

Тема:

Превращение микроорганизмами соединений азота

- 1. Круговорот азота в природе**
- 2. Аммонификация**
- 3. Нитрификация**
- 4. Денитрификация**
- 5. Иммобилизация азота**
- 6. Биологическая азотфиксация**

Круговорот азота в природе

Азот является важнейшим органогенным элементом, который входит в состав белковых веществ, ферментов, АТФ, нуклеиновых кислот любого живого существа.

Азот в природе находится в трех формах:

1. Органическая форма азота (белки, ферменты, нуклеиновые кислоты);
2. Минеральная форма азота (аммиак, нитраты, нитриты);
3. Молекулярная форма азота (N_2 – в атмосфере).

- Атмосферный азот вовлекается в круговорот благодаря азотфиксирующим микроорганизмам.
- Растения усваивают фиксированный м/о азот и превращают его в растительный белок.
- Животные поедают растительный белок и образуют животный белок.

Цикл превращений азота в природе с участием микроорганизмов состоит из 4 этапов:

1. аммонификация белковых веществ;
2. Нитрификация;
3. Денитрификация;
4. фиксация атмосферного азота м/о.



Аммонификация (минерализация азота, гниение, мобилизация азота) - это разложение органических азотсодержащих веществ с выделением азота в виде аммиака (белки, ферменты, мочевина, хитин, нуклеиновые кислоты).

Значение:

1. Участие в круговороте веществ в природе, санитары планеты, очищают от растительных, животных и микробных остатков, гнилостные процессы используют при выделке кож.
2. Порча мяса и мясопродуктов, рыбы и рыбопродуктов, яиц, молока и других белковых продуктов, шелковых и шерстяных тканей и изделий.

Аммонификация белков.

Разложение идет в 2 фазы:

1-я фаза протеолиз белков по схеме:

Белки = (экзопротеазы, пептидазы) = пептон =
полипептиды = олигопептиды = аминокислоты.

2-я фаза аминокислоты поглощаются клетками микроорганизмов и внутри них происходит дезаминирование и декарбоксилирование.

Дезаминирование – отщепление аминогруппы

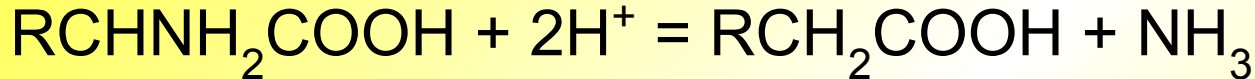
Н

R-C-COOH

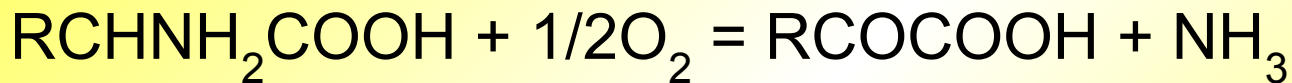
NH₂

Виды дезаминирования

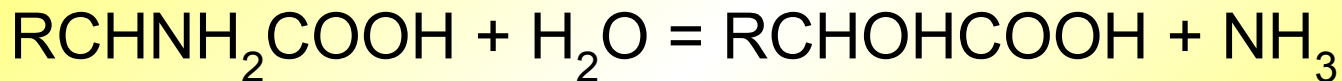
– восстановительное



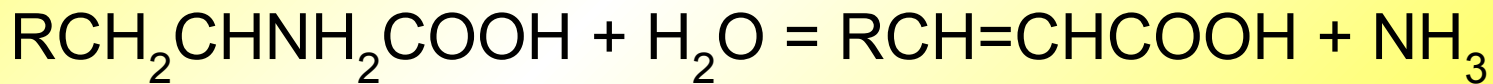
– окислительное



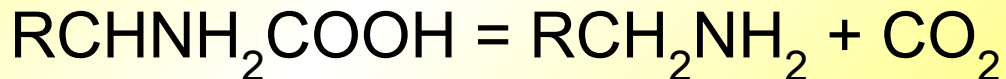
– гидролитическое



– прямое



Декарбоксилирование – отщепление CO₂



Продукты аммонификации

В аэробных условиях

Белок = NH_3
 CO_2
 H_2O
 SO_4

В анаэробных условиях

Белок = NH_3
 CO_2
 H_2S
Амины
Орг. к-ты
Трупные яды
(меркаптан, индол,
скатол, кадаверин и др.)

Возбудителями аммонификации являются аммонифицирующие (гнилостные) бактерии. Широко распространены в природе.

Характеристика:

- Грам+ и грам -;
- палочки;
- подвижны;
- споровые и неспоровые;
- мезофиллы;
- аэробы, факультативные и облигатные анаэробы;
- гетеротрофы.

Аэробы:

- грибовидная бацилла
- картофельная палочка
- сенная палочка
- фосфорная палочка
- чудесная палочка
- *Pseudomonas fluorescens*

Bacillus mycoides
Bacillus mesentericus
Bacillus subtilis
Bacillus megaterium
Bacterium prodigiosum

Факультативные анаэробы:

- протей обыкновенный
- кишечная палочка

Proteus vulgaris
Escherichia coli

Облигатные анаэробы:

- гнилостная палочка
- спорогенная палочка

Clostridium patrificus
Clostridium sporogenus

Аммонификацию в аэробных условиях вызывают **плесневые грибы и актиномицеты**.

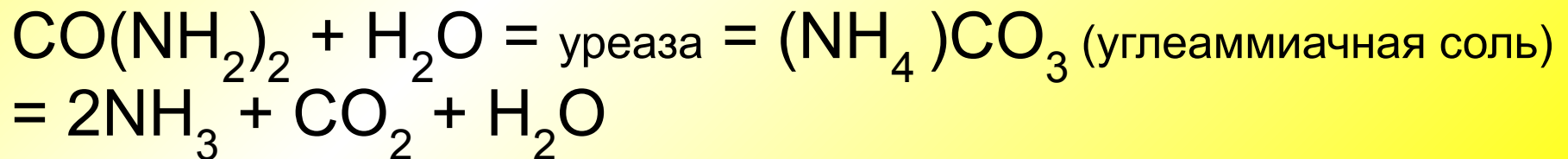
Аммонификация мочевины.

Мочевина – продукт разложения белков в организме человека и животного, выделяющийся наружу с мочой.

Азот мочевины растениям не доступен. Только после его аммонификации микроорганизмами он переходит в форму NH_3 и становится доступным.

Под действием фермента уреазы, который выделяют микроорганизмы, происходит гидролиз мочевины с образованием карбоната аммония, который почти тотчас же разлагается на составные компоненты - NH_3 , H_2O , CO_2 .

Химизм:



Возбудители:

Уробактерии, содержат фермент уреаза, широко распространенный в почве, навозе, сточных водах.

Шаровидные	Палочковидные
Micrococcus ureae	Bacillus probatus
Sporosarcina ureae	Bacillus pasteurii

Характеристика:

Грам+, кокки, палочки, подвижны, споровые, аэробы, **алкалофилы (pH 8-10)**, аукоавтотрофы, аминокислототрофы.

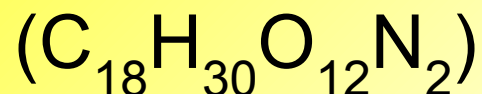
Более слабо могут вызывать аммонификацию бактерии рода *Pseudomonas* и *Cytophaga*.

Аммонификация хитина.

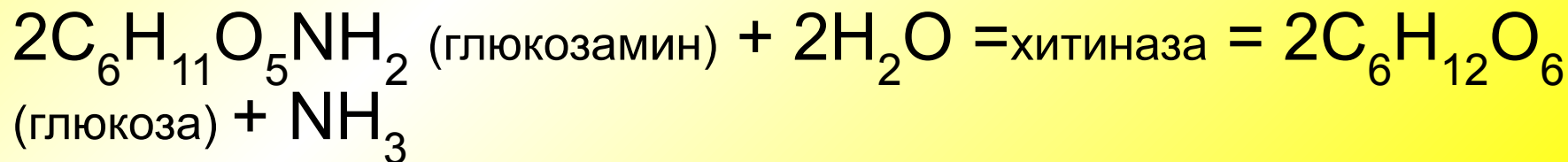
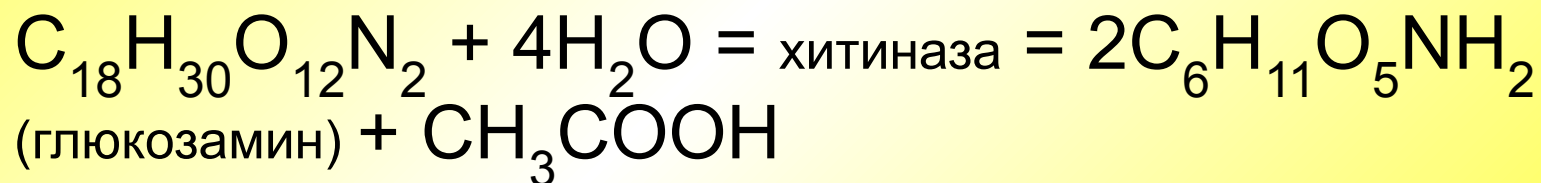
Хитин – это вещество хорошо распространено в почве. Входит в состав панциря ракообразных, покров насекомых, клеточную стенку грибов.

Очень стойкое соединение.

Хитин – это азотсодержащий полисахарид



Химизм:



Возбудители:

- **актиномицеты** – стрептомицеты, проактиномицеты, микромонаспоры.
- **плесневые грибы** – мукор, аспергиллус.
- **бактерии** – bacterium chitinovorum, pseudomonas, cytophaga

При аммонификации выделяется NH_3 часть которого:

- используется растениями
- усвоят микробы
- закрепится в почве
- улетучится
- окислится при нитрификации.

Нитрификация.

Это процесс окисления аммиака или аммиачных форм азота сначала в азотистую кислоту или нитриты, которая затем окисляется в азотистую кислоту или нитриты.

Процесс окисления идет в 2 фазы:

1-я фаза нитрозная: $2\text{NH}_3 + 3\text{O}_2 = 2\text{HNO}_2 + 2\text{H}_2\text{O} + 285 \text{ кДж}$

2-я фаза нитратная: $2\text{HNO}_2 + \text{O}_2 = 2\text{HNO}_3 + 87 \text{ кДж}$

Возбудители первой фазы – нитрозные бактерии, окисляют аммиак.

1. род Nitrosomonas

3. Nitrosococcus

5. Nitrosovibrio

2. Nitrospira

4. Nitrosolobus

6. Nitrosocystis

Возбудители второй фазы – нитратные бактерии, окисляют азотистую кислоту.

1. род Nitrobacter
2. Nitrospira
3. Nitrococcus

Характеристика:

- Грам + ;
- кокки, палочки, извитые, дольчатые;
- подвижные и неподвижные;
- неспоровые;
- вызывают процесс окисления, **аэробы**;
- у всех есть мембраны на которых происходит хемосинтез, хемолитоавтотрофы;
- энергию которую получают при окислении аммиака или азотистой кислоты используют для построения органического вещества.

Факторы, влияющие на нитрификацию:

1. Наличие кислорода;
2. Кислотность рН 6-9;
3. Оптимальная температура 28-30 °С;
4. Органическое вещество подавляет нитрификацию;
5. Влажность 40-60%.

Значение:

1. Образование залежей селитры;
2. Служит показателем микробиологической активности почвы и ее плодородия;
3. Нитраты и нитриты усваивают растения.

Отрицательное значение:

1. Нитраты легко вымываются из почвы.

Денитрификация.

Это процесс восстановления нитратов и нитритов до молекулярного азота.

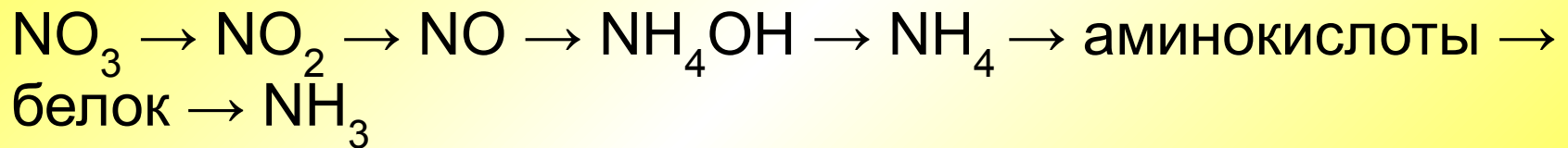
Значение:

1. Она носит отрицательный характер, т.к. почва теряет доступную форму азота для растений.
2. С другой стороны денитрификация происходящая в мировом океане полезна, т.к. обезвреживаются нитраты.

2 вида денитрификации:

1. Прямая (микробиологическая) – биологическое восстановление нитратов в результате деятельности микробов.

– **ассимиляторная** – большой роли не играет. Микробы используют азот нитратов для построения органического вещества:



– **диссимиляторная** – микробы используют кислород нитрата для получения энергии в результате нитратного дыхания:



Возбудители – денитрифицирующие бактерии:

Pseudomonas fluorescens

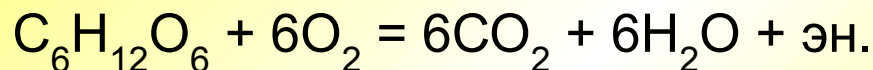
Pseudomonas studzeri

Paracoccus denitrificans

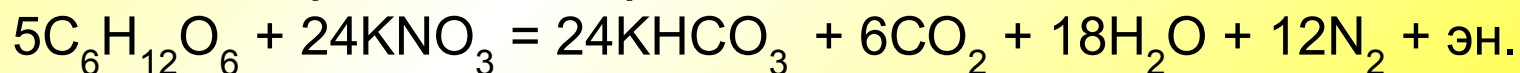
Характеристика:

- Грам - ;
- палочки, кокки;
- неспоровые;
- подвижные;
- гетеротрофы;
- факультативные анаэробы:

Есть кислород – окисление:



Нет кислорода – нитратное дыхание:



Условия для прохождения денитрификации: **анаэробные.**

Мера борьбы: обработка почвы.

2. Косвенная (химическая) – это химическое восстановление нитратов, которое происходит только в кислой среде pH мене 5,5.



Меры борьбы: известкование почв.

Иммобилизация азота.

Это использование микроорганизмами аммиачного азота для построения своего органического вещества.

Перевод аммиачного азота в тело микробов.

Процесс обратный аммонификации.

Значение:

1. Процесс носит отрицательный характер, т.к. азот становится недоступным для растений.
2. Поздно осенью иммобилизация полезна, т.к. азот закрепляется в почве и не вымывается.

Соотношение в почве процессов аммонификации и иммобилизации зависит от баланса углерода к азоту в органическом веществе почвы.

У микроорганизмов на каждые 100 г органического вещества приходится 50 г углерода и 2 г азота.

Идеальный баланс углерода к азоту в почве для микроорганизмов 25:1.

При узком соотношении менее 25:1 в почве преобладает аммонификация над иммобилизацией.

Например: при внесении в почву сушеной крови (соотношение углерода к азоту 4:1), микробы чтобы получить углерод разлагают это вещество и выделяют аммиак.

При широком соотношении более 25:1 в почве преобладает иммобилизация над аммонификацией.

Например: при внесении в почву соломы (соотношение углерода к азоту 100:1) микробы, чтобы получить азот, добывают его в аммиачной форме.

Иммобилизованный азот является биологически связанным (закреплен) в теле микробов. После их отмирания происходит реминерализация иммобилизованного азота с выделением аммиака.

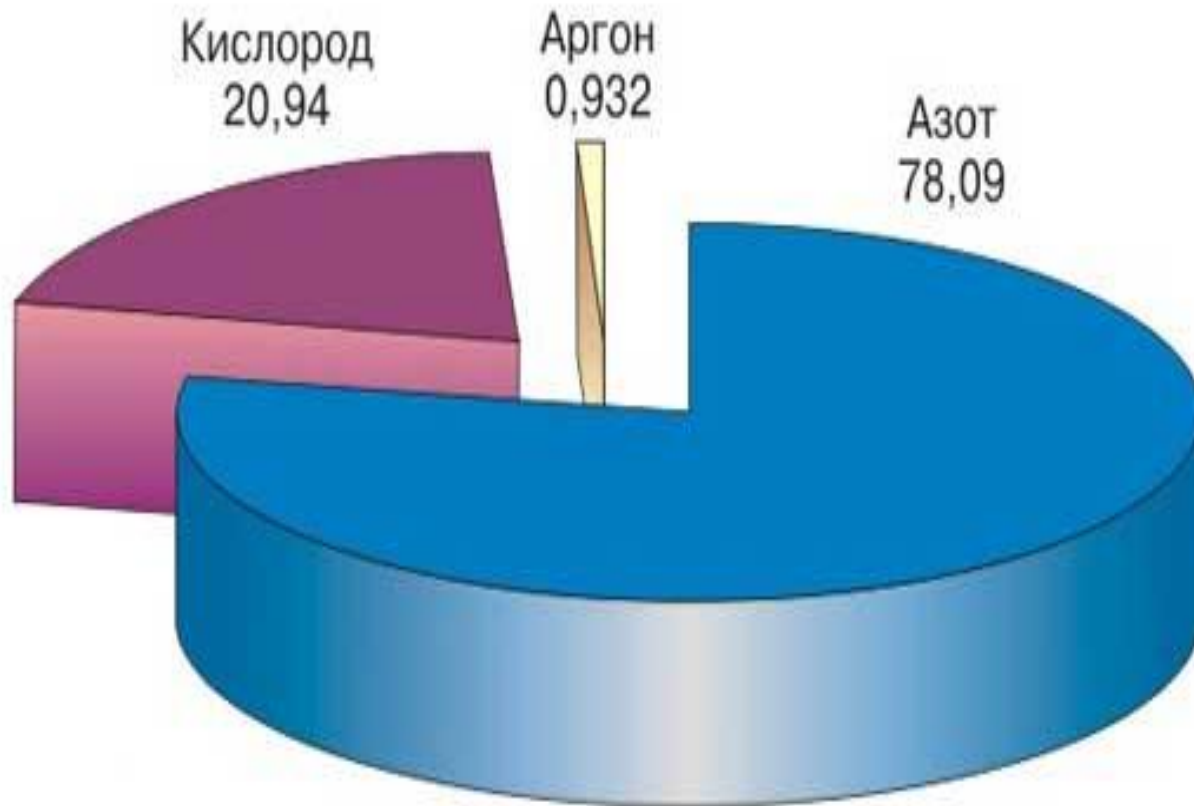
Биологическая азотфиксация.

Азотфиксация - это процесс, характерный только для прокариотической клетки, усвоение молекулярного азота азотфиксирующими микроорганизмами для построения своего органического вещества.

Способны фиксировать молекулярный азот:

- Сине-зеленые водоросли (Цианобактерии);
- Аэробные и анаэробные бактерии;
- Некоторые актиномицеты (Франки).

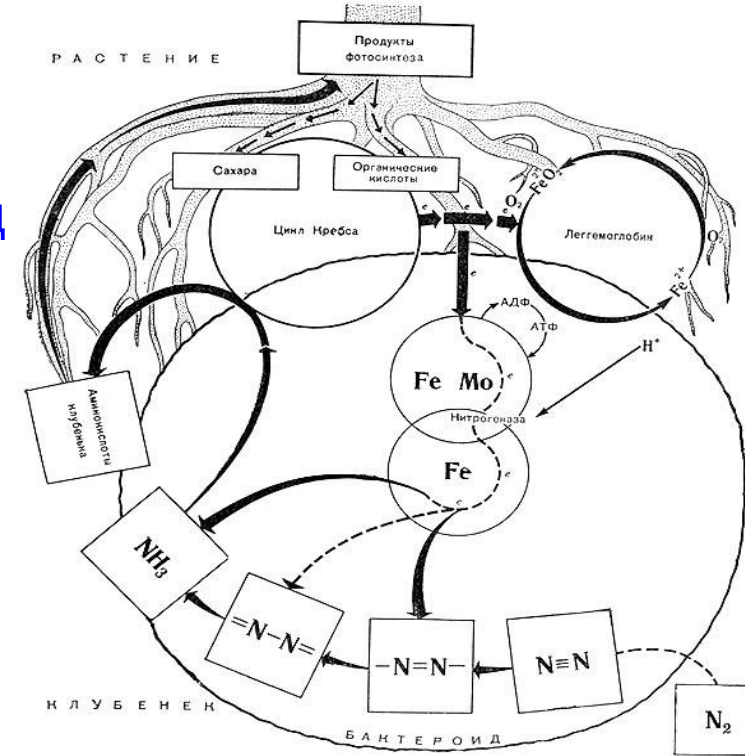
6. Биологическая азотфиксация



БИОЛОГИЧЕСКАЯ АЗОТФИКСАЦИЯ -

усвоение некоторыми микроорганизмами молекулярного азота атмосферы и перевод его в органические соединения (образуют аммиак, который служит исходным веществом для образования белков).

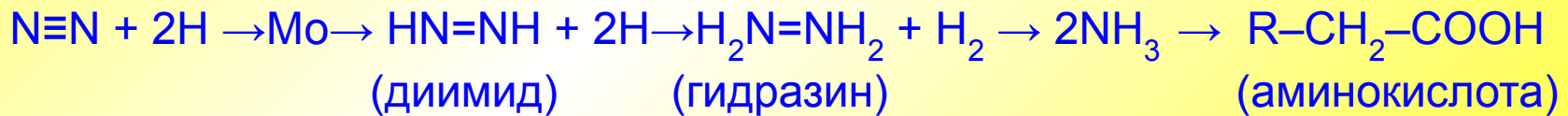
N_2 $N \equiv N$ энергия этой связи 225 ккал.



Фермент способный разорвать эту связь – **нитрогеназа**

Химизм: Процесс усвоения азота происходит по восстановительному пути:

Схема восстановления:



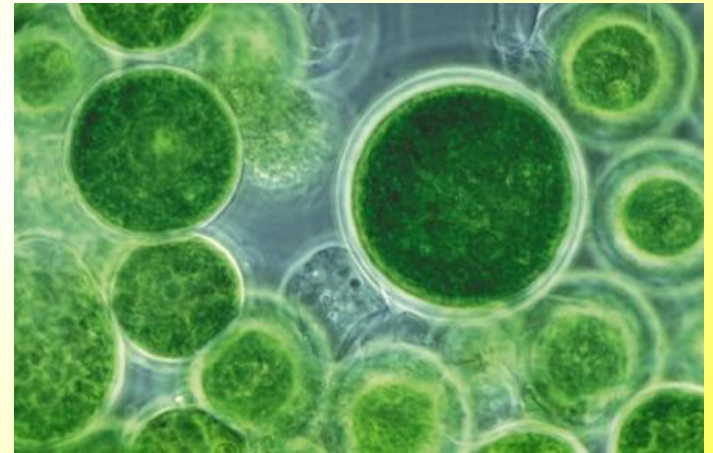
Процесс играет огромную роль в природе, так как происходит превращение азота в доступные для растений формы, повышается почвенное плодородие.

Микроорганизмы, способные фиксировать молекулярный азот:

1. Сине-зеленые водоросли (цианобактерии род *Nostoc*, *Anabaena*);



Синезелёные водоросли. Анабена (Anabaena).



Цианобактерии, способные усваивать атмосферный азот

2. Симбионты небобовых растений – род *Frankia* (Франки)

Frankia on the roots of *Shepherdia argentea*
(Шефердия серебристая).



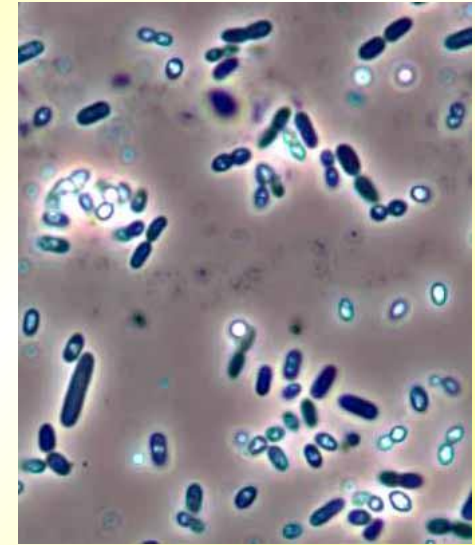
Symbiotic N-fixation in *Alnus viridis*
(Ольха зелёная)



3. Бактерии:

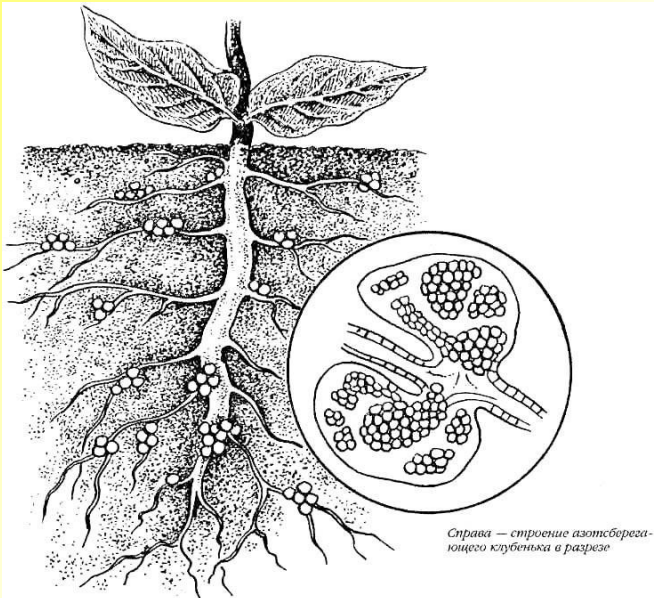
3.1. Свободноживущие:

- Аэробы (Род *Azotobacter*);
- Анаэробы (Род *Clostridium*).



3.2. Симбиотические:

- Симбионты бобовых растений (Род *Rhizobium*).



СВОБОДНОЖИВУЩИЕ АЗОТФИКСАТОРЫ

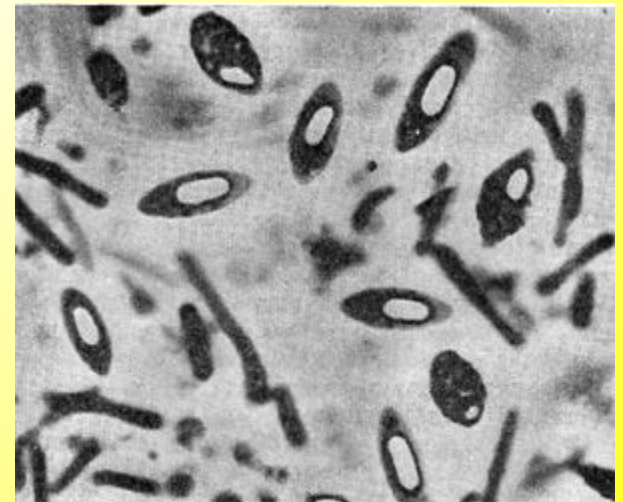
Живут в почве самостоятельно и используют молекулярный азот для построения органического вещества, после их отмирания они минерализуются, а азот выделяется в виде аммиака.

Накапливают до 40 кг/га азота.

Анаэробные свободноживущие азотфиксаторы:

Наиболее сильная азотфиксирующая способность у маслянокислой бациллы – *Clostridium pasteurianum*.

Фиксирует 5-10 мг азота на 1 г потребленного источника углерода.



Характеристика: Грам+, палочки, подвижные, споровые, спорорасположение кластридиальное, запасное вещество гранулеза, облигатные анаэробы, используют моно- ди- и полисахариды, гетеротрофы. Широко распространен в наших почвах. Встречается в почвах с рН от 4,5 до 9, оптимальная рН = 7.

Оптимальные условия для его развития:

- анаэробные условия;
- нейтральная среда;
- влажность 60-80% ПВ;
- наличие органического вещества.

Другие анаэробные свободноживущие азотфиксаторы:

1. *Clostridium butylicum*
2. *Clostridium pectinovorum*
3. *Clostridium omelianum*
4. Коринебактерии
5. Зеленые и пурпурные серные бактерии

Аэробные свободноживущие азотфиксаторы.

Открыты в 1901 году Бейеринком (*Azotobacter chroococcum*).

Относятся к семейству Azotobacteriaceae

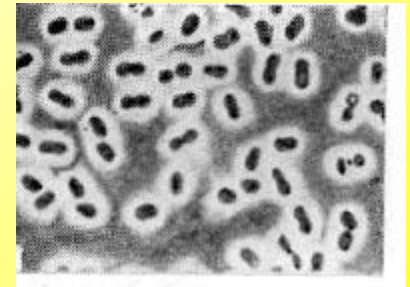
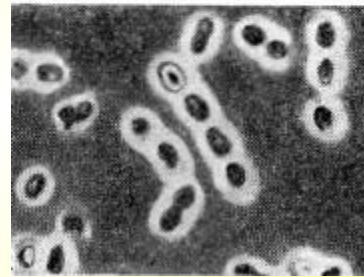
Род. *Azotobacter*

Представители:

1. *Azotobacter chroococcum*;

2. *Azotobacter vinelandii*;

3. *Azotobacter agilis*.



Фиксирует 10-15 мг азота на 1 г потребленного источника углерода.

Характеристика:

Грам- , в молодом возрасте подвижные палочки с возрастом становятся неподвижными крупными кокками. Кокки соединяются попарно и покрыты общей капсулой, неспоровые, аэробы, гетеротрофы, используют моно- и полисахариды, ароматические вещества.

Азотобактер требователен к плодородию и окультуренности почвы.

Оптимальные условия для его развития:

- аэробные условия;
- рН – 7,2-8;
- влажность 60-80% ПВ;
- наличие органического вещества;
- высокая потребность в фосфоре, калии, кальции, молибдене, боре.

Azotobacter chroococcum используется для микробной индикации плодородия и окультуренности почв. Этот микроб выделяет биологические активные вещества: витамины, гормоны, антибиотики против патогенов, ферменты.

Из него готовят бактериальное удобрение азотобактерин (ризофил).

Обрабатывают этим удобрением семена перед посевом не бобовых культур: овощные, картофель, зерновые только на плодородных окультуренных почвах. При этом прибавка урожая составляет 20-30%.



Другие представители семейства Azotobacteriaceae:

Род. Beijerinckia (Бейеринкия)

Распространен в почвах южного полушария, образует слизистые красно-коричневые колонии. Любит кислые почвы, отличается кальцефобностью;

Род. Azomonas

Распространен в почвах тропиков;

Род. Derxia

Распространен в почвах тропиков, образует коричневые колонии, красноземы.

Цианобактерии – сине-зеленые водоросли.

Могут фиксировать молекулярный азот, как в симбиозе, так и в свободноживущем состоянии.

Свободноживущие цианобактерии есть в почвах всех типов. Фиксируют азот только многоклеточные цианобактерии: **Nostoc** и **Anabaena**.

Характеристика:

Аэробы, влаголюбивые, нейтрофилы, фотолитоавтотрофы, 70-100 кг азота на 1 га.

Широко используют как бактериальное удобрение, особенно при выращивании риса.

АССОЦИАТИВНЫЕ АЗОТФИКСАТОРЫ.

Занимают промежуточное положение между свободноживущими и симбиотическими азотфиксаторами.

Как свободноживущие, они живут самостоятельно и имеют свой собственный механизм азотфиксации.

Как симбиотические, они имеют более тесное отношение с растениями.

Ризосфера – около корня.

Ризоплана – на поверхности корней.

Эпифиты – живут на поверхности растений, а некоторые проникают внутрь корней, листьев, стеблей.

Эффект от них выше, чем от свободноживущих.

К ассоциативным бактериям относят:

Азоспирилла – azospirillum

Впервые выведен из ризосферы. В настоящее время широко практикуется использование азоспириллы, как бактериального удобрения.

Klebsiella

Мелкая палочка, капсульная, неподвижная, неспоровая, факультативный анаэроб.

Flavobacterium

Палочки, неспоровые, подвижные.

Развиваются в ризосфере кормовых трав.

Из ассоциативных бактерий готовят
бактериальные удобрения:

Ризобактерин

Основы биопрепарата: ассоциативные
азотфиксирующие бактерии *Klebsiella
planticola*

Диазофит

Мизорин



СИМБИОТИЧЕСКИЕ АЗОТФИКСАТОРЫ.

Фиксируют азот атмосферы живя только в симбиозе.

К ним относят:

Цианобактерии – они образуют экзосимбиоз с грибами – лишайники (при более низкой температуре).

Симбиоз с водными папоротниками – азотфиксирующая способность 100-120 кг/га азота. Азотфиксация идет при повышенной влажности и температуре.

Актиномицеты (франки) – симбиоз с покрытосеменными высшими растениями. Они образуют клубеньки, которые называются **актинориза**.

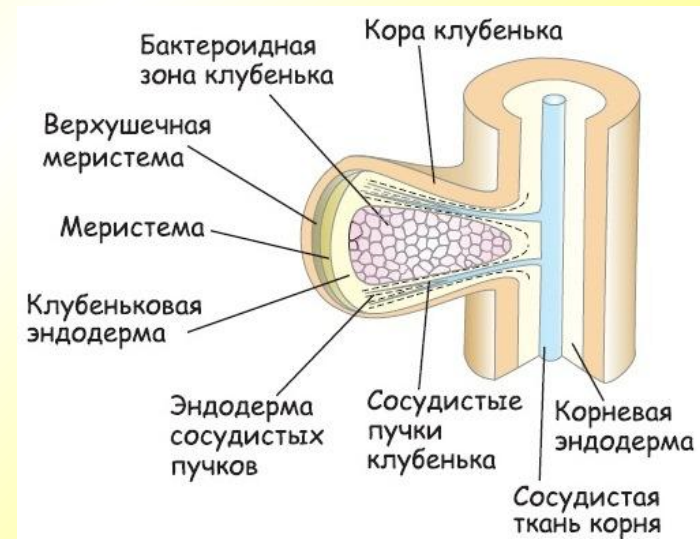
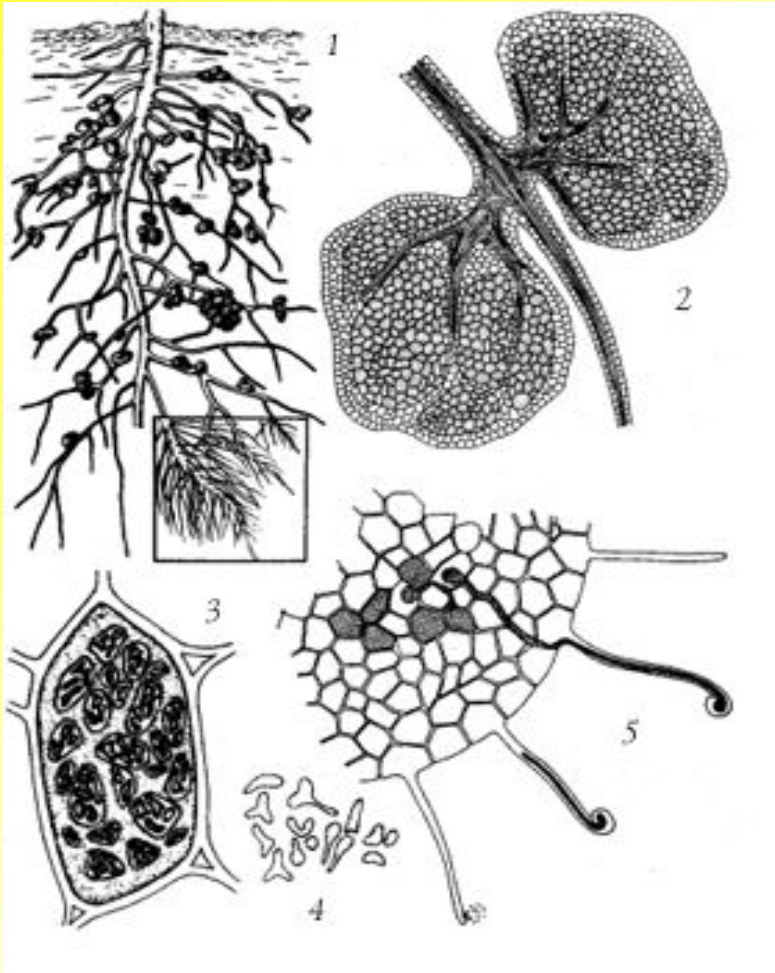
В европейских странах используют для обработки семян и корней (инокуляция).

Клубеньковые бактерии бобовых растений = ризобии. Образуют эндосимбиоз (внутри ткани).

Относятся к роду *Rhizobium*.

Свойства клубеньковых бактерий:

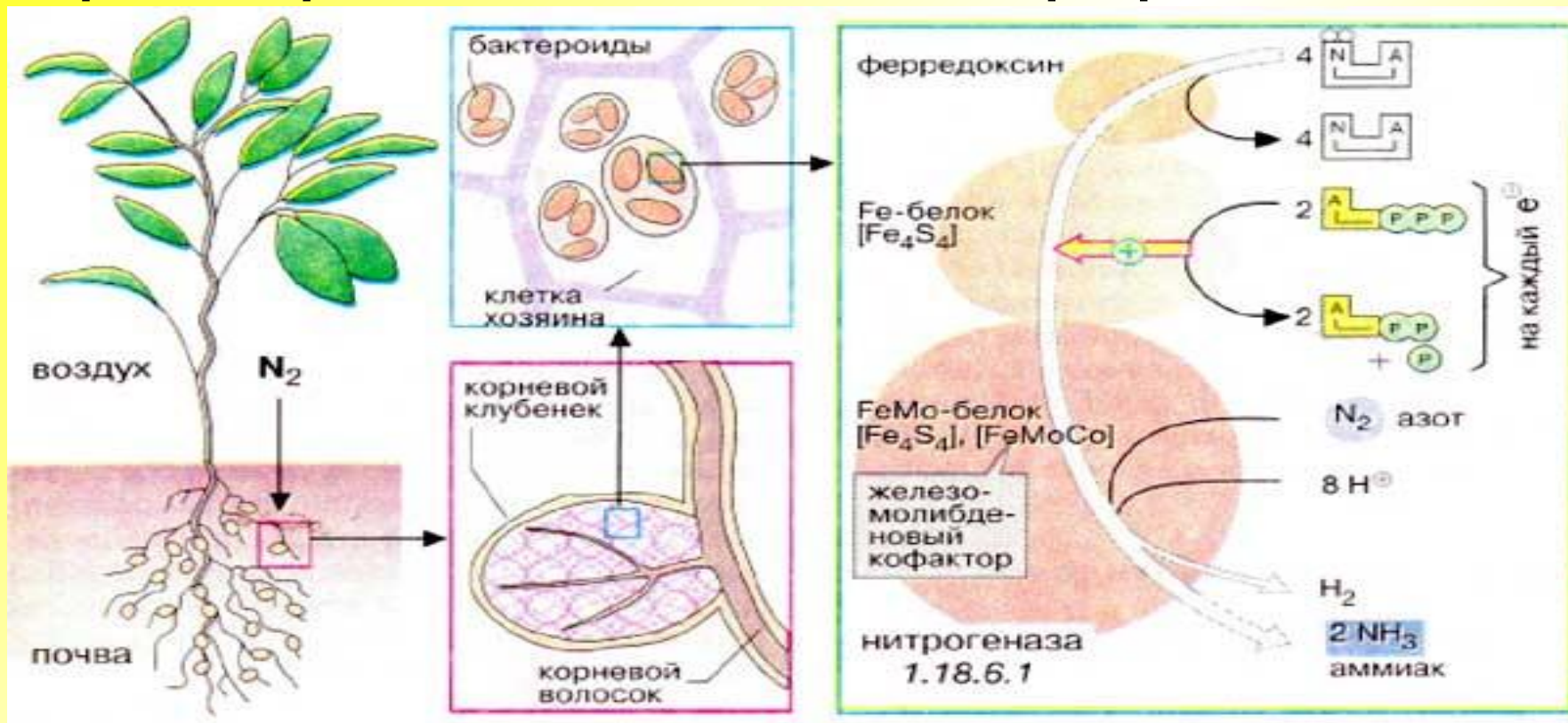
1. Вирулентность – способность проникать и развиваться внутри ткани корня;



Симбиотическая фиксация азота в корневых клубеньках бобовых:

- 1 – корень гороха с клубеньками;
- 2 – клубеньки в разрезе;
- 3 – растительная клетка в разрезе, заполненная бактериями;
- 4 – бактерии, находящиеся в клетках растения приобретают необычную форму;
- 5 – внедрение бактерий через кончики корневых волосков, и рост инфекционных нитей

2. Активность – способность фиксировать азот атмосферы;



Азотфиксирующая способность клубеньковых бактерий:

Однолетние травы 50-100 кг/га азота

Многолетние травы 150-300 кг/га азота.

3. Специфичность – разным видам бобовых растений присущи определенные виды клубеньковых бактерий:

Rhizobium trifolii – клевер;

Rhizobium leguminosarum – горох, бобы, вика, чина;

Rhizobium phaseoli – фасоль;

Rhizobium lupini – люпин;

Rhizobium japonicum – соя.



Бактероиды (под микроскопом):

I - посевной вики; II - клевера; III - люцерны; IV - мохнатой вики

Характеристика:

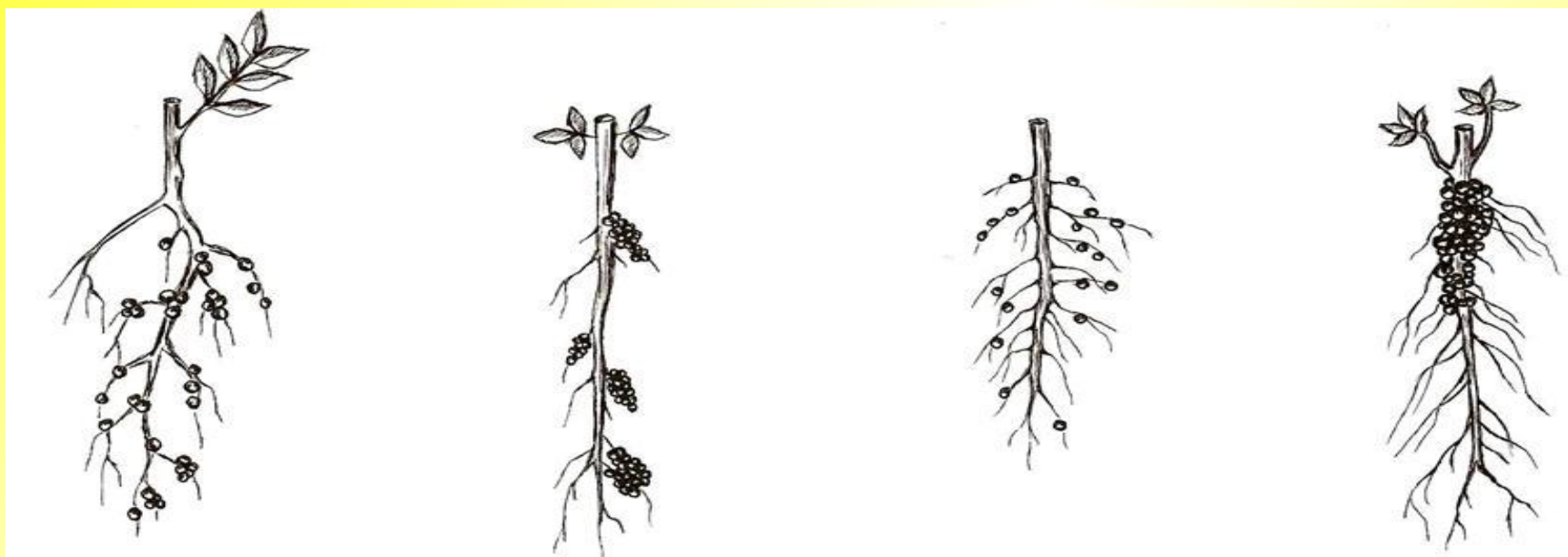
Грам- , молодые клетки палочки, подвижны, азот фиксировать не могут.

Попадая в растение они теряют подвижность и переходят в состояние «опоясанных палочек», которые образуют бактериоиды. Именно бактериоиды фиксируют азот атмосферы.

По форме они различные: т-образная, у-образная, сферическая, грушевидная и др. Крупные, неподвижные.

Клубеньковые бактерии неспоровые, гетеротрофы, нейтрофилы и мезофилы.

Активные клубеньки более крупные, находятся ближе к стеблю и имеют розовую окраску.
Неактивные – на периферии и более мелкие.



Клубеньки на корнях:

люпина

люцерны

фасоли

вики

Суть симбиоза: растение обеспечивает бактерии органическим углеродом и условиями для жизни, а бактерии обеспечивают растение азотом на 2/3 их потребности.

Оптимальные условия для клубеньковых бактерий:

1. pH = 6,5-7,5, min - 4,0-4,5;
2. Температура 24-26, min ниже 0 и выше 35;
3. Влажность 60-70% ПВ, min -16%;
4. P и K усиливают азотфиксацию;
5. Микроэлементы В и Мо усиливают азотфиксацию;
6. Азот минеральных удобрений подавляет азотфиксацию.

Из клубеньковых бактерий готовят бактериальные удобрения:

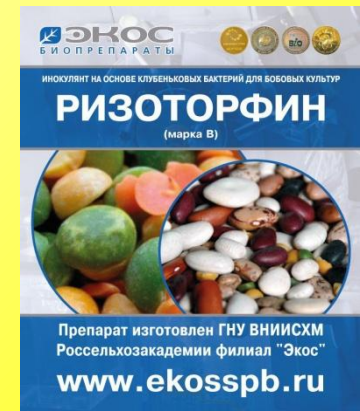
Нитрагин

Две его формы:

1. Ризоторфин – торфяной нитрагин
2. Ризобин – порошковый нитрагин

Обрабатывают семена перед посевом бобовых растений и строго специфично – бактеризация или инокуляция семян.

Прибавка урожая составляет 30-40%.



Развитие корневой системы при применении Ризоторфина



Ризофос

3-х марок:



«Галега» на основе клубеньковых бактерий *Rhizobium galegae*

«Люцерна» на основе клубеньковых бактерий *Rhizobium meliloti*

«Клевер» на основе клубеньковых бактерий *Rhizobium trifolii*

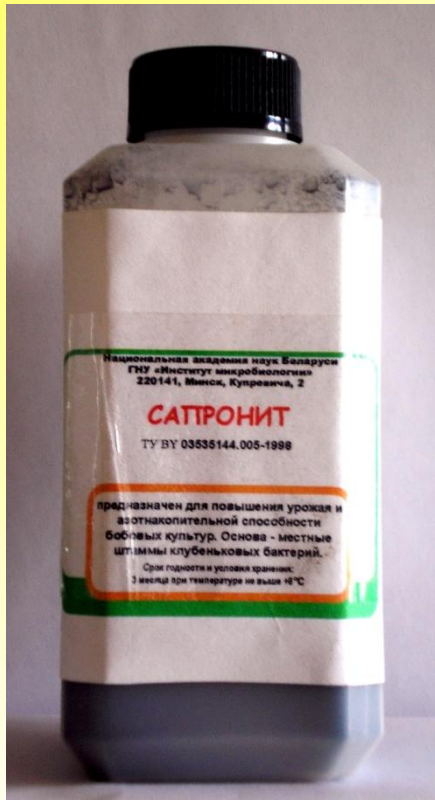
Норма внесения: **200мл** на 1 гектарную норму высева семян

СояРиз

на основе клубеньковых бактерий

Rhizobium japonicum

Норма внесения: 200г /гектарную норму семян



Сапронит

Состав: живая культура симбиотических азотфиксирующих бактерий рода *Rhizobium*, специфических для каждого вида бобовых растений.

Вогал

Основа биопрепарата: клубеньковые бактерии *Rhizobium galegae*

Ризобофит (Украина)



МИКРОБНЫЕ УДОБРЕНИЯ ПОЗВОЛЯЮТ:

**-уменьшить дозы вносимых
минеральных азотных и
фосфорных
удобрений на 20-30%;**

**-повысить качество и
безопасность
выращиваемой
продукции;**

**-повысить
урожайность
сельскохозяйственных
культур
на 15-30%**

**-обеспечить устойчивость
растений
к неблагоприятным
условиям
окружающей среды**