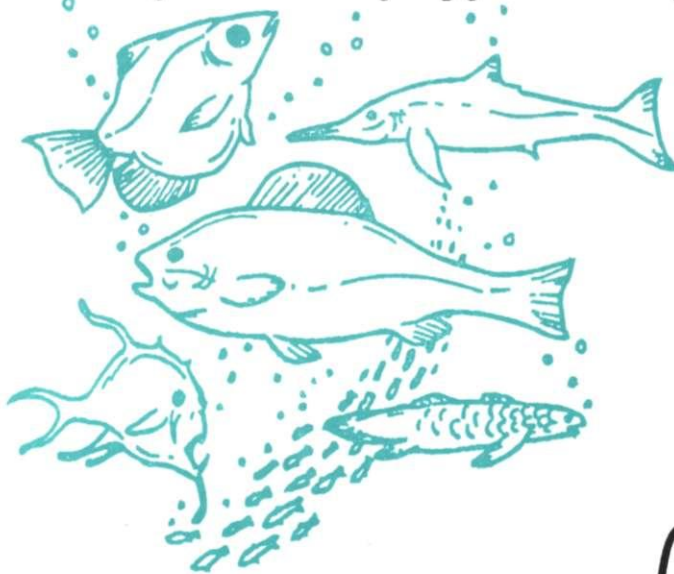




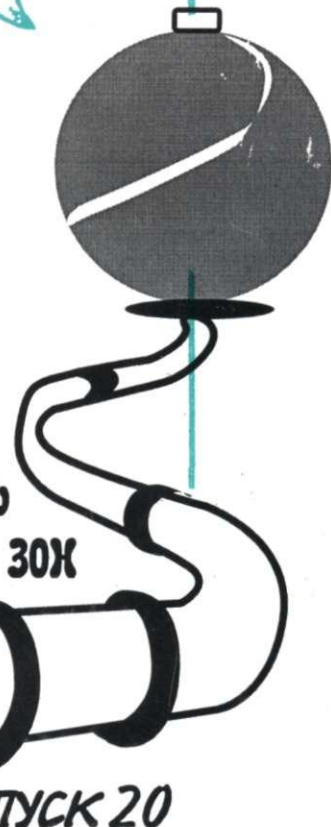
ISSN 1726-9903

Морської гідрофізичний інститут  
Інститут геологічних наук  
Одеський філіал Інституту біології південних морів  
Національної академії наук України

**Е**кологічна безпека прибережної  
та шельфової зон та комплексне  
використання ресурсів шельфу



**Э**кологическая безопасность  
прибрежной и шельфовой зон  
и комплексное  
использование  
ресурсов шельфа



**ВИПУСК 20**

**Севастополь  
2009**

МОРСЬКИЙ ГІДРОФІЗИЧНИЙ ІНСТИТУТ  
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ

ІНСТИТУТ ГЕОЛОГІЧНИХ НАУК  
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ

ОДЕСЬКИЙ ФІЛІАЛ ІНСТИТУТУ БІОЛОГІЇ ПІВДЕННИХ МОРІВ  
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ

ЕКОЛОГІЧНА БЕЗПЕКА ПРИБЕРЕЖНОЇ ТА ШЕЛЬФОВОЇ ЗОН  
ТА КОМПЛЕКСНЕ ВИКОРИСТАННЯ РЕСУРСІВ ШЕЛЬФУ

**Збірник наукових праць**

*выпуск 20*

МОРСКОЙ ГИДРОФИЗИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ  
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК УКРАИНЫ

ИНСТИТУТ ГЕОЛОГИЧЕСКИХ НАУК  
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК УКРАИНЫ

ОДЕССКИЙ ФИЛИАЛ ИНСТИТУТА БИОЛОГИИ ЮЖНЫХ МОРЕЙ  
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК УКРАИНЫ

ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ ПРИБРЕЖНОЙ И ШЕЛЬФОВОЙ ЗОН  
и КОМПЛЕКСНОЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕСУРСОВ ШЕЛЬФА

**Сборник научных трудов**

*выпуск 20*

Севастополь  
2009

Екологічна безпека прибережної та шельфової зон та комплексне використання ресурсів шельфу: 36. наук, праць. Вип.20 / НАН України, МП, ІГН, ОФ ІнБПМ. Редкол.: Іванов В.О. (гол. ред.) та інші - Севастополь, 2009.- С. 352. Іл. 135. Табл. 66.

Збірник являє собою результати досліджень, що виконуються науковими організаціями Причорноморських держав, відмічена все зростаюча роль прибережної зони в соціально-економічному розвитку України, а також збільшення її значущості як невід'ємної частини зон промислової експлуатації, рекреації і природних ресурсів. Роботи виконувалися по напрямках: комплексні досліджень берегової зони, моніторинг прибережних зон моря, біотехнологія відтворення якості середовища і біоресурсів.

Призначений для широкого кола фахівців у галузі екології моря.

Экологическая безопасность прибрежной и шельфовой зон и комплексное использование ресурсов шельфа: Сб. научн. тр. Вип.20 / НАН Украины, МГИ, ИГН, ОФ ИнБЮМ. Редкол.: Иванов В.А. (гл. ред.) и др., - Севастополь, 2009.-С. 352. Ил. 135. Табл. 66.

Сборник представляет собой результаты исследований, выполняемых научными организациями Причерноморских государств, отмечена все возрастающая роль прибрежной зоны в социально-экономическом развитии Украины, а также увеличение ее значимости как неотъемлемой части зон промышленной эксплуатации, рекреации и природных ресурсов. Работы выполнялись по направлениям: комплексные исследования береговой зоны, мониторинг прибрежных зон морей, биотехнологии воспроизводства качества среды и биоресурсов.

