

С.С. ДУБОВЧУК, А.Л. ПОНОМАРЕВА, М.С. БАКУНИНА,
А.И. ЕСЬКОВА, Р.Б. ШАКИРОВ, А.И. ОБЖИРОВ, Н.С. ПОЛЮНИК

Биогеохимическая роль анаэробного окисления метана в морских донных отложениях и перспективы исследований бактериального фильтра в Южном океане

Морские донные отложения представляют собой крупнейший резервуар органических веществ на Земле. Биогеохимический цикл метана в воде связывает анаэробную деструкцию органического вещества с процессами продукции. Этот цикл состоит из образования и окисления метана, в которых участвуют специализированные группы микроорганизмов, играющие важную роль в глобальном цикле органического вещества и газовом режиме океанов. Метанотрофные микроорганизмы окисляют метан как аэробно, так и анаэробно, значительно уменьшая выброс этого парникового газа в атмосферу. Среди акваторий Мирового океана перечисленные процессы менее всего изучены в полярных регионах, несмотря на их важное значение в исследовании потоков парниковых газов, влияющих на глобальные климатические изменения. Перечисленные аспекты требуют усиления исследований и в Южном океане, так как метанотрофные прокариоты играют важную роль в экологии и функционировании высокобиопродуктивных экосистем.

Сегодня наше понимание филогенетического разнообразия, возможностей генома и специфических адаптаций к этому в постоянно холодной среде и в анаэробных условиях донных отложений недостаточно. В ходе научной экспедиции РАН на НИС «Академик Мстислав Келдыш» (рейс 79) нами обнаружены аномалии метана до 1000 нл/л в придонном слое толщи вод в районе прол. Брансфилда, а также штаммы термофильных, нефтеокисляющих и метанотрофных микроорганизмов, исследование которых в береговых лабораториях представляет большой интерес.

В статье дан обзор актуальности и перспективных направлений исследований по проблеме газотрофных микроорганизмов в Южном океане.

Ключевые слова: метан, метанотрофные микроорганизмы, Южный океан, анаэробное окисление, сульфатредукция, денитрификация, обратный метанез.

*ДУБОВЧУК Светлана Сергеевна – старший лаборант-исследователь (Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток), студент (Дальневосточный федеральный университет, Владивосток), ПОНОМАРЕВА Анна Леонидовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник (Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток), БАКУНИНА Мария Сергеевна – младший научный сотрудник (Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток), магистрант (Дальневосточный федеральный университет, Владивосток), ЕСЬКОВА Алёна Игоревна – научный сотрудник (Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН, Владивосток), аспирант (Дальневосточный федеральный университет, Владивосток), ШАКИРОВ Ренат Белалович – доктор геолого-минералогических наук, заведующий лабораторией, ОБЖИРОВ Анатолий Иванович – доктор геолого-минералогических наук, заведующий лабораторией, ПОЛЮНИК Никита Сергеевич – научный сотрудник (Тихоокеанский океанологический институт им. В.И. Ильичева ДВО РАН). *E-mail: dubovchuk.ss@poi.dvo.ru

Работа выполнена в рамках госбюджетных тем: «Исследование состояния и изменений природной среды на основе комплексного анализа и моделирования гидрометеорологических, биогеохимических, геологических процессов и ресурсов Дальнего Востока», рег. номер FWMM–2019–0006 и «Комплексные исследования окружающей среды Южного океана», рег. номер FWMM–2019–0007.

Biogeochemical role of anaerobic methane oxidation in marine bottom sediments of the Southern Ocean. S.S. DUBOVCHUK^{1,2}, A.L. PONOMAREVA¹, M.S. BAKUNINA^{1,2}, O.I. ESKOVA^{1,2}, R.B. SHAKIROV¹, A.I. OBZHIROV¹, N.S. POLONIK¹ (¹ V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute, FEB RAS, Vladivostok; ²Far Eastern Federal University, Vladivostok).

Marine bottom sediments are the largest reservoir of organic matter on Earth. The biogeochemical cycle of methane in water links the anaerobic destruction of organic matter with production processes. This cycle consists of the formation and oxidation of methane, which involves specialized groups of microorganisms that play an important role in the global organic matter cycle and the gas regime of the oceans. Methanotrophic microorganisms oxidize methane both aerobically and anaerobically, significantly reducing the release of this greenhouse gas into the atmosphere. Among the world's oceans, these processes are least studied in polar regions, despite their importance for studying greenhouse gas flows that affect global climate changes. These aspects require increased research in the Southern Ocean, as methanotrophic bacteria play an important role in the ecology and functioning of highly bio-productive ecosystems.

To date, our understanding of phylogenetic diversity, genome capabilities and specific adaptations to this in a constantly cold environment and in anaerobic conditions of bottom sediments is limited. During the scientific expedition of the Russian Academy of Sciences aboard the R/V "Academic Mstislav Keldysh", flight 79, we found anomalies of methane up to 1000 nM in the bottom layer of the water column in the area of the Bransfield Strait, as well as strains of thermophilic, oil-oxidizing and methanotrophic bacteria, which analysis in coastal laboratories is of great interest.

The article provides an overview of the relevance and perspective directions of research on the problem of gastrophilic microorganisms in the Southern Ocean.

