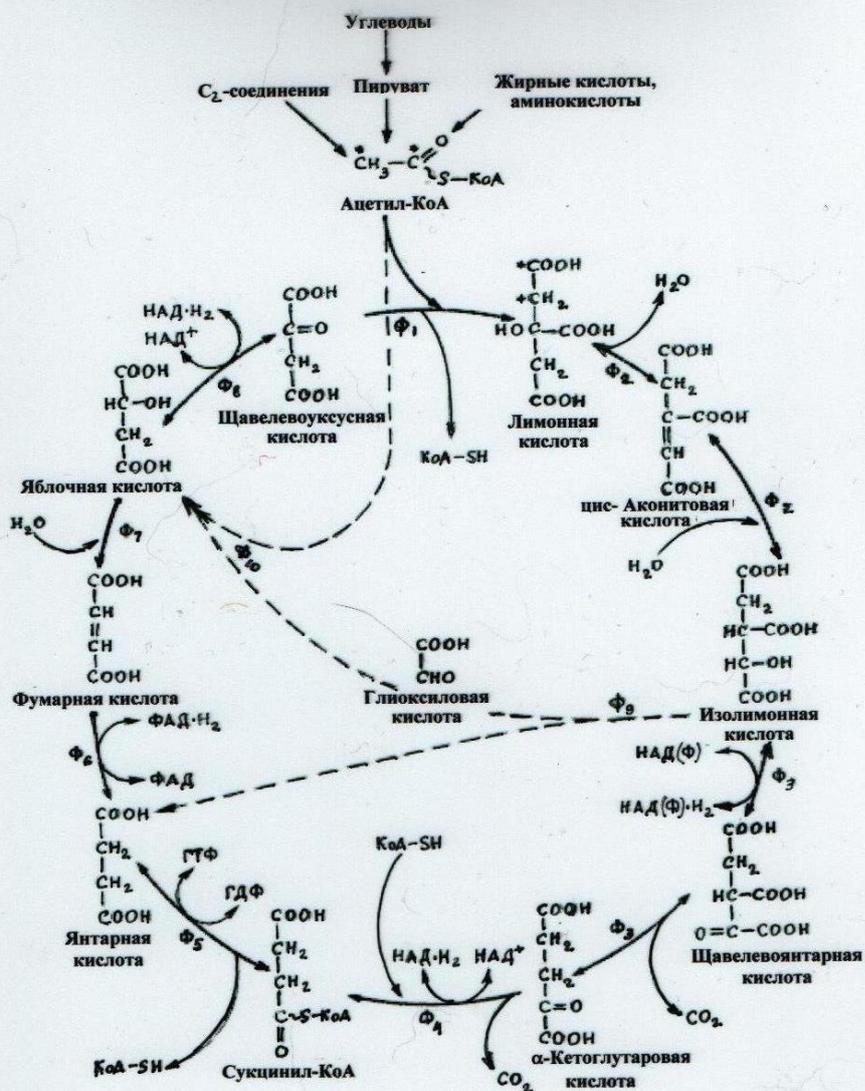
Слайд №6. По типу дыхания микробы делятся на аэробов, анаэробов и факультативных анаэробов.

1.2.1 *Аэробное дыхание микроорганизмов.* Это процесс, при котором последним акцептором водорода (протонов и электронов) является молекулярный кислород. В результате окисления главным образом сложных органических соединений образуется энергия, которая выделяется в среду или накапливается в макроэргических фосфатных связях АТФ. Различают полное и неполное окисление.

Полное окисление. Основным источником энергии у микроорганизмов — углеводы. При их расщеплении, которое происходит разными путями, получается важный промежуточный продукт — пировиноградная кислота (пируват). Полное окисление пировиноградной кислоты происходит в цикле трикарбоновых кислот (цикл Кребса) и дыхательной цепи. В результате функционирования цикла трикарбоновых кислот или окислительного пентозофосфатного цикла достигается полное отщепление водорода от органического субстрата (рисунки 2 и 3).

Слайд №№7 и 8.





Цикл трикарбонных кислот и глиоксилатный шунт: Φ_1 — цитратсинтаза (конденсирующий фермент); Φ_2 — аконитаза; Φ_3 — изоцитратдегидрогеназа; Φ_4 — α -кетоглутаратдегидрогеназа; Φ_5 — сукцинилтиокиназа; Φ_6 — сукцинатдегидрогеназа; Φ_7 — фумараза; Φ_8 — малатдегидрогеназа; Φ_9 — изоцитратлиаза; Φ_{10} — малатсинтетаза.

Включение углеродных атомов ацетильного остатка в молекулу лимонной кислоты помечено звездочками. Пунктирными линиями изображены реакции глиоксилатного шунта

Цикл Кребса и окислительный пентозофосфатный цикл можно рассматривать как механизмы снабжения клетки исходными субстратами, для биосинтетических процессов, а также как совершенный клеточный "котел", в котором осуществляется полное окисление органического субстрата и отщепление от него водорода. Обычно цикл Кребса является "надстройкой" над анаэробными энергетическими механизмами клетки. Исходным субстратом для цикла Кребса служит ацетил-КоА ("активированная уксусная кислота"), образующийся у аэробов из пирувата в реакции, осуществляемой пируватдегидрогеназным комплексом.

Слайд №9. В результате расщепления глюкозы в аэробных условиях процесс окисления идет до конца — до образования диоксида углерода и воды с выделением большого количества свободной энергии:



Выделенная свободная энергия соответствует запасу потенциальной энергии гексозы, которое было аккумулировано в молекуле сахара при фотосинтезе его из диоксида углерода и воды в зеленых растениях. Передача электронов водорода на кислород осуществляется через дыхательную цепь, или цепь переноса электронов.

Слайд №10. Дыхательная цепь — это система дыхательных ферментов, которые находятся в мембранах. Мембраны, как известно, контактируют с цитоплазмой клетки, в результате чего происходит их взаимодействие.

Неполное окисление. Не все аэробы доводят реакции окисления до конца. При избытке углеводов в питательной среде образуются продукты неполного окисления, в которых ещё остаётся энергия. Конечными продуктами неполного аэробного окисления сахара могут быть органические кислоты: лимонная, яблочная, щавелевая, янтарная и другие.

Слайд №11. Так, например, осуществляется аэробное дыхание уксуснокислыми бактериями, в которых при окислении этилового спирта образуется не диоксид углерода и вода, а уксусная кислота и вода.



Окисление этилового спирта уксуснокислыми бактериями может идти и дальше — до появления диоксида углерода и воды, при этом освобождается большое количество энергии:



В процессе этих превращений весь водород оказывается на определенных переносчиках и последующая задача транспортных систем мембраны клетки — передать его через другие переносчики на молекулярный кислород.

1.2.2 Анаэробное дыхание микроорганизмов.

Слайд №12 Фосфорилирование, сопряженное с транспортом

Таблица 1. Типы анаэробного дыхания у эубактерий*

Энергетический процесс	Конечный акцептор электронов	Продукты восстановления
Нитратное дыхание и денитрификация	NO_3^- , NO_2^-	NO_2^- , NO , N_2O , N_2
Сульфатное и серное дыхание	SO_4^{2-} , S^0	H_2S
Карбонатное дыхание	CO_2	ацетат
Фумаратное дыхание	фумарат	сукцинат

* Описаны анаэробные бактерии, способные окислять органические соединения, используя в качестве конечного акцептора электронов Fe^{3+} или Mn^{4+} .

электронов, долгое время считалось характерной принадлежностью аэробного дыхания. В настоящее время, говоря о преобразовании энергии при окислительном фосфорилировании в анаэробных условиях (без участия молекулярного кислорода), пользуются термином «анаэробное дыхание». Вместо кислорода некоторые бактерии могут в качестве конечного акцептора электронов использовать ряд окисленных органических или неорганических соединений (таблица 1).

Таблица 1. Типы анаэробного дыхания у эубактерий*

Энергетический процесс	Конечный акцептор электронов	Продукты восстановления
Нитратное дыхание и денитрификация	NO_3^- , NO_2^-	NO_2^- , NO , N_2O , N_2
Сульфатное и серное дыхание	SO_4^{2-} , S^0	H_2S
Карбонатное дыхание	CO_2	ацетат
Фумаратное дыхание	фумарат	сукцинат

* Описаны анаэробные бактерии, способные окислять органические соединения, используя в качестве конечного акцептора электронов Fe^{3+} или Mn^{4+} .

Слайд №13. Количество освобождаемой энергии и состав переносчиков определяются окислительно-восстановительными потенциалами акцепторов электронов. Анаэробные дыхательные цепи содержат те же типы переносчиков, что и аэробные, но цитохромоксидазы заменены соответствующими редуктазами.

Другие, кроме кислорода, акцепторы электронов могут использоваться в этом качестве только в отсутствие молекулярного кислорода в среде или если последний вообще не может служить акцептором электронов. В зависимости от этого бактерии, осуществляющие анаэробное дыхание, относятся к факультативным или облигатным (строгим) анаэробам. Донорами электронов у них могут служить органические или неорганические соединения.

Бактерии, у которых источником энергии служат процессы окисления неорганических соединений, были обнаружены в конце XIX в. и их открытие связано с именем С.Н. Виноградского. В качестве источников энергии хемолитотрофы могут использовать довольно широкий круг неорганических соединений, окисляя их при дыхании (таблица 2).

Примером окисления неорганических соединений могут служить процессы нитрификации, при которых нитрифицирующие бактерии вначале окисляют аммиак до азотистой, а затем до азотной кислоты. В каждом случае при этом выделяется энергия: в первой фазе 662 кДж/моль, во второй — 202 кДж/моль.

Многие бактерии в анаэробных условиях используют окислительное (электрон-транспортное) фосфорилирование. При этом происходит перенос электронов, получаемых при расщеплении субстрата, по (укороченной) электрон-транспортной цепи на экзогенные (добавленные в питательную среду) или эндогенные (образующиеся при разложении субстрата) акцепторы. Акцепторами электронов могут быть ионы нитрата, сульфата, карбоната и фумарата, а также сера. Соответствующие виды бактерий объединяют в физиологические группы нитратвосстанавливающих, денитрифицирующих, сульфатредуцирующих, метаногенных и ацетогенных бактерий, а также бактерий, восстанавливающих серу. Существуют анаэробные бактерии, способные окислять органические соединения, используя в качестве конечного акцептора электронов Fe^{3+} или Mn^{4+} . Все эти бактерии играют важную роль в природном балансе.

Слайд №14. Различают собственно анаэробное дыхание (нитратное, сульфатное и др.) и брожение. При анаэробном дыхании акцептором водорода являются окисленные неорганические соединения, которые легко отдают кислород и превращаются в более восстановленные формы. Так проходят, например, денитрификация и десульфификация (сульфатредукция).

Нитратное дыхание — восстановление нитратов до молекулярного азота — проходит по схеме:



$$(\Delta G = -1760 \text{ кДж/моль})$$

Сульфатное дыхание — восстановление сульфатов до сероводорода, сопровождающееся выделением такого же количества энергии:



$$(\Delta G = -1760 \text{ кДж/моль})$$

Процесс восстановления нитратов до молекулярного азота индуцируется молибденсодержащим ферментом нитратредуктазой. Если в среде содержится кислород, функция нитратредуктазы подавляется. Поэтому восстановление нитратов происходит только в анаэробных условиях.

2 Механизм дыхательного процесса. Внутриклеточная локализация, строение и физиологическая функция электронтранспортных цепей

Слайд №15. Понимание механизма дыхания складывается из трёх составляющих:

- 1) клеточная локализация и компонентный состав переносчиков электронов и протонов в дыхательной цепи;
- 2) взаиморасположение и функции компонентов в мембране;
- 3) значения окислительно-восстановительных потенциалов компонентов дыхательной цепи.

Рассмотрим последовательно все эти три составляющие на примере различных по составу и строению дыхательных цепей про- и эукариотических организмов.

2.1 Локализация и состав компонентов электрон-транспортной (дыхательной) цепи

Компонентами дыхательной цепи являются ферментные белки с относительно прочно связанными низкомолекулярными простетическими группами. Ферменты дыхательной цепи структурно связаны (рисунок 4).

Слайд №16. У эукариот они локализуются во внутренней мембране

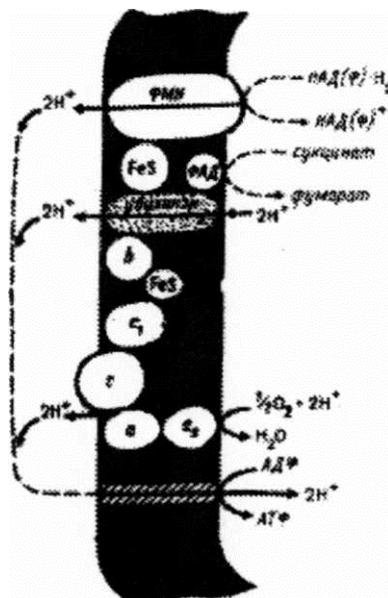


Рис. 4. Топография компонентов дыхательной цепи митохондрий: ФМН — простетическая группа НАД (Ф) -H₂- дегидрогеназы; ФАД — простетическая группа сукцинатдегидрогеназы; FeS — железосеросодержащий белок; b, c₁, c, a, a₃ — цитохромы.

митохондрий, а у прокариот - в плазматической мембране. Механизм действия и локализация компонентов дыхательной цепи в мембранах эукариот и прокариот во многом сходны.

Компоненты дыхательной цепи погружены в двойной липидный слой. Это большое число ферментов, коферментов и простетических групп, различных дегидрогеназ и транспортных систем, участвующих в переносе электронов и водорода.

2.2 Строение и физиологические функции компонентов электронтранспортной цепи

Слайд №17. Важнейшие из компонентов, участвующих в окислении водорода, - это флавопротеины, железосерные белки, хиноны и цитохромы.

Флавопротеины представляют собой ферменты, содержащие в качестве простетических групп флавиномононуклеотид (ФМН) или флавинадениндинуклеотид (ФАД). Эти ферменты переносят водород. Активной (простетической) группой в них является изоаллоксазиновая система, которая действует как обратимая окислительно-восстановительная система. Реагирующими центрами служат два атома азота, каждый из которых может связаться с одним атомом водорода[H].

Железосерные белки- это окислительно-восстановительные системы, переносящие электроны. Они содержат атомы железа, связанные, с одной стороны, с серой аминокислоты цистеина, а с другой - с неорганической сульфидной серой. Последняя очень легко отщепляется в виде сероводорода при подкислении. Из общего количества находящегося в плазматической мембране железа 80% содержится в железосерных белках и только 20%-в цитохромах. Некоторые железосерные белки получили название по своему происхождению или по функции: ферредоксин, путидаредоксин, рубредоксин, адренодоксин.

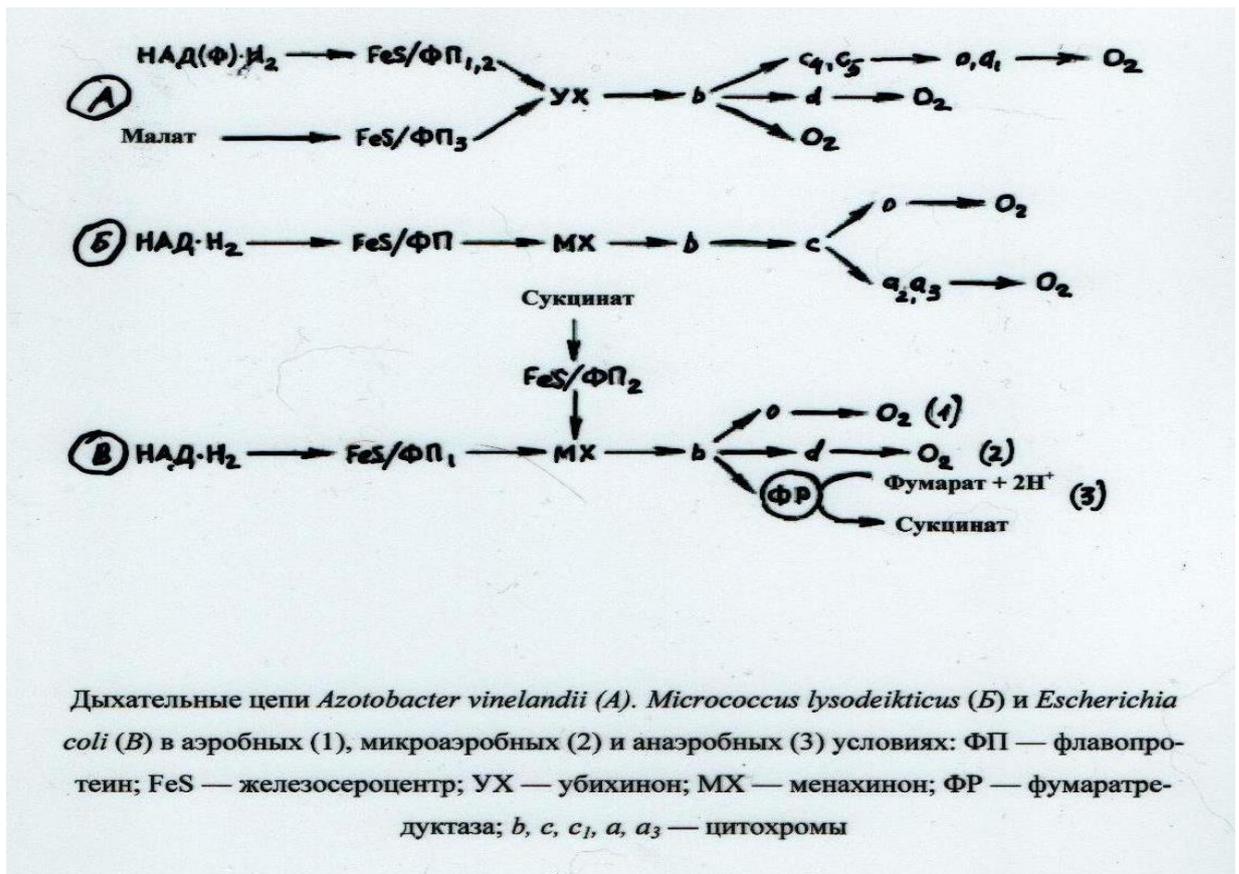
Хиноны составляют еще одну группу окислительно-восстановительных систем в дыхательной цепи. Во внутренней мембране митохондрий и у грамотрицательных бактерий имеется убихинон (кофермент Q), у грамположительных бактерий- нафтохиноны, а в хлоропластах- пластохиноны. Хиноны, в частности убихинон, липофильны и поэтому локализуются в липидной фазе, мембраны.

Цитохромы - окислительно-восстановительные системы, переносящие только электроны; водород они не транспортируют. К цитохромам электроны поступают от пула хинонов. При переносе электронов эквивалентное им число протонов переходит в раствор. В качестве простетической группы

цитохромы содержат гем. Центральный атом железа геминового кольца участвует в переносе электронов, изменяя свою валентность. Цитохромы окрашены; они отличаются друг от друга спектрами поглощения и окислительно-восстановительными потенциалами. Различают цитохромы a , a_3 , b , c , o и ряд других.

Слайд №18. Дыхательные цепи некоторых хемогетеротрофных эубактерий приведены на рисунке 6.

Электроны с восстановленных переносчиков (НАД-Н₂, НАДФ-Н₂, ФАД-Н₂), образующихся при функционировании цикла Кребса или окислительного пентозофосфатного цикла, поступают в дыхательную цепь, где проходят через ряд этапов, опускаясь постепенно на все более низкие энергетические уровни, и акцептируются соединением, служащим конечным акцептором электронов. Перенос электронов приводит к значительному изменению свободной энергии в системе. В наиболее совершенном виде и единообразии дыхательная цепь существует у эукариот, где она локализована во внутренней мембране митохондрий. У эубактерий дыхательные цепи



характеризуются разнообразием своей организации при сохранении принципиального сходства в строении и функционировании.

Полностью сформированной системой дыхательного электронного транспорта обладают фотосинтезирующие бактерии: цианобактерии, многие

пурпурные бактерии (в наибольшей степени дыхание развито у несерных пурпурных бактерий). Все облигатно и факультативно аэробные хемотробы имеют дыхательные цепи. У разных групп бактерий они значительно различаются по составу, что выражается в следующем: замене одних переносчиков другими со сходными свойствами (убихинон — менахинон, цитохромы aa_3 — o и т. д.); добавлении или удалении какого-либо переносчика (например, цитохрома c); разветвлению на уровне первичных дегидрогеназ.

2.3 Окислительно-восстановительные потенциалы

Окислительно-восстановительный потенциал служит количественной мерой способности тех или иных соединений или элементов отдавать электроны. Этот потенциал отсчитывается относительно потенциала молекулярного водорода.

По разности потенциалов можно вычислить соответствующий выход энергии для любых двух переносчиков электронов в дыхательной цепи (таблица 3).

Слайд №19. Таблица3-Окислительно-восстановительные потенциалы компонентов дыхательной цепи. Разности потенциалов между отдельными

Компоненты дыхательной цепи	$E_0', \text{ В}$	Разность величин $E_0', \text{ В}$	$- G_0' \text{ кДЖ/моль}$
Водород	-0,42		
		0,10	19,3
NAD	-0,32		
		0,24	46,4
Флавопротеин	-0,08		
		0,04	7,7
Цитохром b	-0,04		
		0,31	59,8
Цитохром c	+0,27		
		0,02	3,8
Цитохром a	+0,29		
		0,52	100,4
Кислород	+0,81		

компонентами и эквивалентные изменения свободной энергии.

Подобно химическим элементам, органические вещества также можно расположить в ряд по величине их окислительно-восстановительного

потенциала при степени восстановления $1/2$ (равные концентрации окисленной и восстановленной форм); эту величину обозначают E_0 (окислительно-восстановительный потенциал). В биохимии пользуются величиной E_0' , приведенной к рН 7. При этой рН водородный электрод имеет потенциал E_0' , равный $-0,42\text{В}$. Значение E' тем более отрицательно, чем меньше отношение концентрации окисленной формы к концентрации восстановленной формы.

Окислительно-восстановительный потенциал служит мерой максимальной полезной работы, которую может выполнить система, т.е. мерой изменения свободной энергии (ΔG_0) в данной реакции.)

Транспорт водорода и транспорт электронов - процессы эквивалентные. Дыхательная цепь может рассматриваться как цепь переноса электронов. Компоненты дыхательной цепи переходят попеременно из окисленного состояния в восстановленное и обратно, т.е. ведут себя как типичные окислительно-восстановительные катализаторы. Они обладают окислительно-восстановительным потенциалом, который может быть измерен непосредственно (у цитохромов) или косвенно (у NAD, FAD).

3. Определение и природа брожения

Брожение относится к внутриклеточным механизмам, с помощью которых молекулы клеточного "топлива" разрушаются, а заключенная в них энергия превращается в энергию фосфатных связей АТФ. Посредством брожения многие организмы получают химическую энергию из глюкозы и других субстратов в отсутствие молекулярного кислорода: «Брожение-это жизнь без воздуха» (Л. Пастер).

Микроорганизмы, которые могут существовать в анаэробных условиях, делятся на два класса. Более примитивными являются облигатные (строгие) анаэробы; к ним принадлежит сравнительно небольшое число видов бактерий (кlostридии, денитрифицирующие и метанобразующие), обитающих в условиях пониженного содержания кислорода или полного его отсутствия (например, глубоко в почве, в нижних слоях водоемов или в морском иле). Число факультативных анаэробов гораздо больше. Если такие организмы находятся в анаэробных условиях, то они получают энергию,

сбраживая глюкозу точно так же (или подобно тому), как это делают облигатные анаэробы. Если же факультативные анаэробы попадают в аэробные условия, то обычно они продолжают расщеплять своё "топливо" анаэробным способом, после чего, продукты анаэробного расщепления окисляются молекулярным кислородом. Таким образом, анаэробное расщепление глюкозы у факультативных анаэробов превратилось в обязательную первую стадию, за которой следует аэробная фаза - дыхание.

Все гетеротрофные организмы, в конечном итоге, получают энергию в результате окислительно-восстановительных реакций, в которых электроны переносятся от доноров электронов, т.е. восстановителей, к акцепторам электронов, т.е. окислителям. При брожении роль конечного окислителя, или акцептора электронов, играет обычно какое-либо органическое вещество, которое образуется в ходе самого брожения.

Слайд №20. Брожение - это процессы, посредством которых организмы получают химическую энергию из глюкозы и других субстратов в отсутствие молекулярного кислорода, а конечным акцептором электронов является какая-либо органическая молекула. В то же время, брожение это анаэробный окислительно-восстановительный процесс, осуществляемый как живыми клетками микроорганизмов, так и выделяемыми ими ферментами.

В 1857г. биологическую природу брожения, вызываемого живыми клетками микроорганизмов, доказал Луи Пастер. Он окончательно решил вопрос о причинах брожения и установил, что дрожжи в аэробных условиях образуют из определенного количества сахара примерно в 20 раз больше клеточного вещества, чем в анаэробных. Он открыл также, что кислород подавляет брожение. Этот эффект, получивший название «эффекта Пастера», приобрел с тех пор известность как один из классических примеров регуляции обмена веществ.

Слайд №21. В 1897 г. братья Г. и Э. Бухнеры установили, что брожение может происходить и в среде, не содержащей живые микроорганизмы,— в соке разрушенных дрожжевых клеток — биохимическим путем. За свое открытие в 1907 г. они были удостоены Нобелевской премии по химии. В 1906 году Гарден и Йонг, также работавшие с дрожжевым соком, установили, что для сбраживания глюкозы нужен неорганический фосфат, который включается во фруктозу-1,6-бифосфат. Сбраживание глюкозы дрожжевым соком происходит согласно уравнению Гардена-Йонга:



Прошло более столетия, и только в наши дни в Британском музее была обнаружена опубликованная в 1872г. работа русского врача Марии

Манассеиной, в которой она на четверть века раньше немецкого химика Э.Бухнера описала химическую природу брожения («Биохимия», 1994, № 1; «Наука и жизнь», 1994, №6; «Химия и жизнь», 1994, № 8; и др.).

Слайд №22. На первых стадиях брожения или окисления углеводов образуется пировиноградная кислота (пируват), которая в зависимости от условий, а также особенностей микроорганизма на последующих стадиях брожения превращается в разные соединения. Путей ее утилизации много. В анаэробных условиях пировиноградная кислота превращается в спирт, молочную, масляную кислоты и другие продукты. В аэробных условиях она окисляется до уксусной, лимонной или другой органической кислоты, а при полном окислении пирувата образуются диоксид углерода и вода. Таким образом, процесс брожения протекает в две фазы:

1) начальная, или общая, фаза - проходит в анаэробных условиях, при этом сахар расщепляется до пировиноградной кислоты;

2) конечная фаза - её метаболическая природа зависит от условий культивирования и особенностей микроорганизма. При этом образуются разные продукты.

Превращение органических веществ сопровождается выделением энергии, аккумулированной в этих соединениях в процессе фотосинтеза. Эта энергия частично в виде тепла используется микробной клеткой или выделяется в окружающую среду. Между брожением и дыханием много общего, но при дыхании окисление веществ идет до конца-до образования диоксида углерода и воды, в то время как продукты брожения, как более сложные соединения, содержат еще много энергии. При окислении одной молекулы глюкозы образуется 2 872 кДж/моль, а при брожении такого же количества этого вещества — только 166 кДж/моль энергии. С энергетической точки зрения использование углеводов в процессе брожения неэкономично.

Слайд №23. При брожении некоторые реакции на пути анаэробного преобразования субстрата связаны с наиболее примитивным типом фосфорилирования — субстратным фосфорилированием. К синтезу АТФ по механизму субстратного фосфорилирования ведут катаболические реакции, которые в зависимости от своей химической природы могут быть разделены на два типа.

Большинство относится к окислительно-восстановительным реакциям. Богатые энергией соединения возникают в процессе брожения на этапах анаэробного окисления. Например, окисление фосфоглицеринового альдегида(ФГА), катализируемое ФГА-дегидрогеназой, приводит к

образованию богатого энергией метаболита — 1,3-дифосфоглицериновой кислоты (1, 3-ФГК). Анаэробное окисление пировиноградной или α -кетоглутаровой кислот приводит к образованию высокоэнергетических метаболитов — ацетил-КоА или сукцинил-КоА соответственно.

Второй тип реакций связан с расщеплением субстратов или промежуточных продуктов, образующихся из них. Катализируются эти реакции ферментами, относящимися к классу лиаз.

Слайд №24. Богатые энергией соединения, образующиеся в рассмотренных выше реакциях, в большинстве случаев представляют ангидриды фосфорной кислоты или тиоэфиры органических кислот. Последние используются для синтеза АТФ через ферментативную стадию образования соответствующих ацилфосфатов:



Из других высокоэнергетических соединений важное место в энергетике процессов брожения принадлежит фосфоенолпировиноградной кислоте (ФЕП). Эти соединения характеризуются тем, что свободная энергия, освобождающаяся при их гидролизе, с помощью соответствующих ферментов может быть перенесена на молекулы АДФ.

Слайд №25. Несмотря на большое число углеродных субстратов, доступных для сбраживания, количество реакций, приводящих непосредственно к синтезу АТФ при брожениях, сравнительно невелико. Наиболее распространены следующие из них:

- 1) **1,3-фосфоглицерат + АДФ \longrightarrow 3-фосфоглицерат + АТФ;**
- 2) **фосфоенолпируват + АДФ \longrightarrow пируват + АТФ;**
- 3) **ацетилфосфат + АДФ \rightarrow ацетат + АТФ.**

У большинства микроорганизмов, осуществляющих брожение, используются только реакции, катализируемые фосфоглицераткиназой (1) или пируваткиназой (2), а необходимые акцепторы водорода образуются при этом из пирувата и ацетилкофермента А. При сбраживании одного моля глюкозы образуется лишь от двух до трех молей АТФ, а конечными продуктами оказываются лактат, этанол, ацетон, бутират, н-бутанол, 2-пропанол, 2,3-бутандиол, капронат, ацетат, углекислый газ и молекулярный водород.

При использовании ацетаткиназы (**реакция 3**) бактерии дополнительно получают АТФ. Ацетилфосфат образуется из ацетил-СоА и неорганического фосфата с помощью фосфотрансацетилазы:

Ацетил-СоА + Рi -> Ацетилфосфат + СоА

Кроме того, возможно образование ацетилфосфата из фосфорилированных сахаров при участии фосфокетолазы.

Способность бактерий использовать реакцию, катализируемую ацетаткиназой (3), зависит от того, могут ли они выделять молекулярный водород (H₂). В случае переноса восстановительных эквивалентов (электронов) на протоны они могут выделяться в виде молекулярного водорода; поэтому клетке нет надобности синтезировать акцепторы водорода.

При брожениях конечными акцепторами электронов служат в основном органические соединения: метаболиты, образующиеся из исходных субстратов (пировиноградная кислота, ацетальдегид), или вещества, имеющиеся в среде культивирования (некоторые аминокислоты и другие органические соединения, способные восстанавливаться). Если конечным акцептором электронов является ацетальдегид, образуется этанол, если пируват — молочная кислота.

Восстановленные соединения, захватившие электроны, выделяются из клеток бактерий в окружающую среду и накапливаются в ней в значительных количествах. Из-за низкого энергетического выхода при процессах брожения для обеспечения энергией всех функций и биосинтетических процессов клетке приходится перерабатывать огромные количества субстратов.

Все реакции субстратного фосфорилирования локализованы в цитозоле клетки. Это указывает на простоту химических механизмов, лежащих в основе субстратного фосфорилирования.

4. Сбраживаемые и несбраживаемые соединения, их роль в природном балансе

Слайд №26. Круг органических соединений, которые могут сбраживаться, довольно широк. Это углеводы, спирты, органические кислоты, аминокислоты, пурины, пиримидины. Поскольку брожение протекает без участия молекулярного кислорода, все окислительно-восстановительные превращения субстрата происходят за счет его "внутренних" возможностей. То есть, химическое вещество может быть подвергнуто сбраживанию, если оно содержит непольностью окисленные (или восстановленные) углеродные атомы то есть имеется

возможность для окислительно-восстановительных преобразований между молекулами (или внутри одного вида молекул). В процессе брожения, как правило, происходит расщепление углеродного скелета молекулы субстрата. В результате одна часть продуктов брожения будет более восстановленной, другая — более окисленной по сравнению с субстратом. Таким образом, процесс брожения связан с перестройками органических молекул субстрата, в результате которых на окислительных этапах процесса высвобождается часть свободной энергии, заключенной в молекуле субстрата, и происходит ее запасание в молекулах АТФ.

Слайд №27. Большинство природных соединений, состоящих из углерода, водорода, кислорода и (или) азота, поддается сбраживанию. Предпосылкой для этого является возможность частичного окисления субстрата в результате внутримолекулярного расщепления, сопровождающегося выделением энергии (экзергоническая реакция). Сбраживаются, например, полисахариды, гексозы, пентозы, тетрозы, многоатомные спирты, органические кислоты (в том числе сахарные кислоты, глюконат, малат, тартрат и т.д.), аминокислоты (за исключением ароматических, лишь условно поддающихся сбраживанию), пурины и пиримидины.

Микроорганизмы, осуществляющие брожение, играют важную роль в природном круговороте веществ. Большая часть целлюлозы, поедаемой растительными животными, выводится в непереваренном виде. Когда этот, содержащий целлюлозу, детрит попадает в анаэробные слои почвы или слои донных осадков водоемов, целлюлозу сбраживают разлагающие ее клостридии и некоторые другие строго анаэробные бактерии. При этом образуются названные выше продукты брожения, в том числе почти всегда молекулярный водород. Водород образуется в начале анаэробной пищевой цепи, главные продукты которой метан и (или) сероводород.

Наряду с соединениями, которые сбраживаются в анаэробных условиях, есть вещества, неспособные сбраживаться. Таковы насыщенные алифатические и ароматические углеводороды, стероиды, каротиноиды, терпены, порфирины. В аэробных условиях все эти вещества поддаются расщеплению и полностью окисляются, но в анаэробных условиях они очень стабильны.

Слайд №28. Стабильность их может быть обусловлена двумя причинами. Во-первых, большинство названных соединений содержит только атомы углерода и водорода; при внутримолекулярном расщеплении таких веществ энергия не выделяется. Во-вторых, насыщенные углеводороды

и полиизопреноиды могут окисляться только в присутствии молекулярного кислорода; первичное воздействие на них катализируется в этом случае оксигеназой. Именно благодаря высокой стабильности углеводов в анаэробных условиях они так долго сохраняются в нефтяных месторождениях. Начиная с эпохи образования нефти и по сей день микроорганизмы не приобрели способность сбраживать парафин.

5. Типы брожения у микроорганизмов

Слайд №29. При сбраживании углеводов и ряда других веществ образуются (по отдельности или в смеси) различные органические кислоты (молочная, масляная, уксусная, муравьиная), спирты (этиловый, бутиловый, пропиловый), ацетон, а также углекислота и водород. В зависимости от того, какой основной продукт накапливается в среде, различают молочнокислое, спиртовое, маслянокислое, муравьинокислое, пропионовокислое, уксуснокислое и другие виды брожений. Общими для каждого из этих видов брожения являются две стороны метаболического процесса: окислительная и восстановительная. Процессы окисления сводятся к отрыву электронов от определенных метаболитов с помощью специфических ферментов (дегидрогеназ) и акцептированию их другими молекулами, образующимися из сбраживаемого субстрата, т. е. в процессе брожения происходит окисление анаэробного типа.

Многие микроорганизмы, осуществляющие брожение, облигатные анаэробы, а некоторые - факультативные анаэробы, способные расти как в присутствии кислорода, так и без него; при этом кислород подавляет брожение и оно сменяется дыханием. Спиртовое брожение, как правило, осуществляют дрожжи, молочнокислое и пропионовокислое брожения — бактерии, маслянокислое брожение — бациллы (кlostридии). Продуцентами органических кислот: лимонной, щавелевой, глюконовой, фумаровой, янтарной и др. — являются плесневые грибы.

Рассмотрим подробнее отдельные типы брожения.

5.1 Гомоферментативное молочнокислое брожение

Гомоферментативное молочнокислое брожение осуществляется группой гомоферментативных молочнокислых бактерий. Бактерии, входящие в данную группу, морфологически различны. Это кокки, относящиеся к родам *Streptococcus* и *Pediococcus*, а также бактерии из рода *Lactobacillus*. Гомоферментативное молочнокислое брожение является для этой группы

бактерий единственным способом получения энергии. Используя этот способ сбраживания углеводов, бактерии превращают в молочную кислоту от 85 до 90% сахара среды.

Слайд №30. Последовательность биохимических реакций, лежащих в основе гомоферментативного молочнокислого брожения, получила название гликолитического пути (гликолиза), фруктозодифосфатного пути, или пути Эмбдена — Мейергофа — Парнаса. У гликолиза и гомоферментативного молочнокислого брожения 10 из 11 ферментативных реакций идентичны.

В процессе гомоферментативного молочнокислого брожения имеют место 3 типа химических превращений:

- 1) перестройка углеродного скелета исходного субстрата;
- 2) окислительно-восстановительные превращения;
- 3) образование АТФ.

Основными субстратами гомоферментативного молочнокислого брожения являются моносахара (в первую очередь, глюкоза) и дисахара (мальтоза, лактоза), которые предварительно ферментативным путем расщепляются до моносахаров. Различные моносахара, прежде чем подвергнуться преобразованиям, должны превратиться в глюкозо-6-фосфат.

Слайд №31. Если исходным энергетическим субстратом при гликолизе служит полисахарид типа гликогена или крахмала, его использование начинается с фосфоролитического отщепления глюкозного остатка, протекающего по схеме:



Глюкозо-1-фосфат, превращается затем в глюкозо-6-фосфат. Перемещение фосфатной группы из положения 1 в положение 6 катализируется ферментом фосфоглюкомутазой. Дальнейшее превращение глюкозо-6-фосфата одинаково независимо от исходного энергетического субстрата.

Слайд №32. Общая схема гомоферментативного молочнокислого брожения представлена на **рисунке 2**.

