

Abb. 12.9 Abwasserbehandlung mit Nitrifikation. Das Abwasser durchläuft die Nitrifikation ($\text{NH}_4 \rightarrow \text{NO}_3^-$) meist nach der Denitrifikationsstufe ($\text{NO}_3^- \rightarrow \text{N}_2$), muss aber im Kreislauf wieder zurückgeführt werden, damit der Stickstoff eliminiert wird. Der Prozess wird dadurch erschwert, dass für die Denitrifikation abbaubares organisches Substrat vorhanden sein muss (z. B. Methanol, das zugegeben wird), während dies für die Nitrifikation unerwünscht ist. Eine effiziente Stickstoffeliminierung erfordert deshalb eine aufwendige Regeltechnik. In vielen Kläranlagen wird deshalb das Abwasser zur Eliminierung des Ammoniumstickstoffs als einfachere, aber weniger effektive Variante abwechselnd über belüftete und unbelüftete Strecken geleitet, die die Nitrifikation bzw. Denitrifikation stimulieren.



Abb. 12.10 Zerstörung von steinernen Skulpturen und Bauwerken. Tuffstein-Pestkreuz aus dem 17. Jahrhundert mit typischen Verwitterungsmerkmalen durch die Aktivität nitrifizierender Bakterien und Flechten. (Aufnahme Bernhard Heider, Bobingen)

12.5 Reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren

Oxidierbare Schwefelverbindungen kommen hauptsächlich in zwei Formen vor: als Metallsulfide im Boden und im Gestein (S.484) und als Schwefelwasserstoff in Gewässern und Sedimenten; dort entsteht es als Produkt der anaeroben Atmung von Sulfatreduzierern. Für Biologen sind besonders die einfach beobachtbaren Schwefelquellen interessant. Durch die chemische Reaktion von Sauerstoff mit Schwefelwasserstoff entstehen neben Schwefel (S^0) auch Thiosulfat ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) und andere Schwefelverbindungen, die meist im Gemisch vorliegen. Elementarschwefel S^0 ist wasserunlöslich, stark hydrophob und metastabil. Er liegt meist in der Ringform S_8 vor. Die anderen nichtmetallischen Schwefelverbindungen sind wasserlöslich.

Viele Arten der Bacteria und Archaea nutzen diese Vielzahl reduzierter Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren (► Tab. 12.2, Plus 12.4); alle wachsen auch mit Thiosulfat. Dazu zählen u. a. viele **photolithotrophe** Bakterien, die zu den physiologischen Gruppen der Schwefelpurpurbakterien (Chromatiaceae) (S.572) und der Grünen Schwefelbakterien (Chlorobiaceae) (S.572) gehören.

Tab. 12.2 Summengleichungen der Umsetzung verschiedener reduzierter Schwefelverbindungen.

Schwefelverbindung	Summenformel	freie Energie (ΔG^0)
Schwefelwasserstoff	$\text{HS}^- + 2 \text{O}_2 \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + \text{H}^+$	-797 kJ mol ⁻¹
	$\text{HS}^- + 4 \text{NO}_3^- \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 4 \text{NO}_2^- + \text{H}^+$	-500 kJ mol ⁻¹
	$\text{HS}^- + \text{H}^+ + 0,5 \text{O}_2 \rightarrow \text{S}^0 + \text{H}_2\text{O}$	-209 kJ mol ⁻¹
	$\text{HS}^- + \text{NO}_3^- + \text{H}^+ \rightarrow \text{S}^0 + \text{NO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	-135 kJ mol ⁻¹
Schwefel	$\text{S}^0 + 1,5 \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{SO}_4^{2-} + 2 \text{H}^+$	-587 kJ mol ⁻¹
Thiosulfat	$\text{S}_2\text{O}_3^{2-} + 2 \text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow 2 \text{SO}_4^{2-} + 2 \text{H}^+$	-818 kJ mol ⁻¹
Tetrathionat	$\text{S}_4\text{O}_6^{2-} + 3,5 \text{O}_2 + 3 \text{H}_2\text{O} \rightarrow 4 \text{SO}_4^{2-} + 6 \text{H}^+$	-1484 kJ mol ⁻¹

Plus 12.4



Substratvielfalt der Sulfurikanten

Verschiedene Arten von Sulfurikanten nutzen oft ganz unterschiedliche reduzierte Schwefelverbindungen als Elektronendonatoren. Diese entstehen spontan aus Schwefelverbindungen unterschiedlicher Oxidationsstufen. Neben Schwefelwasserstoff (H_2S) und elementarem Schwefel (S^0) sind hier besonders Thiosulfat ($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$) und Tetrathionat ($\text{S}_4\text{O}_6^{2-}$) sowie andere Polythionate ($-\text{O}_3\text{S}-(\text{S})_n-\text{SO}_3^-$) wichtig. Polythionate werden dabei durch chemische oder enzymatische Reaktionen zu Sulfat, Sulfit, Thiosulfat und elementarem Schwefel disproportioniert. Manche Arten oxidieren auch das Sulfid aus mineralischen Erzen wie Eisensulfid (FeS), Pyrit (FeS_2) oder sogar Bleiglanz (PbS) zu Schwefelsäure. Da alle diese Verbindungen ein ähnlich niedriges Redoxpotenzial wie Schwefelwasserstoff haben, ist ihre Oxidation entweder mit Sauerstoff oder Nitrat als Elektronenakzeptor möglich (► Abb. 12.5). ► Tab. 12.2 zeigt einige der bekannten Umsetzungen durch Sulfurikanten.

In diesem Kapitel werden die **chemolithotrophen** Schwefel- und Sulfid oxidierenden Bakterien (**Sulfurikanten**) näher beschrieben. Diese werden auch als **farblose Schwefelbakterien** bezeichnet und umfassen phylogenetisch unterschiedliche Gruppen, die in ► Tab. 12.3 zusammengefasst sind. Bei den photolithotrophen Bakterien dient die Schwefeloxidation lediglich zur Versorgung des Stoffwechsels mit Reduktionsäquivalenten; die chemolithotrophen Schwefeloxidierer dagegen betreiben damit zusätzlich auch ihren Energiestoffwechsel. Dennoch verlaufen die Schlüsselreaktionen der Schwefeloxidation dieser Organismen oft über ähnliche biochemische Reaktionen.