Key words: methane, methanotrophic bacteria, Southern Ocean, anaerobic oxidation, sulfate reduction, denitrification, reverse metagenesis

Введение

Исследования микробного разнообразия и возможностей генома в полярных средах позволяют составить представление о структуре и функциях полярных экосистем, а также изучить факторы изменения климата на основе полярной пищевой цепи. Значительная часть органического вещества вначале ассимилируется в микробной трофической цепи и только потом усваивается планктоном. Бактерии являются важнейшим компонентом пищевой сети: автотрофные бактерии могут доминировать среди продуцентов в олиготрофных и холодных морях Южного океана и вносят ключевой вклад в общий объем первичной продукции [1, 28]. Поэтому бактериальное изобилие и биомасса являются ключевыми параметрами биологической продуктивности в водных экосистемах. Кроме этого, бактерии являются индикатором многих процессов, например, газовой эмиссии, климатических изменений, антропогенного воздействия. Для оценки этих воздействий наиболее показательной является оценка структуры и пространственной организации микробных экосистем, в том числе газотрофных, которые влияют на развитие фито- и зоопланктона, в свою очередь являющихся основой питания биоресурсов, таких как антарктический криль [18]. Полярная морская среда уникальна. В большей части Южного океана морская вода постоянно имеет температуру $-1,8$ °C. Однако, в отличие от глубокого океана, полярные морские среды подвергаются экстремальным сезонным колебаниям ледяного покрова, уровня освещенности и продолжительности дня. Это сильно влияет на биологические процессы и приводит к высоким показателям первичной продукции и взрывному росту биомассы летом. Полярные среды чувствительны к глобальному потеплению, где минимальные перепады температур могут существенно влиять на протяженность и толщину морского льда [2].

Исследования цикла метана показывают, что микробиологические процессы его круговорота имеют большую экологическую значимость, поскольку влияют на структуру и функциональные особенности водной экосистемы в целом. Так, при бактериальном окислении метана снижается содержание растворенного кислорода в воде, выделяется диоксид углерода и образуется органическое вещество (ОВ) в процессе хемосинтеза. Поступление метана в виде газовых пузырьков из донных отложений в водную толщу способствует перемешиванию верхних горизонтов илов и придонной воды, ускоряет вынос главным образом углерод- и азотсодержащих соединений со дна с газами и поровым раствором

[1]. Метан является субстратом для микроорганизмов бактериального газового фильтра (метанотрофы, нитрифицирующие, тионовые, водородные микроорганизмы, а также автотрофные группы).

Метан – наиболее экологически значимый углеводород вследствие его биологического производства метаногенными археями в морских отложениях, болотах, пресноводных системах и других анаэробных средах, а также его роли в качестве парникового газа [7]. Считается, что анаэробное окисление метана (АОМ) приводит к удалению более 300 Тг метана в год в океанических системах [14, 32]. Таким образом, с точки зрения изменения климата АОМ служит значительным парниковым «стоком». АОМ может быть сопряжен с уменьшением содержания сульфатов, нитратов и нитритов [18], марганца [5] и железа [3, 5, 8, 38, 40, 49].

Долгое время считалось, что окисление метана в анаэробных условиях невозможно, поэтому предполагалось, что основной зоной бактериального окисления метана являются поверхностные воды. Наиболее широко распространенные аэробные метанотрофные микроорганизмы – представители *alpha*- и *gamma* протеобактерий, а также *Verrucomicrobia*. В последние 30 лет изучены некоторые механизмы, позволяющие археям окислять метан без присутствия кислорода, и выдвинута теория о ведущей роли донных отложений в его биогеохимическом цикле. В гипоксидных и даже в анаэробных условиях выявлены археи, которые образуют синтропную связь с другими функциональными типами микроорганизмов, например, сульфатредуцирующими, фототрофными, метилотрофными, и используют альтернативные акцепторы электронов для окисления метана [15].

Цель настоящей работы – описание биоразнообразия метанотрофных архейных сообществ и возможных механизмов анаэробного окисления метана микроорганизмами в морских донных отложениях Южного океана, главным образом на основе литературных материалов.

Перспективы исследования анаэробного окисления метана микроорганизмами в донных отложениях Южного океана

Анаэробное окисление метана – глобально важный, но плохо изученный процесс, наше понимание которого углубил приведенный ниже ряд аргументов. Во-первых, исследования последних морских отложений показывают, что за анаэробное окисление метана отвечает консорциум метаногенов и сульфатвосстанавливающих бактерий; был предложен механизм «обратного метаногенеза», основанный на принципе межвидового переноса водорода. Во-вторых, исследования известных метаногенов в условиях низкого содержания водорода и высокого содержания метана не смогли индуцировать окисление метана, что указывает на то, что «обратный метаногенез» не является широко распространенным процессом у метаногенов. Наконец, филогенетические исследования показывают, что в окислении метана участвуют только определенные группы архей- и сульфатредуцирующих бактерий (СРБ).

Исследования микробиоты Южного океана достаточно отрывочны [14, 26]. Однако в последнее десятилетие выявлены обширные филогенетические группы, такие как морская группа I *Crenarchaeota*, *α-Proteobacteria* (связанные с *Roseobacter* и SAR-11 кластеры), *γ-Proteobacteria* (как культивируемые, так и некультивированные группы) и *Bacterioidetes*. Результаты первоначальных исследований геномики как культивируемых организмов, так и геномов, выделенных из образцов, полученных из Южного океана, показывают, что у этих организмов существует множество уникальных особенностей, которые способствуют их выживанию в высокоширотных, постоянно холодных условиях. Полярные морские метанотрофные микроорганизмы в Южном океане с экологической и геномной точек зрения находятся на ранней стадии изучения. Первоначальные исследования разнообразия бактерий предполагают, что оно, по-видимому, конкурирует с другими океанскими

системами, хотя многие полярные фило типы несут отчетливый биогеографический характер [14]. Для мирового океана к настоящему времени уже произведена количественная оценка роли анаэробного окисления метана в глобальном цикле этого парникового газа. Данная информация необходима, если мы хотим понять особенности адаптации организмов к жизни в условиях холода, описать эволюционную историю психрофилов и, что важно, предсказать последствия изменения климата, такие как уменьшение морского льда и его влияние на круговорот углерода, в частности метана, в полярных океанах [26]. В ходе научной экспедиции РАН на НИС «Академик Мстислав Келдыш», рейс 79, нами были обнаружены аномалии метана до 1000 нл/л в придонном слое толщи вод в районе прол. Брансфилда, а также штаммы термофильных, нефтеокисляющих и метанотрофных микроорганизмов, представляющие интерес для изучения в береговых лабораториях после окончания экспедиции. Пробы воды отобраны из придонного слоя с температурой около -1 °С. Аномалия метана обнаружена во впадине, соседствующей с возвышением с перепадом отметок до 1000 м.