Слайд №33. Суммарно весь процесс молочнокислого брожения можно выразить в виде следующего уравнения:



Энергетический выход процесса таков: образование 2 молекул АТФ на молекулу глюкозы. Энергетическая эффективность процесса, т. е. эффективность запасания выделяемой свободной энергии в молекулах АТФ,

составляет примерно 40%. Энергия запасается только в реакциях субстратного фосфорилирования.

Возникнув как первый, далекий от совершенства энергетический процесс, гомоферментативное молочнокислое брожение не было потом отброшено в процессе эволюции. Наоборот, оно закрепилось и существует сейчас в виде гликолиза у подавляющего большинства прокариот, дрожжей, грибов, а также у высших животных и растений, но только как первый этап более совершенного энергетического процесса, сформировавшегося в результате последующего развития способов получения энергии живыми организмами.

Таким образом, молочнокислые бактерии это своего рода «метаболические инвалиды», которые, вероятно в результате своей специализации (рост в молоке и других средах, богатых питательными и ростовыми веществами), утратили способность к синтезу многих метаболитов. С другой стороны, многие из них обладают способностью, которой нет у большинства других микроорганизмов: они могут использовать молочный сахар (лактозу). В этом они сходны со многими кишечными бактериями (например, *Escherichia coli*).

Молочнокислые бактерии распространены там, где они могут обеспечить свои высокие потребности в питательных веществах и где имеются большие количества углеводов, переработка которых дает им необходимую для роста энергию. Их много в молоке и молочных продуктах, на поверхности растений (виноград, огурцы, капуста и др.) и в местах разложения растительных остатков; обнаружены они в пищеварительном тракте и на слизистых оболочках животных и человека.

Молочнокислым бактериям принадлежит главная роль в осуществлении ряда процессов, используемых с давних времен для получения различных кисломолочных продуктов, в процессах соления и квашения овощей, силосования кормов.

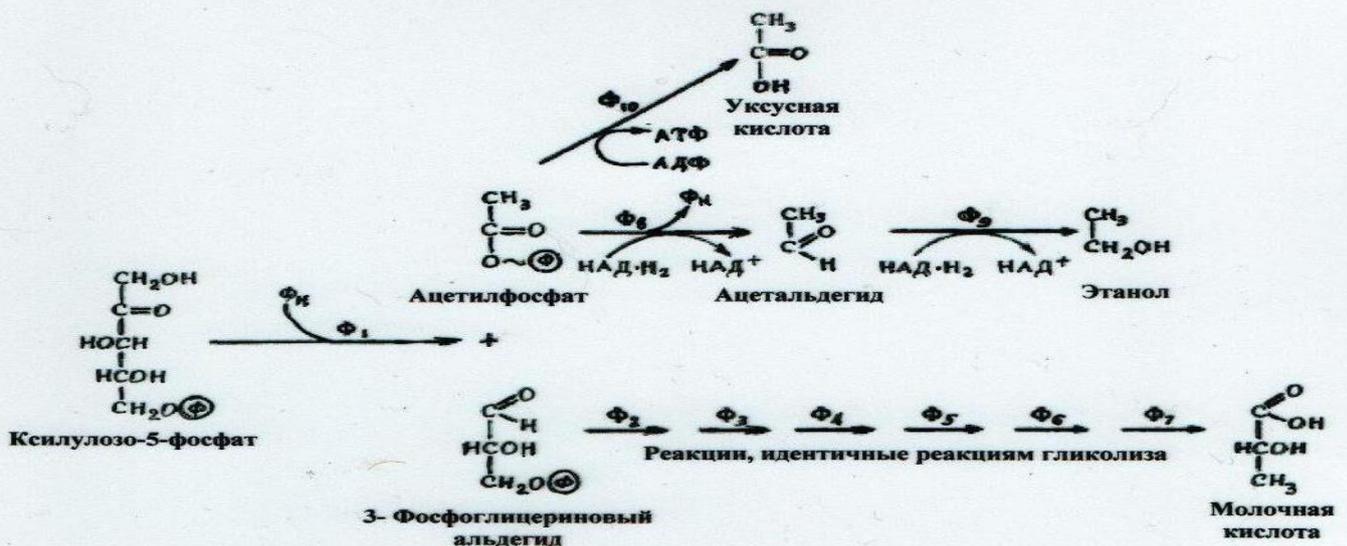
5.2 Нетипичное (гетероферментативное) молочнокислое брожение.

Использование в качестве источника энергии в анаэробных условиях пентозных субстратов, образуемых в окислительном пентозофосфатном пути, свойственно группе гетероферментативных молочнокислых бактерий, для которых характерно образование в качестве конечных продуктов брожения ряда органических соединений: молочной и уксусной кислот, этилового спирта, глицерина, углекислого газа и др. Этим

гетероферментативные молочнокислые бактерии отличаются от гомоферментативных, почти полностью сбраживающих гексозы по гликолитическому пути в молочную кислоту.

Слайд №34. Для гетероферментативного молочнокислого брожения характерно отсутствие ключевого фермента гликолитического пути-фруктозо-дифосфата-альдозы, а также триозофосфатизомеразы. Изучение механизмов образования конечных продуктов брожения гетероферментативными молочнокислыми бактериями обнаружило, что они связаны с дальнейшими различными путями метаболизирования C₂- и C₃-фрагментов фосфокетолазной реакции. Фосфоглицериновый альдегид (3-ФГА) претерпевает ряд ферментативных превращений, идентичных таковым гликолитического пути, и через пируват превращается в молочную кислоту. Судьба двухуглеродного фрагмента различна: двухступенчатое восстановление ацетилфосфата приводит к накоплению в среде этанола; окислительный путь превращения ацетилфосфата завершается образованием уксусной кислоты (рисунок 3).

Слайд №35



Гетероферментативное молочнокислое брожение: Φ_1 — пентозофосфокетолаза; Φ_2 — 3-ФГА-дегидрогеназа; Φ_3 — фосфоглицераткиназа; Φ_4 — фосфоглицеромутаза; Φ_5 — снлаза; Φ_6 — пируваткиназа; Φ_7 — лактатдегидрогеназа; Φ_8 — ацетальдегид-дегидрогеназа; Φ_9 — алкогольдегидрогеназа; Φ_{10} — ацетаткиназа (по Schlegel, 1972)

Преобладание в ферментационной среде того или иного продукта зависит от вида культуры, условий культивирования и фазы развития. Гетероферментативные молочнокислые бактерии по морфологическим, культуральным признакам, особенностям конструктивного метаболизма близки к гомоферментативным формам.

Гетероферментативные молочнокислые стрептококки. К ним относят такие, которые кроме молочной образуют летучие кислоты, ароматические вещества, диоксид углерода. Некоторые из них обладают способностью сбразивать лимонную кислоту.

Ароматобразующие (*Str. citrovorus*, *Str. paracitrovorus*, *Str. diacetylactis*) микроорганизмы придают кисломолочным продуктам приятные вкус и аромат. Для приготовления кисломолочных продуктов ароматобразующие стрептококки соединяют с гомоферментативными — молочнокислым и сливочным. Они имеют почти одинаковую температуру роста (около 30°C). Среди гетероферментативных молочнокислых стрептококков известны и термофилы *Str. thermophilus*, которые могут размножаться при температуре около 45°C. Это позволяет использовать их с термофильными молочнокислыми палочками при изготовлении южной простокваши, а также сыров (советский, швейцарский).

Нетипичное молочнокислое брожение вызывается кишечной палочкой и близкой к ней *Enterobacter aerogenes*, а также другими микроорганизмами.

Нетипичные молочнокислые бактерии слабые кислотообразователи. Они свертывают молоко не менее суток, а в некоторых случаях — даже через неделю. Сгусток молока слабый, местами разорванный газами. Вкус такого продукта неприятный.

5.3 Спиртовое брожение

Этиловый спирт (этанол)-один из широко распространенных продуктов сбразивания сахаров микроорганизмами. Даже растения и многие грибы в анаэробных условиях накапливают этанол. Главные продуценты этанола-дрожжи, особенно штаммы *Saccharomyces cerevisiae*. Дрожжи, как и большинство других грибов, осуществляют аэробное дыхание, но без доступа воздуха они сбразивают углеводы до этанола и углекислого газа. У ряда анаэробных и факультативно-анаэробных бактерий этиловый спирт тоже является главным или побочным продуктом сбразивания гексоз или пентоз.

Еще Гей-Люссак (в 1815 г.) дал уравнение, описывающее превращение глюкозы в этанол в той форме, как это принято и теперь:



Слайд №36. Сбраживание глюкозы до этанола и углекислого газа дрожжами (*Saccharomyces cerevisiae*) осуществляется по фруктозобифосфатному пути.

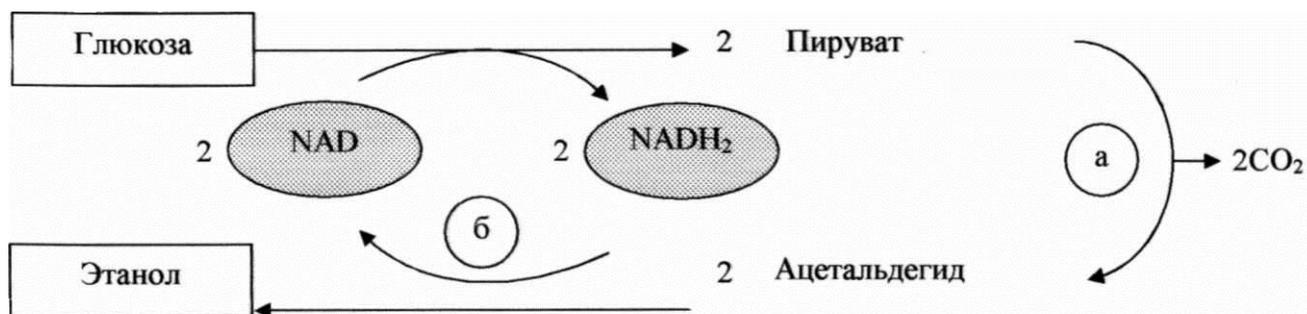
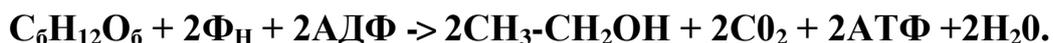


Рисунок 4– Схема спиртового брожения

Превращение пирувата в этанол происходит в два этапа. Сначала пируват декарбоксилируется пируватдекарбоксилазой(а) при участии тиаминпирофосфата до ацетальдегида, а затем ацетальдегид восстанавливается алкогольдегидрогеназой (б) в этанол при участии $NAD H_2$.

Слайд №37. Процесс спиртового брожения суммарно можно выразить следующим уравнением:



Сырьем для производства спирта с использованием дрожжей служат углеводы растительного происхождения (картофель, злаки), отходы пищевой (мелассы) и целлюлозно-бумажной (щелока) промышленности, различные сельскохозяйственные отходы, а также гидролизаты древесины. Сбраживание дрожжами виноградного сока лежит в основе виноделия; сбраживание пивного сусла, приготовленного из проросших зерен ячменя, специальными пивными дрожжами — в основе пивоварения.

6. СПЕКТРАЛЬНЫЙ СОСТАВ СОЛНЕЧНОГО СВЕТА

6.1 Спектральный состав солнечного света

Возможное действие излучения, поглощенного микробной клеткой или веществом, зависит от энергии фотона, т.е. длины волны излучения (рисунок 1).

Слайд №38 .Фотон - это дискретная доза энергии, обратно пропорциональная длине волны электромагнитного излучения.

Ультрафиолетовый, видимый и ближний инфракрасный свет - это тот участок электромагнитного спектра с длинами волн от 200 до 1200нм, который обеспечивает энергией процесс фотосинтеза и способен вызвать химическое изменение в поглотившей его молекуле.

Инфракрасный свет с длиной волны более 1200нм несет мало энергии. При поглощении клетками, она не может вызвать химических изменений и немедленно превращается в тепло.

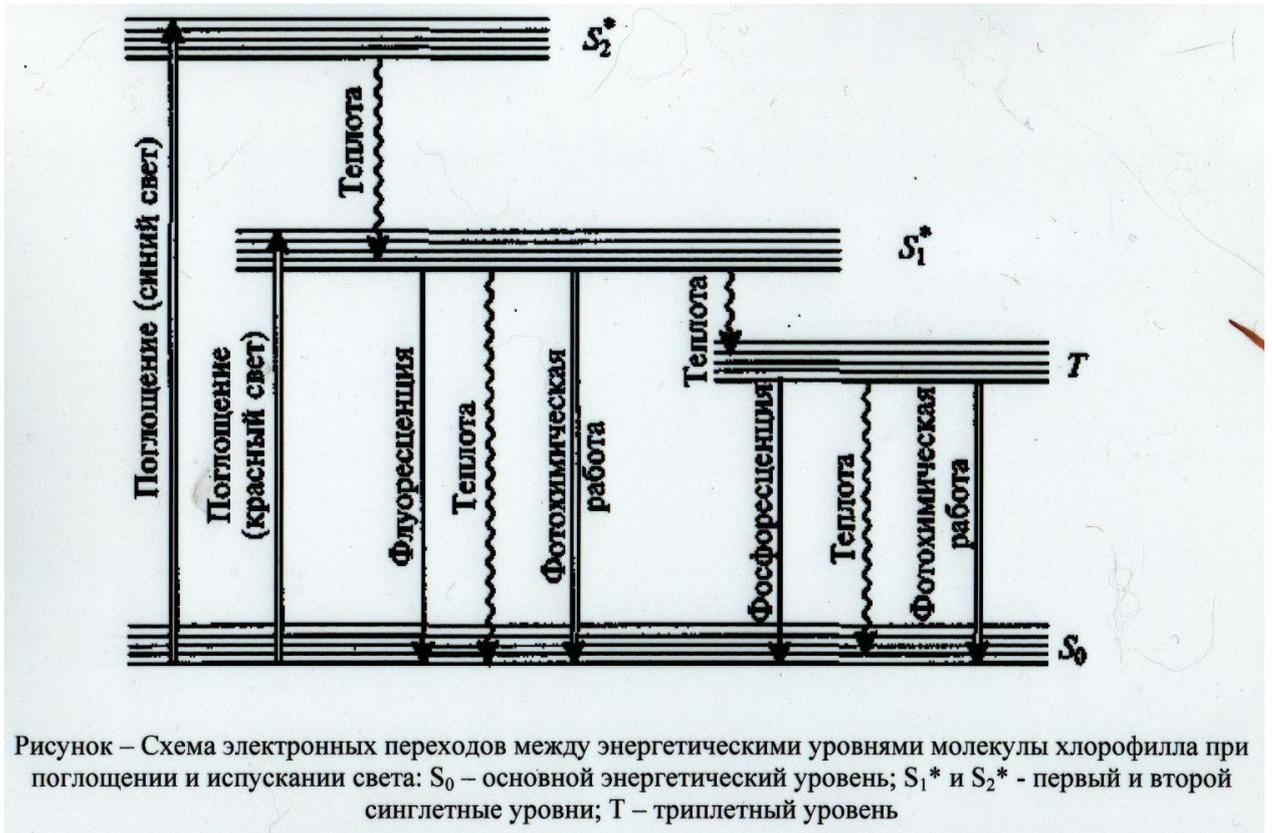
Ионизирующая радиация с очень короткой длиной волны (рентгеновские лучи, α -частицы, космические лучи) несет много энергии. Молекулы, встречающиеся на пути этого излучения, сразу же ионизируются.

6.2 Механизм биологического поглощения света

Каким требованиям должен удовлетворять свет как фактор для "возбуждения" электронов? Кванты света должны обеспечивать переходы электронов с низкоэнергетических на высокоэнергетические уровни. Это возможно в том случае, когда разница между энергетическими уровнями при переходе электрона с орбиты на орбиту равна энергии кванта света. Должны были образоваться такие вещества, в молекулах которых эти электронные переходы соответствуют энергии поглощенного кванта света. Подобным требованиям отвечают молекулы хлорофиллов и других пигментов, у которых переход электронов в возбужденное высокоэнергетическое состояние происходит под действием квантов света с длиной волны в диапазоне 300 — 1100 нм.

Слайд №39 Рассмотрим процессы, происходящие при поглощении кванта света молекулой хлорофилла (**рисунок 2**).

Основная масса хлорофилла и других фотосинтетических пигментов клетки представляет собой антенну, улавливающую световую энергию. В темноте молекула хлорофилла находится в стабильном невозбужденном состоянии, а ее электроны — на основном энергетическом уровне (S_0). Когда квант света попадает на молекулу хлорофилла, порция энергии этого кванта поглощается одним из электронов, который переходит на новый, более богатый энергией уровень, а молекула хлорофилла переходит при этом в возбужденное состояние. В зависимости от того, какова энергия поглощенного кванта, электрон может перейти на разные энергетические уровни: квант синего света поднимает электрон на второй синглетный уровень (S_2), квант красного света — на первый (S_1).



7. Фотосинтез и фотосинтезирующие микроорганизмы

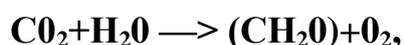
7.1 Определение и природа фотосинтеза

Третий (первые два: дыхание и брожение) и наиболее сложный по механизму способ образования АТФ — это *фотосинтез*, где в качестве источника энергии используется свет.

Слайд №40. Фотосинтез — процесс, при котором происходит превращение световой энергии в химическую. Специальные пигменты микроорганизмов и растений с помощью солнечной энергии из диоксида углерода и воды образуют органическое вещество и кислород, благодаря чему поддерживается жизнь на Земле. Фотосинтез может быть *оксигенным* и *аноксигенным*.

Вначале термин «фотосинтез» использовали для описания общего метаболизма растений, водорослей и цианобактерий, который можно представить следующей реакцией:

свет



где (CH₂O) означает органические соединения со степенью окисления, соответствующей средней степени окисления в клетке.

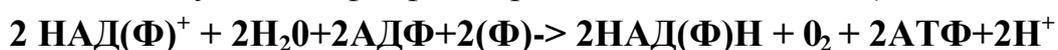
Эта реакция не описывает процесс, в ходе которого образуется АТФ, а отражает его следствие в биосинтезе: превращение углекислого газа в органические вещества клетки под действием света.

Слайд №41. Фотофосфорилирование - это процесс образования АТФ при переносе энергии света, поглощенного фотосинтетической пигментной системой. Механизм фотофосфорилирования аналогичен окислительному фосфорилированию — в данном случае АТФ также образуется при прохождении электронов через цепь переноса электронов. При фотосинтетическом метаболизме не происходит субстратного фосфорилирования, в результате которого при брожении образуется весь АТФ, а при дыхании его часть.

Известно 5 групп бактерий, способных преобразовывать световую энергию в химическую с помощью хлорофилла. Фотосинтез, осуществляемый ими, делится на 2 типа: не сопровождающийся выделением молекулярного кислорода (бескислородный фотосинтез) и сопровождающийся выделением кислорода (кислородный фотосинтез).

Слайд №42. Кислородный (оксигенный) фотосинтез - это процесс превращения световой энергии в химическую при котором фотосинтезирующие организмы (растения, водоросли, цианобактерии и прохлорофиты) используют в качестве единственного источника восстановителя воду, а сопутствующее фотосинтезу окисление воды приводит к образованию кислорода.

При кислородном фотосинтезе кислород образуется за счет окисления воды, сопряжённого посредством реакции *нециклического фотофосфорилирования* с восстановлением НАД(Ф) (никотинадениндинуклеотидфосфат-пиридиновое соединение):



При кислородном фотосинтезе фотосинтезирующие организмы используют в качестве основного источника углерода углекислый газ, поэтому их метаболизм требует значительного восстановительного потенциала.

Слайд №43 Бескислородный (аноксигенный) фотосинтез - это процесс превращения световой энергии в химическую, при котором фотосинтезирующие организмы (пурпурные и зеленые бактерии) используют в качестве восстановителя не углекислый газ, а восстановленные

неорганические соединения (например, сероводород или водород) и некоторые органические соединения, что не приводит к образованию кислорода.

При бескислородном фотосинтезе фотосинтезирующие организмы используют в качестве основного источника углерода вместо углекислого газа другие органические соединения; у этих бактерий уже нет особой необходимости в восстановительном потенциале для биосинтеза.

Молекулярный кислород (O_2) не участвует в реакциях образования АТФ ни в одном из этих типов фотосинтеза. Следовательно, в принципе любой фотосинтез может происходить в строго анаэробных условиях. Однако все организмы, осуществляющие кислородный фотосинтез, являются аэробами в том смысле, что они должны быть жизнеспособны в присутствии кислорода.

7.2 Фотосинтезирующие прокариоты

Слайд №44. К фотосинтезирующим грамотрицательным прокариотам относятся три основные группы микроорганизмов: *цианобактерии*, *пурпурные бактерии* и *зеленые бактерии*.

Цианобактерии осуществляют *оксигенный фотосинтез* и обладают пигментной системой, которая в принципе аналогична системе у фотосинтезирующих эукариот. Ботаники долгое время считали эту группу одним из основных классов или типов водорослей. Однако примерно в 1960 г. было твердо установлено, что структура клеток этих организмов типична для прокариот, так что они относятся к бактериям.

Пурпурные и зеленые бактерии, а также *гелиобактерии* осуществляют *аноксигенный фотосинтез* и обладают уникальными пигментными системами, благодаря чему по своим спектральным характеристикам они отличаются от других фототрофов. Все эти микроорганизмы, за немногими исключениями, являются одноклеточными.

У *галобактерий* обнаружен своеобразный фотосинтез, связанный с участием бактериородопсина. Его иногда называют "3-я категория фотосинтеза", в отличие от *оксигенного фотосинтеза* (1-я категория) и *аноксигенного фотосинтеза* (2-я категория). Открытие бактериородопсина опровергло концепцию о том, что фотосинтез невозможен без хлорофилла. Галобактерии — органотрофы, они получают энергию за счет дыхания или брожения, но при освещении в анаэробных условиях могут переключаться на фотосинтез.

Слайд №45 В таблице 1 суммированы некоторые из основных структурно - функциональных особенностей фотосинтезирующих бактерий. В эту

таблицу для сравнения включены также данные, касающиеся хлоропластов двух основных групп водорослей.

Цианобактерии и красные водоросли обладают рядом сходных и, в то же время, уникальных функциональных свойств:

1. единственным хлорофиллом у них является *хлорофилл «а»*;
2. основными, поглощающими свет, пигментами у обеих групп

Таблица 1–Структура фотосинтезирующего аппарата и механизмы фотосинтеза у прокариот и

Структурно-функциональные компоненты	Прокариоты			Хлоропласты	
	пурпурные бактерии	зеленые бактерии	цианобактерии	красные водоросли	зеленые водоросли и растения
Субклеточная структура, включающая фотосинтезирующий аппарат	ЦПМ и её производные	ЦПМ и хлоросомы	Тилакоиды и фикобилисомы	Тилакоиды и фикобилисомы	Тилакоиды
Фотосистемы					
I	+	+	+	+	+
II	-	-	-	-	-
Восстановители, используемые при ассимиляции CO ₂	H ₂ S, H ₂ или орг. соединения	H ₂ S, H ₂	H ₂ O	H ₂ O	H ₂ O
Основной источник углерода при фотосинтезе	CO ₂ или орг. соединения	CO ₂ или орг. соединения	CO ₂	CO ₂	CO ₂

являются *хромопротеиды*, которые называются *фикобилипротеидами*;

3. хромопротеиды не интегрированы у них в тилакоидах, как хлорофиллы и каротиноиды, а локализованы в особых структурах, прикрепленных к внешней поверхности тилакоидов и называемых *фикобилисомами*

Пурпурные и зеленые бактерии отличаются от других фототрофов по многим признакам. Внутриклеточная локализация фотосинтезирующего аппарата уникальна для каждой группы. У *пурпурных бактерий* этот аппарат включен в клеточную мембрану, а у *зеленых бактерий* он находится в специальных органеллах, хлоросомах.

7.3 Фотосинтезирующий аппарат микроорганизмов

Слайд №46. Фотосинтезирующий аппарат - это мембраносвязанная система пигментов, переносчиков электронов, липидов и белков, обеспечивающая превращение энергии при фотосинтезе.

Фотосинтезирующий аппарат всех организмов, способных осуществлять фотосинтез, состоит из трех основных компонентов.

1. Система улавливания световой энергии - состоит из поглощающих свет пигментов. К этим пигментам относятся хлорофилл, каротиноиды и (у некоторых организмов) фикобилипротеины. Набор поглощающих свет пигментов, специфичен для каждой группы микроорганизмов.

2. Реакционный центр фотосинтеза - обеспечивает переход энергии света, поглощенного системой улавливания, в другую форму; содержит молекулы хлорофилла, находящиеся в особом состоянии. Энергия света обеспечивает отрыв от молекулы хлорофилла одного электрона.

3. Цепь переноса электронов - обеспечивает образование АТФ за счёт переноса электронов, освободившихся в реакционном центре.

Три компонента фотосинтезирующего аппарата рассмотрим по отдельности.

7.3.1 Компоненты системы улавливания световой энергии, состоящей из поглощающих свет пигментов

Слайд №47. Все фотосинтетические пигменты относятся к двум химическим классам соединений:

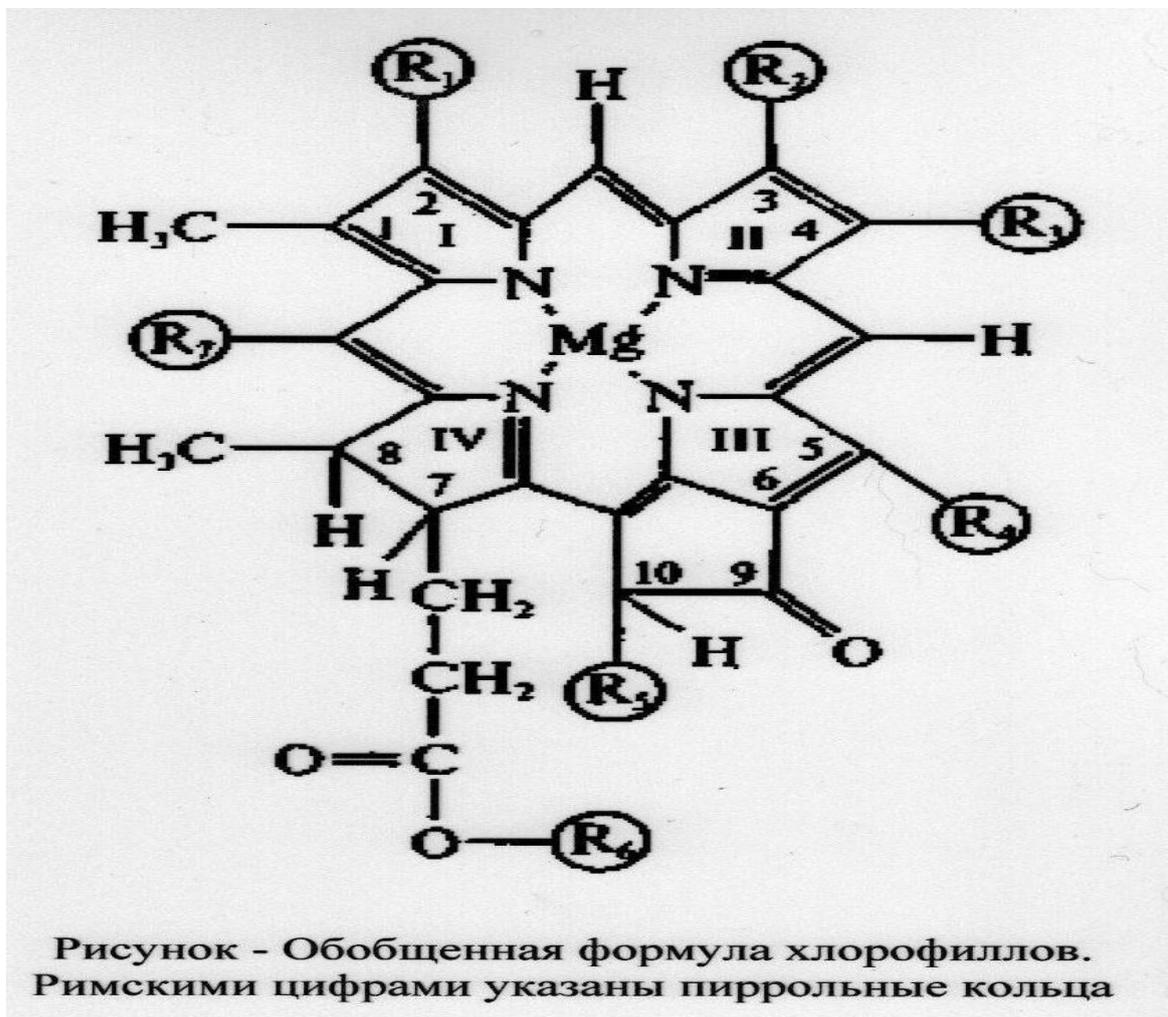
1) пигменты, в основе которых лежит тетрапиррольная структура (*хлорофиллы, фикобилипротеины*);

2) пигменты, основу которых составляют длинные полиизопреноидные цепи (*каротиноиды*).

Особенность химического строения молекул всех фотосинтетических пигментов состоит в наличии системы сопряженных двойных связей (т.е, чередующихся с простыми, $-CH=CH-CH=CH-$), от количества которых зависит способность пигментов улавливать бедные энергией кванты света.

Молекулы *хлорофиллов*, из которых в различных группах фотосинтезирующих организмов встречается по крайней мере семь разновидностей, построены по одному и тому же типу, приведенному на рисунке 3 (тетрапиррольная структура).

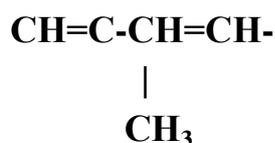
Слайд №48 Химическая природа радикалов R_1 — R_7 различна, от их сочетания зависит максимум поглощения света клеткой (для студентов - см. табл.19 у Гусева).



Хлорофиллы сходны по структуре с *гемами*, которые служат простетическими группами (захватывающими электроны) в переносчиках (цитохромах) в цепи переноса электронов и во многих дыхательных ферментах. Хлорофиллы, так же как гемы, содержат центральное тетрапиррольное ядро, внутри которого расположен ион металла, соединенный с ним хелатными связями. В гемах ион металла представлен *железом*, в хлорофиллах — *магнием*. Хлорофиллы активно поглощают свет в двух спектральных областях: в фиолетовой области (около 400нм), и в красной и ближней инфракрасной (около 600—800нм).

Хлорофиллы пурпурных и зеленых бактерий имеют в принципе ту же структуру, что и хлорофилл растений, и образуются через те же пути биосинтеза. Но поскольку они встречаются лишь у этих двух групп бактерий, их называют *бактериохлорофиллами*.

Слайд №49. *Каротиноиды* представляют собой вещество, состоящее из остатков изопрена:



У фотосинтезирующих организмов встречается множество разновидностей *каротиноидов*, состоящих из длинной ненасыщенной углеводородной цепи с ответвлениями — метильными группами.

Большинство каротиноидов построено на основе 8 изопреноидных остатков (**для студентов - см. рис.70 у Гусева**). Каротиноиды имеют одну широкую полосу поглощения света между 450 и 550нм.

Наиболее разнообразен состав каротиноидных пигментов у пурпурных бактерий (свыше 50 видов). Набор и количество отдельных каротиноидов определяют окраску пурпурных бактерий, густые суспензии которых имеют пурпурно-фиолетовый, красный, розовый, коричневый или желтый цвета.

Продолжение слайда №49. *Фикобилипротеины* представляют собой водорастворимые хромопротеиды, содержащие линейные тетрапирролы. Это красные и синие пигменты, содержащиеся только у одной группы бактерий — цианобактерий. Хромофорная группа пигмента, называемая фикобилином, ковалентно связана с водорастворимым белком типа глобулина и представляет собой структуру, состоящую из четырех пиррольных колец, но не замкнутых, как в молекуле хлорофилла, а имеющих вид развернутой цепи, не содержащей металла (**для студентов - см.рис. 69 у Гусева**).

Фикобилипротеины обеспечивают в клетках цианобактерий поглощение света в области 450 — 700нм и с высокой эффективностью (больше 90%) передают поглощенный свет на хлорофилл.

Слайд №50. Состав и функции пигментов в фотосинтезе различных

Таблица 2 – Состав и функции пигментов в фотосинтезе

Группы фотосинтезирующих эубактерий	Светособирающие пигменты			Хлорофиллы, входящие в состав реакционного центра
	хлорофиллы	фикобилинпротеины	основные каротиноиды	
Пурпурные бактерии	бактериохлорофилл <i>a</i> или <i>b</i>	нет	алифатические и арильные	бактериохлорофилл <i>a</i> или <i>b</i>
Зеленые бактерии	бактериохлорофиллы <i>a+c</i> , <i>a+d</i> , <i>a+e</i>	нет	арильные и алициклические	бактериохлорофилл <i>a</i>
Гелиобактерии	бактериохлорофилл <i>g</i>	нет	единственный алифатический: нейроспорин	бактериохлорофилл <i>g'</i>
Цианобактерий	хлорофилл <i>a</i>	фикоцианин, аллофикоцианин, фикоэритрин	алициклические	хлорофилл <i>a</i>
Прохлорофит	хлорофиллы <i>a+b</i>	нет	алициклические	хлорофилл <i>a</i>

бактерий обобщены в таблице 2.

7.3.2 Фотохимические реакционные центры и цепь переноса электронов

Хлорофилл играет двоякую роль в превращении энергии при фотосинтезе: он служит светопоглощающим пигментом и участвует в первичной фотохимической реакции. В то же время каротиноиды и фикобилипротеиды функционируют только как светопоглощающие пигменты, передавая энергию поглощенного ими света в реакционный центр (т.е. хлорофиллу).

Энергия фотонов, поглощенных фотосинтезирующей пигментной системой, переносится в *реакционные центры*, где находятся в особом состоянии молекулы хлорофилла, тесно связанные с участвующими в фотосинтезе компонентами цепи переноса электронов.

Слайд №51. Процесс фотохимического превращения энергии начинается в тот момент, когда молекула хлорофилла в реакционном центре поглощает энергию света. Молекула хлорофилла окисляется, освобождая электрон, который акцептируется ферредоксином:



Обратное окисление восстановленного ферредоксина дает примерно столько же энергии, сколько окисление молекулярного водорода. Эта энергия

передается другим переносчикам электронов фотосинтетической цепи транспорта электронов и используется таким образом для образования АТФ.

Слайд №52. При аэробном и анаэробном типах дыхания и при фотосинтезе АТФ образуется в результате прохождения электронов от первичного донора электронов через цепь переноса до конечного акцептора.

Доноры и акцепторы электронов, участвующие в различных реакциях образования АТФ за счет транспорта электронов, перечислены в **таблице 3**.

При дыхании первичный донор электронов — окисляемый субстрат, а конечный акцептор электронов — неорганическое соединение: либо O_2 при аэробном дыхании, либо NO_3^- , SO_4^{2-} и CO_2 при анаэробном дыхании. В

ТАБЛИЦА 3 - ПЕРВИЧНЫЕ ДОНОРЫ И КОНЕЧНЫЕ АКЦЕПТОРЫ ЭЛЕКТРОНОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБАХ ОБРАЗОВАНИЯ АТФ ЗА СЧЕТ ПЕРЕНОСА ЭЛЕКТРОНОВ

Способ образования АТФ	Первичный донор электронов	Конечный акцептор электронов
Аэробное дыхание	Органическое или неорганическое соединение	O_2
Анаэробное дыхание	Органическое соединение	NO_3^- , SO_4^{2-} или CO_2
Циклическое фотофосфорилирование	Хлорофилл реакционного центра	Окисленный хлорофилл реакционного центра
Нециклическое фотофосфорилирование	Химическое соединение	То же

процессе фотосинтеза молекулы хлорофилла реакционных центров типа I служат и донорами, и акцепторами электронов для циклического фотофосфорилирования. Вместе с тем, при нециклическом фосфорилировании в качестве первичного донора электронов используется вода или другое химическое соединение, а в качестве конечного акцептора электронов — окисленный хлорофилл (присоединение электронов к НАДФ- в реакционных центрах типа I).

Слайд №53. Хотя сложность и набор компонентов цепей переноса электронов варьируют, все подобные цепи обладают некоторыми общими свойствами:

во-первых, компоненты цепи — это переносчики, способные легко вступать в обратимые реакции окисления и восстановления;

во-вторых, АТФ образуется в результате прохождения электронов по цепи.

Цепь переноса электронов может также функционировать и в обратном направлении, когда образование восстановительного потенциала путем непосредственного переноса электронов от неорганического субстрата на НАД⁺ (никотинадениндинуклеотид-пиримидиновое основание) термодинамически невыгодно.

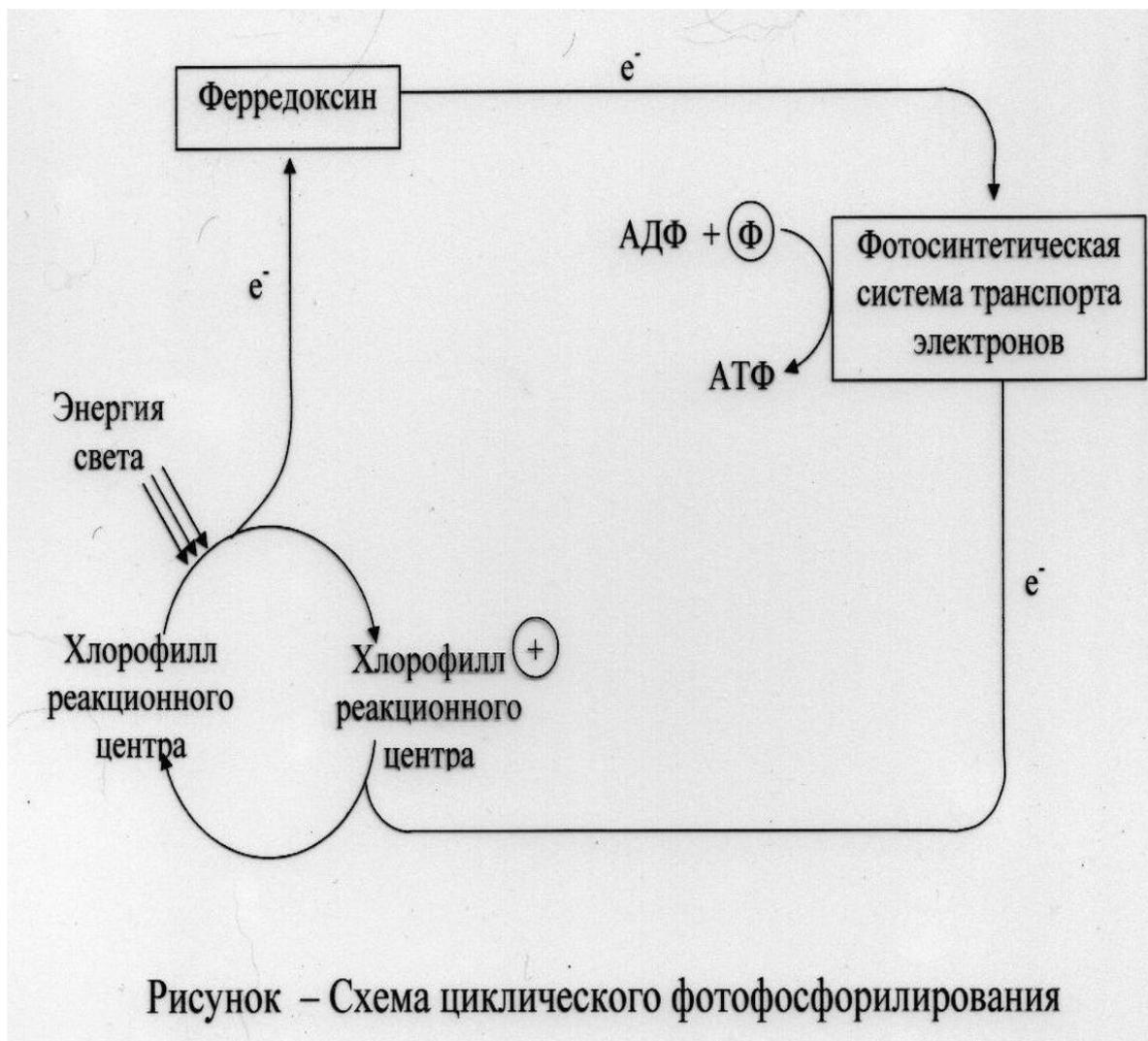
7.4 Механизмы фотофосфорилирования

Слайд №54. У всех фотосинтезирующих организмов энергия возбужденных электронов хлорофилла может быть использована для образования АТФ в процессах трёх типов:

- циклическое фотофосфорилирование;
- нециклическое фотофосфорилирование;
- сопряжённое фотофосфорилирование (комбинация циклического и нециклического процессов.)

Схема циклического фотофосфорилирования приведена на рисунке .

Слайд №55. Электроны, отнятые у хлорофилла благодаря поглощению энергии света, проходят через фотосинтетическую цепь переноса электронов,



причем последний компонент этой цепи восстанавливает хлорофилл; таким образом, электроны проходят по замкнутому пути, а их поток включается и выключается за счет поглощения энергии света. Часть энергии света улавливается цепью переноса благодаря синтезу АТФ.

Слайд №56 Схема нециклического фотофосфорилирования приведена на рисунке. Этот процесс представляет собой другой путь использования электронов, выброшенных хлорофиллом реакционного центра под действием света, — восстановление пиридиновых нуклеотидов. При этом поток электронов становится открытым, незамкнутым, так как катион хлорофилла⁺ должен быть восстановлен электронами подходящего донора через систему переноса электронов фотосинтезирующего аппарата. При таком переносе электронов также образуется АТФ.

Вариант нециклического фотофосфорилирования при кислородном фотосинтезе осуществляют фотохимические реакционные центры, которые относят к типу II.

Слайд №57 Схема сопряжённого фотофосфорилирования, представляющего собой комбинацию циклического и нециклического

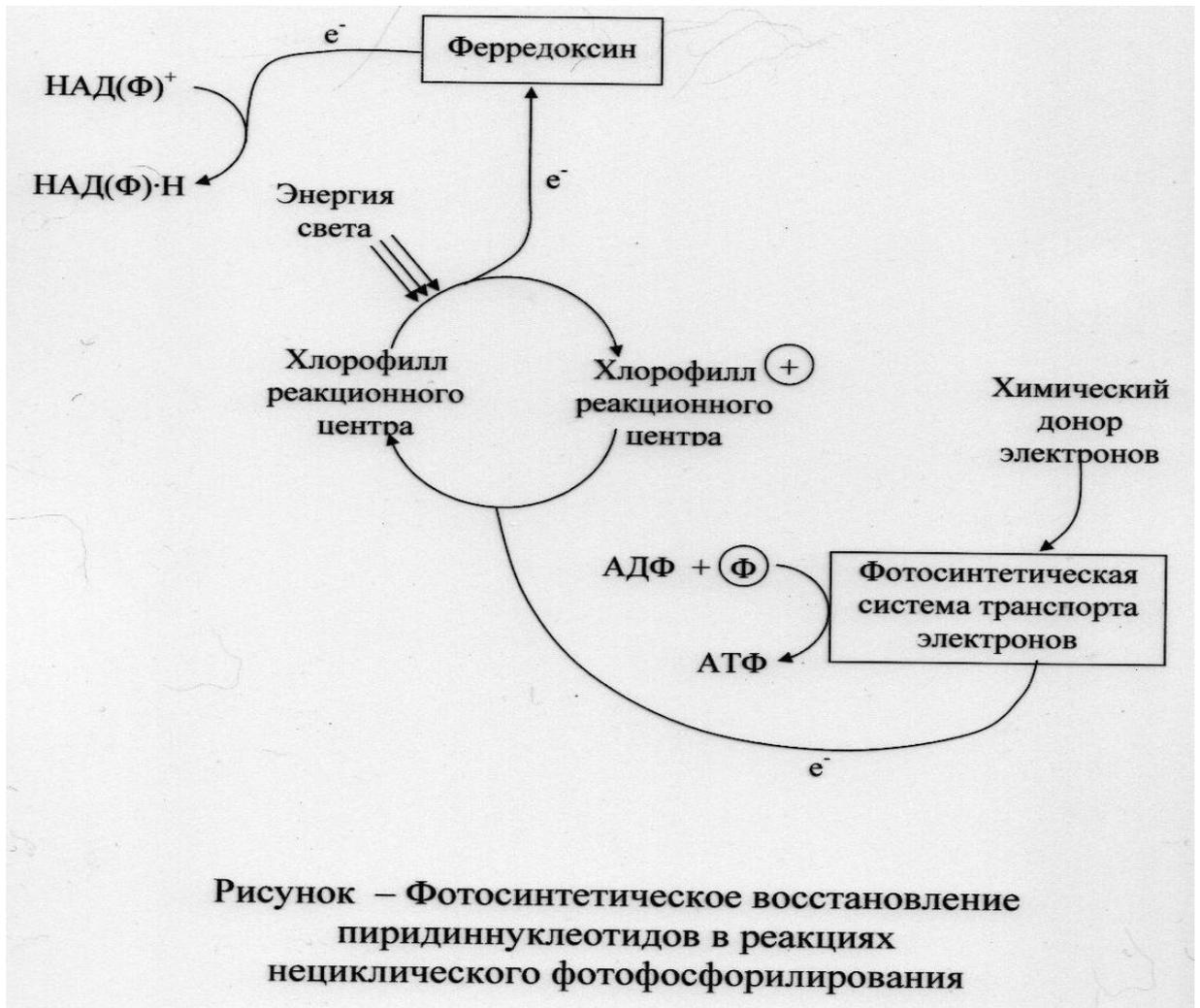
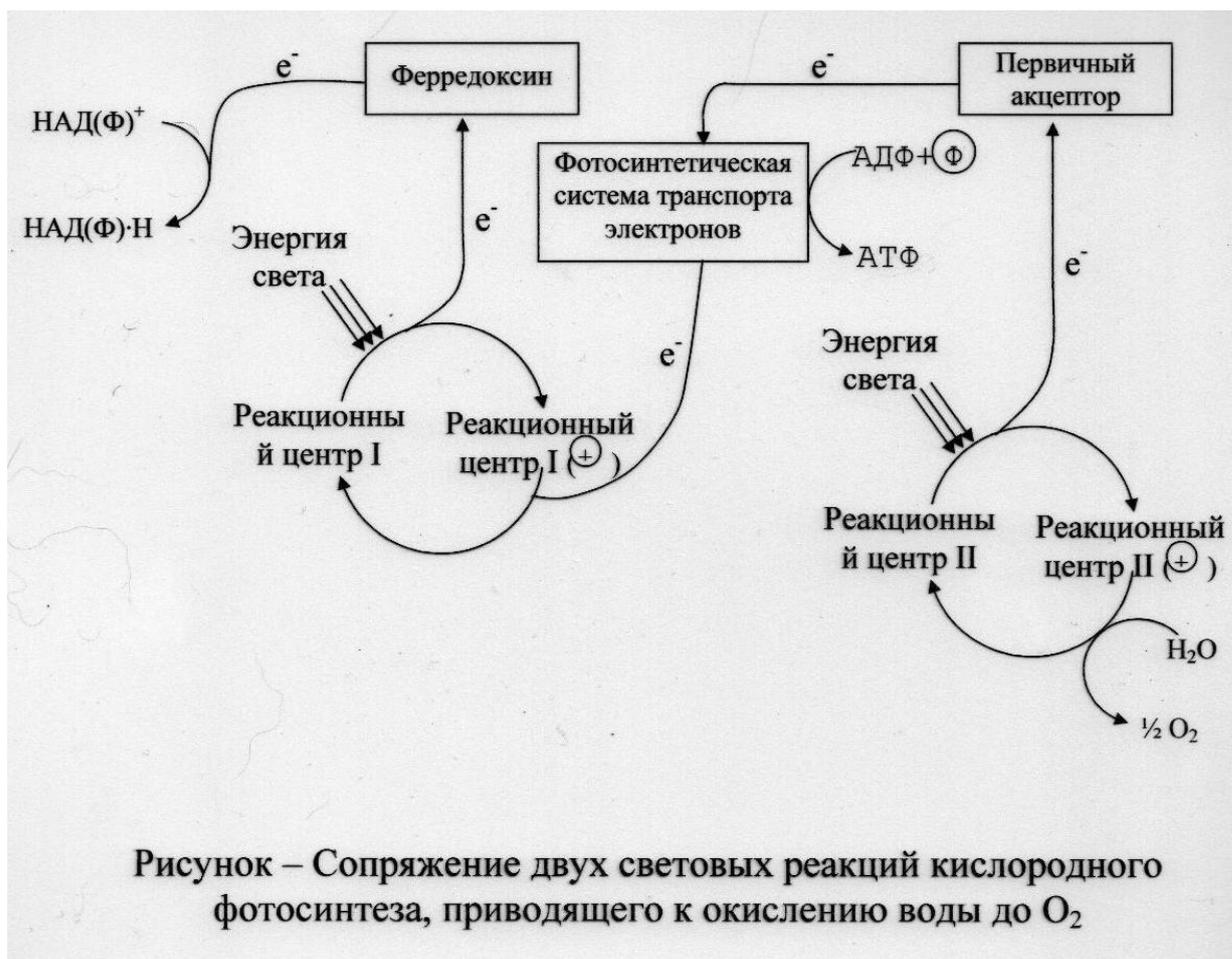


Рисунок – Фотосинтетическое восстановление пиридиннуклеотидов в реакциях нециклического фотофосфорилирования

процессов, приведена на рисунке.



Данный вариант фотофосфорилирования используют растения, водоросли, цианобактерий и прохлорофиты в том случае, когда необходимо эффективно утилизировать термодинамически невыгодный донор электронов - воду.

Фотосинтезирующий аппарат этих организмов содержит фотохимические реакционные центры двух типов (**типа I –циклический и типа II-нециклический**). Их можно отличить по разным ответам при воздействии на них света с определенной длиной волны и ингибиторов фотосинтеза.

Реакционные центры одного типа (**типа I**) осуществляют и циклическое, и нециклическое фотофосфорилирование. Однако, поглощения света только этими реакционными центрами недостаточно для одновременного восстановления НАД Ф и окисления воды. Нециклическое фотофосфорилирование кислородного типа требует одновременного поглощения света реакционным центром другого типа (**типа II**), в котором и происходит *фотохимическое окисление воды*. Электроны, освобожденные в ходе этого окисления, проходят через фотосинтетическую цепь переноса

электронов и восстанавливают окисленный хлорофилл, присоединяясь к НАДФ в реакционных центрах типа I.

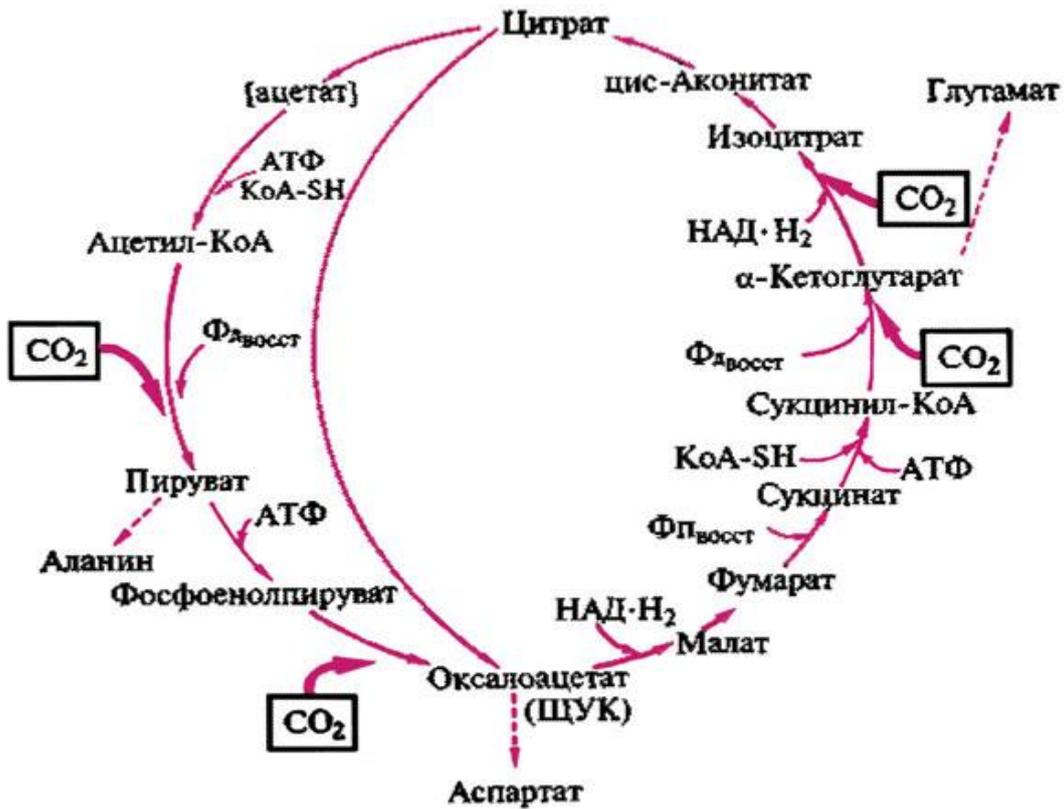
Таким образом, **фотосистема II-типа** была достроена к **фотосистеме I-типа** для того, чтобы стало возможным использование воды в качестве донора электронов. Побочный продукт этого процесса — молекулярный кислород. Фотосинтез, осуществляемый при координированном функционировании двух фотосистем и сопровождающийся выделением кислорода (O_2) из воды, стал одним из основных типов энергетического метаболизма у высших форм жизни и занимает доминирующее положение в энергетической системе живого мира.

Таким образом неспособность бактерий образовывать кислород при фотосинтезе обусловлена отсутствием реакционных центров **типа II** в аппарате бескислородного фотосинтеза. Фотохимические реакционные центры бескислородного фотосинтеза относятся исключительно к **типу I** и осуществляют циклическое фотофосфорилирование. С точки зрения фотохимии бескислородный фотосинтез — более простой процесс, чем кислородный фотосинтез.

8. Особенности конструктивного метаболизма у фотосинтезирующих бактерий (биосинтетические процессы)

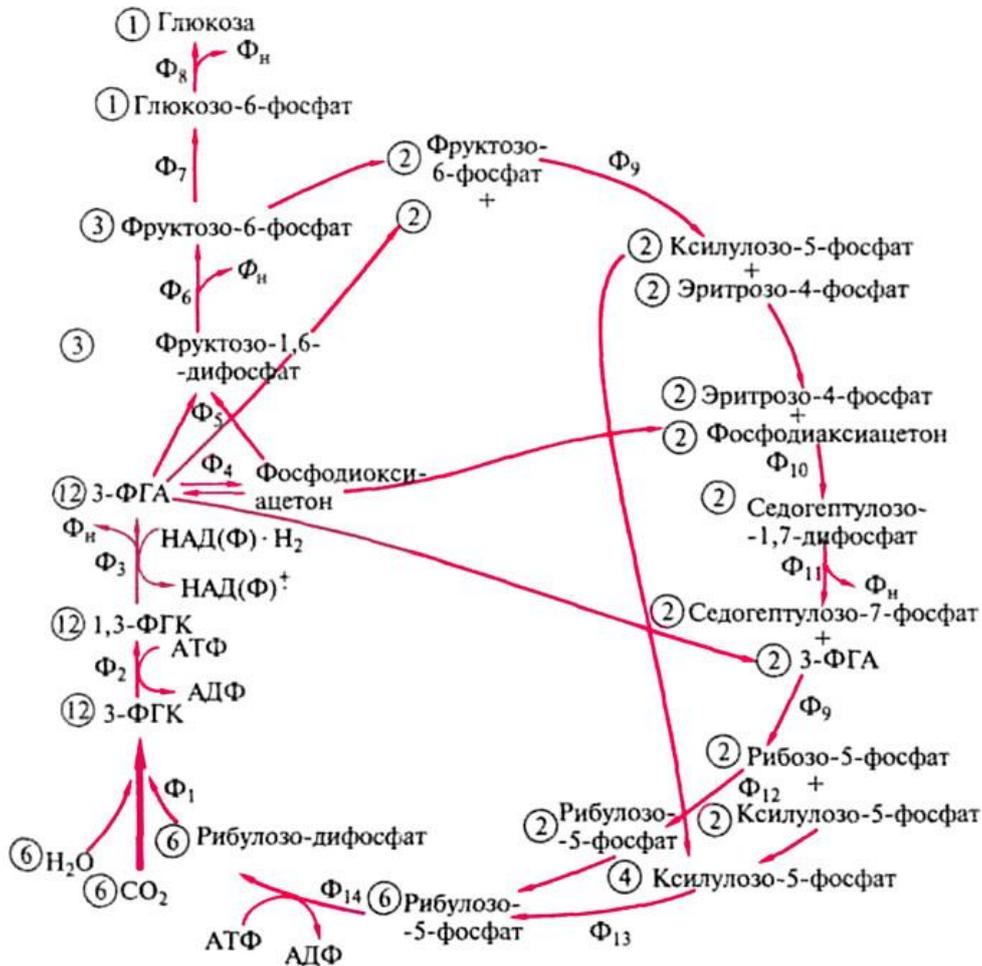
Мы рассмотрели, каким образом энергия света, поглощенная пигментами фотосинтезирующего аппарата, используется для энергетических реакций- синтеза АТФ и синтеза восстановленных пиридиновых нуклеотидов. Эти реакции, сопровождающиеся превращением энергии света в химическую энергию, свойственны исключительно фотосинтезу. Вместе с тем конкретные механизмы использования этой химической энергии для биосинтетических реакций не только не являются какой-то особенностью фотосинтеза, но, строго говоря, не являются и частью процесса фотосинтеза. Последующие биосинтетические процессы включают так называемые *темновые реакции*, катализируемые ферментами в отсутствие света.

Слайд №58. У зеленых серобактерий сформировался циклический механизм фиксации углекислого газа, в основе которого лежат реакции восстановительного карбоксилирования органических кислот. Он получил название восстановительного цикла трикарбоновых кислот, или цикла Арнона



(для студентов - см. рис.76 у Гусева).

В этом цикле углекислота фиксируется в четырех ферментативных реакциях, две из которых идут при участии фотохимически восстановленного ферредоксина, а одна — таким же путем образованного



НАД-Н₂ (никотинадениндинуклеотид-Н₂). В результате одного оборота цикла из 4 молекул углекислого газа, 10 молекул водорода с использованием энергии (3 молекулы АТФ) синтезируется молекула щавелевоуксусной кислоты — конечный продукт цикла.

Все реакции, в которых происходит фиксация углекислого газа в цикле, функционируют как механизмы хемогетеротрофной фиксации углекислого газа или аналогичные им.

Слайд №59 Восстановительный пентозофосфатный цикл, или цикл Кальвина, являющийся основным путем фиксации углекислого газа у всех высших фотосинтезирующих организмов, функционирует в группе пурпурных бактерий, у цианобактерий и прохлорофит (для студентов - см. рис.77 у Гусева).

Последовательность ферментативных реакций, приводящих к фиксации углекислоты и образованию из нее молекулы гексозы, была расшифрована М. Кальвином (M. Calvin) с сотрудниками в 50-х гг. В этом цикле новое - это

химическая природа акцептора. Акцепторами двуокиси углерода во всех до сих пор описанных реакциях были органические кислоты в обычной или активированной форме. В этом цикле впервые акцептором двуокиси углерода выступает вещество углеводной природы — активированная молекула пентозы.

Для восстановительного пентозофосфатного цикла уникальными являются два фермента, не участвующие в других метаболических путях: фосфорibuлокиназа и рибулозо-дифосфат-карбоксилаза. Последовательные ферментативные превращения ведут к образованию молекулы глюкозы. Эти превращения включают реакции, известные в гликолитическом пути, но они идут теперь в обратном направлении. Такова биосинтетическая часть цикла, ведущая к фиксации углекислого газа и образованию из нее молекулы гексозы.

Восстановительный пентозофосфатный цикл является основным механизмом автотрофной ассимиляции углекислоты. Последняя у большинства фотосинтезирующих бактерий восстанавливается с помощью фотохимически образованной "ассимиляционной силы" — АТФ и восстановителя. Однако и АТФ, и восстановитель - пиридиновые основания (**НАДФ-Н₂** никатинадениндинуклеотидфосфат-Н₂ или **НАД-Н₂** никатинадениндинуклеотид-Н₂) образуются в разных метаболических путях. Поэтому нельзя рассматривать восстановительный пентозофосфатный цикл ассимиляции двуокиси углерода строго привязанным только к фотосинтезу. У большой группы хемоавтотрофных эубактерий этот путь фиксации двуокиси углерода сочетается с темновыми окислительными процессами получения энергии. Важно отметить только, что это основной путь ассимиляции углекислоты, если последняя служит единственным или главным источником углерода.

Модуль 2. МИКРООРГАНИЗМЫ И ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА. ДЕЙСТВИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ И ХИМИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ

Лекция 2.1

Тема: «Синэкология микроорганизмов. Экологические связи микробов (симбиоз, кооперация, комменсализм, конкуренция, паразитизм, хищничество)»

Микробиология как наука формировалась под воздействием медицины, в которой существует единственный возбудитель каждой болезни. Поэтому психология, основанная на изучении чистых культур микроорганизмов, доминирует в ней и по сей день. Восприняв медицинскую психологию, мы затрачиваем колоссальные усилия, чтобы не умереть, но прилагаем слишком мало стараний, чтобы жить в гармонии с окружающим нас микробным миром. А для этого необходима смена традиционных представлений и распространение нового подхода, рассматривающего микробные сообщества с экологических позиций.

В естественных субстратах (почвы, водоёмы, растительные и животные остатки...) микроорганизмы существуют как сложные ассоциации, внутри которых складываются разнообразные взаимоотношения. Эти взаимоотношения определяются как абиотическими, так и биотическими факторами. Они могут включать в себя широкий диапазон разнообразных форм: от мирного сожительства до явного антагонизма. Условно все формы взаимоотношений микроорганизмов можно разделить на несколько типов.

Типы взаимоотношений

Нейтрализм – популяции не влияют друг на друга, если разделены в пространстве или во времени.

Положительные взаимодействия:

Комменсализм – популяция комменсала получает пользу от объединения с популяцией хозяина, для которого это объединение безразлично. В некоторых случаях это метабиоз

Метабиоз. В природе это явление распространено очень широко. При метабиозе продукты жизнедеятельности одного микроорганизма потребляются другими микроорганизмами в качестве питательного материала. Это почти всегда имеет место при последовательном использовании какого-либо одного сложного субстрата. Так, например, при использовании белковых веществ последовательно могут принимать участие в этом процессе аммонификаторы, нитрификаторы и денитрификаторы.

Мутуализм (взаимовыгодный) – облигатное взаимодействие полезное для обеих популяций. В микробиологии этот тип взаимодействий обычно называют симбиозом. Это симбиоз гриба и водоросли в лишайниках, симбиоз клубеньковых бактерий с бобовыми, симбиоз папоротника азолла с цианобактериями. Кефирные зерна (дрожжи и молочнокислые бактерии), чайный гриб (уксуснокислые бактерии и дрожжи)

Мутуализм иногда обозначают как синтрофные взаимодействия. Синтрофными отношениями называют пищевые связи в том случае, когда субстрат потребляется только смешанными популяциями, не способными к его использованию в чистых культурах. Наиболее широко распространенным механизмом, лежащим в основе синтрофного взаимодействия, является обмен факторами роста. Также часто встречаются синтрофные ассоциации, основанные на обмене субстратами роста или удалении токсических продуктов обмена. *Mucor rammanianus* и дрожжи *Rhodotorula rubra* нуждаются в тиамине (B1). Гриб при совместном росте выделяет пиримидиновый компонент, дрожжи – тиазоловый компонент молекулы тиамина, при этом удовлетворяются потребности обоих партнёров.

Протокооперация – взаимодействие друг с другом полезно для обеих популяций, но не является облигатным. Взаимодействие целлюлозоразрушающих грибов, дающих бактериям глюкозу и бактерий, фиксирующих для грибов азот. Метаноокисляющие и метанонокисляющие бактерии часто встречаются вместе. Вокруг гетероцист цианобактерий накапливается много хемотрофных бактерий, в т.ч. водородокисляющих. В природе кооперация между организмами различных метаболических типов скорее правило, чем исключение. При использовании в биотехнология микроорганизмов по отдельности кооперативную активность часто полностью упускают из вида.

Отрицательные взаимодействия:

В естественных условиях развития микробов довольно часто могут наблюдаться явления не только взаимно благоприятные, но и такие, при которых один вид микроорганизмов тем или иным способом угнетает или полностью подавляет рост и развитие других видов. Такая форма взаимоотношений называется антагонизмом. Это явление широко распространено у грибов, бактерий и актиномицетов.

Конкуренция (непосредственное взаимодействие) – прямое взаимное подавление обоих видов. Микробы антагонисты образуют антибиотики, действующие друг против друга.

Конкуренция из-за ресурсов – опосредованное подавление, возникающее, когда появляется недостаток в каком-либо факторе, используемом обоими видами. Это наиболее широко распространённый вид конкуренции: за органическое вещество, за источники азота, фосфора, калия, железа, витамины, воду, свет. Обычно побеждает тот организм, который быстрее растёт или который может усваивать вещество из рассеянного состояния. Правило Гаузе: два вида, занимающие одну и ту же нишу, не могут существовать вместе.

Аменсализм (несотрапезники) – одна популяция подавляет другую, но сама не испытывает отрицательного влияния (микроб-продуцент антибиотика и чувствительный микроорганизм).

Паразитизм – паразит существует за счёт вещества (клетки) хозяина, иногда убивает его, иногда приносит вред, не убивая. В экологии как паразиты обычно рассматриваются патогенные для растений и животных микроорганизмы, фаги, *Bdellovibrio*.

Бактерии-паразиты в своём эволюционном развитии утратили способность синтезировать многие вещества, они получают их в готовом виде за счёт своего хозяина. Хозяин же взамен от такого сожительства никакой пользы не получает. Бактерии, как правило, внеклеточные паразиты, а риккетсии, хламидии и вирусы – внутриклеточные. Риккетсии - вызывают у человека ряд опасных инфекционных заболеваний - сыпной тиф, лихорадку Скалистых гор. Хламидии являются также возбудителями ряда инфекционных заболеваний (орнитоз, трахома, и др.).

Хищничество – уничтожение хищником жертвы, тоже одна из форм антагонизма. Процесс хищничества состоит в том, что некоторые микробы поглощают клетки других видов микроорганизмов и используют их в качестве питательного материала. Популяция хищника меньше популяции жертвы. Простейшие питаются бактериями и грибами, хищные грибы поедают нематод. К числу микроорганизмов-хищников относятся главным образом, миксоформы (миксобактерии, миксомицеты)

Следует иметь ввиду, что рассмотренные типы взаимодействий, существующие в мире микроорганизмов, не могут исчерпать всё то разнообразие связей, которое имеет место среди микроорганизмов в природе.

Два общих экологических принципа: в ходе эволюции и развития экосистемы существует тенденция к уменьшению роли отрицательных взаимодействий и увеличению роли положительных, способствующих выживанию взаимодействующих видов. В новых ассоциациях вероятность

возникновения сильных отрицательных взаимодействий больше, чем в старых ассоциациях.

Гипотеза симбиогенеза (К.С.Мережковский, 1910) и её значение. Симбиозы стали мощным фактором эволюции более 1-1.5 млрд.лет назад, начиная с образования эукариотической клетки. Это принципиальное усложнение организации клетки скорее всего является результатом симбиотического объединения древних прокариот. Сейчас она получила подтверждение на молекулярном уровне благодаря работам Л.Маргулис., хотя пока не признана теорией. Митохондрии произошли от аэробных органотрофных грамотрицательных бактерий, а пластиды от кислородных цианобактерий. Высказано мнение, что прокариотические клетки, давшие начало пластидам, митохондриям и возможно ядру, поглощались путём фагоцитоза клеткой-предшественницей эукариотической. В результате такого комплексного эндосимбиоза произошёл глобальный ароморфоз (принципиальное усложнение организации), положивший начало развитию многоклеточности и образованию нового надцарства – эукариот. Многоклеточные организмы также вступали в симбиозы с микроорганизмами. Их совместная жизнь определяет и их совместную эволюцию (коэволюцию). Таким образом, *концепция симбиоза имеет большое значение* для понимания эволюции и филогенитических отношений между прокариотами и эукариотами.

Для объяснения функционирования и эволюции микробных сообществ и биосферы в целом, Г.А.Заварзиным недавно был предложен, в качестве основополагающего, *принцип аддитивности*, предполагающий кооперацию между организмами, а не конкуренцию, как считали ранее, движущей силой процесса эволюции микробных сообществ. "Кооперация лежит в основе трофической пирамиды сообществ, а конкуренция служит механизмом тонкой регулировки в системе" (Заварзин, 1995).

В практическом отношении для нас представляют более значительный интерес антагонистические взаимодействия микроорганизмов, изучение которых на протяжении последнего века послужили основой современной химиотерапии.

Впервые обобщение отдельных фактов микробного антагонизма осуществил И.И.Мечников. Он же наметил пути его использования на практике. Его учение о преждевременном старении в связи с постоянной интоксикацией организма гнилостными бактериями кишечника и использование молочнокислых палочек простокваши для вытеснения этих гнилостных бактерий заложили научные основы современного учения об антагонизме микроорганизмов.

История развития науки об антибиотиках. Современные представления об антибиотиках.

Изучение микробов антагонистов и образуемых ими антибиотиков составило целую эпоху в микробиологии.

Пастер в 1877 году обратил внимание на то, что при совместном культивировании возбудителя сибирской язвы с другими микробами наблюдается довольно быстрое угнетение его развития. Аналогичные наблюдения были сделаны и рядом других европейских учёных, которые пришли к выводу, что антагонистические свойства у бактерий проявляются наиболее активно у спорообразующих форм, в частности у бацилл (Дюкло, 1898; Николь, 1907; Дюбо, 1939). К 1940 году – ко времени открытия пенициллина в качестве лечебного препарата в науке было накоплено достаточно данных, показывающих, что среди многих видов споровых бактерий имеются штаммы, способные образовывать и выделять в окружающую среду антибактериальные и антигрибные вещества. Причём делались уже попытки использовать эти вещества для практических целей в медицине и сельском хозяйстве.

В последующие годы из почвенных микроорганизмов были выделены десятки лекарственных веществ – антибиотиков, которые сыграли и играют огромную роль в лечении бактериальных и грибных заболеваний.

Большой вклад в изучение антагонистических свойств актиномицетов и их распространения в природе сделан советскими микробиологами – Бородулина, Нахимовская, Красильников, Кореняко, Гаузе, Преображенская, Егоров. Был налажен поиск микробов антагонистов и выделение образуемых ими антибиотических веществ. Во всём мире были открыты специальные институты антибиотиков. Продуценты антибиотиков обнаружены среди различных систематических групп: бактерий, грибов, водорослей, лишайников. Есть антибиотики, образуемые высшими растениями (фитоалексины) и животными (лизозим, интерфероны). Эта работа ведётся и в настоящее время, но новых антибиотиков открывают мало. Видимо, уже всё открыто или ещё не нашли тех специфических групп микроорганизмов, которые образуют ещё не изученные антибиотики. Широко применяют химические модификации открытых ранее антибиотиков.

Отличительные свойства антибиотиков заключаются в том, что они действуют в низких концентрациях и избирательно (этиотропно) на определённые микроорганизмы. Антибиотики имеют характерные спектры действия (набор чувствительных микроорганизмов).

По спектру действия различают:

- с преимущественным действием на грамположительные (линкозамиды, биосинтетические пенициллины, ванкомицин)
- с преимущественным действием на грамотрицательные микроорганизмы (монобактамы, циклические полипептиды)
- широкого спектра действия (аминогликозиды, левомецетин, тетрациклины, цефалоспорины)

Механизмы действия антибиотиков резко различаются. Пенициллин и цефалоспорин подавляют синтез бактериальной клеточной стенки (пептидогликана). Макролиды (эритромицин) подавляют функцию 50S-субъединиц рибосомы. Аминогликозиды (стрептомицин, неомицин) прекращают работу 30 S-субъединицы рибосомы. Полимиксин разрушает цитоплазматическую мембрану и т.д.

- подавляют синтез бактериальной клеточной стенки (бета-лактамы, циклосерин, ванкомицин)
- нарушают функции цитоплазматической мембраны (циклические полипептиды, полиеновые)
- нарушают синтез белков и нуклеиновых кислот (левомецетины, тетрациклины, макролиды, линкозамиды, аминогликозиды, фузидин, анзамицины).

Антибиотики относятся к разным классам химических соединений:

β -лактамы: пенициллины, цефалоспорины, монобактамы, карбапенемы

Макролиды: эритромицин, азитромицин,

Аминогликозиды: канамицин, нермицин,

Тетрациклины: метациклин, тетрациклин,

Гликопептиды: ванкомицин, тейкоплакин,

полиеновые антибиотики: амфотерицин, нистатин.

Линкозамины: линкомицин, клиндамицин.

Существует деление антибиотиков и по биологическому происхождению: бактериальные, грибные, водорослевые, антибиотики растений и животных.

Широкое использование антибиотиков в лечебной практике лежит в основе современной химиотерапии. Неприятность в том, что патогенные микробы довольно быстро дают резистентные формы и дозы антибиотиков для лечения приходится увеличивать, а затем переходить на другой антибиотик. В основе развития лекарственной устойчивости лежат мутации хромосомных генов или приобретение плазмид устойчивости. Существуют роды микроорганизмов, обладающие природной устойчивостью. Биохимическую основу устойчивости обеспечивают следующие механизмы:

1. энзиматическая инактивация антибиотиков

2.изменение проницаемости клеточной стенки для АБ или подавление его транспорта в клетку

3.изменение структуры компонентов микробной клетки.

Развитие того или иного механизма резистентности зависит от химической структуры антибиотика и свойств бактерий.

Методы борьбы с лекарственной устойчивостью:

1.Поиск и создание новых химиопрепаратов. Создалось соревнование: микробиологи быстрее найдут новые антибиотики или микробы приспособятся к ним. На помощь пришли химики, которые создают химические модификации антибиотиков. Микробы какое-то время оставались чувствительными к ним. Однако в общей гонке пока побеждают микробы.

2. Создание комбинированных препаратов, действие отдельных компонентов в которых усиливается.

3.периодическая смена антибиотиков

4. соблюдение основных принципов рациональной химиотерапии. (определять чувствительность к ним возбудителя заболевания, лечение начинать как можно раньше, назначать препарат в максимальных дозах, препятствуя адаптации).

Антибиотики используются не только в медицине, но и в сельском хозяйстве. Например, препарат агроцин-84, промышленно получаемый из *Agrobacterium rhizogenes*, используется для борьбы с такой болезнью растений, как корончатый галл.

Биологическая роль антибиотиков в природе.

После открытия способности почвенных микроорганизмов синтезировать антибиотики встал вопрос об их возможной экологической роли как регуляторов микробных сообществ.

Существуют две точки зрения. Первая исходит из того, что образование антибиотиков – специфическая особенность обмена веществ организмов, возникшая и закреплённая у них в процессе эволюционного развития. Образование и выделение антибиотиков в окружающую среду при жизни организмов и после их отмирания – могущественный фактор в борьбе за существование видов.

Вторая точка зрения состоит в том, что антибиотическое вещество, образуемое организмом, носит случайный характер и зависит лишь от условий культивирования, это незакреплённое свойство организма, проявляющееся только при развитии в специфической среде и при наличии

особых внешних условий. Поэтому антибиотики не имеют для продуцентов приспособительного значения, их образование не связано с эволюцией микроорганизмов. Эта точка зрения основана на следующих положениях:

Не все микроорганизмы продуцируют антибиотические вещества, что не мешает, однако, их широкому распространению в природе.

Антибиотические вещества, даже самые устойчивые, довольно быстро инактивируются в почве, естественном обитании микроорганизмов.

Первую точку зрения разделяют, в основном, отечественные учёные. В частности, Н.А.Красильников доказывал, что в почве антибиотики имеют существенное значение в формировании микробоценозов.

Противоположную точку зрения имел американский учёный С. Ваксман, автор двух учебников по почвенной микробиологии. По этому вопросу до сих пор не существует единого мнения, что говорит о том, что явление это непростое.

Бактерии имеют механизмы защиты против поедателей их амёб, продуцируя антибиотики продигиозин (*Serratia marcescens*) и виолацеин (*Chromobacterium violaceum*). То же самое обнаружено для псевдомонад, продуцирующих пиоцианин и феназин. Существуют конкурентные отношения между фитопатогенными и непатогенными видами ервиний на основе биосинтеза антибиотика неизвестной пока структуры. В экстрактах фекалий человека обнаруживаются образуемые энтеробактериями антибиотики микроцины, важные, по-видимому, для заселения бактериями кишечного тракта человека в младенческом возрасте. Чётким указанием на образование антибиотиков в природе можно считать то, что большинство почвенных бактерий содержит плазмиды устойчивости к антибиотикам.

Лекция 2.2

Тема: «Действие факторов внешней среды на микроорганизмы (аутэкология)»

Экология – наука об отношении организмов между собой и с окружающей средой (Э.Геккель, 1866). Основной единицей в экологии является **экосистема**. По размеру микробные экосистемы разнообразны: озеро, корень растения, рубец жвачного животного.

Экология микроорганизмов ещё очень молода. В основательном учебнике американского учёного О.П.Одума (1953) не приведено ни одного примера из экологии микроорганизмов.

Выделение экологической микробиологии в самостоятельный раздел произошло благодаря работам С.Н. Виноградского (Микробиология почвы, проблемы и методы (1949). Согласно концепции Виноградского (1925 г) микроорганизмы экосистемы можно подразделить на две категории – **автохтонные** (типичные обитатели и присутствуют в данной экосистеме всегда) и **аллохтонные или зимогенные** (их наличие в экосистеме зависит от случайного повышения концентрации питательных веществ. Эти виды чужды данной экосистеме, присутствуют временно или пребывают в состоянии покоя).

Экосистема включает биотический и абиотический компоненты. Биотический компонент составляет сообщество организмов или **биоценоз** (макробиоценоз и микробиоценоз). Абиотический компонент – физические и химические условия экосистемы (окружающая среда).

В зависимости от объекта исследований в общей экологии различают аутэкологию (изучение влияния факторов внешней среды на организмы) и **синэкологию** (изучение взаимоотношений с другими организмами).

Для любого абиотического фактора существует интервал значений, в пределах которого показатели состояния организма остаются на уровне, называемом оптимальным (*зона оптимума*). Более низкие уровни фактора не обеспечивают полноценное функционирования организма (*зона лимитирования*), а избыточные уровни фактора могут подавлять жизнедеятельность организма (*зона ингибирования*). Существуют такие экстремально низкие и экстремально высокие уровни фактора, при которых жизнь организма становится невозможной. Крайние пределы изменений фактора, которые организм ещё способен перенести, называются *пределами*

толерантности. Эврибионты имеют широкие пределы толерантности, стенобионты – узкие.

Имеет значение и положение зоны оптимума на всей шкале возможных изменений данного фактора. В отношении температуры среди стенобионтов различают, например, *психрофилов и термофилов*.

Температурные группы микроорганизмов.

Принято различать три основные, так называемые, кардинальные температурные точки, имеющие значение для развития (роста) микроорганизмов: оптимум, минимум и максимум.

По отношению к температуре микроорганизмы делят на три основные группы – психрофилы, мезофилы и термофилы.

Психрофилы (криофильные)-микроорганизмы. Имеют минимальную температуру роста около 0⁰С (на несколько градусов ниже), оптимум (растут с максимальной скоростью) при температуре не выше 15⁰С. В почвах и водоёмах умеренных широт обитают *психротолерантные* микроорганизмы, метаболически активные при температурах до 20- 30⁰ С. (фотобактерии, железобактерии. Ряд плесеней, некоторые псевдомонады, флавобактерии, и даже патогенны, например *Clostridium botulinum* типа E).

Они адаптированы к пониженным температурам благодаря следующим особенностям:

- Клетки психрофилов содержат ферменты с низкой температурой активации
- Проницаемость мембран регулируется большим количеством ненасыщенных жирных кислот, содержащихся в липидах
- Полисомы образуются и при низких температурах.

Психротолеранты имеют значение в связи с современными пищевыми технологиями. Охлаждение или замораживание для сохранения продуктов питания не обязательно полностью подавляет микробную активность. Возможен рост психротолерантных микроорганизмов с небольшой, но заметной скоростью. Порчу молока, которое хранится после пастеризации при низкой температуре, вызывают психротолерантные штаммы псевдомонад, а не классические молочнокислые бактерии.

Мезофиллы – растут обычно при температурах от 0-10⁰ до 40-45⁰С, оптимум 28-30⁰ С. (большинство сапрофитов, обитатели кишечника и верхних слоёв почвы).

Термофилы – микроорганизмы с минимальной скоростью роста обычно выше 50⁰. Определение термофилов неоднократно менялось в связи с

расширением наших знаний о температурных границах жизни и температурных оптимумах для отдельных штаммов микроорганизмов. От 40⁰С в 1940-х годах до 65-75⁰С в 1970 г, когда был исследован температурный оптимум американским учёным Т.Броком в горячих источниках Йеллоустонского национального парка. В 1980 гг выделены многочислнные прокариоты с температурным максимумом до 110⁰С (кальдоактивные).

Внутри группы термофилов различают три подгруппы:

Термофильные – растут в диапазоне 40-60⁰

Экстремальные термофильные микроорганизмы вовсе не растут при температурах ниже 55⁰, оптимальная температурная зона роста около 80⁰, максимальная 93-105⁰.

Выше 75⁰ – гипертермофильные.

Большинство известных сегодня гипертермофилов – археи, и лишь немногие – зубактерии.

Термотолеранты характеризуются максимальной температурой роста, равной 45-48⁰.

Термофильные бактерии широко распространены в природе, выделяются из почвы, торфа, ила, воды, компоста, навоза и т.д. Самонагревание сена, навоза и торфа, которое иногда приводит к пожару, в значительной степени обуславливается развитием термофилов.

Широко распространены термофильные сульфатвосстанавливающие бактерии, оптимальная температура роста которых достигает 55-60⁰ С. Горячие источники, богатые сероводородом изобилуют термофильными видами тионовых бактерий *Thiobacillus thermophilica* (*Thermus aquaticus*). Они встречаются в районах вулканической деятельности, например на территории Италии и Исландии

Местообитания термофильных прокариот не обязательно экзотические места. Обычная почва прогревается в жаркие дни на поверхности до 50-60⁰ и периодически может быть подходящей средой для роста термофилов. В компостных кучах при разложении органического вещества температура повышается до 80-85⁰ С. Процесс разогревания недостаточно высушенного сена приводит к выделению водорода, который иногда воспламеняется и приводит к пожару на фермах. В сене доминируют при этом гетеротрофные термофилы.

Причины, обуславливающие способность термофилов существовать при высоких температурах. Структурные и клеточные элементы клетки

(оболочка, мембраны, рибосомы, входящие в состав клетки протеины, жиры, ферменты) термофильных микроорганизмов заметно отличаются качественно и количественно от подобных клеточных компонентов мезофильных форм.

- В мембранах высокое содержание длинноцепочечных (С 17-С 19) насыщенных жирных кислот с разветвлёнными цепями.
- Ферменты имеют низкую молекулярную массу и содержат значительное количество ионов кальция
- В клетках присутствуют особые белки-шепероны, которые организованы в так называемые термосомы способствующие формированию термостабильной третичной структуры белка.
- для стабилизации ДНК важны особые белки гистоны, сдвигающие точку плавления на 30⁰ и больше.

Клетки термофилов способны к быстрому ресинтезу разрушенных и инактивированных клеточных компонентов. Споры термофильных микроорганизмов обладают значительно большей термоустойчивостью, чем споры мезофильных форм. Повышенная термоустойчивость связана с повышенным содержанием в них дипикалиновой кислоты и липидов.

Процессы метаболизма в клетках термофилов протекают с гораздо большей скоростью, чем в клетках мезофилов. Поэтому концентрация кислорода может явиться фактором, лимитирующим рост термофильных микроорганизмов.

Устойчивость микробной клетки к высокой температуре зависит от содержания влаги в протоплазме. Чем выше процент воды в клетке, тем быстрее и при меньшей температуре наступает её гибель. Отсюда понятно, почему споры выдерживают более высокие температуры, чем вегетативные клетки.

Практическое использование высоких и низких температур.

Высокая выживаемость микробов и сохранение их видовых признаков под воздействием низких температур в природной среде послужило основанием для использования замораживания (криоконсервации) с целью сохранения микроорганизмов в практической деятельности лабораторий. Криоконсервация по сравнению с другими методами хранения (лиофилизация), отличается сравнительно небольшим повреждающим действием, что позволяет рассматривать ее как перспективный метод сохранения микробных культур.

Высокие температуры широко используются в практике для стерилизации, а низкие для криосохранения, поскольку холод только

задерживает развитие микроорганизмов, но не убивает их. Содержание микробов в течение нескольких часов при температуре – 253⁰ С (жидкий водород) не приводит их к гибели. При повторном замораживании и оттаивании микробы обычно погибают.

Действие высушивания и осмотического давления

Развитие микроорганизмов возможно только при наличии в субстрате доступной для них свободной воды в жидко-капельном состоянии, при удалении влаги ниже определённого уровня обмен веществ в клетке прекращается.

Растворённые соли создают для организмов ту же проблему, что и крайняя сухость, в том смысле, что свободная вода становится для клетки лимитирующим фактором. Большинство микроорганизмов переносят высушивание хорошо. Наиболее устойчивы – грибы. Устойчивость к обезвоживанию у разных бактерий неодинакова. Выживаемость микроорганизма в сухой почве выше, если он способен формировать те или иные устойчивые формы. Так вегетативные клетки псевдомонад чувствительны к недостатку влаги, тогда как цисты азотобактера и споры актиномицетов проявляют значительную устойчивость.

Действие высоких концентраций солей на микробные клетки может быть обусловлено как самим растворённым веществом, так и его влиянием на активность воды $a_w = n_2/n_1 - n_2$, где n_1 и n_2 соответственно число молей растворителя и растворённого вещества. Значения a_w , меняются от 0 до 1. a_w , равное 1, относятся к чистой воде.

Величины a_w , лимитирующие рост различных бактерий, колеблются в пределах 0,99-0,60. Большая часть микроорганизмов не растёт при активности воды ниже 0,95, а микроорганизмы растущие при активности воды ниже 0,60. до настоящего времени не обнаружены. При низкой водной активности лучше всего развиваются мицелиальные грибы и дрожжи. Большинство бактерий требует достаточно высоких значений a_w (0,99-0,90).

В гипертонических растворах, имеющих более высокое осмотическое давление, чем внутри микробной клетки, последние жить не могут: вода выходит из клетки наружу, клетка обезвоживается и протопласт сжимается – плазмолиз. В среде с очень низким осмотическим давлением вода поступает внутрь клетки, оболочка может лопнуть, такое явление называют плазмолизом.

Высокое осмотическое давление среды не препятствует росту лишь некоторых микроорганизмов, называемых осмофильными. Так, многие плесени растут на едва увлажнённых субстратах. Осмотическое давление в

их клетках очень высокое. Даже мед иногда разлагают дрожжи, которые растут при содержании сахара 70-80% (но не соли).

Для ослабления осмотического стресса в клетках бактерий накапливаются совместимые осморегуляторные вещества, к числу которых относят пролин, эктоин, бетаин, трегалозу.

Существуют организмы, способные жить лишь при очень высоких концентрациях солей (NaCl). Это галофильные организмы, представлены двумя типами – *умеренные галлофилы* (содержание соли мин 1-2%, оптимум 10%, макс 20% концентрацию; большинство бактерий не переносят NaCl выше 5%) и *экстремальные галлофилы* – археобактерии родов *Halobacterium* и *Halococcus*, которые требуют содержания соли 12-15% и способны хорошо расти в насыщенном 32%-ном растворе NaCl.

Практическое значение. Неспособность микроорганизмов расти на средах с высокими концентрациями солей и сахаров успешно используют в пищевой промышленности для консервирования различных продуктах.

Способность некоторых микробов сохранять жизнеспособность в высушенном состоянии используется для приготовления сухих вакцин, сухих заквасок для кисломолочных продуктов.

Высушивание микроорганизмов в глубоком вакууме обеспечивает сохранение их жизнеспособности в течение ряда лет. Метод получения сухих культур высушиванием из замороженного состояния (-76°C) под высоким вакуумом называется *лиофилизацией*.

Кислотность среды – один из наиболее важных химических факторов, определяющих рост и развитие микробов. Многие грибы, водоросли и бактерии проявляют толерантность к концентрациям водородных ионов в широком диапазоне pH, однако оптимум роста большинства микроорганизмов, как правило, находится в области средней кислотности (pH 5,5-6,0).

Среди бактерий выделяют три основные группы по диапазону pH, благоприятному для роста: ацидофилы (pH меньше 4), нейтрофилы (pH оптимум 6-7) и алкалифилы (pH оптимум 8-9).

Основные проблемы, связанные с ростом при крайних значениях pH – это поддержание pH цитоплазмы на уровне, близком к нейтральному, а также обеспечение активности выделяемых и поверхностных белков.

К числу основных механизмов ацидотолерантности микроорганизмов в настоящее время относят структурные особенности клеточной стенки и

мембраны, энергозависимый транспорт H^+ из клетки и компенсаторные ферментативные сдвиги метаболизма.

Состав мембраны у *E. coli* может варьировать в зависимости от рН, что оказывает влияние на проницаемость мембраны для протонов водорода. Минимальная проницаемость мембраны для H^+ - широко распространённая стратегия у археобактерий.

Установлено, что даже у экстремальных ацидофилов, живущих при рН 2-3, внутриклеточный рН всегда поддерживается на уровне 5,5-6,3. Это достигается как особенностями строения клеточной стенки и мембраны, так и повышенной метаболической активностью (механизм энергозависимого выделения ионов H^+). Для удаления протонов из бактериальных клеток у *Enterococcus hirae* при низком рН происходит индукция H^+/K^+ - системы (77), которая обеспечивает возможность роста при кислых рН (78). Энергетические затраты для таких помповых систем весьма высоки, и авторы полагают, что урожай клеток, растущих при кислых рН, будет при этом снижен.

Изменение рН окружающей среды вызывают у многих микроорганизмов компенсаторные ферментативные сдвиги метаболизма. Например, *Escherichia coli* реагирует на повышение кислотности среды синтезом декарбоксилаз аминокислот. Образующиеся в результате реакции декарбоксилирования амины приводят к снижению кислотности среды. Энтеробактерии, подобные *Escherichia coli* и *Salmonella typhimurium*, проявляют устойчивость к широким вариациям рН и считаются «базовой» в этом отношении группой бактерий. У клубеньковых и большинства других почвенных бактерий никаких кислото-индуцируемых механизмов для кондиционирования внешней среды не выявлено. Главным условием функционирования таких механизмов является наличие подходящих субстратов в достаточном количестве. Для энтеробактерий в кишечнике животных таких субстратов достаточно. В обычной, бедной питательными веществами, стрессовой (кислой) среде труднодоступность питательных веществ для бактерий вряд ли позволит оптимизировать значения рН, хотя ризосфера растений в этом случае может быть исключением. Резко изменять рН, подщелачивая окружающую среду в процессе жизнедеятельности, могут водоросли.

Механизмы алкалифильности:

- Свойство поддержания рН цитоплазмы на физиологическом уровне в щелочной среде.

- Ферменты устойчивы к денатурирующему влиянию щелочной среды.
- Сопряжение транспорта электронов с выделением из клеток ионов натрия для поддержания гомеостаза рН и запасания энергии

Отрицательное влияние высокой кислотности среды на большинство микроорганизмов используют при консервировании пищевых продуктов, приготовлении маринадов, квашении капусты, силосовании и т.д.

Ферменты алкалофильных микроорганизмов используются при производстве детергентов.

Отношение микроорганизмов к кислороду. Подразделяются на 3 группы: аэробы, анаэробы и факультативные анаэробы.

Микробы, нуждающиеся в кислороде – облигатные *аэробы*. Среди них есть группа, которая потребляет кислород, но хорошо растёт только при содержании его в значительно меньшей концентрации, чем в воздухе (21%) – *микроаэрофилы* (от 0,6 до 10% кислорода).

Анаэробы (не использующие кислород) бывают двух видов: облигатные (Клостридиум, трепонема, метанобактериум, Метаносарцина) и аэротолерантные – не погибающие при контакте с кислородом.

Токсичность кислорода для анаэробов обусловлена отсутствием у них особых ферментов – супероксиддисмутазы и каталазы, обычно содержащихся в клетках аэробов и аэротолерантных анаэробов и защищающих организм от токсичных продуктов кислородного обмена (перекись и др.).

Существуют факультативные анаэробы, способные переключаться с аэробного на анаэробный тип метаболизма (кишечные бактерии, некоторые дрожжи и т.д.).

Излучения.

Свет – фактор, необходимый для роста фотосинтезирующих микроорганизмов, например, цианобактерий, зелёных и пурпурных бактерий, которые имеют пигменты (в частности, каротиноидные), обеспечивающие поглощение энергии солнечного луча и превращать её в химическую. Для большинства других бактерий прямые солнечные лучи бесполезны или даже вредны.

Губительное действие обусловлено негативным влиянием коротковолнового спектра – УФ. Все патогенные микробы являются фотофобами. Сапротрофные микробы и споры более устойчивы к действию света, особенно пигментированные. Установлено, что УФ лучи вызывают коагуляции белков, разложение некоторых сложных органических веществ,

инактивируют ферменты. Поэтому Уф лампы используют для стерилизации воздуха, создании стерильности при массовых посевах культур в промышленности и тд.

УФ-излучение с длиной волны 400-320 нм вызывает мутагенный и летальный эффект. Гибель клетки связана с повреждением ДНК и мембран.

Длины волн в диапазоне 320-290 нм и 290-200 нм оказывают на микроорганизмы сходное действие: вызывают образование пиримидиновых (тимин, цитозин) димеров в ДНК, препятствующих её репликации. Многие микроорганизмы обладают механизмами репарации (устранения повреждений). При не очень высоких дозах УФ-излучения, повреждения могут быть частично сняты при обработке клеток бактерий видимым светом с длиной волны 400 нм (фотореактивация).

Ионизирующая радиация (рентгеновские лучи, α -частицы, γ -излучение и др.) с длиной волны менее 10 нм в низких дозах оказывает мутагенное действие, в высоких – летальное. Ионизирующее излучение в отличие от УФ вызывают не только прямые, но и косвенные повреждения ДНК, что связано с образованием свободных радикалов и органических перекисей.

Радиорезистентность бактерий варьирует в широких пределах и зависит от систем репарации и регуляции. Микробы всё же значительно устойчивее к радиоактивным излучениям, чем высшие организмы. Смертельная доза в сотни и тысячи раз больше, чем для животных, а дрожжи и плесени являются еще более устойчивыми. Споры выносливее вегетативных клеток. Весьма высока устойчивость некоторых кокков, изолированных из облучённых продуктов.

Давление и механические сотрясения. Микроорганизмы не испытывают значительных изменений под влиянием даже очень высоких давлений (3000 атм). К механическим сотрясениям, особенно если они сильные и длительные, микроорганизмы чувствительны и при их воздействии могут погибнуть. Так, самоочищение рек отчасти происходит в результате гибели микробов по воздействию сильных толчков воды.

Действие химических факторов. Различные химические вещества в зависимости от ряда условий не одинаково действуют на отдельные виды микроорганизмов. Очень многие (антисептики, ионы тяжёлых металлов, антибиотики) угнетают жизнедеятельность микроорганизмов (бактериостатическое действие) или убивают их (бактерицидное действие). Однако добиться уничтожения всех микроорганизмов в каком-либо субстрате при помощи химических соединений трудно, т.к. различные микробы по-разному относятся к химическим агентам. Поэтому на практике

применение различных химических соединений имеет целью уничтожение только определённых микроорганизмов, как в определённом субстрате, так и во внешней среде. Этот приём, в отличие от стерилизации, при которой происходит гибель всех микробов, называется *дезинфекцией*.

Действие дезинфицирующего вещества основано на различных реакциях, в зависимости от его природы. Так, некоторые соли, спирты, фенолы вызывают тот же эффект, что и высокая температура – свёртывание белков.

Кислоты и щелочи вызывают распад белков на более простые соединения – пептоиды и отдельные аминокислоты.

Некоторые химические соединения, являющиеся сильными окислителями (марганцевокислый калий, перекись водорода, хлорная известь и др.) окисляют белок бактериальных клеток и вызывает его разрушение

Бактерицидными свойствами обладают ионы тяжёлых металлов. Механизм заключается в ингибировании синтеза белка и РНК или нарушении координации этих жизненно важных процессов.

Бактерицидность присуща некоторым краскам: генциан-метилу, кристалл-виолету, малахитовой зелени, фуксину. Краски добавляют к питательным средам для получения чистых культур, т.к. одни микробы растут в присутствии той или иной краски, а другие нет. Некоторые краски используют для ослабления культур микробов при изготовлении вакцин.

Биологические факторы. Бактериофагия. Действие бактериофагов специфично, так как они разрушают клетки только определённых видов микроорганизмов. Однако некоторые фаги обладают способностью разрушать микроорганизмы не только определённого вида, но и родственных видов.

Лекция 2.3

Тема: «Особенности экологической стратегии микроорганизмов во взаимоотношениях с микроорганизмами, животными и растениями»

Особенности паразитизма микроорганизмов.

Паразитизм – составная часть общей стратегии жизни микроорганизмов. Влияние паразитов на состояние экосистем происходит благодаря не трофическим, как при других формах взаимоотношений, а патогенным воздействиям на хозяев, вызываемым, прежде всего, токсическими и иммунологическими чужеродными метаболитами паразитов.

Патогенностью называется способность некоторых микроорганизмов причинять вред хозяину – вызывать болезнь. Мера патогенности – **вирулентность**. Обычно термин патогенность используют в отношении видов микроорганизмов – паразитов, а термин вирулентность – в отношении штаммов внутри этого вида.

К основным **факторам** патогенности относят: *адгезию* – прикрепление к клетке хозяина, *колонизацию* – способность размножиться на поверхности клетки хозяина, *инвазию* – проникновение в клетку хозяина;

Факторы, препятствующие фагоцитозу и подавляющие его: молекулярную мимикрию – способность противостоять антителозависимым реакциям хозяина благодаря наличию сходных по строению молекул у хозяина и паразита,

антигенной изменчивости, способности к имитации некоторых метаболитов и структур хозяина;

ферменты, способствующие распространению микроорганизма по тканям хозяина (коллагеназа, стафилокиназа расщепляет фибриновую сеть – участвуют в разрушении соединительных тканей), а также разрушающие защитные факторы хозяина (такие как комплемент (фермент нейраминидаза), лизоцим, гистоны, дефензины, антибиотики и т.д.);

токсины – особенно мощный специфический фактор патогенности микроорганизма. Благодаря токсинам микробы превращаются из свободноживущих, комменсалов или мутуалистов в паразитов, что даёт им возможность развиваться в новых экологических нишах. Примерами таких токсинов могут служить холерный токсин (*Vibrio cholera*), дифтерийный токсин (*Corynebacterium diphtheria*), столбнячный токсин (*Clostridium tetani*) и ботулиновый токсин (*Clostridium botulinum*). Эти токсины определяют

симптомы болезни. Белковые токсины относятся к наиболее сильнодействующим биологически активным веществам. Например. Всего один грамм ботулинового токсина может вызвать гибель до 10 млн. человек.

Таким образом, **патогенность – сложное явление, генетически закреплённое естественным отбором, дающее паразиту преимущество в борьбе за существование.** Чем менее способен хозяин противостоять паразиту, тем тяжелее протекает *инфекция* (антагонистическое взаимодействие паразита и хозяина) и более выражены проявления болезни.

Наиболее полно изучен паразитизм в отношении человека. Еще три-четыре десятилетия назад считалось, что вакцинация, антибиотики обеспечат скорую победу человечества над инфекционными болезнями. Вместо этого в последние годы мир узнал о распространении новых, ещё более опасных инфекций, а многие ранее мало известные (хламидиозы, болезнь Лайма, легионеллёз) или считавшиеся «побеждёнными» (холера, малярия, туберкулёз) имеют тенденцию к распространению.

Распространение инфекционных болезней обусловлено совершенствованием стратегий паразитизма вызывающих эти болезни микроорганизмов. Стратегию паразитизма, при которой продолжительность инфекционного процесса лимитируется иммунной системой хозяина, называют **первой стратегией**. При этом организм хозяина или побеждает паразита и выздоравливает, или погибает. Такие инфекции называют быстрыми. В отношении них современной медициной накоплен значительный опыт рациональной терапии и профилактики. В последние годы выявляются примеры и **второй стратегии паразитизма**, в результате которой хозяин чаще всего не погибает и не выздоравливает, а его болезнь переходит в хроническую, давая обострения при ослабленном иммунитете. Такие инфекции называются медленными. Их продолжительность ограничивается сроком жизни хозяина. Они вызываются микоплазмами, L-формами бактерий, вирусами.

Всё больше данных указывает на то, что некоторые болезни, считавшиеся ещё недавно соматическими или генетическими, также вызываются микроорганизмами, которые используют вторую стратегию паразитизма. Например, показана этиологическая роль различных видов микоплазм в развитии атеросклероза, язвы желудка, хронических заболеваний кишечника, лёгких, а также ревматоидного артрита. Эти болезни многие медики до сих пор не рассматривают как инфекционные и не разрабатывают адекватные пути их лечения. Поэтому инфицирование человечества возбудителями медленных инфекций намного превышает

соответствующие показатели для микроорганизмов, использующих первую стратегию паразитизма.

В последнее время всё большее медицинское значение приобретает группа микроорганизмов, называемых факультативно патогенными или оппортунистическими возбудителями инфекций. В отличие от классических паразитов, оппортунисты относятся к нормальной микрофлоре человека или присутствуют в окружающей среде. При определённых обстоятельствах (ослабление иммунитета, беременность, нарушение состава нормальной микрофлоры) некоторые штаммы оппортунистических возбудителей могут вызывать тяжёлые инфекции. К ним относятся обитающая во внешней среде бактерия *Legionella pneumophila*, а также *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus epidermidis* и *Candida albicans*, входящие в состав нормальной микрофлоры организма.

Защитные механизмы хозяина. Понятие об иммунитете.

Патогенные микробы должны конкурировать с нормальной микрофлорой микроорганизма, которая препятствует их росту.

Нормальная микрофлора человека – это совокупность более или менее часто выделяемых из организма здорового человека микроорганизмов. В условиях физиологической нормы организм человека содержит сотни различных видов микроорганизмов. Их подавляющее большинство – сапротрофы-коменсалы, они не наносят хозяину видимого вреда. Каждому индивидууму свойственны более или менее характерные микробные сообщества.

Неспецифическую защитную роль выполняют физические (реснитчатый эпителий) и химические барьеры (рН, анаэробизм, протеазы, лизоцим). Проникшие в организм микробные клетки поглощаются фагоцитами и подвергаются лизису. Фагоцитозу способствует опсонизация – связывание с поверхностью микробных клеток антител и компонентов *комплемента*.

Комплемент – это комплекс белков сыворотки (известно 26 сывороточных белков. Обозначаются С1, С2 и т.д.), активируемых микробными клетками. Активация комплемента вызывает различные эффекты иммунной системы, которые приводят к повреждению мембран бактериальных клеток, их лизису и элиминации возбудителя. Устойчивые к компонентам сыворотки возбудители способны выживать в присутствии комплемента.

Система комплемента относится к неспецифическим механизмам гуморального иммунитета, фагоциты представляют неспецифический клеточный компонент иммунной системы.

Высшие организмы, в том числе человек, обладают способностью к **специфической реакции на чужеродные молекулы и клетки**, называемой *иммунным ответом*. В иммунном ответе участвуют В- Т- лимфоциты – клетки иммунной системы. предшественниками которых служат стволовые клетки костного мозга.

В-лимфоциты, активированные антигеном, секретируют антитела (иммуноглобулины). Иммуноглобулины представляют собой *гуморальный фактор иммунитета* и обладают специфичностью к антигенам. Среди пяти классов иммуноглобулинов в наибольшем количестве в сыворотке крови присутствуют IgG, и являются прототипом всех иммуноглобулинов. Взаимодействие антигенов с иммуноглобулинами на В-клеточной поверхности необходимо для стимуляции В-клеток и образования ими антител. Антитела играют важную роль в устранении внеклеточных возбудителей. Кроме того нейтрализующие антитела способны инактивировать токсины (например дифтерийный и коклюшный токсины).

Т-лимфоциты выполняют важную роль в клеточном иммунном ответе, особенно против вирусов и внутриклеточно развивающихся бактерий. Существует две субпопуляции Т-клеток: Цитотоксические Т-клетки уничтожают инфицированные клетки, Т-хелперные клетки обеспечивают активацию других клеток иммунной системы, продуцируя *цитокины* – гормоноподобные гликопротеины, участвуют в стимуляции, дифференцировке и пролиферации клеток иммунной системы, участвуют в передаче сигналов между клетками (интерлейкины, известно 29 видов).

Различные компоненты иммунной системы организма хозяина при иммунном ответе на инфицирующий микроорганизм действуют координировано благодаря участию цитокинов, выполняющих роль сигнальных молекул

Таким образом, под **иммунитетом** понимают совокупность биологических явлений, направленных на сохранение постоянства внутренней среды и защиту организма от инфекционных и других генетически чужеродных для него агентов.

Микроорганизмы, использующие различные стратегии паразитизма, часто провоцируют тяжёлые аутоиммунные заболевания. Например, патогенные штаммы кишечной палочки, шигеллы, стафилококки и многие другие бактерии способны синтезировать белки, сходные с инсулином,

гонадотропином, против которых у человека вырабатываются антитела, что приводит к развитию аутоиммунных заболеваний.

Согласно гипотезе *М.В.Супотницкого* о многовековых глобальных циклах быстрых и медленных инфекций, процесс эволюционного формирования возбудителей, обладающих новым потенциалом патогенности, идёт постоянно. Периодически, в зависимости от иммунодефицитности популяции, обусловленной возбудителями медленных инфекций, возвращаются и «старые» возбудители с первой стратегией, что заканчивалось и будет заканчиваться пандемиями.

Взаимоотношения растений и микроорганизмов как один из типов симбиотических отношений.

Систематизация микробно-растительных взаимодействий. Значение растений как центрального звена консорциев с микробными популяциями.

Функциональные группы микроорганизмов - консортов растений:

Паразиты:

биотрофы – проливают в живые клетки и ассимилируют питательные вещества без причинения особого вреда хозяину, иногда стимулируют хозяина на продуцирование дополнительного питания (вирусы, некоторые грибы. Например мучнистая роса). Облигатные патогены

некротрофы – получают питательные вещества, убивая, а затем утилизируя клетки и ткани хозяина, используя для этого токсины и гидролитические ферменты (*Ervinia* spp. и большинство возбудителей грибных болезней). Факультативные патогены.

экрисотрофы,

сапротрофы: питающиеся мертвым органическим веществом.

Роль микроорганизмов в жизни растений. Микробы-активаторы. Микробы-ингибиторы и их действие на растения. Роль растений в жизни микроорганизмов.

Механизмы воздействия микроорганизмов в ризосфере на рост растений. Регуляторы роста растений микробного происхождения. Фитогормоны (гибберелловая кислота, ауксины, цитокинины, АБК, этилен), витамины, сидерофоры, антибиотики).

Ризосфера и традиционные средства воздействия на растения. Интродукция микроорганизмов в ризосферу и биоремедиация. Микробные удобрения и их эффективность.

Биопрепараты на основе ассоциативных азотфиксирующих бактерий: *Агрофил, Ризоагрин, Агрофор, (Agrobacterium radiobacter),*

Азоризин, Биоплант К (Klebsiella planticola ТСХА-91), Мизорин (Arthrobacter mysorens 7,) Флавобактерин, Псевдобактерин, Экстрасол (те же + Asomonas, Bacillus) в трёх модификациях: фунгицидного, стимулирующего и фунгицидно-стимулирующего действия.

Клубеньковые бактерии и бобовые растения. Формирование симбиоза бобовых растений с клубеньковыми бактериями обеспечивается согласованным взаимодействием геномов растений и бактерий. Способность к симбиозу у клубеньковых бактерий обычно детерминирована плазмидными генами: *hos* гены обуславливают узнавание хозяина, *nod* гены --образовывать клубеньки, *nif* гены – способность к связыванию молекулярного азота. Микроорганизм проникает в корни из почвы через корневые волоски, которые в результате скручиваются. Процесс образования клубеньков (хозяйская специфичность регулируется лектинами растения и полисахаридами клеточной стенки бактерий. Инфекционная нить, бактериоды, леггемоглобин). Вирулентность, азотфиксирующая активность, эффективность, специфичность, конкурентоспособность.

Эффективность симбиоза определяется в большей степени генотипом растения-хозяина, чем генотипом бактерий - симбионтов.

Видовой состав бактерий клубеньков бобовых растений (Brady/Shizo/Azo/Rhizobium) Фиксация азота симбиотическими бактериями. Клубеньковые бактерии и не бобовые растения. Взаимоотношения актиномицетов рода *Frankia* с растениями (17 родов древесных и кустарниковых растений, в т.ч. ольха, облепиха, казуарина) и их участие в симбиотической азотфиксации (40-110 кг/га азота в год однолетние, 150-220 кг/га азота многолетние, тропические бобовые – 320-450 кг/га год)..

Паразитизм микроорганизмов на растениях и некоторые механизмы и способы защиты растений от патогенов.

Общие сведения о болезнях растений. *Вирусы, Вироиды, Микоплазмы Бактерии, Актиномицеты* – возбудители болезней растений.

Грибы – возбудители болезней сельскохозяйственных растений. Отдел слизевики (Кила капусты – *Plasmodiophora brassica*) Отдел настоящие грибы. Класс хитридиомицеты (черная ножка капустной рассады - *Olpidium brassica*) Класс оомицеты (*Pitium, Phitophthora investes*). Класс зигомицеты (Мукор, гломовые формируют арбускулярную микоризу, энтомофторовые и зоопаговые). Класс аскомицеты (мучнистая роса – эризифе, сферотека; спорыньёвые – *Claviceps*). Класс базидиомицеты (ржавчина злаков -

Uredinales, головнёвые заболевания – Ustilaginales). Класс дейтеромицеты (фузариум, гелиминтоспориум, церкоспориелла, вертицилл, кладоспориум, альтернария)

Иммунитет растений к инфекционным заболеваниям.

В процессе эволюции у растений выработались разнообразные защитные реакции на воздействие патогенов. Существуют конститутивные барьеры (наличие растительной кутикулы. лигнин-подифенольные компоненты, каллоза.) и индуцированные механизмы (PR-белки, хитиназа, дефензины, фитоалексины, гиперчувствительный отклик – ср .апаптоз, системная приобретённая устойчивость (передача сигнала ацетилсалицилрвой кислотой) и индуцированная системная устойчивость (жасминовая кислота и этилен). Каждый индивидуальный защитный механизм эффективен всего лишь против нескольких специфичных патогенных организмов: (хитиназа – аскомицеты).

Патогены в процессе инфицирования вырабатывают разнообразные химические соединения. Растения же в свою очередь выработали возможность различать некоторые из молекул этих соединений и использовать **процесс распознавания для активации своих собственных защитных ответов** (рис).

Элиситоры – вещества, индуцирующие защитные ответы у растений.

Грибо-растительные взаимодействия. Грибы как унитарный фактор жизненного цикла растений. Взаимодействие грибов с живыми растениями. Фитопатогенные почвенные грибы. Грибы-эпифиты. Грибы-прикорневой зоны.

Грибы-микоризообразователи и виды микоризы. Сложный комплекс, образуемый корнями растений и грибом, называется *микоризой*. Наличие и отсутствие микориз зависят преимущественно от систематического положения растения-хозяина. Не имеют микориз спорофиты плаунов и хвощей. Голосеменные все микотрофны. Среди покрытосеменных не имеют микориз осоковые, ситниковые, капустные, маковые, гвоздичные, большинство гречишных и маревые. Водные растения не имеют микоризы. Бобовые, имея симбиозы с клубеньковыми, снабжены и микоризой. В целом микоризы широко распространены. Типы: *эктотрофная, эндотрофная и переходные*.

Эндотрофная более распространена, связана с травянистыми растениями, многими деревьями и кустарниками. Мицелий внедряется в клетки, формируются везикулы и арбускулы.

Экстротрофная свойственна хвойным и серёжкоцветным покрытосеменным. Плотный грибной чехол окутывает корни так, что корневые волоски исчезают, а вода и питательные вещества из почвы поглощаются мицелием гриба. Обновляется ежегодно.

Роль грибов в стабилизации фитоценозов. Деструкция мертвых растений.

Модуль 3. «Микроорганизмы как биогеохимические объекты»

Лекция №3.1

Тема: «Микроорганизмы как агенты, вызывающие геохимические изменения. Участие микроорганизмов в круговоротах углерода и кислорода»

Вопросы:

1.Основные понятия и представления биогеохимии.

1.1 Живая материя

1.2 Биосфера

1.3 Биогеохимические процессы

1.4 Биогеохимические круговороты

1.5 Цикличность биогеохимических процессов

2.Микроорганизмы как агенты, вызывающие геохимические изменения.

2.1 Исторические аспекты

2.2 Общая картина циклических превращений химических элементов в биосфере

2.3 Распространение микроорганизмов в пространстве и во времени

2.4 Метаболический потенциал микроорганизмов

2.5 Метаболическое разнообразие и гибкость микроорганизмов

3.Круговорот углерода и кислорода.

3.1 Общие положения и расчёты

3.2 Процессы минерализации: образование двуокиси углерода и восстановление кислорода

3.3 Изъятие углерода из круговорота в виде неорганических отложений

3.5 Микроорганизмы, участвующие в круговороте углерода и кислорода

1. Основные понятия и представления биогеохимии

Один из великих микробиологов Луи Пастер писал: «Микробы — бесконечно малые существа, играющие в природе бесконечно большую роль». Роль и значение микроорганизмов в глобальных геохимических процессах исследуется в рамках отдельной научной дисциплины - биогеохимии.

Слайд №3. Биогеохимия — наука, изучающая жизнедеятельность организмов в качестве ведущего фактора миграции и распределения масс химических элементов на Земле. Основоположник биогеохимии — выдающийся естествоиспытатель и мыслитель XXв. В.И. Вернадский. Теоретическую основу биогеохимии составляет учение о живом веществе и биосфере.

1.1 Живая материя

При огромном разнообразии размеров, морфологии и физиологии живых организмов (в том числе, микроорганизмов) общим условием их существования является обмен веществ со средой обитания. Несмотря на то, что живые организмы составляют ничтожную часть массы наружных оболочек Земли, суммарный эффект их геохимической деятельности с учетом фактора времени имеет важное значение. Организмы, поглощая химические элементы селективно, в соответствии с физиологическими потребностями, вызывают в окружающей среде биогенное разделение элементов. Не меньшее значение имеет геохимия метаболизма. Газообразные метаболиты, поступая в атмосферу, постепенно изменяют ее состав. Жидкие метаболиты и продукты отмирания влияют на кислотно-щелочные и окислительно-восстановительные свойства природных вод, которые преобразуют верхнюю часть литосферы: извлекают из нее определенные химические элементы формируют химический состав Мирового океана и осадочных горных пород.

Биомасса живых организмов составляет по весу не больше 0,1% земной коры, в нее входят практически все основные элементы таблицы Менделеева: макроэлементы С, Н, О, N, S, P, Ca, Mg, K, Na, Fe, Cl — в больших концентрациях, чем в земной коре, а микроэлементы, например Al, Zn, Mn, Cu, Si (кремний), Br (бром), I (йод), As (мышьяк) — обычно лишь в следовых количествах, хотя они тоже жизненно необходимы.

1.2 Биосфера

Слайд №3 (продолжение). К общим условиям существования живых организмов относятся наличие воды, некоторых химических элементов (так

называемых биогенных) и поступление лучистой энергии в диапазоне температур от минус 50 до +50°C. Поэтому, жизнь возможна только в тонком слое между земной корой и атмосферой — в *биосфере*.

Термин *биосфера* был введен в научный лексикон австрийским геологом Эдуардом Зюссом (1831 — 1914) в 1875 г. Этим термином Э.Зюсс обозначил сферу обитания организмов. В.И.Вернадский разработал представление о биосфере как о наружной оболочке Земли, охваченной геохимической деятельностью живого вещества.

Слайд №4. В современном понимании биосфера не среда жизни, а глобальная система, где в неразрывной связи существуют, с одной стороны, инертное вещество в твердой, жидкой и газообразной фазах, а с другой — разнообразные формы жизни и их метаболиты. Биосфера представляет собой единство живой материи и верхнего слоя коры Земного шара.

1.3 Биогеохимические процессы

Важное место в системе биосферы занимают процессы взаимодействия между живой материей и инертным веществом Земли. Это взаимодействие происходит в форме массообмена химических элементов между живыми организмами и окружающей средой. Именно процессы массообмена химических элементов объективно характеризуют геохимическую деятельность живых организмов, благодаря им биосфера имеет и поддерживает определенную, как ее называет В.И.Вернадский, «геохимическую организованность».

Слайд №5. Эти процессы, осуществляемые не под воздействием геологических факторов, а в результате жизнедеятельности организмов, были названы Вернадским *биогеохимическими*.

1.4 Биогеохимические круговороты

Практически все вещества земной коры с разной скоростью проходят через живые организмы. Существуют биогеохимические круговороты газового типа с очень протяженными в пространстве и очень подвижными резервуарами в атмосфере или океанах (циклы O_2 , CO_2 , H_2O , N_2) и круговороты осадочного типа с менее протяженными резервуарами в земной коре (Fe, P, Ca). Биологически важные элементы C, O, H, N и S могут в виде газообразных биогенных соединений (H_2O , CO_2 , H_2 , NH_3 , H_2S) присутствовать в атмосфере и при необходимости использоваться живыми организмами.

Слайд № 6. Атмосфера представляет собой огромный резервуар азота, используемый азотфиксирующими бактериями и синезелеными водорослями для синтеза аммиака (NH_3) и в дальнейшем аминокислот, а денитрифи-

цирующие бактерии возвращают азот (N₂) из нитратов почвы в атмосферу. Аммиачный азот, высвобождаемый при разложении органических веществ микроорганизмами, если он не поглощается тут же растениями в виде ионов аммония, окисляется нитритными и нитратными бактериями до нитрата, пригодного только для растений. Небольшие потери азота в результате осадконакопления в крупных водоёмах компенсируются поступлением NH₃ (аммиака), из вулканов с возвратом из морских осадков через цепи организмов. Но изъятие больших количеств биомассы при сборе урожая и ее реминерализация микроорганизмами в других местах разрывают круговорот азота и делают необходимым внесение азотных удобрений на сельскохозяйственных площадях.

1.5 Цикличность биогеохимических процессов

С самого начала изучения взаимодействия живых организмов с окружающей средой было обнаружено, что процессы биогенного массообмена имеют циклический характер. Исследования последних десятилетий показали, что жизненные циклы отдельных организмов и их групп сочетаются с циклическими процессами, обусловленными геофизическими и космическими причинами: вращением Земли вокруг своей оси и вокруг Солнца, перемещением Солнечной системы в Галактике и др.

Слайд №7. Циклы массообмена различной протяженности в пространстве неодинаковой длительности во времени образуют динамическую систему биосферы.

В. И. Вернадский считал, что история большинства химических элементов, образующих 99,7% массы биосферы, может быть установлена лишь с учетом круговых миграций. Он специально отметил, что «эти циклы обратимы лишь в главной части атомов, часть элементов неизбежно и постоянно выходит из круговорота. Этот выход закономерен, т.е. круговой процесс не является вполне обратимым».

Неполная обратимость мигрирующих масс и несбалансированность миграционных циклов допускают определенные пределы колебания концентрации мигрирующего элемента, но в то же время обеспечивают вывод избыточного количества элемента из данного цикла.

2. Микроорганизмы как агенты, вызывающие геохимические изменения

2.1 Исторические аспекты

В конце прошлого века интерес микробиологов был сосредоточен в основном на роли, микроорганизмов как возбудителей инфекционных болезней. Но некоторые ученые продолжали развивать исследования, начатые Пастером, по изучению процессов брожения. Эти исследования ясно показали, что микроорганизмы могут служить специфическими агентами, вызывающими химические превращения в очень больших масштабах, и что мир микробов участвует во многих геохимических процессах.

Слайд №8. Установление важной роли микроорганизмов в биологических круговоротах веществ на Земле — круговороте углерода, азота и серы — это результат работы двух исследователей: С.Виноградского и М.Бейеринка. В отличие от животных и растений микроорганизмы чрезвычайно разнообразны по своей физиологии. Многие их группы специализированы и способны осуществлять химические превращения, совершенно недоступные «ни растениям, ни животным; тем самым они играют крайне важную роль в круговороте веществ на Земле».

Примером такой физиологической специализации микробов могут служить открытые Виноградским автотрофные бактерии. Эти бактерии могут расти в минеральных средах, получая необходимую для роста энергию путем окисления восстановленных неорганических соединений и используя в качестве источника углерода углекислоту. Виноградский обнаружил, что есть несколько различных групп автотрофных бактерий, каждая из которых способна использовать какие-то определенные минеральные вещества в качестве источника энергии; так, например, серные бактерии могут окислять неорганические соединения серы, а нитрифицирующие бактерии — неорганические соединения азота.

Другое открытие, сделанное Виноградским и Бейеринком, касается роли микробов в фиксации атмосферного азота, который большинство живых организмов (растения и животные) в качестве источника азота использовать не могут. Эти исследователи показали, что определенные бактерии, из которых одни — симбионты высших растений, а другие — свободноживущие формы, могут использовать газообразный азот для синтеза своих клеточных компонентов. Эти микроорганизмы пополняют запасы связанного азота, в котором нуждаются все другие формы жизни.

2.2 Общая картина циклических превращений химических элементов в биосфере

Слайд №9. Циклические превращения химических элементов, из которых построены живые организмы, в совокупности составляют

круговорот веществ. На различных этапах циклов участвуют разные организмы, однако вклад микроорганизмов особенно важен как в количественном, так и в качественном отношении. Например, определенные этапы круговорота азота осуществляются исключительно прокариотами.

Современное состояние химических элементов на поверхности Земли в значительной степени является следствием биохимической активности живых организмов. Этот факт наглядно иллюстрируется изменениями, которые произошли в земной атмосфере. До возникновения жизни атмосферные газы находились в сильно восстановленном состоянии: азот — в форме аммиака (NH_3), кислород — в виде воды (H_2O), а углерод — в виде метана (CH_4). В настоящее время они существуют в окисленной форме: азот и кислород — в виде простых газов (N_2 и O_2), а углерод — в виде двуокси углерода (CO_2). Количество многих веществ, обнаруженных на поверхности Земли, отражает равновесие между скоростью их образования и использования в биологических и геологических процессах. Такие превращения происходят на всей Земле, где имеются живые организмы, и в совокупности называются **биосферой**.

Слайд №10. Биосфера охватывает океаны, пресные водоемы, почву континентов и нижнюю часть атмосферы. Эта тонкая оболочка жизни на поверхности Земли находится в более или менее устойчивом состоянии, которое поддерживается круговоротом необходимых для жизни химических элементов и непрерывным притоком энергии Солнца.

Различные этапы круговорота химических элементов осуществляются организмами разных видов. Непрерывное существование каждой отдельной группы организмов зависит от химического превращения химических элементов, осуществляемого другими группами. Разрыв цикла в какой-либо одной точке прервал бы всякое проявление жизни. Все основные элементы, необходимые для жизни (углерод, кислород, азот, сера и фосфор), подвергаются циклическим превращениям.

Общую картину циклических превращений в биосфере можно представить следующим образом. Благодаря преобразованию солнечной энергии в процессе фотосинтеза органические соединения, входящие в состав живых организмов, превращаются в CO_2 и другие неорганические вещества. Основными продуцентами органического вещества являются одноклеточные водоросли (главным образом диатомовые и динофлагелляты), обитающие в океане, и семенные растения, произрастающие на суше. Накопленное таким способом органическое вещество прямо или косвенно служит источником энергии для всех других форм жизни.

Поскольку фотосинтезирующие организмы служат источниками питания для животных или микроорганизмов, основные биологически важные элементы сохраняются в органическом состоянии в процессе превращений, ведущих к включению этих химических элементов в клетки и ткани первичных потребителей. Первичные потребители сами также могут служить источниками питания для других организмов, вследствие чего все эти элементы сохраняются в органических цепях питания, состоящих из нефотосинтезирующих организмов многих типов. Чтобы снова стать доступными для фотосинтезирующих организмов, они, как правило, должны опять перейти в неорганическую форму.

Слайд №11. Эти превращения, называемые *минерализацией*, происходят в значительной степени благодаря разложению растительных и животных остатков, а также продуктов выделения, осуществляемых микроорганизмами, главным образом грибами и бактериями. Подсчитано, что минерализация 90% органического углерода (т.е. его превращение в CO₂) является результатом метаболической активности грибов и бактерий. Остальные 10% образуются в результате метаболизма всех прочих организмов, а также за счет сгорания углеводов. Огромный вклад микробов в этот процесс отражает повсеместное распространение микроорганизмов, их значительную долю в общем количестве живого вещества (биомассе), высокие скорости их роста и метаболизма, а также их способность разрушать самые разнообразные органические вещества, встречающиеся в природе.

2.3 Распространение микроорганизмов в пространстве и во времени

Широкая распространенность микроорганизмов во всей биосфере — следствие легкости их расселения по воздуху и воде. Поверхностные воды, дно океанов вдоль континентального шельфа и несколько сантиметров верхнего слоя почвы изобилуют микроорганизмами, легко разрушающими всякое доступное для них органическое вещество. Подсчитано, что верхний слой плодородной почвы толщиной 15 см может содержать около 5 тонн грибов и бактерий на гектар. Каждая горсть почвы содержит множество различных видов микробов, так как в разные моменты времени в ней создаются микроскопические экологические ниши для их развития. Даже на поверхности отдельной почвенной частицы условия для развития микроорганизмов могут быть неодинаковыми.

Рассмотрим, что произойдет после гибели в почве микроскопического корневого волоска или личинки насекомого. Органические соединения мертвой ткани подвергнутся действию микроорганизмов. После поглощения кислорода в непосредственной близости от мертвой ткани условия могут стать анаэробными, что приведет к развитию бродильных организмов. Затем продукты брожения будут диффундировать в те места, где еще присутствует кислород, или они будут окислены анаэробным путем организмами, способными восстанавливать нитраты, сульфаты или карбонаты. В итоге органические соединения полностью превратятся в CO_2 или ассимилируются; условия вновь станут аэробными, а за счет таких продуктов, как аммиак, сульфид и водород, разовьются автотрофы. Таким образом, неорганические продукты разложения растений или животных в конце концов полностью окисляются. Эта последовательность событий, происходящих в микроскопическом мире на частице почвы, происходит в природе в огромных масштабах. Когда в болото падает дерево или на отмели разлагается кит, конечные химические результаты по существу бывают точно такими же. Сезонные или климатические условия могут задерживать или ускорять круговорот веществ. В зонах холодного климата разложение быстрее всего протекает ранней весной; в полузасушливых районах оно в основном ограничено сезоном дождей.

В природе размножаются лишь те микроорганизмы, которые находятся в благоприятных условиях; их рост прекращается, как только они изменяют окружающую среду и делают её неблагоприятной. В итоге большая их часть поедается простейшими, однако несколько клеток каждого вида микроорганизмов сохраняется и дает начало новой популяции, когда условия для их развития вновь становятся благоприятными.

2.4 Метаболический потенциал микроорганизмов

Высокая каталитическая активность микроорганизмов является причиной того, что они играют главную роль в превращениях химических элементов, на Земле. Благодаря своим небольшим размерам бактерии и грибы, по сравнению с животными и высшими растениями, обладают высоким соотношением поверхности и объема. Это приводит к быстрому обмену субстратов и продуктов выделения между клеткой и окружающей средой.

Скорости дыхания некоторых аэробных бактерий в расчете на один грамм веса тела в сотни раз превышают скорость дыхания человека.

Установлено, что метаболический потенциал микроорганизмов в верхнем 15-сантиметровом слое одного гектара хорошо удобренной почвы эквивалентен метаболическому потенциалу нескольких десятков тысяч человек.

Еще более важным фактором, влияющим на роль микроорганизмов в природе, является высокая скорость их размножения.

2.5 Метаболическое разнообразие и гибкость микроорганизмов

Способность микроорганизмов расщеплять самые разнообразные органические соединения привела к заключению, названному принципом микробной всеядности, который был четко сформулирован Гейлом (F.F. Gale) в 1952 г.: «Вероятно, не будет ненаучно предположить, что где-то существует какой-то организм, который при подходящих условиях может окислять любое вещество, теоретически способное к окислению». По мере увеличения производства пластмасс, а также синтетических инсектицидов, гербицидов и детергентов становится все более очевидным, что некоторые вещества обладают исключительной устойчивостью к микробному воздействию, поскольку они сохраняются и накапливаются в природе. Довольно устойчивыми иногда оказываются даже некоторые природные органические соединения; они накапливаются в почве и составляют ее органическую часть, называемую *гумусом*, который придает плодородной почве темно-коричневый или черный цвет. В связи с важностью гумуса для плодородия почв были проведены многочисленные исследования этой сложной смеси стойких органических соединений. Оказалось, что гумус состоит в значительной степени из продуктов разложения очень стабильного компонента древесных растений, называемого *лигнином*. Об удивительной устойчивости гумуса свидетельствуют данные по радиоактивному распаду углерода: возраст гумуса некоторых почв измеряется тысячелетиями. Кроме этих нескольких исключений, большинство органических соединений быстро минерализуются микроорганизмами биосферы.

Хотя некоторые нефотосинтезирующие микроорганизмы (например, группа *Pseudomonas*) могут разлагать самые разные органические соединения, метаболическое многообразие микробного мира *в целом* не является следствием метаболической гибкости его индивидуальных представителей. Каждый отдельный вид бактерий обладает лишь ограниченной способностью разлагать те или иные вещества. Высокоспециализированные физиологические группы микроорганизмов

играют важную роль в минерализации особых классов органических соединений. Например, разложение целлюлозы, которая количественно представляет один из основных компонентов растительных тканей, осуществляется главным образом высокоспециализированными в пищевом отношении организмами. Среди аэробных бактерий, способных к расщеплению целлюлозы, наиболее важными являются скользящие бактерии, принадлежащие к группе *Cytophaga*. Цитофаги быстро растворяют и окисляют это нерастворимое соединение — единственное вещество, которое они могут использовать в качестве источника углерода.

Автотрофные бактерии, ответственные за окисление восстановленных неорганических соединений, также высоко специфичны. Автотрофы каждого типа могут окислять неорганические соединения только одного класса, а в некоторых случаях (нитрифицирующие бактерии) лишь одно соединение.

3. Круговорот углерода и кислорода

3.1 Общие положения и расчёты

Слайд №12. Основные факторы, определяющие доминирующую роль микробов в круговороте веществ, — широкое распространение микроорганизмов и их необычайная метаболическая гибкость при высокой скорости обмена. Большое значение имеет узкая специализация отдельных групп микроорганизмов в отношении утилизируемых веществ. Поэтому некоторые этапы круговорота веществ могут осуществляться исключительно прокариотами.

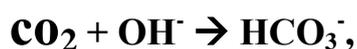
Углерод широко распространен на нашей планете. Он содержится в земной коре ($6,5 \cdot 10^{16}$ т), входит в состав гидросферы (10^{14} т), горючих ископаемых (около 10^{13} т), атмосферы ($6 \cdot 10^{11}$ т), растительных и животных организмов (в среднем до 18%) . Все органические соединения Земли содержат углерод — продукт фотосинтеза — взаимодействия диоксида углерода и энергии Солнца. В результате фотосинтеза ежегодно образуется около 150 млрд тонн органического вещества, усваивается 300 млрд тонн диоксида углерода атмосферы, где его содержание (по объему) немногим более 0,03%, и выделяется около 200 млрд тонн свободного кислорода. Кислород необходим не только для дыхания живых организмов, но и для создания озонового слоя Земли.

Слайд №13. Циклические превращения углерода и кислорода осуществляются главным образом в результате двух процессов — кислородного фотосинтеза, с одной стороны, и дыхания и горения — с

другой. Именно путем кислородного фотосинтеза основная часть окисленной формы углерода (CO_2) переходит в восстановленное состояние, в котором он находится в органических соединениях, а восстановленная форма кислорода (H_2O) окисляется до молекулярного кислорода (O_2). Хотя другие автотрофы могут восстанавливать CO_2 до органического вещества, окисляя соединения, отличные от воды (NH_3 , NO_2^- , H_2 , Fe^{2+} и восстановленные формы серы), вклад этих процессов в общую фиксацию CO_2 незначителен. (Фиксацией называется процесс превращения газообразного соединения в твёрдое.)

Гетеротрофный метаболизм, прямо или косвенно сопряженный с восстановлением молекулярного кислорода, завершает этот цикл путем генерации основных пищевых субстратов для кислородного фотосинтеза: CO_2 и H_2O . Водоросли и растения, а также питающиеся ими животные вносят свой вклад в этот процесс за счет дыхательной активности. Однако основную массу органического вещества окисляют бактерии и грибы. Таким образом, циклические превращения углерода и кислорода связаны между собой посредством кислородного фотосинтеза, с одной стороны, и аэробного дыхания — с другой (рисунок 1).

Слайд №14. Воздух содержит приблизительно 0,03% CO_2 (по объему), причем эта концентрация поддерживается относительно постоянной в результате динамического равновесия между фотосинтезом и минерализацией. При растворении CO_2 в слегка щелочной воде образуются ионы бикарбоната (HCO_3^-) и карбоната (CO_3^{2-}):



Следовательно, бикарбонат обеспечивает запас углерода для фотосинтеза в водной среде. Бикарбонат, концентрация которого в воде

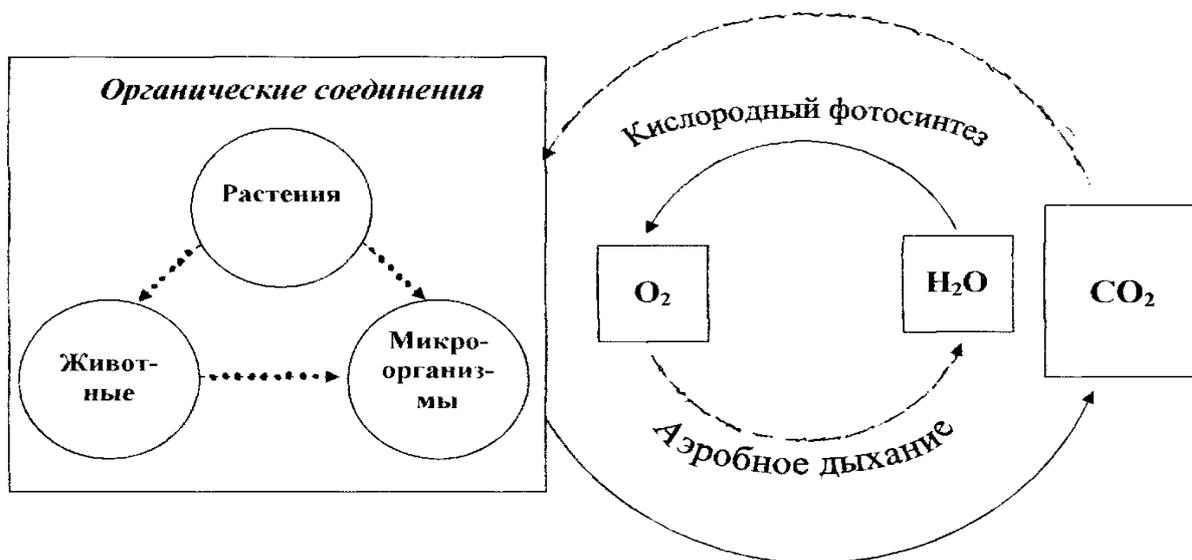


Рисунок 1 Круговорот углерода и кислорода. Окисление углерода и кислорода показано сплошными стрелками, восстановление - точечными, а реакции без изменения валентности - пунктирными стрелками

для океанов составляет примерно 0,002 М, обеспечивает резерв CO_2 для атмосферы; океаны удерживают большую часть образованной на суше двуокиси углерода (CO_2), сохраняя ее концентрацию в воздухе на относительно низком и постоянном уровне.

О важности углеродного цикла лучше всего говорит расчет, показывающий, что вся двуокись углерода (CO_2) атмосферы в случае отсутствия ее пополнения была бы полностью исчерпана при современной скорости фотосинтеза менее чем за 20 лет. На суше семенные растения являются основными организмами, проявляющими фотосинтетическую активность. Водоросли вносят здесь лишь небольшой вклад в фотосинтез. Однако в океанах именно одноклеточные фотосинтезирующие организмы играют наиболее важную роль в фотосинтезе. Развитие крупных водорослей (морской травы) ограничено относительно узкой прибрежной полосой. Так как свет в основном проникает только до глубины 15 м, эти водоросли не могут расти в более глубоких местах. Микроскопические водоросли океана (называемые фитопланктоном) благодаря свободному плаванию способны развиваться в поверхностных слоях воды повсюду, где для них создаются благоприятные условия. Их рост ограничивается в основном относительной нехваткой двух элементов: фосфора и азота. Там, где эти элементы в виде фосфатов и нитратов поступают с дождевой водой с континентов, а затем

распределяются в поверхностных слоях воды океаническими течениями, наблюдается обильное развитие фитопланктона. Согласно одному из расчетов, общая ежегодная фиксация углерода в океанах достигает $1,2 \cdot 10^{10}$ тонн, тогда как фиксация на суше составляет около $1,6 \cdot 10^{10}$ тонн.

3.2 Процессы минерализации: образование двуокиси углерода и восстановление кислорода

Зеленым растениям пришлось бы вскоре прекратить фиксацию углекислого газа, если бы низшие животные и микроорганизмы не обеспечивали возвращение этого газа в атмосферу в результате непрерывной **минерализации органического материала**. В общем балансе веществ на земном шаре почвенным бактериям и грибам принадлежит не меньшая роль, чем фотосинтезирующим зеленым растениям.

Биологическое превращение органического углерода в двуокись углерода сопровождающееся восстановлением молекулярного кислорода, требует совместной метаболической активности разнообразных микроорганизмов. Сложные составные части мертвых клеток должны быть переварены, а продукты переваривания должны быть окислены специализированными организмами, которые могут использовать их в качестве пищевых веществ. Многие аэробные бактерии (псевдомонады, бациллы, актиномицеты), а также грибы осуществляют полное окисление органических веществ, образовавшихся из мертвых тканей. Однако следует помнить, что даже те организмы, которые образуют углекислый газ в качестве единственного продукта, выделяющегося при расщеплении органических соединений в процессе дыхания, обычно используют значительную часть субстрата для синтеза вещества собственных клеток. В анаэробных условиях органические соединения первоначально расщепляются путем сбраживания, а конечные органические продукты брожения окисляются далее в результате анаэробного дыхания, если имеются подходящие неорганические акцепторы водорода (нитрат, сульфат или двуокись углерода).

Следует отметить еще одну особенность процесса минерализации: небольшая часть минерализованного углерода (1-1,5%) поступает в атмосферу не в виде двуокиси углерода, а в форме метана. Этот газ образуется из органических веществ в местах, недоступных для кислорода воздуха (в почве тундр, на рисовых полях, в рубце жвачных животных), попадает затем в атмосферу и окисляется там OH-радикалами через окись углерода (CO) до углекислого газа. В процессе образования метана участвуют главным образом бактерии.

3.3 Изъятие углерода из круговорота в виде неорганических отложений

Углерод извлекается из круговорота различными путями. Ионы карбоната, содержащиеся в морской воде, соединяются с растворёнными в ней ионами Ca^{2+} и осаждаются в виде карбоната кальция (CaCO_3). Карбонат кальция также образуется биологическим путём в известковых структурах простейших, кораллов и моллюсков и откладывается в виде известняковых горных пород.

Карбонат кальция недоступен в качестве прямого источника углерода для фотосинтезирующих организмов, и поэтому образование известняков приводит к истощению общего запаса углерода, доступного для жизни. Однако значительная часть этого соединения углерода в конечном счете возвращается в природный круговорот благодаря выветриванию горных пород. Переход карбоната кальция в раствор происходит при изменении кислотности среды; микроорганизмы, в результате жизнедеятельности которых происходят изменения pH в природной среде, косвенно участвуют в этих процессах. Например, такие микробиологические процессы, как восстановление сульфата и денитрификация, приводят к увеличению щелочности среды, что способствует отложению карбоната кальция в океане и других водоемах. Микроорганизмы играют также важную роль в растворении известняковых отложений на суше, и в растворении фосфатов за счет образования кислоты в процессах денитрификации, окисления серы и брожения.

3.4 Изъятие углерода из круговорота за счёт образования органических отложений

Высокая влажность, вызывающая недостаток кислорода и накопление кислых веществ, благоприятствует накоплению гумуса. Это явление наиболее выражено в торфяных болотах, где с течением времени образуются отложения не полностью разрушенного органического вещества, называемые *торфом*. Эти отложения могут распространяться на десятки метров в глубь болота. Под влиянием сжатия, а также, вероятно, и других физических и химических факторов, действовавших в течение целой геологической эпохи, произошло превращение торфа в каменный уголь. Таким образом, в виде отложений торфа и каменного угля из биосферы изымается большое количество углерода. Другой вид изъятия углерода в органической форме из круговорота представлен отложениями нефти и газа (метана).

В результате фотосинтетической фиксации двуокиси углерода зелеными растениями образуются в первую очередь сахара и другие органические соединения. Основная масса фиксированного углерода как у древесных, так и у травянистых растений на время откладывается в форме полимерных углеводов. Примерно 60% двуокиси углерода, фиксируемой на суше, идет на образование древесины. Древесина состоит на 75% из полисахаридов (целлюлоза, гемицеллюлозы, крахмал, пектины и арабиногалактаны) и содержит лишь немногим больше 20% лигнина и лигнанов; белка в ней очень мало (1%). У злаков и других травянистых растений содержание полисахаридов еще выше.

3.5 Микроорганизмы, участвующие в круговороте углерода и кислорода

При кислородном фотосинтезе аэробные цианобактерии и зелёные растения основную часть окисленной формы углерода (углекислого газа) переводят в восстановленное состояние - в органические соединения (например, глюкозу), а восстановленную форму кислорода (воду) окисляют до молекулярного кислорода. Хотя анаэробные пурпурные и зелёные бактерии могут восстанавливать двуокись углерода до органических веществ, окисляя неорганические соединения (NH_3 , NO_2 , H_2 , Fe^{2+} , восстановленные соединения серы), вклад этих процессов в общую фиксацию двуокиси углерода незначителен.

Основную роль в бактериальной фотосинтетической фиксации **углекислого газа** выполняют цианобактерии. Экологическая ниша, которую занимают цианобактерии, намного обширнее ниш, занимаемых другими фотосинтезирующими прокариотами. Они встречаются всюду, где есть благоприятные условия для роста водорослей, — в море, в пресных водоемах, в почве. Более того, цианобактерии развиваются и в таких местах, где почти нет фотосинтезирующих эукариотических организмов. Некоторые термофильные цианобактерии в изобилии растут в горячих источниках и составляют там основную часть популяций фотосинтезирующих организмов. Температура, при которой могут развиваться термофильные цианобактерии, достигает 70°C .

В присутствии кислорода полное окисление органических веществ до углекислого газа осуществляют многие аэробные микроорганизмы (псевдомонады, бациллы) и факультативно анаэробные (актиномицеты) бактерии, грибы, а также животные.

В анаэробных условиях органические соединения расщепляются путём брожения (дрожжи, молочнокислые бактерии, пропионовокислые бактерии, бактерии семейства *Enterobacteriaceae*), либо окисляются в процессе анаэробного дыхания. В роли акцепторов водорода выступают нитраты, сульфаты, карбонаты, фумараты, Fe^{3+} . Метанобразующие бактерии (*Methanobacterium*, *Methanococcus*, *Methanosarcina*) — строгие анаэробы, составляющие последнее звено анаэробной пищевой цепи. Выделяемый ими метан в аэробных условиях может окисляться до двуокиси углерода метилотрофными бактериями (*Methylobomonas*, *Methylosinus*, *Methylococcus*).

Лекция №3.2

Тема: «Участие микроорганизмов в синтезе и разложении природных веществ. Микроорганизмы- продуценты, консументы и редуценты»

Вопросы:

1. Жизнедеятельность микробов в природе.
2. Участие микроорганизмов в синтезе и разложении природных веществ.
3. Микроорганизмы-продуценты, консументы и редуценты.

Слайд №3. В соответствии со своей ролью и функцией в природе все живые организмы разделяются на три группы. Зеленые растения синтезируют органические вещества, используя энергию солнца и углекислоту, поэтому их называют *продуцентами*. Животные являются потребителями (*консументами*): они расходуют значительную часть первичной биомассы для построения своего тела. Тела животных и растений в конце концов подвергаются разложению, при котором органические вещества превращаются в минеральные соединения. Этот процесс, называемый минерализацией, осуществляют в первую очередь грибы и бактерии; в балансе природы они служат *деструкторами*.

1. Жизнедеятельность микробов в природе

В природе микроорганизмы живут в любой среде (почва, вода, воздух) и распространены гораздо шире, чем другие живые существа. Благодаря разнообразию механизмов утилизации источников питания и энергии, а также выраженной адаптации к внешним воздействиям, микроорганизмы могут обитать там, где другие формы жизни не выживают.

Слайд №4 Естественной средой обитания большей части микроорганизмов является вода, почва и воздух. Число микроорганизмов, обитающих на растениях и в организмах животных, значительно меньше. Широкое распространение микроорганизмов связано с лёгкостью их распространения по воздуху и воде; в частности, поверхность и дно пресноводных и солёных водоёмов, а также несколько сантиметров верхнего слоя почвы содержат большое количество микроорганизмов, разрушающих органические вещества. Меньшее количество микроорганизмов

колонируют поверхность растений и некоторые внутренние полости животных (например, желудочно-кишечный тракт, верхние отделы дыхательных путей).

Слайд №5. В зонах обитания микроорганизмы образуют биоценозы [от греч. *bios*, жизнь, + *koinos*, сообщество] — сложные ассоциации со специфическими и часто необычными взаимоотношениями. Каждое микробное сообщество в конкретном биоценозе образуют специфичные аутохтонные микроорганизмы [от *autos*, свой, + *chthon*, страна, местность], то есть микробы, присущие конкретному месту обитания. В состав этих сообществ могут проникать аллохтонные микробы [от греч. *alios*, чужой, + *chthon*, страна; буквально — чужестранец] (например, паразитические).

В природных биоценозах (почва, вода, воздух) выживают и размножаются лишь те микроорганизмы, которые находятся в благоприятных условиях окружающей среды. В природе большую часть бактерий поедают хищные простейшие, но часть клеток каждого вида выживает, а при наступлении благоприятных условий они дают начало новым клонам микроорганизмов.

Слайд №6. Наиболее крупными экосистемами земной биосферы являются водные, почвенные и воздушные экосистемы. Микроорганизмы занимают в них важное место или являются единственными формами жизни. Наиболее сложной является экосистема почвы из-за наличия в ней огромного числа разнородных организмов.

Первичными продуцентами в морской среде являются одноклеточные водоросли - фитопланктон. В пищевую цепь входят бактерии, простейшие, членистоногие и рыбы. Хотя океаны поглощают и накапливают наибольшее количество солнечной энергии, они участвуют в продукции пищи очень слабо; лишь 5-10% производимого на Земле белка образуется в океане. В то же время, поступление богатых питательными веществами сточных вод в мировой океан служит предпосылкой для роста биомассы (в том числе, при участии морских бактерий), а не приводит к его загрязнению.

В прибрежных зонах морей широко распространены галофильные бактерии и микроорганизмы сточных вод, принимающие активное участие в утилизации трудно разлагающихся органических и неорганических веществ.

Слайд №7. В озерах и прудах имеются как аэробные, так и анаэробные зоны. Когда глубинные воды озер, богатые питательными веществами, попадают на поверхность, начинается массовое размножение цианобактерий, диатомий, жгутиковых и зеленых водорослей («цветение воды»). Продуцирование биомассы происходит и за счёт поступающего из

окружающей среды дополнительного органического материала. Часть этого органического вещества, в особенности частицы, содержащие целлюлозу, опускается на дно озера и разлагается. В начальной аэробной стадии разложения расходуется кислород, и на дне создаются анаэробные условия. В результате анаэробного распада образуются органические продукты брожения: водород, сероводород, метан и углекислый газ. Поскольку процессы перемешивания воды замедленны, эти продукты поступают из донных отложений в толщу воды очень медленно. Один только метан - главный продукт анаэробной цепи питания в донных осадках выделяется в виде пузырьков газа. На своем пути к поверхности водоема часть метана переходит в раствор и окисляется аэробными бактериями. Интенсивность продукции биомассы зависит от количества питательных веществ в водоеме. В богатых этими веществами (*эвтрофных*) озерах такие превращения весьма интенсивны, а в бедных (*олиготрофных*) едва заметны.

В чистых проточных водоемах число бактерий в 1 мл, как правило, не превышает миллиона. Эти бактерии способны, однако, минерализовать весь легко разлагаемый органический материал, поступающий из прибрежных зон. При высокой степени загрязнения водоёма резко меняется состав его микрофлоры и микрофауны. В проточном водоеме начинает превалировать анаэробная сульфатредукция (запах сероводорода), исчезает один из элементов пищевой цепи - дафнии, появляется другой представитель микромира грибковой природы - *Sphaerotilus natans* (гриб сточных вод), что указывает на сильное загрязнение водоема органическими веществами (пример, р.Люльченка).

2. Участие микроорганизмов в синтезе и разложении природных веществ

2.1 Синтез природных веществ

Слайд №8. Одними из наиболее важных процессов синтеза природных веществ являются процессы усваивания микроорганизмами углерода, кислорода, азота, серы, фосфора, железа и других макро- и микроэлементов и включение их в состав неорганических и органических молекул.

Рассмотрим процессы синтеза природных веществ как результат непрерывного взаимодействия разнообразных биологических систем.

Слайд №9. Фиксация молекулярного азота. *Азотфиксирующие бактерии*, обладающие способностью поглощать и связывать молекулярный азот из атмосферы, аккумулируют в биосфере до $200 \cdot 10^6$ тонн/год азота.

Известно, что бобовые растения в симбиозе с микроорганизмами способны обогащать почву азотом. По расчетам некоторых исследователей примерно около 70% азота, который растения берут из почвы, накоплено биологическим путем. Такой азот не только дешев, но и безвреден. Велика роль в этих процессах микроорганизмов, находящихся в клубеньках бобовых растений.

Фиксация молекулярного азота из воздуха может происходить и при участии свободноживущих микроорганизмов. В 1901г. голландский ученый Мартин Бейеринк выделил из огородной почвы чистую культуру аэробного фиксатора азота, названного им *Azotobacter chroococcum*, который активно связывает атмосферный азот и обогащает им почву. Кроме указанных микроорганизмов фиксировать азот из воздуха могут некоторые **миксобактерии**, многие грибы, пурпурные и цианобактерии. Из всех микроорганизмов наибольшая азотфиксирующая способность принадлежит азотобактеру.

Слайд №10. Продукты гниения белков и разложения мочевины — аммиак и аммиачные соли — могут быть непосредственно усвоены растениями, но они обычно превращаются в нитраты — соли азотной кислоты. *Автотрофные бактерии - нитрификаторы* в результате биохимического окисления аммиака в течении года образуют сотни килограммов на гектар доступных для растений нитратов.

Слайд №11. Микроорганизмы принимают непосредственное участие в превращениях некоторых химических элементов. Концентрирование рассеянных элементов является важным фактором нормальной жизнедеятельности не только высших растений, но и почвенной и водной микробиоты. Микроорганизмы являются рекорсменами по извлечению металлов из окружающей среды. Установлено, что хлорелла накапливает урана до 0,4% сухой массы, актиномицеты — до 4,5%, денитрифицирующие бактерии — 14%, а специально отобранные культуры дрожжей - до 50% сухой массы. Наибольшее содержание цинка обнаружено в сухом веществе спорообразующих бактерий (5154,1 мг/кг сухого вещества бактерий), актиномицетов (до 483,7 мг/кг), грибов (251,0 мг/кг) и неспорозных бактерий (до 118,0 мг/кг). Максимальное содержание свинца также относится к спорообразующим бактериям (1466,7 мг/кг), затем следуют неспорозобразующие бактерии (до 246 мг/кг), актиномицеты (101,7 мг/кг) и грибы (96,4 мг/кг). Плесневые грибы аспергиллы накапливают до 0,3% меди, т.е. в 30 тыс. раз больше, чем в окружающей среде. Например, сенная палочка извлекает более 40 разных видов металлов, в том числе и золото.

2.2 Разложение природных веществ

Слайд №12. В аэробных условиях все органические вещества подвергаются распаду. Каким бы сложным ни было то или иное вещество, в природе всегда найдётся микроорганизм, способный полностью или частично его расщепить, а продукты его расщепления будут использованы другими микроорганизмами. Однако многие из созданных человеком низкомолекулярных веществ (ядохимикаты, детергенты и т.п.), а также высокомолекулярные полимеры по результатам экспериментов и многолетних наблюдений оказались устойчивыми и не разлагаются микроорганизмами.

Слайд №13. Теперь одно из требований к промышленности, чтобы любое синтетическое органическое соединение, которое попадает в природную среду, разлагалось микроорганизмами.

Сведения о микроорганизмах, которые воздействуют на отдельные природные вещества, разлагая и перерабатывая их, получены главным образом в опытах с накопительными культурами. Простые питательные среды, содержащие в качестве источника энергии исследуемое природное вещество, обеспечивают рост только тех микроорганизмов, у которых потребности в питательных веществах не очень большие; кроме того, в жидких накопительных культурах выживают лишь наиболее быстрорастущие микроорганизмы.

2.2.1 Разложение целлюлозы

Целлюлоза является главной составной частью всех материалов растительного происхождения. Сохраняющиеся в почве растительные остатки на 40...70% состоят из целлюлозы. Такое большое количество целлюлозы обуславливает важную роль разлагающих ее микроорганизмов в процессах минерализации и круговороте углерода.

Слайд №14 Ферментативное расщепление целлюлозы осуществляется под воздействием целлюлазы. В экспериментах с грибами было показано, что в систему целлюлазы входят по меньшей мере 3 фермента:

1) Эндо- β -1,4-глюконаза одновременно' разрывает β -1,4-связи внутри макромолекулы целлюлозы

2) Экзо- β -1,4-глюконаза отщепляет от конца цепочки дисахарид целлобиозу;

3) β -глюкозидаза осуществляет гидролиз целлобиозы с образованием глюкозы.

В условиях лабораторной культуры микроорганизмы обычно синтезируют эти ферменты лишь в том случае, если целлюлоза единственный источник углерода. Их синтез подавляется при наличии других источников углерода.

Разложение целлюлозы в аэробных условиях. В хорошо аэрируемых почвах целлюлозу разлагают аэробные микроорганизмы (грибы, бактерии и другие микроорганизмы), в анаэробных условиях - в основном бактерии семейства клостридий.

Слайд №15. В аэробных условиях значительная роль в разложении целлюлозы принадлежит грибам. Они в этом отношении эффективнее бактерий, особенно в кислых почвах и при разложении целлюлозы, содержащей лигнин. Большую роль в этом процессе играют представители двух родов *Fusarium* и *Chaetomium*. Целлюлозу расщепляют также *Aspergillus fumigatus*, *A. nidulans*, *Botrytis cinerea*, *Rhizoctonia solani*, *Trichoderma viride*, *Chaetomium globosum* и *Myrothecium verrucaria*. Три последних вида служат тест-организмами для выявления процессов распада целлюлозы, а также при испытании средств, применяемых для пропитки различных материалов с целью предохранить их от действия микроорганизмов, разлагающих целлюлозу. Грибы синтезируют целлюлазы, **которые** можно выделить из мицелия и из питательной среды.

Cytophaga и *Sporocytophaga* - аэробные бактерии, разлагающие целлюлозу. Их легче всего выделить обычным методом накопительной культуры в жидких средах. Кроме видов *Cytophaga* на целлюлозе могут расти миксобактерии родов *Polyangium*, *Sporangium* и *Archangium*, образующие плодовые тела, в том числе съедобные грибы.

Слайд №16. Использовать целлюлозу как субстрат для роста могут и многие из тех аэробных бактерий, которые можно было бы назвать «всеядными». Некоторые из них (*Pseudomonas fluorescens var. Cellulose*) используют целлюлозу, только в тех случаях, когда нет других источников углерода; синтез и выделение целлюлаз у таких бактерий регулируются по типу катаболитной репрессии (при наличии в питательной среде других источников углерода синтез целлюлаз прекращается). Из коринеформных бактерий следует упомянуть *Cellulomonas*; эту бактерию предполагали даже использовать для получения белка из целлюлозы. Среди актиномицетов

описано лишь немного целлюлозоразлагающих видов: *Micromcnospora chalcea*, *Streptomyces cellulosaе*, *Streptosporangium*.

Разложение целлюлозы в анаэробных условиях

Слайд №17 В анаэробных условиях целлюлозу расщепляют чаще всего мезофильные и термофильные клостридии. Термофильный вид *Clostridium thermocellum* растет на простых синтетических средах, используя в качестве субстрата целлюлозу или целлобиозу, а в качестве источника азота - соли аммония; глюкозу и многие другие сахара эта бактерия не утилизирует. Продуктами сбраживания целлюлозы являются этанол, уксусная, муравьиная и молочная кислоты, молекулярный водород и углекислый газ. Вне клеток целлюлоза расщепляется, только до целлобиозы. Сбраживание целлюлозы бактериями мезофильного вида *Clostridium cellobioparum* также приводит к образованию целлобиозы.

Микробиологические процессы в рубце жвачных животных.

В рубце жвачных животных целлюлозу тоже расщепляют бактерии. Основными источниками углеводов для жвачных животных служат сено, солома и трава. Целлюлозные компоненты кормов были бы недоступны, если бы у жвачных в процессе эволюции не возникли симбиотические отношения с микробами, способными расщеплять целлюлозу.

Среди обитателей рубца преобладают простейшие и бактерии. В 1мл содержимого рубца находится несколько миллионов простейших - главным образом инфузорий. По массе они составляют от 6 до 10% содержимого рубца, причем часть этой массы приходится на долю запасенных ими полисахаридов. Однако простейшие не играют в рубце жизненно важной роли. Не ясно, участвуют ли они в разложении целлюлозы.

С функциональной точки зрения наиболее важными обитателями рубца является бактерии. В 1мл рубцовой жидкости содержится от 10^9 до 10^{10} бактериальных клеток. На их долю приходится 5...10% сухой массы содержимого рубца. Специфические для рубца бактерии - строгие анаэробы. Дрожжи и другие грибы присутствуют здесь лишь в небольшом количестве.

Слайд №18. Бактерии перерабатывают полимерные углеводы кормов в простые соединения, такие как жирные кислоты и спирты. Из целлюлозы, крахмала, фруктозана и ксилана образуются в основном жирные кислоты. Разложению подвергается около 90% (по весу) всей поступающей с кормом целлюлозы.

2.2.2 Разложение ксилана (гемицеллюлозы)

Второе место после целлюлозы по распространенности в природе занимает среди углеводов ксилан (гемицеллюлоза): солома содержит до 30% ксилана, жмых сахарного тростника (багасса) до 30%, древесина хвойных-7...12%, а лиственных пород-20...25% (по весу).

Слайд №19. Ксилан (гемицеллюлоза) расщепляется быстрее и большим числом разных видов микроорганизмов, чем целлюлоза. Многие микроорганизмы, разлагающие целлюлозу, наряду с *целлюлазой*, образуют и *ксилазу*. Какие организмы будут в первую очередь воздействовать на попавший в почву ксилан, зависит от условий среды. В кислых почвах преобладают грибы, а в нейтральных и щелочных - бациллы и другие бактерии. У грибов способность к использованию ксилана скорее правило, нежели исключение. Даже для искусственно разводимых шампиньонов ксилан служит отличным субстратом.

2.2.3 Разложение крахмала и других глюканов

Слайд №20. Крахмал-это главное запасное вещество растений. Растительный крахмал состоит из двух глюканов - амилозы (15...27%) и амилопектина.

Амилопектин представляет собой поли- α -1,4-D-глюкозу, но его молекула, подобно молекуле гликогена, разветвлена благодаря наличию 1,6-связи. Амилопектин содержит остатки фосфорной кислоты, а также ионы магния и кальция. Крахмалы разного происхождения значительно различаются по разветвленности цепей, степени полимеризации и некоторым другим свойствам.

Способность к расщеплению крахмала при помощи амилолитических экзоферментов распространена у микроорганизмов очень широко, поэтому не приходится говорить о существовании специфических микробов, расщепляющих крахмал. Многие почвенные грибы - активные продуценты амилазы. Для получения промышленных препаратов амилазы используют *Aspergillus oryzae*, *A.niger* и *A.wentii*.

В анаэробных условиях в насыщенной водой почве, удобренной углеводами, крахмал разлагают в основном сахаролитические клостридии. Они связывают молекулярный азот анаэробное разложение растительных остатков, богатых полисахаридами, может вести к значительному обогащению почвы азотом.

2.2.4 Разложение фруктанов и маннанов

Слайд №21. Растения некоторых семейств запасают кроме крахмалов(гликоанов) фруктаны (называемые также полифруктозами. В клубнях сложноцветных (например, георгин) содержится фруктан- *инулин*. Ферменты, расщепляющие фруктаны, были выделены из *Aspergillus niger* и из некоторых видов бактерий.

Маннаны содержатся в древесине некоторых хвойных пород и составляют до 11% сухой массы.

2.2.5 Разложение пектинов

В качестве межклеточных веществ пектины играют важную роль в тканях молодых растений; особенно богаты пектинами ягоды и косточковые плоды. Значение пектинов обусловлено, главным образом, их способностью придавать растительным тканям необходимую прочность. Вещества эти входят в состав срединных пластин, образующихся между стенками соседних растительных клеток.

Слайд №22. Способность расщеплять пектин присуща многим грибам и бактериям. Патогенность различных микроорганизмов (*Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*) для растений зависит от выделяемых ими ферментов, растворяющих пектины. *Erwinia carotovora* вызывает распад тканей у салата, моркови, сельдерея и т.п.

2.2.6 Разложение агара

Подавляющее большинство микроорганизмов не способно расщеплять агар. Из морской воды и водорослей было выделено несколько видов бактерий, которые способны гидролизовать агар-агар. Признаком расщепления агара такими бактериями служит погружение их колоний в слой агаризованной питательной среды. Разлагающие агар бактерии чаще всего встречаются в морских биотопах. В приливной зоне число их на 1 г ила составляет около 10^7 (2-4% от общего числа аэробных бактерий, обитающих в этих местах).

2.2.7 Разложение хитина

Слайд №23. Микроорганизмы воздействуют на хитин с помощью экзоферментов. *Streptomyces griseus* выделяют два фермента -хитиназу и хитобиазу. Расщепление хитина происходит в результате одновременного воздействия хитиназы на многие участки полимерной цепи; при этом

образуются хитобиозы и хитотриозы. Хитотриозы и хитобиозы расщепляются затем хитобиазой до мономеров.

2.2.8 Разложение лигнина

Лигнин - в количественном отношении один из главных компонентов растительных тканей, по количеству уступающий только целлюлозе. Содержание лигнина в древесных тканях составляет от 18 до 30% сухой массы. Растительная ткань пронизана лигнином, он находится во вторичных слоях клеточной стенки. Этот растительный продукт, образующийся в довольно больших количествах, наиболее медленно подвергается биологическому разложению. Поэтому он служит главным источником медленно распадающегося органического вещества почвы, в особенности гуминовых кислот.

Слайд №24. Разложение лигнина. Некоторые грибы могут разрушать лигнин даже в живых растениях. Разрушающие древесину базидиомицеты можно разделить на две группы. Возбудители бурой гнили превращают древесину в красновато-коричневую массу; они разрушают главным образом целлюлозные и гемицеллюлозные компоненты древесины и не действуют на фенилпропановые полимеры. Возбудители белой гнили разрушают древесину с образованием почти белой массы; они действуют в первую очередь на лигнин и почти не затрагивают целлюлозу. К грибам, разрушающим лигнин, относятся *Polystictus versicolor* и некоторые другие виды.

2.2.9 Разложение углеводов

Даже химически устойчивые вещества, такие как парафины, нефть и каучук, подвергаются разложению под действием микробов. Заметного их распада не происходит только в отсутствие кислорода.

Еще недавно рост микроорганизмов на нефти считали явлением очень редким. Предполагалось, что бактерии, способные использовать нефть, встречаются только там, где имеется сама нефть (нефтяные промыслы, нефтехранилища). На этом основании был предложен и новый способ разведки нефти: нефтяные месторождения надеялись обнаружить, подсчитывая в пробах грунта число бактерий, способных использовать нефть. Однако, согласно современным данным, такие бактерии распространены очень широко и могут быть выделены из любой полевой,

лесной или луговой почвы. Кроме того, способностью использовать нефть в качестве источника энергии обладают многие виды грибов и бактерий.

2.2.10 Разложение метана

Слайд №25. Среди углеводов метан занимает особое место. Его используют и окисляют бактерии, не способные расщеплять углеводороды с длинной цепью. Такие бактерии следует рассматривать не как микроорганизмы, окисляющие углеводороды, а как группу бактерий, специализирующуюся на использовании углеводов, содержащих один атом углерода. Поэтому бактерии, окисляющие метан, вместе с другими микроорганизмами, способными использовать метанол, метилированные амины относят к метилотрофным организмам. В накопительных культурах с метаном как единственным источником углерода и энергии развиваются метилотрофные бактерии.

2.2.11 Разложение белков

Слайд №26. Азот органических соединений-это, прежде всего,

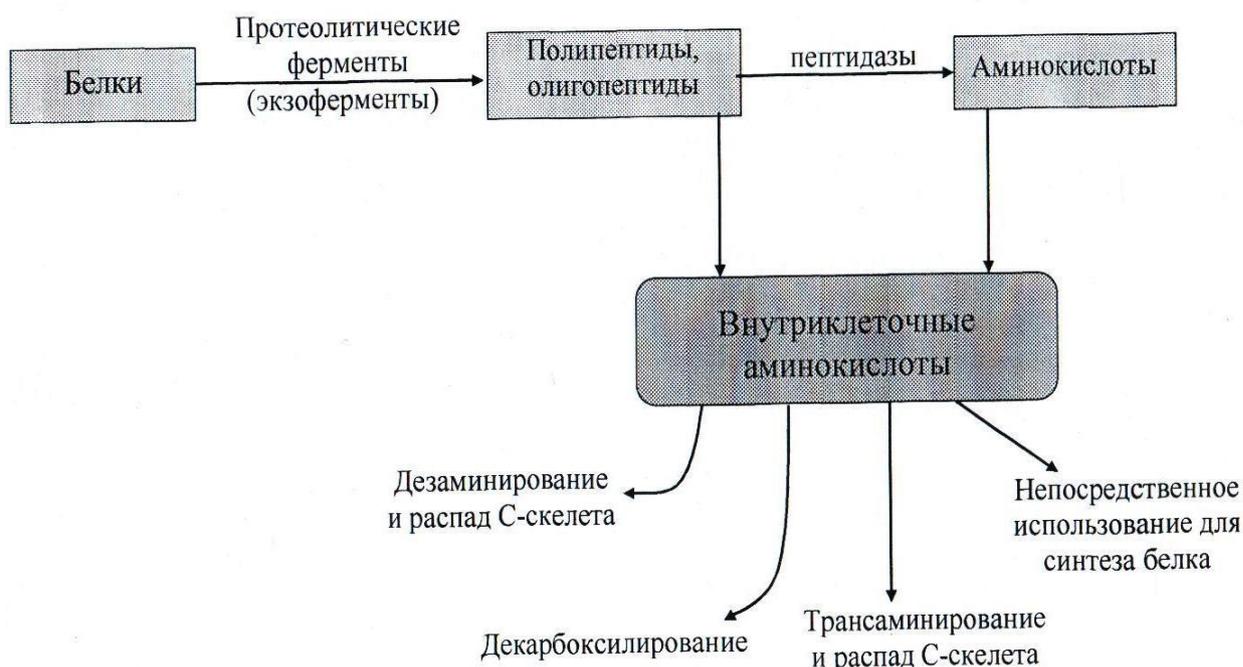


Рисунок – Распад белков вне и внутри бактериальной клетки и возможные дальнейшие превращения аминокислот

белковый азот (рисунок 1). Подобно другим высокомолекулярным соединениям, белки сначала расщепляются внеклеточными протеазами на фрагменты, способные проникнуть в клетку, полипептиды, олигопептиды и отчасти аминокислоты. Пептиды поступают в клетки и гидролизуются внутриклеточными протеазами до аминокислот. Последние либо используются клеткой для синтеза белка, либо подвергаются превращениям, в результате которых они, в конечном счете, дезаминируются, и после этого вовлекаются в промежуточный обмен.

Слайд №27. Распад белков в почве сопровождается образованием аммиака. Поэтому говорят о минерализации азота, или аммонификации. В разложении белков участвуют многочисленные грибы и бактерии, (в том числе *Bacillus cereus var. mycodes*, псевдомонады, *Proteus vulgaris* и другие).

Аммонификация белковых веществ— первый микробиологический процесс по превращению азотистых соединений в природе.

Кроме бактерий белковые вещества разлагают актиномицеты и плесневые грибы, но аммонифицирующая способность их выражена слабее.

Слайд №28. Разложение белков происходит под действием экзоферментов (ферменты, выделяемые во внешнюю среду).

Микроорганизмы могут усваивать только растворимые продукты гидролиза белка: пептоны и аминокислоты. Микробы, не образующие ферментов, расщепляющих до аминокислот, естественными белками питаться не могут. В процессе аммонификации образуется большое количество аммиака, который идет на синтез азотистых соединений.

Большое значение в природе имеет и аммонификация мочевины. Животными и людьми ежедневно выделяется в окружающую среду более 150 тыс. т, а в год — более 20млн.тонн мочевинового азота, или 50млн. тонн мочевины. В моче содержится 47% азота, поэтому она считается одним из концентрированных азотистых соединений. Мочевина непригодна для азотистого питания растений, и только после разложения ее уробактериями она становится усвояемой.

3. Микроорганизмы-продуценты,-консументы и -редуценты

3.1 Типы взаимоотношений микробов в биоценозах

Микроорганизмы жёстко конкурируют между собой. Это связано с тем, что обитающие в конкретном биоценозе микробы обладают принципиально сходными потребностями в источниках энергии и питания. Каждый микроорганизм приспосабливается не только к питательным субстратам, но и к другим окружающим его микроорганизмам. Подобная адаптация иногда приводит к приобретению особых, метаболических свойств, наделяющих эти микроорганизмы способностью занимать специфические ниши.

Слайд №29. Микроорганизмы-продуценты,-консументы и редуценты представляют собой отдельные трофические категории (или компоненты) функциональной структуры каждой экосистемы.

Продуценты — автотрофные организмы, которые с использованием солнечной энергии строят из неорганических соединений богатую энергией биомассу (зеленые растения, синезеленые водоросли, фото - и хемосинтезирующие бактерии).

Консументы — гетеротрофные организмы, которые используют органический материал для получения и накопления энергии, изменяют или перестраивают органические вещества [животные и гетеротрофные (главным образом низшие) растения].

Редуценты (деструкторы) — гетеротрофы, которые разрушают отмершие остатки биомассы, разлагают их на неорганические составные части(минерализация), поступающие снова в природные резервуары минеральных веществ (бактерии, грибы).

Консументы питаются живым (биофаги) или мертвым (сапрофаги) органическим материалом. Среди биофагов могут быть выделены растительноядные организмы, или фитофаги (*первичные консументы*, к ним относятся также патогенные для растений вирусы, бактерии, грибы и паразитические растения), хищники (*вторичные консументы*, в их числе и паразиты первичных консументов) и конечные потребители — вершинные хищники (*третичные консументы*).

Между разными микроорганизмами существуют взаимоотношения различного типа. В процессе эволюции выработались отношения зависимости, взаимной или односторонней, выходящие далеко за пределы связей, обусловленных пищевыми цепями. После того как прокариоты и многие эукариотические микроорганизмы достигли своего современного уровня развития, появились высшие формы жизни - новые потенциальные местообитания для низших. Животные и растения развивались в такой среде, в которой уже существовали почти все типы метаболизма, свойственные прокариотам. Естественно, что создалось множество партнерских отношений между микроорганизмами, с одной стороны, и животными и растениями - с другой. Тесное сожительство двух различных организмов называется симбиозом.

3,2 Микроорганизмы как симбиотические партнеры

Симбиоз (от греч.*symbiosis*, совместное проживание) — совместное длительное существование микроорганизмов в долгоживущих сообществах.

Слайд №30. Виды симбиоза между живыми организмами:

- 1) сожительство создает благоприятные условия для обоих партнеров (взаимовыгодный симбиоз- мутуализм);
- 2) сожительство создает благоприятные условия только для одного из партнеров, не принося «видимого» вреда другому — (разновидность симбиоза - комменсализм);
- 3) один из партнеров по симбиозу испытывает вредное воздействие другого (в этом случае говорят о паразитизме);
- 4) партнеры не оказывают друг на друга никакого влияния (нейтрализм).

Различными могут быть и пространственные отношения между партнерами. Взаимоотношения, при которых микроорганизм располагается вне клеток хозяина (более крупного организма), известны как эктосимбиоз; при локализации внутри клеток — как эндосимбиоз. Типичные

эктосимбиотические микробы — это микробы, которые составляют нормальный биоценоз желудочно-кишечного тракта млекопитающих: *Escherichia coli*, бактерии родов *Bacteroides* и *Bifidobacterium*, *Proteus vulgaris*. Как пример эндосимбиоза можно рассматривать плазмиды, обеспечивающие, например, резистентность бактерий к лекарственным средствам. Более крупного из партнеров обычно называют *хозяином*.

3.2.1 Мутуалистический симбиоз

Мутуализм [от лат. *mutuus*, взаимный] — взаимовыгодные симбиотические отношения. Так, микроорганизмы вырабатывают биологически активные вещества (БАВ), необходимые организму хозяина (например, витамины группы В). При этом обитающие в макроорганизмах эндо- и эктосимбионты защищены от неблагоприятных условий среды (высыхания и экстремальных температур) и имеют постоянный доступ к питательным веществам.

Ассоциации между микроорганизмами. В мире микробов известны многочисленные случаи *синтрофии* - взаимного снабжения необходимыми веществами. Примером высокоразвитого эктосимбиоза между микроорганизмами могут служить лишайники. В талломе лишайника гриб и водоросль (или цианобактерия) так тесно связаны между собой, что образуют единое растительное тело. Из такого симбиоза извлекают пользу оба партнера. Как правило, формообразующим компонентом является грибная часть лишайника - микобионт. Гриб получает от клеток водоросли органические вещества (продукты фиксации двуокиси углерода), а сам снабжает водоросль минеральными солями и защищает ее от неблагоприятных воздействий, в особенности от высыхания. Фикобионтами в лишайнике могут быть зеленые водоросли и цианобактерии. Можно разделить партнеров и культивировать их по отдельности, а также создавать искусственные лишайники. Эти комбинированные организмы заселяют экстремальные местообитания, в которых ни один из партнеров не мог бы жить в одиночку.

Если из симбиоза извлекает выгоду только один партнер, не принося вреда другому, то говорят о комменсализме. Пример: в приготовлении гарцкого сыра используются один вид гриба и один вид бактерий. Из данной ассоциации пользу извлекает только бактерия; гриб окисляет кислоты, содержащиеся в твороге, и тем самым создает для нее подходящие условия.

Микроорганизмы и растения.

В ризосфере (зоне, окружающей корни) многих растений часто бывает больше бактерий, чем в остальной почве. Росту бактерий способствуют питательные вещества, выделяемые корнями, данная ассоциация довольно слабая, и является примером мутуалистических отношений, поскольку многие почвенные бактерии выполняют важные для растений функции, например, связывают азот или делают легко усвояемыми труднорастворимые соединения. У многих растений существует тесная ассоциация корней с грибами - микориза. Многие почвенные грибы, в том числе агариковые, могут проникать в корни растений и внедряться в их клетки; при этом они стимулируют рост корней, выделяя ауксины. Грибники знают, что некоторые съедобные грибы растут только вблизи определенных видов деревьев (ель, лиственница, сосна, дуб), которые в микоризе играют роль растения-хозяина. Гриб, проникший в клетки корневой коры, образует в ней разветвления в виде пузырьков и веточек (везикулярно-арбускулярная микориза). Польза такой ассоциации для гриба состоит в том, что он получает от растения продукты ассимиляции, а для растения - в более эффективном поглощении минеральных веществ (фосфата, связанного азота) из почвы.

Мутуалистический характер взаимоотношений между организмом человека и его кишечной микрофлорой становится очевидным, когда эти отношения нарушаются и популяции бактерий гибнут под действием антибиотиков. Особенно четко выявляется функция кишечной флоры у животных, выращенных в стерильных условиях. При надлежащем питании эти животные развиваются совершенно нормально, но их восприимчивость к инфекционным заболеваниям оказывается сильно повышенной. Таким образом, нормальная микрофлора кишечника играет решающую роль в защите от патогенных микроорганизмов.

Подобного рода взаимоотношения существуют также между организмом человека и его кожной флорой. Нашей коже свойственна характерная бактериальная флора, которая состоит в основном из микобактерий, стрептококков, стафилококков и пропионовых бактерий и потребляет питательные вещества, содержащиеся в поте. Нормальная кожная флора не вызывает никаких нежелательных явлений, но выполняет защитные функции.

3.2.2 Комменсализм

Комменсализм — разновидность симбиоза, при которой выгоду извлекает только один партнёр, не принося большого вреда другому. Микроорганизмы, участвующие в таких взаимоотношениях, — комменсалы (буквально — сотрапезники). Микроорганизмы-комменсалы колонизируют кожные покровы и полости организма человека (например, ЖКТ), не причиняя большого вреда. Их совокупность — нормальная микробная флора (естественная микрофлора). Типичные эктосимбиотические организмы-комменсалы — кишечная палочка, бифидобактерии, стафилококки, лактобациллы. Многие бактерии-комменсалы принадлежат к условно-патогенной микрофлоре и способны при определённых условиях вызывать заболевания.

3.2.3 Антагонистический симбиоз

Симбиотические отношения, при которых хозяину наносится более или менее выраженный вред, существуют между самими микроорганизмами и между микробами, с одной стороны, и животными и растениями — с другой.

Крайнее проявление антагонистического симбиоза — это паразитизм [от греч. *para*, при, + *sitos*, пища]. Если микроорганизмы-сапрофиты [от греч. *sapros*, гнилой, + *phyton*, растение] утилизируют мёртвые органические субстраты, то паразитические виды живут за счёт живых тканей растений или животных. Проникая в организм хозяина, они могут вызывать у него заболевание, поэтому их называют патогенные микроорганизмы. Паразитические микроорганизмы разделяют на внутри- и внеклеточные. Внутриклеточные паразиты — вирусы, риккетсии и хламидии. Внеклеточные паразиты — большинство бактерий и простейших.

3.2.4 Метабиоз и сателлитизм

Слайд №31. В ряде биотопов, особенно в почве, некоторые микроорганизмы утилизируют продукты жизнедеятельности других; например, нитрифицирующие бактерии используют аммиак, который образуют аммонифицирующие бактерии. Подобные взаимоотношения известны как метабиоз.

Некоторые микроорганизмы способны выделять метаболиты, стимулирующие рост других микроорганизмов. Например, сарцины или стафилококки выделяют ростовые факторы, стимулирующие рост бактерий рода *Haemophilus*. Нередко совместный рост нескольких видов микробов

активирует их физиологические свойства. Подобные взаимоотношения известны как сателлизм [от лат. *satelles*, сопровождающий].

3.2.5 Антагонизм

Слайд №32. Ситуации, когда один микроорганизм угнетает развитие другого, известны как микробный антагонизм [от греч. *antagonizmai*, соперничество] и отражают сложившиеся эволюционно формы борьбы микроорганизмов за существование (то есть за источники питания и энергии). Антагонистические взаимоотношения особенно выражены в местах естественного обитания большого числа различных видов и типов микроорганизмов (например, в почве или в желудочно-кишечном тракте), имеющих одинаковые пищевые и энергетические потребности. При этом воздействие на конкурента может быть пассивным или активным. В первом случае микроорганизмы быстрее утилизируют субстрат, лишая соперника «сырьевых ресурсов»; во втором — «объявляют войну до полного уничтожения». Формы истребления могут быть переменными — от банального поглощения более мелких видов (биофагия) до выделения токсичных продуктов (например, антибиотиков или бактериоцинов).

Биологический смысл образования антибиотиков [от греч. *anti*, против, + *bios*, жизнь] — подавление жизнедеятельности микробов-конкурентов. В частности, действие антибиотиков грибковой природы обычно направлено против бактерий, а бактериальной — против грибов и даже простейших. Антибиотики образуются также в растительных и животных тканях.

Бактериоцины — белки, синтезируемые определёнными клонами бактерий. Бактериоцины вызывают гибель бактерий того же или близких видов, облегчая конкуренцию за жизненно необходимые субстраты внутри отдельного или близкородственных видов. В отличие от антибиотиков, секреция бактериоцинов сопровождается гибелью клетки-продуцента. В популяции бактерий количество продуцентов бактериоцинов незначительно (в среднем 1:1000 бактерий), их количество при необходимости может резко увеличиваться. Бактериоцины участвуют в формировании и поддержании стабильных бактериальных сообществ (например, в кишечнике человека бактериоцины кишечной палочки вызывают гибель патогенных энтеробактерий — шигелл и сальмонелл).

Бактериоциногенность (образование бактериоцинов) более выражена у грамотрицательных бактерий, но она известна и у грамположительных видов. Известно около 200 различных бактериоцинов, обычно обозначаемых по родовому или видовому названию продуцента, — колицины (*Escherichia*

coll), пестицины (*Yersinia pestis*), стафилоцины (виды *Staphylococcus*), вибриоцины (виды *Vibrio*). Некоторые бактериоцины действуют на цитоплазматическую мембрану, другие ингибируют биосинтез белка. Основное условие для проявления активности бактериоцина — наличие специфических рецепторов на мембранах клеток-мишеней.

Наиболее изучены колицины, продуцируемые кишечной палочкой и некоторыми энтеробактериями. Выделено около 30 видов колицинов, различающихся по антигенным свойствам, химическому составу и механизму действия.

Лекция №3.3

Тема: «Роль микроорганизмов в круговоротах азота, серы, фосфора, железа. Значение микроорганизмов в геологической истории Земли и улучшении плодородия почв»

Вопросы:

1. Роль микроорганизмов в круговороте азота.
2. Роль микроорганизмов в круговороте серы.
3. Роль микроорганизмов в круговороте фосфора.
4. Превращение соединений железа.
5. Роль микроорганизмов в геологической истории Земли.
6. Роль микроорганизмов в улучшении плодородия почв.

1. Роль микроорганизмов в круговороте азота

1.1 Общие положения

Азот по праву называют элементом жизни, хотя лингвистически это означает «безжизненный». Замечательное свойство азота — его сильно выраженная поливалентность. Это свойство имеет важное значение для биогеохимических процессов. Переводя азот из одной формы в другую, меняя в разных условиях его валентность, микроорганизмы получают энергию для своей жизнедеятельности. Азот является необходимой составной частью белков.

Слайд №4. Азот составляет почти 80% земной атмосферы. Как газ азот химически инертен; он не может быть непосредственно использован растениями, животными и большинством микроорганизмов. Относительный дефицит связанного азота на поверхности Земли при огромных запасах его в атмосфере предполагает наличие определённого этапа, в круговороте азота в природе. Этот этап — **азотфиксация**, осуществляется только азотфиксирующими бактериями. Промышленный синтез аммиака из азота и водорода составляет не более 5% фиксированного азота нашей планеты. Поэтому значение биологической азотфиксации для жизни на планете огромно.

Питание всех растений и животных, а также большей части микроорганизмов, зависит от источников связанного или фиксированного азота. Связанный азот в форме аммиака, нитрата и органических соединений

относительно дефицитен в почве и воде и часто представляет собой фактор, ограничивающий развитие живых организмов. По этой причине циклическое превращение азотистых соединений играет первостепенную роль в снабжении необходимыми формами азота различных организмов биосферы.

Слайд №5. Основные этапы циклического превращения азота схематически показаны на **рисунке 1**.

1.2 Фиксация азота

Подсчитано, что количество азота, участвующего в круговороте, составляет 10^8 — 10^9 тонн в год. Тот факт, что в атмосфере имеется неисчерпаемый запас газообразного азота (N_2), тогда как на земной поверхности наблюдается относительный дефицит связанного азота, позволяет предположить, что этапом, ограничивающим скорость круговорота, является процесс фиксации азота. Это в основном

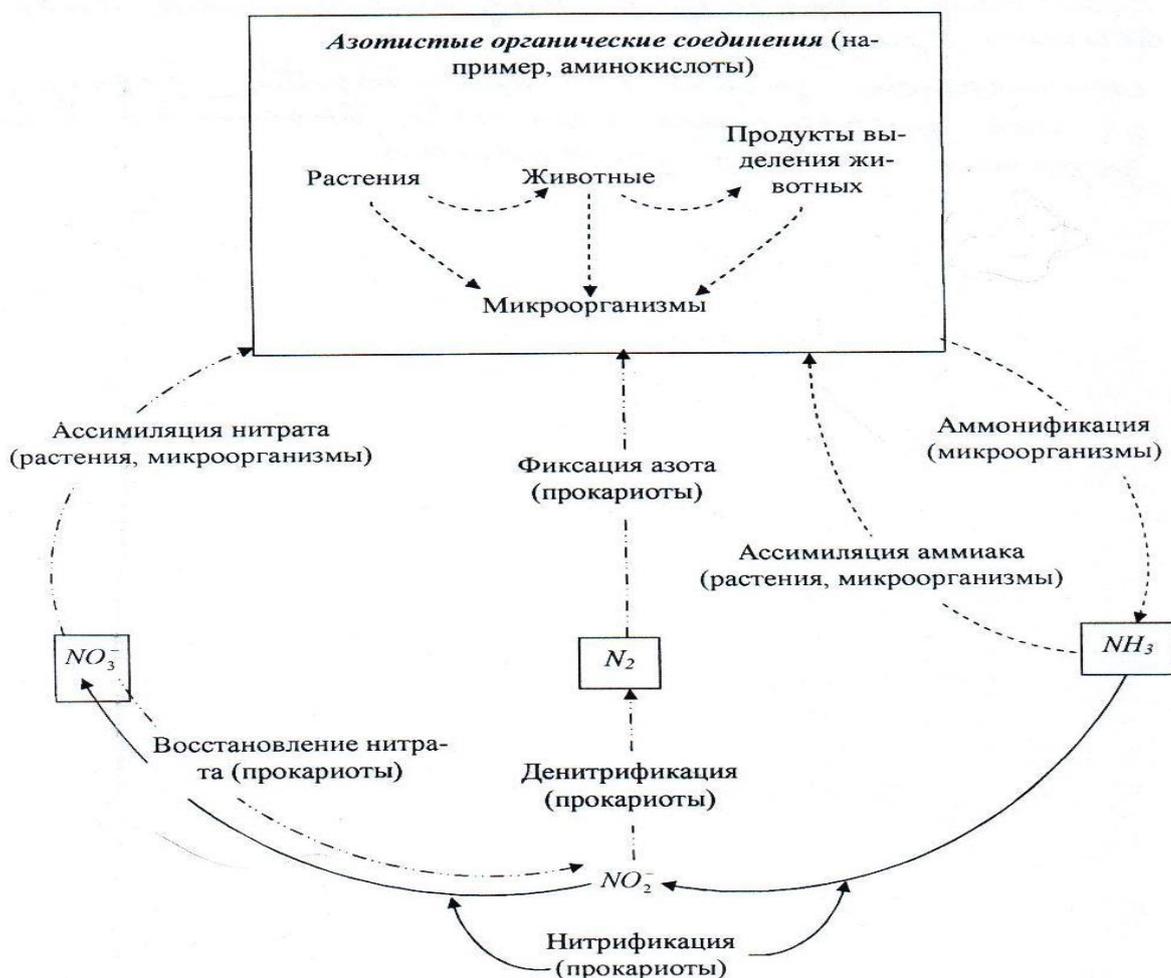


Рисунок 1 – Круговорот азота. Окисление азота показано сплошными стрелками, восстановление – точечными, а реакции без изменения валентности – пунктирными стрелками

биологический процесс, и единственными живыми организмами, способными его осуществлять, являются бактерии. Некоторое количество азота фиксируется при грозовых разрядах, под действием ультрафиолетовых лучей, при работе электрического оборудования, и двигателей внутреннего сгорания; однако небиологические процессы такого рода несущественны в количественном отношении, так как все вместе они дают не более 0,5% всего фиксированного азота. Даже вклад промышленного производства удобрения составляет лишь около 5%. Таким образом, свыше 90% общей фиксации азота в природе обусловлено метаболической активностью определенных видов бактерий.

Слайд №6. Биологическая фиксация азота в природе осуществляется свободноживущими бактериями (**несимбиотическая фиксация азота**) и бактериями, существующими в сообществе с растениями (**симбиотическая фиксация азота**). Симбиотическую фиксацию азота, осуществляют бактерии рода *Rhizobium*, внедряющиеся в корневые волоски бобовых растений и развивающиеся в образованных на корнях клубеньках, где и происходит фиксация азота. Симбиотическая фиксация азота осуществляется также актиномицетами рода *Frankia* (симбионты тропических растений), цианобактериями *Anabaena azoillae*, *Nostoc punctiforme*.

К наиболее важным микроорганизмам, осуществляющим несимбиотическую фиксацию азота, относятся цианобактерии, образующие гетероцисты, такие, как *Anabaena* и *Nostoc*. К фиксации азота способен также

ТАБЛИЦА 1 - ЭФФЕКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ АЗОТФИКСИРУЮЩИХ СИСТЕМ

Организм или система	Количество фиксированного азота, (кг/га-год)
Симбиотические	
Люцерна: <i>Rhizobium</i>	>296
Клевер: <i>Rhizobium</i>	247
Люпин: <i>Rhizobium</i>	148
Несимбиотические	
Цианобактерии	25
<i>Azotobacter spp.</i>	0,29
<i>Clostridium pasterianum</i>	0,25

целый ряд других аэробных (*Azotobacter*, *Beijerinckia* и *Bacillus polymyxa*) и анаэробных бактерий (фотосинтезирующие бактерии и *Clostridium* spp.), а также хемолитотрофных бактерий *Alcaligenes latus*, *Xanthobacter autotrophicus*, метилотрофных, метаногенных и сульфатредуцирующих бактерий.

Слайд №7. Определение количества фиксированного азота в расчете на один гектар в год (**таблица 1**) показывает, что вклад симбиотических клубеньковых бактерий значительно превышает вклад несимбиотических азотфиксаторов. Среди последних наибольший вклад в фиксацию азота в природных условиях, вносят *Azotobacter* и цианобактерии. Фиксация азота у *Azotobacter* идет с высокой эффективностью (около 20 мг азота на 1 г использованного сахара), когда эти бактерии развиваются в тесной ассоциации с корнями растений.

Слайд №8. Ещё в 80-х годах XX века биологическая фиксация азота стала предметом интенсивного исследования, этому способствовали следующие причины: проблема фиксированного азота имеет чрезвычайную важность для сельского хозяйства, в современном мире происходит продовольственный кризис и, наконец, производство азотных удобрений требует больших затрат энергии.

Важной целью этих исследований является выведение новых растений, способных служить хозяевами для азотфиксирующих симбионтов. Современный список таких растений хотя и широк, но не включает ни главные пищевые сельскохозяйственные культуры — пшеницу и рис, ни основные фуражные культуры злаков (кукуруза, овёс и др.).

1.3 Превращения органического азота и образование аммиака

Слайд №9. Органические азотистые соединения, синтезируемые водорослями и растениями, служат источниками азота для животных. Сложные азотистые соединения растений в процессе их ассимиляции животными в большей или меньшей степени гидролизуются, однако азот остается в основном в восстановленной органической форме. Животные, в отличие от растений, в процессе метаболизма выделяют значительное количество азотистых соединений. Форма, в которой выделяется этот азот, у разных видов живых организмов отличается. Беспозвоночные выделяют преимущественно аммиак, но у позвоночных наблюдается выделение и органических азотистых продуктов: у пресмыкающихся и птиц основное выделяемое азотсодержащее соединение — это мочевая кислота, а у млекопитающих — мочевины. Выделяемые животными мочевины и мочевая

кислота быстро минерализуются особыми группами микроорганизмов с образованием двуокси углерода и аммиака (рисунок 2).

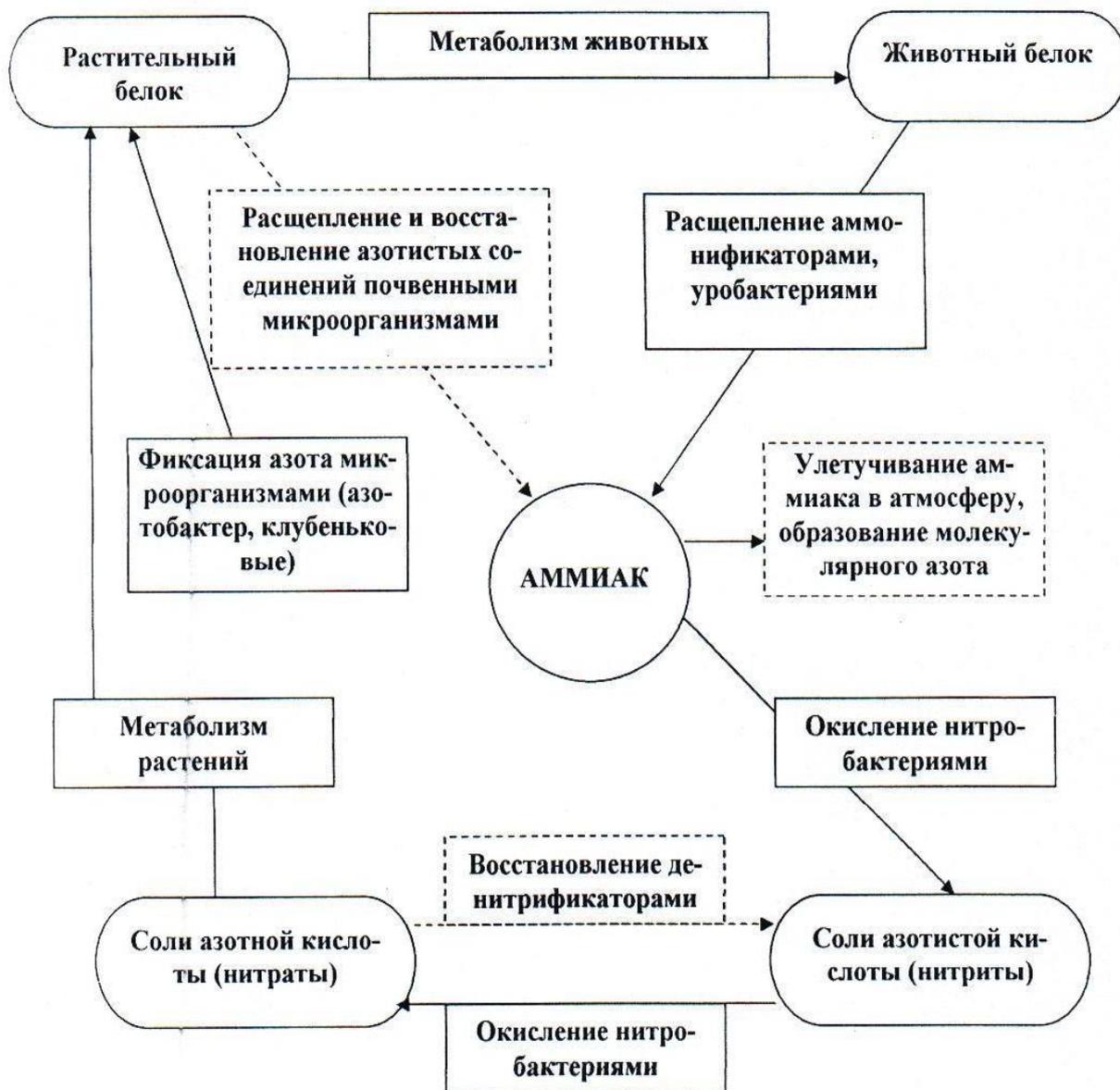


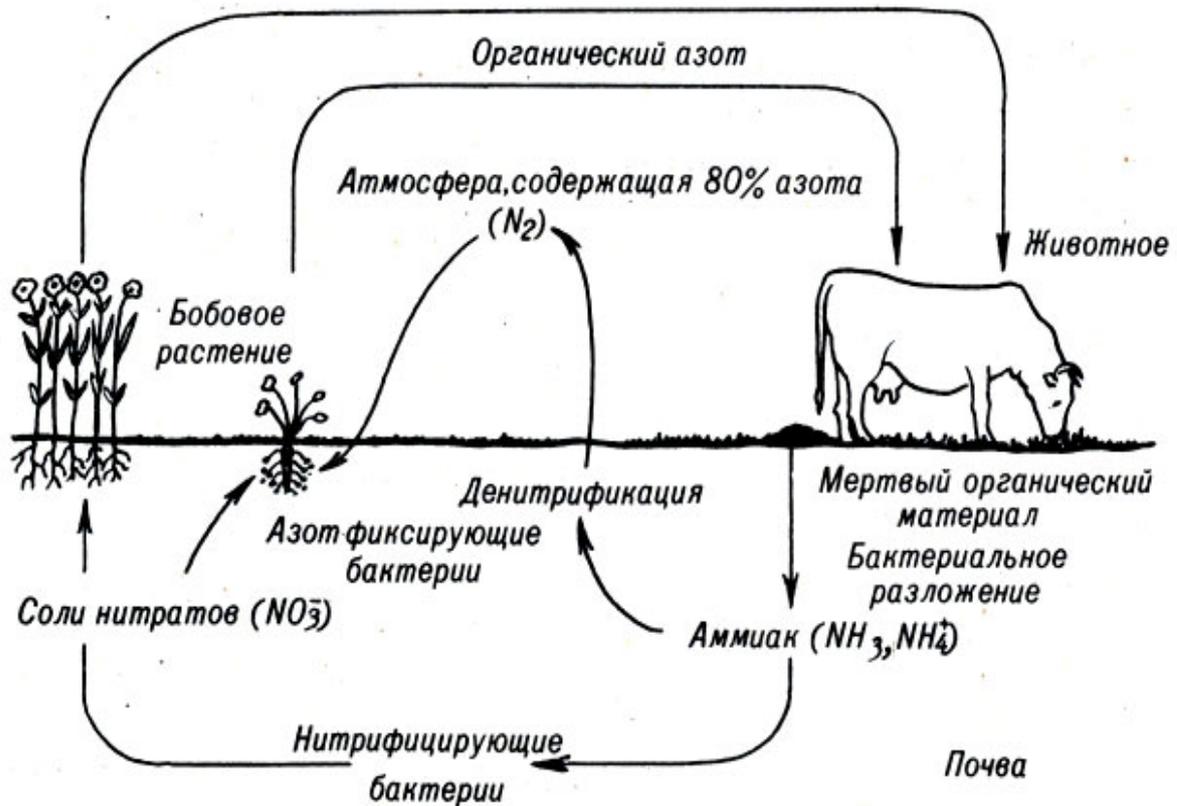
Рисунок 2 – Схема превращения азота

Только часть азота, запасенного в органических соединениях в процессе роста растений, превращается в аммиак в результате обмена веществ у животных, а также при микробном разложении мочевины и мочевой кислоты. Значительное его количество сохраняется в растительных и животных тканях и освобождается лишь после гибели этих организмов.

Когда погибает растение или животное, компоненты его тела немедленно подвергаются действию микроорганизмов, и азотистые соединения разрушаются с образованием аммиака. Часть азота ассимилируется самими микроорганизмами и таким образом превращается в компоненты микробной клетки. В итоге и эти компоненты превращаются в аммиак после отмирания микробов.

Первый этап процесса **аммонификации** — гидролиз белков и нуклеиновых кислот с освобождением соответственно аминокислот и органических азотистых оснований, которые затем также расщепляются в результате дыхания и брожения.

Слайд №10 (краткий комментарий по картинке). Разрушение белка в анаэробных условиях (гниение) обычно не приводит к немедленному освобождению всего аминного азота в виде аммиака. Некоторые



аминокислоты превращаются в амины. Гнилостное разложение характерно для деятельности анаэробных спорообразующих бактерий рода *Clostridium*. В присутствии воздуха амины окисляются другими бактериями с выделением аммиака.

1.4 Нитрификация (превращение аммиака в нитратные соединения)

В процессе всех превращений, которым подвергается азот с момента его ассимиляции растениями до его освобождения в виде аммиака, атом азота остается в восстановленной форме. Превращение аммиака в нитрат (нитрификация) осуществляется в природе двумя высокоспециализированными группами облигатно аэробных хемоавтотрофных бактерий.

Слайд №11. Нитрификация происходит в два этапа: на первом аммиак, окисляется до нитрита, на втором нитрит окисляется до нитрата. В результате деятельности бактерий аммиак, освобождающийся в процессе минерализации органического вещества, быстро окисляется в нитрат. Таким образом, нитрат основное азотистое вещество почвы, используемое растениями в процессе роста. Практика удобрения почвы навозом основана на микробной минерализации органического вещества, которая приводит к превращению органического азота в нитраты путем аммонификации и нитрификации. Еще более простым способом повышения содержания нитратов в почве служит орошение полей разбавленными растворами аммиака, что является одним из современных методов удобрения почв. Аммиак, который можно синтезировать химическим путем из молекулярного азота, — это наиболее концентрированная форма доступного связанного азота, поскольку он содержит около 82% азота по весу. Нитраты представляют собой хорошо растворимые соединения, поэтому они легко выщелачиваются из почвы и уносятся водой; следовательно, определенное количество связанного азота постоянно удаляется с континентов и переносится в океаны. В некоторых местностях, особенно в полусухих районах Чили, в почве накапливаются отложения нитратов в результате выхода и испарения поверхностных вод. Такие отложения — ценный источник удобрений, хотя их значение существенно снизилось за последние 50 лет вследствие развития химических методов производства азотистых соединений из атмосферного азота.

1.5 Денитрификация

Слайд №12. В анаэробных условиях многие аэробные бактерии вместо кислорода могут использовать нитрат в качестве конечного акцептора электронов с образованием молекулярного азота. Этот процесс известен как **денитрификация (диссимиляционная нитратредукция)**, или «**нитратное дыхание**», так как в данном случае роль нитрата в качестве окислителя

аналогична роли молекулярного кислорода при аэробном дыхании. Способностью к денитрификации обладают многие факультативно аэробные бактерии (*Pseudomonas aeruginosa*, *P. stutzeri*, *P. fluorescens*, *Bacillus licheniformis*, *Paracoccus denitriflexans*, *Thiobacillus denitrificans*). **Ассимиляционная нитратредукция** характерна для большинства микроорганизмов и для растений. Нитрат служит источником азота для построения клеточных компонентов. Источником азота для растений и микроорганизмов может быть и аммоний, усвояемый ими в процессе ассимиляции аммиака.

Таким образом, всякий раз, когда при разложении органического вещества в почве или воде кислород исчерпывается в результате дыхания аэробных микроорганизмов, некоторые из этих аэробов в присутствии нитрата продолжают дышать за счет органического вещества, т.е. переходят к анаэробному дыханию. При этом происходит восстановление нитратов. Некоторые бактерии (например, *Escherichia coli*) способны восстанавливать нитрат только до уровня нитрита, другие (например, *Pseudomonas aeruginosa*) могут восстановить его до газообразного азота. В ходе этого процесса, называемого денитрификацией, связанный азот удаляется из почвы и воды с освобождением газообразного азота в атмосферу.

Слайд №13. Денитрификация — процесс, имеющий большое экологическое значение. Он лишает почву необходимого для растений азота, снижая продуктивность сельского хозяйства. Особенно значительные потери происходят в удобренных почвах. Хотя точные цифры не известны, но при определенных условиях удобрения могут утрачивать в результате денитрификации до 50% связанного азота.

Однако денитрификация приводит не только к вредным последствиям. Благодаря денитрификации в почве всегда имеется определенное количество связанного азота. Хорошо растворимые ионы нитрата постоянно выщелачиваются из почвы и переносятся в океаны. При отсутствии денитрификации земной запас азота, включая азот атмосферы, в конце концов сосредоточился бы в океанах и, жизнь стала бы невозможной на основной части суши. Денитрификация делает пресную воду пригодной для питья, поскольку ионы нитратов в высоких концентрациях являются токсичными.

Слайд №14. Следует отметить, что изучение круговорота азота в природе связано с большими трудностями, поэтому количественные оценки отдельных миграционных потоков круговорота азота, выполненные разными учеными, сильно различаются. Диапазон данных отражен в **таблице 2**, где представлены главные особенности круговорота азота в биосфере.

Цикл кругооборота азота сильно изменился из-за хозяйственной

Таблица 2 – Миграция масс азота в биосфере

Процессы массообмена	Масса	10 ⁶ т	/ год
Мировая суша			
Круговорот высших растений (фотосинтез — деструкция органического вещества)		3400*	
Бактериальный круговорот:			
Азотфиксация	4 0-200		
Денитрификация	от 40-400	50 до	350-
Круговорот азота с участием животных	90-190		
Поступление в атмосферу при пожарах леса	10-200		
Вымывание из атмосферы	50		
Вынос с речным стоком	24-61		
Дегазация из недр Земли	1-9		
Океан			
Круговорот фотосинтетиков планктона	6000		
Бактериальный круговорот:			
Азотфиксация	1-20 0-		
денитрификация	330		
Вымывание из атмосферы	82		
Удаление в осадки	1-9		
Техногенный вклад в миграцию масс с			
Индустриальная азотфиксация	60		
Эмиссия азота в окружающую среду с промышленными и бытовыми отходами	10-20		

деятельности людей. Наиболее значительное изменение в структуре глобального кругооборота азота связано с индустриальной фиксацией молекулярного азота из атмосферы, производством азотных удобрений и внесением их в почву. Масса ежегодно фиксируемого промышленностью азота превышает $60 \cdot 10^6$ тонн. Не меньшее значение имеет искусственная биологическая фиксация азота путем широкого использования в сельском хозяйстве бобовых культур, находящихся в симбиозе с азотфиксирующими бактериями. В 70-х годах этим путем дополнительно связывалось около $15 \cdot 10^6$ тонн азота; в настоящее время это количество возросло.

2. Круговорот серы

2.1 Общие положения

Значение живой материи для глобальной геохимии серы в биосфере не менее значимо, чем для углерода, хотя проявляется совершенно иначе. Если в биогеохимическом цикле углерода на суше главную роль играет сопряженная жизнедеятельность высших растений и почвенных микроорганизмов, то в биогеохимическом цикле серы основное значение имеет взаимодействие разных видов бактерий. Бактерии, синтезирующие органическое вещество, могут рассматриваться как **продуценты**, а разлагающие — как **деструкторы** (Заварзин Г.А., 1984). Взаимодействие таких групп способствует функционированию **малых биогеохимических циклов**.

Слайд №15. Сера, необходимый компонент живой материи, в большом количестве присутствует в земной коре. Для живых организмов сера доступна в форме растворимых сульфатов или восстановленных органических соединений. В результате микробного метаболизма и, в незначительном количестве, за счет вулканической деятельности в биосфере встречается также восстановленная сера в виде сероводорода (H_2S). Однако концентрация сероводорода в атмосфере очень низкая, так как в присутствии кислорода сероводород быстро окисляется либо спонтанно, либо с помощью бактерий.

Слайд №16. Во всех живых организмах сера представлена главным образом сульфгидрильными ($-SH$) или сульфидными ($-S-S-$) группами аминокислот: метионина, цистеина и гомоцистеина. При анаэробном разложении белков сульфгидрильные группы отщепляются ферментами-десульфурезами, при этом выделяется сероводород. Этот процесс напоминает аммонификацию азотсодержащих органических соединений. Наибольшее количество сероводорода образуется при диссимиляционном восстановлении сульфатов (**диссимиляционная сульфатредукция**, или **«сульфатное дыхание»**), осуществляемом облигатно анаэробными бактериями (бактерии родов *Desulfovibrio*, *Desulfotomaculum*, *Desulfococcus*, *Desulfosarcina*, *Desulfonema*). Последние используют сульфат для окисления низкомолекулярных органических соединений или молекулярного водорода. Диссимиляционное восстановление элементарной серы в анаэробных условиях способны осуществлять бактерии рода *Desulfuromonas*. Сульфатредуцирующие (или десульфатирующие) бактерии в круговороте серы играют роль, сопоставимую с ролью нитратредуцирующих бактерий в

круговороте азота. Их деятельность заметна на дне прудов, вдоль побережья

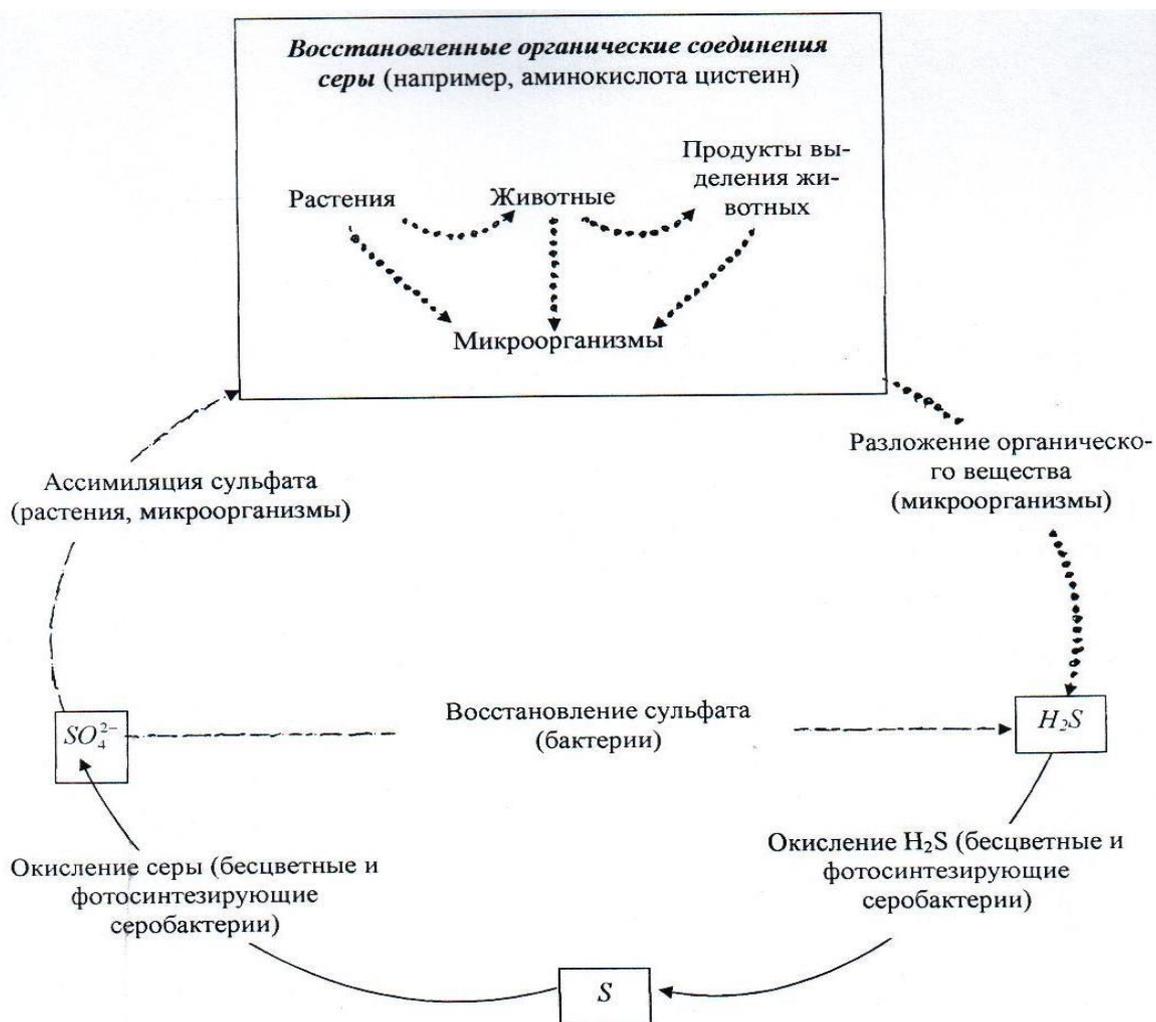


Рисунок 3 – круговорот серы. Окисление атома серы показано сплошными стрелками, восстановление – точечными, а реакции без изменения валентности – пунктирными стрелками

моря по чёрному цвету ила (связан с образованием сульфида двухвалентного железа) и запаху (за счёт выделения сероводорода). Из-за токсического действия сероводорода некоторые береговые области иногда практически безжизненны.

Слайд №17. Циклические превращения соединений серы называются **круговоротом серы**. Биологические аспекты этого круговорота показаны на **рисунке 3**. Во многих отношениях он обнаруживает большое сходство с уже рассмотренным круговоротом азота.

Кроме биологического круговорота серы в земной атмосфере происходят важные небиологические превращения газообразных форм серы. Подсчитано, что в атмосферу ежегодно выделяется около 90млн. тонн серы в форме сероводорода(H_2S), который образуется биологическим путем, еще

50млн. тонн в форме сернистого газа (SO_2) образуется при сжигании топлива и около 0,7млн. тонн в форме сероводорода (H_2S) и сернистого газа (SO_2) возникает в результате вулканической деятельности. В атмосфере сероводород быстро окисляется до сернистого газа (SO_2) атомарным кислородом (O), молекулярным кислородом (O_2 или озоном (O_3)). Сернистый газ (SO_2) может растворяться в воде с образованием сернистой кислоты (H_2SO_3), или окисляться в медленно текущих реакциях (требующих нескольких часов или дней) до серного газа (SO_3). При растворении в воде SO_3 превращается в серную кислоту (H_2SO_4). Часть серной кислоты нейтрализуется небольшим количеством аммиака, присутствующего в атмосфере, однако основная ее часть возвращается вместе с неокисленной сернистой кислотой (H_2SO_3) на землю в форме кислоты, вызывающей значительное разрушение различных каменных сооружений. Количество образовавшихся кислых соединений серы ежегодно увеличивается по мере увеличения количества сжигаемого топлива. Эта проблема стоит особенно остро в районах с высокой плотностью населения — здесь уже в наше время происходит быстрое разрушение многих каменных скульптур (особенно страдают мраморные скульптуры).

2.2 Ассимиляция сульфата

Слайд №18. Сульфат используется в качестве питательного вещества почти всеми растениями и микроорганизмами. Ассимиляция сульфата напоминает ассимиляцию нитрата. Во-первых, сульфат, подобно нитрату, должен быть восстановлен, чтобы сера могла включиться в органические соединения, так как в живых организмах сера встречается почти исключительно в восстановленной форме в виде сульфгидрильных ($-\text{SH}$) или дисульфидных ($-\text{S}-\text{S}-$) групп. Во-вторых, в обоих случаях ассимилируется ровно столько питательных веществ, содержащих серу или азот, сколько их необходимо для роста организма; поэтому никакие восстановленные продукты метаболизма серы или азота не выделяются в окружающую среду.

2.3 Превращения органических соединений серы и образование сероводорода

При минерализации органических серосодержащих соединений сера освобождается в неорганической восстановленной форме в виде сероводорода. Этот процесс напоминает аммонификацию, при которой азот

выделяется из органического вещества в неорганическом восстановленном состоянии в виде аммиака.

2.4 Прямое образование сероводорода из сульфата

Использование сульфата для синтеза серосодержащих компонентов клетки и последующее разложение этих соединений приводят к тому, что сульфат полностью восстанавливается до сероводорода. Более прямым путем сероводород образуется также из сульфата за счет деятельности сульфатредуцирующих бактерий. Эти облигатно анаэробные бактерии окисляют органические соединения и молекулярный водород при посредстве сульфата как окисляющего агента. Поэтому их роль в круговороте серы можно сравнить с ролью нитратредуцирующих бактерий в круговороте азота. Деятельность сульфатредуцирующих бактерий особенно заметна в иле на дне прудов и ручьев, в болотах и вдоль побережья моря. Так как концентрация сульфата в морской воде относительно высока, восстановление сульфата — важный фактор минерализации органического вещества на морских отмелях. Признаками такой минерализации служат запах сероводорода и черный ил, в котором протекает этот процесс. Черный цвет ила обусловлен присутствием в нем больших количеств сульфида двухвалентного железа. Некоторые береговые области, где накопление органического вещества ведет к особенно интенсивному восстановлению сульфата, практически безжизненны из-за токсического действия сероводорода.

2.5 Окисление сероводорода и серы

Сероводород, образующийся в биосфере в результате разложения серосодержащих соединений, восстановления сульфата и вулканической деятельности, в основном превращается в сульфат. Лишь небольшая его часть выводится из круговорота в виде нерастворимых сульфидов или (после самопроизвольного окисления кислородом) элементарной серы.

Слайд №19. Образованный в отсутствие молекулярного кислорода сероводород может быть окислен анаэробными фототрофными бактериями семейств Chromatiaceae до серы (виды *Chlorobium*) или до сульфата (виды *Chromatium*). В этом семействе известны бактерии, накапливающие серу внутри клеток в качестве промежуточного продукта окисления сероводорода (виды *Thiospirillum*, *Chromatium*, *Thiodictyon*), и бактерии, откладывающие серу вне клеток (виды *Ectothiorhodospira*).

- В аэробных условиях сероводород под действием бесцветных серобактерий (виды *Beggiatoa*, *Thiothrix*) окисляется (через промежуточное образование серы) в сульфат. Сероводород может также окисляться в

присутствии кислорода абиотическим путём. Свободную серу в аэробных условиях могут окислить до сульфата представители рода *Thiobacillus*. Некоторые из них — хемолитотрофы, другие используют в качестве источников энергии и углерода органические соединения.

- Образую большие количества серной кислоты, тиобациллы уменьшают щелочность почвы, переводя карбонат кальция в растворимый сульфат кальция, вымываемый из почвы. Таким образом, добавляя в известковые почвы элементарную серу, можно бороться с избыточным известкованием. Что касается серы, необходимой для синтеза серосодержащих аминокислот, то она поступает в организм животных с пищей, содержащей восстановленные соединения серы; растения и часть микроорганизмов получают её в процессе ассимиляционной сульфатредукции. Как и при ассимиляции нитрата, ассимилируется ровно столько питательных веществ, содержащих серу или азот, сколько их необходимо для роста организма, поэтому восстановленные продукты метаболизма серы в окружающую среду не выделяются.

Слайд №20. Таким образом, биологическое окисление сероводорода и элементарной серы осуществляется фотосинтезирующими и хемоавтотрофными бактериями. Оно может происходить в аэробных условиях под воздействием бесцветных серобактерий или в анаэробных с помощью фотосинтезирующих пурпурных и зеленых серобактерий. Так как такие окислительные реакции приводят к образованию ионов водорода, они вызывают местное закисление почвы. Серу обычно добавляют к щелочным почвам, чтобы увеличить их кислотность.

Определить микробиологическое продуцирование сернистых газов весьма сложно. По данным Дж. Фрейда (1976), в результате деятельности микроорганизмов из океана в атмосферу выделяется $48 \cdot 10^6$ тонн серы в год. Одна ее часть в виде недоокисленных газов типа SO_2 растворяется в воде ($25 \cdot 10^6$ тонн), другая полностью окисляется до сульфатов и вымывается атмосферными осадками. По мнению Дж. Фрейда, почвенные бактерии на суше выделяют в атмосферу в виде газов $58 \cdot 10^6$ тонн серы в год, из которых $15 \cdot 10^6$ тонн поглощаются растительностью, а $43 \cdot 10^6$ тонн окисляются в атмосфере до сульфатов и выпадают с атмосферными осадками.

Кроме того, с поверхности континентов ветром захватывается значительная масса сульфатов в виде дисперсных твердых частиц, которые входят в состав аэрозолей и затем выпадают на поверхность. Оценить эту массу в настоящее время можно лишь очень приблизительно. По данным

А.Ю. Лейн и соавторов (1988), при выветривании в атмосферу с последующим осаждением участвует масса серы, равная $8 \cdot 10^6$ тонн в год.

3. Круговорот фосфора

Слайд №21. Фосфор, как и азот, имеет большое значение в жизнедеятельности живых организмов. Без фосфора не могут синтезироваться белки. Он в большом количестве входит в состав ядерного вещества и многих ферментов, участвует в реакциях фосфорилирования. Некоторые фосфорорганические компоненты — носители больших запасов энергии (нуклеиновые кислоты, липиды и др.).

Слайд №22. С химической точки зрения круговорот фосфора является достаточно простым, так как фосфор встречается в живых организмах только в пятивалентном состоянии в виде свободных фосфатных ионов или в виде органических фосфатных компонентов клетки. Живые клетки неспособны поглощать большинство органических фосфорсодержащих соединений; их потребности в фосфоре удовлетворяются в результате поглощения фосфатных ионов, из которых внутри клетки синтезируются затем органические фосфорсодержащие соединения. После гибели организма фосфатный ион вновь освобождается при гидролизе этих соединений.

Несмотря на относительно короткий цикл круговорота фосфора и относительное обилие фосфатов в почвах и горных породах, фосфат служит фактором, ограничивающим рост многих организмов, так как большая часть земных запасов фосфора находится в виде нерастворимых солей кальция, железа или алюминия. Пресная вода часто содержит фосфатные ионы лишь в следовых количествах, и они становятся доступными для животных только после их концентрирования фитопланктоном.

Слайд №23. Таким образом, фосфаты доступны для высших организмов благодаря непрерывному переводу нерастворимых фосфатных соединений в растворимые. В этом процессе микробам принадлежит ведущая роль. Кислые продукты метаболизма — органические и неорганические (например, азотная и серная) кислоты растворяют фосфат кальция; образуемый бактериями сероводород способствует растворению фосфатов железа. Подсчитано, что продукцию биомассы в биосфере в конечном итоге лимитируют азот и фосфор. Так, из элементов, содержащихся в 1 м^3 морской воды, можно создать, опираясь в расчётах на содержание углерода - около 100г биомассы, рассчитывая по азоту — 6г, по фосфору — только 5г биомассы.

Растворимые фосфаты постоянно переносятся из почвенной среды в море вследствие выщелачивания; такой перенос в основном является

однонаправленным. Только небольшие количества фосфатов возвращаются на сушу, главным образом в виде отложений помёта морскими птицами. Таким образом, доступность фосфата для высших организмов зависит от непрерывного перевода в раствор нерастворимых фосфатных отложений — процесса, в котором важную роль играют микроорганизмы. Кислые продукты их метаболизма (органические, а также азотная и серная кислоты) растворяют фосфат кальция, а образованный ими сероводород способствует растворению фосфатов железа.

Доступной для растений формой фосфора в почве служат свободные ионы ортофосфорной кислоты (H_3PO_4). Их концентрация часто очень низка; рост растений, как правило, лимитируется не общим недостатком фосфата, а образованием малорастворимых его соединений, таких как апатит и комплексы с тяжелыми металлами. Запасы фосфатов в месторождениях, пригодных для разработки, велики, и в обозримом будущем производство сельскохозяйственной продукции не будет ограничиваться недостатком фосфора; однако фосфат должен быть переведен в растворимую форму. Во многих местах фосфат из удобрений попадает в проточные водоемы и озера. Так как концентрация ионов железа, кальция и алюминия в водоемах невысока, фосфат остается в растворенной форме, что приводит к формированию среды благоприятной для развития азотфиксирующих цианобактерий. В почвах из-за образования нерастворимых солей фосфаты чаще всего быстро становятся недоступными для усвоения.

В почве имеется много фосфора. По расчетам Д.Н. Прянишникова, его количество составляет 3—5 тонны на гектар. Особенно много фосфора в черноземах, богатых гумусом (5—6 тонн/га). Фосфор в почве содержится в основном в органической, неусвояемой растениями форме и в виде трудноусвояемых минеральных соединений. Органические соединения попадают в почву вместе с растительными остатками, а также с отмирающими микроорганизмами. Они представлены нуклеопротеидами, нуклеиновыми кислотами и т.д.

Работами многих авторов была подтверждена роль микроорганизмов в превращении органических соединений фосфора в доступную для растений форму. Однако выделить культуру фосфорных микробов в чистом виде удалось только в 1935 г. Р.М. Менкиной. Ею были выявлены две разные группы микробов: спорообразующие и не обладающие таким свойством.

Слайд №24. Из разных видов фосфорных микроорганизмов наибольший интерес представляют спорообразующие виды, так как они используются для приготовления бактериального удобрения «Фосфобактерина». Их относят к

виду *Bac. megaterium* var. *phosphaticum*. На среде, содержащей фосфорорганические соединения, фосфорные микробы освобождают фосфор в виде минеральных легко растворимых солей фосфорной кислоты, доступных для растений. Чем больше таких микробов в почве, тем больше в ней доступного фосфора.

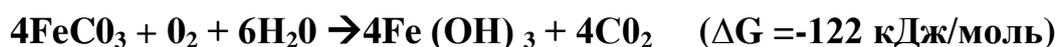
4. Превращение соединений железа.

Этот элемент широко распространен в природе, встречается в виде органических и минеральных соединений, входит в состав животных и растительных клеток. Содержится в гемоглобине крови и дыхательных ферментах- цитохромах, необходим для образования хлорофилла у растений, хотя и не входит в его состав. При недостатке железа у животных развивается анемия, растения теряют зеленую окраску. Железо бывает в форме нерастворимого окисного трёхвалентного (Fe^{3+}) и растворимого закисного -двухвалентного (Fe^{2+}). Перевод органического железа из окисного в закисное и наоборот осуществляется в основном микроорганизмами. С.Н.Виноградский обнаружил, что способностью окислять закисные соли железа в основном обладают бактерии рода *Leptothrix*. По форме они напоминают нити, покрытые чехлом охряного цвета. Такую окраску придает им гидрат окиси железа — продукт жизнедеятельности микробов.

Слайд №25 В 1947г. из кислых вод угольных шахт выделен микроорганизм *Thiobacillus ferrooxidans*. Микроб представляет собой грамтрицательную подвижную палочку, которая живет в кислой среде (рН 1,8—3,5) при температуре 20—30°C. Углерод получает из диоксида углерода атмосферы, а энергию для его усвоения — при окислении закисного железа и сульфидов различных металлов. *Thiobacillus ferrooxidans* является наиболее широко распространенным микроорганизмом, окисляющим сульфидные минералы и переводящим металлы из нерастворимого состояния в растворимое.

Жизнедеятельность железобактерий и серобактерий во многом сходна. Железобактерии — аэробы, чаще встречаются в болотах, прудах, железистых источниках. В таких водоемах они окисляют закиси железа, поэтому наиболее благоприятной для них является та среда, в которой обитают зеленые водоросли, выделяющие на свету кислород. В процессе деятельности железобактерий образуется окись железа, которая оседает вне клеток и придает им бурый цвет.

Слайд №26. Окисление закисного железа идет по схеме:



По мнению ученых, все важнейшие месторождения железа образовались в результате жизнедеятельности бактерий. В железных рудах обнаружены остатки древних железобактерий. Скопления отмерших железобактерий (гидроксида железа) образуют на дне стоячих водоемов залежи болотной руды, количество которой может достигать огромных размеров.

Во второй половине XIX в. русский ученый-инженер Н.И.Путилов для выплавки чугуна, а из него стали использовал руду, которую добывали со дна многочисленных озер в Финляндии. В подобных водоемах она обычно бывает биогенного (бактериального) происхождения. Об этом свидетельствует тот факт, что после извлечения руды ее количество в тех же озерах сравнительно быстро (через 2—3 года) восстанавливалось. Озерная руда содержала до 33% железа, а ее стоимость в то время не превышала 3—4 копеек за пуд. Производство металла быстро возросло и достигало примерно полумиллиона пудов в год. Качество чугуна из болотной руды было очень хорошим. Позднее на путиловских заводах было налажено производство рельсов для императорской Николаевской железной дороги. Они превосходили по качеству и были на 30 % дешевле британских.

Микробы — это ещё и источники ультрамелких кристаллов магнетита. Ультрамелкие кристаллы магнетита (**нанокристаллы**), которые можно рассмотреть только в электронном микроскопе, содержатся в теле некоторых микробных клеток. Учеными Великобритании такие объекты обнаружены в иле морей и рек. Выделенные ими микроорганизмы можно размножать на искусственных питательных средах. Это позволит получить необходимое количество ультрамелких кристаллов, которые широко используются в электронике. Необходимый материал извлекают из микробных клеток путем обработки их слабой соляной кислотой, в результате чего кристаллы магнетита высвобождаются и оседают на дно.

5. Роль микроорганизмов в геологической истории Земли

5.1 Круговорот веществ на протяжении геологической истории Земли

Реакции, в совокупности составляющие круговорот веществ, приводят к сбалансированному образованию и потреблению биологически важных элементов в биосфере. Вполне вероятно, что круговорот веществ

функционировал без существенных изменений по крайней мере в течение нескольких миллиардов лет. Однако есть достаточные основания полагать, что круговорот веществ в ранний период истории Земли, когда на планете впервые появились биологические системы, значительно отличался от современного (рисунок 1.).

Слайд №27. Как уже говорилось в предыдущих лекциях, химические элементы, являющиеся основными компонентами живых организмов, до возникновения жизни на Земле существовали в восстановленной форме. Молекулярный кислород в атмосфере отсутствовал. Появлению живых систем предшествовал длительный период химического синтеза органических веществ с помощью реакций между восстановленными компонентами атмосферы, катализируемых ультрафиолетовыми лучами и грозowymi разрядами. Продукты этих реакций накапливались в первичном океане и подвергались дальнейшим превращениям.

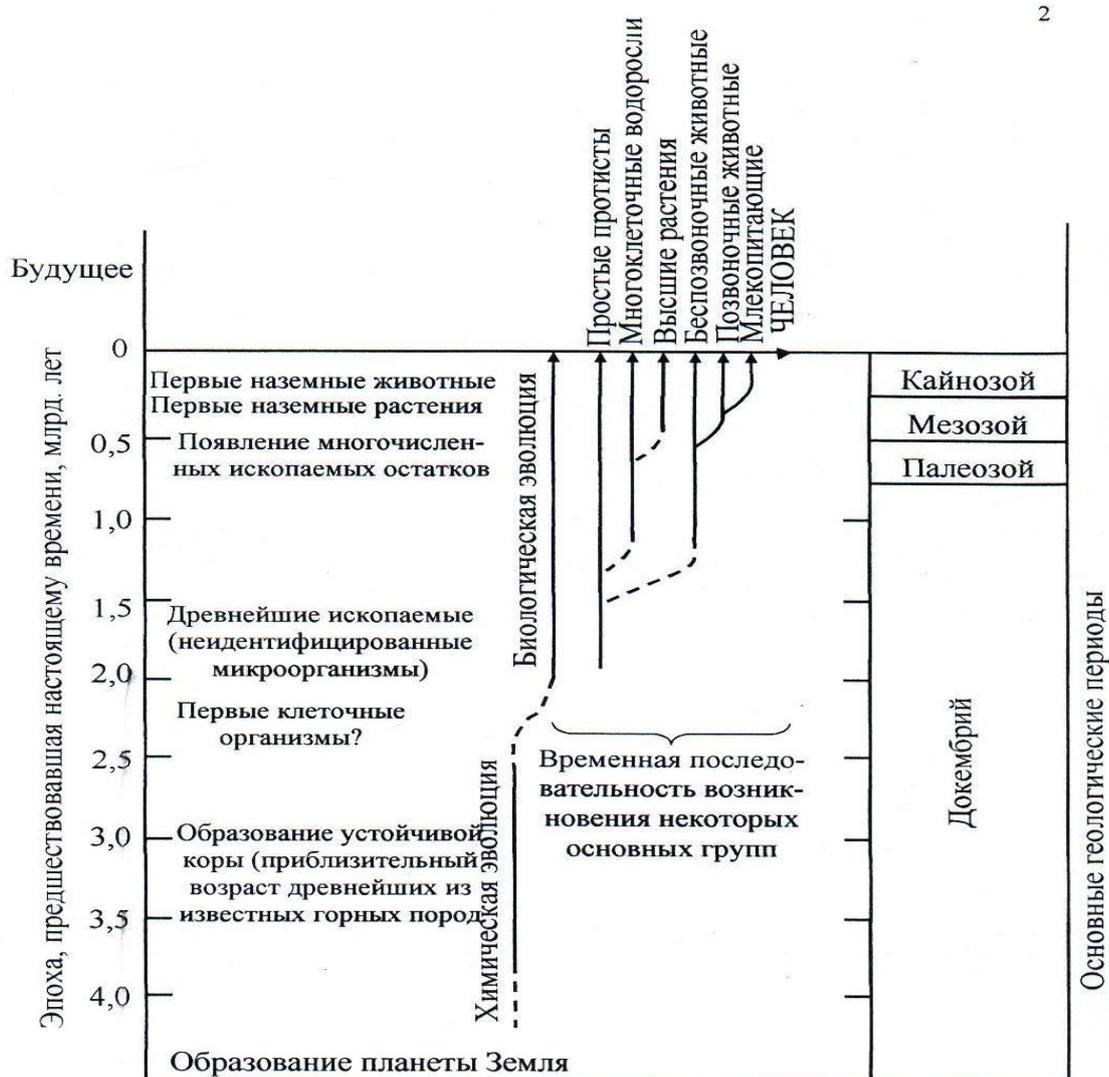


Рисунок 1– Временная шкала эволюции на Земле

Образование сложных органических соединений в результате химических взаимодействий привело к возникновению самоудваивающихся систем, и с этого момента началась биологическая эволюция. Первые живые системы обладали слабыми синтетическими способностями и для получения энергии они использовали реакции брожения. По мере их роста и распространения запас органического сырья постепенно истощался, что способствовало появлению организмов, синтетические способности которых становились более совершенными. На относительно ранней стадии этой первичной биохимической эволюции, произошло истощение запаса богатых энергией органических соединений; поэтому, дальнейший ход биологической эволюции зависел от приобретения некоторыми организмами способности использовать солнечный свет в качестве источника энергии. Поэтому одним из наиболее ранних и важных этапов биохимической

эволюции было возникновение механизмов осуществления фотосинтеза. Первые фотосинтезирующие организмы были анаэробами, сходными по типу фотосинтетического метаболизма с современными пурпурными и зелеными бактериями.

Ранняя эволюция фотосинтезирующих организмов достигла кульминации с появлением цианобактерий, способных использовать воду в качестве восстановителя при фотосинтетической ассимиляции двуокиси углерода. После этого этапа в атмосфере начал накапливаться продукт окисления воды — молекулярный кислород, создавая условия, необходимые для эволюции организмов, получающих энергию путем аэробного дыхания. Благодаря наличию молекулярного кислорода в биосфере стали преобладать окисленные формы азота и серы (нитрат и сульфат), и, наконец, наступило время для установления такого круговорота веществ, какой существует в настоящее время.

5.2 Микроорганизмы и геологическая история земли

Микроорганизмы сыграли важнейшую роль в построении земной коры. В результате их деятельности произошло частичное разделение химических элементов и соединений, залегающих в коренных породах в виде смесей.

Месторождения многих полезных ископаемых, разрабатываемые в настоящее время, своим возникновением полностью или частично обязаны деятельности микроорганизмов.

5.2.1 Отложения железа

Крупнейшие месторождения железных руд представляют собой «полосчатые железорудные формации» (ПЖФ). Осаждение оксидов железа происходило здесь в основном в период от 2,8 до 1,6 млрд. лет назад. До того времени выделявшееся из магматических пород морского дна железо накапливалось в большом количестве в виде ионов Fe^{2+} вместе с другими восстановленными ионами (S^{2-} , Mn^{2+}) в морях. Когда начался кислородный фотосинтез цианобактерий, ионы серы стали окисляться в сульфаты а Fe^{2+} - в Fe^{3+} . Последние труднорастворимы. Осаждение окиси железа на больших площадях происходило в тех местах, где содержащее железо глубинные воды приходили в соприкосновение с кислородсодержащими поверхностными водами. В полосчатых железорудных формациях

чередуются слои окиси железа и слои кремнезема (толщиной от 0,2 до 2,0мм). Как полагают, эта слоистость - результат сезонного ритма фотосинтеза в водоемах, где формировались осадки. Только после завершения процесса окисления серы и железа в морской воде, кислород стал накапливаться в атмосфере.

При нейтрализации воды трехвалентное железо выпадает в осадок в виде гидроокиси железа ($\text{Fe}(\text{OH})_3$). Многие месторождения чистого оксида железа создавались в результате продолжавшегося миллионы лет микробного выщелачивания. В других местах в солончилизации железа участвуют органические гуминовые кислоты. Последующее биологическое окисление $\text{Fe}(\text{II})$ в $\text{Fe}(\text{III})$ может происходить под воздействием железобактерий. В результате образуется «болотная» и «луговая» железная руда.

5.2.2 Отложения карбоната кальция

Слайд №28. Во многих водоемах кальций присутствует в форме бикарбоната кальция ($\text{Ca}(\text{HCO}_3)_2$) или сернокислого кальция (CaSO_4). Вследствие изменения pH или удаления углекислого газа фотосинтезирующими организмами бикарбонат превращается в труднорастворимый карбонат кальция и выпадает в осадок. В анаэробных условиях сульфат при участии сульфатредуцирующих бактерий восстанавливается до сероводорода, и при этом выпадает в осадок карбонат кальция:



Большая часть известняка образовалась вследствие того, что гидрокарбонат кальция перемещался в тропические водоемы и там осаждался в виде карбоната кальция при выделении двуокиси углерода под действием повышенной температуры:



5.2.3 Отложения серы

Образование пригодных для разработки залежей серы связано с бактериальным восстановлением сульфата.

Сера, содержащаяся в морской воде, состоит в основном из двух стабильных изотопов: ^{32}S (95%) и ^{34}S (4%). При бактериальном восстановлении сульфата (которое лимитируется главным образом поступлением доноров водорода) сульфат $^{32}\text{SO}_4^{2-}$, содержащий легкий изотоп, имеет больше шансов быть поглощенным микроорганизмами и подвергнуться восстановлению, чем сульфат с ^{34}S . Поэтому образующийся

сероводород содержит меньше ^{34}S , чем сульфат морской воды. При окислении (биологическом или абиотическом) этого «легкого» сероводорода образуется «легкая» сера. Содержание изотопов серы в упомянутых месторождениях указывает на биогенный характер этой серы. Изотопный состав биогенной серы значительно отличается от состава, вулканической серы, найденной на о.Сицилия.

5.3 Микроорганизмы и эволюция атмосферы

Наша Земля кардинальным образом отличается от других планет Солнечной системы. По сравнению с Юпитером и Солнцем она содержит лишь незначительные количества инертных газов. По-видимому, она образовалась в результате объединения множества метеоритов; вследствие нагрева и расплавления внутреннего ядра Земли вода и газы были вытеснены к ее поверхности. Первичная атмосфера, вероятно, содержала много водорода, метана, азота и углекислого газа, но в ней не было кислорода. При фотоллизе водяных паров освобождался кислород, но он вновь переходил в связанное состояние. Химическая эволюция могла происходить только в бескислородной атмосфере .

Как полагают, в восстановленной первичной атмосфере (в которой не было кислорода) под действием солнечной радиации и в результате электрических разрядов образовывались органические вещества, которые затем попадали в воду и в ней накапливались. Когда они накопились в большом количестве, возникли условия, при которых мог совершиться переход от химической эволюции к возникновению первых самовоспроизводящихся живых существ.

Переход от неживой органической материи к живой клетке потребовал длительного времени. Появившиеся клеточные организмы получили большое селективное преимущество, поэтому все предшествующие формы организации оказались вытесненными.

Согласно распространенному представлению, в восстановленной первичной атмосфере происходило развитие прокариотических организмов (рисунок 2).

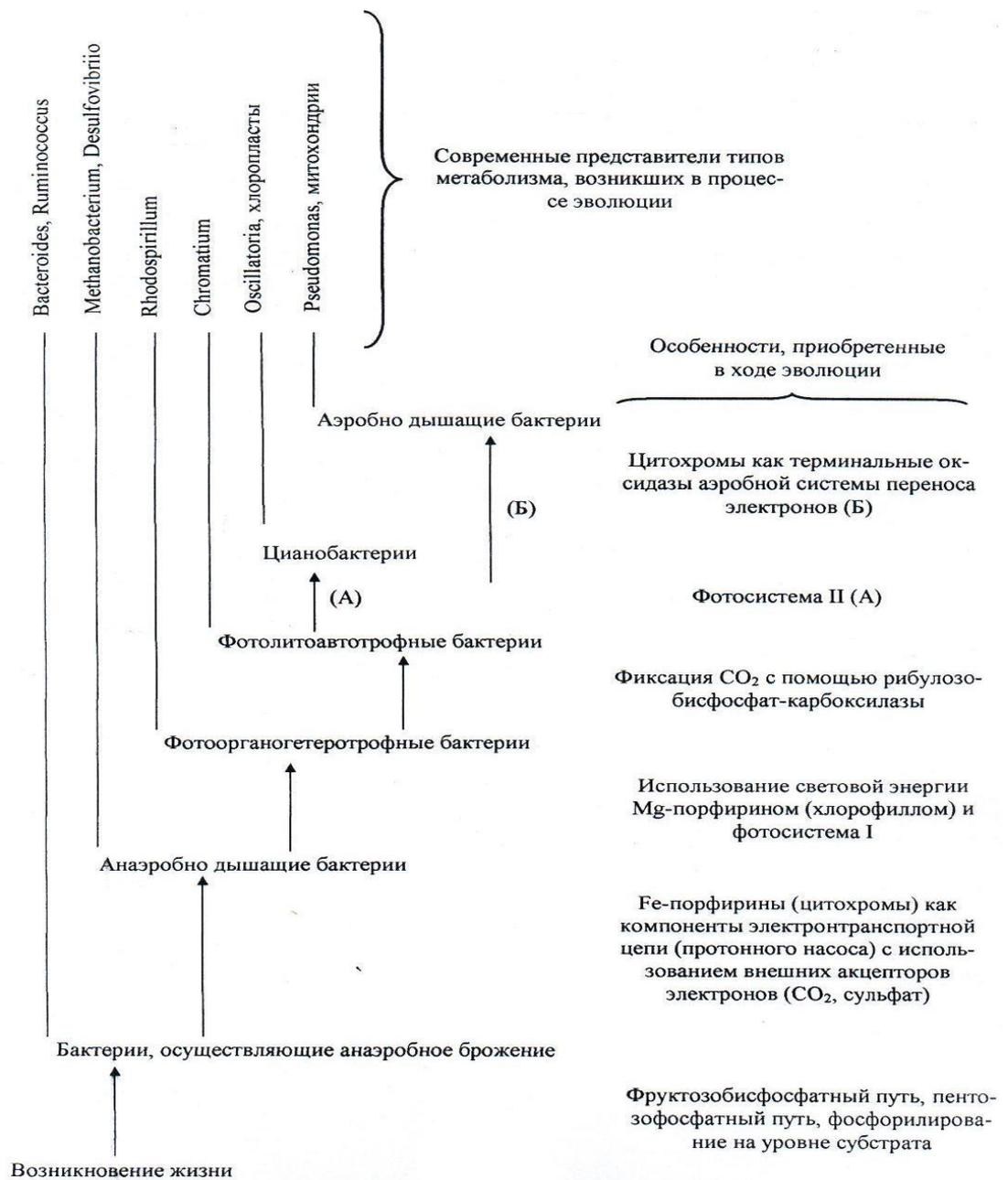


Рисунок 2 – Гипотетические этапы эволюции метаболизма у прокариот

Слайд №29. Наиболее древние биогеохимические процессы связаны с жизнедеятельностью хемолитотрофных бактерий. В качестве аналога форм древней жизни микробиологи рассматривают термофильные литотрофные бактерии, существующие в горячих источниках при температуре, близкой к 100°C. Специальные микробиологические исследования наземных и подводных горячих источников показали, что в настоящее время существуют сообщества термохемолитотрофных бактерий, субстратом для которых служат вулканические газы. Такие микроорганизмы окисляют восстановленные газообразные соединения и за счет энергии этих реакций

синтезируют органические вещества. Разумеется, это не сопровождается продуцированием кислорода .

Слайд №30. Хемолитотрофные сообщества, включившиеся в механизм взаимодействия окислителей атмосферы с восстановленными газами, выделявшимися из земных недр, знаменуют первый этап геохимической деятельности живых организмов.

Включение живых организмов в глобальную систему миграции химических элементов— выделение газов из Земли в атмосферу, их окисление и последующее вымывание из атмосферы — усложнило систему и превратило ее из абиогенной в *биогенно-абиогенную*.

Первыми прокариотами, которые могли появиться в водоемах, богатых органическими веществами, были микроорганизмы, существовавшие за счет брожения и обладавшие основными функциями анаэробного обмена (фруктозобисфосфатный и пентозо-фосфатный пути).

После появления фосфорилирования, сопряженного с переносом электронов, могла возникнуть также фотосистема I-«протонный насос, приводимый в действие светом», что позволило использовать свет в качестве источника энергии. С приобретением способности фиксировать двуокись углерода в рибулозобисфосфатном цикле и использовать неорганические доноры электронов (водород, сероводород, серу) выработался тип метаболизма, характерный для пурпурных серных бактерий. К еще большей независимости от растворенных в воде веществ привело затем появление фотосистемы II: стал возможен нециклический перенос электронов с использованием воды в качестве их донора. Этот процесс был неизбежно связан с выделением кислорода. Кислородный фотосинтез привел к тому, что земная атмосфера обогатилась кислородом.

Слайд №31. Представителями первых микроорганизмов, осуществлявших фотосинтез с выделением кислорода, являются цианобактерии, которые для синтеза органического вещества начали использовать не энергию окислительно-восстановительных химических реакций, а световую энергию Солнца. Признаки деятельности этих простейших форм жизни отмечены уже в самых древних геологических образованиях. При реакции фотосинтеза кислород стал выделяться в качестве метаболита. Для цианобактерий свободный кислород токсичен, они нормально развиваются при его отсутствии. Широкому распространению цианобактерий в древнем океане способствовало быстрое связывание кислорода в форме оксида железа и сульфатов. По этой причине содержание свободного кислорода в океане и в атмосфере длительное время не

увеличивалось. Лишь после окисления двухвалентного железа, растворенного в древних океанах и первоначально связанного в форме сидератов, из которых впоследствии образовались мощные толщи железистых кварцитов (джеспелитов), началось накопление кислорода в атмосфере. По расчетам немецкого геохимика М. Шидловского (1980), в оксидах железа связано примерно 56% всего выделившегося в результате фотосинтеза кислорода, в сульфатах — 39% и только 5% находится в свободном состоянии и распределено между атмосферой и океаном (рисунок 3).

Содержание кислорода в атмосфере стало увеличиваться около 1,8—2,0 млрд лет назад. Это проявилось в образовании континентальных

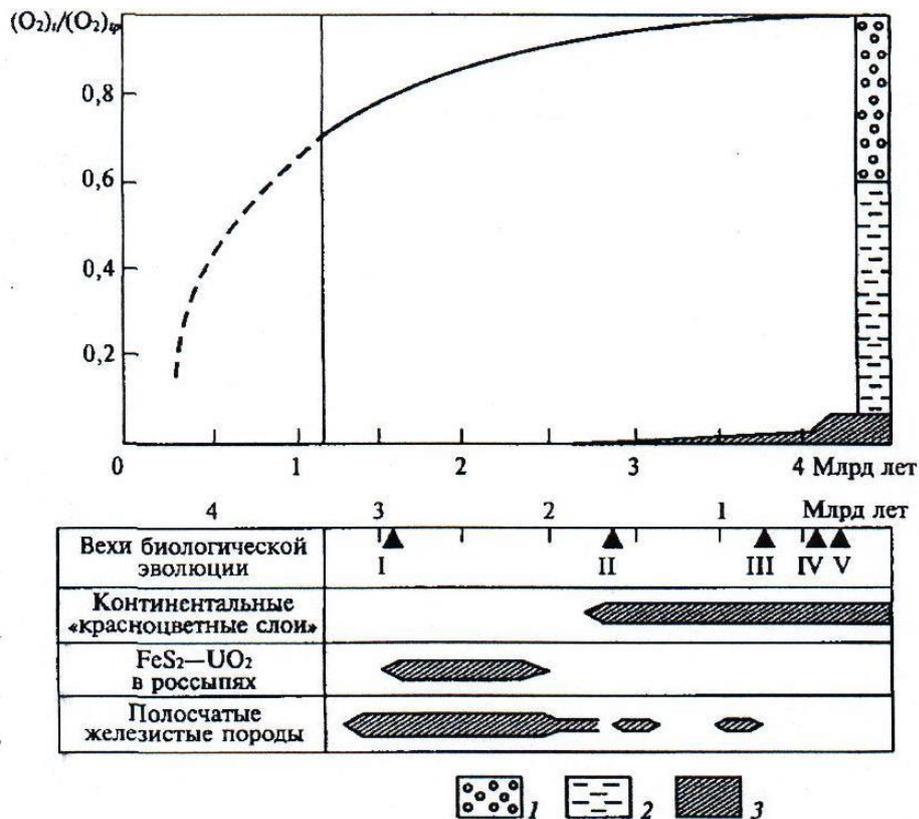


Рисунок 3 – Поступление и распределение масс кислорода фотосинтетического происхождения в биосфере (по М.Шидловскому, 1980):

восходящая кривая – биогенное продуцирование кислорода; *вертикальная линия* – начало летописи осадкообразования и появление полосчатых песчаников с оксидами железа; *вехи биологической революции*: I – появление фотоавтотрофных сине-зеленых водорослей; II – появление эукариот; III – появление древней морской многоклеточной фауны; IV – распространение жизни на сушу; V – появление континентальной растительности; *распределение масс кислорода*: 1 – связанный в [SO₄]²⁻; 2 – связанный в Fe₂O₃; 3 – свободный молекулярный в системе океан - атмосфера

красноцветных земных пород (глина), свидетельствующих о том, что окисление растворенного в океане железа в основном закончилось и началось его окисление на суше.

Биогеохимической особенностью цианобактериальной системы являлось преобладание продуктивных процессов над деструкционными. В результате этого в толще осадков древних морей было погребено огромное количество органического углерода, а в окружающую среду выделено в 2,7 раза большее количество кислорода. Изменение геохимии древних океанов и атмосферы создало предпосылки для совершенствования биогеохимических циклов.

Слайд №32 Переход от первичной восстановленной атмосферы к атмосфере, содержащей кислород, несомненно, был величайшим событием как в эволюции живых существ, так и в преобразовании минералов. В результате превращения цитохромов в терминальные оксидазы и использования молекулярного кислорода в качестве акцептора электронов у бактерий стал возможным новый тип метаболизма - **аэробное дыхание**.

Вызвав накопление кислорода в атмосфере, живые организмы тем самым через окисление минералов - повлияли и на неживую природу. В период до 600млн. лет назад содержание кислорода в атмосфере увеличилось всего лишь до 2%. И только после того, как растения завоевали сушу и покрыли ее густым зеленым ковром, концентрация кислорода в воздухе резко повысилась и достигла современного уровня (21%). Накопление кислорода сопровождалось образованием отложений углерода в форме каменного угля, нефти, природного газа и углеродсодержащих осадочных пород.

5.4 Прокариоты и биогеохимические циклы

По мнению микробиологов, *прокариоты* (бактерии и синезеленые водоросли) отличаются большой устойчивостью и консервативностью (Заварзин Г.А., 1984). Функционирование прокариотной системы продолжалось на протяжении огромного интервала времени —около 2 млрд лет. Около 1,5 млрд лет назад произошел постепенный переход от цианобактериальных сообществ к *сообществам альгобактериальным (водоросли)*. Вероятно, определяющую роль в этом событии сыграло накопление свободного кислорода в океане и атмосфере и как результат — создание новых условий, в которых конкурентность цианобактерий была невысокой. В глобальном процессе создания органического вещества водоросли постепенно заместили цианобактерий.

Слайд №33 В конце протерозоя на протяжении венда (670 — 570млн лет назад) сложилась система из продуцентов-фотосинтетиков (растения) и

консументов-животных, обуславливающая **углерод-кислородный биогеохимический цикл.**

Изменение эколого-геохимических условий среды обитания оказывало воздействие на развитие организмов и совершенствование структуры биогеохимических циклов. Со времени широкого распространения эукариот ведущим в глобальной системе биогеохимических циклов стал **углерод-кислородный цикл.** После освоения организмами суши и появления высшей наземной растительности она вместе с почвой становится главным звеном этого цикла.

Слайд №34 Для нормального состояния окружающей среды особое значение имеют биогеохимические процессы, регулирующие содержание кислорода и углекислого газа в атмосфере. Свободный кислород — необходимое условие существования главных форм жизни, углекислый газ — не только исходное «сырье» для фотосинтеза, но также химическое соединение, от содержания которого зависят термические и климатические условия на поверхности Земли.

Обмен газов в системе **живые организмы — атмосфера — живые организмы** имеет циклический характер. Растения не смогут синтезировать органические вещества, если в воздухе не будет углекислого газа. При реакции фотосинтеза для выделения определенного объема кислорода требуется поглощение такого же объема углекислого газа.

6. Роль микроорганизмов в улучшении плодородия почв

6.1 Биогеохимия образования почвы и её характеристика

Слайд №35 Почва — уникальная природная система. Главным свойством почвы является неразрывная связь входящих в нее живых и неживых (косных) компонентов. Их искусственное разделение делает невозможным существование почвы и полностью разрушает ее как систему. В.И.Вернадский удачно назвал почву «биокосным телом».

С началом освоения живыми организмами суши на ее поверхности стало формироваться особое биогеохимическое образование, отсутствующее в океане, — **почва.** Возникновение почвы как биокосного тела связано с определенным этапом развития живых организмов на Земле.

Почва возникла как продукт взаимодействия живого и неживого. С течением геологического времени этот продукт совершенствовался и

способствовал распространению живых организмов по поверхности суши. Первоначально локализованная на отдельных участках вблизи берегов морей и внутренних водоемов почва постепенно покрыла всю сушу тонкой, почти непрерывной оболочкой, названной В.И.Вернадским (1936) *педосферой*.

Слайд №36 Образование педосферы и освоение суши живыми организмами повлекло за собой изменение количества и структуры видового состава живых организмов, а также всей динамики глобальных биогеохимических процессов .

Слайд №37 Состав почвы весьма сложен и включает: *твердую фазу, жидкую (почвенный раствор) и газовую (почвенный воздух)*. Твердая фаза представляет собой полидисперсную систему, в которой присутствуют относительно крупные обломки размером более 0,01мм и высокодисперсные частицы размером менее 1мкм. Частицы разного размера различаются механическими и физико-химическими свойствами. Почва состоит из минеральных и органических соединений. Главное своеобразие почвы в наличии живых организмов (**эдафон**).

Слайд №38 Почва - самый наружный, разрыхленный физическим и химическим выветриванием слой земной коры - является самым важным субстратом жизни. Множество организмов, в основном мелких (так называемый **эдафон**), постоянно обитает в почве (**рисунок 5**).

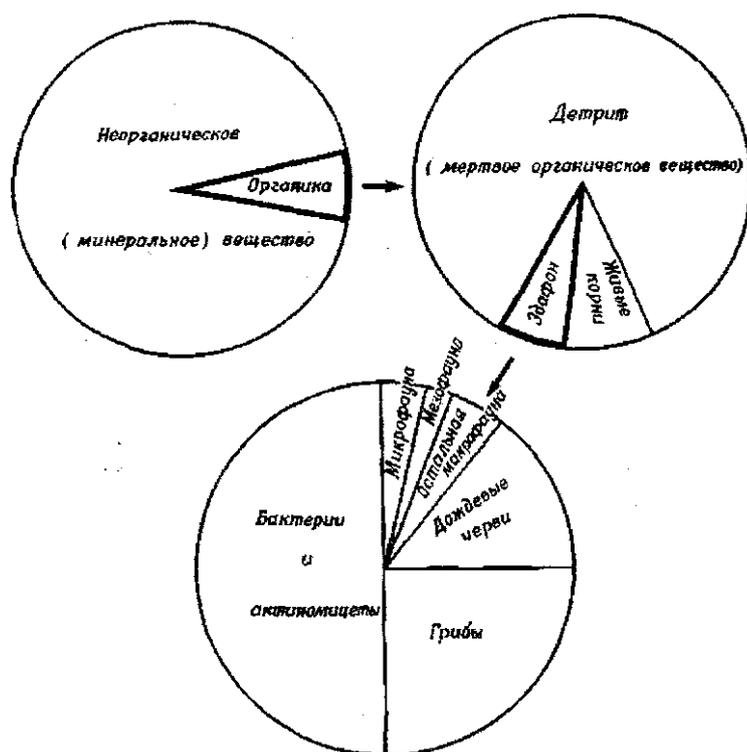


Рисунок 5. Общий состав верхнего слоя почвы и его эдафона (по весу) в смешанном лесу.

Эти организмы вносят большой вклад в образование почвы, механически разрыхляя и перемешивая ее (дождевые черви), способствуя растворению определенных веществ (с освобождением двуокси углерода), создавая запасы отмершей биомассы и продуктов ее разложения и реминерализации, в том числе **гуминовых веществ** (гуминовых кислот, фульвокислот).

6.1.1 Органическое вещество педосферы

Органическое вещество является одним из наиболее важных компонентов **педосферы** (первичной почвы). Огромная масса органического вещества преимущественно растительного происхождения ежегодно поступает в педосферу. В зависимости от биоклиматических условий в разных районах суши (за исключением территории, покрытой ледниками, и абсолютных пустынь) количество поступающего в почву мертвого органического вещества колеблется от 100 до 2500 тонн/км² в год.

Поступающие в почву растительные остатки, интенсивная микробиологическая деятельность, разнообразные гидротермические условия способствуют образованию весьма сложного комплекса органических

соединений - *гумуса почв*. Состав почвенного гумуса динамичен; он непрерывно обновляется в результате разложения и синтеза его компонентов.

Слайд №39 Органическое вещество почвы состоит из слабоизмененных остатков растений, продуктов их разложения и преобразования мезофауной (простейшими) и микроорганизмами, а также из специфических почвенных органических веществ. Две последние категории составляют собственно **почвенный гумус**.

6.2 Микрофлора почвы

Слайд №40 Почва образуется и функционирует как система, сочетающая жизнедеятельность разных групп организмов. Среди них:

организмы, осуществляющие фотосинтетический синтез органического вещества (высшие растения);

организмы, обеспечивающие деструкцию отмирающих растений (почвенная мезофауна и животные);

организмы, производящие глубокую трансформацию продуктов деструкции, вплоть до их полной минерализации с выделением двуокси углерода и образованием специфических органических соединений почвы (микроорганизмы).

Огромная роль педосферы в глобальной биогеохимии принадлежит *микроорганизмам*: бактериям, актиномицетам, грибам, водорослям, простейшим. Большая численность и видовое разнообразие говорит о том, что почва является самой благоприятной средой для их обитания. Масса микроорганизмов в поверхностном горизонте почв в несколько раз превышает массу наземных животных и достигает 2 — 3 тонн/га.

Слайд №41 Почва — главный резервуар и естественная среда обитания микроорганизмов, принимающих участие в процессах её формирования и самоочищения, а также в круговороте веществ (азота, углерода, серы, железа) в природе. Почва состоит из неорганических и органических соединений, образующихся в результате гибели и разложения живых существ. Почвенные микроорганизмы обитают в водных и коллоидных плёнках, обволакивающих почвенные частицы. Состав микрофлоры почвы разнообразен.

Слайд №42 Количество микроорганизмов в почве достигает нескольких миллиардов в 1г. Больше всего их в унавоженной и обработанной (вспаханой) почве — до 4,8-5,2млрд в 1г. Меньше микробов содержится в лесной почве, ещё меньше — в песках (0,9-1,2 млрд в 1г).

Вокруг корней растений имеется зона интенсивного роста и повышенной активности микробов. Поверхность корневой системы

колонируют преимущественно псевдомонады и грибы. Последние вступают в симбиотические отношения с растениями и образуют микоризу (грибокорень), стимулирующую рост обоих партнёров. Количество микробов в различных почвах варьирует — их значительно больше в почве, богатой органическими веществами и подвергающейся механической аэрации.

6.3 Трансформация органического вещества в почве.

Образование гумуса

Слайд №43 Органическое вещество почвы частично состоит из распавшихся остатков растений и из гумуса. **Гумусом** называют содержащийся в почве аморфный, темноокрашенный материал биологического происхождения. В состав гумуса входят соединения, медленно разлагающиеся микроорганизмами, - прежде всего лигнин, а также жиры, воски, углеводы и белковые компоненты (**рисунок 6**). Они превращаются в полимерные вещества, не поддающиеся точной химической характеристике. В образовании гумуса участвует наряду с бактериями и грибами *почвенная мезофауна* — многочисленные беспозвоночные, обильно населяющие верхние слои почвы, богатые органическим веществом.

Количество беспозвоночных в хорошо увлажнённых почвах достигает 70 тонн/км² сырой массы. Наибольшая часть массы почвенных беспозвоночных приходится на дождевых червей (до 40—50 тонн/км²) и членистоногих (до 10 — 30 тонн/км²). О масштабах их деятельности свидетельствуют данные о том, что дождевые черви на 1 км² лиственного леса могут переработать за сезон всю массу опавших листьев и перемешать продукты деструкции с минеральной массой, в 10 раз большей. Почвенная мезофауна производит первичную деструкцию растительных остатков.

Дальнейшая трансформация органического вещества в почве происходит под воздействием жизнедеятельности микроорганизмов. Состав почвенного органического вещества весьма разнороден и его компоненты обладают неодинаковой устойчивостью и, следовательно, неодинаковой длительностью существования («временем жизни»).

Наиболее быстро разрушаются низкомолекулярные органические кислоты, аминокислоты, белки, жиры, моно- и дисахариды. Здесь особо важное значение имеют *неспорозные гетеротрофные бактерии*, участвующие в трансформации органического вещества вплоть до конечного продукта его биохимического окисления — углекислого газа.

Медленнее осуществляется микробиологическое разложение полисахаридов, целлюлозы (клетчатки) и особенно лигнина. Важная роль в разложении этих веществ принадлежит *актиномицетам* и *грибам*.

Образование гумусовых веществ протекает при участии процессов двух типов. Процессы первого типа обеспечивают частичное разложение органических соединений до более простых. Например, белки расщепляются до аминокислот, углеводы — до простых сахаров и т.д.

Процессы второго типа значительно сложнее. Это связано с тем, что гидролиз органических полимеров прерывается, если фермент встречается с неоднородностью в строении полимера. Остатки трудноразрушаемых веществ накапливаются и служат исходным материалом для специфических химических реакций конденсации. Эти реакции, отсутствующие среди биологических реакций полимеризации, приводят к образованию весьма устойчивых соединений.

Слайд №44 В результате процессов второго типа происходит конденсация ароматических соединений фенольного типа (продуктов распада лигнина и целлюлозы) с аминокислотами (продуктами распада микроорганизмов). Основными компонентами гумуса являются гуминовые и фульвокислоты, их соли, а также гумин — своеобразный комплекс сильно полимеризованных высокомолекулярных гумусовых кислот, связанных с высокодисперсными минеральными частицами. Между этими компонентами существуют переходы.

Слайд №45 Гумус почв играет двоякую роль. С одной стороны, он является источником азота и других элементов, необходимых для высших растений. Поэтому гумус почв является важным фактором, влияющим на продуктивность фитоценозов и на плодородие почв. С другой стороны, гумусовые кислоты и их производные благодаря особенностям молекулярного строения активно влияют на миграцию и аккумуляцию химических элементов в педосфере. По этой причине гумусовые вещества являются важной частью механизма регулирования миграционных потоков в педосфере.