Die meisten Arten der farblosen Schwefelbakterien gehören zu den **Proteobakterien**. In der alpha-Gruppe fin-

den sich dabei einige **fakultativ chemolithoautotrophe** Arten, z. B. in den Gattungen **Paracoccus** oder **Starkeya**. Die Gattung **Thiobacillus** repräsentiert neutrophile Sulfurikanten der Betaproteobakterien, die entweder obligat oder fakultativ chemolithotroph wachsen. Neben aeroben Sulfurikanten findet man mit **Thiobacillus denitrificans** auch eine Art, bei der die Sulfid- oder Thiosulfatoxidation über die Denitrifikation mit einer anaeroben Atmung gekoppelt ist (Name!). Die extrem acidophilen Arten der Gattung **Acidithiobacillus** (früher **Thiobacillus**), besonders **A. thiooxidans** und **A. ferrooxidans**, bilden inzwischen eine eigene Klasse der Proteobakterien, **Acidithiobacillia**. Sie produzieren als Endprodukt große Mengen **Schwefelsäure** und sind an **pH-Werte von 1–3** angepasst. Die Säure löst Fe(II) aus den metallischen Sulfiden wie z. B. Pyrit. Wie der Name andeutet, können diese Bakterien neben Sulfid auch Fe(II) zu Fe(III) oxidieren. Sie sind in Minimalmedien mit zugesetztem Schwefel einfach anzureichern und spielen in der Gewinnung von Metallen durch biologische Laugung (S.836) eine große Rolle. Die Bakterien verursachen schwere Korrosionsschäden, wo Schwefelwasserstoff mit Luft in Kontakt kommt, z. B. in Abwasserkanälen.

Unter den neutrophilen Sulfurikanten sind einige Gattungen besonders auffallend, da sie **große Einzelzellen** bilden. Dazu gehören z. B. die Gammaproteobakterien **Beggiatoa**, **Thioploca** oder **Thiomargarita** (Plus 12.5). Bei diesen Gattungen wird Schwefel, der bei der Oxidation von Schwefelwasserstoff als Zwischenprodukt anfällt, in Form von **Kügelchen** im Periplasma abgelagert. Zugleich enthalten die Zellen große **Vakuolen**, in denen sie Nitrat als anaeroben Elektronenakzeptor speichern. All diese Arten mit einer großen Vakuole sind **obligat chemolithotroph** und oxidieren Schwefelwasserstoff durch anaerobe Atmung, wobei sie Nitrat nicht zu Stickstoff, sondern zu Ammoniak reduzieren (**Nitratammonifikation**). Sie sind neben den obligat aeroben Schwefeloxidierern wichtig für das biogeochemische Gleichgewicht des Schwefelkreislaufs.

Tab. 12.3 Schwefel oxidierende Prokaryonten. Als optimale Temperaturen der bisher im Labor nicht kultivierbaren Gattungen wurden die üblichen Standorttemperaturen angenommen.

phylogenetische Gruppe	Art	Elektronendonatoren	pH-Optimum	Temperatur-Optimum
Archaea	<i>Sulfolobus metallicus</i>	FeS ₂ , S ⁰	2–3	65 °C
	<i>Acidianus ambivalens</i>	HS ⁻ , S ⁰	2–3	80 °C
	<i>Metallosphaera sedula</i>	FeS ₂ , S ⁰	2–3	75 °C
Alphaproteobakterien	<i>Paracoccus denitrificans</i>	S ₂ O ₃ ²⁻	8	30 °C
Betaproteobakterien	<i>Thiobacillus denitrificans</i> *	HS ⁻ , S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ₄ O ₆ ²⁻	7	30 °C
Gammaproteobakterien	<i>Beggiatoa</i> sp.	HS ⁻ , S ⁰	7	< 20 °C
	<i>Thioploca</i> sp.	HS ⁻ , S ⁰	7	< 20 °C
	<i>Thiomargarita namibiensis</i>	HS ⁻ , S ⁰	7	< 20 °C
Epsilonproteobakterien	<i>Sulfurimonas denitrificans</i>	HS ⁻ , S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻	7	30 °C
Acidithiobacillia	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i>	HS ⁻ , S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ₄ O ₆ ²⁻	1–3	30 °C
	<i>Acidithiobacillus thiooxidans</i> *	HS ⁻ , S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻ , S ₄ O ₆ ²⁻	1–3	30 °C
Aquificales	<i>Aquifex pyrophilus</i>	S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻	7	85 °C
	<i>Hydrogenobacter acidophilus</i>	S ⁰ , S ₂ O ₃ ²⁻	3–4	65 °C
Firmicutes	<i>Bacillus schlegelii</i>	S ₂ O ₃ ²⁻	7	65 °C

* obligat chemolithotrophe Arten

Auch die meisten **symbiontischen Sulfurikanten**, die z. B. mit marinen Tieren wie Muscheln oder Röhrenwürmern vergesellschaftet sind und diesen das Wachstum auf Kosten der Oxidation von Schwefelwasserstoff mit Sauerstoff ermöglichen, zählen zu den Gammaproteobakterien. Diese aeroben, autotrophen bakteriellen Sulfurikanten nutzen den Calvin-Benson-Zyklus zur CO₂-Assimilation.

Weitere bakterielle Gruppen von chemolithotrophen Schwefeloxidierern finden sich bei den Epsilonproteobakterien sowie bei den extrem thermophilen Aquificales, von denen einige Arten elementaren **Schwefel** oder **Thiosulfat** als Elektronendonator nutzen und CO₂ über den reduktiven Citratzyklus fixieren. Schließlich findet man auch bei den **grampositiven Bakterien** einige fakultative Chemolithotrophe mit **Thiosulfat** als Elektronendonator, z. B. *Bacillus schlegelii*; und auch von einigen photolithotrophen Schwefel oxidierenden Chromatiaceae ist bekannt, dass sie im Dunkeln auf einen chemolithotrophen aeroben Schwefel-Stoffwechsel umschalten können.

Es gibt auffallend viele **Archaea**, die chemolithotroph mit reduzierten Schwefelverbindungen leben. Sie fixieren CO₂ über den 3-Hydroxypropionat/4-Hydroxybutyrat-Zyklus. Sie gehören z. B. zu den Gattungen *Sulfolobus*, *Acidianus* und *Metallosphaera*. Es handelt sich um Vertreter der extrem thermoacidophilen Ordnung der **Sulfolobales** (Crenarchaeota), die bei pH-Werten von 1–3 und Temperaturen bis zu 80 °C optimal wachsen. Wie bei *Acidithiobacillus* führt hier die Schwefeloxidation zur Produktion von großen Mengen **Schwefelsäure**. Die Bakterien sind an den von ihnen selbst geschaffenen, durch Hydrogensulfat gepufferten (HSO₄⁻ → SO₄²⁻ + H⁺, pK_a = 2) sauren pH-Wert optimal angepasst. Einige Arten wie *S. metallicus* oder *M. sedula* wachsen sogar direkt auf **sulfidischen Erzen** wie Pyrit. *A. ambivalens* (Name!) wechselt zwischen **Schwefeloxidation mit O₂** unter oxidischen und **Schwefelatmung mit H₂** oder organischen Verbindungen unter anoxischen Bedingungen.



