

纤维素作为电子供体对异化铁还原过程的影响

张磊, 曲东, 易维洁, 孙丽蓉

(西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] **【目的】**明确不同来源的铁还原微生物对纤维素的利用特征,探讨不同水稻土中铁还原微生物群落利用纤维素功能的差异,以及电子供体浓度与氧化铁还原的关系。**【方法】**以来源于吉林、天津、四川的水稻土为供试材料,分别采用土壤泥浆培养、水稻土微生物群落厌氧培养及纯培养试验方法,研究了添加纤维素作为电子供体对氧化铁微生物还原过程的影响。**【结果】**土壤泥浆厌氧恒温培养试验表明,与不添加纤维素的对照相比,添加 5~40 g/L 纤维素后,四川、吉林和天津水稻土中 Fe(Ⅲ)还原的最大潜势分别增加 10.5%~16.0%, -1.9%~0.6% 及 5.3%~14.4%, 反应速率常数分别增加 19%~89%, 53%~96% 及 75%~164%, 最大反应速率($V_{\max}$)分别增加 37%~109%, 41%~79% 及 74%~148%。不同纤维素处理间的 pH 值有明显变化。在接种吉林、天津、四川和湖南水稻土微生物群落的处理中,当纤维素质量浓度为 2~10 g/L 时,其 Fe(Ⅱ)的累积量分别为 341.62~493.87, 90.75~246.78, 164.02~540.16 和 235.47~488.75 mg/L。随着添加纤维素浓度的增大, $V_{\max}$ 亦呈增大趋势。12 株铁还原菌株的纯培养试验中,有 4 株菌的 Fe(Ⅲ)还原率达到 20.9%~23.6%, 6 株菌的 Fe(Ⅲ)还原率为 16.17%~19.94%, 2 株菌的 Fe(Ⅲ)还原率仅为 9.64% 和 9.66%。**【结论】**添加纤维素可使 Fe(Ⅲ)还原的最大反应速率及速率常数增加,添加的纤维素浓度越大,其增加幅度越大。不同水稻土微生物群落,利用纤维素还原铁的能力具有明显差异。与接种不同水稻土微生物群落的铁还原过程相比,纯培养试验的 Fe(Ⅱ)累积量明显较低,12 株铁还原菌株直接利用纤维素的能力也较为有限。

[关键词] 水稻土;厌氧培养;微生物的铁还原;纤维素

[中图分类号] S154.39

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2009)04-0121-07

Effect of the cellulose as the electron donor on the Fe(Ⅲ) reduction

ZHANG Lei, QU Dong, YI Wei-jie, SUN Li-rong

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

Abstract: **【Objective】**In order to ascertain the utilization character of cellulose by the iron-reducing microbial from different sources, the experiment was done to find out the difference of cellulose usage by microbial communities from different paddy soils and the relationship between the concentration of electron donor and iron reduction. **【Method】**The paddy soils were used as test materials from Jilin, Tianjin and Sichuan. The effect of the cellulose as an electronic donor on the iron oxides reduction process was studied with the methods of slurries incubation, paddy soil microbial community anaerobic culture and pure culture. **【Result】**The results show that, compared to control, the biggest Fe(Ⅲ) reduction potential in paddy soil from Sichuan, Jilin and Tianjin was enhanced separately by 10.5%~16.0%, -1.9%~0.6% and 5.3%~14.4% when 5~40 g/L cellulose was added; The rate constant respectively increased by 19%~89%, 53%~96% and 75%~164% and the biggest rate increased by 37%~109%, 41%~79% and 74%~

* [收稿日期] 2008-06-12

[基金项目] 国家自然科学基金项目(40741005);西北农林科技大学创新团队计划项目

[作者简介] 张磊(1982—),男,陕西三原人,在读硕士,主要从事环境化学研究。E-mail:zhanglei3127@163.com

[通信作者] 曲东(1960—),男,河南陕县人,教授,博士生导师,主要从事土壤环境化学研究。E-mail:dongqu@nswsuaf.edu.cn

148% respectively. pH was significantly different in different cellulose treatments. In the experiment of inoculating microbial community from Jilin, Tianjin, Sichuan and Hunan paddy soils, $\text{Fe}(\text{II})$ of accumulated changes were separately 341.62–493.87, 90.75–246.78, 164.02–540.16 and 235.47–488.75 mg/L when the concentration of cellulose added was 2–10 g/L. With the increasing concentration of cellulose added, $V_{\max}$ increased. In pure culture of 12 bacteria of iron reduction, four $\text{Fe}(\text{III})$ reduction rate was 20.9%–23.6%, six the 16.17%–19.94%, two only 9.64% and 9.66%. 【Conclusion】 The max-rate of $\text{Fe}(\text{III})$ reduction increased with the added cellulose, so did the rate constant. The extent increased with the concentration of the added cellulose. There was significant difference between the iron-reduction ability of the microbial communities using cellulose. Compared with the process of iron-reduction of inoculating different paddy soil microbial communities, $\text{Fe}(\text{II})$ cumulant was significantly low in pure culture experiment. The ability of the 12 iron-reduction microbial using cellulose was limited.

