

有机碳源对水稻土中微生物铁还原特征的影响

宋建潇, 吴超, 曲东*

(西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:水稻土中的 Fe(III) 还原过程是微生物介导的生物学过程, 是地球化学循环中重要的一部分。为了探讨不同的电子供体对水稻土异化铁还原过程的影响, 采用厌氧泥浆的培养方式, 向水稻土中添加葡萄糖、乙酸钠、丙酮酸钠、乳酸钠作为碳源, 定期测定 Fe(II) 的累积量和 pH 变化, 并用 Logistic 方程对结果进行拟合分析。结果表明, 供试的 4 种水稻土均能较好地利用葡萄糖、丙酮酸盐和乳酸盐还原 Fe(III), 而乙酸盐则不同程度的抑制了铁还原过程的发生, 特别是吉林水稻土添加乙酸盐后, 这种抑制作用更明显。4 种水稻土添加丙酮酸盐的处理具有最大铁还原速率($V_{\max}$), 并且达到最大铁还原速率的时间($T_{V_{\max}}$)最短。不同来源水稻土微生物在利用碳源时具有一定的选择性。影响不同水稻土铁还原势的主要因素是水稻土中无定形铁的含量, 土壤全磷含量过高时对铁还原过程也有一定的抑制作用, 添加碳源后体系 pH 同 Fe(II) 累积量之间表现出显著负相关。

关键词:水稻土; 碳源; 微生物铁还原

中图分类号: X131.3 文献标志码: A 文章编号: 672-2043(2013)02-0299-08 doi:10.11654/jaes.2013.02.013

The Effect of Organic Carbon on Microbial Iron Reduction in Paddy Soils

SONG Jian-xiao, WU Chao, QU Dong*

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

Abstract: As an important part of geochemistry cycles, the dissimilatory iron reduction in paddy soil is a biological process catalyzed by microorganisms. In order to study the influence of different electron donors on microbial iron reduction in paddy soil, glucose, acetate, pyruvate and lactate was added to the anaerobic slurry of different paddy soils which were cultured under constant temperature. The accumulation of Fe(II) and pH was monitored at regular intervals, and the test data were fitted and analyzed by Logistic model. The results showed that the four kinds of paddy soils can make good use of glucose, pyruvate and lactate to reduce Fe(III) as carbon sources, while acetate inhibited the reduction of Fe(III), especially in Jilin paddy soil. The treatments with pyruvate had the maximum Fe(III) reduction rate($V_{\max}$) in all the four types of paddy soils, and took the shortest time to reach $V_{\max}$. Microorganisms from different paddy soil had a certain selective to carbon sources. The main factor that influences the potential capacity of reducing Fe(III) in paddy soil is the content of amorphous iron. High content of soil total phosphorus also inhibited the process of iron reduction. Besides, there was a negative correlation between pH and the concentration of Fe(II) in the incubation system with carbon sources.

Keywords: paddy soil; carbon sources; microbial iron reduction

从 20 世纪 90 年代初期开始, 微生物介导的异化铁还原过程被认为是还原 Fe(III) 的主要途径^[1-2]。铁还原微生物在生态系统中分布广泛, 在分解有机物、抑制甲烷产生^[3-4]以及影响微量元素的迁移等方面有

突出的贡献^[5]。研究表明, 在深水湖泊中异化铁还原对有机物分解的贡献可达 44%^[6-7], 而在无定形铁氧化物含量更丰富的深海区域, 有机碳矿化中异化铁还原的贡献可达 75%^[8]。多数铁还原微生物都能够以 H_2 和有机酸作为电子供体获得能量生长并还原 Fe(III)。以 *Geobacter*^[9] 和 *Shewanella*^[10] 属为代表的铁还原微生物类型能够分别以乙酸盐和乳酸盐为唯一电子供体获得能量生长, 这类铁还原菌被称作呼吸型铁还原菌, 而另一类铁还原微生物被称作发酵型铁还原菌,

收稿日期: 2012-07-11

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(40971158)

作者简介: 宋建潇(1988—), 女, 陕西安康人, 硕士研究生, 主要从事土壤环境化学研究。E-mail: sjx2008hao@163.com

* 通信作者: 曲东 E-mail: dongqu@nwsuaf.edu.cn

能够通过代谢糖类得到发酵产物(如甲酸、乙酸、丙酮酸和 H_2 等)而还原 $Fe(III)$ [11-12]。

水稻土是自然生态系统重要的生境类型,铁还原过程是水稻土中仅次于产甲烷过程的重要的厌氧电子传递反应 [13]。研究水稻土中的 $Fe(III)$ 还原过程具有重要的生态学意义。厌氧条件下有机质的利用和转化对水稻土中铁还原的影响受到了研究人员的关注,研究发现人为向水稻土中添加有机碳源能够影响土壤中微生物群落结构和数量,继而影响微生物的异化铁还原过程 [14-15],并且不同的水稻土对碳源的响应存在一定的差异 [16],本文拟采用厌氧泥浆培养体系,添加葡萄糖、乙酸钠、丙酮酸钠、乳酸钠为铁还原过程提供电子供体,研究不同来源的水稻土利用不同碳源时的铁还原特征及其差异,并比较其差异来源,为稻田生态系统有机物代谢机制及途径提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试水稻土分别采自吉林省吉林市永吉县万昌镇朱家村(用 JL 表示),天津宝坻王卜庄镇后张司马村(用 TJ 表示),宁夏中卫市沙坡头区滨河镇大板村(用 NX 表示)和贵州省贵阳市花溪区麦乃村(用 GZ 表示)。采集 0~20 cm 耕层土壤,风干,磨细,过 1 mm 筛,贮存备用。供试土样的理化性质分别为:有机碳含量 16.58、9.07、15.38、41.34 $g \cdot kg^{-1}$;全氮含量 2.35、2.95、1.75、3.07 $g \cdot kg^{-1}$;全磷含量 0.31、0.58、0.70、0.49 $g \cdot kg^{-1}$;游离铁含量 15.22、20.29、13.35、20.27 $g \cdot kg^{-1}$;无定形铁含量 3.90、3.66、1.59、4.49 $g \cdot kg^{-1}$;pH 值 6.74、7.75、7.59 和 7.66。

