Vorlesung: Allgemeine Mikrobiologie

Ausgewählte Prokaryoten -

Lithotrophe Organismen

www.icbm.de



Stoffwechseltypen von Mikroorganismen

Chemo / Phototroph	Energiekonservierung
Litho / Organotroph	Elektronendonator (Dissimilation)
Auto / Heterotroph	Kohlenstoffquelle (Assimilation)

Chemoorganoheterotroph

Escherichia coli Homo sapiens

Photolithoautotroph

Microcystis sp. (Cyanobakterium) *Chlorella* sp. (Grünalge)

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004



Sergej Nikolaevitch Winogradsky (1857–1953)

Konzept der Lithotrophie Sergej N. Winogradsky (1886)

Schwefeloxidation 1886 Eisenoxidation 1888 Nitrifikation 1890 Idealisiertes Schema:

Abfolge der verschiedenen Elektronenakzeptoren im Sediment



© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Lithotrophe Prozesse sind für die Reoxidation der Elektronenakzeptoren notwendig

- Reoxidation von reduzierter Elektronenakzeptoren (Fe²⁺, Mn²⁺, NH₄⁺, HS⁻)
- Detoxifikation (HS⁻, NH_4^+)
- Verantwortlich für etwa 50% der Sauerstoffaufnahme in Sedimenten



© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Knallgasbakterien und andere Wasserstoffoxidierer

Ralstonia eutropha (früher: Alcaligenes eutrophus) und andere

Aerobe Wasserstoffoxidation (Alcaligenes eutrophus)

2 H₂ + O₂ ____ 2 H₂O



ATP?





© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Nitrifikation

Nitrosomonas europaea und

Nitrobacter winogradskyi

Nitrifikation

Oxidation von Ammonium zu Nitrat

Zweistufige Reaktion mit unterschiedlichen Organismengruppen.

- 1. Stufe: Oxidation des Ammonium zu Nitrit (*Nitroso*-) $2 \text{ NH}_4^+ + 3 \text{ O}_2 \longrightarrow 2 \text{ NO}_2^- + 2 \text{ H}_2\text{O} + 4\text{H}^+$ $\Delta G_o^\circ = -275 \text{ kJ/Reaktion}$ Nitrosofikation, *Nitrosomonas europaea*
- 2. Stufe: Oxidation des Nitrit zu Nitrat (*Nitro*-)
 2 NO₂⁻ + O₂ → 2 NO₃⁻
 Nitrifikation, *Nitrobacter winogradskyi*

 ΔG_{o}° = -76 kJ/Reaktion

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004



Aus Schramm et al. (1998) Appl. Environ. Microbiol. 64:3480 ff

Populationen Ammonium- und Nitritoxidierender Bakterien in Belebtschlammflocken. Zellen wurden mit 16S rRNA-Sonden angefärbt.

Blau: Ammonium-Oxidierer Rot: Nitrit-Oxidierer *Nitrosomonas europaea* Problem: Oxidation des Ammoniums

Schlüsselenzym 1: Ammonium-Monooxygenase (Amo)

 $NH_3 + O_2 + 2H^+ + 2 e^- \longrightarrow NH_2OH + H_2O$

Schlüsselenzym 2: Hydroxylamin-Oxidoreductase (Hao)

 $NH_2OH + H_2O \longrightarrow NO_2^- + 5 H^+ + 4e^-$

ATP?



Nitrobacter winogradskyi

Schlüsselenzym: Nitrit-Oxygenase (NO)

 $NO_2^- + H_2O$ \longrightarrow $NO_3^- + 2H^+ + 2e^-$









Nitrosolobus multiformis Maßstab: 0,5 μm

Nitrococcus mobilis

Intrazelluläre Membransysteme bei nitrifizierenden Mikroorganismen.





 $2 \text{ HS}^{-} + \text{O}_2 + 4 \text{ H}^+ \longrightarrow 2 \text{ S}^\circ + 2 \text{ H}_2\text{O}$ $\text{HS}^{-} + 2 \text{ O}_2 \longrightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+$ $2 \text{ S}^\circ + 3 \text{ O}_2 + 2 \text{ H}_2\text{O} \longrightarrow 2 \text{ SO}_4^{2-} + 4 \text{ H}^+$



Filamente von Beggiatoa sp. Mit intrazellulären Schwefelkörnern. (Brock, 9th Ed.)

