

电子穿梭物质对异化 Fe(Ⅲ)还原过程的影响

孙丽蓉, 曲 东

(西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 选择采自吉林(JL)、四川(SC)、江西(JX)和浙江(ZJ)的水稻土样品,采用微生物混合培养和土壤泥浆厌氧恒温培养的方法,研究了电子穿梭物质蒽醌-2,6-二磺酸盐(AQDS)对异化铁还原的影响。用 Logistic 方程对异化铁还原过程进行模拟,并对异化铁还原特征及 Fe(Ⅲ)还原的最大累积量(a)、反应速率常数(c)、最大反应速率($V_{\max}$)等参数进行了比较。结果表明,在微生物混合培养试验中,添加 AQDS 能够明显加速 Fe(Ⅲ)的还原,随着 AQDS 浓度的增大,Fe(Ⅱ)产生的速率越大,且在铁还原反应中不同来源微生物对 AQDS 的敏感性不同。在土壤泥浆培养中,添加 AQDS 可明显增大 Fe(Ⅱ)累积量,并且随着 AQDS 浓度增大,在 JX 和 ZJ 水稻土中表现出 a 值不断增大,其中 JX 水稻土的增加幅度最大,而 JL 和 SC 水稻土的 a 值则随 AQDS 浓度增大而减小;除 JL 水稻土外,其他水稻土中铁还原速率常数均随着 AQDS 浓度的增加呈先增加后降低的趋势,表明过量的 AQDS 对土壤中的铁还原反应具有一定的毒害作用。试验证明 AQDS 不仅能促进微生物对土体中易还原氧化铁的还原,而且也能使部分较难还原的晶体氧化铁被还原。

[关键词] 电子穿梭物质;异化铁还原;水稻土

[中图分类号] S153

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)04-0192-07

Effects of electron shuttle on dissimilatory iron reduction in paddy soils

SUN Li-rong, QU Dong

(College of Resource Environmental, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Effects of electron shuttle on dissimilatory iron reduction in paddy soils was investigated on basis of paddy soil sampled from different areas by using co-culture incubation and soil slurry anaerobic incubation method in this paper. Logistic model was used to simulate the dissimilatory iron reduction process, effect of electron shuttle (in case of AQDS) was investigated and compared among different soils according to parameters of dissimilatory iron reduction, the maximum accumulation of Fe(Ⅱ)(a), the rate constant of reduction process(c), and the maximum rate of the reduction($V_{\max}$). The obtained results showed the reduction of iron(Ⅲ) oxides was promoted with addition of AQDS in co-culture incubation, the rate of Fe(Ⅱ) production increased with the increasing amount of AQDS added, and different sensitivity of iron reduction due to microbes from different soils. The accumulation of Fe(Ⅱ)(a) increased with the increasing amount of AQDS added in the soil slurry incubation. Amplification of the maximum accumulation of Fe(Ⅱ)(a) in JX and ZJ paddy soils increased with the increasing AQDS amount, especially in the JX paddy soil. But, amplification of the accumulation of Fe(Ⅱ)(a) in JL and SC paddy soils decreased with the increasing amount of AQDS. Except paddy soil sampled from Jilin, the rate constant of the reduction in-

[收稿日期] 2006-07-31

[基金项目] 国家自然科学基金项目(40271067);教育部博士学科点专项科研基金项目(20020712009)

[作者简介] 孙丽蓉(1977-),女,湖南长沙人,在读博士,主要从事土壤环境化学研究。

[通讯作者] 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@nwsuaf.edu.cn

creased with the amount of AQDS added, then decreased with excess added of AQDS, which shows that excessive addition of AQDS maybe inhibit the dissimilatory reduction of iron oxides in the paddy soils. The obtained results suggests that AQDS can enhance the dissimilatory reduction of iron oxides facilitated to reduce, and can promote the reduction of partial crystal iron oxides which was difficult to reduce under normal conditions.