1.2 试验方案及方法

试验设置 5 个处理,分别为添加葡萄糖(用 Glu 表示)、乳酸钠(用 Lac 表示)、乙酸钠(用 Ace 表示)、丙酮酸(用 Pyr 表示)和去离子水作为对照(用 CK 表示),碳源浓度按照等摩尔碳量原则配置,分别配置浓度为 0.25 $mol \cdot L^{-1}$ 的葡萄糖,0.5 $mol \cdot L^{-1}$ 的乳酸钠和丙酮酸钠,以及 0.75 $mol \cdot L^{-1}$ 乙酸钠溶液。称取 3.000 g 过 1 mm 筛的风干水稻土若干份,分别置于 10 mL 血清瓶中,添加 3 mL 不同碳源,对照试验添加 3 mL 去离子水,保持水土比为 1:1。加橡胶盖,充氮除氧,用铝盖密封,于 30 $^{\circ}C$ 下恒温培养。定期取不同处理各一瓶,测定其 pH 值和 $Fe(II)$ 含量。测定时将血清瓶内泥浆充分摇匀后,用自动加样器取 0.4 mL 泥

浆悬液 3 份,分别置于含有 4.6 mL 盐酸浸提液(0.5 $mol \cdot L^{-1}$)的带盖聚乙烯塑料管中,同时根据采样前后称重,得到泥浆重量,计算干土重。将聚乙烯塑料管置于 30 $^{\circ}C$ 恒温浸提 24 h 后,于 3500 $r \cdot min^{-1}$ 下离心 10 min,吸取上清液 1.0 mL,采用邻菲罗啉分光光度法测定 $Fe(II)$ 浓度,并根据稀释倍数计算每克干土中 $Fe(II)$ 含量。

1.3 动力学模型

用描述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: $y=a/(1+be^{-cx})$ 。式中: y 为不同时刻的 $Fe(II)$ 浓度; x 为反应时间; a , b , c 均为参数。

通过方程拟合,可求出 $Fe(III)$ 还原的最大潜势,即 $Fe(II)$ 最大累积量(数值等于参数 a);反应速率常数(数值等于参数 c); $Fe(III)$ 最大还原速率 V_{max} (数值等于 0.25 a)和最大还原速率对应的时间 T_{Vmax} [数值为 $\ln(b/c)$]。用 Curxpt 1.3 软件进行拟合分析。

1.4 聚类分析方法

为了能够更直观的分析不同碳源对不同来源水稻土铁还原过程的影响是否一致,采用聚类分析对不同处理下的铁还原参数 a 、 V_{max} 和 T_{Vmax} 作为分析变量进行聚类。使用 SPSS17.0 对原始数据进行标准化处理后进行聚类分析。具体方法为采用 SPSS17.0 软件包中的聚类分析程序对不同碳源处理下的水稻土样品进行聚类分析,采用欧氏距离测量,每个样本间用 Average linkage 法连结。

2 结果与分析

2.1 不同水稻土厌氧泥浆培养过程中铁还原特征

不同来源水稻土在厌氧泥浆培养过程中 $Fe(II)$ 累积量的变化特征如图 1 所示。不同处理下 $Fe(II)$ 的累积量均呈现出先增加后趋于稳定的趋势,4 种供试水稻土在利用不同碳源时铁还原特征存在差异。丙酮酸盐是 4 种水稻土的优势碳源,而乙酸盐则不能被很好的利用。比较 GZ 水稻土可知丙酮酸盐、葡萄糖和乳酸盐的处理,反应初期 $Fe(II)$ 含量迅速上升,最终累积量同对照接近(8.00 $mg \cdot g^{-1}$)。乙酸盐处理下, $Fe(II)$ 的累积量最终只达到 5.62 $mg \cdot g^{-1}$ 。TJ 水稻土中,各个碳源处理间的差异主要表现在反应前期。丙酮酸盐处理在反应 8 d 后, $Fe(II)$ 累积量即达到稳定。而葡萄糖和乳酸盐的处理则在反应的前 20 d 内持续累积 $Fe(II)$ 。反应达到稳定时,3 种碳源的 $Fe(II)$

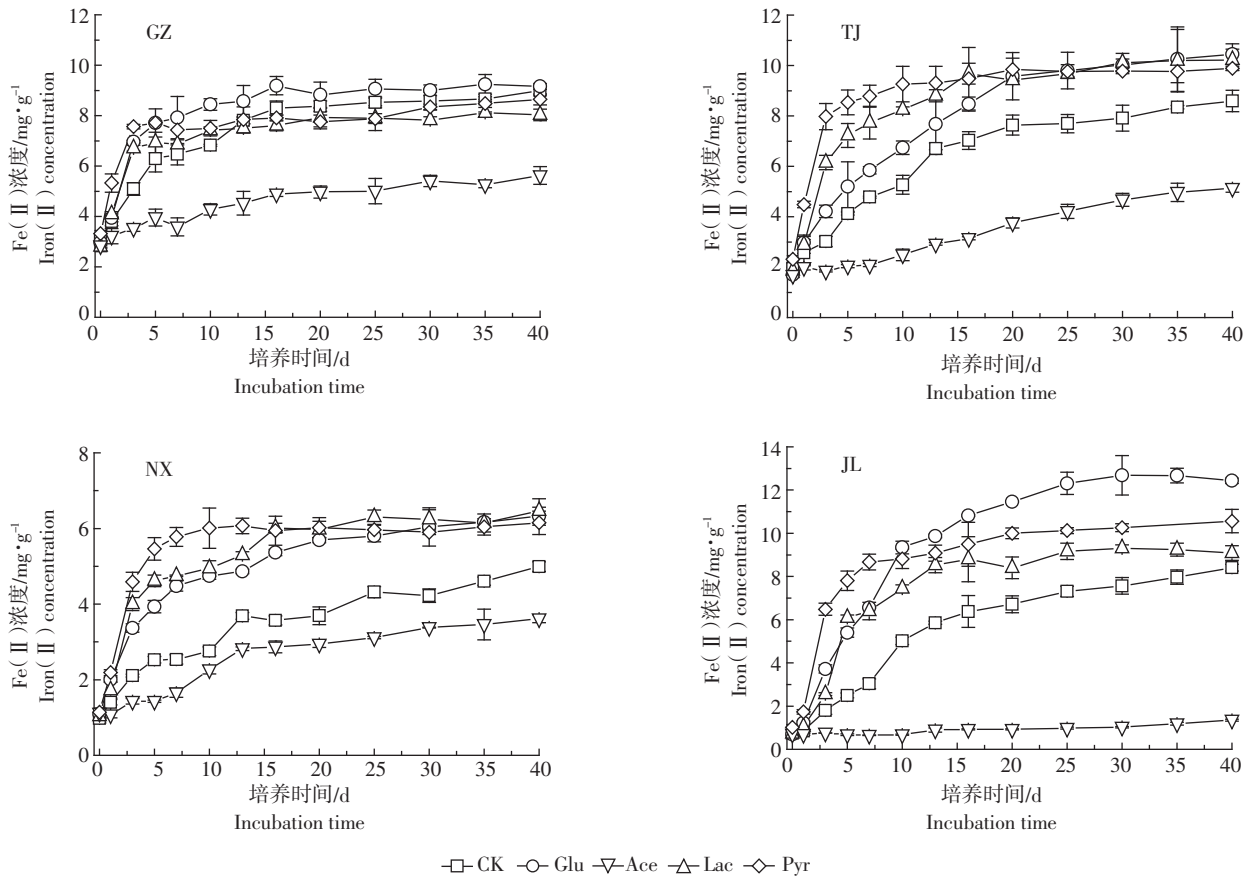


图 1 不同水稻土厌氧泥浆培养过程中铁还原特征

Figure 1 Reductive characteristics of paddy soils microbial community in anaerobic mud

浓度均达到 $9.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 左右。乙酸盐的处理在培养结束时 $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量仅达到 $5.13 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。NX 水稻土各个处理达到稳定时 $\text{Fe}(\text{II})$ 含量明显低于同一碳源处理下的其他水稻土,丙酮酸盐、葡萄糖和乳酸盐处理最终的 $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量在 $6.00 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 左右,反应的前 10 d 内, $\text{Fe}(\text{II})$ 累积速率最快的是丙酮酸盐,其次是乳酸盐和葡萄糖的处理,对照和乙酸盐的处理反应较缓慢,反应结束时 $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量分别为 4.99 、 $3.61 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。同其他 3 种水稻土不同的是, JL 水稻土的各个处理在反应稳定后, $\text{Fe}(\text{II})$ 的浓度存在差异,表现为葡萄糖处理 ($12.43 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$) > 丙酮酸盐处理 > 乳酸盐处理 > 乙酸盐处理 ($1.35 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$)。泥浆培养前期,反应速率最快的是丙酮酸盐处理,其次是乳酸盐和葡萄糖处理。

2.2 不同水稻土厌氧泥浆培养过程中微生物利用不同碳源的动力学拟合

使用 Logistic 方程对 4 种水稻土厌氧培养过程微生物还原 $\text{Fe}(\text{III})$ 的过程进行动力学拟合,得到的结果如表 1 所示。除 JL 水稻土添加乙酸盐的处理不

能拟合,其他各个处理的决定系数均在 $0.97 \sim 0.99$ 之间,表明 Logistic 方程能较好地描述水稻土厌氧泥浆培养过程中微生物还原 $\text{Fe}(\text{III})$ 的特征。比较 GZ、JL、NX、TJ 4 种水稻土的铁还原特征值,水稻土中添加葡萄糖处理的铁还原潜势 (a 值分别为 8.94 、 12.27 、 5.88 、 $10.25 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 干土) 均是不同碳源处理下的最大值,特别是 JL 和 TJ 水稻土添加葡萄糖后 a 值同其他处理之间差异极显著,其次是丙酮酸盐和乳酸盐的处理。相比之下,乙酸盐处理的 a 值显著低于对照,表明乙酸盐对铁还原过程有抑制作用。比较 $V_{\max}$ 可得, GZ、JL、NX、TJ 水稻土利用丙酮酸盐时 $V_{\max}$ 显著高于其他处理 (分别为 2.114 、 1.870 、 1.247 、 $1.969 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), 并且 $T_{V_{\max}}$ 最短 (分别为 0.32 、 2.57 、 1.68 、 1.23 d), 同其他处理之间差异显著,而乙酸盐处理 $V_{\max}$ 较小。4 种供试水稻土中的微生物群落均能较好地利用丙酮酸盐作为电子供体还原 $\text{Fe}(\text{III})$, 而对乙酸盐的利用程度较差。在利用葡萄糖还原 $\text{Fe}(\text{III})$ 时,不同的水稻土表现出不同的铁还原能力。由此可见,水稻土微生物群落利用碳源时有一定的选择性。

