

# **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

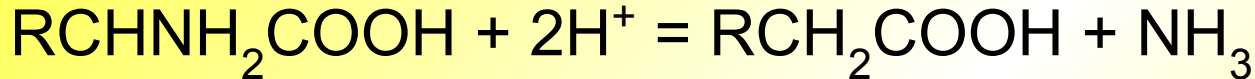
H

R-C-COOH

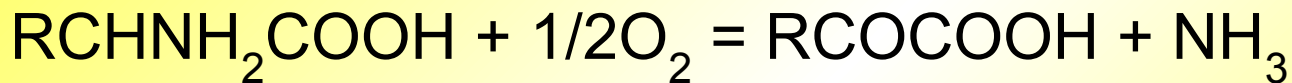
NH<sub>2</sub>

**Виды дезаминирования**

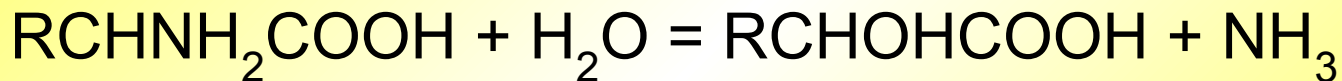
– восстановительное



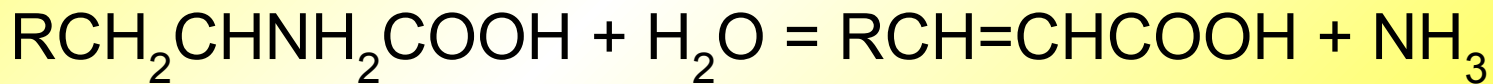
– окислительное



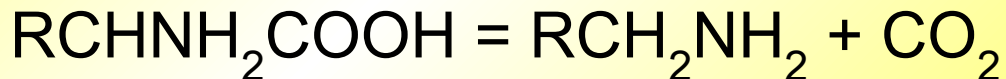
– гидролитическое



– прямое



**Декарбоксилирование** – отщепление CO<sub>2</sub>



# Продукты аммонификации

**В аэробных условиях**

**Белок =  $\text{NH}_3$   
 $\text{CO}_2$   
 $\text{H}_2\text{O}$   
 $\text{SO}_4$**

**В анаэробных условиях**

**Белок =  $\text{NH}_3$   
 $\text{CO}_2$   
 $\text{H}_2\text{S}$   
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**.

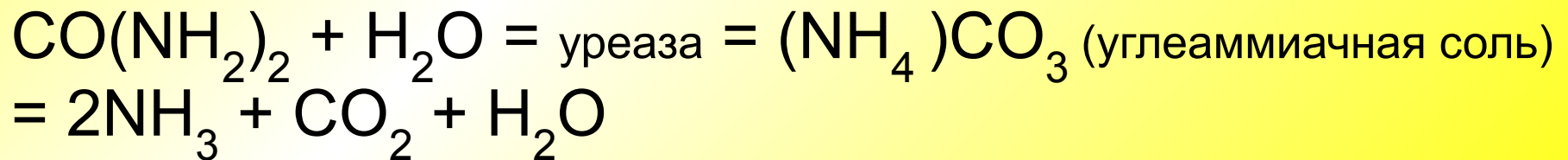
## Аммонификация мочевины.

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  $\text{NH}_3$  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 -  $\text{NH}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{CO}_2$ .

### Химизм:



## Возбудители:

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

Шаровидные	Палочковидные
<b>Micrococcus ureae</b>	<b>Bacillus probatus</b>
<b>Sporosarcina ureae</b>	<b>Bacillus pasteurii</b>

## Характеристика:

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

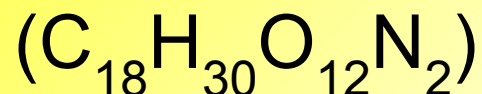
Более слабо могут вызывать аммонификацию бактерии рода *Pseudomonas* и *Cytophaga*.

## Аммонификация хитина.

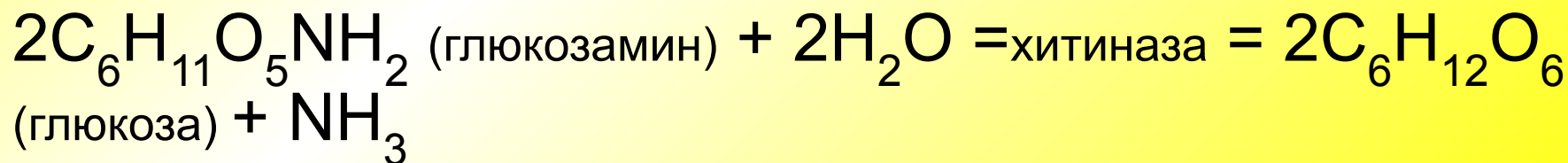
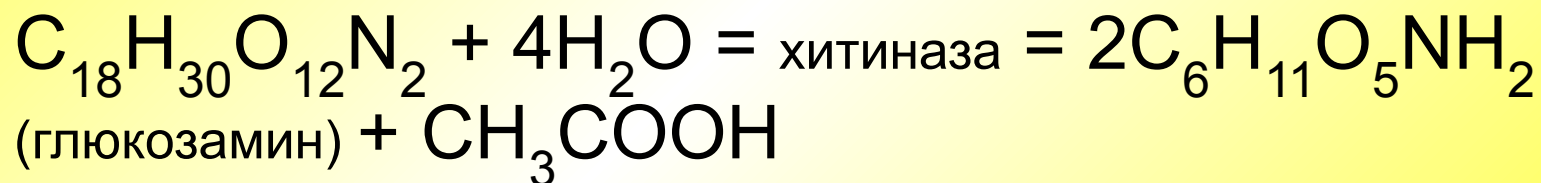
Хитин – это вещество хорошо распространено в почве. Входит в состав панциря ракообразных, покров насекомых, клеточную стенку грибов.

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  $\text{NH}_3$  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.

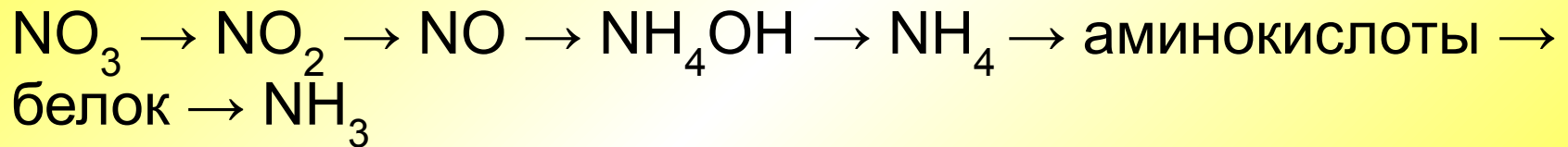
## Значение:

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.

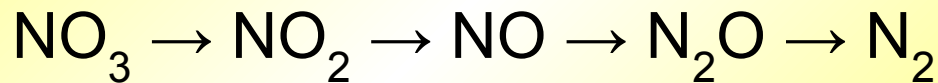
## 2 вида денитрификации:

**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*

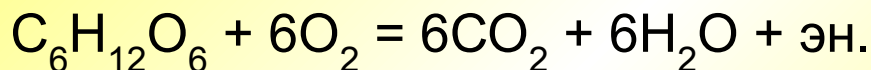
*Pseudomonas studzeri*

*Paracoccus denitrificans*

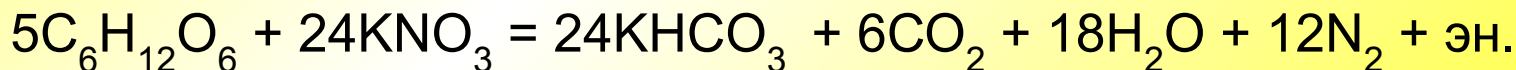
### Характеристика:

- 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.

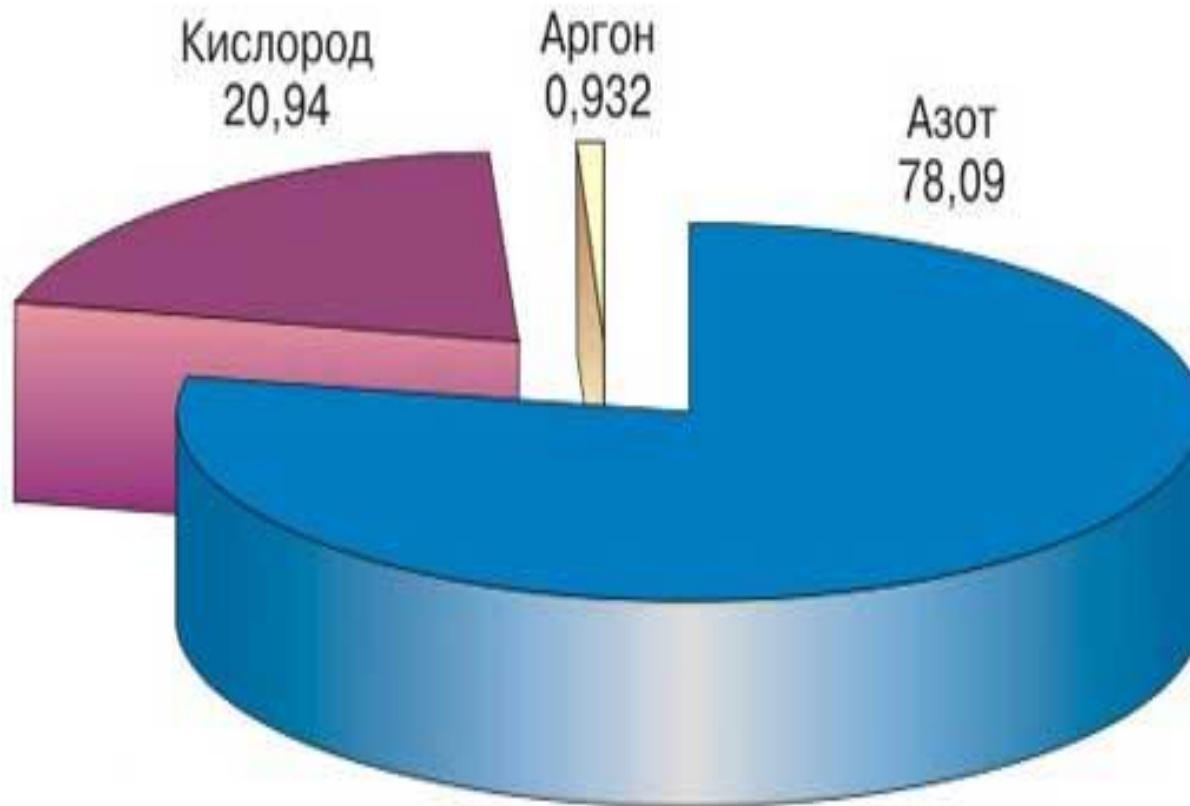
# Биологическая азотфиксация.

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).

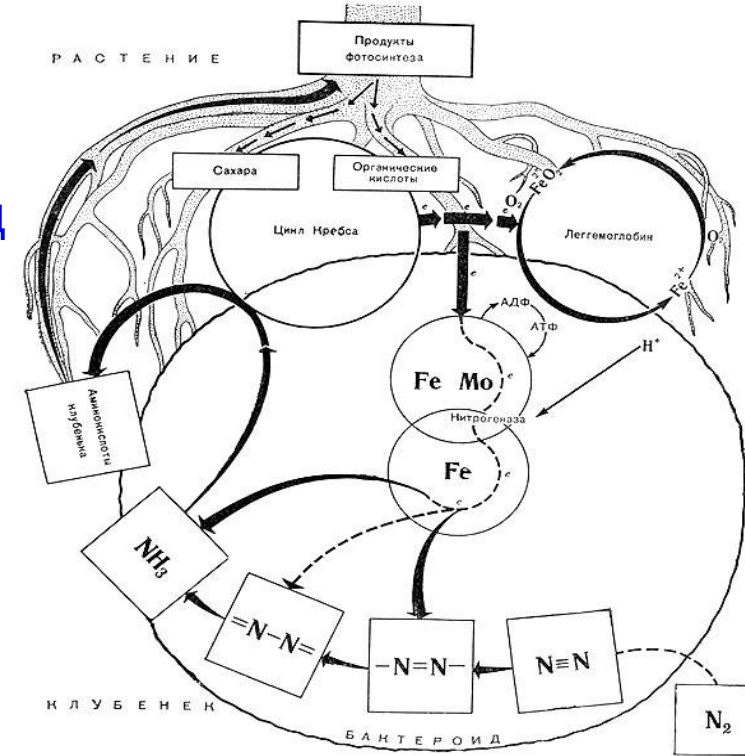
## 6. Биологическая азотфиксация



# БИОЛОГИЧЕСКАЯ АЗОТФИКСАЦИЯ -

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

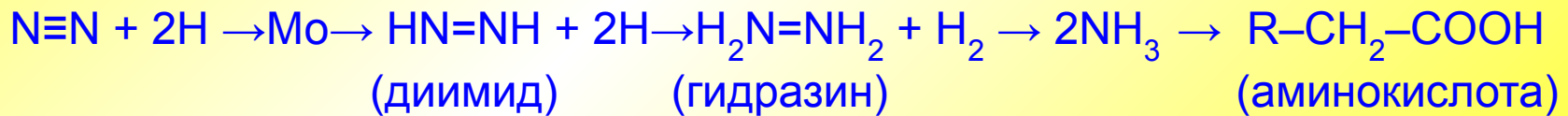
$N_2$   $N \equiv N$  энергия этой связи 225 ккал.



Фермент способный разорвать эту связь – **нитрогеназа**

**Химизм:** Процесс усвоения азота происходит по восстановительному пути:

Схема восстановления:



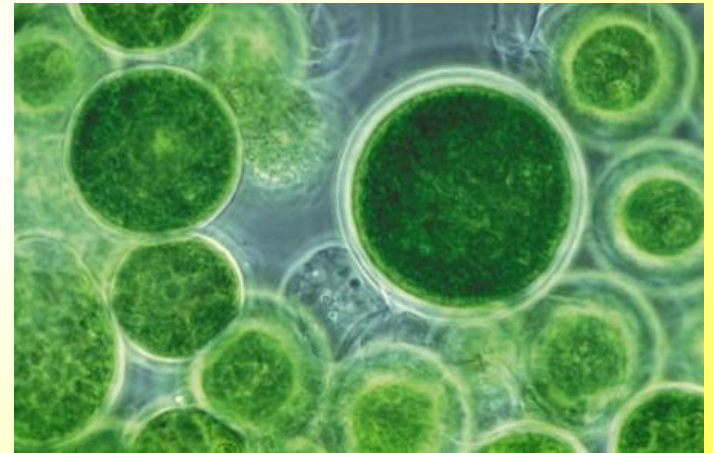
Процесс играет огромную роль в природе, так как происходит превращение азота в доступные для растений формы, повышается почвенное плодородие.

# 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).



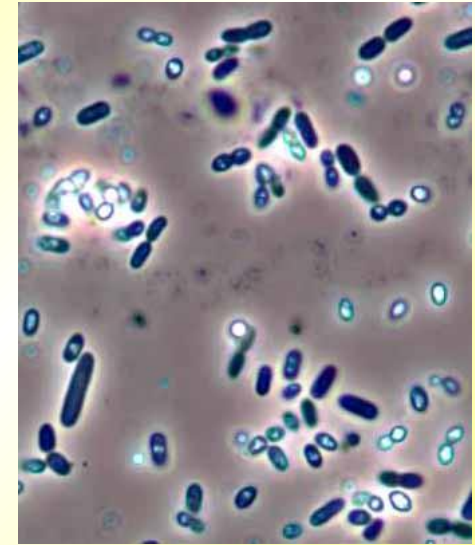
Symbiotic N-fixation in *Alnus viridis*  
(Ольха зелёная)



# 3. Бактерии:

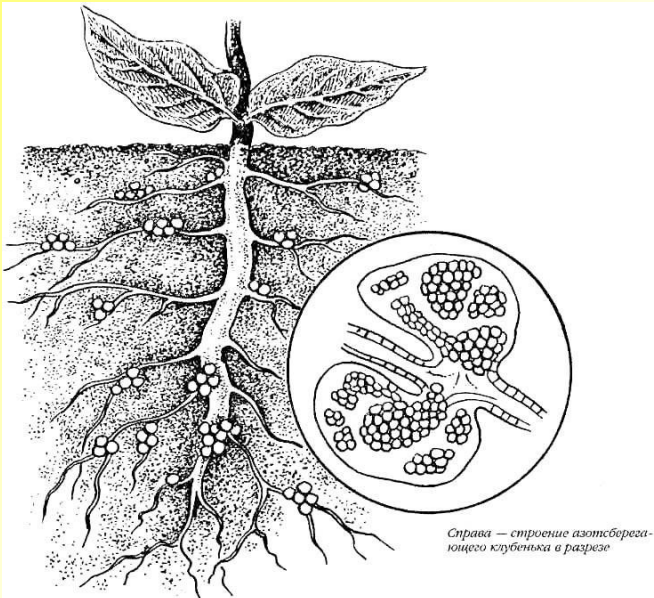
## 3.1. Свободноживущие:

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



## 3.2. Симбиотические:

- Симбионты бобовых растений (Род *Rhizobium*).





# СВОБОДНОЖИВУЩИЕ АЗОТФИКСАТОРЫ

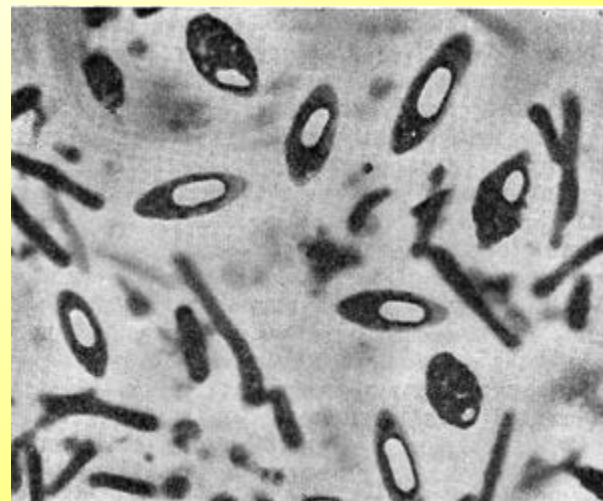
Живут в почве самостоятельно и используют молекулярный азот для построения органического вещества, после их отмирания они минерализуются, а азот выделяется в виде аммиака.

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

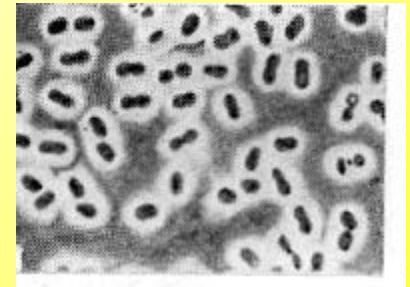
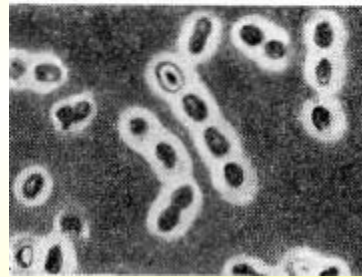
Род. *Azotobacter*

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**.

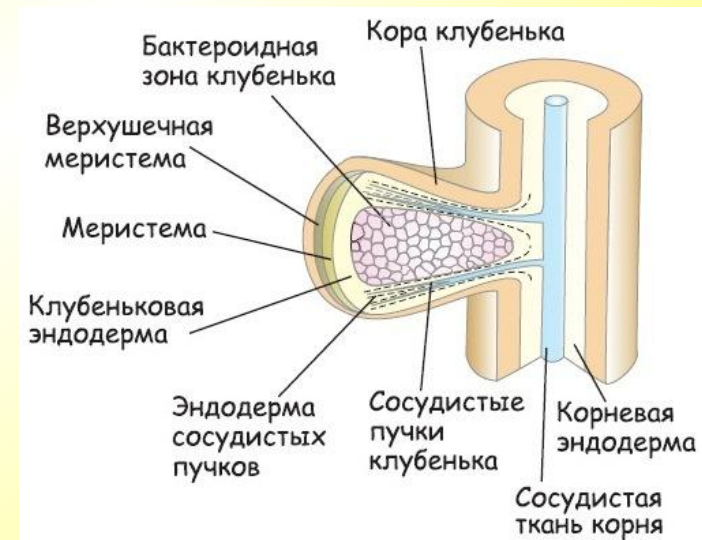
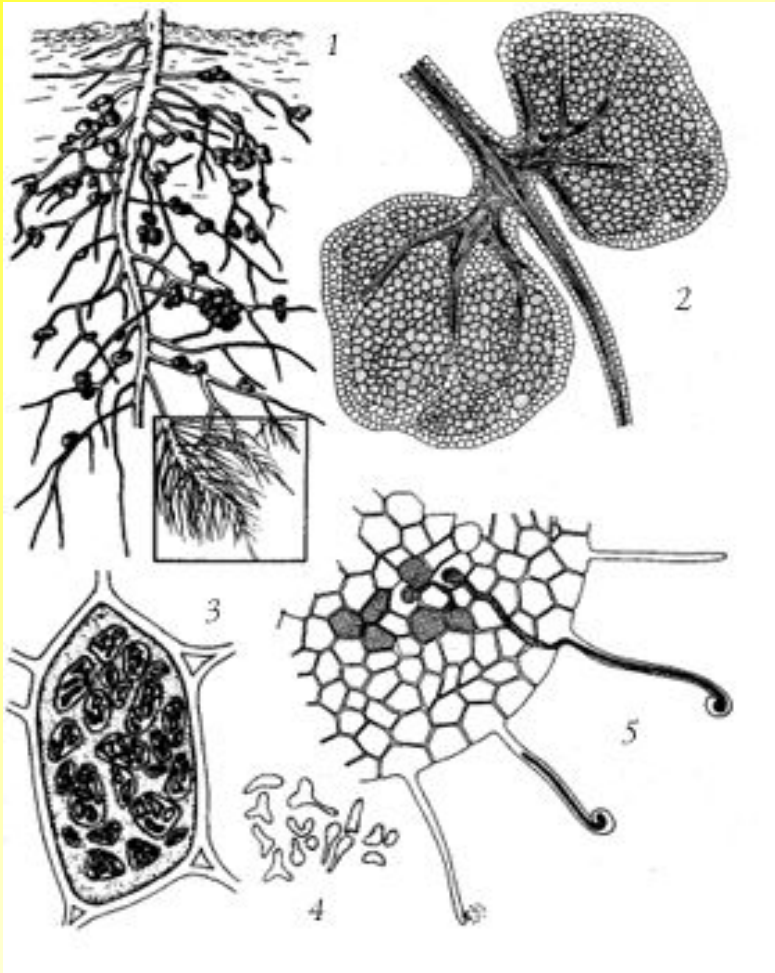
В европейских странах используют для обработки семян и корней (инокуляция).

**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;

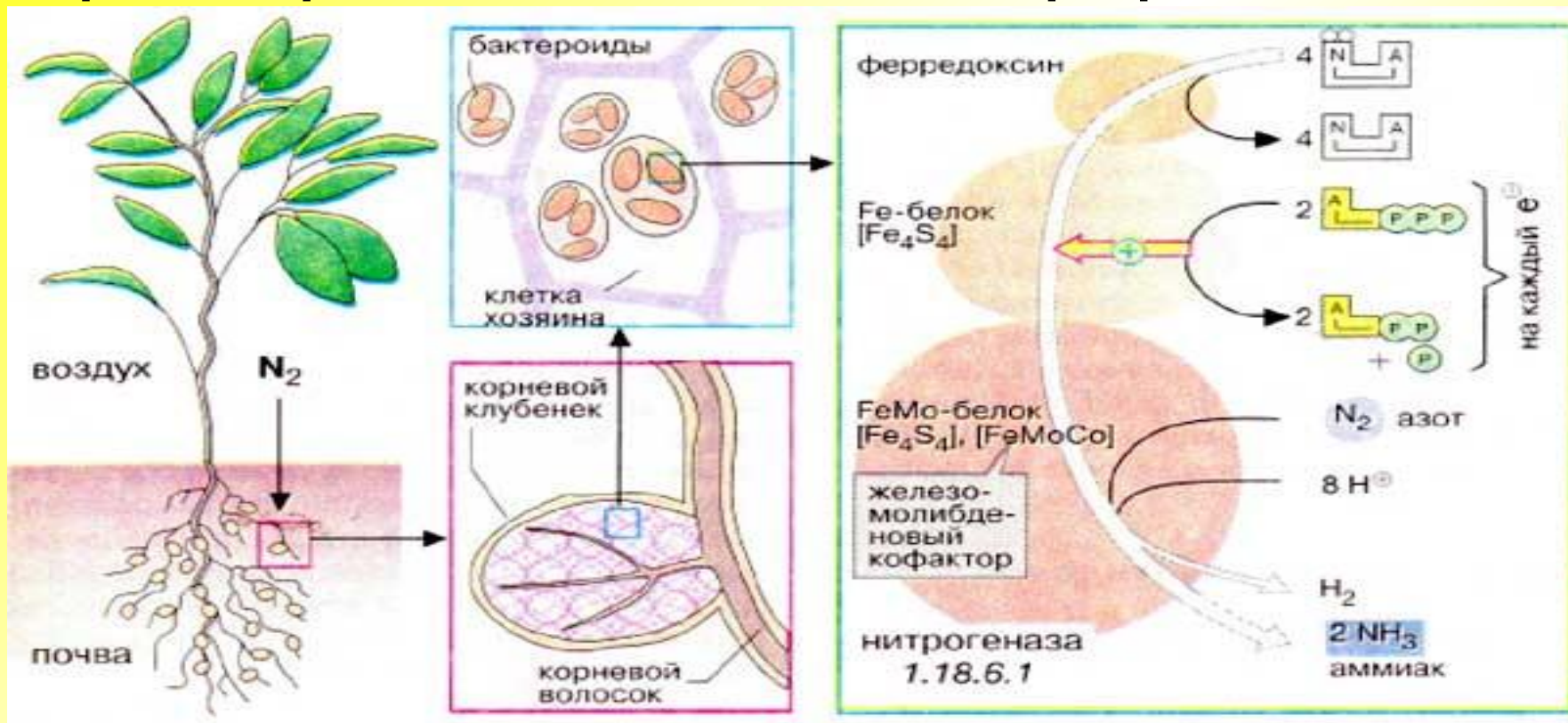


Симбиотическая фиксация азота в корневых клубеньках бобовых:

- 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:

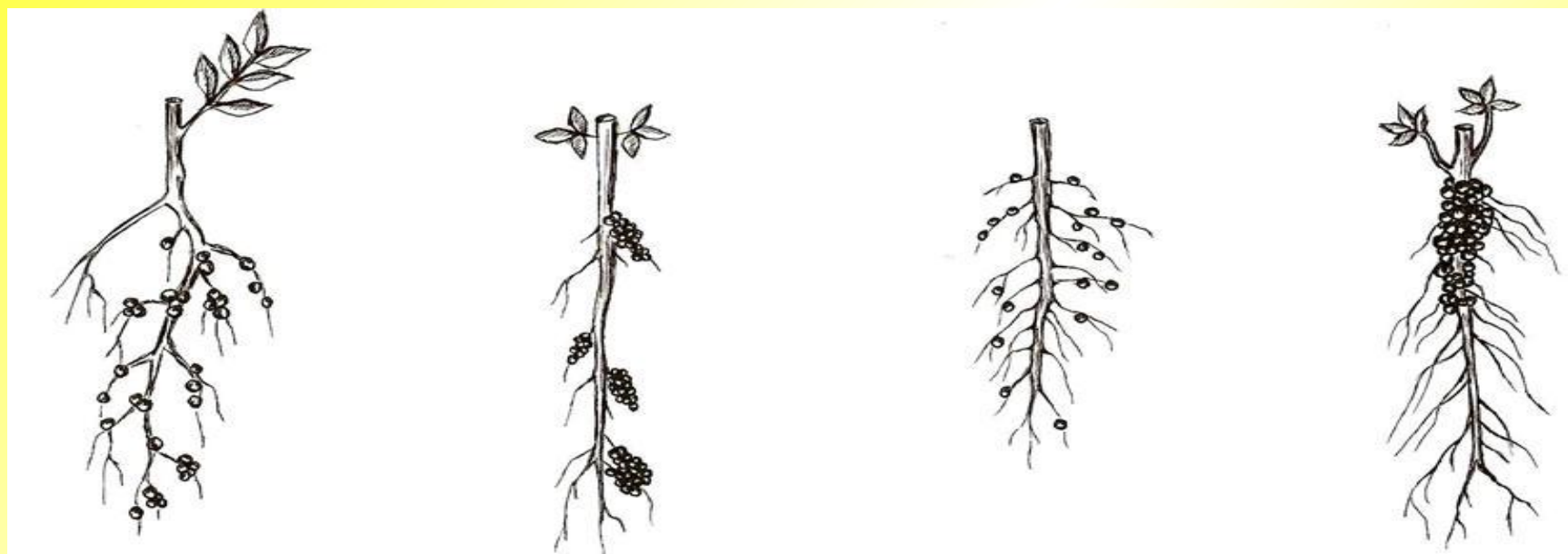
Грам- , молодые клетки палочки, подвижны, азот фиксировать не могут.

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

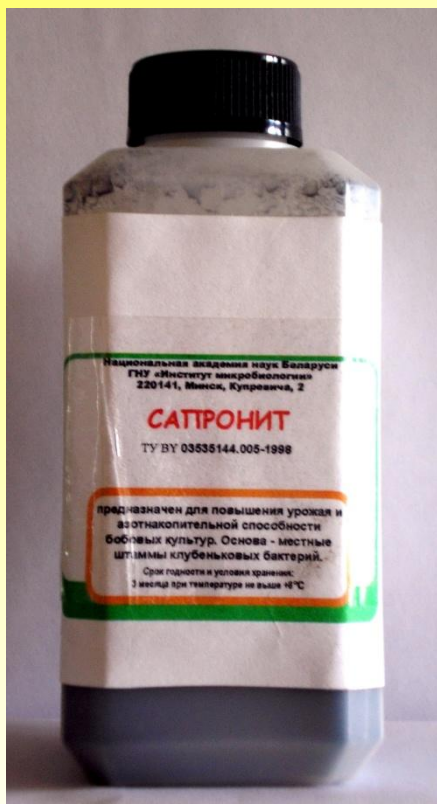


# СояРиз

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**