Key words: electron shuttle; dissimilatory iron reduction; paddy soils

厌氧水稻土中氧化铁还原是微生物介导的异化还原,是铁还原微生物利用 Fe(Ⅲ)作为最终电子受体进行的厌氧呼吸过程。水稻土中的 Fe(Ⅲ)主要以各种氧化物形式存在,厌氧微生物对不同铁氧化物的利用能力有区别,其中比表面大的非晶体氧化物易于被利用,而针铁矿及赤铁矿等晶体结构的氧化物因不易与微生物菌体外膜接触则难以被利用^[1-2]。当 Lovley 等^[3]提出电子穿梭体概念后,人们对晶型氧化铁还原机理有了新的认识,即微生物不需要直接和铁氧化物接触也能进行铁还原过程。已有试验证据表明^[4-6],能进行厌氧呼吸的细菌通常具有电子传递系统,从微生物菌体外膜蛋白到 Fe(Ⅲ)氧化物的电子传递可以通过中间体来完成,这一中间体被称为电子穿梭物质(Electron Shuttle),其可不断地从微生物的外膜蛋白接受电子,再把电子传给 Fe(Ⅲ)复合物,完成对 Fe(Ⅲ)的还原。Fe(Ⅲ)还原微生物均具有还原腐殖物质或胞外醌的能力^[3,7]。与 Fe(Ⅲ)络合的腐殖质可能是接受电子的基团^[4,8],其中醌是接受电子的主要部分^[4,9]。这些含醌基团被微生物还原成氢醌,而氢醌可被 Fe(Ⅲ)氧化再生成醌。通过这种方式,腐殖质上少量的醌通过充当 Fe(Ⅲ)还原微生物和 Fe(Ⅲ)氧化物之间的电子穿梭体被反复利用^[5,9-10],从而促进 Fe(Ⅲ)氧化物的还原。

腐殖质是沉积物环境中含量丰富且稳定存在的一类复杂有机物,由于其结构复杂,实验室中常用其同类物蒽醌-2,6-二磺酸盐(anthraquinone-2,6-disulfonate, AQDS)来研究腐殖质在异化 Fe(Ⅲ)还原过程中的作用。有关研究发现^[11-12],Fe(Ⅲ)还原微生物,如 *Geobacter metallireducens* 和 *Shewanella alga* 均可利用 AQDS 作为电子穿梭物质,在微生物与金属氧化物之间高效地传递电子。因此,在实验室模拟研究中,AQDS 常被用作促进 Fe(Ⅲ)还原的电子穿梭体。

以往的研究主要采用 Fe(Ⅲ)还原微生物的纯培养试验,并且在许多铁还原菌的纯培养中均发现了类似于电子穿梭体的物质,如 c-型细胞色素^[13]、

醌^[14]、腐殖酸^[5,15]、黑色素^[11]等均可自由穿梭细胞内外,甚至携带电子穿梭于不同的微生物之间,促进铁的异化还原过程。然而,针对水稻土中电子穿梭物质与氧化铁还原关系的研究鲜有报道。除无定形氧化铁外,土壤中 75% 以上的铁氧化物以晶体结构存在,其中包括纤铁矿、赤铁矿、针铁矿及其铝取代物。因此研究电子穿梭体对水稻土中氧化铁的还原,无疑具有重要的理论和实际意义。本研究通过向水稻土及来源于不同土壤的微生物混合培养中添加不同浓度 AQDS,探讨水稻土中的微生物对 AQDS 的功能响应,及其对土壤中异化铁还原过程的影响,为强化及调控水稻土中铁的异化还原过程提供必要的理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试水稻土分别采自吉林市丰满区前二道乡(用 JL 表示)、四川省邛崃市回龙镇(用 SC 表示)、江西省安福县竹江乡(用 JX 表示)和浙江省宁海县梅林镇(用 ZJ 表示)。以上 4 种土壤有机质含量分别为 41.2, 48.9, 23.9 和 29.6 mg/kg,无定型铁含量分别为 4.94, 3.08, 1.94 和 3.30 g/kg,游离铁含量分别为 10.01, 11.69, 6.48 和 11.9 g/kg, pH 分别为 4.85, 7.34, 4.84, 6.11 ($m(\text{土}):V(\text{去离子水})=1:5$)。土样自然风干,磨细,过孔径为 1 mm 的土壤筛,用以制备微生物接种液和进行土壤泥浆培养试验。

1.2 微生物混合培养试验

分别将风干过筛的四川和浙江水稻土以 $m(\text{水稻土}):V(\text{去离子水})=1:9$ 的比例在 30℃ 下淹水 1 周。培养后的土样置于离心机中,700 r/min 离心 10 min,取上清液作为微生物接种液。采用厌氧混合培养研究方法^[16],以人工合成的 Fe(OH)₃ 为惟一电子受体,采用来源于四川和浙江的水稻土浸提液为微生物接种液。在若干 10 mL 的血清瓶中分别加入 1 mL 人工合成的 Fe(OH)₃ 悬液(含铁量为 0.54 mg/mL),加盖,121℃ 高温灭菌 30 min。冷却