Ранее в данном районе были обнаружены активные гидротермальные системы типа «курильщико в», которые выбрасывают в толщу вод нагретые флюиды. В местах гидротермальных выходов наблюдается активное развитие фауны [46].

Филогенетическое разнообразие анаэробных метанотрофных микроорганизмов

Внутри архей выделено 3 кластера, причисляемых к филуму *Euryarchaeota*: ANME-1, ANME-2 и ANME-3, способных к анаэробному окислению метана. При этом при анализе филогении гена 16S рНК установлено, что кластеры ANME не являются монофилетичными.

Предполагается, что кластеры ANME, которые описаны к настоящему времени, включают в себя ANME-1, ANME-2 и ANME-3. Кластер ANME-1 (подкластеры *a* и *b*) находится внутри класса *Methanomicrobia*, а также имеет отдаленное родство с порядками *Methanomicrobiales* и *Methanosarcinales*. Кластер ANME-2 дополнительно переработан в подкластеры *a/b* (ранее считавшиеся двумя отдельными) и подкластеры *c* и *d*. Подкластеры ANME-2*a* и ANME-2*b* формируют сцепленную группу, отделенную от подкластера ANME-2*c*, и поэтому их часто обозначают как ANME-2*a/b*. Археи подкластера ANME-2*d*, позже переименованного в подкластер GOMarc I, или AAA (AOM (anaerobic oxidation of methane – associated archaea)), осуществляют нитратзависимое анаэробное окисление метана. Для них описан кандидатный вид *Ca. Methanoperedens nitroreducens*. Другие археи кластеров ANME осуществляют сульфатзависимое окисление метана [42, 44].

Кластер ANME-2 тесно связан с культивируемыми членами *Methanosarcinales*, кластер ANME-1 относится к *Methanomicrobiales* и *Methanosarcinales* [13], кластер ANME-3 является наиболее родственным *Methanococoides* spp. [17]. Из-за этой расходящейся таксономии ожидается, что между кластерами ANME существуют разные экологические и физиологические ниши. Все типы ANME встречаются в одной и той же морской среде, но демонстрируют различное формирование зоны в микробных матах. Кластеры ANME-1 и ANME-2 распространены наиболее широко, тогда как ANME-3 обнаружен в основном в грязевых вулканах [18, 21, 27]. ANME-2 доминировал в поверхностных слоях отложений гидратного хребта, а ANME-1 обнаружен в более глубоких слоях отложений с пониженным содержанием сульфатов и повышенными концентрациями сульфидов [17]. В другом исследовании показано, что ANME-2*a/b* является более преобладающим при низких уровнях метана и низких концентрациях сульфидов, а доминирование ANME-2*c* происходит в более глубоких слоях отложений, ближе к газогидратам, где концентрация метана и сульфида относительно высокая [33]. Также рядом других авторов зафиксирован экологический переход ANME-2*a/b* к ANME-2*c* и/или ANME-1 с увеличением глубины

отложений [28, 33]. Поскольку многие другие неконтролируемые факторы распространены *in situ*, трудно напрямую определить, какие факторы действительно влияют на присутствие, активность и рост подтипа ANME.

Обратный метаногенез

Обнаружено, что анаэробное окисление метана в сочетании с восстановлением сульфатов (СВ) происходит в широком диапазоне морских отложений. Предположительно, этот процесс осуществляется анаэробными метанотрофными археями (ANME) в сочетании с сульфатредуцирующими бактериями (СРБ), принадлежащими к *Deltaproteobacteria* [6]. Недавно появились данные, свидетельствующие о том, что археи ANME могут выполнять как АОМ, так и СВ в отношении элементарной серы [18]. АОМ с сульфатом в качестве конечного акцептора электронов, по-видимому, протекает через «обратный метаногенез» [12, 15, 49] и катализируется гомологом метилкоэнзим-М редуктазы (MCR), Ni-содержащего фермента (рис. 1), ответственного за последнюю стадию метаногенеза [4, 19, 21]. Гомологи MCR найдены в высоких концентрациях у метанотрофных архей, связанных с СРБ [13, 20, 23].