Key words: paddy soil; anaerobic culture; microbial iron reduction; cellulose

微生物介导的氧化铁还原过程,对厌氧环境中物质的地球生物化学循环有着显著的影响。异养型铁还原微生物能够在氧化有机物的同时还原铁氧化物,并从中获得能量以维持微生物自身的生长。异化 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原微生物可以利用多种电子供体,包括 H_2 、有机酸、糖、芳香烃等。利用不同电子供体时,其还原 $\text{Fe}(\text{III})$ 的过程及机理具有一定差别,这在 $\text{Fe}(\text{III})$ 的还原潜势和还原反应速率的变化上会有所表现。目前,已有不少关于利用 H_2 、有机酸及葡萄糖等小分子有机物作为电子供体的铁还原过程的研究^[1-5],而针对纤维素、淀粉及塑料等有机大分子降解与异化铁还原微生物关系的研究则鲜见报道。木质纤维素是世界上最为丰富的再生资源^[6-7],如何有效地促进土壤中纤维素的生物转化,对土壤肥力的保育及减少农业废弃物对环境的污染,具有十分重要的实际意义^[8]。纤维素能够由微生物所分泌的胞外纤维素酶水解为葡萄糖和纤维二糖,而单糖作为异化铁还原微生物的主要电子供体,可促进环境中 $\text{Fe}(\text{III})$ 的还原。纯培养研究证实,葡萄糖先被发酵为氢气、乙酸和丁酸, $\text{Fe}(\text{III})$ 还原过程是由于发酵产物代谢引发的,推测发生代谢的微生物不同于发酵葡萄糖的微生物^[5]。所以,利用纤维素的铁还原过程,可能需要通过多级反应来完成。不同的微生物群落中,分解纤维素的微生物或酶可能存在差异,必然导致纤维素降解产物及其产生速率的区别。因此,探讨不同水稻土中铁还原微生物群落利用纤维素功能的差异,对认识不同土壤中纤维素代谢的特征和机理具有重要的理论意义。本研究拟以不同来源的水稻土为供试样品,通过土壤泥浆厌氧培养、以土壤浸提液为接种液的厌氧培养及接种具有铁还原功能的菌株的厌氧纯培养试验,以期明确不同铁还

原微生物利用外源纤维素的铁还原特征,从而为铁还原微生物的利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试水稻土分别于 2002~2004 年采自吉林省吉林市丰满区前二道乡河东村(用 JL 表示)、天津市塘沽区四道桥农场(用 TJ 表示)、四川省邛崃市回龙镇(用 SC 表示)、湖南省宁乡县城郊村(用 HN 表示)。采集上述地区 0~20 cm 耕层土样,自然风干后磨细过孔径 1 mm 土壤筛,置于聚乙烯容器中保存。JL、TJ、SC 及 HN 水稻土的有机质含量分别为 41.2, 20.4, 48.9 和 20.9 g/kg;无定形铁含量分别为 4.94, 2.03, 3.08 和 3.75 g/kg;游离铁含量分别为 10.01, 10.68, 6.48, 11.69 和 27.05 g/kg; pH 分别为 4.85, 7.85, 7.34 和 5.37。

1.2 微生物接种液的制备

将风干过筛的 4 种水稻土以 $m(\text{土}):V(\text{水})=1:9$ 的比例,在 30 ℃ 下淹水培养 1 周。将培养后的土样置离心机中于 700 r/min 离心 10 min,取上清液作为微生物接种液。4 种微生物接种液代表了 4 种不同的微生物群落分布,用于考察不同来源微生物对 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原的影响。

1.3 纯培养菌株的来源

纯培养试验中采用的 12 株严格厌氧的铁还原菌株,均由本实验室从水稻土中分离纯化获得,且均能快速还原 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 。这 12 株厌氧铁还原菌株分别用 SC-a4、SC-a09、SC-a11、SC-a14、SC-a16、SC-a20、SC-a24(从四川水稻土中分离获得)和 JX-a03、JX-a06、JX-a08、JX-a12、JX-a17(从江西水稻土中分离获得)表示。

