

淹水培养时间对水稻土中 $\text{Fe}(\text{III})$ 异化还原能力的影响

易维洁, 曲 东, 黄婉玉, 王 庆

(西北农林科技大学资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:为了模拟水稻土淹水过程,探讨不同淹水培养时间水稻土中铁还原微生物群落利用不同碳源的活性变化特征,以接种不同淹水时期的浙江水稻土浸提液作为微生物群落来源,以人工合成的 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 为惟一的电子受体,不同碳源作为惟一电子供体,在 $30\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温条件下厌氧培养,定期测定 $\text{Fe}(\text{II})$ 含量和 pH 值变化,采用 Logistic 模型进行动力学分析。研究表明,葡萄糖作为电子供体时,不同淹水时期的微生物群落总体上对 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 还原反应有较快的响应;丙酮酸盐作为碳源时,铁还原反应启动的时间整体迟于葡萄糖, $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量在反应 30 d 才表现出显著累积并逐渐趋于稳定;淹水 20 d 的微生物群落能最先利用乳酸盐还原 $\text{Fe}(\text{III})$,反应 15 d 的 $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量达到 $601.60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;淹水 30 d 的铁还原微生物群落对乙酸盐的利用能力增强,最大 $\text{Fe}(\text{II})$ 累计量升高到 $538.47\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, $\text{Fe}(\text{III})$ 还原率达到 75.81%。不同淹水时期利用各种碳源的体系 pH 表现为葡萄糖从中性下降至酸性,丙酮酸盐和乳酸盐中性偏酸,乙酸盐的 pH 略微偏碱,不同淹水时期出现的水稻土微生物群落结构不同是导致 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 还原能力不同的主要原因。不同的碳源利用可以指示不同的铁还原微生物群落变化:淹水培养早期的铁还原微生物群落对葡萄糖和丙酮酸盐的利用较为迅速和显著,同一时期出现的微生物群落不能以乙酸盐作为电子供体;淹水培养后期的铁还原微生物群落以乳酸盐和乙酸盐为优势碳源来还原 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 。

关键词:异化 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原;淹水培养时间;碳源利用

中图分类号:X53 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-2043(2010)09-1723-07

Effect of Flooding Time on Dissimilatory Iron(III) Reduction in Paddy Soil

YI Wei-jie, QU Dong, HUANG Wan-yu, WANG Qing

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

Abstract: Dissimilatory $\text{Fe}(\text{III})$ reduction shows important impacts on the geochemistry of anaerobic environments. The community structure of iron-reducing microorganisms in dried paddy soil changed continually after flooding. The objective of this study was to investigate the characteristics of iron reducing microbial community in different flooding period with various carbon sources. Solutions extracted from Zhejiang paddy soil in different flooding period were used as inoculums while ferrihydrite synthesized artificially was used as a sole electronic acceptor. These solutions including ferrihydrite were cultured under anaerobic condition at $30\text{ }^\circ\text{C}$. Yield of $\text{Fe}(\text{II})$ and pH were mensurated termly and analyzed by Logistic model. The results showed that microorganism communities under iron reduction in different flooding periods had rapid response on glucose while they showed a later response on pyruvate, comparing to glucose. When pyruvate was used as a carbon source, accumulation of $\text{Fe}(\text{II})$ reached to a very high level after 30 days incubation. When lactate was used as a carbon source, both of flooding 20 days treatment and 30 days treatment had significant higher accumulation of $\text{Fe}(\text{II})$ in 15 days incubation than the other treatments. The maximum $\text{Fe}(\text{II})$ accumulation of this treatment was $538.47\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ and rate of $\text{Fe}(\text{III})$ reduction was 75.81%. During the incubation, pH of solution decreased from neutral to acidic for glucose, stayed around neutral with slight acidic for pyruvate and lactate, and was slightly alkaline for acetate. Diversity of community structure in different flooding period induced the different potential of iron reduction. Various carbon sources could index the different iron reducing microbial community. Iron reducing microbial community in short flooding period could use glucose and pyruvate as predominant electronic donors while those in longer flooding period used lactate or acetate very well.

