

Barbara PODLASKA, Stefan RUSSEL\*

## **CHARAKTERYSTYKA BAKTERII NITRYFIKACYJNYCH I ICH ROLA W OBIEGU AZOTU**

Mikroorganizmy nitryfikacyjne wywierają niezwykle istotny wpływ na wzrost i rozwój roślin lądowych poprzez utrzymywanie równowagi pomiędzy różnymi formami azotu w glebie. Udział bakterii utleniających amoniak w obiegu azotu w przyrodzie został po raz pierwszy opisany już pod koniec XIX w. przez Winogradskiego. Korzystny wpływ nitryfikatorów na wzrost i rozwój roślin polega na wytworzeniu w glebie jonów azotanowych, które są znacznie łatwiej pobierane i przyswajane niż jony amonowe. Nitryfikatory są bezwzględnie tlenowymi autotrofami, które jako budulec własnych komórek wykorzystują, podobnie jak rośliny, proste związki nieorganiczne: wodę i dwutlenek węgla, natomiast niezbędną do życia energię uzyskują w wyniku chemicznej reakcji utleniania amoniaku do azotynów i azotanów. Niektóre z nich są zdolne do wzrostu heterotroficznego. Naturalnymi siedliskami mikroorganizmów nitryfikacyjnych są wody płynące, morza i oceany, przewietrzane gleby, wody odpływowe, górne warstwy niektórych osadów, a także skały. Drobnoustroje nitryfikacyjne stanowiące wyjątkowo trudny obiekt do badań, głównie ze względu na ich powolny wzrost i przyrost biomasy.

### **1. CHARAKTERYSTYKA MIKROORGANIZMÓW NITRYFIKACYJNYCH**

#### **1.1. WSTĘP**

Nitryfikacja, czyli utlenianie zredukowanych form amonowych do azotynów i azotanów, jest zasadniczym elementem obiegu azotu (Kenner i Arp, 1993; Prosser, 1986). Azotany będące końcowym produktem nitryfikacji są główną przyswajalną przez organizmy żywe formą azotu w wodach morskich oraz istotnym czynnikiem ograniczającym produkcję pierwotną. W rolnictwie nitryfikacja może prowadzić do strat nawozowych oraz do zanieczyszczenia azotem wód (gruntowych). W oczyszczacza-

---

\* Instytut Technologiczno-Przyrodniczy w Falentach.

niu ścieków nityfikacja jest kluczowym krokiem w usuwaniu azotu, w połączeniu z denityfikacją i wiązaniem azotu (Arp i Stein, 2003; Kenner i Arp, 1993; Mancinelli i McKay, 1988).

Autotroficzne bakterie nityfikacyjne zostały odkryte w końcu XIX w. i przez ok. 100 lat były uważane za jedyne organizmy zdolne do utleniania amoniaku do azotynów i azotanów. Jednak ostatnie wyniki badań zmieniły radykalnie sposób w jaki rozumiano nityfikację. Beztlenowe utlenianie amoniaku do azotu cząsteczkowego, przy użyciu azotynów jest termodynamicznie faworyzowane, organizmy zdolne do beztlenowego utleniania amoniaku zostały opisane po raz pierwszy dopiero w latach 90-tych (Galloway i wsp, 2008; Pace, 1997).

To odkrycie ma wiele dotąd nie wytłumaczonych następstw dla regulacji utleniania amoniaku i znaczenia autotroficznego wiązania węgla w głębokich morzach i oceanach, jak również dla kontroli nityfikacji w środowiskach zarówno glebowych i wodnych (Arp i wsp., 2007). Ponadto stało się jasne że część wspólna litotroficznego utleniania amoniaku i obiegu metanu ma wiele znaczących ekologicznych następstw (Arp i Stein, 2003, Galloway i wsp, 2008).

## 1.2. ROLA NITRYFIKATORÓW W OBIEGU AZOTU

Azot cząsteczkowy jest najbardziej popularną formą azotu w atmosferze i wodach. Inne gazowe formy tego pierwiastka pojawiają się krótkotrwale w ilościach śladowych w środowisku (Arp i Stein, 2003; Pace, 1997). Wiązany azot zarówno w formach jonowych jak i organicznych stanowi bardzo małą część całkowitej puli azotu w środowisku, ale formy te są niezbędnymi substratami w procesach biogeochemicznych oraz związkami niezbędnymi do utrzymania życia na Ziemi. Azot jest pierwiastkiem niezbędnym do życia jako główny składnik m.in. białek i kwasów nukleinowych (Galloway i wsp, 2008; Arp i wsp., 2007) .

W natlenionych środowiskach, takich jak rzeki jeziora i oceany azotany są stabilną i najliczniejszą formą związanego azotu, kumulują się również w środowiskach bez dostępu światła gdzie rośliny i glony nie są zdolne do prowadzenia fotosyntezy. W środowiskach gdzie dostęp do tlenu jest ograniczony, takich jak podmokłe gleby, osady podpowierzchniowe i ścieki dominującą formą azotu jest amoniak (Treusch i wsp, 2005; Mancinelli i McKay, 1988). Nityfikacja w cyklu obiegu azotu łączy najbardziej zredukowane formy z najbardziej utlenionymi. Utlenianie amoniaku zachodzi w dwóch etapach. Podczas I fazy nityfikacji formy amonowe zostają przekształcone do azotynów, natomiast w II fazie azotyny zostają przekształcone do azotanów (Arp i wsp., 2007; Galloway i wsp, 2008).

Nityfikacja nie jest bezpośrednio odpowiedzialna za zmiany w puli związanego azotu, ale jest ściśle związana z dwoma procesami które przyczyniają się do strat związanego azotu; nityfikacja może zredukować straty amoniaku który może wyparować, oraz dostarcza podstawowe substraty niezbędne do nityfikacji, głównej przyczyny

biologicznych strat azotu (Mancinelli i McKay, 1988; Pace, 1997).

### 1.3. RODZAJE NITRYFIKACJI

W ramach badań nad bakteriami nityfikacyjnymi wyizolowano zarówno mikroorganizmy utleniające amoniak (AOB) jak i utleniające azotany (NOB), oraz udowodniono ilościowo że wykazują wzrost autotroficzny. Przez długi czas bakterie nityfikacyjne uważano za jedyne organizmy zdolne do nityfikacji autotroficznej (Schmidt, 2009). Do najbardziej zaskakujących wyników badań należał fakt, że liczebność archeonów utleniających amoniak (AOA) znacznie przewyższała liczebność AOB (Tresch i wsp, 2005; Galloway i inni, 2008).

### 1.4. BAKTERIE UTLENIAJĄCE AMONIAK (AOB)

Amoniak jest niezwykle istotną cząsteczką w biogeochemicznym cyklu przemian azotu (Mancinelli i McKay, 1988). Gaz ten jest produkowany i zużywany w różnych ekosystemach głównie przez mikroorganizmy (Kowalchuk i Stephen, 2001).

Tabela 1. Nomenklatura mikroorganizmów utleniających amoniak

| Nazwa   | Skrót  | Fizjologia  |
|---|--------|---|
| Tlenowe bakterie utleniające amoniak                  | AOB    | Bezwzględne tlenowce. Energię niezbędną do wzrostu uzyskują przez utlenianie form amonowych.                        |
| Tlenowe archeony utleniające amoniak                  | AOA    | Bezwzględne tlenowce zaliczane do archeonów. Energię niezbędną do wzrostu uzyskują przez utlenianie form amonowych. |
| Tlenowe bakterie utleniające azotyny                  | NOB    | Chemolitotrofy wytwarzające energię w procesie utleniania azotynów.   |
| Nielitotroficzne bakterie tlenowe utleniające amoniak | ANB    | Organotrofy zdolne do przekształcania form amonowych w azotynowe.   |
| Nielitotroficzne archeony utleniające amoniak         | ANA    | Należące do <i>Archea</i> Organotrofy zdolne do przekształcania form amonowych w azotynowe.                         |
| Beztlenowe bakterie utleniające amoniak               | ANA OB | Chemolitotroficzne bakterie beztlenowe utleniające amoniak  |
| Beztlenowe archeony utleniające amoniak               | ANANB  | Chemolitotroficzne archeony beztlenowe zdolne do utleniania amoniaku  |

Amoniak jest uwalniany do środowiska w znacznym stopniu przez rozkład materii organicznej lub zastosowanie nawozów sztucznych w rolnictwie i służy jako źródło

azotu dla roślin oraz mikroorganizmów (Posser, 1986; Lunn, 2002). Bakterie nitryfikacyjne I fazy mogą czerpać energię do wzrostu z utleniania amoniaku (Arp i Stein, 2003).

#### 1.5. INHIBITORY NITRYFIKACJI

Proces nitryfikacji może zostać zahamowany na skutek działania różnych substancji naturalnie występujących w środowisku, lub też sztucznie wprowadzonych przez człowieka. Inhibicja utleniania poszczególnych form azotu może mieć charakter konkurencyjny lub niekonkurencyjny (Arp i Stein, 2003; Hooper i Terry, 1973). Do inhibitorów konkurencyjnych (współzawodniczących) zaliczamy m.in. metan, etylen oraz tlenek węgla. Mianem inhibitorów niewspółzawodniczących określamy: etan, chloroetan, tiokarbamid i inne (Hooper i Terry, 1973).

#### LITERATURA

- [1] ARP D.J., STEIN L.Y., *Metabolism of inorganic N compounds by ammonia-oxidizing bacteria*. Crit. Rev. Biochem. Mol. Biol., 2003, 38: 471-495.
- [2] ARP D.J., CHAIN P.S.G., KLOTZ M.G., *The impact of genome analyses on our understanding of ammonia-oxidizing bacteria*. Annu. Rev. Microbiol., 2007, 61: 503-528.
- [3] GALLOWAY J.N., TOWNSEND A.R., CAI Z.C., SUTTON M.A., *Transformation of the nitrogen cycle: recent trends, questions, potential solutions 2008.*, Science 320: 889-892.
- [4] HOOPER A.B., TERRY K.R., *Specific inhibitors of ammonia oxidation in Nitrosomonas*. J. Bacteriol., 1973, 115: 480-485.
- [5] KEENER W.K., ARP D.J. *Kinetic studies of ammonia monooxygenase inhibition in Nitrosomonas europaea by hydrocarbons and halogenated hydrocarbons in optimized whole-cell assay*. Appl. Environ. Microbiol., 1993, 59: 2501-2510.
- [6] KOWALCHUK G.A., STEPHEN J.R., *Ammonia-oxidizing bacteria: a model of molecular microbial ecology*. Annu. Rev. Microbiol., 2001, 55: 485-529.
- [7] LUNN J.E., *Evolution of sucrose synthesis*. 2002. Annu. Rev. Microbiol., 128: 412-422.
- [8] MANCINELLI R.L., MCKAY C.P., *The evolution of nitrogen cycling*. 1988, Rev. Biochem., 28: 311-325.
- [9] PACE N.R., *A molecular review of microbial diversity in biosphere*. 1997, Science 276: 734-740.
- [10] PROSSER J.I., *Nitrification*. 1986, IRL Press, Oxford, United Kingdom.
- [11] SCHMIDT I., *Chemoorganoheterotrophic growth of Nitrosomonas europaea and Nitrosomonas eutropa*. 2009, Curr. Microbiol., 59:130-138.
- [12] TREUSCH A.H., LENINGER S., KLETZIN A., SCHUSTER S.C., KLENK, H.P., SCHLEPER C., *Novel genes of nitrite reductase and Amo-related proteins indicate a role of uncultivated mesophilic crenarchaeota in nitrogen cycling*. 2005, Environ. Microbiol. 7: 1985-1995.

## CHARACTERISTIC OF NITRYFYING BACTERIA AND THEIR INFLUENCE ON BIOLOGICAL BALANCE

Due to quick development of biotechnology, agriculture and industry, the XXI century challenges humans with achieving a dynamic equilibrium of the natural environment. One of the key mechanisms allowing attaining the biogeochemical equilibrium of the ecosystem is the nitrogen cycle. Nitrification is one of the basic stages of this cycle. Nitrifying microorganisms have significant influence on the development and growth of land plants by maintaining the balance between various forms of nitrogen in the soil. The favourable influence of nitrifiers on plant development and growth is linked with the formation of nitrate ions that are much easier assimilated by plants than the ammonium ions. The participation of bacteria oxidizing ammonia in the nitrogen cycle was described for the first time in the end of the XIX century by Winogradsky. Till present, a detailed characteristics of nitrifying bacteria from soils in Poland has not been made yet. The activity of nitrifiers may be influenced by many factors, including temperature, substrate concentration, content of dissolved oxygen, presence of inhibitors etc. pepton, some amino acids (e.g. metionines, histamines, cysteines) or other organic compounds have inhibiting influence of nitrifier growth.