1.4 试验方案及培养方法

1.4.1 添加纤维素对土壤泥浆厌氧培养中 Fe(Ⅲ)还原的影响 称取采自不同地区(SC, JL, TJ)的风干土壤样品 3.000 g 若干份,分别添加不同质量浓度(0, 5, 20, 40 g/L)的纤维素 3 mL 后进行厌氧培养。均于培养 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 d 采样测定体系中的 Fe(Ⅱ)含量。

1.4.2 添加纤维素对土壤浸提液厌氧培养中铁还原的影响 分别加入 1 mL 人工合成的 Fe(OH)₃ 悬液^[9](含铁量为 755.4 mg/L)和 1 mL 不同质量浓度的纤维素粉悬浊液于 10 mL 血清瓶中,加盖,于 121 ℃ 高温灭菌 30 min。冷却后,分别加入过 0.22 μm 滤膜后的氯化铵(5 g/L NH₄Cl)和磷酸盐(含 25 mmol/L K₂HPO₄-KH₂PO₄ 缓冲液,控制体系的 pH 为 7.0)各 1 mL 及土稻土接种液 1 mL,同时以不加纤维素的碳源为对照(CK)。充氮除氧,密封。培养体系中纤维素的最终浓度分别为 2, 5 及 10 g/L,纤维素的总碳含量为 425.1 g/kg。每处理平行 10 份。置于 30 ℃ 恒温培养箱中暗光培养,分别于培养 1, 3, 5, 7, 10, 15, 20, 25, 35, 45 d 取出 1 瓶,测定培养液中的 Fe(Ⅱ)含量。共设 4 个处理,分别选择 JL、TJ、HN 和 SC 4 种典型的水稻土接种液,同时设不加纤维素的对照。培养体系总体积为 5 mL。

1.4.3 纯培养条件下利用纤维素的铁还原试验 采用厌氧培养的方法,以人工合成的 Fe(OH)₃ 为惟一电子受体,设置添加纤维素作为惟一碳源处理。培养容器为 10 mL 灭菌血清瓶,加入经高温灭菌(121 ℃, 30 min)的 5 g/L NH₄Cl 和人工合成的 Fe(OH)₃(含铁量为 339.4 mg/L)各 1 mL,再添加过 0.22 μm 滤膜(除菌)的 25 mmol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液和 50 g/L 纤维素悬液各 1 mL,最后添加 1 mL 铁还原菌液(铁还原菌液制备时,先将保存于无机盐培养基中的菌体(12 株严格厌氧的铁还原菌株)转接到 50% LB 培养基中扩繁 24 h,再进行离心、洗涤,用无菌水配置成一定浓度的接种菌液,备用)。充氮除氧,密封,置于恒温培养箱中于 30 ℃ 暗光培养。在培养第 1, 10, 20, 40, 60, 80, 100 d 采样,测定体系中的 Fe(Ⅱ)含量。

1.5 采样及测定方法

在土壤泥浆培养试验中,采样时将样品摇匀,用自动加样器吸取 0.4 mL 泥浆,置于预先称过质量的盛有 4.6 mL 0.5 mol/L HCl 溶液的具塞塑料管

中,加盖、摇匀,称质量,以确定所采集土壤悬液的质量,然后将塑料管置于 30 ℃ 培养箱中静置浸提 24 h^[10],每瓶取 3 次作为重复。测定前将塑料浸提管摇匀,吸取浸提液,过 0.45 μm 滤膜,用邻菲罗啉分光光度法测定滤液中的 Fe(Ⅱ)含量。

在土壤浸提液混合培养及纯培养试验中,每次采样时从各处理取出 1 瓶,充分摇匀,吸取 1 mL 悬液置于含 4 mL 0.5 mol/L 盐酸溶液的带盖聚乙烯管中,于 30 ℃ 下浸提 24 h,每瓶取 3 次做重复。测定时,将浸提液过 0.45 μm 滤膜,用邻菲罗啉分光光度法测定滤液中的 Fe(Ⅱ)含量。

1.6 铁还原特征分析

利用 Logistic 生长曲线方程对铁还原过程中 Fe(Ⅱ)含量随时间的变化进行拟合。Logistic 方程的表达式为: $Ct = a / (1 + be^{-a})$, 其中, Ct 为培养时间为 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。

用上述参数可以计算最大反应速率($V_{\max}$,数值上等于 $0.25ac$)、潜在铁还原率(%) (用 Fe(Ⅱ)最大累积量占体系中 Fe(OH)₃ 添加量的百分比表示)和最大还原速率对应的时间($T_{V_{\max}}$,用 $\ln b/c$ 计算)。拟合方程的决定系数用 R^2 表示。