Keywords: dissimilatory $\text{Fe}(\text{III})$ reduction; flooding period; carbon source utility

收稿日期:2010-04-19

基金项目:国家自然科学基金面上项目(40971158)

作者简介:易维洁(1981—),女,重庆人,博士研究生,主要从事土壤环境化学研究。E-mail:yiweijie@nwsuaf.edu.cn

通讯作者:曲 东 E-mail:dongqu@nwsuaf.edu.cn

异化 Fe(Ⅲ)还原是淹水水稻土中重要的微生物学过程,它可以影响土壤中的碳、氮、硫循环,改变土壤氧化还原状况,抑制水稻田甲烷的产生,在土壤生态中具有非常重要的意义^[1-2]。1982 年科学家已证实厌氧环境中的 Fe(Ⅲ)还原过程主要是微生物的酶促作用^[3],到 1987 年第一株铁还原菌 GS-15(*Geobacter metallireducens*)的分离成功^[4],再到近年来人们已通过 16S rRNA-DGGE,SSCP 等分子生物手段揭示自然厌氧环境中有丰富的铁还原微生物存在^[5-6]。水稻土以其独特的水旱轮作方式引起土壤氧化还原电位的改变而受到研究者的重视,特别是风干水稻土淹水耕作后的微生物群落结构依据干湿交替导致的周期性氧化还原环境而不断发生变化。Noll 等采用 16S rRNA 水平上的 T-RFLP 技术研究了未种植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 的变化显著地下降,而从第 21 d 到第 168 d,微生物群落结构趋于稳定^[7]。随着淹水时间变化,土壤中有有机物代谢过程对微生物群落结构变化产生影响。贺江舟等研究了不同水稻土来源的微生物群落在 Fe(OH)₃ 还原过程中对供试有机物利用上的不同,反映了其微生物群落组成和代谢功能上的差异^[8]。Fernandez 等发现功能的稳定性并不表示群落的稳定性^[9]。反之,当微生物群落结构稳定时,其生态功能就能稳定吗?对于铁还原微生物而言,是否群落的稳定性就一定对应着铁还原潜力的最大性?其活性最大时期是出现在群落演替的哪个阶段?本研究模拟水稻土淹水过程,通过测定 Fe(Ⅱ)生成量,比较不同淹水培养时间水稻土中铁还原微生物群落利用不同碳源的活性变化特征,以期得出铁还原微生物活性恢复最快的时期,进一步了解影响微生物铁还原的因素,为后续筛选分离水稻土中的铁还原微生物提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试水稻土样品采自浙江省宁海县梅林镇新村,采集 0~20 cm 耕层土样,自然风干,磨细,过 1 mm 土壤筛。土壤有机质含量为 29.6 g·kg⁻¹,pH(H₂O,1:5)为 6.11,NO₃⁻-N 72.00 g·kg⁻¹,NH₄⁺-N 85.35 g·kg⁻¹,无定形铁含量为 2.36 g·kg⁻¹,游离铁含量为 8.16 g·kg⁻¹。

1.2 淹水培养及接种液制备

称取风干过筛(<1 mm)的水稻土 10.000 g 若干份,分别置于灭菌后的 25 mL 血清瓶中,按 1:1 的土

水比加入无菌水,充 N₂ 除去瓶中 O₂,用橡胶盖及铝盖密封。30 ℃ 恒温箱中暗光培养。淹水周期分别为 1、5、12、20、30 d。制备接种液时,按 1:9 的土水比用无菌水将不同淹水周期培养后的土壤样品定量转移到无菌离心管中,25 ℃ 恒温条件下,180 r·min⁻¹ 振荡浸提 1 h,1 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,收集上清液作为微生物接种液。

1.3 Fe(Ⅲ)还原能力测定

以水稻土不同淹水时期的土壤浸提液作为接种液,吸取 1.0 mL 接种到人工合成的 Fe(OH)₃(ferrihydrite)^[10]培养基中。培养基组成:含 Fe 量为 3.551 7 g·L⁻¹ 的 ferrihydrite 悬液 1 mL,0.1 mol·L⁻¹ NH₄Cl 溶液 1.0 mL,0.25 mol·L⁻¹ KH₂PO₄-K₂HPO₄ 缓冲液 1.0 mL。及 C 浓度为 1.5 mol·L⁻¹ 的碳源 1.0 mL,试验设置了 4 种碳源处理,依据加入等摩尔碳量的原则,选取的碳源及其浓度分别为 0.25 mol·L⁻¹ 葡萄糖(Glu),0.50 mol·L⁻¹ 丙酮酸钠(Pyr),0.50 mol·L⁻¹ 乳酸钠(Lac)及 0.75 mol·L⁻¹ 乙酸钠(Ace),不加碳源的对照用无菌水代替。充 N₂ 除去瓶中 O₂,用橡胶盖及铝盖密封。30 ℃ 恒温暗光培养,定期测定体系中 Fe(Ⅱ)浓度^[11]及 pH 值变化。

1.4 Fe(Ⅲ)还原特征分析

利用 Logistic 生长曲线方程对铁还原过程中 Fe(Ⅱ)浓度随时间的变化进行拟合。Logistic 方程的表达式为:

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

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

最大反应速率($V_{\max}$)数值上等于 $0.25ac$;最大还原速率对应的时间($T_{V_{\max}}$)用 $\ln b/c$ 计算。用 CurveExpert 1.3 数据处理系统对数据进行拟合分析。

2 结果与分析

2.1 淹水培养时间对微生物铁还原能力的影响

来源于不同淹水培养时间的水稻土微生物群落对 Fe(OH)₃ 的还原能力如图 1 所示。由图 1 看出,不同淹水时期得到的微生物群落在利用不同碳源时的铁还原能力有所区别,葡萄糖作为电子供体时,不同淹水时期的微生物群落总体上对 Fe(OH)₃ 还原反应有较快的响应,反应初期的 Fe(Ⅱ)累积量就迅速上升,20 d 后就几乎达到平衡,反应 50 d 后,Fe(Ⅱ)累

积量能够达到 $640\sim 710\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。不同淹水培养时间处理之间的差异表现为:经 1、12、20 d 淹水处理的铁还原程度基本一致,而 5、30 d 处理则明显较低。

丙酮酸盐作为碳源时,铁还原反应启动的时间整体迟于葡萄糖处理, $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量在反应 30 d 才表现出显著累积并逐渐趋于稳定。不同淹水培养时间处理的微生物群落的铁还原活性在反应中期呈现出较大的差异,其中淹水 12 d 处理在反应第 5 d 可迅速利用丙酮酸盐还原 $\text{Fe}(\text{OH})_3$;而淹水 30 d 处理在反应 25 d 后才表现出铁还原活性,随后 $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量急剧上升,反应 50 d 后的 $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量在 $572\sim 617\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。不同淹水培养时间处理之间的铁还原能力表现为:12 d 和 20 d 处理的铁还原程度接近,其后按 1、5、30 d 处理减弱。

利用乳酸盐为碳源时,不同淹水时间的微生物铁还原功能的恢复活性呈现出与其他碳源不同的状态。淹水 20 d 的微生物群落能最先利用乳酸盐还原 $\text{Fe}(\text{III})$,反应 15 d 的 $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量达到 $601.60\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

¹,显著大于其他淹水时期微生物的铁还原能力。不同淹水时期的微生物群落在反应 40 d 后基本达到平衡。与利用葡萄糖和丙酮酸盐为惟一电子供体的处理相比,淹水 1 d 的微生物群落在利用乳酸盐时的铁还原能力显著降低。

乙酸盐作供试碳源时,铁还原微生物群落对其响应很慢。淹水 1、5、12 d 的微生物群落几乎不能利用乙酸盐来还原 $\text{Fe}(\text{OH})_3$,在整个反应过程中几乎没有 $\text{Fe}(\text{II})$ 的产生。淹水 20 d 和 30 d 的处理在反应 40 d 时出现利用乙酸盐还原 $\text{Fe}(\text{III})$ 的趋势,淹水 30 d 的微生物群落的活性大于淹水 20 d 处理,其 $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量在反应 40 d 后继续升高,至反应周期结束时还原反应仍未达到稳定状态。

2.2 不同淹水培养时间利用不同碳源的 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原动力学分析

用 Logistic 模型对来源于不同淹水培养时间的铁还原微生物群落利用不同碳源的铁氧化物还原过程的动力学参数进行拟合, $\text{Fe}(\text{III})$ 还原率(%)用 $\text{Fe}(\text{II})$