Plus 12.5

Biologie großer Schwefelbakterien und Kabelbakterien

Große Schwefelbakterien wie manche *Beggiatoa*-Arten (benannt nach dem italienischen Botaniker Francesco Secondo Beggiato, Gammaproteobacteria) siedeln sich als Matten an der Oberfläche von marinen und Süßwassersedimenten an, in denen sulfatreduzierende Bakterien H_2S produzieren (Plus 12.1) (S.466). Die Matten oxidieren den aufsteigenden Schwefelwasserstoff mit Nitrat und wachsen dadurch. Ihre weiße Farbe weist auf eingelagerte Schwefelkügelchen in den Zellen hin (► Abb. 12.11a). Nahe verwandt sind weitere marine Gattungen wie die Riesenzellen bildenden Gattungen *Thioploca* (► Abb. 12.11b) oder *Thiomargarita* (► Abb. 12.11c). *Thioploca*-Arten bilden dabei fädige Zellen, die in relativ festen marinen Sedimenten in selbst geschaffenen Röhren nach oben und unten wandern und je nach Bedarf in den unteren Sedimentschichten Schwefelwasserstoff bzw. an der Oberfläche Nitrat aufnehmen und speichern (► Abb. 12.11d). *Thiomargarita namibiensis* bildet kugelförmige Zellen mit bis zu 500 μm Durchmes-

ser und gehört damit zu den bisher größten bekannten Bakterien. Seine Größe ist vor allem auf das Volumen einer zentralen Nitrat speichernden Vakuole zurückzuführen; darin wird Nitrat 1000- bis 10 000fach angereichert. Zusätzlich werden im Periplasma auch Schwefelkügelchen als Elektronendonatorvorrat eingelagert (► Abb. 12.11c). Dadurch kann das Bakterium lange in lockerem, anaerobem Sediment überleben und seltene Gelegenheiten zur Nitrataufnahme nutzen, wenn Stürme das Sediment aufwirbeln. Eine andere Strategie wählen die **Kabelbakterien**, die mit der Gattung *Desulfobulbus* (Deltaproteobacteria) verwandt sind (► Abb. 18.20). Sie bilden bis zu 3 cm lange Zellketten, an deren unterem Ende Schwefelwasserstoff zu Sulfat oxidiert wird. Die dabei freigesetzten Elektronen ($8 e^-$ /gebildetem Sulfat) wandern in der Zellkette auf bisher unverstandene Weise zum oberen Ende, wo sie rasant in einer Endoxidase mit Luftsauerstoff zu Wasser reagieren. Alle Zellen der Kette müssen von diesen oberen Zellen, welche die aerobe Atmung betreiben (Elektronentransport-Phosphorylierung), mit Energie versorgt werden.

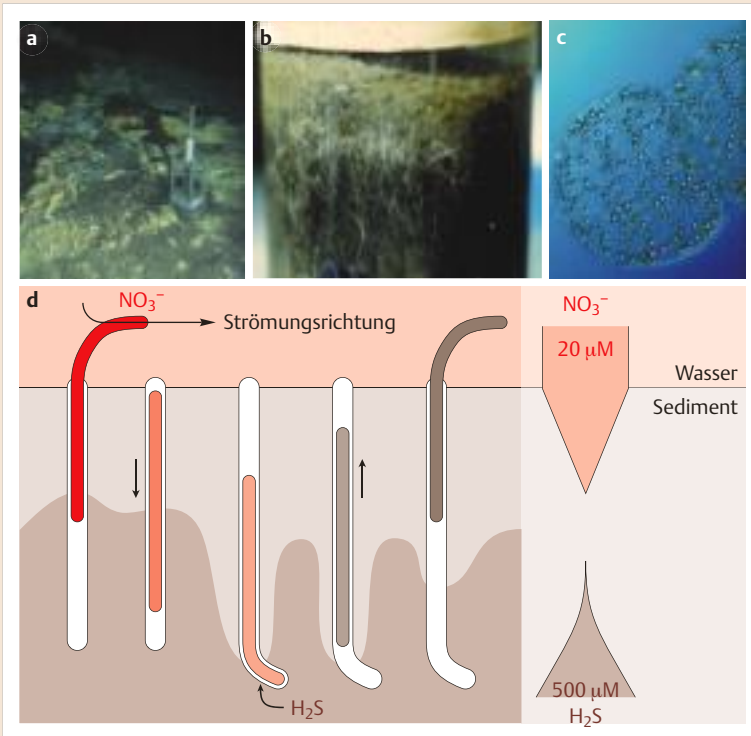


Abb. 12.11 Marine denitrifizierende Sulfurikanten.

- a *Beggiatoa*-Matten in der Tiefsee. (Aufnahme H.W. Jannasch, WHOI)
- b *Thioploca*-Fäden in einem ausgestochenen Sedimentkern. (Aufnahme Markus Hüttel)
- c Zelle von *Thiomargarita namibiensis*. Die Einschlüsse sind Schwefelkügelchen, die als gespeichertes Reduktionsmittel dienen. (Aufnahme Heide Schulz-Vogt, Rostock)
- d Lebensweise von *Thioploca*-Arten.

12.5.1 Biochemie der Sulfid- und Schwefeloxidation

Es gibt keinen universellen Mechanismus für die Oxidation von reduzierten Schwefelverbindungen in allen Sulfurikanten. Vielmehr können verschiedene Module für die Oxidation von Schwefelverbindungen allein oder in verschiedenen Kombinationen auftreten, die dann ggf. auch eine vollständige Oxidation des reduzierten Schwefelsubstrats zu Sulfat erlauben. Die hohe **Reaktivität** vieler Schwefelverbindungen und die Instabilität vieler Enzyme des Schwefelstoffwechsels erschweren die Untersuchung dieser Systeme. Dies gilt besonders für die mikrobielle Verwertung von **Schwefelwasserstoff bzw. Sulfiden**, die oft bereits durch chemische Oxidationsprozesse und Disproportionierungsreaktionen zu elementarem Schwefel (S⁰), Polysulfiden (HS-S_n-S⁻) oder anderen höher oxidierte Schwefelverbindungen umgesetzt werden.

Die verschiedenen Arten Sulfid oxidierender Sulfurikanten enthalten im Periplasma Enzyme, die Sulfid oxidieren und die freigesetzten Elektronen entweder auf Chinone (mithilfe einer **Sulfid:Chinon-Oxidoreduktase**) oder auf Cytochrom c übertragen (mithilfe von **Flavocytochrom c**, einer Sulfid:Cytochrom-c-Oxidoreduktase). Diese Enzyme dienen eher der Entgiftung. Im Cytoplasma

wird Schwefel nie als freies Sulfid behandelt, sondern immer in proteingebundener Form. Es ist zurzeit nicht klar, ob die Sulfidoxidation hauptsächlich durch eines dieser enzymatischen Systeme oder durch nichtenzymatische Umsetzung erfolgt. Allerdings scheinen alle Sulfid oxidierenden chemolithotrophen Bakterien zunächst als **Zwischenprodukt elementaren Schwefel bzw. Polysulfide** (z. B. Pentasulfid, HS-S-S-S-S-) zu bilden. Dies steht im Gegensatz zur Sulfatreduktion (S.534), bei der das erste Intermediat, Sulfit, in *einem* Reduktionsschritt, bei dem 6 Elektronen übertragen werden, direkt zu Sulfid reduziert wird, ohne dass dabei elementarer Schwefel als Zwischenprodukt auftritt.