后,分别加入过细菌滤器($<0.22\ \mu\text{m}$)后的氯化铵-磷酸盐混合溶液(含 $5\ \text{mg/mL}\ \text{NH}_4\text{Cl}$ 和 $25\ \text{mmol/L}\ \text{K}_2\text{HPO}_4\text{-KH}_2\text{PO}_4$ 缓冲液)、葡萄糖溶液($50\ \text{mg/mL}$),微生物接种液和不同浓度 AQDS ($0.1, 0.5, 4.0\ \text{mmol/L}$)各 $1\ \text{mL}$ 。充氮除氧,密封,置于恒温培养箱中 $30\ ^\circ\text{C}$ 暗光培养。

1.3 土壤泥浆厌氧恒温培养试验

称取来自不同地区的风干水稻土样品 $3.000\ \text{g}$ 若干份,置于容积为 $10\ \text{mL}$ 的血清瓶内,分别添加不同浓度 AQDS 溶液($0.1, 0.5, 1.0, 8.0\ \text{mmol/L}$) $3\ \text{mL}$,以添加同体积无菌水处理作为对照。充氮除氧,加盖密封。于 $30\ ^\circ\text{C}$ 恒温培养箱中暗光培养。培养过程中定期采样测定 Fe(II) 浓度。

1.4 采样及测定方法

每次采样时各处理取出 $1\ \text{瓶}$,充分摇匀,剔除铝盖,揭开橡胶塞,用自动加样器吸取一定体积悬液,

每瓶取 3 次做重复。将取得的样品置于浓度为 $0.5\ \text{mol/L}$ 盐酸溶液中,置培养箱中于 $30\ ^\circ\text{C}$ 下浸提 $24\ \text{h}$ ^[17]。浸提液过 $0.22\ \mu\text{m}$ 滤膜,用邻菲罗啉分光光度法测定滤液中 Fe(II) 浓度^[18]。

2 结果与分析

2.1 添加 AQDS 对异化铁还原的影响

2.1.1 对微生物混合培养中 Fe(OH)_3 还原的影响

分别以 SC、ZJ 水稻土浸提液作为微生物接种液,以微生物易于利用的 Fe(OH)_3 为惟一电子受体,以葡萄糖为惟一电子供体,研究 AQDS 对异化铁还原过程的影响,结果见图 1。由图 1 可知,添加 AQDS 处理的 Fe(OH)_3 还原速率较对照明显增加,且添加的 AQDS 浓度越大, AQDS 对 Fe(OH)_3 还原的促进作用越明显。证实了在体系中 AQDS 作为电子穿梭体起传递电子的作用,加速了 Fe(III) 的还原。

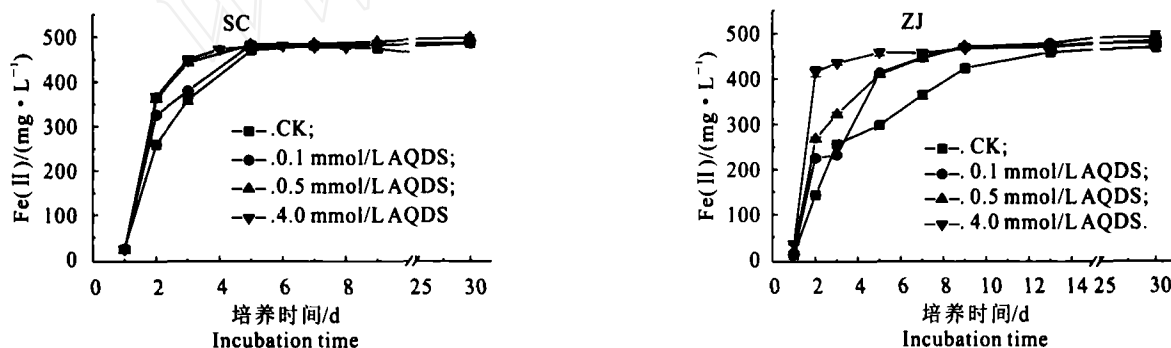


图 1 不同浓度 AQDS 对微生物混合培养过程中 Fe(II) 生成量的影响

Fig. 1 Effect of different AQDS concentration on Fe(II) production in anaerobic co-culture incubation

由图 1 还可以看出,SC 水稻土中的微生物对 Fe(OH)_3 的还原速率明显比 ZJ 水稻土的快,表明不同来源的微生物对 Fe(OH)_3 的还原能力具有一定的差别。此外,在反应过程中 ZJ 水稻土的微生物对 AQDS 比较敏感,其 Fe(II) 浓度的增加速率较大。但各处理中无论异化铁还原发生早或晚、速率快或慢, Fe(II) 浓度均能达到一个稳定水平,而且 Fe(II) 浓度的稳定值与初始体系中 Fe(OH)_3 浓度($0.54\ \text{mg/mL}$)接近,说明在电子供体充足的情况下, Fe(OH)_3 的最终还原量不受 AQDS 加入量的影响,即对于易还原的 Fe(OH)_3 来说, AQDS 的促进作用主要是增加 Fe(OH)_3 还原反应速率。