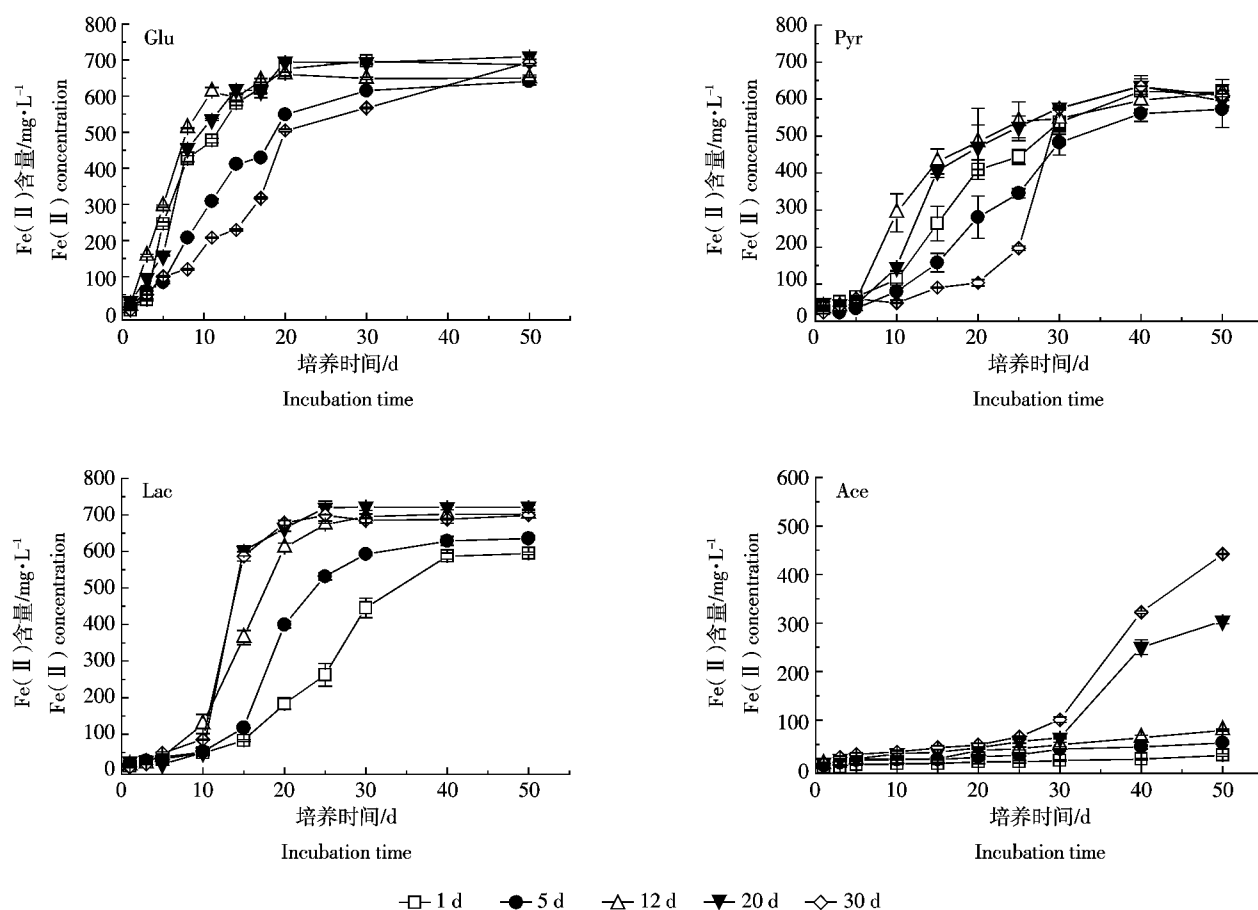


图1 不同淹水培养时间处理中利用不同碳源的 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原能力

Figure 1 Iron(III) reduction of different flooding period using different carbon sources

的最大累积量(a)占体系中 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 含量的百分比表示,其结果见表 1。 R^2 是决定系数,表示拟合曲线的估计值与对应的实际数据之间的拟合程度。由表 1 可知,来源不同淹水时间处理的铁还原微生物群落利用各种碳源作电子供体还原 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 的过程可较好地用 Logistic 方程进行拟合,其决定系数 R^2 为 0.960~1.000。

淹水培养 1 d 的铁还原微生物群落对葡萄糖的利用相对于同一时期的微生物群落对其他碳源的利用较为显著, $\text{Fe}(\text{Ⅲ})$ 还原率达到 93.96%,平均反应速率(c)和最大反应速率($V_{\max}$)均是利用丙酮酸盐和乳酸盐的 2 倍;乙酸盐几乎不能被这一时期的铁还原微生物利用,其最大 $\text{Fe}(\text{Ⅱ})$ 累计量只有 $47.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, c 值和 $V_{\max}$ 分别为 0.06 、 $0.68 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。各项参数指标显示淹水 5 d 的微生物群落对各种碳源的利用能力都相对低于其他淹水培养时间的微生物群落。淹水 12 d 的铁还原微生物对葡萄糖的利用达到高峰,其 c 值为 $0.54 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,反应第 5 d 就出现最大反应速率($86.23 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, c 值也高于其他淹水时期的微生物群落利用葡萄糖的反应速率。淹水 20 d 后的铁还原微生物群落表现出对乳酸盐的优势利用,其 $\text{Fe}(\text{Ⅲ})$

还原率达到 99.99%, c 值和 $V_{\max}$ 值分别为 0.85 、 $159.39 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,显著高于其他淹水时期的铁还原微生物群落对乳酸盐的利用强度。淹水 30 d 后的铁还原微生物群落对葡萄糖和乳酸盐的利用能力表现出下降趋势,其 c 值相较于各自的最大活性时期分别降低了 0.36 、 $0.13 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$;相反,该时期的铁还原微生物群落对乙酸盐的利用能力增强,最大 $\text{Fe}(\text{Ⅱ})$ 累计量升高到 $538.47 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\text{Fe}(\text{Ⅲ})$ 还原率达到 75.81%,显著高于淹水早期的铁还原微生物利用乙酸盐的能力。上述结果表明,不同淹水培养时间得到的铁还原微生物群落不同,对碳源的利用程度也不同。