2 结果与分析

2.1 添加纤维素对土壤泥浆厌氧培养中 Fe(Ⅲ)还原的影响

图 1 为四川、吉林和天津水稻土添加不同质量浓度纤维素后 Fe(Ⅱ)质量浓度随时间的变化情况。由图 1 可见,添加纤维素后铁还原速率均较 CK 有所增加,其中 TJ 和 SC 水稻土的 Fe(Ⅱ)生成量明显大于未添加纤维素的对照。培养过程中,土壤 pH 值的变化特征表现明显,且其变化在石灰性土壤和酸性土壤之间有显著差异。在石灰性土壤 SC 和 TJ 水稻土中,pH 值先随培养时间的增加迅速下降到 5.5~6.0,然后缓慢上升,且不同处理间表现出一定的差异。对酸性土壤 JL 水稻土而言,培养初期其 pH 值即迅速增加到 6.0 以上。除高浓度纤维素(40 g/L)处理外,其他 3 个处理的 pH 值均表现出先急剧降低再平稳上升的趋势,pH 值的变化反映了不同质量浓度纤维素代谢过程的差异。

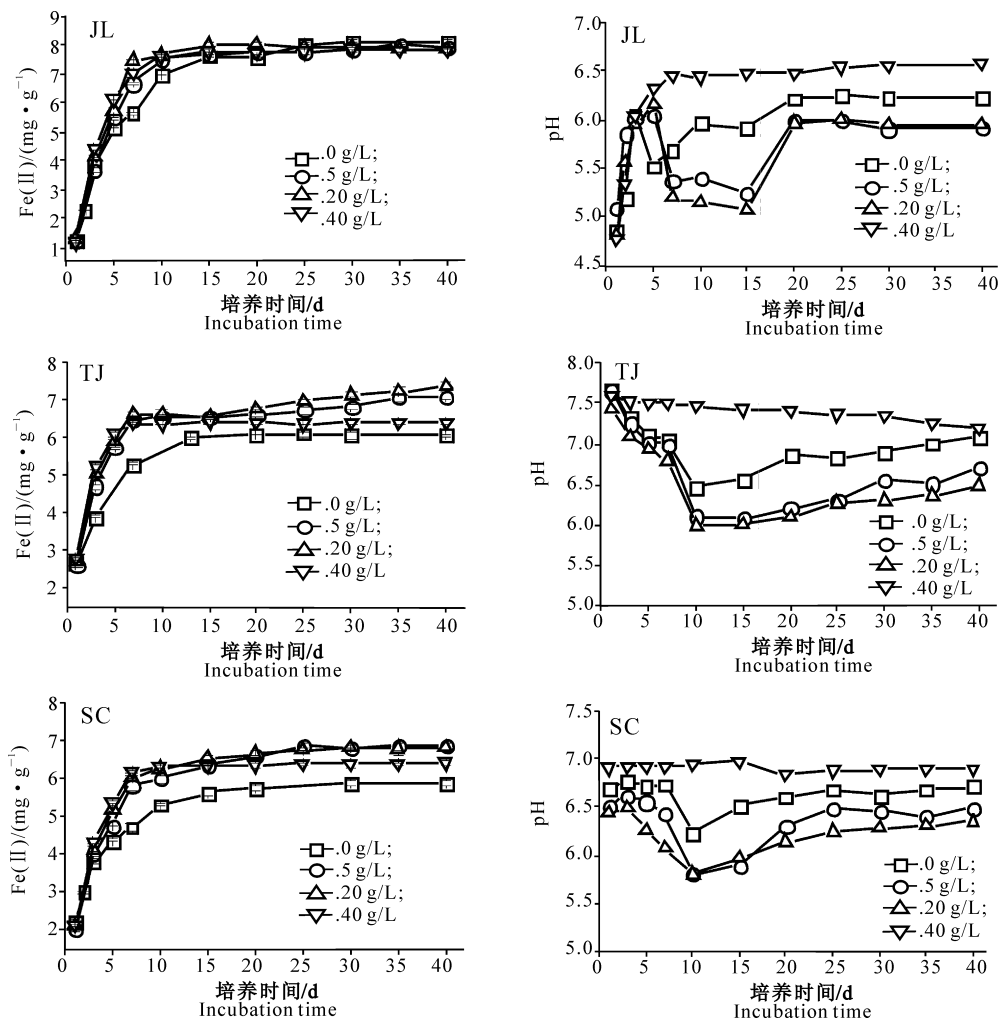


图 1 不同质量浓度纤维素对水稻土泥浆厌氧培养过程中 Fe(Ⅱ) 累积及 pH 变化的影响

Fig. 1 Effect of different cellulose concentrations on Fe(Ⅱ) accumulation and pH in slurries incubation

用 Logistic 模型对土壤中铁氧化物还原过程的 动力学参数进行拟合,其结果见表 1。

表 1 水稻土厌氧泥浆培养中不同质量浓度纤维素处理 Fe(Ⅲ) 还原过程的动力学参数

Table 1 kinetics parameters of Fe(Ⅲ) reduction in slurries incubation of different cellulose concentrations