2.1.2 对土壤泥浆厌氧培养中 Fe(III) 还原的影响

4 种水稻土中添加不同浓度 AQDS 对异化铁还原过程的影响如图 2 所示。由图 2 可知,添加 AQDS 不仅影响水稻土中 Fe(III) 的还原速率,而

且对 Fe(III) 的最终还原量(用 Fe(II) 的生成量表示)有显著的影响。同时, AQDS 在不同土壤中的表现也存在一定差异。其中在 JX、SC 和 ZJ 水稻土中,添加 AQDS 均能明显提高土壤中 Fe(II) 的生成速率,在培养 $10\ \text{d}$ 内, Fe(II) 的生成量明显增大。在培养后期, Fe(II) 的最终生成量也明显高于对照,表明 AQDS 对促进土壤中部分晶体态氧化铁的生物还原具有重要作用。土壤中 Fe(II) 的生成量基本上随 AQDS 浓度的增加而增大,仅在 SC 水稻土中高浓度($8.0\ \text{mmol/L}$) AQDS 处理较其他浓度 AQDS 处理略有降低,但明显高于 CK。添加不同浓度 AQDS 后不同水稻土对 Fe(II) 生成速率的敏感性高低顺序为: $\text{SC} > \text{JX} > \text{ZJ}$, 最终 Fe(II) 生成量的大小顺序为: $\text{JX} > \text{ZJ} > \text{SC}$ 。

在 JL 水稻土中,添加不同浓度 AQDS 后,其对 Fe(II) 的生成基本上均有抑制作用。在培养 $10\ \text{d}$

内,Fe(Ⅱ)的生成量及其速率小于或与 CK 接近,仅低浓度(0.1 mmol/L)AQDS 处理在培养后期的 Fe(Ⅱ)生成量较 CK 略有增加。在整个培养期间高