2.3 反应过程中体系 pH 的变化

不同淹水培养时间得到的微生物群落利用外加碳源的体系 pH 变化如图 2 所示。当利用葡萄糖作为电子供体时,不同淹水培养时间处理的 pH 变化表现出一致性:反应前 3 d,体系 pH 从初始的 7.0 急剧下降至 4.0 左右,到反应第 10 d 基本保持稳定,随后的 pH 变化波动平稳。利用丙酮酸盐作电子供体时,体系的初始 pH 在 7.5 左右,伴随反应的进行逐减缓慢下降,最后的 pH 控制在 6.5 上下。以乳酸盐作为体系碳源时,情况较前两种碳源不同。反应初始,不同淹水培

表 1 水稻土不同淹水时期处理利用不同碳源的 $\text{Fe}(\text{Ⅲ})$ 还原动力学参数

Table 1 The dynamics parameters for the iron reduction of different flooding time using various carbon sources

淹水时间 Flooding time/d	碳源 Carbon	Logistic 方程参数 Logistic model parameters				最大反应速率 $V_{\max}/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	$\text{Fe}(\text{Ⅲ})$ 还原率/%	$T_{v_{\max}}/\text{d}$
		a	b	c	R^2			
1	Glu	667.40	15.53	0.37	0.984	61.61	93.96	7
	Pyr	618.34	18.25	0.17	0.996	25.73	87.05	17
	Lac	618.57	86.27	0.17	0.997	27.03	87.09	25
	Ace	37.18	6.12	0.05	0.969	0.50	5.23	33
5	Glu	625.90	15.37	0.23	0.993	36.30	88.12	12
	Pyr	584.70	29.89	0.16	0.998	23.29	82.32	21
	Lac	624.58	336.72	0.31	0.997	48.52	87.93	19
	Ace	64.77	5.68	0.07	0.983	1.06	9.12	26
12	Glu	641.44	17.74	0.54	0.996	86.23	90.31	5
	Pyr	572.05	19.92	0.27	0.991	39.16	80.54	11
	Lac	702.66	116.86	0.33	1.000	57.16	98.92	15
	Ace	102.86	7.42	0.06	0.991	1.64	14.48	31
20	Glu	674.18	22.46	0.44	0.992	73.51	94.92	7
	Pyr	594.22	28.15	0.25	0.992	36.77	83.66	13
	Lac	710.24	60 753.24	0.85	0.998	150.39	99.99	13
	Ace	355.69	211.26	0.15	0.980	13.10	50.08	36
30	Glu	669.99	19.12	0.18	0.988	30.08	94.32	16
	Pyr	634.04	117 378.76	0.45	0.980	70.73	89.26	26
	Lac	691.20	9 016.13	0.72	0.999	124.44	97.31	13
	Ace	538.47	194.73	0.14	0.991	18.54	75.81	38

养时间的处理 pH 为 6.5, 反应开始后, 体系 pH 呈上升趋势, 待反应进行到平衡状态时, 体系 pH 呈中性。乙酸盐作电子供体时, 不同淹水培养时间得到的微生物群落的 pH 在前期几乎没有变化, pH 稳定在 7.5 左右, 反应至 25 d 时, 来自淹水培养 30 d 的微生物群落体系 pH 出现较为明显的波动。

2.4 不加碳源处理的 Fe(Ⅲ)还原能力和 pH 变化

为了验证接种浸提液中所含的水溶性有机碳是否对结果产生影响, 本实验以不添加碳源的无菌水作为对照处理。如图 3 所示, 不同淹水培养时间的微生物群落在反应期的 Fe(Ⅱ)生成量呈微弱缓慢增加趋势, pH 维持在 7.5 上下, 表明微生物的活动基本处于钝化状态。说明缺乏电子供体时氧化铁还原过程不能发生, 同时也说明接种液或其他添加物中所含的碳源不足以影响铁还原过程。