土样 Soil	纤维素质量浓度/ (g·L ⁻¹) Concentration	Logistic 方程参数 Logistic model parameter				V _{max} / (mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)
		a	b	c	R ²	
SC	0	5.755	1.862	0.338(100)	0.980	0.487(100)
	5	6.673	2.826	0.401(119)	0.976	0.669(137)
	20	6.673	3.099	0.485(143)	0.989	0.809(166)
	40	6.358	3.578	0.639(189)	0.996	1.016(209)
JL	0	7.863	4.850	0.370(100)	0.977	0.782(100)
	5	7.786	7.201	0.567(153)	0.994	1.104(141)
	20	7.912	7.747	0.649(175)	0.991	1.284(164)
	40	7.717	8.258	0.727(196)	0.988	1.403(179)
TJ	0	6.043	1.768	0.326(100)	0.999	0.553(100)
	5	6.741	2.717	0.571(175)	0.981	0.961(174)
	20	6.913	2.658	0.592(182)	0.965	1.022(185)
	40	6.362	3.060	0.862(264)	0.999	1.371(248)

由表 1 可知,与不添加纤维素的对照相比,添加不同质量浓度纤维素后,SC、JL 和 TJ 水稻土中 Fe(Ⅲ) 还原的最大潜势(a)分别增加了 10.5%~16.0%, -1.9%~0.6% 和 5.3%~14.4%, 反应速率常数(c)分别增加了 19%~89%, 53%~96% 和 75%~164%, 最大反应速率(V_{max})增加了 37%~

109%,41%~79%和 74%~148%。3 种水稻土中, a 的变化幅度与 c 或 $V_{\max}$ 相比不明显,表明添加纤维素主要使 Fe(Ⅲ)还原的最大反应速率及速率常数增加,并且添加纤维素的质量浓度越大,增加幅度越大。

2.2 添加纤维素对土壤浸提液厌氧培养中铁还原的影响

4 种水稻土浸提液利用不同质量浓度纤维素作

为惟一碳源时,其 Fe(Ⅱ)累积量的变化如图 2 所示。由图 2 可知,在 45 d 的培养过程中,不加纤维素的对照中几乎无 Fe(Ⅱ)产生,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对铁还原过程产生影响。

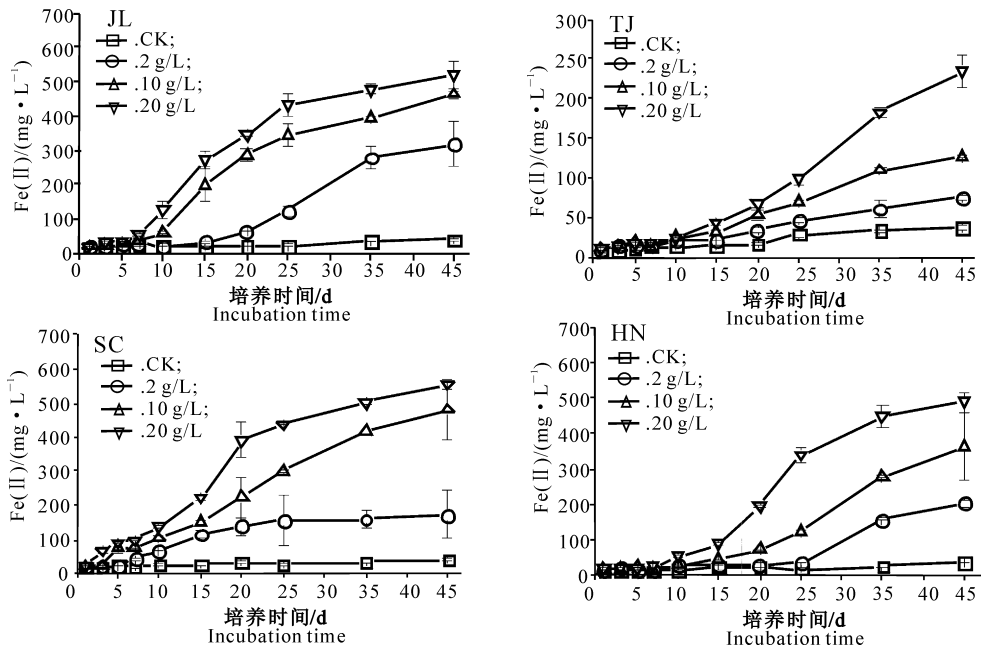


图 2 添加不同质量浓度纤维素对不同水稻土浸提液培养试验中氧化铁还原的影响

Fig. 2 Effect of adding different concentrations of cellulose on Fe(Ⅲ) reduction in soil extracts anaerobic culture