Предназначен для широкого круга специалистов в области экологии моря.

Ecological safety of coastal and shelf zones and comprehensive use of shelf resources: Collected scientific papers. Iss.20 / N A S of Ukraine, MHI, IGS, OD IBSS. Eds by Ivanov V .A. , et al - Sevastopol, 2009.- P. 352. Figs 135. Tabs 66.

Issue presents results of the studies, executed by scientific organizations of Black Sea states, it is noted an increasing role of the coast zone in social-economic development of the Ukraine, as well as increase of its value as integral part of the industrial zone, recreation and natural resource. Studies were executed on directions: complex investigations of the coastal zone, monitoring of the sea areas, biotechnology of an environment quality and biological resources reproducing.

It is oriented on wide circle of specialists in marine ecology.

Затверджено до друку Вченою радою МП НАН України, Вченою радою ІГН НАН України і Вченою радою ОФ ІнБПМ НАН України

ISSN 1726-9903

*is\**

Морський гідрофізичний інститут  
НАН України,  
Інститут геологічних наук НАН України,  
Одеський філіал Інституту біології  
південних морів НАН України, 2009

А.Г.Павлова

*Одесский филиал Института биологии южных морей НАН Украины, г. Одесса***ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ С ФОСФОРом**

Микроорганизмы играют важную роль в биологическом круговороте фосфора. В данном обзоре рассмотрены различные стороны взаимодействия микроорганизмов с фосфором - растворение минералов фосфора, мобилизация, иммобилизация фосфора, а также микробное окисление и восстановление его соединений. Приведены примеры микроорганизмов, участвующих в данных процессах. Показаны значение фосфора в природе, механизмы и пути трансформаций соединений фосфора, практическое значение и актуальность изучения данного вопроса, а также перспективность дальнейшей работы.

Фосфор играет в природе немалую роль. Он входит в важные биомолекулы живых организмов, такие как АТФ, РНК и ДНК, фосфрлипиды и фосфопротеиды. Доступность растворенного неорганического фосфата лимитирует первичную биологическую продуктивность в большинстве водных экосистем, как в пресных водоемах, так и в олиготрофных районах океана, где растворенные органические фосфорные соединения могут становиться главными источниками фосфора [1 - 4]. Фосфор - главный регулятор всех других биогеохимических циклов, это наиболее слабое звено в жизненной цепи, которая обеспечивает существование человека [5].

Биогеохимический круговорот фосфора полностью незамкнут. Специфика круговорота фосфора связана с тем, что он не образует летучих соединений и плохо растворим в воде. В биосфере осуществляется однонаправленный поток фосфора из горных пород суши в глубины океана, и обменный фонд его в гидросфере очень ограничен [4, 6]. В связи с этим важным является вопрос возвращения фосфора в биогенный круговорот. В этом процессе главная роль принадлежит микроорганизмам, превращающим соединения фосфора.

Микроорганизмы способны трансформировать соединения фосфора: минерализовать органические в неорганические фосфаты, переводить нерастворимые формы фосфата в растворимые, которые являются более доступными для потребления организмами, а также иммобилизовать фосфор. Эти превращения осуществляются широким кругом микроорганизмов [7 - 9]. Некоторые микроорганизмы способны к окислению и восстановлению соединений фосфора [10].

Промышленное производство фосфорных удобрений повышает поступление этого элемента за счет стока из сельскохозяйственных угодий в пресные водоемы и является одной из главных причин их бурной эвтрофикации, а также угрожает нарушением природного равновесия в морях [11]. Соединения фосфора также являются главными контаминантами промышленных и городских стоков. Соединениями фосфора, которые представляют особую угрозу окружающей среде являются фосфат ( $P_1$ ) и ксенобиотические фосфонаты ( $P_{\text{кс}}$ ). Фосфонаты, соединения со связью  $C - P$ , широко используются как пестициды, детергентные добавки, антибиотики и антивоспла-

© А.Г.Павлова, 2009

менители.  $C - P$  связи относительно устойчивы к химическому гидролизу и термическому разложению, в сравнении с углерод-кислород-фосфорной связью  $P_i$  эстеров. Так как  $P_n$  относительно редко встречаются в живых организмах, они обычно устойчивы к биодеградации [12]. Несмотря на всю важность вопроса, круговорот фосфора и роль микроорганизмов в нём изучены довольно мало и требуют изучения и разработки новых методов.

**Микробное растворение минералов фосфата.** Концентрация фосфата контролируется его растворимостью в присутствии щелочноземельных катионов, таких как  $Ca^{2+}$  или  $Mg^{2+}$  или в присутствии катионов металлов, таких как  $Fe^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Al^{3+}$  при соответствующих значениях pH (табл.1). В морской воде концентрация растворимого фосфата ( $\approx 3 \cdot 10^{-6}$  М, максимум) контролируется ионами кальция ( $4,1 \cdot 10^2$  мг/л), который образует с фосфатом гидроксиапатиты при pH 7,9 – 8,1.

соединение	$K_s$
$CaHPO_4 \cdot 2H_2O$	$2,18 \cdot 10^{-7}$
$Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$	$1,53 \cdot 10^{-112}$
$Al(OH)_2HPO_4$	$2,8 \cdot 10^{-29}$
$FePO_4$	$1,35 \cdot 10^{-18}$

Различные виды бактерий обладают способностью растворять нерастворимые неорганические соединения фосфата, такие как трикальций фосфат, дикальций фосфат, гидроксиапатит и фосфорит, фосфаты алюминия и железа. Среди бактерий такой фосфатрастворяющей способностью обладают штаммы из родов *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Rhizobium*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Micrococcus*, *Aerobacter*, *Azospirillum*, *Flavobacterium* и *Erwinia* [13, 14] (табл.2).