3 讨论

生态系统的稳定性包含两个元素: 生态系统功能的特性和群落的组成。在厌氧区域, 新出现的系统发

育学群落是通过发酵过程和厌氧呼吸过程来定义的。沿着有氧-无氧界面, 电子受体产生变更, NO_3^- 、 Fe(Ⅲ) 和 SO_4^{2-} 等电子受体逐渐被消耗, 因此在有氧-无氧界面上微生物殖民者存在的时间年代被认为是演替的, 导致了群落结构和功能的恒稳态^[12]。群落演替的速率决定于生境的类型, 生物膜上的演替时间是几日^[13], 淹水水稻土是几周, 在棕色煤层中为几年^[14], 而在冰川土壤中是几十年^[15]。Lüdemann 等研究发现, 淹水 6 h 时 O_2 浓度从淹水水/土界面的 $140 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 下降到土层 2 mm 下检测不到含量。*Clostridium* (梭菌属) 的成员是 O_2 耗竭后土壤中的主要细菌种群^[16], 而 *Clostridium* sp. 作为典型的发酵细菌能够大量产生 H_2 。本实验中, 淹水 1 d 后的微生物群落表现出以葡萄糖作为优势电子供体还原 Fe(Ⅲ), 推测可能是因为 *Clostridium* sp. 发酵葡萄糖产生的 H_2 促进铁还原反应的发生。曲东等发现添加氧化铁后抑制水稻土中甲烷产生的机理是氧化铁作为电子受体可有效竞争 H_2 向甲烷的转化^[17]。因此, Fe(Ⅲ)还原偶联 H_2 的氧化, 很可能是在培养初期的主要过程。同时, 葡萄糖发

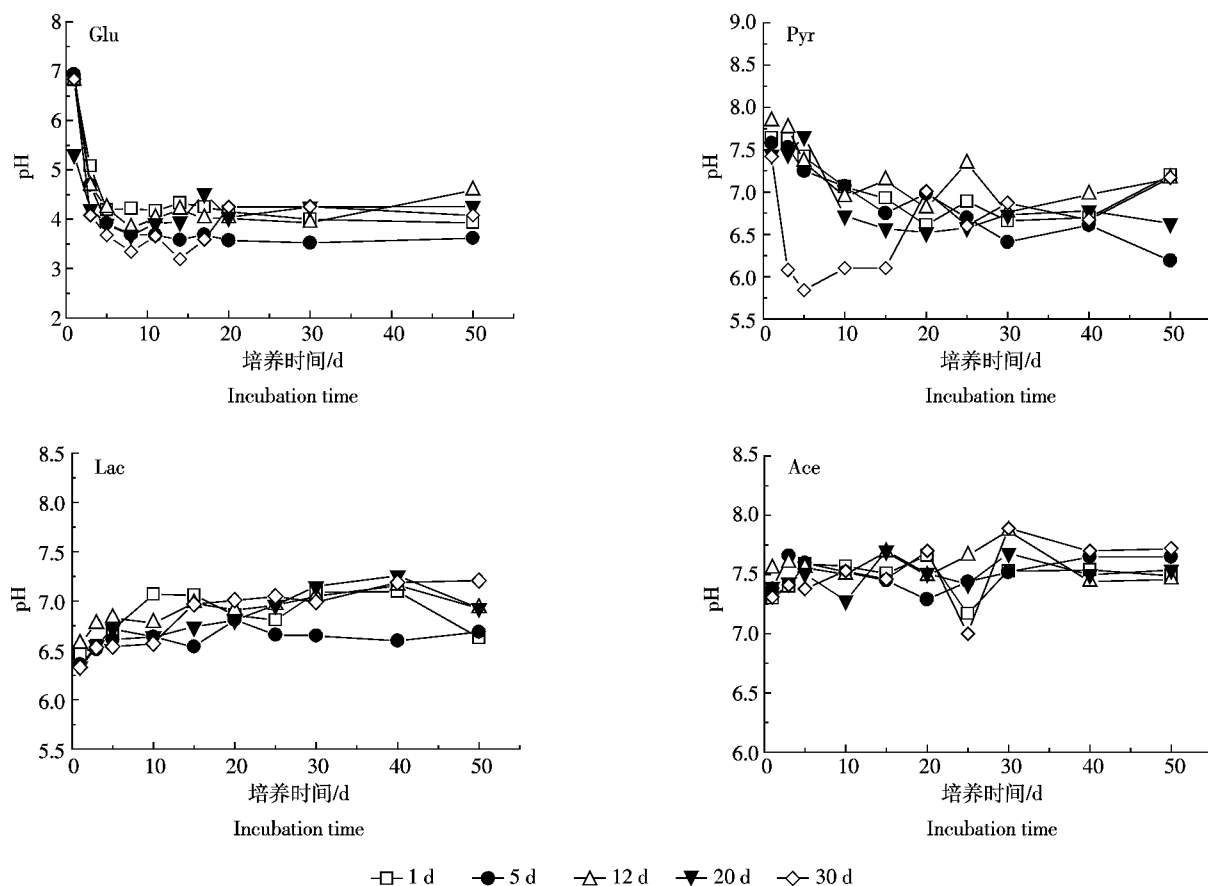


图2 不同淹水培养时间处理利用不同碳源的 pH 变化

Figure 2 pH changes of different flooding time using various carbon sources under iron reduction environment