采用 Logistic 方程拟合铁还原过程的动力学参数。从表 2 可以看出,随着添加纤维素质量浓度的增加, a 也呈增大趋势。在接种 JL、TJ、SC 和 HN 微生物群落的处理中,随纤维素质量浓度的增加,其 Fe(Ⅱ)累积量(参数 a)分别为 341.62~493.87, 90.75~276.48, 164.02~540.16 及 235.47~

488.75 mg/L。其中 JL、SC、HN 的最大 Fe(Ⅱ)累积量(参数 a)达到 488~540 mg/L,而 TJ 水稻土微生物群落利用纤维素的最高 Fe(Ⅱ)累积量只有 276.48 mg/L,说明在不同水稻土微生物群落之间,其利用纤维素的铁还原过程存在一定的差异。

表 2 土壤浸提液厌氧培养中不同质量浓度纤维素处理时 Fe(Ⅲ)还原过程中动力学参数的拟合

Table 2 Kinetics parameters of Fe(Ⅲ) reduction in soil extract incubation under different cellulose concentrations		Logistic 方程参数 Logistic model parameter				$V_{\max}/$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	$T_{V_{\max}}/\text{d}$	Fe(Ⅲ)还原率/% Reduction rate
微生物群落 Microbe	纤维素质量浓度/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Cellulose	a	b	c	R^2			
JL	2	341.62	116.89	0.171	0.994	14.61	6.5	45.22
	10	428.25	38.33	0.215	0.993	23.02	5.2	56.69
	20	493.87	28.35	0.219	0.996	27.04	4.9	65.38
TJ	2	90.75	8.391	0.083	0.987	1.874	4.6	12.01
	10	140.81	16.15	0.112	0.981	3.943	5.0	18.64
	20	276.48	31.19	0.116	0.996	8.018	5.6	36.60
SC	2	164.02	15.20	0.232	0.996	9.51	4.2	21.71
	10	498.27	15.65	0.127	0.996	15.82	4.8	65.96
	20	540.16	16.55	0.175	0.994	23.63	4.5	71.51
HN	2	235.47	172.4	0.160	0.979	9.41	7.0	31.17
	10	416.57	76.08	0.141	0.998	14.68	6.3	55.14
	20	488.75	93.94	0.209	0.998	25.54	6.1	64.70

随着添加的纤维素质量浓度的增加,4 种水稻土微生物群落的 $V_{\max}$ 也表现出增大趋势。从达到最大反应速率的时间来看,JL 和 HN 水稻土微生物群落的 $T_{V_{\max}}$ 均随着添加纤维素质量浓度的增加而逐渐减小,且添加纤维素的质量浓度越高,其到达最大反应速率的时间越早;在 SC 水稻土微生物群落中,不同质量浓度纤维素处理达到最大反应速率的时间基本接近。随着添加纤维素质量浓度的增加,4 种水稻土微生物群落的 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原率也呈增大趋势。由 Logistic 方程拟合中的 R^2 可以看出,不同纤维素

质量浓度处理时的相关性均达到了显著水平,说明拟合方程符合 Logistic 模型。

2.3 纯培养试验中不同铁还原菌株利用纤维素的铁还原能力的比较

图 3 显示,培养过程中,不加纤维素对照处理的 $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量几乎没有变化,说明缺乏电子供体时氧化铁还原过程不能发生。不同铁还原菌株在以纤维素为惟一碳源时, $\text{Fe}(\text{II})$ 的累积量均随着培养时间的增加而逐渐增大。

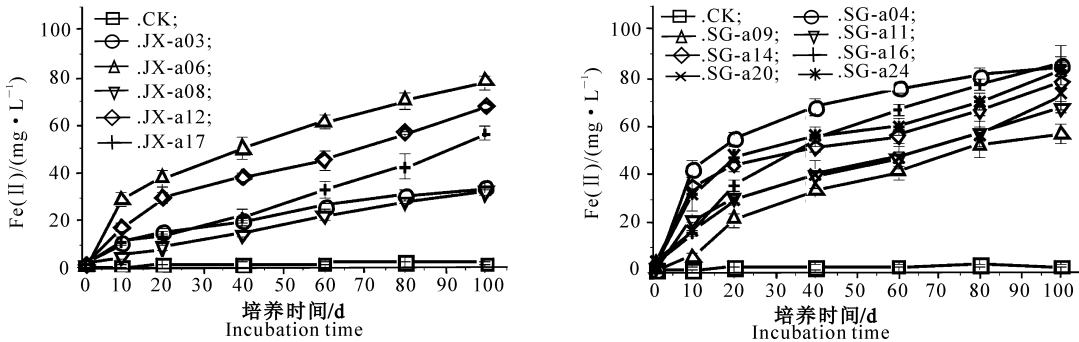


图 3 不同铁还原菌株以纤维素作为惟一碳源时异化铁还原过程的比较

Fig. 3 Effect of adding cellulose for the ability of different $\text{Fe}(\text{III})$ reducing microbes