Schwefelstoffwechsel in neutrophilen Bakterien

Alphaproteobakterien verfügen häufig über ein Schwefel-Oxidations-Enzymsystem (Sox), das die vollständige Oxidation von Thiosulfat zu Sulfat im Periplasma ermöglicht; das System erlaubt auch die Oxidation von Sulfid und S⁰. Dagegen enthalten Beta- und Gammaproteobakterien und Chlorobiaceae ein unvollständiges sox-Gencluster, dem Gene für eine Sulfan-Dehydrogenase fehlen. Hier er-

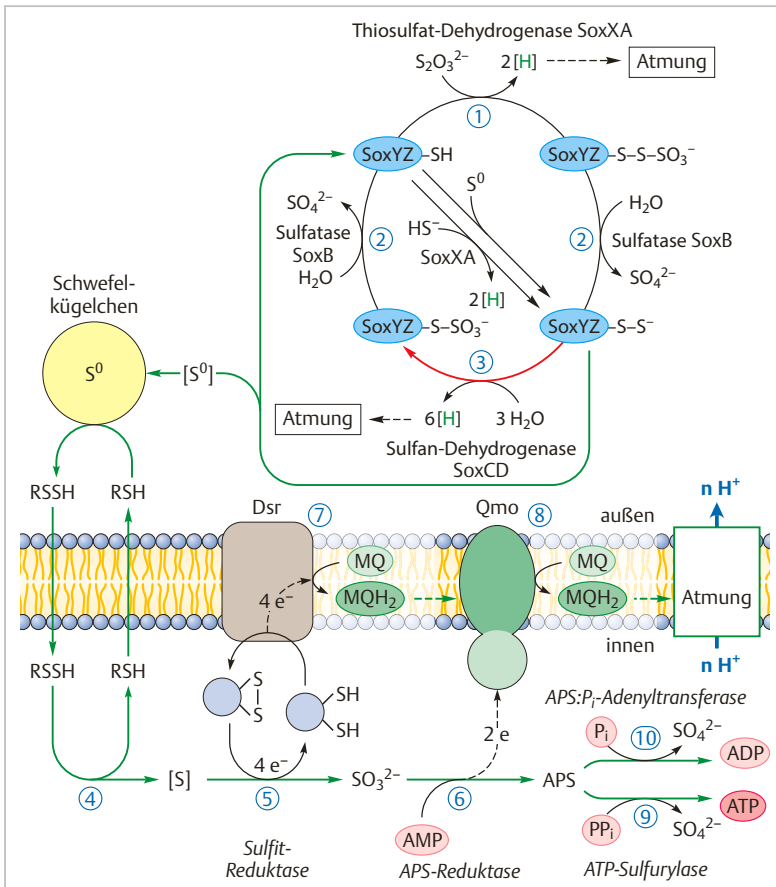
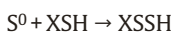
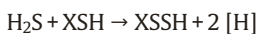


Abb. 12.12 Mechanismen der Schwefeloxidation bei *Paracoccus* und *Allochromatium*. Bei *Paracoccus* findet die Schwefeloxidation vollständig über ein lösliches periplasmatisches Schwefeloxidationssystem (Sox) statt. Neben Thiosulfat können in den Oxidationszyklus auch andere Schwefelverbindungen eingespeist werden, z. B. Sulfid oder elementarer Schwefel. *Allochromatium* nutzt ebenfalls das Sox-System für die Thiosulfatoxidation, hat aber keine Sulfan-Dehydrogenase (roter Pfeil), sondern überträgt stattdessen den Sulfan-Schwefel auf die periplasmatischen Schwefelkügelchen. Aus diesen wird der Schwefel dann wieder gelöst, ins Cytoplasma aufgenommen und dort durch eine rückwärtslaufende Sulfit-Reduktase und APS-Reduktase (s. Sulfatreduktion) (S. 539) oxidiert. Die freigesetzten Elektronen werden bei beiden Varianten zur Energiekonservierung in die Atmungskette eingespeist. Rote Pfeile zeigen spezifische Reaktionen für *Paracoccus*, grüne für *Allochromatium*. RSH, niedermolekularer Thiolüberträger; Dsr und Qmo, Membranproteine analog zu denen der Sulfatreduzierer (Abb. 14.12).

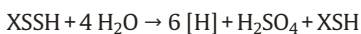
folgt dann die weitere Oxidation des Sulfanschwefels (R-S-SH) im Cytoplasma. Der Schwefelstoffwechsel von neutrophilen Schwefeloxidierern ist vor allem bei *Paracoccus* und *Allochroematium* sp. gut bekannt und ist in ► Abb. 12.12 dargestellt (rote Pfeile für *Paracoccus*-spezifische Reaktionen, grüne für *Allochroematium*-spezifische). Das lösliche periplasmatische Schwefeloxidationssystem (SoxYZ-System) katalysiert die Reaktionen an proteingebundenen Intermediaten. Wir besprechen zuerst die Oxidation von Thiosulfat. Zunächst wird in einer oxidativen Reaktion Thiosulfat ($S_2O_3^{2-}$) kovalent an die Thiolgruppe eines bereits ein- oder mehrfach sulfurierten C-terminalen Cysteins des Trägerproteins SoxYZ gebunden. Die Reaktion wird durch die hämhaltige Thiosulfat-Dehydrogenase SoxXA katalysiert (①). Die terminale Sulfonatgruppe ($-SO_3^-$) wird durch die manganhaltige Sulfatase SoxB hydrolysiert und Sulfat wird freigesetzt, wobei an SoxYZ ein persulfidischer Schwefel ($-S-S-$) zurückbleibt (②). Der endständige Sulfanschwefel dieses Intermediats wird dann durch das Molybdoenzym Sulfan-Dehydrogenase (SoxCD) durch Abzug von 6 Elektronen zu einer Sulfonatgruppe oxidiert (③), die wiederum durch SoxB hydrolytisch als Sulfat abgespalten wird (④). Danach liegt SoxYZ wieder in der Ausgangsform vor. Neben Thiosulfat können in diesen Oxidationszyklus auch andere Schwefelverbindungen eingespeist werden, z.B. Sulfid oder elementarer Schwefel (► Abb. 12.12). Bezeichnet man den S-Träger des Sox-Systems mit XSH, so ergibt sich folgende Bilanz für Thiosulfat:



Für H_2S und S^0 ist die Bilanz:



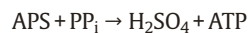
Für die allen Reaktionen gemeinsame Umsetzung von XSSH gilt:



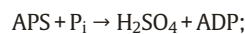
Die freigesetzten Reduktionsäquivalente [H] werden über Cytochrom c in die aerobe (oder anaerobe) Atmungskette eingeschleust und erlauben so Energiekonservierung.