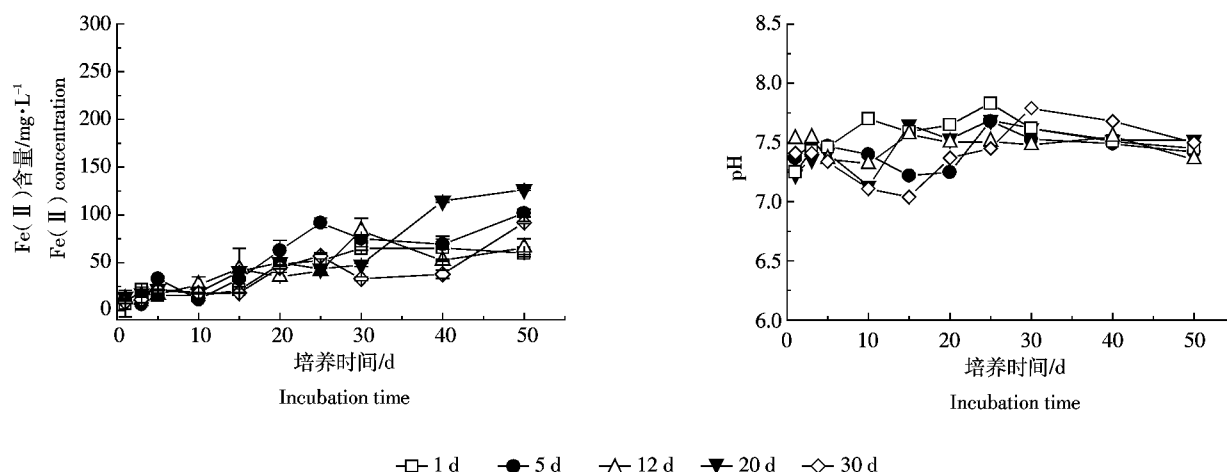


图 3 不同淹水培养时间的微生物群落在不加碳源处理中的 Fe(Ⅲ) 还原能力和 pH 变化

Figure 3 Iron reduction and pH changes in different flooding treatments without carbon source

酵产生各种有机酸,导致体系的 pH 在反应 10 d 内迅速低至 4 左右,随后 pH 保持基本稳定。推测是酸性 pH 已经达到 *Clostridium* sp. 的生存和发酵下限,低于此值,细菌的生理生化过程停止,糖的发酵产酸停止。其他的微生物种群继续利用分解产生的小分子有机酸继续还原 $\text{Fe}(\text{OH})_3$, $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量在反应 10 d 后缓慢上升至稳定。

自然水稻根上的微生物群落在淹水处理初期是 *Clostridium* sp. 和 *Bacillus* sp., 但是培养 5 d 后,梭菌属降低, *Cytophaga*–*Flavobacterium*–*Bacteroides* 门增加^[18]。这能解释本实验中淹水 5 d 的微生物群落的铁还原活性较其他淹水处理的微生物活性降低的现象。同时,因为本实验采用的是风干水稻土样品,干土效应导致土壤中的有机质前期分解速率很快^[19],所以淹水初期(1 d)微生物活性很强,而淹水 5 d 后微生物的群落演替发生更替,导致这一时期的铁还原微生物处于劣势。淹水 12 d 的铁还原微生物群落又重新达到一个平衡。

淹水后期的微生物群落能较好地利用乳酸盐或乙酸盐来还原 $\text{Fe}(\text{III})$, 推测是因为群落演替产生了利用乳酸盐或乙酸盐的优势种群。王静等发现添加乳酸钠和硫酸盐后水稻土中 $\text{Fe}(\text{II})$ 生产量显著高于对照^[20],暗示水稻土中存在丰富的利用乳酸盐的硫酸盐还原菌。Shrestha 等^[21]的研究证实 *Shewanella* sp. 是演替晚期菌,且 *Shewanella* 种属是典型的硫酸盐还原菌,能将乳酸盐不完全氧化为 CO_2 和乙酸盐。*Geobacter*(GS-15)是典型的能通过耦联乙酸盐的氧化来还原 $\text{Fe}(\text{III})$ 的严格厌氧菌,通过基于 16S rRNA