Микроорганизмы способны увеличивать скорость растворения минералов фосфата без физического контакта с растворяемой поверхностью. При этом микробное растворение менее эффективно, когда бактерии находятся в прямом контакте с поверхностью минерала и увеличивается от 3 до 10 раз при непрямом контакте с минералом [15].

Микроорганизмы способны увеличивать скорость растворения минералов фосфата без физического контакта с растворяемой поверхностью. При этом микробное растворение менее эффективно, когда бактерии находятся в прямом контакте с поверхностью минерала и увеличивается от 3 до 10 раз при непрямом контакте с минералом [15].

Таблица 2. Организмы, принимающие участие в растворении неорганических фосфатов [10, 13].

организм	механизм растворения
<i>B. megatherium</i>	$H_2S$ продукция, $FeS$ осаждение
<i>Thiobacillus sp.</i>	$H_2SO_4$ продукция из серы
нитрифицирующая бактерия	$NH_3$ окисление до $HNO_3$
<i>Pseudomonas</i> , <i>Arthrobacter</i> и <i>Erwinia</i> -подобная бактерия	образование хелатных комплексов; глюкоза превращается в глюконат или 2-кетоглюконат
<i>A. niger</i> , <i>A. flavus</i> , <i>Sclerotiumrolfsii</i> , <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Cylindrosporium sp.</i> , <i>Penicillium sp.</i>	продукция органических кислот (например, лимонной кислоты)
<i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Erwinia herbicola</i> , <i>Pseudomonas Cepacia</i> and <i>Burkholderia cepacia</i>	продукция глюконовой кислоты
<i>Rhizobium leguminosarum</i> , <i>Rhizobium meliloti</i> , <i>Bacillus firmus</i>	продукция 2-кетоглюконовой кислоты

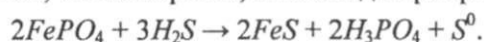
Механизм, посредством которого микробы осуществляют это растворение, различается.

Первый механизм заключается в продукции неорганических и органических кислот, которые действуют на неорганические фосфаты.

Второй механизм – путем продукции хелаторов, таких, как глюконат и 2-кетоглюконат, цитрат, оксалат и лактат. Все из этих хелаторов могут связывать катионы солей нерастворимого фосфата и таким образом форсировать диссоциацию солей [13]. Глюконовая и кетоглюконовая кислоты образуются в периплазме многих грамотрицательных бактерий вследствие прямого окисления глюкозы [16]. Таким образом, органические кислоты свободно диффундируют из клеток и могут освобождать большие количества растворенного фосфора из неорганических фосфатов путем действия протонов и метал-комплексирующих анионов органических кислот [16 – 18].

Третий механизм заключается в восстановлении железа и фосфата трехвалентного железа (стренгита) до двухвалентного железа в восстановительных условиях системы вода – донные отложения.

Четвертый механизм связан с образованием сульфида водорода ( $H_2S$ ), который может реагировать с железом в фосфате железа и осаждать его в виде сульфида железа, таким образом, освобождая фосфат по реакции:



Визуальная детекция и даже полуколичественное определение способности микроорганизмов растворять нерастворимые соединения фосфора возможна благодаря использованию чашечного метода, который позволяет наблюдать зоны растворения вокруг микробных колоний в среде, содержащей нерастворимый минеральный фосфат (главным образом трикальций фосфат или гидроксиапатит) в качестве единственного источника фосфора. В некоторых случаях отмечены противоположные результаты между чашечным методом и растворением неорганического фосфата в жидких средах [14]. Однако этот метод можно считать наиболее надежным для выделения и первичной характеристики фосфат-растворяющих микроорганизмов [13]. Гупта и соавт. [17] разработали улучшенную методику с использованием среды, содержащей бромфеноловый синий. На такой среде формируются желто окрашенные зоны вокруг колоний микроорганизмов в ответ на падение рН благодаря высвобождению органических кислот [17].

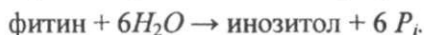
В исследованиях *in vitro* динамика растворения фосфата бактериальными штаммами проводится на основе измерения высвобождения фосфата в культуральную среду. Скорость растворения фосфата часто определяется путем вычитания конечной концентрации фосфата (минус та, которая была в контроле) от первоначального теоретического содержания фосфата в субстрате. Это определение имеет недостаток, т.к. не учитывает фосфат, утилизируемый клетками в течение своего роста [13].

Физиология растворения фосфата бактериями ещё не достаточно изучена. Некоторые работы отмечают, что некоторые минеральные элементы играют немаловажную роль в этом процессе. Считается, что для оптимальной скорости растворения необходима критическая концентрация ионов калия [19, 20], ионы магния и натрия очень важны для некоторых грибов, но не для штаммов рода *Pseudomonas* [20]. Роль поглощения азота и фосфора остается спорной [20].

Непостоянность признака растворения фосфата была отмечена после нескольких циклов культивирования [20, 21]. Однако всё-таки для большинства штаммов этот признак остаётся стабильным [13].

**Превращение органического фосфора в неорганический и синтез эфиров фосфата.** Важным источником свободных органических соединений фосфора в биосфере является разрушение и минерализация животного и растительного вещества. С другой стороны, живые микроорганизмы, такие как *Escherichia coli* и организмы из активированного ила могут экскретировать аэробно ассимилированный фосфор в виде неорганического фосфата при анаэробном культивировании. Органически связанный фосфор не может непосредственно использоваться живыми организмами, так как не может проникнуть в клетку в этой форме. Для этого он должен минерализоваться. Это достигается путем гидролитического расщепления, катализируемого фосфатазами. В почве в этом процессе может принимать 70 – 80 % микробной популяции. Активные организмы включают бактерий, таких как *Bacillus megaterium*, *B. subtilis*, *B. malabarensis*, *Serratia sp.*, *Proteus spp.*, *Arthrobacter spp.*, *Streptomyces spp.*, и грибы – *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Rhizopus sp.*, *Cunninghamella sp.* Эти организмы секретируют или высвобождают после своей гибели фосфатазы с большей или меньшей субстратной специфичностью. Такая активность также отмечена для морских экосистем [22].