Bei *Allochroematium*, einem photolithotrophen Schwefelpurpurbakterium (S.570), gibt es einige Abweichungen bei der Oxidation des Schwefels (► Abb. 12.12). Es nutzt zwar das SoxYZ-System für die initiale Oxidation von Thiosulfat bis zur Stufe des proteingebundenen Persulfids und erhält dabei zwei Reduktionsäquivalente für die Atmungskette und ein Sulfat. Allerdings fehlt die Sulfan-Dehydrogenase (③) für die nachfolgende Oxidation des Sulfanschwefels. Stattdessen wird der Sulfanschwefel vom SoxYZ-Protein auf periplasmatische Schwefelkugelchen übertragen, um das Trägerprotein zu regenerieren. In einer zweiten Phase werden dann einzelne Atome der Schwefelkugelchen über niedermolekulare Thiolüberträger (RSH) herausgelöst und ins Cytoplasma transportiert.

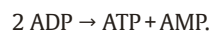
Dort wird der Schwefel über mehrere Schwefeltransfereschritte auf das Schwefelbindeprotein DsrC übertragen (4). Dieses bietet dann den Schwefel zielgenau dem Enzym Sulfit-Reduktase an; das Enzym katalysiert hier die umgekehrte Reaktion der Sulfitreduktion, die Oxidation zu Sulfid. Es katalysiert unter Abgabe von vier weiteren Elektronen die Oxidation des gebundenen Schwefels zu Sulfid und die Freisetzung von DsrC (5). Die Elektronen können zumindest teilweise direkt zur Reduktion von NAD^+ genutzt werden, möglicherweise fließt ein Teil über einen Membrankomplex (Dsr) auf Chinone oder Cytochrom c. Sulfid wird entweder über Sulfit:Chinon-Oxidoreduktase (Sulfit-Dehydrogenase) direkt oder indirekt über Adenosinphosphosulfat (APS) unter Abgabe von weiteren 2 Elektronen zu Sulfat oxidiert. (6). Die Elektronen aus der Sulfitoxidation werden über Membranproteine oder -komplexe (SoeC oder Qmo, 7 und 8) übertragen, die sie dann an die Elektronenträger der Atmungskette (Chinone) abgeben. Diese zwei Enzymsysteme sind analog zu denen der Sulfatreduktion (S.535), die katalysierten Reaktionen verlaufen jedoch in die entgegengesetzte Richtung, da Chinon oder Cytochrom c mit positivem Redoxpotenzial die Elektronenakzeptoren sind. Die Energiekonservierung geschieht dann sowohl durch weitere Veratmung der Chinole und des reduzierten Cytochrom c als auch durch Substrat-Phosphorylierung. APS wird nämlich durch die ATP-Sulfurylase (9) zu ATP umgesetzt.



Alternativ wird APS durch die APS-Phosphat-Adenyltransferase (10) zu ADP umgesetzt:

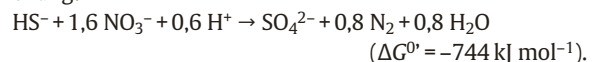


Die Adenylat-Kinase bildet aus 2 ADP ein halbes ATP-Äquivalent:



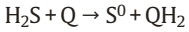
Vermutlich nutzen großzellige *Beggiatoa*-ähnliche chemolithotrophe Schwefelbakterien einen ähnlichen Prozess, da alle diese Arten große periplasmatische Schwefelkugelchen als Intermediate bilden.

Da die beschriebenen Sox-abhängigen Stoffwechselwege keine sauerstoffabhängigen Oxygenaseschritte enthalten, können sie auch problemlos von denitrifizierenden Schwefeloxidierern verwendet werden, wie z.B. *Thiobacillus denitrificans*, aber auch *Thioploca* oder *Thiomargarita*. Die Gesamtbilanz verläuft dabei nach folgender Gleichung:



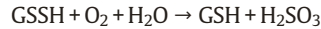
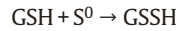
Schwefelstoffwechsel in acidophilen Bakterien

Diese Bakterien sind an den sauren pH-Wert angepasst, der eine Folge der Schwefeloxidation zu Schwefelsäure ist. Typische Vertreter sind *Acidithiobacillus* sp. Aufgrund des stark sauren Mediums ist zu erwarten, dass bei diesen Arten die meisten enzymatischen Reaktionen nicht im Periplasma ablaufen können und deshalb ins Cytoplasma verlagert sind. H₂S wird über eine membrangebundene **Sulfit:Chinon-Oxidoreduktase** zu intrazellulärem S⁰ oxidiert. Die Elektronen werden über ein FAD auf den Chinonpool (Q) der Membran übertragen.



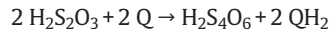
Die weitere Oxidation des Schwefels zu Sulfit erfolgt nach Transport über die Membran im Cytoplasma. Diese Oxidation wird katalysiert durch einen Enzymkomplex, der der Heterodisulfid-Reduktase aus methanogenen Archaea ähnelt (**sHdr-System**) (S.545). Ein Liponsäure bindendes Protein dient möglicherweise als Elektronenakzeptor. Von ihm aus könnten ein Teil der Elektronen aus der Schwefeloxidation direkt auf NAD⁺ fließen. Möglicherweise fließt auch ein Teil über einen Membrankomplex (Dsr) auf Chinone oder Cytochrom c. Das sHdr-System kommt auch in einer Reihe neutrophiler Schwefeloxidierer vor, als einziger oder zusätzlich zum Sulfit-Reduktase-basierten Weg.

Schwefel kann auch über eine cytoplasmatische, Eisen enthaltende Dioxygenase zu Sulfit oxidiert werden. Diese lösliche **Schwefel-Dioxygenase** (genauer Persulfid-Dioxygenase) benötigt katalytische Mengen von Glutathion (GSH), an dessen SH-Gruppe Schwefel spontan als Sulfanschwefel anlagert. Das entstandene Persulfid wird zu schwefliger Säure (Sulfit) oxidiert. In diesem System werden keine Reduktionsäquivalente frei.

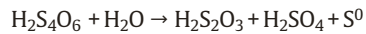


Die folgenden Schritte sind ebenfalls cytoplasmatisch. Die Sulfit-Oxidation zu Sulfat könnte in einer etwas abgewandelten Form der Umkehr der Sulfatreduktion zu Sulfit entsprechen, wie wir sie bei den neutrophilen Bakterien besprochen haben (S.371). Diese Schritte sind mit Substrat-Phosphorylierung verbunden. Eher verbreitet bei Acidophilen wie *Acidithiobacillus* ist die direkte Oxidation von Sulfit zu Sulfat über eine membranständige **Sulfit-Dehydrogenase** SoeABC. Dieses Molybdoenzym überträgt die Elektronen auf Chinon. Die Oxidation der Chinole in der Atmungskette liefert ATP durch Elektronentransport-Phosphorylierung.