ATP?





Weitere schwefeloxidierende Mikroorganismen:

Archaea

Acidianus sp. *Sulfolobus* sp.







Riftia pachyptila

Bis zu 2 m langer Röhrenwurm an *hydrothermal vents* der Tiefsee.

Der Wirt versorgt die im Trophosomengewebe sitzenden symbiontischen Bakterien mit allen notwendigen Nährstoffen, die er über die Kiemen aufnimmt. Das Trophosom macht etwa 50 % der Masse des Wurms aus.

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Schwefel- und Eisenoxidierer

Acidithiobacillus thiooxidans

und

Acidithiobacillus ferrooxidans

früher

Thiobacillus thiooxidans und Thiobacillus ferrooxidans

Eisenoxidation

4 Fe²⁺ + O₂ + 6 H₂O → 4 FeOOH + 8 H⁺

ATP?



Acidophile Eisenoxidierer

Acidithiobacillus ferrooxidans Leptospirillum ferroxidans Metallosphaera sedula

Neutrophile Eisenoxidierer



Links: *Gallionella ferruginea*, Oben: schematische Darstellung, unten: "Eisenstiele"

> Rechts: Leptothrix sp., gewachsen auf Mn^{2+} , zu erkennen die braunen MnO_2 -Ausfällungen.

Gallionella ferruginea Leptothrix discophora



© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Anaerobe lithotrophe Organismen ?



→ Nitratabhängige Oxidation von Fe(II) und Sulfid

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Assimilation ?

Die meisten lithotrophen Mikroorganismen sind autotroph.



CO₂-Fixierung meist über Calvin-Zyklus

Für den Aufbau eines Moleküls Fructose-6-Phosphat werden benötigt:

6 CO₂ 18 ATP 12 NADPH

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Problem: Woher kommen die NADH für den Biomasseaufbau?

O ₂ /H ₂ O NO ₃ ⁻ /N ₂ NO ₃ ⁻ /NH ₄ MnO ₂ /Mn ²⁺ FeOOH SO ₄ ²⁻ /HS ⁻ S°/HS ⁻	E _o ' [mV] +820 +751 +363 +390 +150 - 218 - 240	Aerobe Atmung Denitrifikation Nitratammonifikation Manganreduktion Eisenreduktion Sulfatreduktion Schwefelreduktion
NADH/NAD ⁺	- 320	

NADH/NAD ⁺	- 320
FADH/FAD +	- 220
H ⁺ /H ₂	- 420

 Elektronen müssen gegen das thermodynamische Gefälle auf NADH übertragen werden.

Reverser Elektronentransport

Bsp. Fe-Oxidierer $\Delta G_{o}' = -z \cdot F \cdot \Delta E_{o}'$ $= -2 \cdot 96500 \text{ As} \cdot 0,47 \text{ V}$ = -90,7 kJ/mol NADH



Carboxysomen



Anoxygene Phototrophe Bakterien

- 1. Nicht-Schwefel-Purpurbakterien
- 2. Schwefel-Purpurbakterien
- 3. Grüne Schwefelbakterien
- 4. Grüne nicht-Schwefelbakterien
- 5. Heliobakterien

Rhodospirillum rubrum Chromatium okenii Chlorobium limicola

- Chloroflexus aurantiacus
- Heliobacillus chlorum



	Pigmente	e⁻-Donatoren , CO₂-Fixierung
1. Nicht-Schwefel-Purpurb.	Bacteriochlorophyll a, b	einfache org. Substrate
	Carotinoide	Calvin-Cyclus
2. Schwefel-Purpurbakterien	Bacteriochlorophyll a, b	H ₂ , HS ⁻ , S ₀ , S ₂ O ₃ ²⁻
	Carotinoide	einfache org. Substrate
		Calvin-Cyclus
3. Grüne Schwefelbakterien	Bacteriochlorophyll c, d, e	H ₂ , HS ⁻ , S ₀ , S ₂ O ₃ ²⁻
	Chlorobactin, Carotinoide (Chlorophyll a)	Reduktiver TricarbonsreCyclus
4. Grüne nicht-Schwefelb.	Bacteriochlorophyll a, c, d	H ₂ , einfache org. Substrate
	β-, γ-Carotin	Hydroxypropionat-Weg
5. Heliobakterien	Bacteriochlorophyll g	H ₂ , einfache org. Substrate
	Hydroxychlorophyll a	

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Aerob chemoorganoheterotrophes Wachstum bei Purpur-Schwefelbakterien Nicht-Schwefel-Purpurbakterien

Grüne Schwefelbakterien und Heliobacillen sind strikt anaerob



Vergleich des Elektronenflusses bei unterschiedlichen anoxygen phototrophen Bakterien



Brock, 9th Ed.