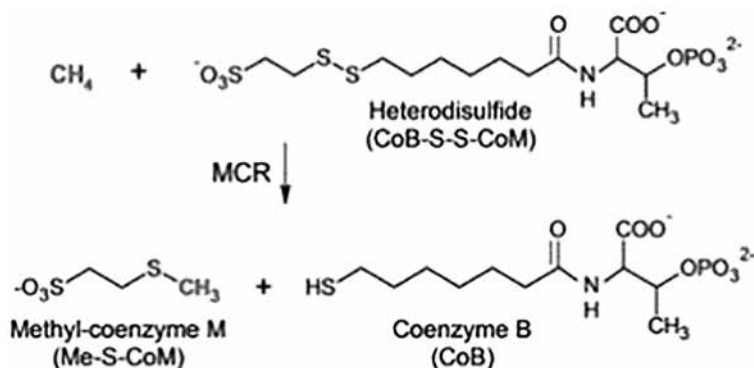


Рис. 1. Пути анаэробного окисления метана с помощью обратного метаногенеза [36]

Все гены обратного метаногенеза присутствуют в геномах архей ANME-2a и ANME-2d и экспрессируются. В геноме архей ANME-1 отсутствуют гены, кодирующие 5-, 10-метилтетрагидрометанооптерин (H4MPT) редуктазу (Mer) – фермент, который необходим для окисления метилH4MPT. Вероятно, археи ANME-1 имеют какой-то структурный аналог этого фермента, например 5-, 10-метилтетрагидрофолат (H4HF) редуктазу (MetF), который может заменить Mer [9, 44]. У архей ANME-1 аминокислотные последовательности и кристаллическая структура Msr указывают на то, что метаногенный и метанотрофный ферменты очень похожи, и субстратами метанотрофной Msr являются CoM-SH и CoB-SH. Метаногены и ANME различаются, однако, некоторыми посттрансляционными модификациями аминокислот. Также у архей ANME-1, в отличие от ANME-2 и ANME-3, модифицирована протетическая группа Msr (кофактор F430). Более того, у ANME-1, по всей видимости, отсутствует некаталитический белковый D домен гена mcr, присутствующий у всех метаногенов и анаэробных метанотрофов, функция которого, однако, неизвестна [35, 39, 44].

Комплекс ANME-1 подобен MCR в общей структуре и содержит кофермент В. Однако он отличается от метаногенного MCR, так как содержит F₄₃₀ область, богатую цистеином, а также измененный посттрансляционный паттерн модификации аминокислот [38]. F₄₃₀ область может функционировать как мультифункциональная редокс-релейная

система для электронного H^+/e^- транспорта или служит для восстановления ANME-1 MCR из неактивного Ni^{2+} в активное состояние окисления Ni^{1+} [23, 39], в то время как измененные посттрансляционные модификации аминокислот могут отражать филогенетическую адаптацию к условиям окружающей среды [21] на основе распределения различных групп ANME в микробных матах [20].

Альтернативные механизмы АОМ в сульфатвосстанавливающих условиях

При исследовании межвидовых промежуточных продуктов сульфатзависимого АОМ кроме «обратного метагенеза» предложено несколько механизмов для консорциумов ANME и СРБ. Например, некоторые гипотезы предполагают образование уксусной кислоты и H_2 из метана и воды метаноокисляющими археями [45].

Предполагается, что синтез водорода служит основой консорциума метаноген-сульфатредукторов. Известно, что водород является конкурентным субстратом в анаэробной среде, и его концентрация представляет собой динамическое устойчивое состояние [15, 22]. Поддержание низкого уровня H_2 позволяет проводить синтрофное окисление органического материала в процессе межвидового переноса H_2 [49]. На основе результатов полевых и лабораторных исследований выдвинута гипотеза о том, что при достаточно низком содержании H_2 метаногены обращают свой метаболизм и опосредуют полное изменение метагенеза (действуя как окислители метана; уравнение (1)), используя воду в качестве конечного акцептора электронов. H_2 эффективно удаляется и поддерживается в низких концентрациях с помощью сульфатредукторов (уравнение (2)), действующих в синтрофической ассоциации с метаногенами [15]. Сульфатные восстановители более эффективны при использовании H_2 в качестве донора электронов; таким образом, они могут создавать условия, которые термодинамически благоприятствуют окислению метана (рис. 2). Чистая реакция синтрофической ассоциации (уравнение (3)) дает примерно $225 \text{ кДж моль}^{-1}$ окисленного метана. Доступная энергия может быть разделена двумя партнерами по ассоциации, а уровень H^+ определяет распределение энергии между двумя организмами [14].

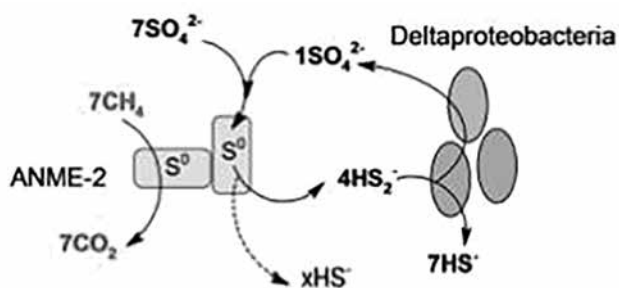
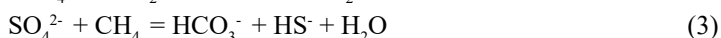
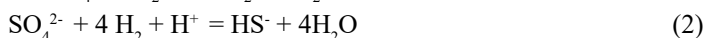
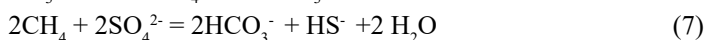
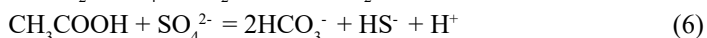
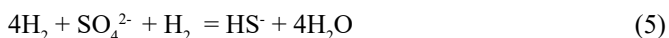


Рис. 2. Пути анаэробного окисления метана с помощью серы нулевой валентности в качестве ключевого промежуточного звена [48]

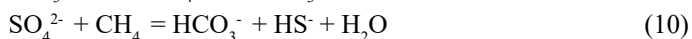
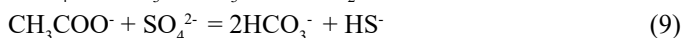
Другой механизм включает образование уксусной кислоты и H_2 из двух молекул метана (уравнение (4)) путем окисления метана археями с последующим использованием уксусной кислоты и H_2 СРБ (уравнения (5) и (6)).