浓度(8.0 mmol/L)AQDS 处理的 Fe(Ⅱ)生成量明显低于对照。这可能与土壤本身的有机质性质及土壤中铁还原微生物特征有关。

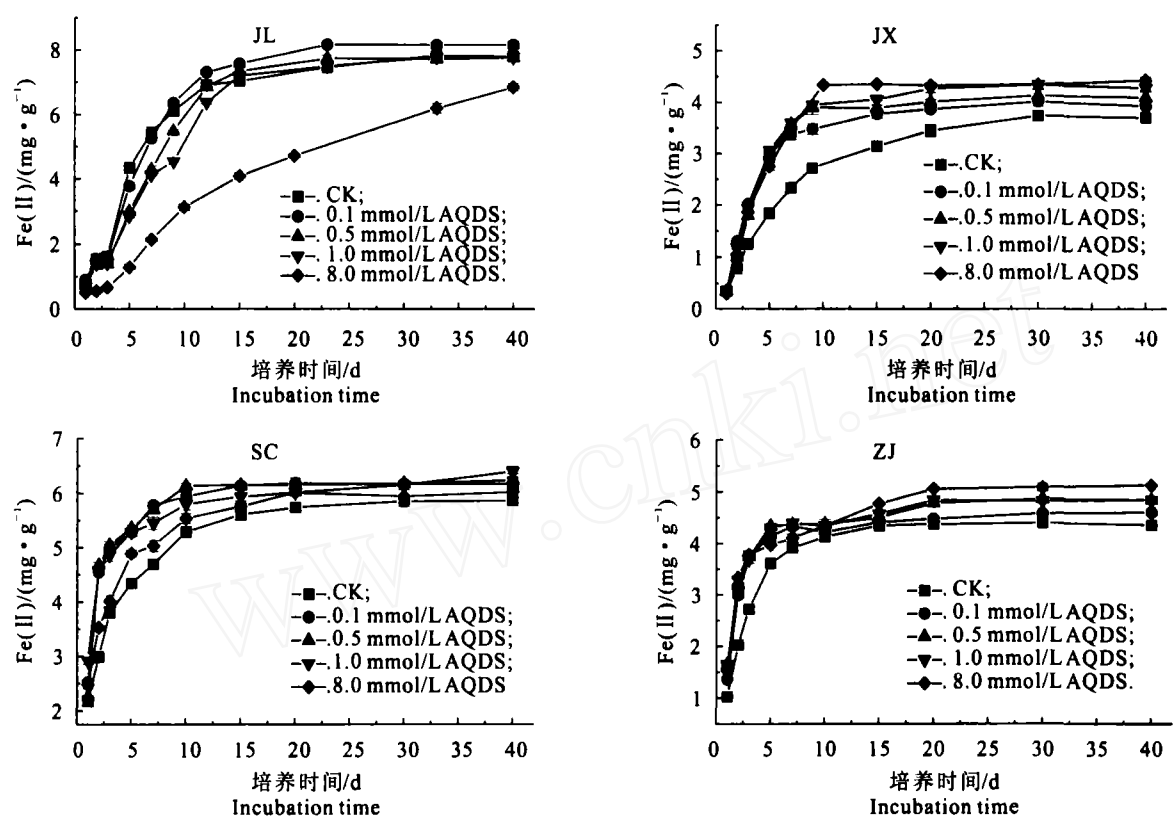


图 2 不同浓度 AQDS 对水稻土泥浆厌氧培养过程中 Fe(Ⅱ)生成量的影响

Fig. 2 Effect of different AQDS concentration on Fe(Ⅱ) production in slurry experiment of different paddies

2.2 不同浓度 AQDS 对异化铁还原特征的影响

异化 Fe(Ⅲ)还原是微生物介导的生物学过程,与微生物的生长密切相关,所以可用表征微生物生长动力学的 Logistic 方程描述^[19-20]。Logistic 方程的表达式为: $Y = a/[1 + b \cdot \exp(-cx)]$ 。用 Logistic 方程拟合的 Fe(Ⅲ)还原过程的参数见表 1,2。利用参数 a 可得出 Fe(Ⅲ)还原的最大 Fe(Ⅱ)累积量;参数 c 表示还原速率常数;用参数 a 和 c 可求出最大反应速率 V_{max} ,其数值等于 $0.25ac$;最大反应速率对应的时间 T_{Vmax} ,数值为 $\ln b/c$; r 和 s 分别表示相关系数和偏差。

由表 1 可知,在微生物混合培养试验中,Fe(OH)₃ 还原速率常数 (c) 和最大反应速率 (V_{max}) 均随 AQDS 浓度的增加而增大。在 ZJ 水稻土中,0.1, 0.5 和 4.0 mmol/L AQDS 处理的 Fe(OH)₃ 还原速率常数 (c) 分别是对照的 1.60, 2.64 及 8.51 倍,最大反应速率对应的时间 (T_{Vmax}) 较 CK 分别提前了 0.77, 1.49 和 2.08 d;在 SC 水稻土中,0.1, 0.5 和 4.0 mmol/L AQDS 处理的 Fe(OH)₃ 还原速率常数

(c) 分别是对照的 1.56, 2.28 和 2.41 倍,最大反应速率对应的时间 (T_{Vmax}) 较 CK 分别提前了 0.29, 0.35 和 0.93 d。对比 2 种来源微生物的 Fe(OH)₃ 还原过程,ZJ 水稻土对 AQDS 的响应较 SC 水稻土更为敏感。

由表 2 可见,AQDS 对不同水稻土中 Fe(Ⅲ)还原的影响存在差异。在 4 种水稻土中,除 JL 水稻土中 8.0 mmol/L AQDS 处理外,其他 AQDS 处理表征 Fe(Ⅲ)还原潜势的最大 Fe(Ⅱ)累积量均较对照增加,增加比例分别为:JL 104%~108%,JX 107%~123%,SC 102%~104%,ZJ 102%~108%。随着 AQDS 浓度的增加,在 JX 和 ZJ 水稻土中的 a 值不断增大,其中在 JX 水稻土中的增加幅度最大;JL 和 SC 水稻土的 a 值逐渐减小。 a 值增大说明土壤中被还原的 Fe(Ⅲ)量增加,与 CK 相比增加的量主要是土壤中的晶体氧化铁。上述结果显示,AQDS 对促进土壤中晶体氧化铁的还原具有重要作用。AQDS 对不同土壤中 Fe(Ⅲ)还原速率常数 (c) 的总体影响趋势表现为:随着 AQDS 浓度增

大,Fe(Ⅲ)还原速率常数(*c*)占CK的比例基本上降低,其中JL水稻土为37%~88%,JX水稻土为158%~203%,SC水稻土为115%~282%(0.5 mmol/L AQDS处理除外),ZJ水稻土为146%~208%,在SC水稻土中较低浓度的AQDS处理对Fe(Ⅲ)还原速率常数(*c*)影响增大,如0.5 mmol/L AQDS处理占CK的比例可达379%,而在JL水稻

土中AQDS处理的Fe(Ⅲ)还原速率常数(*c*)均低于CK,8 mmol/L AQDS处理仅是CK的37%。这可能与土壤有机质性质及其含量有关。不同AQDS处理的 $V_{\max}$ 与Fe(Ⅲ)还原速率常数(*c*)的变化趋势相似。当AQDS对Fe(Ⅲ)还原过程具有促进作用时,均表现为 $T_{V_{\max}}$ 减小。