Chromatium okenii, ein Schwefel-Purpurbakterium mit intrazellulären Schwefeltropfen



Chlorobium limicola, ein Grünes Schwefelbakterium mit extrazellulären Schwefeltropfen



Rhodomicrobium vanielii, ein knospendes Nicht-Schwefel-Purpurbakterium



Chloroherpeton sp., ein Grünes Nicht-Schwefel-Purpurbakterium mit Gasvakuolen



Thiocapsa pfennigii mit intrazellulären Membransystemen.





Mikrobenmatte an der Sippewisset Salt Marsh (Ostküste, USA).

Gelb- Braun	Diatomeen, Cyanobakterien	Navicula, Lyngbya, u.a.	Chl <i>a</i> 680 nm	Oxygene Photosynthese $2 H_0 O + 4 [H]$
Bläulich- Grün	Cyanobakterien	Microcoleus, Oscillatoria, Phormidium		
Rosa-rot	Schwefel-	Thiocapsa roseopersicina, Thiocystis	Bchl <i>a</i> 850 nm	Anoxygene Photosynthese
Orange- Braun	Fulpulbaktenen	Thiocapsa pfennigii	Bchl <i>b</i> 1020 nm	$H_2S \xrightarrow{4} S + 2 [H]$
Oliv	Grüne Schwefel- Bakterien	Prosthecochloris	Bcl <i>c</i> 740 nm	
Grau- schwarz	FeS-haltiges Sediment	Sulfatreduzierer		

Bacteriochlorophyll in aerob anoxygen phototrophen Bakterien:

Bsp. Erythromicrobium sp., Roseobacter sp.

Ökologische Rolle noch weitgehend ungeklärt.



Andere phototrophe Mikroorganismen

Halobacillus salinarum

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Halobakterien gehören zu den Archaeen. Sie enthalten in den Membran eines dem Sehpurpur analoges Pigment, das Bacteriorhodopsin (Purpurmembran).



Eine dem Bakteriorhodopsin homologe Protonenpumpe wurde in Klonbibliotheken aus dem Oberflächenwasser des Pazifischen Ozeans nachgewiesen (Proteorhodopsin).

Die ökologische Bedeutung dieser Enzyme ist noch unklar.

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Vorlesung: Allgemeine Mikrobiologie

Ausgewählte Prokaryoten -

Lithotrophe Organismen

www.icbm.de



Produktion in Sedimenten

-Chemosynthese, z.B. hydrothermal vents





Abb. 4.1. Geophysikalische und -chemische Prozesse innerhalb der ozeanischen Erdkruste und in der Umgebung der heißen Tiefseequellen. Während des Eindringens in die Erdkruste wird das Seewasser auf 400 bis 800 °C erhizt und stark reduziert, wobei Metallsulfide ausgefällt werden. Nach Lösung verschiedener Mineralien steigt die Hydrothermalflüssigkeit wieder auf und erreicht den Meeresboden entweder unvermischt mit 350 bis 360 °C oder vermischt mit sauerstoffhaltigem kalten (2 bis 3°C) Seewasser (nach [7]).



© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Energiegewinnung (Dissimilation) $H_2S + O_2 \longrightarrow S^\circ + H_2O$

-204 kJ / Reaktion (2 ATP)

Biomassesynthese (Assimilation) $6 \text{ CO}_2 + 12 \text{ H}_2\text{S} [+ 18 \text{ ATP}] \longrightarrow <C_6\text{H}_{12}\text{O}_6> + 12 \text{ S}^\circ + 6 \text{ H}_2\text{O}$ + 12 ATP (reverser Elektronentransport)



Filamente von Beggiatoa sp. Mit intrazellulären Schwefelkörnern. (Brock, 9th Ed.)



© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Chemosynthetische Bakterien als Symbionten





Riftia pachyptila

Bis zu 2 m langer Röhrenwurm. Der Wirt versorgt die im Trophosomengewebe sitzenden symbiontischen Bakterien mit allen notwendigen Nährstoffen, die er über die Kiemen aufnimmt. Das Trophosom macht etwa 50 % der Masse des Wurms aus.

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

-Schwefeloxidierende Bakterien als Aufwuchs der abgegrast wird



Alvinella pompeijana ein Röhrenwurm, der an Hydrothermalquellen. Der Wurm besitzt einen Aufwuchs von fädigen SOB, der vom Wurm abgeweidet wird. -Schwefeloxidierende Bakterien als Endosymbionten



Calytogena magnifica, mit endosymbiontischen schwefeloxidierenden Bakterien in den Kiemen

Nematoden (Stilbonematidae):



A: Anordnung epibiontischer Bakterien auf der Cuticula eines Laxus sp. (Stilbonematidae). Gut zu erkennen die sehr regelmäßige Anordnung der Bakterien und der "Kragen" an dem der Bakterienaufwuchs endet.
B: TEM Schnitt durch Wurmcuticula und Bakterienrasen. (Polz et al. 1994 Appl Environ Microbiol 60:4461ff.)



Olavius algarvensis (Tubificidae, Oligochaeta): Vorkommen in sandigen Sedimenten von Seegrasbeständen. Der Organismus hat zwei Typen von Endosymbionten: einen Sulfatreduzierer und einen Schwefeloxidierer.





Dubilier et al. 2001 Nature 411:298ff

Oben links: TEM Aufnahme eines Querschitts durch *O. algarvensis*. Dicht unterhalb der Cuticula die endosymbionten; SOB mit Zelleinschlüssen, SRB ohne Zelleinschlüsse. Oben rechts: Fluorescenz *in situ* Hybridisierung der Endosymbionten, SOB sind grün, SRB rot angefärbt. Unten: Schema des postulierten Schwefelkreislauf in *O. algarvensis*. Das System benötigt allerdings externe Elektronendonatoren.

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Methanoxidierende Bakterien als Endosymbionten Bsp.

- Pogonophoren (z.B. Siboglinum poseidon).
- Muscheln (z.B. Thyasira sarsii).



Sickertrichter aus anaerob methanoxidierenden Bakterien und Calciumcarbonat (schwarzes Meer).

Biokorrosion, Microbially influenced corrosion (MIC)

Biokorrosion ist ein Elektrochemischer Prozess, der durch mikrobielle Aktivität gefördert wird.

Die Kathodenreaktion (von Wolzogen Kuhr & van der Vlugt 1934) $Fe^{\circ} + 2 H^{+} \longrightarrow Fe^{2+} + H_{2}$

Eine wichtige Rolle in der Biokorrosion spielen sulfatreduzierende Bakterien. Sulfatreduzierende Bakterien sind effektive Wasserstoff-Oxidierer. Als Endprodukt des Stoffwechsels entsteht Schwefelwasserstoff, der mit Fe²⁺ als schwerlösliches Eisensulfid FeS (Lp $4 \cdot 10^{-19}$ mol²·l⁻²) ausfällt.



[©] H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Erzlaugung, Bacterial Leaching

Bakterielle Erzlaugung wird eingesetzt, wenn der Gehalt an dem zu gewinnenden Metall im Erz nicht sehr hoch ist und sich konventionelle Erzanreicherung nicht rentiert (z.B. Kupfererze meist unter 1 % Cu) oder es sich hauptsächlich um sulfidische Erze handelt (z.B. mit Covellit CuS, Pyrit FeS₂).

Metallsulfide sind in der Regel sehr schwer löslich:

CuS	4 · 10 ⁻²⁸ mol ² ·l ⁻²
Ag ₂ S	1 · 10 ⁻⁵¹ mol ³ ·l ⁻³
CdS	1 · 10 ⁻²⁹ mol ² ·l ⁻²
FeS	4 · 10 ⁻¹⁹ mol ² ·l ⁻²
PbS	1 · 10 ⁻²⁹ mol ² ·l ⁻²
SnS	1 · 10 ⁻²⁸ mol ² ·l ⁻²
ZnS	1 · 10 ⁻²⁴ mol ² ·l ⁻²

Löslichkeitsprodukte einiger Metallsulfide

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Schwefelwasserstoff reagiert spontan mit Luftsauerstoff. Metallsulfide reagieren zwar auch mit O_2 , die Reaktion läuft aber ungemein langsam ab.