Чистая реакция (уравнение (7)) просто в два раза больше реакции, обычно связанной с анаэробным окислением метана (уравнение (3)). Связывание двух молекул метана с образованием уксусной кислоты обеспечивает сохранение энергии из общего процесса (уравнение (7)), которое обычно уменьшается (т.е. делится на 2 до равенства (3)) для термодинамических расчетов. Чистая реакция (уравнение (7)) учитывает вдвое больше свободной энергии, чем механизм обратного метаногенеза (уравнение (3)), хотя энергия должна быть разделена тремя способами, а не двумя.

В качестве другого варианта этого процесса предложен «обратный ацетокластический метаногенез», в котором метаноокисляющие археи производят ацетат из CO_2 и CH_4 , а ацетат в свое время используется СРБ (уравнения (8) и (9)) [15, 49].

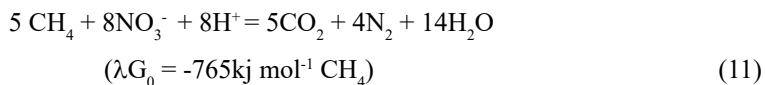


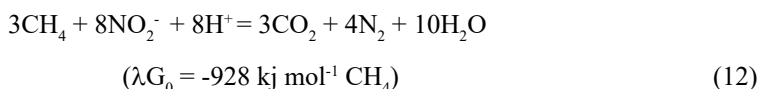
Кроме этого предполагается, что восстановление сульфата метаноокисляющими микроорганизмами, относящимися к кластеру ANME-2, возможно не по каноническому ферментативному пути, в котором донором электронов может быть формил метанофуран (мультифункциональная релейная пара) / CO_2 + мультифункциональная редокс-пара. Нуль-валентная сера может прореагировать с сульфидом для того, чтобы сформировать полисульфиды, например такие, как дисульфид. Затем происходит диспропорционирование дисульфида в сульфид и сульфат с автотрофной ассимиляцией углерода. По-видимому, реакция диспропорционирования может быть катализована такими ферментами, как сульфатаденилтрансфераза (SAT) и аденилсульфатредуктаза (APR), которые участвуют в диспропорционировании таких соединений, как элементарная сера, тиосульфат и сульфит [48]. Сульфат может отчасти быть повторно использован ANME-2. Стехиометрически никакая чистая продукция сульфата не происходит. Учитывая эти результаты, представляется, что ANME-2 не обязательно зависит от партнера по сульфатредуцированию и может ассоциироваться с любыми бактериями, способными использовать дисульфид. Это имеет важное значение в отношении биогеохимии окисления метана и циклирования серы, а также исследований, посвященных изучению межвидовых соединений, которые указывают на облигатный синтрофный механизм АОМ.

Совсем недавно предложен механизм «метилогенеза», в котором метантиол (MeSH) служит межвидовым соединением, которое переносит метанпроизводный углерод от метанотропа к СРБ [25]. В отношении последнего имеются некоторые доказательства того, что метантиол ингибирует АОМ [24, 25], а также сульфатного восстановления [24]. Поэтому роль метилсульфидов до сих пор остается неясной.

Нитритзависимое анаэробное окисление метана («внутриаэробная денитрификация»)

Термодинамические расчеты возможности анаэробного окисления метана с участием денитрифицирующих бактерий, показанные в уравнениях (11) и (12), демонстрируют возможность этого процесса (рис. 3) [31]. При этом данный процесс в морской среде является наименее изученным.





Отсутствие экспериментальных доказательств возникновения АОМ в сочетании с денитрификацией не удивительно, потому что ожидается, что этот процесс будет происходить близко к окси/аноксическому интерфейсу в отложениях [19, 38, 41].

Анаэробное окисление метана в сочетании с денитрификацией через «обратный метаногенез» впервые предложено для консорциума («Twente»), обогащенного из отложений канала Твенте (Нидерланды) [10, 33, 37]. Эксперименты по изотопному маркированию показывают, что АОМ с помощью *Methylomirabilis oxyfera* протекает через восстановление нитрита до оксида азота с последующим преобразованием двух молекул оксида азота в динитроген и молекулярный кислород.

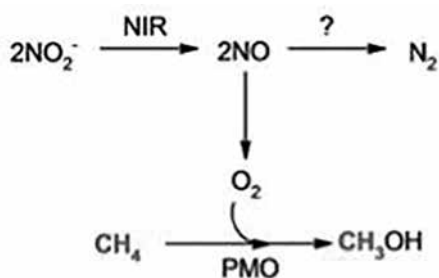


Рис. 3. Пути анаэробного окисления метана с помощью нитритзависимого механизма («внутриаэробная денитрификация») [11]

Фумаратный путь

Добавление неметановых алканов к фумарату – распространенный анаэробный механизм активации алканов, наблюдаемый в условиях восстановления нитратов и сульфатов (рис. 4). Возможно, в сложной смеси углеводородов в нефтяных или угольных пластах низкомолекулярные алкилсукцинаты являются производным кометаболического углеводородного обмена, как это, например, наблюдалось для толуола в анаэробных алкандеградирующих бактериях [43].

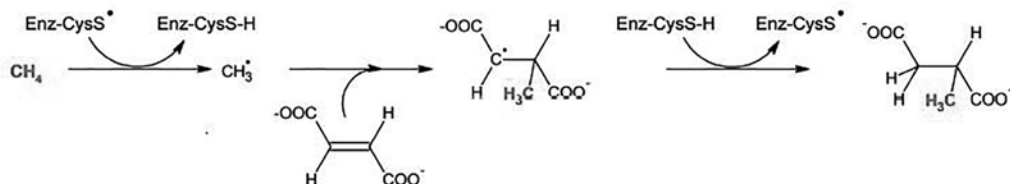


Рис. 4. Пути анаэробного окисления метана с добавлением метана к фумарату [29]

Хотя основное внимание в исследованиях обычно уделяется длинноцепочечным алканам, существует несколько работ, в которых зафиксировано, что короткие алканы, например такие, как пропан, также добавляются к фумарату в сульфатвосстанавливающих условиях [16, 34]. Данные предположения подтверждаются полевыми метаболическими исследованиями нефтяных и угольных пластов, в которых преобладают низкомолекулярные газы, такие как метан, и обнаружены низкомолекулярные алкилсукцинаты, включая метилсукцинат. Из-за сложной смеси углеводородов в данных средах возможно, что

низкомолекулярные алкилсукцинаты синтезированы кометаболическим путем, как это было выявлено при окислении толуола анаэробными акланотрофными бактериями [29]. Однако обнаружение метилсукцината дает возможность предполагать, что использование фумарата возможно при анаэробном окислении метана [18].

Однако с позиции термодинамики существует несколько предположений [29, 47] существования метильного радикала и конечных акцепторов электронов – например, образование метильного радикала ($439 \text{ кДж/моль}^{-1}$) за счет образования глицильного радикала ($350 \text{ кДж/моль}^{-1}$). Разница в энергиях диссоциации (90 кДж) значительно больше, чем у других алкановых субстратов ($\sim 60 \text{ кДж}$), что, на первый взгляд, является препятствием для осуществления данного механизма.

Это предположение также обосновывает квантовохимические расчеты при изучении энергетики добавления метана к фумарату. Начальная реакция (т.е. гомолитическая – расщепление С–Н связи в метане метилэтильным радикалом) является неблагоприятной и идет с затратой энергии, но следующий шаг в предложенном механизме, напротив, экзотермический. С учетом того, что ферменты глицильного радикала являются функциональными димерами, возможно, начальный энергетический барьер может быть преодолен путем соединения стадий активного каталитического цикла.

Заключение

Таким образом, анаэробное окисление метана (АОМ) – процесс, который активно протекает в аноксичных морских системах и действует как барьер для выделения метана в водную толщу и атмосферу. Последние данные [15, 22, 49] свидетельствуют о том, что в механизме окисления метана участвуют метаноокисляющие археи и сульфатредуцирующие бактерии, действующие в синтрофической ассоциации. Водород, по-видимому, является ключевым промежуточным звеном в этой синтрофической ассоциации, и мы предполагаем, что ацетат в ней также участвует. Хотя окисление метана происходит в различных условиях и, как представляется, осуществляется несколькими различными организмами, имеются указания на то, что аналогичные механизмы могут быть активны во всех таких условиях. АОМ, по-видимому, является фундаментальным метаболическим процессом в некоторых археях и, вероятно, связан с сохранением энергии и ростом. В этих организмах метаболизм метана начинается с его окисления с помощью кислорода до метанола – реакция, катализируемая монооксигеназой и поэтому ограниченная аэробным миром. Анаэробные метанотрофные микроорганизмы играют доминирующую роль в глобальном морском стоке метана. Скорость и пути микробной колонизации донных отложений в районах разгрузки газовых флюидов могут напрямую влиять на скорость изменения климата, воздействуя на морские сообщества в Южном океане.

Следует учитывать, что организмы, опосредующие АОМ, еще не выращены в чистой культуре, и поэтому большинство выводов основано только на предположениях.

Анализ литературных материалов показывает, что роль Южного океана в метановом цикле остается малоизученной. Исследования биохимических процессов газотрофных микроорганизмов важно проводить для оценки состояния экосистем Антарктики и Южного океана и влияния на них климатических изменений в связи с активизацией российского присутствия в Южном полушарии и выполнения международных обязательств Российской Федерации как стороны Договора об Антарктике и Конвенции по сохранению морских живых ресурсов Антарктики.

Необходимы высокоинтегрированные исследования, включающие концентрационный, скоростной, филогенетический, биомаркерный, микроскопический и изотопный анализы, которые могут одновременно демонстрировать метаболическую активность, численность популяции, биоэнергетику и пути движения углерода для данной среды обитания. Эти исследования могут быть использованы для проверки различных гипотез окисления метана,

а применение экзогенных изотопных индикаторов может быть полезно для отслеживания непосредственной судьбы метана в образцах (т.е. в липидах, ацетатах или других промежуточных веществах).

ЛИТЕРАТУРА

1. Александрова З.В. Влияние донных отложений на режим кислорода и содержание биогенных веществ в Азовском море: автореф. дис. ... канд. геогр. наук. Ростов-н/Д, 1980. 23 с.
2. Серегин С.А., Брянцева Ю.В., Чмыр В.Д. Состояние микропланктонного сообщества (фито- и бактериопланктон) в осенний период на мелководье Аргентинских островов, Антарктика // Укр. Антаркт. журн. 2003. № 1. С. 107–113.
3. Amos R.T., Bekins B.A., Cozzarelli I.M., Voytek M.A., Kirshtein J.D., Jones E.J. et al. Evidence for iron-mediated anaerobic methane oxidation in a crude oil-contaminated aquifer // *Geobiology*. 2012. Vol. 10. P. 506–517.
4. Austin R.N., Groves J.T. Alkane-oxidizing metalloenzymes in the carbon cycle // *Metallomics*. 2011. Vol. 3. P. 775–787.
5. Beal E.J., House C.H., Orphan V.J. Manganese- and iron-dependent marine methane oxidation // *Science*. 2009. Vol. 325. P. 184–187.
6. Boetius A., Ravensschlag K., Schubert C. J., Rickert D., Widdel F., Gieseke A., Amann R., Jorgensen B.B., Witte U. A marine microbial consortium apparently mediating anaerobic oxidation of methane // *Nature*. 2000. Vol. 407. P. 623–626.
7. Conrad R. The global methane cycle: recent advances in understanding the microbial processes involved // *Environ. Microbiol.* 2009. Rep. 1. P. 285–292.
8. Crowe S.A., Katsev S., Leslie K., Sturm A., Magen C., Nomosatryo S. et al. The methane cycle in ferruginous Lake Matano // *Geobiology*. 2011. Vol. 9. P. 61–78.
9. Ermiler U., Grabarse W., Shima S., Goubeaud M., Thauer R.K. Crystal structure of methyl coenzyme M reductase: the key enzyme of biological methane formation // *Science*. 1997. Vol. 278. P. 1457–1462.
10. Ettwig K.F., Van Alen T., Van De Pas-Schoonen K.T., Jetten M.S.M., Strous M. Enrichment and molecular detection of denitrifying methanotrophic bacteria of the NC10 phylum // *Appl. Environ. Microbiol.* 2009. Vol. 75. P. 3656–3662.
11. Ettwig K.F., Butler M.K., Le Paslier D., Pelletier E., Mangenot S., Kuypers M.M. et al. Nitrite-driven anaerobic methane oxidation by oxygenic bacteria // *Nature*. 2010. Vol. 464. P. 543–550.
12. Hallam S.J., Putnam N., Preston C.M., Detter J.C., Rokhsar D., Richardson P.M. et al. Reverse methanogenesis: testing the hypothesis with environmental genomics // *Science*. 2004. Vol. 305. P. 1457–1462.
13. Heller C., Hoppert M., Reitner J. Immunological localization of coenzyme M reductase in anaerobic methane-oxidizing archaea of anme 1 and anme 2 type // *Geomicrobiol. J.* 2008. Vol. 25. P. 149–156.
14. Hinrichs K.U., Boetius A.B. The anaerobic oxidation of methane: new insights in microbial ecology and biogeochemistry // *Ocean Margin Systems*. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag, 2002. P. 457–477.
15. Hoehler T.M., Alperin M.J., Albert D.B., Martens C.S. Field and laboratory studies of methane oxidation in an anoxic marine sediment: evidence for a methanogen-sulfate reducer consortium // *Global Biogeochem. Cycles*. 1994. Vol. 8. P. 451–463.
16. Jarling R., Sadeghi M., Drozdowska M., Lahme S., Buckel W., Rabus R. et al. Stereochemical investigations reveal the mechanism of the bacterial activation of n-alkanes without oxygen // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2012. Vol. 51. P. 1334–1338.
17. Knittel K., Boetius A. The anaerobic oxidation of methane – progress with an unknown process // *Annu. Rev. Microbiol.* 2009. Vol. 63. P. 311–334.
18. Knittel K., Lösekann T., Boetius A., Kort R., Amann R. Diversity and Distribution of Methanotrophic Archaea at Cold Seeps // *Appl. Environ. Microbiol.* 2005. Vol. 71. P. 467–479.
19. Knowles R. Denitrifiers associated with methanotrophs and their potential impact on the nitrogen cycle // *Ecol. Eng.* 2005. Vol. 24. P. 441–446.
20. Krüger M., Blumenberg M., Kasten S., Wieland A., Kanel L., Klock J.H. et al. A novel, multi-layered methanotrophic microbial mat system growing on the sediment of the Black Sea // *Environ. Microbiol.* 2008. Vol. 10. P. 1934–1947.
21. Lösekann T., Knittel K., Nadalig T., Fuchs B., Niemann H., Boetius R. Diversity and Abundance of Aerobic and Anaerobic Methane Oxidizers at the Haakon Mosby Mud Volcano, Barents Sea // *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. Vol. 73. P. 3348–3362.
22. Lovley D.R., Phillips E.J. Competitive mechanisms for inhibition of sulfate reduction and methane production in the zone of ferric iron reduction in sediments // *Appl. Environ. Microbiol.* 1987. Vol. 53. P. 2636–2641.
23. Mayr S., Latkoczy C., Krüger M., Günther D., Shima S., Thauer R.K. et al. Structure of an F430 variant from archaea associated with anaerobic oxidation of methane // *J. Am. Chem. Soc.* 2008. Vol. 130. P. 10758–10767.
24. Meulepas R.J., Jagersma C.G., Khadem A.F., Stams A.J., Lens P.N. Effect of methanogenic substrates on anaerobic oxidation of methane and sulfate reduction by an anaerobic methanotrophic enrichment // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010. Vol. 87. P. 1499–1506.

25. Moran J.J., Beal E.J., Vrentas J.M., Orphan V.J., Freeman K.H., House C.H. Methyl sulfides as intermediates in the anaerobic oxidation of methane // *Environ. Microbiol.* 2008. Vol. 10. P. 162–173.
26. Murray A.E., Grzymiski J.J. Diversity and genomics of Antarctic marine micro-organisms // *Biol. Sci.* 2007. Vol. 362 (1488). P. 2259–2271.
27. Niemann H., Lösekann T., De Beer D., Elvert M., Nadalig T., Knittel K., Amann R., Sauter E.J., Schlüter M., Klages M., Foucher J.P., Boetius A. Novel microbial communities of the Haakon Mosby mud volcano and their role as a methane sink // *Nature.* 2006. Vol. 443. P. 854–858.
28. Orcutt B., Boetius A., Elvert M., Samarkin V., Joye S.B. Molecular biogeochemistry of sulfate reduction, methanogenesis and the anaerobic oxidation of methane at Gulf of Mexico cold seeps // *Geochim. Cosmochim. Acta.* 2005. Vol. 69. P. 5633–5633.
29. Rabus R., Wilkes H., Behrends A., Armstroff A., Fischer T., Pierik A.J. et al. Anaerobic initial reaction of n-alkanes in a denitrifying bacterium: evidence for (1-methylpentyl) succinate as initial product and for involvement of an organic radical in n-hexane metabolism // *J. Bacteriol.* 2001. Vol. 183. P. 1707–1715.
30. Rabus R., Jarling R., Lahme S., Kuhner S., Heider J., Widdel F. et al. Co-metabolic conversion of toluene in anaerobic n-alkane-degrading bacteria // *Environ. Microbiol.* 2011. Vol. 13. P. 2576–2586.
31. Raghoebarsing A.A., Pol A., Van De Pas-Schoonen K.T., Smolders A.J.P., Ettwig K.F., Rijpstra W.I.C. et al. A microbial consortium couples anaerobic methane oxidation to denitrification // *Nature.* 2006. Vol. 440. P. 918–921.
32. Reeburgh W.S. Oceanic methane biogeochemistry // *Chem. Rev.* 2007. Vol. 107. P. 486–513.
33. Roalkvam I., Jørgensen S.L., Chen Y., Stokke, R., Dahle H., Hocking W.P. et al. New insight into stratification of anaerobic methanotrophs in cold seep sediments // *FEMS Microbiol. Ecol.* 2011. Vol. 78. P. 233–243. Doi: 10.1111/j.1574-6941.2011.01153.
34. Savage P.S., Georg R.B., Armutage R.M.G., Williams H.M., Halliday A.N. Silicon isotope homogeneity in the mantle // *Earth Planet. Sci. Lett.* 2010. Vol. 295. P. 139–146.
35. Scheller S., Goenrich M., Mayr S., Thauer R.K., Jaun B. Intermediates in the catalytic cycle of methyl coenzyme M reductase: isotope exchange is consistent with formation of α -alkane-nickel complex // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2010. Vol. 49. P. 8112–8115.
36. Scheller S., Goenrich M., Boecher R., Thauer R.K., Jaun B. The key nickel enzyme of methanogenesis catalyses the anaerobic oxidation of methane // *Nature.* 2010. Vol. 465. P. 606–697.
37. Shen L.D., He Z.F., Zhu Q., Chen D.Q., Lou L.P., Xu X.Y. et al. Microbiology, ecology and application of the nitrite-dependent anaerobic methane oxidation process // *Front. Microbiol.* 2012. Vol. 3. 269 p. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00269.
38. Shima S., Thauer R.K. Methyl-coenzyme M reductase and the anaerobic oxidation of methane in methanotrophic Archaea // *Curr. Opin. Microbiol.* 2005. Vol. 8. P. 643–648.
39. Shima S., Krueger M., Weinert T., Demmer U., Kahnt J., Thauer R. K. et al. Structure of a methyl-coenzyme M reductase from Black Sea mats that oxidize methane anaerobically // *Nature.* 2012. Vol. 481. P. 98–101.
40. Sivan O., Adler M., Pearson A., Gelman F., Bar-Or I., John S.G. et al. Geochemical evidence for iron-mediated anaerobic oxidation of methane // *Limnol. Oceanogr.* 2011. Vol. 56. P. 1536–1544.
41. Strous M., Jetten M.S.M. Anaerobic oxidation of methane and ammonium // *Annu. Rev. Microbiol.* 2004. Vol. 58. P. 99–117.
42. Thauer R.K. Anaerobic oxidation of methane with sulfate: on the reversibility of the reactions that are catalyzed by enzymes also involved in methanogenesis from CO₂ // *Curr. Opin. Microbiol.* 2011. Vol. 14. P. 292–299.
43. Thauer R.K., Shima S. Methane as fuel for anaerobic microorganisms // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2008. Vol. 1125. P. 158–170.
44. Timmers P.H., Welte C.U., Koehorst J.J., Plugge C.M., Jetten M.S., Stams A.J. Reverse Methanogenesis and respiration in methanotrophic archaea // *Archaea.* 2017. Vol. 22. P. 1–22.
45. Valentine D.L., Reeburgh W.S. New perspectives on anaerobic methane oxidation // *Environ. Microbiol.* 2000. Vol. 2. P. 477–484.
46. Valle del R.A., Yermolin E., Chiarandini J., Sanchez Granel A., Lusky J.C. Methane at the NW of Weddell Sea, Antarctica // *J. Geol. Res.* 2017. Vol. 13, art. ID 5952916. P. 8.
47. Wilkes H., Rabus R., Fischer T., Armstroff A., Behrends A., Widdel F. Anaerobic degradation of n-hexane in a denitrifying bacterium: further degradation of the initial intermediate (1-methylpentyl) succinate via C-skeleton rearrangement // *Arch. Microbiol.* 2002. Vol. 177. P. 235–243.
48. Zehnder A.J.B., Brock T.D. Anaerobic methane oxidation – occurrence and ecology // *Appl. Environ. Microbiol.* 1980. Vol. 39. P. 194–204.
49. Zehnder A.J.B., Brock T.D. Methane formation and methane oxidation by methanogenic bacteria // *J. Bacteriol.* 1979. Vol. 137. P. 420–432.
50. Zhu B., Van Dijk G., Fritz C., Smolders A.J., Pol A., Jetten M.S. et al. Anaerobic oxidization of methane in a minerotrophic peatland: enrichment of nitrite-dependent methane-oxidizing bacteria // *Appl. Environ. Microbiol.* 2012. Vol. 78. P. 8657–8665.