分子技术其被广泛地发现存在于淹水水稻土中。在本实验中,随着淹水培养时间的延长,特别是在淹水 30 d 后,利用乙酸盐的 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原能力增强,由此推测 *Geobacter* 种属的微生物的萌发恢复主要出现于淹水后期。

4 结论

铁还原微生物群落组成与结构是影响水稻土中铁还原过程的重要因素,但群落的稳定性跟铁还原能力没有直接的对应关系。不同淹水时期得到的铁还原微生物群落对不同碳源的响应不同,表现在利用葡萄糖和丙酮酸盐的铁还原微生物群落主要出现在淹水培养早期,而同一时期得到的微生物群落不能以乙酸盐作为电子供体;以利用乳酸盐为主的铁还原菌主要出现在淹水中期(20 d);淹水 30 d 的微生物群落利用葡萄糖和乳酸盐的能力相对下降,利用乙酸盐的能力显著增强。表明不同淹水时期铁还原微生物群落组成的变化,可导致其利用不同碳源的 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 还原过程产生显著差异。

参考文献:

- [1] Liesack W, Schnell S, Revsbech N P. Microbiology of flooded rice paddies[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, 24: 625–645.
- [2] Weber K A, Achenbach L A, Coates J D. Microorganisms pumping iron: Anaerobic microbial iron oxidation and reduction[J]. *Nature*, 2006, 4: 752–764.
- [3] Sorensen J. Reduction of ferric iron in anaerobic, marine sediment and interaction with reduction of nitrate and sulfate[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1982, 43(2): 319–324.

- [4] Lovley D R. Organic matter mineralization with the reduction of ferric iron; A review[J]. *Geomicrobiology Journal*, 1987, 5(3/4):375-399.
- [5] Lin B, Braster M, Breukelen B M v, et al. Geobacteraceae community composition is related to hydrochemistry and biodegradation in an iron-reducing aquifer polluted by a neighboring landfill[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(10):5983-5991.
- [6] Dassonvillea F, Godon J J, Renault P. Microbial dynamics in an anaerobic soil slurry amended with glucose, and their dependence on geochemical processes[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2004, 36:1417-1430.
- [7] 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.
- [8] He J, Qu D. 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.
- [9] Fernandez A, Huang S, Seston S, et al. How stable is stable? Function versus community composition[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(8):3697-3704.
- [10] Cornell R M, Schwertmann U. The iron oxides: Structures, properties, reactions, occurrences and uses[M]. Weinheim: Wiley-VCH, 2003: 703.
- [11] 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.
- [12] Brune A, Frenzel P, Cypionka H. Life at the oxic-anoxic interface: Microbial activities and adaptations[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, 24:691-710.
- [13] Dang H, Lovell C R. Bacterial primary colonization and early succession on surface in marine waters as determined by amplified rRNA gene restriction analysis and sequence analysis of 16S rRNA genes[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(2):467-475.
- [14] Kristufek V, Elhottova D, Chronakova A, et al. Growth strategy of heterotrophic bacterial population along successional sequence on spoil of brown coal colliery substrate[J]. *Folia Microbiological Reviews*, 2005, 50:427-435.
- [15] Sigler W V, Zeyer J. Colony-forming analysis of bacterial community succession in deglaciated soils indicates pioneer stress-tolerant opportunists[J]. *Microbial Ecology*, 2004, 48(3):316-323.
- [16] Lüdemann H, Arth I, Liesack W. Spatial changes in the bacterial community structure along a vertical oxygen gradient in flooded paddy soil cores[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(2):754-762.
- [17] 曲东, 张一平, Schnell S, 等. 添加氧化铁对水稻土中 H_2 、 CO_2 和 CH_4 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.
- [18] Scheid D, Stubner S, Conrad R. Identification of rice root associated nitrate, sulfate and ferric iron reducing bacteria during root decomposition[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 50:101-110.
- [19] 林江辉, 李辉信, 胡锋, 等. 干湿效应对土壤生物组成及矿化与硝化作用的影响[J]. 土壤学报, 2004, 41(6):924-930.
LIN Jiang-hui, LI Hui-xin, HU Feng, et al. Effects of rewetting on soil biota structure and nitrogen mineralization, nitrification in air dried red soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2004, 41(6):924-930.
- [20] 王静, 曲东, 易维洁. 不同浓度硫酸盐对水稻土中异化铁还原过程的影响[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(5):908-913.
WANG Jing, QU Dong, YI Wei-jie. Effect of different concentration of sulfate on dissimilatory Fe(III) reduction in paddy soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(5):908-913.
- [21] Shrestha P M, Noll M, Liesack W. Phylogenetic identity, growth-response time and rRNA operon copy number of soil bacteria indicate different stages of community succession[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9(10):2464-2474.