在培养的前 1~20 d,菌株 SC-a14、SC-a24、SC-a04、JX-a06 和 JX-a12 的反应较快, $\text{Fe}(\text{II})$ 累积量明显高于其他菌株;在培养第 20~100 天,各菌株的铁

还原速率几乎保持恒定, $\text{Fe}(\text{II})$ 的累积量均有缓慢增加。采用 Logistic 方程对 12 个菌株利用纤维素的铁还原过程进行动力学拟合,其参数见表 3。

表 3 纯培养试验中添加纤维素处理时 12 个铁还原菌株 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原过程动力学参数的拟合

Table 3 Kinetics parameters of $\text{Fe}(\text{III})$ reduction in pure incubation under cellulose addition

菌株 Bacterium	纤维素质量浓度/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Cellulose	Logistic 方程参数 Logistic model parameter				$V_{\max}/$ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)	$T_{V_{\max}}$ /d	$\text{Fe}(\text{III})$ 还原率/% Reduction rate
		a	b	c	R^2			
JX-a03	10	32.73	6.04	0.059	0.971	0.483	4.6	9.64
JX-a06		71.82	6.08	0.075	0.963	1.347	4.4	21.16
JX-a08		32.77	11.18	0.054	0.993	0.442	5.3	9.66
JX-a12		64.93	6.41	0.053	0.963	0.860	4.8	19.13
JX-a17		67.66	11.38	0.039	0.986	0.660	5.7	19.94
SC-a04	10	76.68	9.41	0.187	0.971	3.585	3.9	22.59
SC-a09		54.87	10.57	0.067	0.983	0.925	5.1	16.17
SC-a11		63.22	5.83	0.057	0.959	0.899	4.6	18.63
SC-a14		62.55	7.77	0.171	0.943	2.674	3.8	18.43
SC-a16		79.92	8.98	0.076	0.983	1.514	4.8	23.55
SC-a20		71.07	6.33	0.048	0.965	0.844	4.9	20.94
SC-a24		67.09	9.78	0.173	0.956	2.902	4.0	19.77

比较不同菌株对纤维素粉的利用可以发现,菌株 JX-a06、SC-a04、SC-a16 和 SC-a20 在纤维素还原 $\text{Fe}(\text{OH})_3$ 时,其 a 较大,分别达到 71.82、76.68、79.92 及 71.07,且由计算比较可知,这 4 株菌在利用纤维素为碳源时 $\text{Fe}(\text{III})$ 的还原率较高,分别达到 21.16%、22.59%、23.55% 和 20.94%;与 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原率相比,菌株 JX-a12、JX-a17、SC-a09、SC-a11、SC-

a14 和 SC-a24 的铁还原能力居中, $\text{Fe}(\text{III})$ 还原率为 16.17%~19.94%;而菌株 JX-a03 和 JX-a08 的铁还原反应活性较差,其 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原率显著地低于其他菌株,仅为 9.64% 和 9.66%。最大反应速率 ($V_{\max}$) 变化与 $\text{Fe}(\text{III})$ 还原率的变化趋势一致。从达到最大反应速率的时间来看,12 个菌株的 $T_{V_{\max}}$ 为 3.8~5.7 d,说明长期的纯培养过程对纤维素分解

的促进作用并不明显。与接种不同水稻土微生物群落的铁还原过程相比(表2),这12个具有铁还原能力菌株处理的Fe(Ⅱ)累积量明显较低,说明试验中使用的12株菌株,直接利用纤维素碳源的能力较为有限,而纤维素的分解利用可能需要共代谢过程来加强,所以其在水稻土微生物群落的铁还原过程中具有较高的铁还原效率。

3 讨论

土壤中铁氧化物的还原过程与土壤有机质含量、土壤中易还原氧化铁的数量以及土壤pH值等性质有关。对来自不同地区的水稻土而言,受母质及形成过程的影响,其氧化铁的数量及其种类有所不同。微生物易于利用比表面大的非晶体及易溶性的铁,如无定形氧化铁,而对有稳定晶体结构的针铁矿及赤铁矿则难以利用。由本研究土壤的基本理化性质可以看出,吉林水稻土的无定形氧化铁的含量高于四川水稻土和天津水稻土,所以虽然加入了同样量的电子供体,但由于土壤中易还原铁的数量不同,导致最终土壤Fe(Ⅲ)还原的 α 值不同。微生物可利用的电子供体数量,能够影响土壤中的铁还原速率。电子供体数量增加,Fe(Ⅲ)还原过程加快。所以,当土壤中添加的纤维素数量增大时,能够导致微生物的繁殖增加,从而使铁还原效率提高。