表 1 微生物混合培养中不同浓度 AQDS 处理 Fe(OH)₃ 还原过程的动力学参数

Table 1 Kinetics parameters of Fe(OH)₃ reduction in co-culture incubation of different AQDS concentration

微生物来源 Microbes	AQDS 浓度 /(mmol·L ⁻¹) AQDS concentration	Logistic 方程参数 Logistic model parameters					$V_{\max} /$ (mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	$T_{V_{\max}}/d$
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>r</i>	<i>s</i>		
ZJ	0(CK)	455.30	7.30	0.55	0.970 6	0.45	62.50	3.62
	0.1	477.61	12.14	0.88	0.976 2	0.42	104.94	2.85
	0.5	458.92	21.80	1.45	0.969 8	0.43	166.36	2.13
	4.0	463.83	1 351.49	4.68	0.995 6	0.15	542.57	1.54
SC	0(CK)	472.84	35.32	1.72	0.988 3	0.28	202.85	2.08
	0.1	472.67	121.57	2.69	0.979 6	0.36	317.40	1.79
	0.5	483.85	901.21	3.93	0.995 0	0.18	475.75	1.73
	4.0	472.50	1 155.37	4.15	0.998 4	0.11	489.75	1.15

表 2 土壤泥浆厌氧培养中不同浓度 AQDS 处理 Fe(Ⅲ)还原过程的动力学参数

Table 2 Kinetics parameters of Fe(Ⅲ) reduction in anaerobic slurry incubation of different AQDS concentration

土壤 Soil	AQDS 浓度 /(mmol·L ⁻¹) AQDS concentration	Logistic 方程参数 Logistic model parameters					$V_{\max} /$ (mg·L ⁻¹ ·d ⁻¹)	$T_{V_{\max}}/d$
		<i>a</i>	<i>b</i>	<i>c</i>	<i>r</i>	<i>s</i>		
JL	0(CK)	7.35	10.78	0.49	0.991 7	0.39	0.90	4.87
	0.1	7.97	11.31	0.43	0.996 8	0.26	0.86	5.60
	0.5	7.71	11.63	0.38	0.998 9	0.15	0.73	6.47
	1.0	7.68	9.56	0.32	0.995 9	0.29	0.61	7.09
	8.0	6.53	9.22	0.18	0.988 9	0.40	0.29	13.33
JX	0(CK)	3.54	6.54	0.36	0.988 9	0.21	0.32	5.25
	0.1	3.79	9.40	0.73	0.987 5	0.23	0.69	3.08
	0.5	4.00	12.80	0.72	0.996 1	0.14	0.72	3.52
	1.0	4.18	9.99	0.66	0.993 1	0.19	0.69	3.51
	8.0	4.37	9.96	0.57	0.993 3	0.20	0.62	4.03
SC	0(CK)	5.76	1.86	0.34	0.989 7	0.21	0.49	1.84
	0.1	5.99	3.08	0.96	0.969 7	0.32	1.44	1.17
	0.5	5.99	5.27	1.29	0.966 1	0.36	1.93	1.29
	1.0	5.98	1.51	0.60	0.955 3	0.34	0.90	0.69
	8.0	5.89	1.67	0.39	0.988 4	0.21	0.57	1.32
ZJ	0(CK)	4.33	4.74	0.65	0.991 5	0.18	0.70	2.39
	0.1	4.40	7.93	1.35	0.989 0	0.17	1.49	1.53
	0.5	4.59	4.71	1.08	0.977 6	0.24	1.24	1.43
	1.0	4.62	4.13	0.96	0.988 1	0.22	1.10	1.48
	8.0	4.68	4.06	0.95	0.927 1	0.47	1.12	1.47

通常氧化铁还原与土壤的有机质含量有关。供试的JL、SC、JX和ZJ水稻土中有机质含量分别为41.2,48.9,23.9和29.6 mg/kg,与表2中铁还原最大累积量(*a*)比较可知,JX、ZJ和JL水稻土中铁还原最大累积量(*a*)均随着有机质含量的增加而增大。但对SC水稻土而言,与JL水稻土相比尽管其

有机质含量很高,但其铁还原最大累积量(*a*)却较低。这可能是由于SC水稻土属于石灰性土壤,其有机质的性质及对土壤颗粒表面性状的影响与其他3种土壤有所区别,大量CO₃²⁻存在改变了土壤颗粒表面有机质的分布与包裹状态^[21],致使铁还原过程的最大Fe(Ⅱ)累积量降低。另外,本试验中发