 Beschleunigung der Auflösung der Metallsulfide z.B. durch Bakterien wie Thiobacillus ferrooxidans



Freisetzung von Cu²⁺ aus einem Erz mit Thiobacillus ferrooxidans (blau) und in steriler Kontrolle (rot).

Mineralien die leichter spontan oxidieren werden auch von sind auch von Mikroorganismen zuerst aufoxidiert (FeS>CuS>PbS).

Thiobacillus ferrooxidans kann Metalle (Cu⁺, Fe²⁺) als such Sulfid oxidieren.

Kupferlaugung: 1. $Cu_2S + O_2$ 2. $CuS + O_2$ $CuS + Cu^{2+}_{(aq)} + H_2O$ $Cu^{2+} + SO_4^{2-}$

Eisenlaugung (seltener): 1. FeS + O₂ \longrightarrow Fe³⁺ + SO₄²⁻ 2. FeS₂ + O₂ \longrightarrow Fe³⁺ + 2 SO₄²⁻

Eisen(III) ist nur bei sauren pH-Werten in Lösung. Bei neutralen pH-Werten fällt es als FeO(OH) aus.

Die gelösten Metalle werden nach dem Leaching-Vorgang ausgefällt und verhüttet.

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Andere mikrobielle Metalllaugungen:

Uran: $UO_2 + Fe_2(SO_4)_3 \longrightarrow UO_2SO_4 + 2 FeSO_4$ U^{4+} (unlöslich) U^{6+} (löslich)

Gold:

Liegt sehr häufig in Mischerzen mit Eisen und Arsen vor.

2 FeAsS[Au] + 7 O₂ + 2H₂O + H₂SO₄ \longrightarrow Fe₂(SO₄)₃ + 2 H₃AsO₄ + [Au]

Schwermetalle die als Elektronendonatoren für die Energiegewinnung durch Lithotrophe genutzt werden können

Arsen	Antimon
Chrom	Eisen
Kupfer	Mangan
Molybdän	Quecksilber
Selen	Silber
Technetium	Tellur
Uran	Wismut
Vanadium	Zinn

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Tagebaurestseen

Häufiges Problem: starke Versauerung (bis pH 1,5, *Acid mine drainage*) wenig Pufferkapazität (kalkarmes Grundgestein) mikrobielle Oxidation von Eisensulfiden (v.a. Pyrit FeS₂) (*Thiobacillus* sp.)

Eisen- und Sulfidoxidation: 4 Fe²⁺ + O₂ + 10 H₂O \longrightarrow 4 Fe(OH)₃ + 8 H⁺ HS⁻ + 2 O₂ \longrightarrow SO₄²⁻ + H⁺

Pyritoxidation: $FeS_2 + 14 Fe^{3+} + 8 H_2O \longrightarrow 15 Fe^{2+} + 2 SO_4^{2-} + 16 H^+$



Versauertes Braunkohletagebau-Restloch in der Lausitz. Die rostrote Färbung wird durch gelöstes Eisen(III) verursacht.

© H.Sass, VL Allg. Mikrobiologie SS 2004

Lithotrophre Mikroorganismen als Mineral/Gesteinsbildner





Links: Gallionella ferruginea, Oben: schematische Darstellung, unten: "Eisenstiele"

> Rechts: Leptothrix sp., gewachsen auf Mn^{2+} , zu erkennen die braunen MnO_2 -Ausfällungen.



Buntsandstein, Manganknollen

Ausfällung von Calciumcarbonat durch Mikroorganismen

Cyanobacteria (Stromatolithen), Coccolithophoriden (Emiliania sp.)



Ausfällung von Calciumcarbonat durch Mikroorganismen

Cyanobacteria (Stromatolithen), Coccolithophoriden (Emiliania sp.)



Phacotus lenticularis, eine Grünalge mit einer CaCO₃ Hülle (Photograph: I. Schlegel)



Achromatium oxaliferum, ein Schwefeloxidierer mit intrazellulären $CaCO_3$ Kristallen