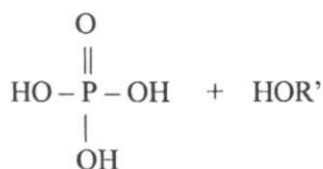
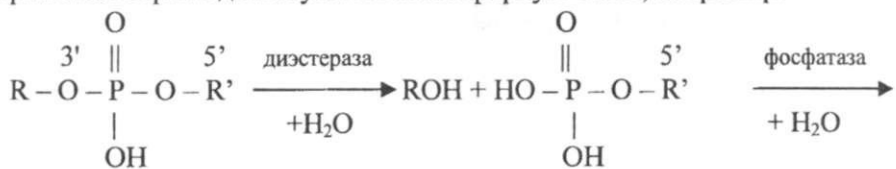
Освобождение фосфата из фитина обычно требует фермента фитазы:



Высвобождение фосфата из нуклеиновой кислоты требует действия нуклеаз, которые выщепляют нуклеотиды, и действия нуклеотидаз, которые расщепляют нуклеотиды на нуклеозиды и неорганический фосфат:



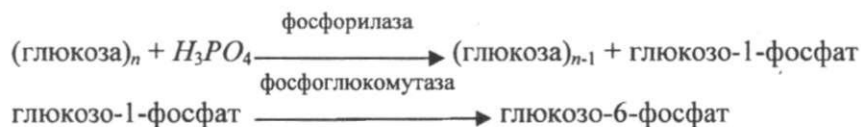
Освобождение фосфата из фосфопротеинов, фосфолипидов, рибитол- и глицеролфосфатов требует фосфомоно- и фосфодиэстераз. Фосфодиэстеразы действуют на фосфодиэфиры с 3' или 5' углеродной связью, тогда как фосфомоноэстеразы действуют на моноэфирную связь, например:



Синтез органических фосфатов (мономерных эстеров фосфата) – внутриклеточный процесс и обычно протекает между спиртовой группой и АТФ в присутствии соответствующей киназы. Например:



Эфиры фосфатов в клетке также могут являться результатом фосфорилиза некоторых полимеров, таких как крахмал и гликоген:



**Микробная иммобилизация фосфора.** Микроорганизмы способны связывать или иммобилизовать фосфор, способствуя образованию неорганических отложений, ассимилируя клеточные компоненты или накапливая внутриклеточные полифосфатные гранулы. Последние два процесса были названы *временной иммобилизацией фосфата*, т.к. фосфат быстро высвобождается из клеток вследствие их гибели и последующей минерализации [10]. В почве и пресноводных отложениях, клеточная иммобилизация важна благодаря связыванию фосфора  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Al}^{3+}$  или  $\text{Fe}^{3+}$ . В некоторых морских донных отложениях, где образуются минералы фосфорита, более важен механизм осаждения. Микроорганизмы опосредованно вовлечены в фосфоритное осаждение, делая реакционноспособный фосфат и кальций доступными, или создавая или поддерживая такие условия окружающей среды, которые благоприятствуют осаждению фосфата [23, 24].

Увеличение иммобилизации фосфора происходит в результате увеличения соотношения  $C : P$  (разложившегося органического вещества и количества доступного фосфора в растворе). Как правило, соотношение  $C : P$  менее 200 приведет к минерализации,  $C : P$  более 200 – к иммобилизации, а соотношение  $C : P$  в пределах 200 – 300 приведет к незначительным изменениям в концентрации растворенного фосфора [24, 25]. Быстро дефосфорилируются кислоторастворимые соединения и ДНК, несколько медленнее – фосфолипиды и РНК [25].

**Фосфоритное осаждение.** Фосфорит в природе образуется вследствие аутигенных или диагенетических механизмов. В процессе аутигенеза фосфорит образуется как результат реакции растворенного фосфата с ионами кальция, формируя, таким образом, нерастворимые соединения фосфата кальция. В процессе диагенеза фосфат может замещать карбонат в известковых конкрециях. Роль микроорганизмов в этих процессах может заключаться в следующем: в создании доступного химически активного фосфата, создании доступного химически активного кальция, в формировании или поддержании рН и окислительно-восстановительных условий, способствующих осаждению фосфата [10].

**Аутигенные образования.** Модели аутигенного фосфоритного образования предполагают наличие процессов минерализации органического фосфора в биологически продуктивных водах, таких как побережье океана, т.е. на мелководных склонах материковой отмели, на шельфе или плато. Здесь детритовые накопления могут быть минерализованы на границе раздела – вода – донные отложения и во внутриводной воде, освобождая фосфат, некоторый из которых может затем химически взаимодействовать с кальци-

ем в морской воде с образование фосфоритных зерен. Апвеллинг вероятно играет главную роль в большинстве случаев аутогенного образования фосфоритов на западной материковой окраине по ширине, как в северном, так и в южном полушариях, где преобладают ветра (например, пассаты), вызывающие апвеллинг. Натан и соавторы [26] привели доказательство, что в южном Бенгульском апвеллинге во время отсутствия апвеллинга в зимний период, фосфат-связывающие бактерии окислительных родов *Pseudomonas* и *Acinetobacter* становятся доминантными в водной толще. Ферментативные вибрионы и энтеробактерии доминантны в течение апвеллинга летом. Было предположено, что *Pseudomonas* и *Acinetobacter*, которые связывают фосфат в виде полифосфата при аэробных условиях и гидролизуют полифосфат при анаэробных условиях для получения энергии поддержания и для связывания летучих жирных кислот для полигидроксимасляного образования, способствуют аутогенному образованию фосфорита [26]. Поднимаясь в определенных местах, экскретарованный ортофосфат становится доступным для осаждения в виде фосфорита, реагируя с морским кальцием. Натан и соавт. [26] также обнаружили фосфат-связывающие кокки в водной толще. Они предположили, что эти микроорганизмы, также как и *Pseudomonas* и *Acinetobacter* могут высвобождать связанный фосфат, когда они достигают слоев воды с низким содержанием кислорода ниже 10 м глубины воды и таким образом вносят свой вклад в фосфоритообразование.

Аутогенные фосфориты на некоторых восточных материковых окраинах, где апвеллинг довольно слаб и периодичен, могут быть сформированы непосредственно в результате внутриклеточного бактериального накопления фосфата, который в последствии трансформируется в карбонатный фтороапатит в результате гибели клеток и аккумулируется в донных отложениях в местах, где скорость седиментации очень низкая [10]. Руттенберг и Бернер [27] пришли к выводу, что накопления карбонатного фтороапатита в донных отложениях залива Лонг-Айленда и дельты Миссисипи являются результатом минерализации органического фосфора. Эти накопления увеличиваются с уменьшением концентрации органического фосфора с глубиной.

Пайпер и Кодеспоти [28] предположили, что карбонатное осаждение фтороапатита  $Ca_{10}(OH)_2(CO_3)_7F_2$  может зависеть от бактериальной денитрификации в слое океана с минимальной концентрацией кислорода, т.к. он пересекает океаническое дно. Потеря азота при денитрификации означает уменьшение биологической активности и может привести к избыточной аккумуляции фосфата в этой зоне. Понижение pH (7,4 - 7,9) на больших глубинах по сравнению с поверхностными водами удерживает фосфат в растворенном состоянии и делает возможным его транспорт посредством апвеллинга в регионы, где осаждение фосфата благоприятно (pH > 8) [10].

Юссеф [29] предположил, что фосфориты также могли образоваться в морских условиях посредством минерализации остатков фитопланктона, которые откладываются на морском дне, приводя к локальной аккумуляции растворенного фосфата. Этот фосфат впоследствии может осаждаться в результате реакции с морским кальцием [29].

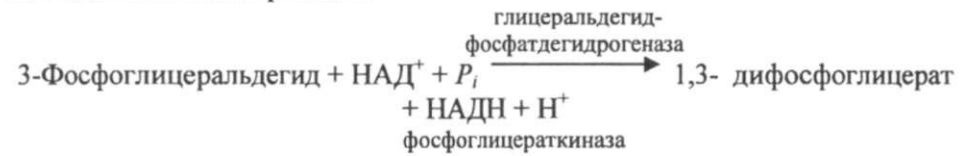
Также были найдены ископаемые бактерии в фосфоритном отложении на восточном австралийском побережье [30].

**Диагенетическое образование.** Модели образования фосфоритов в процессе диагенеза в основном предполагают обмен фосфата на карбонат в отложениях кальцита и арагонита. Роль бактерий в этом процессе заключается в мобилизации фосфата в результате минерализации детритного органического вещества. Это было продемонстрировано в лабораторных условиях, имитирующих морскую и пресноводную среду [31].

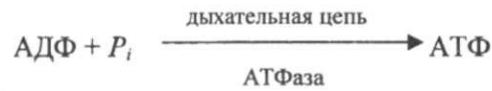
**Ассимиляция фосфора.** Аденозинтрифосфат (АТФ) может синтезироваться из АДФ при помощи аденилаткиназы,



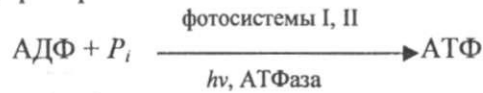
или может синтезироваться во время субстратного фосфорилирования, в последовательности реакций



АТФ также может синтезироваться путем окислительного фосфорилирования:



или путем фотофосфорилирования:



Синтез полимеров фосфатов осуществляется посредством реакций, таких как



У многих организмов пирофосфат ( $P \sim P$ ) ферментативно гидролизуется, пирофосфатаза



Однако, у некоторых бактерий неорганический пирофосфат ( $P \sim P$ ) может накапливаться и использоваться в качестве источника энергии. Поскольку эта способность дает возможность бактериям внутриклеточно запасать энергию, становится понятным как она важна для доступности внеклеточного пирофосфата в природе.

**Накопление полифосфатов у бактерий.** Подобно пирофосфату, в некоторых микробных клетках могут накапливаться гранулы неорганических полифосфатов, которые представляют собой линейные полимеры ортофосфорной кислоты и могут использоваться как в качестве источника энергии, так и в качестве резерва фосфата. Эти гранулы называются волютиновыми [32]. В случае с цианобактерией *Anaerobena cylindrica* они также могут играть роль обезвреживающего агента вместе ионами алюминия, поглощенными клеткой.

Полифосфаты накапливаются, когда фосфат есть в среде, однако микробный рост прекращается под действием фактора, лимитирующего рост, или при наличии ингибирующего рост агента. При аэробных условиях бактерии также могут накапливать полифосфаты также как резерв энергии для

дальнейшего использования. Запасные полифосфаты трансформируются в АТФ и его использование ведет к высвобождению фосфора [33].

Бактерии, накапливающие полифосфат, получили название полифосфат-аккумулирующих бактерий (ПАБ).

Накопление полифосфатов - универсальная способность многих микроорганизмов, которая технически была оптимизирована в установке по очистке сточных вод путём обеспечения условий для усовершенствованного биологического удаления фосфора [34, 35].