现,在有机质含量高的土壤(JL)中添加 AQDS,随着 AQDS 浓度的增加,最大 Fe(Ⅱ)累积量有降低的趋势。这可能是土壤中原有的腐殖质充当了铁还原电子穿梭体,添加 AQDS 反而抑制了微生物的活性。

在 SC 水稻土中, AQDS 导致的 Fe(Ⅲ)还原速率常数(c)和最大反应速率($V_{\max}$)的变幅最大,这可能与不同浓度 AQDS 的 pH 变化有关。随着 AQDS 浓度的增加,其 pH 不断降低(图 3)。异化 Fe(Ⅲ)还原是微生物介导的酶促还原过程,微生物生长有其适宜的 pH 范围,酶促还原反应也有最佳的 pH 值。因此,环境中的 pH 会直接影响异化 Fe(Ⅲ)还原过程。SC 水稻土是石灰性土壤,过低 pH 必然会影响到土壤本身的微生物区系和活性,导致异化铁还原的 Fe(Ⅲ)还原速率常数(c)和最大反应速率($V_{\max}$)降低。

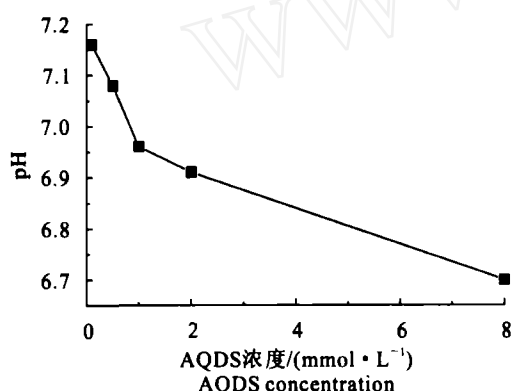


图 3 不同浓度 AQDS 溶液 pH 值的变化

Fig. 3 The relationship between pH and AQDS concentration

3 讨论

腐殖质是沉积物和土壤中稳定存在的有机物聚积体。虽然腐殖质一直被认为对微生物引起的异化还原作用无明显促进作用,但有研究指出,微生物在非溶性氧化铁还原条件下氧化有机物质,可以通过添加腐殖质或醌族有机物来刺激该反应^[22]。腐殖质类物质在铁还原微生物、铁氧化物及有机物之间可以非生物性的转移电子给 Fe(Ⅲ)氧化物,使 Fe(Ⅲ)还原为 Fe(Ⅱ)。由于其所具有的这种电子穿梭性能,克服了铁还原菌和铁氧化物之间必须物理性接触的限制条件,加速了铁还原^[8,5,12]。

本研究中,微生物混合培养和泥浆培养试验均表明, AQDS 在 Fe(Ⅲ)还原过程中作为电子穿梭体起传递电子的作用,加速了 Fe(Ⅲ)还原。关于添加

AQDS 的浓度范围,国外针对微生物的纯培养研究较多。Lovley 等^[6]报道,低浓度(50 $\mu\text{mol/L}$)的 AQDS 可促进铁氧化物与 *P. islandiucn* 之间的电子传递,极大促进弱晶体铁氧化物的还原,且随着 AQDS 浓度(0~500 $\mu\text{mol/L}$)的增加,促进作用越明显,这同本研究混合培养试验的结果一致,即铁还原的速率常数(c)、最大反应速率($V_{\max}$)均随 AQDS 浓度的增加而增大,但本研究中的 AQDS 浓度为 0.1~4.0 mmol/L,表明微生物混合培养体系与纯培养存在一定的区别。对于土壤泥浆培养试验中 AQDS 浓度的选择,主要参考了 Nevin 等^[15]在厌氧沉积物中的试验结果。Nevin 等^[15]报道,在 1 g 沉积物中添加不同浓度(0~0.25 μmol) AQDS,对铁还原的促进作用不同,其中 0.05 μmol AQDS 可明显促进沉积物中的铁还原,但当 AQDS 浓度继续增加到 0.25 μmol 时,铁还原速率反而降低,并认为下降的原因可能与高浓度 AQDS 对沉积物中的微生物产生毒性作用有关。在本研究中, JX、SC 及 ZJ 水稻土中添加 0.1~8.0 mmol/L AQDS 处理(相当于 1 g 土壤中添加 0.1~8.0 μmol AQDS), Fe(Ⅱ)累积量明显高于对照, Fe(Ⅲ)还原速率尽管明显大于 CK 处理,但整体表现出降低的趋势,说明在水稻土中 AQDS 对异化 Fe(Ⅲ)还原,可能与沉积物中有相似的规律。Lovley 等^[6]通过微生物纯培养试验提出, AQDS 不但可以加速 Fe(Ⅲ)还原,而且扩大了微生物对 Fe(Ⅲ)氧化物的利用范围,提高微生物对晶体 Fe(Ⅲ)氧化物的利用能力。本研究在不同水稻土中验证了 Lovley 的结果,即添加 AQDS 不仅促使微生物还原了土体中易还原的氧化铁,还将一部分较难还原的晶体氧化铁还原释放。

【参考文献】

- [1] 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, 2001, 41(6): 745-749.
- [2] 曲 东, 张一平, Schnell S, 等. 水稻土中铁氧化物的厌氧还原及其对微生物过程的影响[J]. 土壤学报, 2003(6): 858-86.
- [3] Lovley D R, Fraga J L, Blunt-Harris E L, et al. Humic substances as a mediator for microbially catalyzed metal reduction[J]. Acta Hydrochim Hydrobiol, 1998, 26: 152-157.
- [4] Lovley D R, Blunt-Harris E L. Role of humics-bound iron as an electron transfer agent in dissimilatory Fe(Ⅲ) reduction[J]. Appl Environ Microbiol, 1999, 65: 4252-4254.
- [5] Lovley D R, Coates J D, Blunt-Harris E L, et al. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration[J]. Nature, 1996, 382: 445-448.
- [6] Lovley D R, Kashefi K, Vargas M, et al. Reduction of humic

- substances and Fe(III) by hyperthermophilic microorganism[J]. Chem Geol, 2000, 169: 289-298.
- [7] Coates J D, Ellis D J, Roden E, et al. Recovery of humics-reducing bacteria from a diversity of sedimentary environments[J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64: 1504-1509.
- [8] Benz M, Schink B, Brune A. Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting bacteria[J]. Appl Environ Microbiol, 1998, 64: 4507-4512.
- [9] Scott D T, McKnight D M, Blunt-Harris E L, et al. Quinone moieties act as electron acceptors in the reduction of humic substances by humics-reducing microorganisms[J]. Environ Sci Technol, 1998, 32: 2984-2989.
- [10] Luu Y S, Ramsay J A. Review, microbial mechanisms of accessing insoluble Fe(III) as an energy source[J]. World Journal of Microbiology & Biotechnology, 2003, 19: 215-225.
- [11] Turick C E, Tisa L S, Caccavo F. Melanin production and use as a soluble electron shuttle for Fe(III) oxide reduction and as terminal electron acceptor by *Shewanella algae* BrY [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68: 2436-2444.
- [12] Nevin K P, Lovely D R. Lack of production of electron shuttling compounds or solubilization of Fe(III) during reduction of insoluble Fe(III) oxide by *Geobacter metallireducens*[J]. Appl Environ Microbiol, 2000, 66: 2248-2251.
- [13] Seeliger S, Cord R R, Schink B. A periplasmic and extracellular c-Type cytochrome of *Geobacter sulfurreducens* acts as a ferric ion reductase and as an electron carrier to other acceptors or to partner bacteria [J]. J Bacteriol, 1998, 180: 3686-3691.
- [14] Nevin K P, Lovely D R. Mechanism for accessing insoluble Fe(III) oxide during dissimilatory Fe(III) reduction by *Geothrix fermentans* [J]. Appl Environ Microbiol, 2002, 68: 2294-2299.
- [15] Nevin K P, Lovely D R. Potential for nonenzymatic reduction of Fe(III) via electron shuttling in subsurface sediments[J]. Environ Sci Technol, 2000, 34: 2472-2478.
- [16] 刘贝贝, 曲 东. 不同重金属离子对异化铁(III)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(9): 115-120.
- [17] Schnell S, Ratering S. Simultaneous determination of iron(III), iron(II) and Manganese(III) in Environmental Samples by Ion Chromatography[J]. Environ Sci Technol, 1998, 32: 1530-1537.
- [18] 曲 东, 王保莉. 邻氮二菲分光光度法同时测定水稻土中的 Fe(II) 和 Fe(III)[J]. 西北农业大学学报, 1991, 19: 85-88.
- [19] 孙宏飞, 曲 东, 张 磊. 混合培养中晶体磷酸铁的异化还原能力[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(11): 173-178.
- [20] 刘 硕, 曲 东. 苯系物作为唯一电子供体对铁还原过程的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(10): 101-106.
- [21] Torrents A, Anderson B G, Bilboulia S, et al. Atrazine photolysis: mechanistic investigations of direct and nitrate-mediated hydroxy radical processes and the influence of dissolved organic carbon from the Chesapeake Bay [J]. Environ Sci Technol, 1997, 31: 1476-1482.
- [22] Lovley D R, