



请通过网上投稿系统投稿 网址:http://www.aes.org.cn

DFeRB和SRB对冰封期铁与硫还原的影响研究

宋文杰,石文静,吕项蒙,吕思杰,吕昌伟,何江

引用本文:

宋文杰, 石文静, 吕项蒙, 等. DFeRB和SRB对冰封期铁与硫还原的影响研究[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(9): 2015-2025.

在线阅读 View online: https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0091

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

辽河干流河岸带植物及微生物多样性研究

陈影,陈苏,马鸿岳,单岳,冯天朕,张鸿龄 农业环境科学学报. 2020, 39(9): 2048-2057 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0311

石灰石砂砾负载铁膜及其强化除磷效果

施佳诚, 陈灿明, 高婷, 卫泽斌, 吴启堂 农业环境科学学报. 2020, 39(9): 1993-2000 https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0284

四种材料对灌溉水中镉净化性能的比较

和君强,李菊梅,马义兵,纪雄辉,赵会薇 农业环境科学学报.2016,35(10):1984-1991 https://doi.org/10.11654/jaes.2016-0363

不同钙质钝化剂对稻田土壤溶液中Cd浓度的影响

郭京霞, 冯莲莲, 张起佳, 李云云, 曾涛, 王果 农业环境科学学报. 2017, 36(10): 1984-1991 https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1030

混合无机改良剂对酸性多重金属污染土壤的改良效应

郭荣荣,黄凡,易晓媚,龙新宪 农业环境科学学报.2015(4):686-694 https://doi.org/10.11654/jaes.2015.04.012



关注微信公众号,获得更多资讯信息

2020年9月

宋文杰,石文静,吕项蒙,等. DFeRB和SRB对冰封期铁与硫还原的影响研究[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(9): 2015-2025. SONG Wen-jie, SHI Wen-jing, LÜ Xiang-meng, et al. Effects of DFeRB and SRB on the reduction of iron-sulfur during the ice-bound period[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(9): 2015-2025.



DFeRB和SRB对冰封期铁与硫还原的影响研究

宋文杰1,石文静2,吕项蒙2,吕思杰2,吕昌伟2,何江2*

(1.内蒙古大学创业学院,呼和浩特 010021; 2.内蒙古大学生态与环境学院,呼和浩特 010021)

摘 要:铁硫还原对环境中碳、氮、磷等生源要素的环境地球化学行为及重金属等污染物的形态和生物有效性有重要影响,而微 生物在铁硫还原过程中起关键控制作用。本文针对北方寒旱区冰封期较长的特点,采用室内模拟研究,重点探究了冰封期异化 铁还原菌(Dissimilatory iron reducing bacteria, DFeRB)和硫酸盐还原菌(Sulfate reducing bacteria, SRB)介导的还原过程对铁硫行为 的影响以及铁硫还原的耦合关系。结果表明,铁硫共存时,DFeRB和SRB的存在影响铁硫自身的电子传递,使铁和硫的还原过程 更为复杂。DFeRB和SRB的还原倾向性存在明显差异。铁硫共存时,DFeRB更有利于铁的异化还原,DFeRB对铁的影响程度强 于SRB。无论是 DFeRB还是 SRB,铁和还原菌同时存在时对硫酸盐还原的促进作用更强。DFeRB和 SRB介导下的异化铁还原和 硫酸盐还原存在明显的耦合关系,且存在显著的阶段性差异。研究表明冰封期 DFeRB和 SRB仍具有生物活性及还原能力,且对 异化铁还原和硫酸盐还原有明显促进作用。

关键词:冰封期;DFeRB;SRB;生物活性;铁硫还原;耦合效应

中图分类号:X142 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2020)09-2015-11 doi:10.11654/jaes.2020-0091

Effects of DFeRB and SRB on the reduction of iron-sulfur during the ice-bound period

SONG Wen-jie¹, SHI Wen-jing², LÜ Xiang-meng², LÜ Si-jie², LÜ Chang-wei², HE Jiang^{2*}

(1.Pioneer College, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China; 2.School of Ecology and Environment, Inner Mongolia University, Hohhot 010021, China)

Abstract: The reduction of iron and sulfur has an important impact on the environmental geochemical behavior of carbon, nitrogen, and phosphorus as well as the species and bioavailability of pollutants such as heavy metals, while microorganisms play a key role in the iron and sulfur reduction process. Based on the characteristics of the long ice-bound period in the cold regions of northern China, this work focuses on the effects of dissimilatory iron-reducing bacteria – (DFeRB –) and sulfate-reducing bacteria (SRB) – mediated reduction processes on the behavior of iron-sulfur during the ice-bound period as well as the coupling relationship of iron-sulfur reduction using simulation studies in the laboratory. The results showed that DFeRB and SRB affected the electron transfer of iron and sulfur when both elements coexisted in the system, making the reduction process of iron and sulfur more complicated. In addition, the reduction tendencies of DFeRB and SRB were obviously different. DFeRB was more favorable for the dissimilatory reduction of iron when iron and sulfur coexisted in the system, and the effect of DFeRB on iron was stronger than that of SRB. Iron and reducing bacteria (DFeRB or SRB) promoted sulfate reduction more strongly when they existed simultaneously. Dissimilatory iron reduction and sulfur reduction mediated by DFeRB and SRB exhibited an obvious coupling relationship and a significant stage difference. DFeRB and SRB retained certain bioactivity and reducibility even during the ice-bound period, and obviously promoted the reduction process of iron and sulfur. **Keywords**; ice-bound period; DFeRB; SRB; bioactivity; iron-sulfur reduction; coupling effect

*通信作者:何江 E-mail:ndjhe@imu.edu.cn

收稿日期:2020-01-21 录用日期:2020-06-04

作者简介:宋文杰(1985—),女,硕士,讲师,内蒙古扎兰屯人,主要研究方向为环境地球化学。E-mail:122429225@qq.com

基金项目:国家自然科学基金项目(41163006)

Project supported : The National Natural Science Foundation of China(41163006)

铁循环和硫循环是地球化学循环的重要组成部分,并且铁与硫的生物地球化学行为紧密耦合。铁和硫均具有较高的氧化还原敏感性,环境中氧化还原条件的改变对铁和硫的生物地球化学行为具有重要影响。研究表明,微生物在铁硫还原过程中起关键控制作用^[1-7]。有两大类微生物参与的代谢过程是推动环境中铁循环和硫循环的重要环节,即异化铁还原过程和硫酸盐还原过程,而硫酸盐还原菌和异化铁还原菌则是这两个过程的执行者^[8-10]。

异化铁还原和硫酸盐还原在一定程度上共存且 存在竞争,但并不完全互斥^[11-12]。活性铁是硫循环的 重要参与元素,硫化物是氧化铁的重要还原剂及氧化 铁还原溶解的关键因素^[13]。还原环境中,硫酸盐还原 产生的硫化物可与活性铁反应生成过渡产物硫化亚 铁,从而限制环境中铁的活性^[14-17]。当硫酸盐还原受 到抑制时,无机硫化物含量降低,并成为黄铁矿形成 的限制因素^[18-19]。厌氧条件下,环境中异化铁还原过 程和硫酸盐还原过程对碳、氮、磷等生源要素的循环 和活性以及重金属等污染物的形态和生物有效性有 重要影响^[20-27]。

与南方湿润地区相比,北方冰封期普遍长达4~6 个月,冰封期可能会切断能量和物质交换,打破体系 中原有的动态平衡。寒旱区湖泊溶解氧较低和复氧 差等特殊的水文环境特征对铁硫的生物地球化学行 为有重要影响。因此冰封期微生物介导的异化铁还 原和硫酸盐还原过程对铁硫的环境地球化学行为研 究具有重要意义。目前关于微生物对铁硫环境地球 化学行为的影响研究虽被广泛关注,但关于冰封期微 生物介导的异化还原作用对铁硫生物地球化学行为 的影响研究尚有不足。

本文采用室内模拟研究,分别开展了冰封期下异 化铁还原菌(DFeRB)和硫酸盐还原菌(SRB)介导的 还原过程对铁硫生物地球化学行为的影响机制研究, 探讨冰封期微生物作用下铁硫的耦合关系,评估冰封 期微生物对铁硫生物地球化学循环的贡献,以期为冰 封期下铁硫循环研究提供基础数据和科学依据,丰富 不同环境特征下铁硫循环的环境地球化学理论。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究选用的 DFeRB 和 SRB 分别为环境中广泛 存在且具有代表性的 Shewanella putrefaciens 和 Desulfovibrio desulfuricans subsp. desulfuricans。 试验体系中的SO⁴和Fe³⁺分别为Na₂SO₄和FeCl₃ 溶液,Na₂SO₄和FeCl₃均为优级纯,营养盐溶液NH₄Cl、 KCl、CaCl₂·2H₂O、NaCl、MgCl₂·7H₂O和NaHCO₃为分 析纯,乙酸钠为分析纯,试验用水均为超纯水。

试验所用培养基、超纯水、烧杯、枪头等耐高温用 具在试验前均于高压灭菌锅中进行灭菌,培养基 121℃,30min,其余为121℃、20min。试验所用注射 器均为医用无菌一次性使用注射器(带针头),其余不 耐高温用具试验前均采用紫外线灭菌法进行灭菌,灭 菌24h以上,以保证灭菌效果。

1.2 试验菌株和培养基

1.2.1 试验菌株

Shewanella putrefaciens 和 Desulfovibrio desulfuricans subsp. desulfuricans 均购买自北纳生物技术研究 院。Shewanella putrefaciens 属 γ -变形杆菌纲希瓦氏 菌属,兼性厌氧菌,易分离培养,生长快,分布广,最佳 生长温度 30 ℃(中温菌),适宜 pH 值为中性。Desulfovibrio desulfuricans subsp. desulfuricans 属脱硫弧菌属, 严格厌氧菌,是阴性弧性菌,适合生长温度为 30~ 37 ℃(中温菌),生长 pH 范围一般为 5~9,适宜 pH 值 为中性。

1.2.2 培养基

DFeRB和SRB的菌株为冻干粉,试验前需进行 活化富集并制备菌悬液。DFeRB的培养温度为 30℃,SRB的培养温度为37℃。培养一段时间后,观 察菌种管内颜色变化,DFeRB培养液由红棕色逐渐 变为绿色或白色,表明该菌株具有还原铁的能力。 SRB培养至管壁变黑,形成黑色菌落,并伴有臭鸡蛋 气味。

(1)DFeRB所用培养基

柠檬酸铁培养基: NaCl 2 g·L⁻¹、CaCl₂ 1 g·L⁻¹、 MgCl₂ 2 g·L⁻¹、NH₄Cl 3 g·L⁻¹、KH₂PO₄ 2 g·L⁻¹、柠檬酸 铁5 g·L⁻¹,调节 pH 为 7.2。

LB基础固体培养基:牛肉膏3g·L⁻¹、蛋白胨10g·L⁻¹、NaCl5g·L⁻¹、琼脂15g,调节pH为7。

LB基础液体培养基:牛肉膏3g·L⁻¹、蛋白胨10g·L⁻¹、NaCl5g·L⁻¹,调节pH为7。

(2)SRB所用培养基

哥伦比亚血平板:购买即用型平板,购自环凯微 生物有限公司。

富集培养基:NaCl 2 g·L⁻¹、Fe(NH₄)₂(SO₄)₂·6H₂O 0.5 g、NH₄Cl 1 g·L⁻¹、NH₄Cl 1 g·L⁻¹、MgSO₄·7H₂O 2 g· L⁻¹、Na₂SO₄ 0.5 g·L⁻¹、K₂HPO₄ 0.5 g·L⁻¹、乳酸钠(70%)

农业环境科学学报 第39卷第9期

5 mL、酵母膏1g·L⁻¹,调节pH为7.5。

1.3 试验设计

模拟冰封期于4℃条件下开展为期30d的室内 模拟试验,试验装置采用100mL螺口试剂瓶,设置 无菌组为试验对照组,分别构建Fe³⁺+SRB、Fe³⁺+ DFeRB、SO²⁺+SRB、SO²⁺+DFeRB、Fe³⁺+SO²⁺、Fe³⁺+SO²⁺+SRB、Fe³⁺+SO²⁺+DFeRB试验体系。试验用SRB为严 格厌氧菌,培养基溶液用无氧水配置,该菌活化及富 集过程中均通入氮气以确保厌氧。所有试剂瓶在加 入所需溶液后立即密封,所有操作在厌氧手套箱中进 行。在培养的第1、2、3、4、5、6、7、8、9、10、11、12、13、 14、15、17、19、21、23、25、27、30d时取样,即时测定溶 液中生物活性、Fe²⁺浓度和S²⁻浓度。

各试验体系中 Na₂SO₄和 FeCl₃的初始浓度均为10 μmol·L⁻¹。有菌组中,菌液接种量为4%(V/V)(即100 mL体系中添加4 mL菌悬液),添加乙酸钠溶液为碳 源,同时添加 NH₄Cl 0.25 g·L⁻¹、NaCl 1 g·L⁻¹、NaHCO₃ 2 g·L⁻¹、KCl 0.5 g·L⁻¹、MgCl₂·7H₂O 0.2 g·L⁻¹、CaCl₂· 2H₂O 0.14 g·L⁻¹为基础营养盐。

1.4 分析方法

(1)Fe²⁺浓度测定使用邻菲罗啉比色法:样品过 0.22 μm 滤膜后,取滤液5 mL于比色管中(10 mL),加 邻菲罗啉溶液(0.5%,1 mL)和1 mL缓冲溶液,定容摇 匀后,用紫外分光光度计于510 nm 处测定 Fe²⁺浓度。

(2)S²⁻浓度测定使用亚甲基蓝分光光度法:样品 过 0.22 μm 滤膜后,取滤液 10 mL 于比色管中(25 mL),加N,N-二甲基对苯二胺溶液 2 mL(2 g·L⁻¹)和 硫酸铁铵溶液 1 mL(100 g·L⁻¹),定容摇匀后,用紫外 分光光度计于665 nm处测定S²⁻浓度。

(3)生物活性:取样品(1 mL)于磷酸钠缓冲溶液 (pH=7.6,25 mL,60 mmol·L⁻¹)中,振荡2h后,加入荧 光素双乙酸盐(FDA)(0.1 mL,2 mg·mL⁻¹),继续振荡 2h后于490 nm下比色,以吸光度值表征生物活性, 同时取去离子水同样操作为空白对照。

1.5 数据分析

本文中试验数据用 Excel 2016、OriginPro 2017进行处理和作图,采用 IBM SPSS 25.0进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 DFeRB和SRB作用下的铁硫还原

Fe³⁺与 DFeRB 和 SO²⁻与 SRB 分别单独存在时, Fe²⁺的浓度与 DFeRB 的生物活性及 S²⁻的浓度与 SRB 的生物活性均存在显著的正相关关系(*P*<0.01,*P*< 0.05)(图1),表明即使在低温条件下,Fe³⁺和SO²+的还 原仍与微生物的生长耦合在一起。由图2可知,在 Fe³⁺+DFeRB的试验体系中,Fe²⁺的浓度随培养时间的 增加而呈现先增加后逐渐趋于平稳的趋势;在SO²⁺+ SRB的试验体系中,S²⁻浓度随培养时间呈波动式变 化,并且培养前期的S²⁻浓度明显高于后期,这可能与 SRB的生物活性有关。由此可见,低温下DFeRB和 SRB仍具有一定的生物活性,DFeRB对Fe³⁺的异化还 原和SRB对硫酸盐还原仍具有明显的促进作用。

在 SO²⁺+DFeRB 和 Fe³⁺+SRB 的试验体系中,S²⁻浓 度以及 Fe²⁺浓度均随培养时间的增加呈波动式增长 (图 2),并且 S²⁻浓度和 DFeRB 的生物活性在 SO²⁺+ DFeRB 体系中呈显著正相关关系(P<0.05),Fe²⁺浓度 与 SRB 的生物活性在 Fe³⁺+SRB 体系中呈显著正相关 关系(P<0.05),表明低温下 SO²⁻和 Fe³⁺也可以分别作 为 DFeRB 和 SRB 的直接电子受体,无需化学中间产 物的介导。

2.2 SO²⁻/Fe³⁺的添加对微生物介导的异化铁还原和硫酸盐还原过程的影响

研究结果表明,低温条件下,SO²-的存在对Fe³⁺的 异化还原过程有较大影响(图2)。在培养周期内, Fe³⁺+SO²⁻+DFeRB体系中的Fe²⁺浓度普遍略高于Fe³⁺+ DFeRB体系中Fe²⁺浓度,并且Fe³⁺+SO₄²⁻+DFeRB体系 中 Fe²⁺的最大累积量明显高于 Fe³⁺+DFeRB 体系(图 2),表明一定浓度范围内,SO²的存在可以促进异化 铁还原过程中Fe²⁺的累积。在Fe³⁺+SO₄²⁻+DFeRB与 Fe³⁺+DFeRB体系中Fe²⁺的整体浓度基本在1:3~2:3 (图3),这进一步表明Fe³⁺与SO²⁻共存时,更有利于 Fe³⁺的异化还原。在Fe³⁺+SO²⁻+DFeRB体系中Fe²⁺浓 度的变化趋势与S²浓度的变化趋势大致相反(图2), 表明 DFeRB 作用下 Fe3+的异化还原受到高浓度 S2-的 抑制,因而在部分培养阶段中,Fe3++SO4-+DFeRB中 Fe²⁺浓度与Fe³⁺+DFeRB体系中Fe²⁺浓度差异不大。对 比 $Fe^{3+}+SO_4^{2-}+SRB$ 与 $Fe^{3+}+SRB$ 体系中 Fe^{2+} 浓度(图2), 虽然个别培养时期中Fe³⁺+SO²⁻+SRB中的Fe²⁺浓度高 于Fe³⁺+SRB体系,但是在培养周期内整体差异较小, 并且Fe³⁺+SO²⁻+SRB体系与Fe³⁺+SRB中的Fe²⁺浓度基 本集中于三元图的中心区域(图3)。

在 SO4²⁺+SRB 和 Fe³⁺+SO4²⁺+SRB 体系中, S²⁻的最大 浓度分别出现在培养的第7d和第8d(图2),在培养 周期的初始阶段还原产物 S²⁻的生成浓度并未达到最 大值。在培养周期内, Fe³⁺+SO4²⁺+DFeRB中的 S²⁻浓度 普遍高于 SO4²⁺+DFeRB 体系, SRB 作用下呈现相同规



图1 Fe²⁺和S²⁻浓度与生物活性相关性

Figure 1 The correlation analysis between Fe²⁺/S²⁻ concentration and bioactivity



图2 微生物作用下的 Fe³⁺异化还原和硫酸盐还原以及两者间的相互影响 Figure 2 Fe³⁺ reduction and sulfate reduction mediated by microbes and interaction between them

律且更为明显,并且在 DFeRB 和 SRB 作用下,有无 Fe³⁺添加的组别中S²⁻浓度均呈现明显的正相关关系 (P < 0.01)。由此可见低温条件下 Fe^{3+} 的添加明显影 响 DFeRB和SRB作用下 SO²的还原过程。Fe³⁺+SO²+ DFeRB/SRB 与 SO₄²⁻+SRB 及 Fe³⁺+SO₄²⁻与 SO₄²⁻+DFeRB/ SRB体系中的S²浓度的占比分布情况可以进一步表 明Fe³⁺的添加明显影响还原菌作用下SO²⁻的还原过程 (图3),并且 $Fe^{3+}+SO_4^2$ 同时存在时对 SO_4^2 还原的促进 作用更为明显,整体还原产物S²浓度是仅外加SRB 体系中S²浓度的2~3倍。此外.Fe³⁺+SO²+SRB与SO²+ SRB体系中的S²⁻浓度占比明显高于Fe³⁺+SO²⁻+DFeRB 与SO²⁻+DFeRB体系中的浓度比,这可能是由于铁硫 共存时 DFeRB 对铁的影响程度强于 SRB。Fe³⁺+SO²⁻+ DFeRB/SRB体系中的S²⁻浓度明显高于SO₄²⁻+DFeRB/ SRB体系(图2),表明无论是DFeRB还是SRB,Fe³⁺和 还原菌同时存在时对SO²还原的促进作用更强。

2.3 铁硫共存体系中异化铁还原和硫酸盐还原的耦 合关系

研究结果表明,低温条件下,铁硫共存时,还原产 物Fe²⁺和S²⁻的牛成仍然与DFeRB和SRB的牛物活性 紧密耦合在一起,DFeRB和SRB对Fe³⁺和SO²⁻的还原 产生重要影响(图4和图5)。在只有Fe³⁺和SO²-存在 时,铁硫得电子摩尔浓度矩阵分布较为简单,目在阴影 区范围内呈现明显负相关关系(图6),表明在化学介 导还原过程中SO²的还原可能存在被Fe³⁺抑制的风 险[28]。而微生物存在时铁硫得电子摩尔浓度矩阵分布 情况则相对复杂(图6),这也进一步表明当铁硫共存 时,DFeRB和SRB的存在使得体系中铁硫自身的电子 传递受到影响,Fe3+和SO2-的还原过程更为复杂[29-30]。

对比 Fe³⁺+SO²⁻+DFeRB 与 Fe³⁺+SO²⁻体系(图 5), Fe²⁺浓度变化规律在培养的不同时段明显不同,这可

能与微生物作用下铁硫竞争电子有关,表明即使低温 条件下 DFeRB 对于存在竞争电子关系的 Fe-S 共存体 系中Fe³⁺和SO²⁻的还原仍具有不可忽视的影响。具体 而言,培养前期个别时段内DFeRB作用下的Fe²⁺浓度 高于无菌组,表明DFeRB作用下的Fe³⁺还原快于无菌 组中Fe3+和SO4-的化学介导还原;培养中期基本呈现 为无菌组高于DFeRB组,是由于Fe³⁺在DFeRB作用 下虽可被迅速还原,但随后SO²-还原产生的S²⁻可与 Fe²⁺反应消耗部分Fe²⁺。随培养时间的增加,在 DFeRB 组铁硫争夺电子的过程中,硫的电子总量明 显高于铁(图7),表明在后期有明显的硫酸盐还原反 应发生,SO²还原产生的HS⁻可间接还原Fe³⁺,并且无 菌组中Fe³⁺和SO²⁻及其还原产物不断发生化学吸附-解吸反应,因而在培养后期出现个别时段内DFeRB 作用下的Fe²⁺浓度高于无菌组。就S²⁻浓度而言,铁硫 共存体系中,虽然无菌组中硫的电子量明显高于铁, 硫酸盐还原占主导,但DFeRB作用下的S²浓度明显 高于无菌组(图5和图7),表明DFeRB的还原作用明 显强于化学介导还原。Fe³⁺和SO²⁻在无菌组中通过化 学介导还原产生的Fe²⁺和S²⁻不断发生化学反应产生 FeS 等沉淀,因而 S²⁻维持在较低浓度水平;而在 DFeRB存在时,虽然还原产物Fe²⁺和S²⁻也会发生反 应,但在DFeRB的异化还原作用下,Fe³⁺和SO²⁻不断 被还原,还原产物不断生成。

铁硫共存体系中,SRB作用下硫的得电子总量明 显高于铁(图7),表明Fe³⁺和SO₄²同时存在时,SRB优 先还原 SO₄²⁻。Fe³⁺+SO₄²⁻+SRB 与 Fe³⁺+SO₄²⁻体系中, Fe²⁺ 浓度在两组间总体差异不大,但SRB作用下的Fe²⁺最 大浓度明显较无菌组高(图5)。S²⁻浓度在两组间变 化趋势虽基本一致(图5),但铁硫得电子摩尔浓度矩 阵分布情况明显不同,且SRB作用下的电子分布情况



图 3 Fe²⁺及 S²⁻浓度三元图

Figure 3 Ternary diagram of Fe2+ and S2- concentration



图4 铁硫共存时Fe²⁺和S²⁻浓度与生物活性相关性

Figure 4 The correlation analysis between Fe²⁺/S²⁻ concentration and bioactivity in iron and sulfate coexist system



Figure 5 The reduction mediated by microbes in iron and sulfate coexist system



Figure 6 The correlation analysis between gained electrons of Fe and S in iron and sulfate coexist system

更为复杂(图6)。这在一定程度上说明铁硫共存体 系中SRB存在下的铁硫还原的反应过程较为复杂。 铁硫的得电子量在S²⁻浓度小于0.07 mg·L⁻¹时呈明显 负相关(图6),表明在一定浓度范围内,Fe³⁺的存在会 抑制SO²⁻的还原^[28],并且S²⁻存在下铁会以FeS的形式 析出,S²⁻浓度会因铁的存在而下降。在S²⁻浓度在 0.07~0.075 mg·L⁻¹范围内,Fe²⁺浓度短时间内得到累 积,可能是由于在SRB作用下产生的还原产物一定程 度上累积,以Fe³⁺形式存在的铁易被还原^[31]。S²⁻浓度 超过0.075 mg·L⁻¹后,铁硫得电子量呈正相关,表明此 时溶解性铁的浓度可能超出了S²⁻的保护机制^[28],且当



coexist system

S²浓度较高时可能有利于化学还原的发生。

Fe³⁺+SO²⁺+SRB与Fe³⁺+SO²⁺+DFeRB中的Fe²⁺浓度 见图8,整体而言,SRB介导还原生成的Fe²⁺浓度虽高 于DFeRB,但DFeRB作用下铁的得电子总量高于 SRB,表明DFeRB更倾向于与Fe³⁺交换电子,更有利 于Fe³⁺的还原。分阶段来看,反应前期(1~7 d),尤其 是1~2 d时,以及反应后期(19~30 d)DFeRB介导还原 生成的Fe²⁺浓度显著高于SRB(P<0.05),而反应中期 (8~17 d)SRB介导还原生成的Fe²⁺浓度却显著高于 DFeRB(P<0.05)。就S²⁻浓度而言(图9),反应前期 (1~6 d)SRB介导生成的S²⁻明显高于DFeRB,而中后



图8 铁航共仔体系中 DrekB和 SkB 作用 下不同所按 Fe" 浓度

Figure 8 Fe2+ concentration mediated by DFeRB and SRB in iron and sulfate coexist system





期(7~30 d) DFeRB 介导生成的 S²⁻却高于 SRB(P< 0.01)。这再次证实铁硫共存时, SRB更易与 SO²⁻交换 电子, 促进 SO²⁻的还原, 且 SO²⁻的还原作用优于 Fe³⁺的 还原。但中后期 SRB 作用下的 S²⁻生成浓度低于 DFeRB组, 可能与铁硫的成矿作用有关, 此外有研究 表明细胞产量和最大生长率随 S²⁻浓度的升高而降 低, 因而后期 SRB 的还原能力也较前期弱。

3 讨论

3.1 SO²⁻/Fe³⁺的添加对微生物介导的异化铁还原和硫酸盐还原的影响研究

在 Fe³⁺与 DFeRB 单独存在时,培养前期还原产生的 Fe²⁺浓度较中期高,这是由于在培养初期 DFeRB 适应试验培养环境后,利用体系中的乙酸钠为电子供体,快速还原 Fe³⁺, Fe²⁺浓度明显累积,随培养时间的增加,受电子供体和电子受体含量的限制, Fe³⁺的还原受到抑制, Fe²⁺的生成速率逐渐减慢,累积量逐渐

趋于平稳。本研究结果表明,DFeRB也可直接还原 SO²⁻,并且一定浓度范围内,SO²⁻的添加可以促进异化 铁还原过程中Fe²⁺的累积,且Fe³⁺与SO₄²⁻共存时,更有 利于Fe³⁺的异化还原。这可能是由于在Fe³⁺与SO²⁻同 时存在时,Fe3+与SO4-会争夺电子,因而有部分Fe2+可 能来源于SO²-还原产生的HS⁻介导的间接还原产物。 同时也有研究发现相当一部分的溶解性Fe²⁺是HS⁻介 导的间接还原的产物^[32],这与本研究的结果一致。但 是,DFeRB作用下Fe3+的异化还原也会受到高浓度S2-的抑制,因而本研究部分培养时期内Fe3+、SO²⁻及 DFeRB共存时的Fe²⁺浓度与Fe³⁺及DFeRB单独存在 时的Fe²⁺浓度差异不大。Fe³⁺、SO²⁻及SRB共存时与不 添加 SO²⁻时的 Fe²⁺浓度在培养周期内整体差异较 小,这可能是由于尽管低温条件下SRB也可直接还 原Fe³⁺,但在SO²⁻存在的情况下,SRB优先还原SO²⁻,因 而 Fe³⁺与 SO²⁻共存时, SRB 并没有明显促进体系中 Fe²⁺的累积。

2020年9月 宋文杰,等:DFeRB和SRB对冰封期铁与硫还原的影响研究

本研究中SO²与SRB单独存在时以及Fe³⁺、SO² 与SRB共存时的还原产物S²⁻在培养周期的初始阶段 并未达到最大值,可能有两方面原因,一是SRB是严 格厌氧菌,SRB由富营养且严格厌氧的培养基转入试 验培养体系中会经历短暂的适应期;二是由于SRB还 原的最主要生化反应是异化还原,在SRB传递电子给 SO²-前, SO²-先在细胞外大量累积, 之后才进入细胞膜 内^[33]。本研究结果表明低温条件下Fe³⁺的添加明显影 响 DFeRB和 SRB 作用下 SO² 的还原过程。这可能是 由于铁是还原菌细胞中参与SO²还原的多种功能酶 的辅基成分,因而在有低浓度Fe²⁺存在时可以一定程 度上刺激还原菌的活性^[34]。但是铁硫共存时,Fe³⁺和 SO²⁻相互争夺电子,Fe³⁺可能会对SO²⁻还原过程产生 短暂的负面影响^[28],因而本研究中Fe³⁺、SO²-与 DFeRB/SRB共存时的S²浓度均有个别培养时期内低 于未添加Fe³⁺的对照组。

3.2 铁硫共存体系中异化铁还原和硫酸盐还原过程 研究

铁硫共存时,两者之间会相互干扰,Fe3+和SO2-不 只是电子数量的竞争者,更是微生物细胞内部电子传 递途径的竞争者^[34]。因而铁硫共存时,DFeRB和SRB 的存在使得体系中铁硫自身的电子传递受到影响, Fe³⁺和SO²的还原过程更为复杂。本研究结果证明即 使低温条件下 DFeRB 对于存在竞争电子关系的 Fe-S 共存体系中Fe³⁺和SO²的还原仍具有不可忽视的影 响。铁硫共存时,DFeRB驱动的Fe³⁺还原明显快于无 菌条件下 Fe3+和 SO₄-的化学介导还原,但同时体系中 Fe²⁺浓度会受到S²⁻浓度的影响,虽然Fe³⁺在DFeRB作 用下可被迅速还原,但随后SO²⁻还原产生的S²⁻可与 Fe²⁺反应消耗部分Fe²⁺,使得Fe²⁺浓度降低,但后期由 于SO4-的存在有明显的硫酸盐还原反应发生,SO4-还 原产生的HS⁻也可间接还原Fe³⁺,还原产物Fe²⁺增多。 铁硫共存时,DFeRB作用下的S²浓度高于无菌组,这 也证明 DFeRB 驱动的还原作用明显强于化学介导还 原。有研究表明¹³¹微生物驱动的铁的还原溶解会降 低甚至失去其自身的吸附能力,还原产生的Fe²⁺可与 释放的其他元素比如磷、重金属等竞争环境中的其他 吸附位点。这也表明即使低温条件下,DFeRB和SRB 驱动的异化还原过程也会对碳、氮、磷等生源要素的 循环和活性以及重金属等污染物的形态和生物有效 性等产生重要影响。

在 Fe³⁺、SO²及 DFeRB 共存时, Fe²⁺浓度日渐累积 而 S²⁻浓度下降的阶段出现可能是因为在 DFeRB 作用

下发生异化铁还原,同时吸附在Fe³⁺上的复合硫化物 与Fe³⁺之间也可发生电子转移从而导致Fe³⁺还原^[36], 这也表明在DFeRB作用下的铁硫共存体系中Fe³⁺还 原的机制不只一种,而是包括以H*作为电子供体的 直接微生物还原、通过S²⁻和HS⁻作用于Fe³⁺的间接还 原以及以乳酸钠为碳源的直接微生物还原等多种发 生机制。同时也有研究表明^[37],异化铁还原过程包含 多种还原机制,例如通过细胞外膜蛋白与Fe³⁺接触直 接传递电子的直接接触机制、通过产生细胞附属物与 Fe³⁺接触传递电子的导电附属物机制、通过小分子络 合物与Fe³⁺作用的螯合机制以及电子穿梭体机制等。 体系中出现 Fe^{2+} 和 S^{2-} 浓度同时下降阶段,是因为在 DFeRB作用下的铁硫共存体系中, DFeRB会迅速作 用于 Fe³⁺, 之后 SO₄⁻获得电子, S²⁻得到累积并达到较 高浓度,而游离的Fe²⁺可与S²⁻生成FeS沉淀。Fe²⁺浓 度降低而S²⁻相对稳定的阶段可能是由于FeS到FeS₂ 的转化^[38],并且FeS2的牛成可以减少HS对微牛物细 胞的毒性,因而此时Fe²⁺浓度的下降对SO²⁻的还原起 到一定的协同作用[33]。

本研究结果证明 Fe³⁺、SO²⁻及 SRB 共存时, SRB 优 先还原 SO²⁻。SRB 作用下的 Fe²⁺浓度较 Fe³⁺与 SO²⁻ 单 独存在时的总体差异不大,但 SRB 作用下的 Fe²⁺最大 浓度明显较高,这是因为 Fe³⁺在 SRB 还原 SO²⁻ 后可竞 争得到部分电子进而被 SRB 直接还原,并且 SO²⁻还原 产生的 HS⁻也可间接介导 Fe²⁺的生成,但是 SRB 作用 下大量生成的 S²⁻与 Fe²⁺反应^[39],一定程度上会限制 Fe²⁺的含量。

在Fe³⁺、SO₄⁻及DFeRB或SRB共存时,SRB更易与 SO²-交换电子,促进SO²-的还原,且SO²-的还原作用优 于Fe3+的还原。DFeRB更倾向于与Fe3+交换电子,更 有利于 Fe3+的还原。培养中后期 SRB 作用下的 S2-生 成浓度低于DFeRB组,可能与铁硫的成矿作用有关, 此外有研究表明细胞产量和最大生长率随S²浓度的 升高而降低,因而后期SRB的还原能力也较前期弱。 反应前期(1~7 d)及后期(19~30 d)DFeRB介导还原 牛成的 Fe^{2+} 浓度显著高于SRB,而反应中期(8~17 d) SRB介导还原生成的 Fe²⁺浓度却显著高于 DFeRB。 这是由于DFeRB可更快地与Fe3+交换电子,诱导Fe3+ 的还原,到反应中期,除微生物直接还原Fe³⁺外,虽然 DFeRB作用下铁硫共存体系中也可生成 SO4-还原产 物,但SRB作用下S²⁻和HS⁻的累积量更高,间接介导 生成的Fe²⁺更多,因而SRB介导还原生成的Fe²⁺浓度 更高,但到后期SRB组中S2-与Fe2+反应,一定程度上 2024

又限制了Fe²⁺的生成。

4 结论

(1)本研究结果表明,即使在冰封期,DFeRB和 SRB仍具有一定的生物活性,对铁的异化还原以及硫酸盐还原仍有明显的促进作用,并且SO²和Fe³⁺可以 分别作为DFeRB和SRB的直接电子受体,无需化学 中间产物的介导。

(2)冰封期,SO²的存在对铁的异化还原过程有 较大影响,可以一定程度上促进铁异化还原过程中 Fe²⁺的累积,并且在DFeRB介导的还原过程中,Fe³⁺与 SO²⁻共存时,更有利于Fe³⁺的异化还原。Fe³⁺的存在对 DFeRB和SRB介导的SO² 的还原过程有显著影响。

(3)冰封期,铁硫共存时,DFeRB和SRB对Fe³⁺和 SO²的还原具有重要影响,并且DFeRB和SRB的存在 使得体系中铁硫自身的电子传递受到影响,Fe³⁺和SO²⁺ 的还原过程更为复杂。铁硫共存时DFeRB对铁的影 响程度强于SRB。无论是DFeRB还是SRB,Fe³⁺和还 原菌同时存在时对SO²⁺还原的促进作用更强。不同 微生物的还原倾向性和生物可利用性存在明显区别, DFeRB更倾向于与Fe³⁺交换电子,更有利于Fe³⁺的还 原;SRB更易与SO²⁺交换电子,更能促进SO²⁺的还原, 但是铁硫共存时DFeRB中铁硫得电子量更大。 DFeRB和SRB介导下的铁还原和硫还原存在明显的 耦合关系,且存在显著的阶段性差异,并且一定程度 上SO²⁺的还原优于Fe³⁺的还原。

参考文献:

- 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] Mejia J, Roden E E, Ginder-Vogel M. Influence of oxygen and nitrate on Fe(hydr) oxide mineral transformation and soil microbial communities during redox cycling[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(7):3580-3588.
- [3] Rabus R, Venceslau S S, Woehlbrand L, et al. A post-genomic view of the ecophysiology, catabolism and biotechnological relevance of sulphate-reducing prokaryotes[J]. Advances in Microbial Physiology, 2015: 55-321.
- [4] Raven M R, Fike D A, Gomes M L, et al. Organic carbon burial during OAE2 driven by changes in the locus of organic matter sulfurization[J]. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 3409.
- [5] Raven M R, Sessions A L, Fischer W W, et al. Sedimentary pyrite δ34S differs from porewater sulfide in Santa Barbara Basin: Proposed role of organic sulfur[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2016, 186: 120– 134.

- [6] Weber K A, Achenbach L A, Coates J D. Microorganisms pumping iron: Anaerobic microbial iron oxidation and reduction[J]. Nature Reviews Microbiology, 2006, 4(10):752.
- [7] Lovley D R, Phillips E J. Availability of ferric iron for microbial reduction in bottom sediments of the freshwater tidal Potomac River[J]. Appl Environ Microbiol, 1986, 52(4):751-757.
- [8] Colombo C, Palumbo G, He J Z, et al. Review on iron availability in soil: Interaction of Fe minerals, plants, and microbes[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2014, 14(3):538–548.
- [9] Foti M, Sorokin D Y, Lomans B, et al. Diversity, activity, and abundance of sulfate-reducing bacteria in saline and hypersaline soda lakes [J]. Appl Environ Microbiol, 2007, 73(7):2093-2100.
- [10] Saalfield S L, Bostick B C. Changes in iron, sulfur, and arsenic speciation associated with bacterial sulfate reduction in ferrihydrite-rich systems[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43 (23) : 8787-8793.
- [11] 朱茂旭, 史晓宁, 杨桂朋, 等. 海洋沉积物中有机质早期成岩矿化路径及其相对贡献[J]. 地球科学进展, 2011, 26(4):355-364.
 ZHU Mao-xu, SHI Xiao-ning, YANG Gui-peng, et al. Relative contributions of various early diagenetic pathways to mineralization of organic matter in marine sediments[J]. Advances in Earth Science, 2011, 26(4):355-364.
- [12] Kwon M J, O'loughlin E J, Boyanov M I, et al. Impact of organic carbon electron donors on microbial community development under ironand sulfate-reducing conditions[J]. *PLoS One*, 2016, 11(1).
- [13] Klok J B, De Graaff M, Van Den Bosch P L, et al. A physiologically based kinetic model for bacterial sulfide oxidation[J]. *Water Research*, 2013, 47(2):483-492.
- [14] Barabanov A A, Bukatov G D, Zakharov V A, et al. Kinetic study of ethylene polymerization over supported bis(imino) pyridine iron(II) catalysts[J]. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 2006, 207(15): 1368-1375.
- [15] He J, Lü C, Fan Q, et al. Distribution of AVS-SEM, transformation mechanism and risk assessment of heavy metals in the Nanhai Lake in China[J]. Environmental Earth Sciences, 2011, 64(8):2025–2037.
- [16] Lucotte M, Mucci A, Hillaire–Marcel C, et al. Early diagenetic processes in deep Labrador Sea sediments: Reactive and nonreactive iron and phosphorus[J]. *Canadian Journal of Earth Sciences*, 1994, 31(1): 14–27.
- [17] Simpson S L, Ward D, Strom D, et al. Oxidation of acid-volatile sulfide in surface sediments increases the release and toxicity of copper to the benthic amphipod *Melita plumulosa*[J]. *Chemosphere*, 2012, 88 (8):953-961.
- [18] Liu G, Fan C, Zhang L, et al. Environment effects of algae-caused black spots Ⅲ: Impacts on Fe-SP cycle in water-sediment interface [J]. China Environmental Science, 2014, 34(12):3199–3206.
- [19] Nasr S, Khairy M, Okbah M, et al. AVS-SEM relationships and potential bioavailability of trace metals in sediments from the Southeastern Mediterranean Sea, Egypt[J]. *Chemistry and Ecology*, 2014, 30(1): 15-28.
- [20] Guo G, Ekama G A, Wang Y, et al. Advances in sulfur conversion-as-

2020年9月

sociated enhanced biological phosphorus removal in sulfate-rich wastewater treatment: A review[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 285:121303. doi: org/10.1016/j.biortech.2019.03.142.

- [21] Meng T, Zhu M X, Ma W W, et al. Sulfur, iron, and phosphorus geochemistry in an intertidal mudflat impacted by shellfish aquaculture
 [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26 (7): 6460-6471.
- [22] Preuss K, Siwoniku A M, Bucur C I, et al. The influence of heteroatom dopants nitrogen, boron, sulfur, and phosphorus on carbon electrocatalysts for the oxygen reduction reaction[J]. *Chem Plus Chem*, 2019, 84 (5):457–464.
- [23] Tan H, Tang J, Kim J, et al. Rational design and construction of nanoporous iron-and nitrogen-doped carbon electrocatalysts for oxygen reduction reaction[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2019, 7 (4) : 1380-1393.
- [24] Wu S, Zhao Y, Chen Y, et al. Sulfur cycling in freshwater sediments: A cryptic driving force of iron deposition and phosphorus mobilization
 [J]. Science of the Total Environment, 2019, 657:1294–1303.
- [25] Yan Z, Dai C, Lv X, et al. Iron promoted nitrogen doped porous graphite for efficient oxygen reduction reaction in alkaline and acidic media [J]. Journal of Alloys and Compounds, 2019, 773:819–827.
- [26] Yao Z, Wang F, Wang C, et al. Anaerobic ammonium oxidation coupled to ferric iron reduction in the sediment of a eutrophic lake[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26 (15): 15084– 15094.
- [27] Yao Z, Yang L, Song N, et al. Effect of organic matter derived from algae and macrophyte on anaerobic ammonium oxidation coupled to ferric iron reduction in the sediment of a shallow freshwater lake[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2019, 27(3):1–9.
- [28] Gonzalez-Silva B M, Briones-Gallardo R, Razo-Flores E, et al. Inhibition of sulfate reduction by iron, cadmium and sulfide in granular sludge[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 172(1):400-407.
- [29] 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[J]. *Appl Environ Microbiol*, 1987, 53(11):2636– 2641.

- [30] Roden E E, Sobolev D, Glazer B, et al. Potential for microscale bacterial Fe redox cycling at the aerobic-anaerobic interface[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2004, 21(6):379-391.
- [31] Rittmann B E, Tularak P, Lee K–C, et al. How adaptation and mass transfer control the biodegradation of linear alkylbenzene sulfonate by activated sludge[J]. *Biodegradation*, 2001, 12(1):31–37.
- [32] Jacobson M. Chemical and biological mobilization of Fe(III) in marsh sediments[J]. *Biogeochemistry*, 1994, 25(1):41-60.
- [33] 金鑫, 王进, 陈天虎, 等. 铁氧化物对硫酸盐还原菌分解硫酸盐矿物的协同作用[J]. 矿物学报, 2010(3):343-348.
 JIN Xin, WANG Jin, CHEN Tian-hu, et al. The synergistic influence of iron oxide on the dissolution of sulfate mineral[J]. Acta Mineralogica Sinica, 2010(3):343-348.
- [34] 王旭刚, 徐晓峰, 孙丽蓉, 等. 厌氧条件下水稻土中铁硫循环与光照的关系[J]. 土壤学报, 2013, 50(4):712-719.
 WANG Xu-gang, XU Xiao-feng, SUN Li-rong, et al. Relationships of illumination with iron and sulfur cyclings in paddy soil under anaerobic incubation[J]. Acta Pedologica Sinica, 2013, 50(4):712-719.
- [35] Borch T, Kretzschmar R, Kappler A, et al. Biogeochemical redox processes and their impact on contaminant dynamics[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(1):15–23.
- [36] Poulton S W. Sulfide oxidation and iron dissolution kinetics during the reaction of dissolved sulfide with ferrihydrite[J]. *Chemical Geolo*gy, 2003, 202(1/2):79-94.
- [37] 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.

- [38] Wilkin R, Barnes H. Pyrite formation by reactions of iron monosulfides with dissolved inorganic and organic sulfur species[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1996, 60(21):4167-4179.
- [39] Choi J, Choi K, Lee W. Effects of transition metal and sulfide on the reductive dechlorination of carbon tetrachloride and 1, 1, 1-trichloroethane by FeS[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 162 (2/3): 1151-1158.