Кроме участия ПАБ в процессах биологического удаления фосфора (**EBPR - enhanced biological phosphorus removal**), некоторые авторы считают, что ПАБ играют важную экологическую роль в мобилизации и иммобилизации фосфора в донных отложениях [9, 36, 37]. Донные микроорганизмы непосредственно вовлечены в фиксацию фосфора путем синтеза полифосфатов (полиФ) и их аккумуляции [38 - 40]. Однако даже в настоящее время остается неясным тот факт, что ПАБ, известные из EBPR в активированном иле, также присутствуют в естественных донных отложениях и играют ли они одну и ту же роль.

Накопление внутриклеточных полимеров играет важную роль в метаболизме ПАБ. Эта способность дает им конкурентоспособное преимущество по отношению к другим микроорганизмам, которые не способны накапливать внутриклеточные резервы. Эти преимущества обеспечиваются ферментами полифосфатного метаболизма бактерий [41, 42].

**Микробное окисление и восстановление соединений фосфора.** Циклическое окисление и восстановление соединений фосфора в природе происходит благодаря последовательным электронтранспортным реакциям между окисленными состояниями в диапазоне от фосфина (-3) до фосфата (+5). Хотя микроорганизмы и вовлечены в окислительно-восстановительные реакции фосфора, но биохимические механизмы и генетика этих трансформаций в настоящее время слабо изучена [12].

**Окисление.** Некоторые микроорганизмы способны окислять восстановленные соединения фосфора (например, фосфит, гипофосфит) как аэробно [43], так и анаэробно [44]. Например, *Bacillus caldolyticus*, умеренный термофил, способен окислять гипофосфит до фосфата аэробно. Активная ферментная система состоит из ( $NH^+SO^+$  осажденной белковой фракции, никотинамидадениндинуклеотида (НАД) и компонентов дыхательной цепи. Ферментная система не окисляет фосфит. Впервые аэробное окисление фосфита почвенными бактериями и грибами было показано Адамсом и Конрадом [43]. Они показали, что добавление фосфата к среде ингибирует окисление фосфита. Окисленный фосфит - фосфат - высвобождался в среду только после гибели клеток. Активные организмы включали бактерии *Pseudomonas fluorescens*, *P. lachrymans*, *Aerobacter (Enterobacter) aerogenes*, *Erwinia amylovora*; грибы *Alternaria*, *Aspergillus niger*, *Chaetomium*, *Penicillium notatum*; и некоторые актиномицеты [43]. В последующих работах Касида [45] обнаружил, что штамм *Pseudomonas fluorescens 195* образует ортофосфат аэробно из ортофосфита, который находится для него в избытке, и высвобождает фосфат в среду. Фосфит-окислительная активность была индуцибельной и стимулировалась дрожжевым экстрактом. Ферментная система, вовлеченная в окисление фосфита, - ортофосфит-НАД оксидо-

редуктаза, инактивировалась арсенитом, гипофосфитом, нитритом, селени-  
том и теллуридом, и ингибировалась сульфитом [45].

Окисление восстановленных соединений фосфора также происходит анаэробно. Фостер [44] выделил из почвы бациллу, которая способна была к анаэробному окислению гипофосфита и фосфита в фосфат. В смеси фосфита и гипофосфита, фосфит окислялся первым. Фосфат ингибировал окисление как фосфита, так и гипофосфита. Микроорганизм не выделял фосфат в среду [44].

В связи с тем, что фосфит и гипофосфит не найдены в окружающей среде в определяемых количествах, было предположено, что микробная способность утилизировать эти соединения, особенно анаэробно, может быть рудиментарным свойством, которое возникло, когда на Земле была восстановительная атмосфера, которая благоприятствовала возникновению фосфита [44].

**Восстановление.** Микробное восстановление фосфата остается дискуссионной темой в литературе [46, 47]. Дискуссия основана на термодинамических вычислениях, которые показывают, что восстановление фосфата - энергетически невыгодный процесс. Однако это не предполагает, что восстановленные соединения фосфора не могли образоваться биогенетически, потому что в природе существуют другие связанные механизмы, благодаря которым могут возникать энергетически невыгодные реакции, такие как фиксация молекулярного азота.

Восстановление фосфата до фосфина также было показано на бактериях из почвы.

**Заключение.** В большинстве экосистем доступность фосфора может определять величину микробного роста и активности. Как элемент фосфор может находиться как внутри, так и снаружи живого вещества, в органической и неорганической формах, свободным или связанным, растворенным или осажденным. Микроорганизмы играют главную роль в этих переходах.

Фосфор является важным элементом для всех форм жизни. Он входит в состав клеточных компонентов. Фосфор играет роль в преобразовании биохимически полезной энергии. Когда он находится в свободном состоянии в окружающей среде, он обычно встречается в виде органических эфиров фосфата и в виде неорганического фосфата. Некоторые соединения последнего, такие как фосфат кальция, алюминия, железа являются нерастворимыми при нейтральном и щелочном pH. Для того, чтобы стать доступными для потребления организмами, органические фосфаты должны быть ферментативно гидролизованы с высвобождением ортофосфата. Микроорганизмы могут также высвобождать ортофосфат из нерастворимых неорганических фосфатов, продуцируя органические и минеральные кислоты и хелаторы, или в случае с фосфатом железа в результате образования сероводорода. При некоторых условиях микроорганизмы могут способствовать образованию нерастворимых неорганических фосфатов, таких как фосфаты кальция, алюминия и железа. В морских экосистемах микроорганизмы вовлечены в фосфоритообразование.

Микроорганизмы также вовлекаются в восстановление пентавалентного фосфора до более низких валентных состояний. Экспериментальное доказательство этого, однако, в некоторой степени сомнительно. Вероятно, органические соединения фосфора являются посредниками в этих восстановле-

ниях. Микроорганизмы также могут быть вовлечены в аэробное и анаэробное окисление восстановленных форм фосфора до фосфата. Экспериментальное доказательство в этом случае веское. Оно включает демонстрацию участия ферментов. Однако геомикробное значение этих окислительно-восстановительных реакций в природе ещё недостаточно изучено.

Фосфаттрансформирующие микроорганизмы широко распространены в природе, поэтому они непосредственно выполняют важную роль в круговороте фосфора.

Идентификация и изучение полученных штаммов фосфаттрансформирующих микроорганизмов должны стать главными приоритетами для изучения глобального круговорота фосфора и решения вопросов, связанных с возвращением значительных количеств седиментационного фосфора в биогенный круговорот. Эти микроорганизмы могут также стать индикаторами для выявления залежей фосфорсодержащих минералов.

Выявление корреляции между численностью фосфатрастворяющих бактерий и количеством фосфата в морской воде также будет иметь большое значение для понимания роли микроорганизмов в круговороте фосфора в морских экосистемах. Перспективным является проведение оценки и определения интенсивности процессов фосфатмобилизации и фосфатиммобилизации в разных биотопах, а также организация мониторинга численности фосфаттрансформирующих бактерий во времени.

Как деструкторы органического вещества, а также как мобилизаторы неорганических фосфатов микроорганизмы почвы также могут в большой степени влиять на доступность фосфора для растений. Такие фосфат-мобилизирующие микроорганизмы получили свое использование в качестве биоудобрений.

Некоторые бактерии способны разрушать *C - P* связи и утилизировать фосфонат и фосфит как единственный источник фосфора в условиях лимитации фосфата. Многие бактерии способны накапливать избыток фосфора в виде полифосфатных гранул. Такие свойства микроорганизмов можно потенциально использовать в технологии по защите от загрязнений, а также в очистке сточных вод.

Таким образом, изучение биохимических механизмов и генетики транспорта и метаболизма фосфора у бактерий имеет важное теоретическое и практическое значение.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Clark L.L., Ingall E.D., Benner R.** Marine phosphorus is selectively remineralized // *Nature*.- 1998.-v.393.-P.426.
2. **Clark L.L., Ingall E.D., Benner R.** Marine organic phosphorus cycling: novel insights from nuclear magnetic resonance // *Am. J. Sci.* - 1999 - № 2999 - P.724-737.
3. **Kolowitz L.C., Ingall E.D., Benner R.** Composition and cycling of marine organic phosphorus // *Limnol. Oceanogr*- 2001.- v.46.- P.309-320.
4. **Paytan A., McLaughlin K.** The oceanic phosphorus cycle // *Chem. Rev* - 2007- V.107.-P.563-576.
5. **Karl D.M.** Phosphorus, the staff of life//*Nature*.-2000.-v.406.-P.31-32.
6. **Benitez-Nelson C. R.** The biogeochemical cycling of phosphorus in marine systems // *Earth-Science Rev*.-2000.- v.51.-P.109-135.

7. **Poduna AT.** Методы водной микробиологии. Прак. рук-во - М.: Наука, 1965 - 361 с.
8. **Gen-Fu W., Xue-Ping Z.** Characterization of phosphorus-releasing bacteria in a small eutrophic shallow lake, Eastern China // *Water Res.* - 2005 - v.39 - P.4623-4632.
9. **Hupfer M., Gloess S., Grossart H.-P.** Polyphosphate accumulating microorganisms in aquatic sediments // *Aquatic Microbiol. Ecol* - 2007 - v.47 - P.299-311.
10. **Ehrlich H.I.** Geomicrobiology. 4<sup>th</sup> ed.- CRC Press, 2002.- 800 p.
11. **Carpenter S.R.** Eutrophication of aquatic ecosystems: bistability and soil phosphorus // *PNAS.* - 2005.- v.102, № 29.- P. 10002-10005.
12. **Ohtake H., Wu H., Imazu K., Anbe Y., Kato J., Kuroda A.** Bacterial phosphonate degradation, phosphite oxidation and polyphosphate accumulation // *Resources, Conservation and Recycling.* - 1996.- v. 18.- P. 125-134.
13. **Rodrigues H, Fraga R.** Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion//*Biotech. Advances*- 1999-v. 17-P.319-339.
14. **Seshadri S., Muthukumarasamy R, Lakshminarasimhan C, Ignacimuthu S.** Solubilization of inorganic phosphates by *Azospirillum halopraefers* // *Current science*- 2000.- v.79 - P.565-567.
15. **Hutchens E., Valsami-Jones E., Harouiya N., Chairat C, Oelkers E., McEldoney S.** An experimental investigation of the effect of *Bacillus megaterium* on apatite dissolution// *Geomicrobiol. J* - 2006.- v.23.- P.177-182.
16. **Perez E., Sulbaran M., Ball MM., Yarzabal L.A.** Isolation and characterization of mineral phosphate-solubilizing bacteria naturally colonizing a limonitic crust in the south-eastern Venezuelan region // *Soil Biol. Biochem.* - 2007- v.39 - P.2905-2914.
17. **Gupta R, Singal R, Sankar A., Chander R.M., Kumar R.S.** A modified plate assay for screening phosphate-solubilizing microorganisms // *J. Gen. Appl. Microbiol*- 1994.-v.40.- P.255-260.
18. **De Souza M-J. B.D., Nair S., Chandramohan D.** Phosphate solubilizing bacteria around Indian peninsula // *Indian J. Mar. Sci* - 2000 - v.29 - P.48-51.
19. **Beever R.E., Burns D.J.W.** Phosphorus uptake, storage and utilization by fungi // *Adv. Bot. Res.* - 1980.-V.8.-P.127-219.
20. **Illmer P., Schinner F.** Solubilization of inorganic phosphates by microorganisms isolated from forest soil // *Soil Biol. Biochem.* - 1992.- v.24.- P.389-395.
21. **Haider A.K., Mishra A.K, Bhattacharyya P., Chakrabarty P.K.** Solubilization of rock phosphate by *Rhizobium* and *Bradyrhizobium II* *J. Gen. Appl. Microbiol*- 1990.- V.36.-P.81-92.
22. **Ayyakkannu K, Chandramohan D.** Occurrence and distribution of phosphate-solubilizing bacteria and phosphatase in marine sediments at Porto Nova // *Mar. Biol.*-1971.- V.11.-P.201-205.
23. **McConnell D.** Precipitation of phosphates in sea water // *Econ. Geol* - 1965- v.60- P. 1059-1062.
24. **Paul E.A.** Soil microbiology, ecology, and biochemistry. 3<sup>rd</sup> ed - Elsevier Press, 2007.-514 p.
25. **Мишустина И.Е., Щеглова И.К., Мицкевич И.Н.** Морская микробиология: учеб. пособие - Владивосток: Дальневосточный ун-т, 1985.- 184 с.
26. **Nathan Y., Bremner J.M., Loewenthal R.E., Monteiro P.** Role of bacteria in phosphorite genesis // *Geomicrobiol. J*- 1993 - v.11 - P.69-76.
27. **Ruttenberg K.C., Berner R.A.** Authigenic apatite formation and burial in sediments from non-upwelling, continental margin environments // *Geochim. Cosmochim. Ac*