Thiosulfat wird analog zur Thiosulfat-Oxidation bei *Paracoccus* (► Abb. 12.12) im Periplasma oxidiert. Thiosulfat (H₂O₃S=S) wird außerdem durch eine membrangebundene periplasmatische **Thiosulfat-Chinon-Oxidoreduktase** zu Tetrathionat (HO₃S-S-S-SO₃H) oxidiert.



Eine periplasmatische **Tetrathionat-Hydrolase** hydrolysiert Tetrathionat zu Sulfat und S⁰ und bildet dabei ein Thiosulfat zurück.



S⁰ und Thiosulfat werden in einer neuen Runde oxidiert.

Schwefelstoffwechsel in Archaea (*Acidianus ambivalens*)

Der Schwefelstoffwechsel des extrem thermophilen Archaeons *Acidianus ambivalens* ist in ► Abb. 12.13 dargestellt. Das Schlüsselenzym der Schwefeloxidation bei *A. ambivalens* ist die cytoplasmatische **Schwefel-Oxy-**

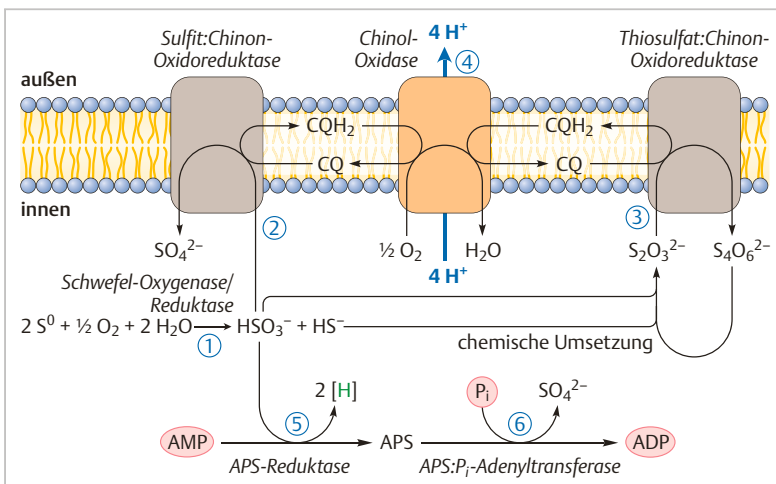


Abb. 12.13 Mechanismus der Schwefeloxidation bei *Acidianus*. Bei *Acidianus* findet die Schwefeloxidation durch eine cytoplasmatische Schwefel-Oxygenase/Reduktase und zwei membrangebundene Oxidoreduktasen statt. In der Membran dient ein archaebakterielles Chinon (*Caldariella*-Chinon, CQ) als Elektronenakzeptor und Protonen werden über die Membran gepumpt. Außerdem ist eine Substratstufen-Phosphorylierung möglich, die ADP aus AMP (über APS) regeneriert.

genase/Reduktase, die eine Disproportionierung von Schwefel zu Sulfid, Sulfit und Thiosulfat bei gleichzeitiger Umsetzung mit Sauerstoff katalysiert. Das Eisen-Enzym kommt auch in mesophilen Archaea sowie in einigen Bacteria vor. Es katalysiert die folgenden Reaktionen:

- (1) Oxygenierung: $S + O_2 + H_2O \rightarrow HSO_3^- + H^+$
- (2) Disproportionierung: $3S + 3H_2O \rightarrow HSO_3^- + 2HS^- + 3H^+$
- (3) Summe: $4S + O_2 + 4H_2O \rightarrow 2HSO_3^- + 2HS^- + 4H^+$
- (4) Nicht-enzymatisch: $S + HSO_3^- \rightarrow S_2O_3^{2-} + H^+$
- (5) Gesamt: $5S^0 + O_2 + 4H_2O \rightarrow 2HS^- + HSO_3^- + S_2O_3^{2-} + 5H^+$
($\Delta G^0 = -477 \text{ kJ mol}^{-1}$) (①).

Das gebildete Sulfit (SO_3^{2-}) wird dann entweder direkt durch eine **Sulfit:Chinon-Oxidoreduktase** zu Sulfat (SO_4^{2-}) oxidiert (②), das Thiosulfat ($S_2O_3^{2-}$) wird über eine **Thiosulfat:Chinon-Oxidoreduktase** weiter zu Tetrathionat ($S_4O_6^{2-}$) oxidiert (③). Beide Oxidoreduktasen sind membranständig und nutzen ein archaeobakterielles Chinon als Elektronenakzeptor. Die Energiekonservierung erfolgt dabei erst bei der Reoxidation des reduzierten Chinols mit Sauerstoff durch eine **Chinol-Oxidase** (④). Diese pumpt Protonen durch die Membran nach außen, die anschließend von der ATP-Synthase zur ATP-Synthese genutzt werden. Alternativ dazu ist bei der Oxidation von Sulfit auch die ATP-Bildung durch **Substratstufen-Phosphorylierung** möglich. *A. ambivalens* besitzt wie die meisten anderen Schwefeloxidierer eine bidirektionelle **Adenosinphosphosulfat-(APS-)Reduktase** (⑤) und eine **APS:Phosphat-Adenyltransferase** (⑥); mit deren Hilfe kann bei der Oxidation von Sulfit zu Sulfat das AMP via APS zu ADP phosphoryliert werden. Aus 2 ADP wird mithilfe der Adenylat-Kinase 1 ATP und 1 AMP gebildet (► Abb. 9.11).

12.5.2 Schwefelwasserstoff oxidierende Symbionten

Neben freilebenden Schwefel oder Schwefelwasserstoff oxidierenden Chemolithotrophen sind auch Arten bekannt, die als **Symbionten** mariner Tiere leben. Besonders beeindruckende Beispiele für solche Symbiosen kennt man von den mittelozeanischen Spreizungszonen oder Grabenbrüchen am Meeresboden. Dort treten heiße Quellen mit vielen gelösten Mineralien und hohen Konzentrationen von H_2S aus, die über geothermische Prozesse im Erdmantel angetrieben werden. Bei Kontakt mit dem kalten Wasser der Tiefsee fallen die Mineralien aus und bilden oft kaminartige Strukturen, sogenannte **Schwarze Raucher** (► Abb. 12.14a). Es gibt auch weiße Raucher, die keine schwarz ausfällbare Mineralien mit sich führen. Kalte Quellen der Tiefsee werden häufig von oxidierbaren anorganischen Gasen durchströmt (H_2S , H_2 , CO , CH_4); auch hier bilden chemolithoautotrophe Bakterien die Grundlage für die Entwicklung reicher Lebensformen, die von diesen Bakterien leben (► Abb. 12.14b).

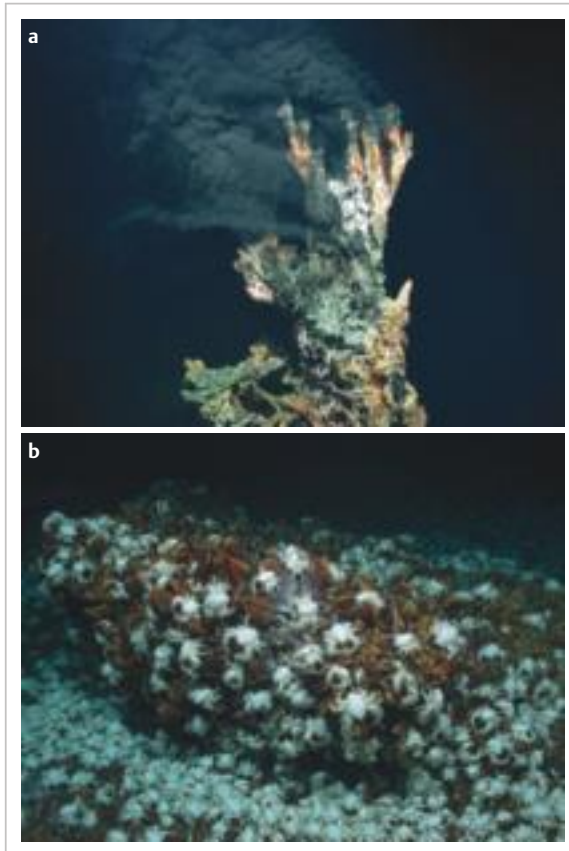


Abb. 12.14 Leben auf der Basis von chemolithoautotrophen aeroben Bakterien am Boden der dunklen Tiefsee. (MARUM – Zentrum für Marine Umweltwissenschaften, Universität Bremen, (CC-BY 4.0).)

- a Der Schwarze Raucher „Kandelabra“ in 3300 Meter Wassertiefe in einem Hydrothermalfeld am Mittelatlantischen Rücken. Man beachte die Garnelen am Schlot.
- b Weiße Krabben und Miesmuscheln an einer kalten Quelle im Arabischen Meer in 1470 Meter Wassertiefe.

In der Nähe solcher heißen oder auch kalten Quellen findet man reiche Lebensgemeinschaften von Tieren, die alle von **Schwefelwasserstoff oxidierenden chemolithoautotrophen Bakterien** als Primärproduzenten abhängen. Sie haben sich an diese Lebensräume durch Symbiose mit H_2S -oxidierenden Bakterien angepasst. So findet man bei Riesenröhrenwürmern aus der Gruppe der Pogonophoren spezielle Arten von Gammaproteobakterien (► Abb. 12.15). Die Tiere sind hochgradig an die symbiontische Lebensweise angepasst. Sie haben ihren kompletten Verdauungstrakt zurückgebildet und verfügen stattdessen über ein spezielles Organ (**Trophosom**), in dem die endosymbiontischen H_2S -oxidierenden Bakterien wachsen. Deren Versorgung mit den Substraten H_2S , Sau-

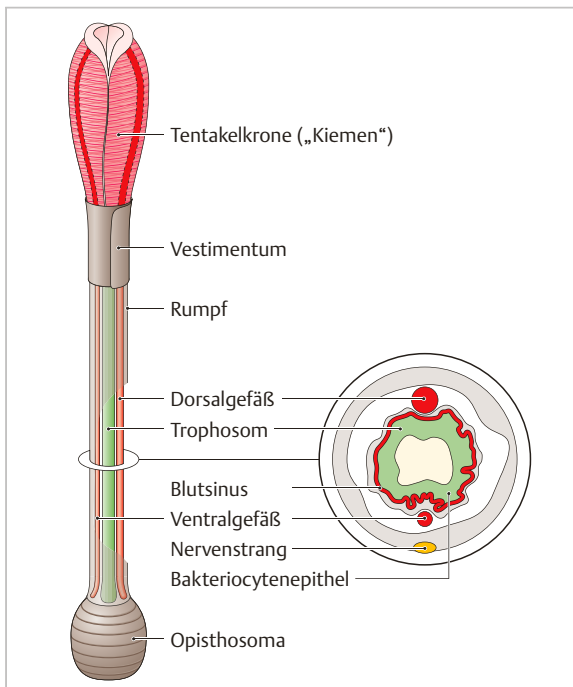


Abb. 12.15 Schema des Längs- und Querschnitts eines Pogonophoren (*Riftia pachyptila*). Diese darmlosen Tiere leben in Röhren, die den gesamten Körper bis auf die Tentakelkrone bedecken und von der gürtelähnlichen Struktur des Vestimentums synthetisiert werden. Bis zu 50 % der Körpermasse nimmt ein besonderes Organ im Rumpf der Tiere ein, das Trophosom. In besonderen Zellen (Bakteriocyten) des inneren Epithels des Trophosoms befinden sich symbiotische Schwefelwasserstoff oxidierende Bakterien, die durch das Blutgefäßsystem des Wurms mit H_2S , O_2 und CO_2 versorgt werden. Der Gasaustausch erfolgt durch die Tentakel am Vorderende der Würmer, die stark durchblutet werden und die Funktion von Kiemen übernehmen. Mit dem Hinterende (Opisthosoma) verankern sich die Tiere am Grund der Röhren im Sediment.

erstoff und CO_2 läuft über das Blut des Wirtes, das ein spezielles Hämoglobin mit separaten Bindestellen für H_2S und O_2 enthält. Symbiosen mit H_2S -oxidierenden autotrophen Bakterien kennt man auch von marinen Muscheln, Schwämmen und den Wattwürmern *Arenicola* und *Olavius* u.v. a. Analog zu den Symbiosen mit H_2S -oxidierenden Bakterien gibt es viele ähnliche Symbiosen mit Methan oxidierenden autotrophen Bakterien.

12.6 Reduzierte Metallionen als Elektronendonatoren

Reduzierte Metallverbindungen, besonders Eisenminerale, gibt es in Böden und Gestein, die Pyrit (FeS_2 , „Katzengold“, ► Abb. 12.16) und andere sulfidische Mineralien enthalten. Unter Ansäuerung des Mediums erlauben die Mineralien die gleichzeitige Oxidation des reduzierten Metalls *und* des Sulfids. Freie oder komplexierte Fe^{2+} -Ionen kommen auch in Gewässern vor (► 12.6). Die grafische Darstellung von unterschiedlichen Zuständen des Eisens (► Abb. 12.18) zeigt die Komplexität der möglichen Verbindungen, deren Stabilität im mikrobiellen Habitat von Redoxpotenzial und pH-Wert, aber auch wesentlich von den lokalen Konzentrationen von Anionen und Komplexbildnern abhängt, welche die Löslichkeit der Eisenionen beeinflussen (z. B. schwerlösliche Salze $FeCO_3$, FeS).

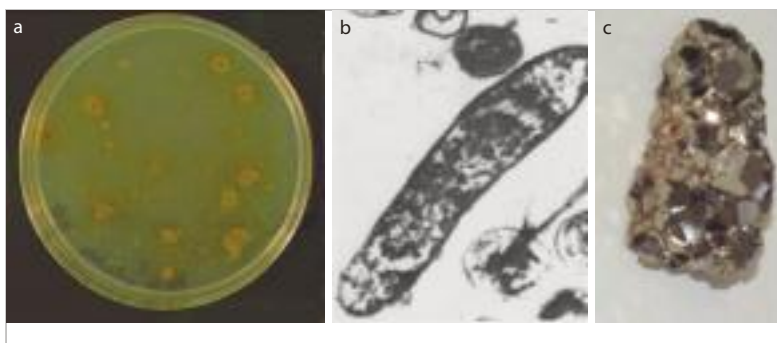


Abb. 12.16 *Acidithiobacillus ferrooxidans* und sein Substrat, Pyrit.

- a Kultur von *A. ferrooxidans*. (Aufnahme Jim Horan, Colorado)
- b Mikroskopische Aufnahme von *A. ferrooxidans*. (Aufnahme D. G. Lundgren, Geomicrobiology, Dekker, M., Ehrlich, H.L., 2nd Edition 1990; Republished with permission of Taylor and Francis Group LLC, a division of Informa plc.)
- c Pyrit („Katzengold“, FeS_2). (Aufnahme Jim Horan, Colorado)



Plus 12.6

Neutrophile Metallionen oxidierende Mikroorganismen

Neben den acidophilen gibt es auch neutrophile Bakterien, die Metallionen oxidieren und damit offensichtlich andere Strategien für die Mobilisierung der reduzierten Metallionen entwickelt haben. Das hohe Standardredoxpotenzial des $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$ -Redoxpaars ($E^0 = +0,77 \text{ V}$) lässt keinen großen Energiegewinn zu, da die Differenz zum Elektronenakzeptor Sauerstoff sehr gering ist. Außerdem ist Fe(II) als FeCO_3 schwer löslich. Da aber bei $\text{pH } 7$ Eisen (III)-Mineralien (oder Fe(II, III) -Mineralien wie Magnetit, Fe_3O_4) noch schlechter löslich sind als Fe(II) -Mineralien, verschiebt sich das chemische Gleichgewicht zugunsten der Fe(II) -Oxidation (► Abb. 12.18). Das reale Redoxpotenzial sinkt dadurch auf wesentlich niedrigere Werte als die Standardwerte, die einen Elektronentransport zur terminalen Oxidase zulassen (► Abb. 12.5).

Bekannte neutrophile Fe(II) -oxidierende Arten sind die Betaproteobakterien *Gallionella ferruginea* oder *Leptothrix discophora*. Die nierenförmigen Zellen von *Gallionella* sitzen auf einer charakteristischen stielartigen Struktur, in die präzipitiertes Eisen(III)-oxid eingelagert ist, welches sich bei der Fe^{2+} -Oxidation spontan bildet. Es wird vermutet, dass die Enzyme der Fe(II) -Oxidation nur an der Stielseite der Zelle ausgebildet werden, um die Zellen vor dem Einschließen durch die immer dicker werdenden Eisenoxidschichten zu bewahren und zugleich vor reaktiven Sauerstoffmetaboliten (Fenton-Reaktion) zu schützen. Rostfarbene Kolonien von *Gallionella* oder anderen Fe(II) -oxidierenden Bakterien kann man an vielen pH -neutralen Standorten mit reduzierten Metallionen beobachten, z. B. am Ende von Drainageröhren, in Moorgärten oder in Gebirgsbächen (► Abb. 12.17). Für das scheidenbildende filamentöse Bakterium *Leptothrix discophora* ist neben der Fe^{2+} -Oxidation auch die Oxidation von Mn^{2+} zu Braunstein (MnO_2) nachgewiesen. Einige Bakterien sowie das extrem thermophile Archaeon *Ferroglobus placidus* koppeln die Oxidation von Fe^{2+} sogar mit einer anaeroben Atmung, mit Nitrat als Elektronenakzeptor.

Während die Fe(II) -Oxidation in Reinkulturen einigermaßen studierbar ist, wurde erst kürzlich die Mn(II) -Oxidation in einer Anreicherungskultur bei neutralem

pH -Wert zugänglich. Der energieliefernde Prozess folgt der Gleichung: $\text{Mn}^{2+} + 1/2\text{O}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Mn(IV)O}_2(\text{s}) + 2\text{H}^+$; $\Delta G^0 = -68 \text{ kJ}$ per mol Mn . Das chemolithoautotrophe Bakterium „*Candidatus Manganitrophus noduliformans*“ ist verwandt mit dem Phylum Nitrospirae; das gebildete Manganoxid bildet kleine Braunsteinknöllchen (Name!). Es scheint CO_2 über den reduktiven Citratzyklus zu fixieren, also ähnlich wie andere chemolithoautotrophe Nitrospirae, aber anderes als die meisten Fe -Oxidierer wie *Gallionella* sp. (Letztere verwenden den Calvin-Benson-Zyklus).



Abb. 12.17 Neutrophile Metalloxidierer.

- a** Typischer Standort in klaren Wasserläufen. Die Anwesenheit Metallionen oxidierender Bakterien erkennt man an der rötlichen Farbe der Sedimente und den irisierenden dünnen Häutchen von Mangan- und Eisenoxiden an der Wasseroberfläche; diese werden fälschlich als „Ölfilm“ angesehen. (Aufnahme Georg Fuchs, Freiburg)
- b** Bohnenförmige Zellen von *Gallionella ferruginea* mit charakteristischen, mit Eisenoxiden inkrustierten Stielen nach Doppelfärbung mit Berliner Blau und nach Ziehl-Neelsen. (Aufnahme H. Hanert, Braunschweig)

Von vielen chemolithotrophen Bakterien werden insbesondere **Fe(II) - und Mn(II) -Ionen** als Elektronendonatoren genutzt. Einige Metallionen oxidierende Bakterien leben in **extrem sauren Lebensräumen** um $\text{pH } 2$, was einen einfachen Zugang zu Metallionen bietet, da unter diesen Bedingungen Fe^{2+} -Verbindungen gut löslich sind (► Abb. 12.18). Das Standardredoxpotenzial von $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$

bei $\text{pH } 7$ ($E^0 + 0,77 \text{ V}$) liegt aber bereits nahe an dem von Sauerstoff ($+1,1 \text{ V}$ bei $\text{pH } 2$), sodass nur wenig Energie konserviert werden kann. Viele der acidophilen Fe^{2+} -oxidierenden Arten oxidieren neben den reduzierten Metallionen zugleich Sulfid bzw. Schwefel als Elektronendonator zu Schwefelsäure und schaffen sich ihr saures Lebensmilieu somit selbst. Bekannte acidophile Fe^{2+} -oxidierende