本研究发现,在接种土壤浸提液的培养试验中,随着添加纤维素质量浓度的增大,水稻土中的Fe(Ⅱ)累积量和反应速率常数随之增加。微生物混合群落利用纤维素来还原Fe(OH)₃的过程可能属于种间协同代谢。在混合微生物群落中主要存在两类细菌,即酸化细菌和铁还原菌。酸化过程是在微生物酶的催化作用下,由大量的、多种多样的发酵细菌共同作用完成的。酸化过程中,底物种类和参与酸化的微生物种群决定了末端产物的组成。纤维素的水解反应能够产生糖类分子,再进一步分解为乙酸、丙酸和丁酸等,CO₂和H₂则为酸化的附属产物。铁还原过程是土壤中的铁还原菌利用发酵产物H₂及乙酸还原Fe(Ⅲ)的过程。铁还原效率反映了铁还原菌种群之间的差异,不同土壤微生物群落利用不同质量浓度纤维素时表现出的差异,代表了不同微生物群落还原铁的基本特征。

利用具有铁还原功能菌株的纯培养试验,可以验证铁还原菌株直接利用纤维素的能力。本研究中,尽管12株菌的铁还原特征有一定差异,但Fe

(Ⅱ)的累积量和反应速率较混合微生物群落试验明显减小,铁还原率较低。从纤维素作为惟一碳源来看,该结果反映出这些铁还原菌株是能够利用纤维素的,其利用率低的原因可能是铁还原细菌本身产生的可以降解纤维素的酶的活力较为有限,或是体系中的C/N比不合适等所致。

[参考文献]

- [1] Balashova V V, Zavarzin G A. Anaerobic reduction of ferric iron by hydrogen bacteria [J]. Microbiology, 1979, 48: 773-778.
- [2] Munch J C, Ottow J C G. Modelluntersuchungen zum mechanism der bakteriellen eisenreduktion in hydromorphen boden [J]. Environ Microbiol, 1977, 140: 549-562.
- [3] Balashova V V, Zavarzin G A. Anaerobic reduction of ferric iron by hydrogen bacteria [J]. Microbial, 1980, 48: 635-639.
- [4] Coppi M V, O'Neil R O, Lovley D R. Identification of an uptake hydrogenase required for hydrogen-dependent reduction of Fe(Ⅲ) and other electron acceptors by *Geobacter sulfurreducens* [J]. J Bacterial, 2004, 186: 3022-3028.
- [5] Kusel K, Dorsch T, Acker G, et al. Microbial reduction of Fe(Ⅲ) in acidic sediments: isolation of *Acidiphilium cryptum* JF-5 capable of coupling the reduction of Fe(Ⅲ) to the oxidation of glucose [J]. Appl Environ Microbial, 1999, 65: 3633-3640.
- [6] 刘金胜, 廖晓兰, 黄 璜. 双季稻厌氧纤维素分解菌的分离与筛选 [J]. 江苏农业科学, 2005(5): 112-114.
Lu J S, Liao X L, Huang H. Isolation and screening of anaerobic cellulolytic bacteria in double cropping rice area [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2005(5): 112-114. (in Chinese)
- [7] 韩如旸, 闵 航, 陈美慈, 等. 嗜热厌氧纤维素降解细菌的分离、鉴定及其系统发育分析 [J]. 微生物学报, 2002, 42(2): 138-144.
Han R S, Min H, Chen M C, et al. Isolation, identification and phylogenetic analysis of a thermophilic cellulolytic anaerobic bacterium [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2002, 42(2): 138-144. (in Chinese)
- [8] 赵明文, 史玉英, 李玉祥, 等. 纤维分解菌群对水稻秸秆田间腐熟效果的研究 [J]. 江苏农业科学, 2000, 7(1): 51-53.
Zhao M W, Shi Y Y, Li Y X, et al. Effect of cellulose decomposing bacteria population on decomposition of rice straw in fields [J]. Jiangsu Agricultural Science, 2000, 7(1): 51-53. (in Chinese)
- [9] Schwertmann U, Cornell R M. Iron oxides in the Laboratory, Peroration [M]. New York: VCH Press, 1991, 69-144.
- [10] Schnell S, Ratering S. Simultaneous determination of iron(Ⅲ), iron(Ⅱ) and manganese(Ⅱ) in environmental samples by ion chromatography [J]. Environ Sci Technol, 1998, 32: 1530-1537.