- Acta.- 1993.- v.57.- P.991-1007.
28. **Piper D.Z., Codespoti L.A.** Marine phosphorite deposits and the nitrogen cycle // Science.- 1975.- v.179.- P.564-565.
  29. **Youssef M.I.** Genesis of bedded phosphates // Econ. Geol.- 1965 - v.60 - P.590-600.
  30. **O'Brien G. W.O., Harris JR., Milnes A.R., Veeh H.H.** Bacterial origin of East Australian continental margin phosphorites // Nature - 1981- v.294.- P.442-444.
  31. **Hirschler A., Lucas J., Hubert J.-C.** Bacterial involvement in apatite genesis // FEMS Microbiol. Ecol.- 1990.- v.73.- P.211-220.
  32. **Vadstein O.** Heterotrophic, planktonic bacteria and cycling of phosphorus - Phosphorus requirements, competitive ability and food web interactions // Adv. Microbiol. Ecol.- 2000.- v. 16.- P. 115-167.
  33. **Waara T., Jansson M., Petterson K.** Phosphorus composition and release in sediment bacteria of the genus *Pseudomonas* during aerobic and anaerobic conditions // Hydrobiologia.- 1993.- v.253.- P. 131 -140.
  34. **Mino T., van Loosdrecht M.C.M., Heijnen J.J.** Microbiology and biochemistry of the enhanced biological phosphate removal process // Water Res - 1998 - v.32 - P.3193-3207.
  35. **Sevior R.J., Mino T., Onuki M.** The microbiology of biological phosphorus removal in activated sludge systems // FEMS Microbiol. Rev - 2003 - v.27 - P.99-127.
  36. **Hupfer M., Rube B., Schmieder P.** Origin and diagenesis of polyphosphate in lake sediments: A <sup>31</sup>P NMR study // Limnol. Oceanogr.- 2004.-v.49.- P.1-10.
  37. **Carman R., Edlund G., Damberg C.** Distribution of organic and inorganic phosphorus compounds in marine and lacustrine sediments: A <sup>31</sup>P NMR study // Chem. Geol.- 2000.- v.163.- P.101-114.
  38. **Uhlmann D., Bauer H.D.** A remark on microorganisms in lake sediments with emphasis on polyphosphate accumulating bacteria // Inter. Rev. Hydrobiology- 1988- v.73.- P.703-708.
  39. **Davelaar D.** Ecological significance of bacterial polyphosphate metabolism in sediments // Hydrobiologia.- 1993.- v.253.- P.179-192.
  40. **Gachter R., Meyer J.S.** The role of microorganisms in mobilization and fixation of phosphorus in sediments // Hydrobiologia - 1993.- v.253 - P. 103-121.
  41. **Несмеянова МА.** Полифосфаты и ферменты полифосфатного метаболизма у *Escherichia coli* // Биохимия.- 2000.- т.65, № 3.- С.368-374.
  42. **Serqfin L.S., Lemos P.C., Levantesi C, Tandoi V., Santos H, Reis M.A.M.** Methods for detection and visualization of intracellular polymers stored by polyphosphate-accumulating microorganisms // J. Microbiol. Meth.- 2002 - v.51.- P. 1-18.
  43. **Adams F., Conrad J.P.** Transition of phosphite to phosphate in soils // Soil Sci - 1953.-V.75.-P.361-371.
  44. **Foster T.L., Winans L., Helms S.J.S.** Anaerobic utilization of phosphite and hypophosphite by *Bacillus* sp. // Appl. Environ. Microbiol.- 1978 - v.35- P.937-944.
  45. **Casida L.E.** Microbial oxidation and utilization of orthophosphite during growth // J. Bacteriol.- 1960.- V.80.-P.237-241.
  46. **Morton S.C, Edwards M.** Reduced phosphorus compounds in the environment // Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.- 2005.- v.35.- P.333-364.
  47. **Roels J., Verstraete W.** Biological formation of volatile phosphorus compounds // Bioresource Technol.- 2001.- v.79.- P.243-250.

Материал поступил в редакцию 5.1 1.2009 г.