

渤海沉积物中微生物铁还原能力及其影响因素探讨

陈 秦, 赵佳佳, 曲 东*, 朱 超

(西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:采用恒温厌氧培养实验,以 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 为唯一电子受体,通过测定接种不同沉积物提取液后的体系中 $\text{Fe}(\text{II})$ 含量变化,研究了渤海沉积物在不同的碳源、温度、厌氧培养时间及 pH 条件下的铁还原特征。结果表明,从不同水质海区沉积物提取的微生物群落均可以葡萄糖和丙酮酸盐为优势碳源,并迅速还原 $\text{Fe}(\text{III})$,其利用不同碳源的铁还原能力表现为葡萄糖>丙酮酸盐>乳酸盐>乙酸盐;在不同水质海区之间 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原程度存在一定差异,Ⅲ类和Ⅳ类水质区域的微生物 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原能力明显低于Ⅰ类和Ⅱ类水质区域;以葡萄糖和丙酮酸盐作为碳源培养时,在 15℃ 和 30℃ 培养条件下其 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原反应的活性随着温度的升高而升高,表明微生物在优势碳源下,提高培养温度可促进铁还原反应的效率;淹水时间延长可改变微生物群落结构,促进利用葡萄糖和丙酮酸盐的微生物恢复增长,使 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原能力增强;微生物群落在 pH 中性体系条件下 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原能力最强,随着体系 pH 值由 8.0 升高到 11.0 或 pH 由 6.0 降低到 3.0,体系中 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原能力均逐渐降低。

关键词:沉积物;厌氧培养; $\text{Fe}(\text{III})$ 还原;碳源利用;环境因素

中图分类号:X172 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2011)06-1172-08

The Capability and Influencing Factors of Microbial Iron Reduction in Marine Sediments from Bohai Bay, China

CHEN Qin, ZHAO Jia-jia, QU Dong*, ZHU Chao

(College of Resources and Environment, Northwest A & F University, Yangling 712100, China)

Abstract: Anaerobic incubations of leaching liquors from sediments of 4 sites with different water grades in Bohai bay were conducted to research the capability of microbial $\text{Fe}(\text{III})$ reduction. Influence of carbon sources, temperature, incubation time and pH value on microbial $\text{Fe}(\text{III})$ reduction was also investigated by monitoring the content of $\text{Fe}(\text{II})$ in this amended incubation. As results represented, glucose and pyruvate were in prior and quick utility in microbial $\text{Fe}(\text{III})$ reduction in all the incubations. The capability of microbial $\text{Fe}(\text{III})$ reduction amended with carbon resource showed in order as glucose>pyruvate>lactate>acetate. Water grades did apparently influence on capability of microbial $\text{Fe}(\text{III})$ reduction, reflecting by obviously higher capability of water grade of I and II than that of III and IV. Temperature from 15℃ mote the efficiency of $\text{Fe}(\text{III})$ reduction with priority carbon sources. Flooding time elongation benefited promoted the microbial community which preferred to utilize glucose and acetate and therefore enhanced the capability of microbial $\text{Fe}(\text{III})$ reduction. The strongest capability of $\text{Fe}(\text{III})$ reduction appeared in pH neutral system and the increase of pH value from 8.0 to 11.0 and the decrease from 6.0 to 3.0 both impaired the reduction of $\text{Fe}(\text{III})$ during incubation.

Keywords: sediments; anaerobic incubation; iron(III) reduction; carbon source utility; environment factor

微生物的异化铁还原是生物进化过程中最早出现的能量代谢途径,其对研究和保护地球环境有着深远的意义^[1]。异化铁还原微生物可还原诸如 $\text{Cr}(\text{VI})$ 、

$\text{Se}(\text{VI})$ 、 $\text{Co}(\text{III})$ 、 $\text{Mn}(\text{IV})$ 等重金属,甚至能促进放射性核素 $\text{U}(\text{VI})$ 及 $\text{Te}(\text{VII})$ 的还原固定,在重金属污染整治及其有机污染物生物降解方面都发挥着重要作用^[2-3]。Lovley 等研究发现,在沉积物中 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原能促进难降解的有机污染物,如甲苯、苯的氧化降解,并且在添加 $\text{Fe}(\text{III})$ 螯合剂或腐植酸等电子穿梭物质的条件下降解被大大加速^[4]。Qu 等^[5]证实,异化铁还原过程可强烈地促进厌氧环境下 $\text{Cr}(\text{VI})$ 的还原,减小其

收稿日期:2010-12-03

基金项目:国家自然科学基金项目(40971158)

作者简介:陈 秦(1984—),女,陕西西安人,博士研究生,主要从事土壤环境化学研究。E-mail:chenqiniron@nwsuaf.edu.cn

* 通讯作者:曲 东 E-mail:dongqu@nwsuaf.edu.cn

生物学毒性。刘硕等^[6]发现,异化铁还原过程可增加苯系物的生物降解,对苯甲酸的代谢作用最为显著。曹宁等^[7]报道,异化铁还原过程可改变厌氧环境中溶解性磷素的有效性,使磷酸盐被固定,这对于降低水体的富营养化具有一定的促进作用。另外,在厌氧水稻土中的铁还原过程能够有效竞争氢和乙酸等电子供体,使其产甲烷过程受到严重抑制^[8-10]。

海洋中有丰富的微生物资源,由于特殊的厌氧环境而成为铁还原微生物存在的重要环境^[11-12]。近海沉积物中铁还原过程将有助于污染物的净化,因此,加强对海洋沉积物中异化铁还原过程及铁还原微生物的研究不仅具有重要的地学和生物学意义,而且在海洋环境保护中具有突出的应用前景。赵佳佳等^[13]研究发现,渤海不同水质海区点位的沉积物中 Fe(Ⅲ) 的还原潜势存在一定差异,海河及大沽排污河口口的Ⅳ类水质海区沉积物中 Fe(Ⅲ) 还原能力强烈,在大港北排河及子牙新河的入海口 Fe(Ⅲ) 还原亦较高,距离海岸较远的Ⅰ类水质海区沉积物中 Fe(Ⅲ) 还原能力较弱。不同点位中 Fe(Ⅱ) 的最大累积量与有机污染程度及 NO_3^- -N 浓度具有一定的相关性。目前,针对海洋沉积物中微生物铁还原过程的研究仍十分有限。本研究以渤海不同水质海区的沉积物为供试材料,采用恒温厌氧培养方法,针对沉积物淹水培养时间、对不同种类碳源的利用状况、培养温度及 pH 等影响微生物铁还原的因素进行探讨,以期说明渤海不同水质海区沉积物中异化铁还原能力的差异,为进一步明确海洋沉积物中铁还原微生物的生理特征及其筛选分离方法提供必要的科学依据。

1 材料与方法

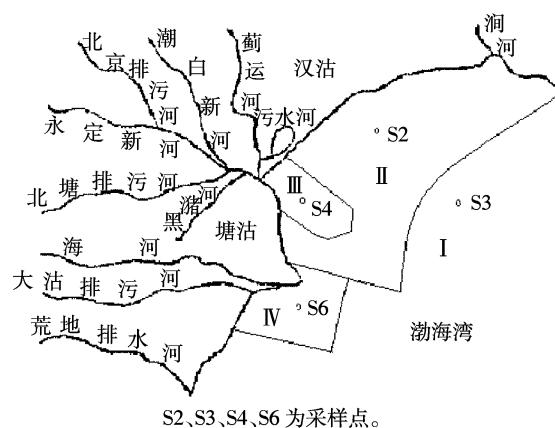
1.1 供试海洋沉积物

供试的海洋沉积物于 2008 年 5 月采集于渤海湾,由塘沽区环境保护局环境监测站提供,采样位置为我国海洋监测的固定点位(图 1)^[13]。采样后迅速将沉积物鲜样置于塑料袋中,排出气体并封口,置于 4℃冰盒中保存和运输。取出部分鲜样,用烘干法测定含水量。另取一部分风干,磨细,过 1 mm 土壤筛后备用。

1.2 试验方法

1.2.1 碳源对不同水质海区沉积物中微生物铁还原过程的影响

称取按其含水量折算为 8.00 g 干样的不同水质海区沉积物鲜样,按 1:9 的土水比加入无菌水,定量



S2、S3、S4、S6 为采样点。

图 1 采样位置图(Ⅰ~Ⅳ为水质等级)

Figure 1 Location of sampling(Ⅰ~Ⅳ means different water quality)

转移到 80 mL 的灭菌离心管中, $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 恒温振荡 1 h, 静置 30 min, 收集上清液作为微生物接种液。吸取不同海区的沉积物浸提液 1.0 mL, 接种到含有 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 培养基的 10 mL 血清瓶中。培养基组成: 1 mL 人工合成的 ferrihydrite 悬液(含铁量为 $367.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ NH}_4\text{Cl}$ 溶液 1 mL, $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ KH}_2\text{PO}_4$ - K_2HPO_4 缓冲液 1 mL 及碳源 1 mL。试验设置 4 种碳源处理, 按等摩尔量碳原则, 分别加入 $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 葡萄糖(Glu)溶液、 $0.50 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 丙酮酸钠(Pyr)溶液、 $0.50 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乳酸钠(Lac)溶液及 $0.75 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酸钠(Ace)溶液。对照不加碳源, 用 1 mL 无菌水代替。充 N_2 除去瓶中 O_2 , 用橡胶盖及铝盖密封, 15°C 恒温培养。分别在厌氧培养的 1、5、10、15、20、30、40、50、60、80 d 测定体系中 Fe(Ⅱ) 浓度变化, 比较不同碳源条件下微生物的铁还原能力差异。

1.2.2 温度对微生物铁还原过程的影响

选取 4°C 保存的 S3 采样点沉积物鲜样, 按 1.2.1 中方法制备接种液并分别接种至 4 种碳源处理的培养基中, 设置不加碳源的对照, 分别在 15°C 和 30°C 恒温箱中厌氧培养。测定厌氧培养过程中 Fe(Ⅱ) 浓度变化, 探讨温度变化对微生物铁还原能力的影响。

1.2.3 淹水时间对微生物铁还原过程的影响

称取风干的 S3 沉积物样品 8.00 g 4 份, 分别置于 25 mL 血清瓶中, 并加入 8 mL 人工海水(含盐量为 3%)充氮除氧, 密封。于 15°C 培养箱中培养, 分别在 1、5、15 d 和 30 d 各取出 1 瓶, 按 1:9 的土水比加入无菌水, 定量地转移到 80 mL 离心管中, $180 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 恒温振荡 1 h, 静置 30 min, 收集上清液, 用作微生物接种液。按 1.2.1 中方法, 分别吸取 1 mL 接种液加至 4 种碳源处理的培养基中, 设置不加碳源的对照。 15°C 厌

氧培养,定期测定培养过程中 Fe(II) 浓度变化,比较不同恢复培养时间下提取的微生物群落的铁还原能力差异。

1.2.4 pH 对微生物铁还原过程的影响

选取 4℃ 保存的 S6 采样点沉积物鲜样,按 1.2.1 中方法制备接种液并分别接种于 pH3~6 和 pH8~11 的以葡萄糖为碳源的缓冲体系中。体系中添加的 Fe(OH)_3 浓度为含铁 $716.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,氮和磷浓度同 1.2.1。30℃ 厌氧培养,定期测定培养过程中 Fe(II) 浓度变化。pH 控制采用 Michaelis 缓冲体系(pH8~11)及邻苯二甲酸氢钾体系(pH1~6.2),配制方法见文献[15]。

1.2.5 Fe(III) 还原特征分析

利用表征微生物生长动力学的 Logistic 方程对不同处理 Fe(III) 还原过程中 Fe(II) 累积浓度和时间的关系进行拟合。Logistic 方程的表达式为:

$$C_t = a / (1 + b e^{-kt})$$

式中: C_t 表示培养时间 t 时体系中 Fe(II) 的含量; a 为体系中 Fe(II) 的最大累积量,即 Fe(III) 还原的最大潜势; b 为模型参数; k 为反应的速率常数。

最大反应速率($V_{\max}$)数值上等于 $0.25 ak$; 最大还原速率对应的时间($TV_{\max}$)用 $\ln b/k$ 计算。 Fe(III) 还原率(%)用 Fe(II) 的最大累积量(a)占体系中 Fe(OH)_3 含量的百分比表示。用 CurveExpert 1.3 分析软件对数据进行拟合分析,用 DPS 9.05 统计软件进行方差分析和多重比较(LSD 法)。

2 结果与分析

2.1 碳源对渤海海洋沉积物微生物群落 Fe(III) 还原能力的影响

不同水质海区沉积物中微生物群落利用不同碳源的 Fe(III) 还原情况如图 2 所示。不同水质海区沉积物的微生物群落对 Fe(III) 还原反应具有相似的碳源利用规律,其利用 4 种碳源的 Fe(III) 还原能力均表现为葡萄糖>丙酮酸盐>乳酸盐>乙酸盐。而相同碳源处理在不同水质条件下的 Fe(III) 还原反应则表现出一定的差异。

采用 Logistic 方程拟合得到相关铁还原特征参数见表 1。葡萄糖处理的铁还原潜势(a)在不同沉积物

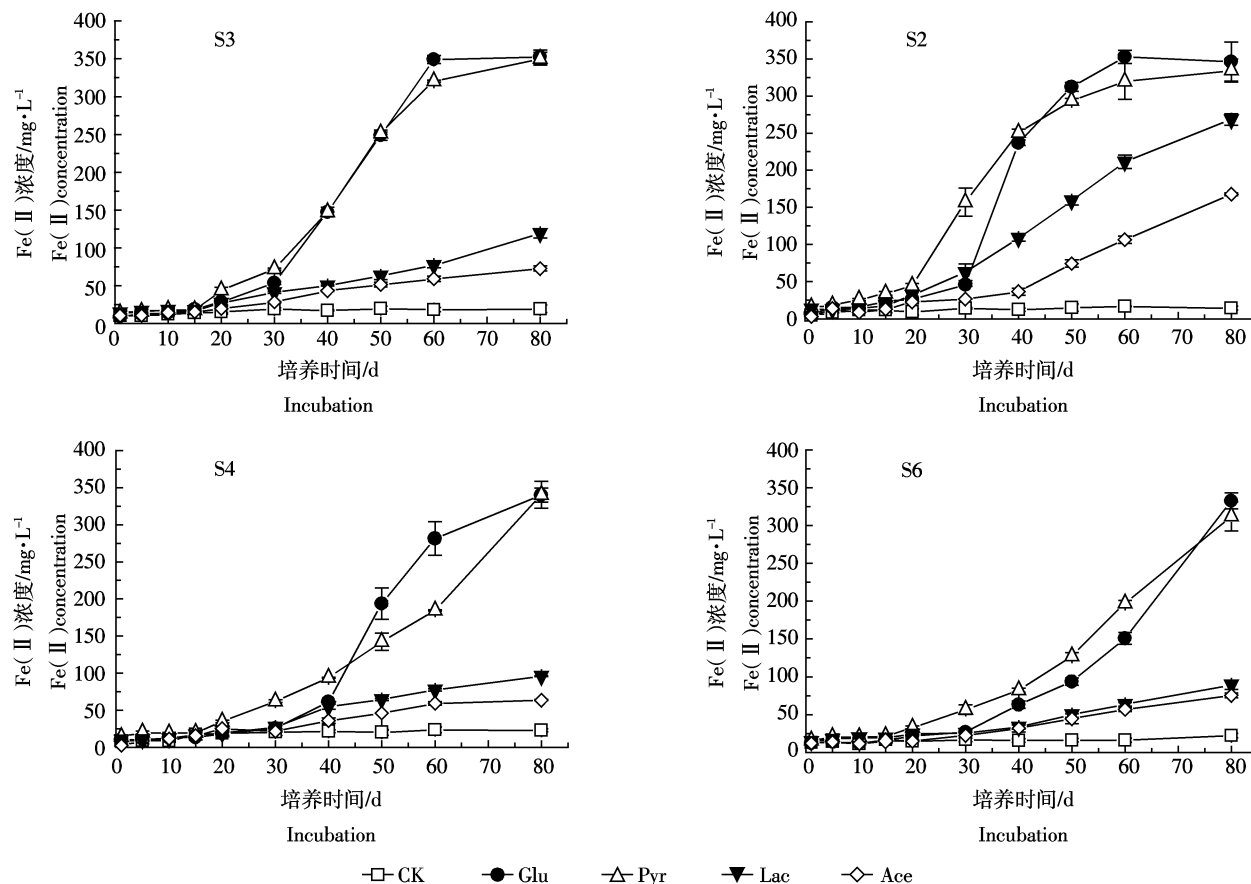


图 2 不同水质海区沉积物的微生物群落利用不同碳源下的 Fe(II) 浓度变化

Figure 2 The changes of Fe(II) concentration in different quality marine sediments and carbon sources

之间的变化为 353.1~374.4 mg·L⁻¹, 最大铁还原速率($V_{\max}$)为 8.08~14.42 mg·L⁻¹·d⁻¹, 最大铁还原速率对应的时间($TV_{\max}$)为 37.0~62.0 d; 利用丙酮酸盐时, a 值为 343.9~374.4 mg·L⁻¹, $V_{\max}$ 为 6.06~10.69 mg·L⁻¹·d⁻¹, $TV_{\max}$ 为 33.4~57.7 d; 利用乳酸盐时, a 值为 136.0~289.5 mg·L⁻¹, $V_{\max}$ 为 1.23~5.58 mg·L⁻¹·d⁻¹, $TV_{\max}$ 为 47.0~64.6 d; 利用乙酸盐时, a 值为 101.6~180.3 mg·L⁻¹, $V_{\max}$ 为 1.10~3.27 mg·L⁻¹·d⁻¹, $TV_{\max}$ 为 47.8~56.0 d。

2.2 培养温度对微生物群落 Fe(Ⅲ)还原能力的影响

从图 3 可以看出, 葡萄糖和丙酮酸盐作为碳源时, 30℃培养下的 Fe(Ⅲ)还原能力显著高于 15℃培养处理。乳酸盐处理中, 30℃培养下的 Fe(Ⅲ)还原能

力略高于 15℃培养处理, 其优势在培养 50 d 后开始表现。而温度的变化对于乙酸盐处理几乎没有影响。在优势碳源葡萄糖和丙酮酸盐培养条件下, 其 Fe(Ⅲ)还原能力在 15℃至 30℃之间可随温度的升高而增强。

2.3 淹水时间对微生物群落 Fe(Ⅲ)还原能力的影响

不同淹水时间下 S3 微生物群落利用不同碳源的铁还原能力如图 4 所示。沉积物风干样采用不同淹水时间恢复培养后, 其微生物群落利用不同碳源的铁还原能力表现出一定的差异。在葡萄糖和丙酮酸盐处理中, Fe(Ⅲ)还原能力随着淹水时间延长显著增加; 乳酸盐处理仅在淹水 5 d 处理中的铁还原能力有明显

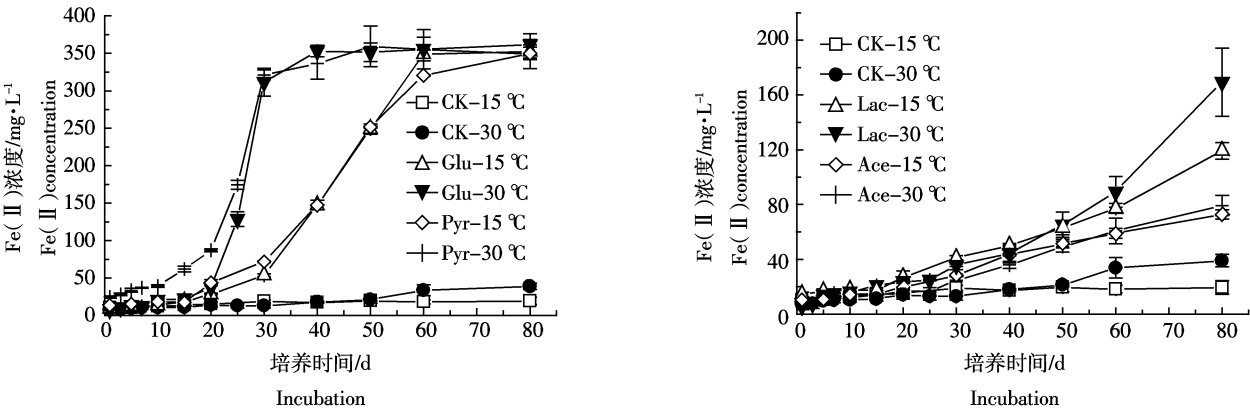


图 3 不同温度下 S3 微生物群落利用不同碳源的铁还原能力
Figure 3 The changes of Fe(Ⅱ) concentration in different carbon sources and temperature

表 1 不同水质海区微生物群落利用不同碳源的 Fe(Ⅲ)还原动力学拟合参数

采样点 Site	碳源 Carbon	Logistic 方程参数 Logistic model parameters				$V_{\max}/$ mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹	$TV_{\max}/$ d	Fe(Ⅲ)还原率/% Reduction rate
		a	b	k	r			
S3(Ⅰ类)	葡萄糖	368.3±8.2	227.2±18.4	0.125 6±0.003 2	0.996 9	11.56±0.07	43.2±0.6	100.1±2.2
	丙酮酸盐	364.3±8.9	83.7±10.3	0.103 6±0.004 7	0.998 0	9.42±0.20	42.7±0.8	99.0±2.4
	乳酸盐	166.0±7.9	12.3±0.8	0.041 4±0.000 9	0.996 4	1.72±0.09	60.6±1.8	45.1±2.1
	乙酸盐	124.2±1.0	12.3± 0.8	0.046 0±0.001 8	0.997 1	1.43±0.05	54.9±1.2	33.8±0.3
S2(Ⅱ类)	葡萄糖	363.2±8.4	362.8±67.9	0.158 9±0.006 1	0.997 3	14.42±0.41	37.0±0.5	98.7±2.3
	丙酮酸盐	343.9±8.9	64.0± 5.8	0.124 5±0.005 7	0.997 7	10.69±0.23	33.4±1.4	93.5±2.4
	乳酸盐	289.5±8.9	38.6±11.4	0.077 1±0.005 2	0.998 8	5.58±0.48	47.0±0.9	78.7±2.4
	乙酸盐	180.3±2.1	52.9±13.4	0.072 6±0.004 5	0.997 4	3.27±0.19	54.4±0.5	49.0±0.6
S4(Ⅲ类)	葡萄糖	353.1±6.5	444.1±2.7	0.124 5±0.005 6	0.997 8	10.99±0.52	49.0±2.2	96.0±1.8
	丙酮酸盐	374.4±5.4	40.9±3.9	0.064 7±0.001 4	0.996 1	6.06±0.19	57.3±0.4	101.8±1.5
	乳酸盐	152.7±2.4	14.4±1.7	0.044 0±0.003 1	0.994 0	1.68±0.09	60.5±1.7	41.5±0.7
	乙酸盐	104.9±1.4	14.1±3.1	0.055 3±0.006 1	0.996 5	1.44±0.14	47.8±1.3	28.5±0.4
S6(Ⅳ类)	葡萄糖	374.4±10.5	211.3±10.5	0.086 3±0.000 9	0.993 9	8.08±0.24	62.0±0.7	101.8±2.9
	丙酮酸盐	367.7±4.6	46.1± 4.6	0.066 3±0.002 4	0.997 3	6.10±0.29	57.7±0.7	99.9±1.3
	乳酸盐	136.0±8.2	10.3± 1.0	0.036 0±0.000 6	0.992 8	1.23±0.09	64.6±1.9	37.0±2.2
	乙酸盐	101.6±1.0	11.4± 0.9	0.043 5±0.002 3	0.993 2	1.10±0.05	56.0±1.6	27.6±0.3

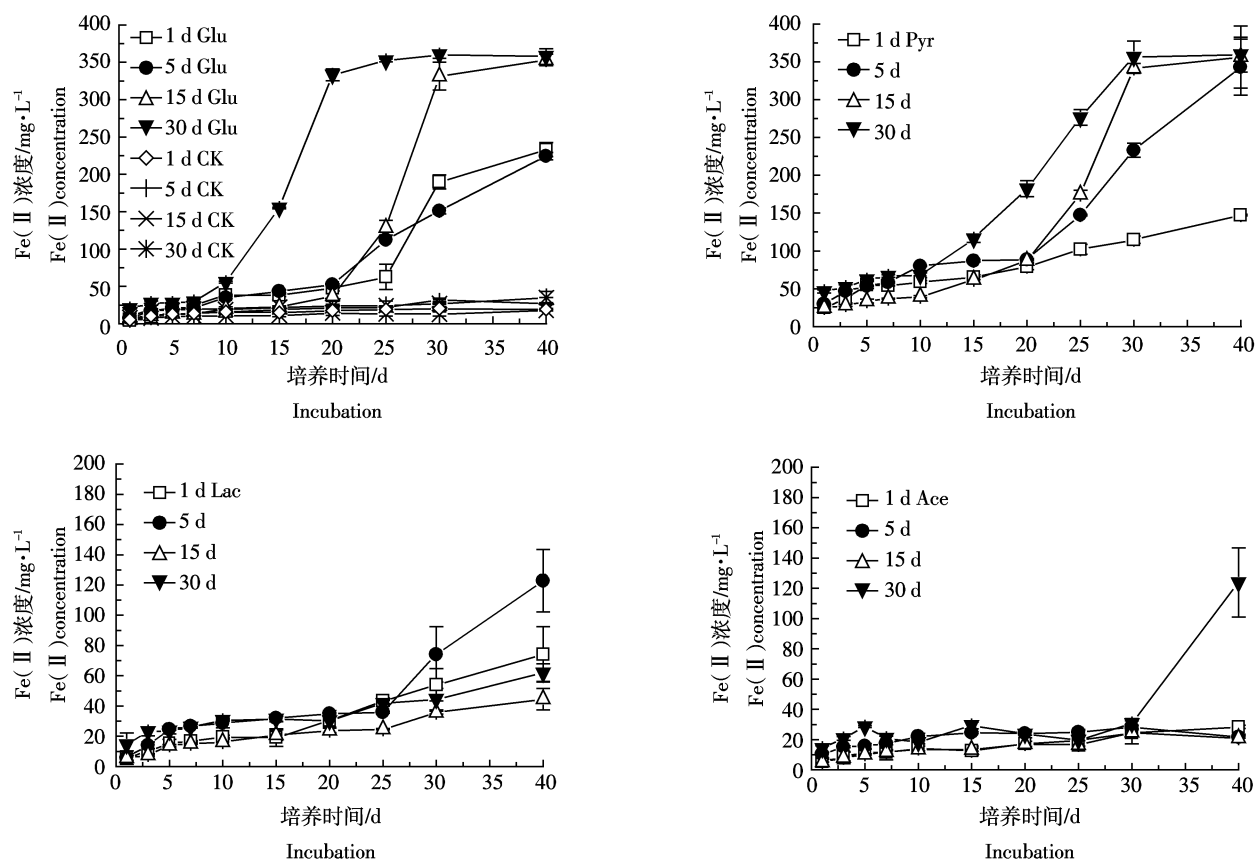


图 4 不同淹水培养时间处理下沉积物微生物群落利用不同碳源的铁还原能力

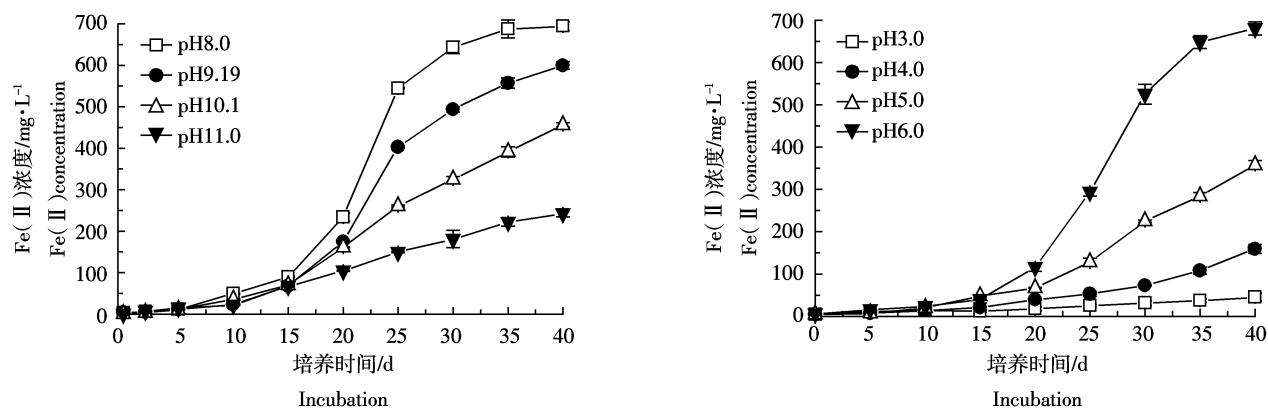
Figure 4 The changes of Fe(II) concentration in different carbon sources and culture time

提高;乙酸盐处理在淹水 30 d 处理中增加迅速。表明对 S3 沉积物样品而言,淹水时间延长可改变其中的微生物群落结构,促进利用葡萄糖和丙酮酸盐的铁还原微生物的恢复增长。

2.4 pH 缓冲体系对微生物群落 Fe(III) 还原能力的影响

从图 5 看出,S6 沉积物的微生物群落在不同的 pH 条件下的 Fe(III) 还原能力具有明显的差异。在

pH8.0~11.0 的缓冲体系中, Fe(II) 产生量随着 pH 值升高而逐渐降低,而在 pH3.0~6.0 的缓冲体系中, Fe(III) 还原能力随着 pH 值升高而逐渐增强。在本试验条件下,pH6.0 处理与 pH8.0 处理具有相似的 Fe(III) 还原能力,表明在此区间较适合其铁还原微生物的快速生长,从而增加了铁还原能力。

图 5 不同 pH 值对 S6 沉积物微生物群落 Fe(II) 还原能力的影响Figure 5 The changes of Fe(II) concentration in different pH

3 讨论

关于水质状况与沉积物中微生物铁还原能力的关系,赵佳佳等^[13]已有初步报道,从沉积物直接培养的结果来看,受人为影响严重的近岸水域的 Fe(Ⅲ)还原能力较强,其主要与由陆域输入的有机物及泥沙(含有大量氧化铁)有关。本研究主要针对由不同水质海区沉积物中提取的微生物群落,旨在比较受人为活动影响下的微生物群落自身的铁还原能力。从方差分析结果(表 2)看出,4 类不同水质状况下的微生物群落的铁还原能力亦存在显著差异,其 $V_{\max}$ 和 $TV_{\max}$ 的变化特征最为明显。说明人为活动影响能够改变沉积物中铁还原微生物的群落结构,从而影响其 Fe(Ⅲ)还原能力。

在环境中,特定的微生物种群都具有其碳源代谢特点。例如在已被分离的异化铁还原菌株中,只有地杆菌(*Geobactor*)和厌氧粘细菌(*Anaeromyxobacter*)可以代谢乙酸盐^[11,16],而一些同时可以还原金属的硫酸盐还原菌则对乳酸盐具有很好的选择性,如西瓦氏菌属(*Shewanella*)的 MR-1 菌株(*Shewanella putrefaens*)^[17-18],对能够还原 Fe(Ⅲ)的一些梭菌(*Clostridium*)、芽胞杆菌(*Bacillus*)及类芽胞杆菌(*Paenibacillus*)可表现出对葡萄糖及丙酮酸盐的高代谢活性^[19-20]。从本研究结果的方差分析发现(表 3),在分别以葡萄糖、丙酮酸盐、

乳酸盐及乙酸盐为唯一碳源时,其 Fe(Ⅲ)还原能力存在极显著差异。葡萄糖和丙酮酸盐为铁还原过程的优势碳源,说明其铁还原过程可能主要依赖于以发酵为主的微生物群落,如梭状芽孢杆菌及类芽孢杆菌等,而地杆菌和厌氧粘细菌的贡献则极其有限。有关其微生物群落变化还有待深入探讨。

温度主要是通过对厌氧微生物体内某些酶活性的影响而改变微生物的生长速率和微生物对基质的代谢速率。特定的异化铁还原微生物群落具有特定的温度耐受范围。张丽新等^[21]证实,在 30℃和 50℃培养温度下,来源于吉林、天津和四川的 3 种水稻土微生物群落添加 AQDS 可使 Fe(Ⅲ)还原的反应速率常数增加 10%~288%,而温度变化的增加幅度为 6%~17%。温度主要是通过对厌氧微生物体内某些酶活性的影响而改变微生物的生长速率和微生物对基质的代谢速率。低温造就了其部分微生物活性的低下,甚至休眠。因此,大多数深海沉积物的有机、无机物被降解、分解的速度就慢,而温度的升高必然迫使或唤醒低迷中的部分微生物活动,从而促进和加速其代谢率。本研究发现,所选取的渤海沉积物微生物群落在 15~30℃的培养条件下,其异化铁还原的活性随着温度的升高而增强。说明沉积物中的微生物群落具有的铁还原能力并非以适应较低温度的群落为主。对于温度对其铁还原微生物群落结构的影响仍需要深入探讨。

表 2 不同水质条件下沉积物微生物群 Fe(Ⅲ)还原动力学参数的方差分析
Table 2 The kinetic dynamics parameters of the iron reduction in different water quality

水质 Water quality	Logistic 方程参数 Logistic model parameters			$V_{\max}/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	$TV_{\max}/\text{d}$	Fe(Ⅲ)还原率/% Reduction rate
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>k</i>			
I	255.7B	83.9B	0.079 1B	6.03B	50.3C	69.2B
II	294.2A	129.6A	0.108 3A	8.49A	43.0D	79.9A
III	246.3C	128.4A	0.072 1C	5.04C	53.6B	66.5C
IV	244.9C	69.8B	0.058 0D	4.13D	60.1A	66.0C

注:大写字母表示多重比较差异显著($P<0.01$)。

Note: Capital means significant differences($P<0.01$)

表 3 渤海海洋沉积物微生物群落利用不同碳源的 Fe(Ⅲ)还原动力学参数的方差分析
Table 3 The kinetic dynamics parameters of the iron reduction in different carbon sources in Bohai bay

碳源 Carbon source	Logistic 方程参数 Logistic model parameters			$V_{\max}/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$	$TV_{\max}/\text{d}$	Fe(Ⅲ)还原率/% Reduction rate
	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>k</i>			
葡萄糖(Glu)	364.7A	311.3A	0.123 8A	11.26A	47.8C	98.4A
丙酮酸盐(Pyr)	362.6A	58.7B	0.089 8B	8.07B	47.8C	97.9A
乳酸盐(Lac)	186.0B	18.9C	0.049 6C	2.55C	58.2A	50.6B
乙酸盐(Ace)	127.7C	22.7C	0.054 3C	1.81D	53.2B	34.7C

注:大写字母表示多重比较差异显著($P<0.01$)。

Note: Capital means significant differences($P<0.01$)

随着淹水时间的变化,沉积物中微生物群落将发生演替,其对有机物的利用状况也会变化。Noll 等^[22]研究水稻土中细菌群落水平的演替动力学过程,发现淹水后 1 h 到 2 d 时细菌的群落结构变化活跃程度最显著,第 2 d 到第 21 d 的变化显著下降,而从第 21 d 到第 168 d 微生物群落结构趋于稳定。尽管海洋沉积物环境与稻田环境有着本质区别,但如果针对从海洋沉积物中分离具有铁还原功能的微生物而言,了解其淹水培养时间及不同碳源利用与铁还原能力的关系则是非常必要的。本研究发现,随着淹水时间延长,沉积物微生物群落中利用葡萄糖和丙酮酸盐的微生物不断恢复增长,导致铁还原能力增强。表明以葡萄糖和丙酮酸盐来筛选和分离沉积物中的铁还原微生物可以作为有效的手段之一。

微生物的生长、物质代谢与 pH 值有着密切的关系,一般表现为过高或过低的 pH 值对微生物生长不利^[23-24]。本研究显示,由沉积物中提取的微生物群落在 pH 值 6~8 的缓冲体系中 Fe(Ⅲ)还原能力较强,说明在 Fe(Ⅲ)还原过程中耐酸或耐碱的铁还原微生物并非其主要贡献。另一方面,从 pH4.0 或 pH11.0 条件下依然具有一定的 Fe(Ⅲ)还原能力来看,说明沉积物中仍然有部分耐受性铁还原微生物存在。

4 结论

水质对沉积物中微生物群落的 Fe(Ⅲ)还原能力影响显著,依次表现为Ⅱ类>Ⅰ类>Ⅲ类>Ⅳ类,表明沉积物中微生物群落的铁还原能力亦明显受到人为活动的影响,水体污染严重时其铁还原能力减弱。不同水质海区沉积物提取的微生物群落均可以葡萄糖和丙酮酸盐为优势碳源,并迅速还原 Fe(Ⅲ),利用不同碳源的铁还原能力表现为葡萄糖>丙酮酸盐>乳酸盐>乙酸盐。在 15℃至 30℃之间,葡萄糖和丙酮酸盐处理的 Fe(Ⅲ)还原能力会随着温度的升高而升高。表明在其微生物能够利用的优势碳源下,提高培养温度可促进铁还原反应的效率。随着淹水时间延长,沉积物微生物群落中利用葡萄糖和丙酮酸盐的微生物不断恢复增长,导致铁还原能力增强。在人为控制 pH 的条件下,随着体系 pH 值由 8.0 升高到 11.0 或由 6.0 降低到 3.0,体系中 Fe(Ⅲ)还原能力均逐渐降低。

参考文献:

- [1] Lovley D R, Coates J D. Novel forms of anaerobic respiration of environmental relevance[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2000, 3(3): 252-256.
- [2] Fredrickson J K, Kostandarites H M, Li S W, et al. Reduction of Fe(Ⅲ), Cr(Ⅵ), U(Ⅵ), and Te(Ⅶ) by *deinococcus radiodurans* R1[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(5): 2006-2011.
- [3] Lovley D R, Phillips E J, Corby Y A, et al. Microbial reduction of uranium[J]. *Nature*, 1991, 350(4): 413-416.
- [4] Lovley D R, Blunt-Harris E L. Role of humic-bound iron as electron transfer agent in dissimilatory Fe(Ⅲ) reduction[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(9): 4252-4254.
- [5] Qu D, Wang B L, Mao H. Effect of iron(Ⅲ) reduction on Cr(Ⅵ) reduction in paddy soil//Biogeochemistry of trace elements: Environmental protection, remediation and human health[M]. ZHU Yongguan, Lepp N, Naidu R. Beijing: Tsinghua University Press, 2007: 233-234.
- [6] 刘 硕, 曲 东. 苯系物作为唯一碳源对异化铁还原过程的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2006, 34(10): 101-106. LIU Shuo, QU Dong. Effects of benzene analogs as sole carbon source on dissimilatory iron reduction[J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 2006, 34(10): 101-106.
- [7] 曹 宁, 曲 东. 水稻土中铁还原与无机磷有效性的关系[J]. 土壤通报, 2007, 38(3): 504-507. CAO Ning, QU Dong. The relationship between iron oxides reduction and inorganic phosphorus availability in four paddy soils of China[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2007, 38(3): 504-507.
- [8] Qu D, Ratering S, Schnell S. Microbial reduction of weakly crystalline iron(Ⅲ) oxides and suppression of methanogenesis in paddy soil[J]. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 2004, 72(6): 1172-1181.
- [9] 曲 东, 张一平, Schnell S, 等. 添加氧化铁对水稻土中 H₂、CO₂ 和 CH₄ 形成的影响[J]. 应用生态学报, 2003, 14(8): 1313-1316. QU Dong, ZHANG Yi-ping, Schnell S, et al. Effect of iron oxide addition on hydrogen, carbon dioxide and methane geneses in paddy soil[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2003, 14(8): 1313-1316.
- [10] 曲 东, Schnell S. 外源氧化铁对水稻土甲烷形成的抑制[J]. 环境科学学报, 2002, 22(1): 65-69. QU Dong, Schnell S. Suppression of methanogenesis by iron oxides in paddy soil[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2002, 22(1): 65-69.
- [11] Coates J D, Lonergan D J, Phillips E J, et al. *Desulfuromonas palmitatis* sp. nov., a marine dissimilatory Fe(Ⅲ) reducer that can oxidize long-chain fatty acids[J]. *Archives of Microbiol*, 1995, 164(6): 406-413.
- [12] Coates J D, Phillips E J, Lonergan D J, et al. Isolation of *Geobacter* species from diverse sedimentary environments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(5): 1531-1536.
- [13] 赵佳佳, 易维洁, 曲 东. 渤海沉积物中氧化铁的异化还原特征[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(9): 1789-1794. ZHAO Jia-jia, YI Wei-jie, QU Dong. The characteristics of microbial iron reduction in marine sediments from Bohai bay[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(9): 1789-1794.
- [14] Cornell R M, Schwertmann U. The iron oxides: Structures, properties, reactions, occurrences and uses[M]. Weinheim: Wiley-VCH, 2003.
- [15] 朱盈权, 李俊义. 实用分析化学[M]. 成都: 四川人民出版社, 1981: 537-539.
- [16] Robert A S, James R C, James M T. Characterization and description of *Anaeromyxobacter dehalogenans* gen. nov., sp. nov., an aryl-halo-respir-

- ing facultative anaerobic myxobacterium[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(2):893-900.
- [17] Lovley D R, Holmes D E, Nevin K P. Dissimilatory Fe(Ⅲ) and Mn(Ⅳ) reduction[J]. *Advances in Microbiology Physiology*, 2004, 49: 219-286.
- [18] Kostka J E, Nealson K H. Dissolution and reduction of magnetite by bacteria[J]. *Environ Sci Technol*, 1995, 29(10):2535-2540.
- [19] 易维洁, 曲东, 朱超, 等. 3株铁还原细菌利用不同碳源的还原特征分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2009, 37(2): 181-186.
- YI Wei-jie, QU Dong, ZHU Chao, et al. Fe(Ⅲ) reduction characteristics of three iron reducers using different carbon sources[J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 2009, 37(2):181-186.
- [20] 关舒元, 朱超, 王保莉, 等. 铁还原菌株 P4 的碳源利用特征及其系统发育学分析[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008, 36(3):117-123.
- GUAN Shu-yuan, ZHU Chao, WANG Bao-li, et al. Characterization of iron reduction using different carbon sources and phylogenetic analysis of Fe(Ⅲ)-reducing microorganism P4[J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 2008, 36(3):117-123.
- [21] 张丽新, 曲东, 易维洁. 温度及 AQDS 对氧化铁微生物还原过程的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2009, 37(3): 193-199.
- ZHANG Li-xin, QU Dong, YI Wei-jie. Effect of temperature and AQDS on ferric oxide microorganism reduction process[J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*, 2009, 37(3):193-199.
- [22] Noll M, Matthies D, Frenzel P, et al. Succession of bacterial community structure and diversity in a paddy soil oxygen gradient[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(3):382-395.
- [23] 王清良, 刘选明. pH 值与温度对氧化亚铁硫杆菌氧化 Fe^{2+} 影响的研究[J]. 矿冶工程, 2004, 24(2):36-38.
- WANG Qing-liang, LIU Xuan-ming. Effects of pH and temperature on thiobacillus ferrooxidans oxidation of Fe^{2+} [J]. *Mining and Metallurgical Engineering*, 2004, 24(2):36-38.
- [24] 荆国华, 李伟, 施耀, 等. Fe^{3+} (EDTA)还原菌的分离及其性能[J]. 中国环境科学, 2004, 24(4):447-451.
- JIN Guo-hua, LI Wei, SHI Yao, et al. Isolation and its properties of bacterial strain for Fe^{3+} (EDTA) reduction[J]. *China Environmental Science*, 2004, 24(4):447-451.