表 1 不同水稻土厌氧泥浆培养过程中微生物还原 Fe(Ⅲ)的动力学拟合参数

Table 1 The dynamics fitting parameters of Fe(Ⅲ) reduction process in different soil of anaerobic mud

土样 Soil	处理 Treatment	Logistic 方程参数 Logistic model parameters				$V_{max}/mg \cdot g^{-1} \cdot d^{-1}$	T_{Vmax}/d
		a	b	c	r		
GZ	CK	8.640±0.131A	1.517±0.057BC	0.219±0.024C	0.989 1	0.472±0.045C	1.92±0.32A
	Glu	8.941±0.122A	1.931±0.216A	0.526±0.148B	0.987 0	1.173±0.319B	1.27±0.17B
	Lac	7.696±0.136B	1.677±0.046B	0.674±0.042B	0.978 7	1.296±0.073B	0.77±0.04B
	Ace	5.991±0.739C	1.058±0.068D	0.440±0.124C	0.981 8	0.203±0.154C	0.78±1.13B
	Pyr	7.964±0.095B	1.405±0.077C	1.062±0.192A	0.970 6	2.114±0.383A	0.32±0.050C
JL	CK	7.777±0.161D	7.103±0.142A	0.230±0.011C	0.992 8	0.447±0.019C	8.53±0.35A
	Glu	12.274±0.415A	6.730±0.118A	0.290±0.020C	0.991 3	0.889±0.034B	6.59±0.38B
	Lac	8.862±0.309C	8.638±0.642A	0.481±0.009B	0.987 0	1.065±0.048B	2.89±0.06C
	Ace	—	—	—	—	—	—
	Pyr	9.664±0.136B	7.338±1.875A	0.774±0.154A	0.981 0	1.870±0.363A	2.57±0.21D
NX	CK	4.679±0.052B	2.265±0.031C	0.133±0.007D	0.974 6	0.155±0.009D	6.17±0.36A
	Glu	5.887±0.065A	2.340±0.169C	0.260±0.019C	0.972 5	0.383±0.023C	3.26±0.12B
	Lac	5.996±0.203A	2.980±0.352B	0.419±0.110B	0.964 5	0.625±0.145B	2.66±0.40C
	Ace	3.525±0.176C	2.494±0.04C	0.144±0.021D	0.989 1	0.127±0.013D	6.40±0.75A
	Pyr	5.985±0.033A	4.023±0.170A	0.833±0.072A	0.998 3	1.247±0.109A	1.68±0.10D
TJ	CK	8.298±0.173C	2.674±0.0397A	0.173±0.033C	0.995 0	0.358±0.063CD	5.68±0.22B
	Glu	10.251±0.466A	2.932±0.303A	0.130±0.026C	0.992 1	0.461±0.048C	6.01±0.97B
	Lac	9.649±0.194B	2.911±0.233A	0.400±0.006B	0.977 3	0.964±0.005B	2.67±0.24C
	Ace	6.073±0.365D	2.745±0.303A	0.072±0.005C	0.995 4	0.109±0.003D	14.13±2.34A
	Pyr	9.519±0.054B	2.731±0.125A	0.827±0.130A	0.989 0	1.969±0.315A	1.23±0.15D

注:同一水稻土的同列标有不同大写字母者为差异极显著($P<0.01$),相同大写字母表示差异不显著 $P>0.05$ 。

Note: values with the different capital letter within a column differ significantly ($P<0.01$); values with the same capital letter with a column differ not significantly ($P>0.05$).

2.3 厌氧泥浆培养体系中 pH 变化

由图 2 可以看出,4 个地区的水稻土在淹水培养的过程中,pH 的变化趋势接近。丙酮酸盐处理、乙酸盐处理和乳酸盐处理在培养的 40 d 内,pH 值在 7 附近小幅波动,与对照处理相同,主要是因为当微生物以丙酮酸钠、乙酸钠、乳酸钠为碳源时,代谢终产物中没有大量的酸性物质,故对体系的 pH 影响较小。而添加葡萄糖的处理在反应初期 pH 迅速下降至酸性范围,15 d 后才缓慢地增加,GZ、TJ、NX 水稻土添加葡萄糖的处理体系最终的 pH 值只维持在 6 左右,而 JL 水稻土添加葡萄糖的处理从反应的第 5 d 开始至培养结束,pH 值都保持在 5 以下。主要是由于厌氧条件下,微生物以葡萄糖作为碳源代谢时,发酵产物中含有大量的小分子有机酸影响 pH。

表 2 是使用 SPSS17.0 得出的不同碳源处理下 pH 同 Fe(Ⅱ)累积量之间的相关性分析结果。可以看出,不同的碳源处理的 pH 同 Fe(Ⅱ)浓度间的相关性不同,葡萄糖处理和乳酸盐处理中,二者之间存在极

表 2 不同碳源处理下 pH 同 Fe(Ⅱ)累积量之间的相关性

Table 2 The correlation analysis between pH and the concentration of Fe(Ⅱ) in different carbon sources

处理 Treatment	pH 同 Fe(Ⅱ)累积量之间相关性 The correlation between pH and accumulation of Fe(Ⅱ)	显著性 Significance
对照 CK	-0.058	0.688
葡萄糖 Glu	-0.629**	0.000 1
乳酸盐 Lac	-0.557**	0.000 1
乙酸盐 Ace	-0.336*	0.015
丙酮酸盐 Pyr	-0.346*	0.014

注:** 表示 $P<0.01$,* 表示 $P<0.05$ 。

Note:** Significant at $P<0.01$ levels,* significant at $P<0.05$ levels.

显著的负相关关系($P<0.01$),乙酸盐和丙酮酸盐处理下存在显著负相关关系($P<0.05$),而对照处理中,二者不相关。可见添加碳源影响了泥浆培养过程中 pH 同 Fe(Ⅱ)的相关性。

2.4 土壤基本性质同 Fe(Ⅲ)还原之间的关系

为了研究土壤性质同淹水培养后水稻土的铁还原之间的关系,采用 SPSS17.0 对相关的进行了

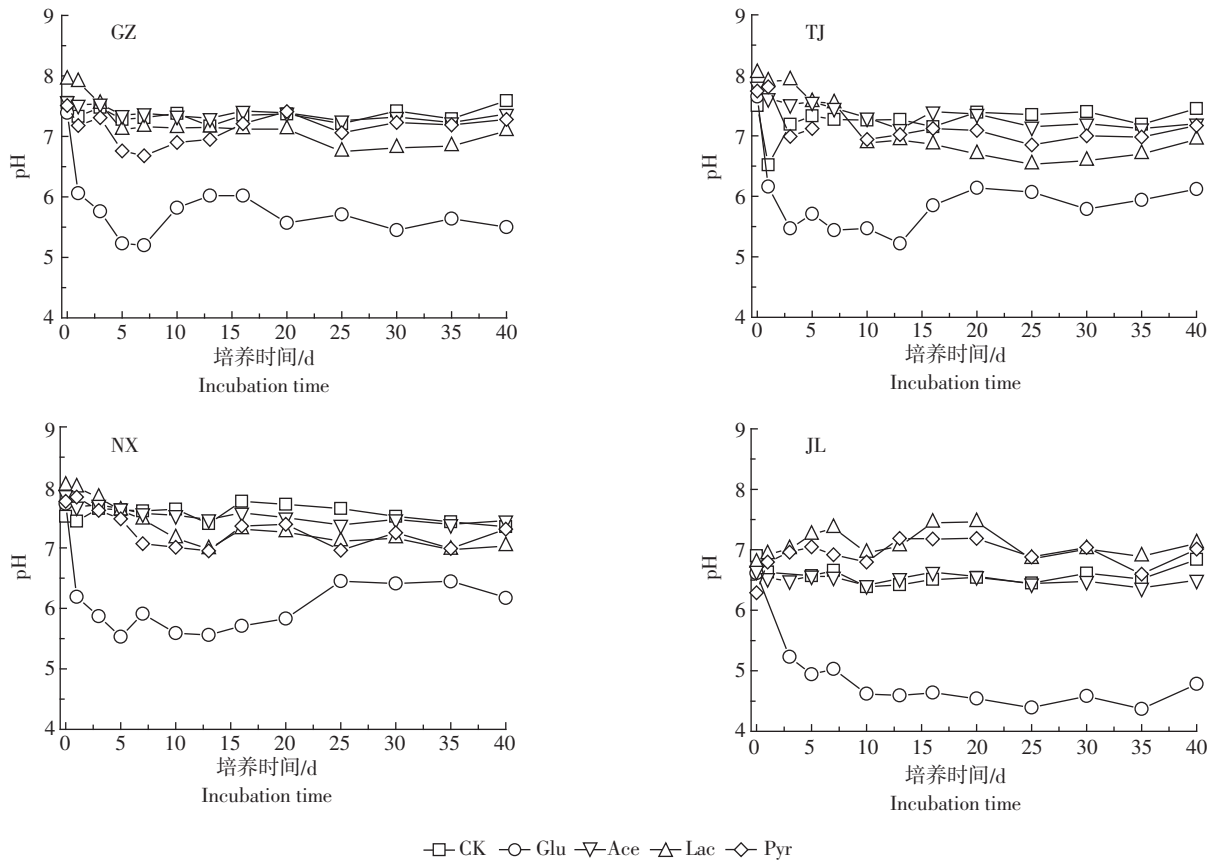


图 2 水稻土厌氧泥浆培养过程中 pH 变化特征
Figure 2 The change of pH of paddy soil in anaerobic mud

Person 相关性分析。表 3 表示的是土壤性质同 Fe(Ⅲ) 过程之间各个特征值之间的相关性。

从表 3 可以看出,无定形铁含量同最大铁还原潜势 a 之间存在极显著的正相关关系,由于水稻土中可被还原的 Fe(Ⅲ)主要是无定形氧化铁,水稻土中无定形氧化铁的含量决定了该水稻土的 Fe(Ⅲ)还原潜势。 a 与土壤全磷之间呈极显著负相关,表明土壤磷素过高对铁的还原能力具有制约作用。从全磷与无定形氧化铁的极显著负相关也可看出,磷酸盐会导致对铁的固定,从而影响铁的还原能力。 a 同土壤 pH 值之间也表现为显著负相关,这与 pH 值同全磷具有极显著正相关关系有关。 a 同全氮之间也表现为显著正相

表 3 土壤性质和 Fe(Ⅲ)还原的相关性分析									
Table 3 Pearson's correlation between characteristic variables and Fe(Ⅲ) reduction of soil slurries									
项目 Item	a	$V_{\max}$	$T_{V\max}$	有机碳 Organic Carbon	全氮 Total N	全磷 Total P	游离铁 Free iron	无定形铁 Amorphous iron	初始 pH Initial pH
a	1	0.473*	-0.134	-0.179	0.507*	-0.655**	0.409	0.642**	-0.500*
$V_{\max}$		1	-0.583**	0.248	0.246	-0.334	0.185	0.344	-0.255
$T_{V\max}$			1	-0.580**	-0.153	-0.028	-0.146	-0.155	-0.121
有机碳				1	0.144	0.006	0.122	0.188	0.180
全氮					1	-0.361	0.979**	0.893**	0.059
全磷						1	-0.169	-0.732**	0.829**
游离铁							1	0.784**	0.235
无定形铁								1	-0.339
初始 pH									1

注:** 表示 $P<0.01$, * 表示 $P<0.05$ 。Note:** Significant at $P<0.01$ levels, * significant at $P<0.05$ levels.

关,推测可能是由于氮含量一方面影响微生物活性,另一方面则由于全氮同无定形氧化铁之间极显著正相关。 $T_{V_{\max}}$ 与有机碳含量显著负相关,表明有机碳含量越高,达到 $V_{\max}$ 所需的时间越短,这与添加不同碳源后 $T_{V_{\max}}$ 之间的方差分析结果一致。除此之外,值得注意的是,铁还原过程中 $V_{\max}$ 同 a 之间显著正相关, $T_{V_{\max}}$ 同 $V_{\max}$ 之间存在极显著的负相关关系,即 $V_{\max}$ 越大,达到 $V_{\max}$ 所需的时间越短。

2.5 聚类分析

选择 Logistic 方程拟合结果中铁还原过程的特征值 a 、 $V_{\max}$ 和 $T_{V_{\max}}$ 作为分析变量,最终得到聚类分析图(图3)。图中前两位大写字母表示土壤的来源,第三位大写字母分别表示所添加碳源:CK-对照、G-葡萄糖、L-乳酸盐、A-乙酸盐、P-丙酮酸盐。

由图3得出,当阈值为5时,不同的处理可按距离分为6类。第一类处理集合,主要是NX水稻土添加葡萄糖、乳酸盐、乙酸盐和对照的处理,以及GZ水稻土添加乙酸盐的处理。NX水稻土的4个处理可聚为一类表明不同碳源对NX水稻土铁还原过程影响不明显,这主要是由于NX水稻土所含无定形铁量较少,限制了反应的进行。第二类处理主要是JL、TJ、GZ水稻土添加丙酮酸盐的处理。第三类处理是GZ、TJ、JL添加乳酸盐的处理,以及NX水稻土添加丙酮酸盐、GZ水稻土的对照和添加葡萄糖的处理。GZ水稻土对照处理、添加葡萄糖和丙酮酸盐的处理都可归为第三类,可能的原因是由于GZ水稻土中有机质含量较高,对外源添加的葡萄糖和丙酮酸盐响应不敏感。第二类和第三类处理说明添加丙酮酸盐和乳酸盐后,GZ、TJ、JL水稻土铁还原能力类似,即这3

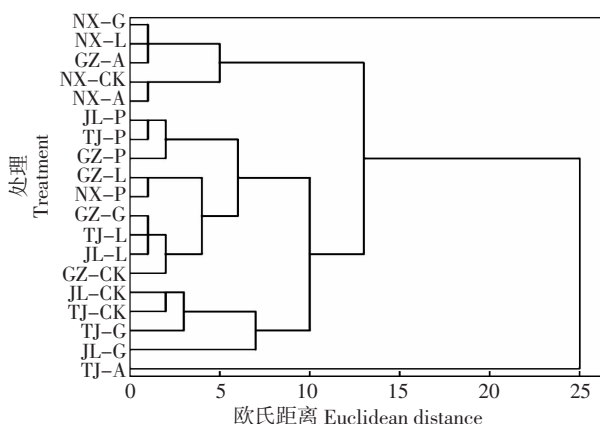


图3 添加碳源和对照处理基于 Fe(III) 还原特征的聚类分析

Figure 3 Hierarchical clustering of different carbon sources on their Fe(III) reduction characters

种来源水稻土在利用丙酮酸盐和乳酸盐时具有一定的共性。第四类处理群,主要包括JL、TJ水稻土的对照处理和TJ水稻土的葡萄糖处理。第五类、第六类处理分别为JL水稻土添加丙酮酸盐的处理以及TJ水稻土添加乙酸盐的处理,并且这两类处理同其他处理之间距离较远,特别是TJ水稻土添加乙酸盐的处理同其他处理之间的欧氏距离达到了25。

由聚类分析的结果可知,不同水稻土在利用葡萄糖还原 Fe(III) 时所呈现的铁还原特征的差异较大,GZ、TJ、JL水稻土在利用丙酮酸盐、乳酸盐时,铁还原能力接近。NX水稻土对外源添加的碳源利用较弱,因此各个碳源的处理同NX水稻土对照接近。

3 讨论

水稻土淹水条件是铁还原过程发生的重要厌氧环境之一,微生物介导的异化铁还原过程通常受到多种环境因素的影响。土壤性质能够直接或间接的影响土壤中微生物的种类和数量,因而同微生物的异化铁还原过程紧密相关。泥浆培养条件下,铁还原过程的电子受体主要是土壤中的高价态的铁,土壤中全铁的含量约为4%,除无定形氧化铁以外,晶体结构的氧化铁占全铁的75%以上,其中包括纤铁矿、赤铁矿、针铁矿及其铝取代物。由于微生物在还原氧化铁时具有一定的选择性,不同形态的氧化铁在土壤中的铁还原特征也不同。曲东等的研究表明,微生物在还原氧化铁时易于利用比表面大的非晶体及易溶性的铁,而对有稳定晶体结构的针铁矿及赤铁矿是难以利用的^[14,17]。因此,在不添加外源氧化铁的条件下,不同来源的水稻土铁还原潜势主要受到土壤自身无定形铁含量的制约。

多数微生物主要以 H_2 和有机酸作为电子供体还原 Fe(III) ,包括短链有机酸和长链有机酸,也有一些兼性铁还原微生物能够通过氧化糖类而获得能量。但是,不同的铁还原菌利用电子供体的能力不同^[2,18]。水稻土是经长期淹水耕作以及氧化还原条件交替进行而形成的多层土壤,动态条件下会出现相应以某一类代谢产物为优势碳源的微生物。供试的4种水稻土在利用碳源时的差异主要表现在,不同的水稻土在利用葡萄糖时铁还原特征差异较大,而在利用丙酮酸盐和乳酸盐时差异较小。葡萄糖是自然界分布最广且最重要的一种单糖,能够快速被吸收而经糖酵解途径分解^[19],丙酮酸、乳酸都是糖酵解的代谢中间产物之一,

因而外源添加这3种碳源都能够不同程度地促进铁还原过程的进行。不同碳源引起不同水稻土铁还原过程的差异可能的原因是不同水稻土在碳源诱导下所形成的微生物群落结构不同,而无定形铁含量较低的宁夏水稻土对人为添加的碳源响应不明显主要是可被利用的氧化铁含量较少,其在淹水初期,土壤中所含的有机碳能够迅速转化为铁还原微生物较易利用的电子供体^[20],外源添加的有机碳源虽然能够一定程度地促进铁还原过程的发生,但同不添加碳源的处理间差异不显著。供试的4种水稻土对乙酸盐的利用程度都不高,可被解释为缺少能够利用乙酸盐作为碳源的铁还原微生物种类。易维洁等^[21]在研究淹水培养时间对水稻土中Fe(Ⅲ)异化还原能力的影响时发现,淹水30 d以后所提取的微生物群落利用乙酸盐的能力才有所增强。由于*Geobacter*是严格的厌氧菌,该属种的微生物群落需要在长期淹水条件以下才能萌发恢复。因此,虽然能够利用乙酸盐的铁还原菌具有丰富的多样性^[20],但是受时间因素的限制,乙酸盐依赖型的铁还原微生物在短期的泥浆培养过程中却处于劣势。

有机质对土壤环境的影响除了通过提供微生物的代谢物质外,另一方面是改变环境的pH值。土壤pH会影响地球生物化学循环中环境底物的化学形态、浓度和可利用度,从而影响细胞的生长和活性^[22],是全球范围内细菌多样性和群落结构的重要决定因子^[23]。本实验添加不同的有机碳源后,pH呈现先降低然后逐步回升的趋势,并且同Fe(Ⅱ)生成量之间存在显著的负相关关系,原因主要有以下两个方面:首先,pH主要通过影响微生物的酶促反应来影响微生物介导的异化铁还原过程,绝大多数Fe(Ⅲ)还原菌都是嗜温的,在中性pH条件下生长良好,但酶促Fe(Ⅲ)还原多发生在酸性环境中^[24-25];其次,pH会影响Fe(Ⅲ)的存在形态,在酸性条件下可存在大量可溶性的Fe(Ⅲ),可溶性Fe(Ⅲ)到可溶性Fe(Ⅱ)的氧化还原电势(+0.77 V)同O₂还原为水的氧化还原电势很接近(+0.82 V),这就增强了微生物利用Fe(Ⅲ)进行呼吸获能的优势^[2]。

4 结论

供试的4种水稻土利用相同碳源时的铁还原能力基本表现为:吉林、天津水稻土的铁还原能力较好,其次是贵州水稻土,而宁夏水稻土的铁还原能力较弱。不同的碳源对4种供试水稻土微生物铁还原过程

的促进作用表现为丙酮酸盐和葡萄糖较好,乳酸盐次之,而乙酸盐则不同程度地抑制了铁还原过程,特别是吉林水稻土添加乙酸盐后,Fe(Ⅱ)的累积量几乎没有增长,这表明土壤微生物在利用碳源时具有一定的选择性。不同水稻土的铁还原特征主要受到土壤性质的影响,其中无定形铁的含量是最主要的因素,无定形铁含量较低的水稻土对外源添加的碳源不敏感。此外,土壤全磷含量过高时也对铁还原过程有一定的抑制作用,添加碳源后体系pH同Fe(Ⅱ)累积量之间显著负相关。

参考文献:

- [1] Caccavo F Jr, Lonergan D J, Lovley D R, et al. *Geobacter sulfurreducens* sp. nov, a hydrogen- and acetate-oxidizing dissimilatory metal-reducing microorganism[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1994, 60(10): 3752-3759.
- [2] Lovley D R, Holmes D E, Nevin N P. Dissimilatory Fe(Ⅲ) and Mn(Ⅳ) reduction[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2004, 49: 219-286.
- [3] 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): 65-70.
- QU Dong, Schnell S. Suppression of methanogenesis by iron oxides in paddy soil[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2002, 22(1): 65-70.
- [4] Yao H, Conrad R. Thermodynamics of methane production in different rice paddy soils from China, the Philippines and Italy[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31: 463-473.
- [5] 黎慧娟, 彭静静. 异化Fe(Ⅲ)还原微生物研究进展[J]. *生态学报*, 2012, 32(5): 1633-1642.
- LI Hui-juan, PENG Jing-jing. Recent advances in studies on dissimilatory Fe(Ⅲ)-reducing microorganisms[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(5): 1633-1642.
- [6] Roden E E, Wetzel R G. Kinetics of microbial Fe(Ⅲ) oxide reduction in freshwater wetland sediments[J]. *Limnology and Oceanography*, 2002, 47(1): 198-211.
- [7] Thomsen U, Thamdrup B, Stahl D A, et al. Pathways of organic carbon oxidation in a deep lacustrine sediment, Lake Michigan[J]. *Limnology and Oceanography*, 2004, 49(6): 2046-2057.
- [8] Jensen M M, Thamdrup B, Rysgaard S, et al. Rates and regulation of microbial iron reduction in sediments of the Baltic-North Sea transition[J]. *Biogeochemistry*, 2003, 65(3): 295-317.
- [9] Lonergan D J, Jenter H L, Coates J D, et al. Phylogenetic analysis of dissimilatory Fe(Ⅲ)-reducing bacteria[J]. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178(8): 2402-2408.
- [10] Mahadevan R, Bond D R, Butler J E, et al. Characterization of metabolism in the Fe(Ⅲ)-reducing organism *Geobacter sulfurreducens* by constraint-based modeling[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(2): 1558-1568.
- [11] Lovley D R, Phillips E J P. Organic matter mineralization with reduction of ferric iron in anaerobic sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 51(4): 683-689.
- [12] Noguera D R, Brusseau G A, Rittmann B E, et al. A unified model de-

- scribing the role of hydrogen in the growth of *Desulfovibrio vulgaris* under different environmental conditions[J]. *Biotechnology and Bio-engineering*, 1998, 59(6):732-746.
- [13] Jackel U, Schnell S. Role of microbial iron(Ⅲ) reduction in paddy soil [M]. Ham van J, Baede A P M, Meyer L A, et al. In non CO₂ greenhouse gases: Scientific understanding, control, and implementation. Netherlands: Kluwer Academic Publisher, 2000: 143-144.
- [14] 曲 东, 谭中欣, 王保莉, 等. 外源物质对水稻土铁还原的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2003, 31(4): 6-10.
QU Dong, TAN Zhong-xin, WANG Bao-li, et al. Effect of EDTA, fulvic acid and acetate addition on microbial iron reduction in paddy soils[J]. *Journal of Northwest A & F University: Natural Science Edition*, 2003, 31(4): 6-10
- [15] 孙丽蓉, 曲 东, 易维洁. 多糖对水稻土中异化 Fe(Ⅲ)还原过程的影响[J]. 河南农业科学, 2010(6): 62-66.
SUN Li-rong, QU Dong, YI Wei-jie. Effect of polysaccharide concentration on dissimilatory Fe(Ⅲ) reduction in paddy soils[J]. *Journal of Henan Agricultural Science*, 2010(6): 62-66
- [16] HE Jiang-zhou, QU Dong. Dissimilatory Fe(Ⅲ) reduction characteristics of paddy soil extract cultures treated with glucose or fatty acids[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20(9): 1103-1108.
- [17] 曲 东, Schnell S. 纯培养条件下不同氧化铁的微生物还原能力[J]. 微生物学报, 2001, 41(6): 745-749.
QU Dong, Schnell S. Microbial reduction ability of various iron oxides in pure culture experiment[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2001, 41(6), 745-749.
- [18] Coates J D, Bhupathiraju V K, Achenbach L A, et al. *Geobacter hydrogenophilus*, *Geobacter chapellei* and *Geobacter grbiciae*, three new strictly anaerobic, dissimilatory Fe(Ⅲ)-reducers[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2001, 51: 581-588.
- [19] Krumbock M, Conrad R. Metabolism of position-labeled glucose in anoxic methanogenic paddy soil and lake sediment[J]. *FEMS Microbial Ecol*, 1991, 85: 247-256.
- [20] 易维洁. 碳源对水稻土中铁还原特征和铁还原菌多样性的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2011.
YI Wei-jie. Effects of carbon sources on iron reduction characteristic and diversity of iron reducer isolates in paddy soils[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2011.
- [21] 易维洁, 曲 东, 黄婉玉, 等. 淹水培养时间对水稻土中 Fe(Ⅲ)异化还原能力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2010, 29(9): 1723-1729.
YI Wei-jie, QU Dong, HUANG Wan-yu, et al. Effect of flooding time on dissimilatory iron(Ⅲ) reduction in paddy soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2010, 29(9): 1723-1729.
- [22] Kemmitt S J, Wright D, Goulding K W T, et al. pH regulation of carbon and nitrogen dynamics in two agricultural soils[J]. *Soil Biol Biochem*, 2006, 38: 898-911.
- [23] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 2006, 103: 626-631.
- [24] Baker B J, Banfield J F. Microbial communities in acid mine drainage[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2003, 44: 139-152.
- [25] Clarke W A, Konhauser K O, Thomas J C, et al. Ferric hydroxide and ferric hydroxysulfate precipitation by bacteria in an acid mine drainage lagoon[J]. *FEMS Microbiol Rev*, 1997, 20: 351-361.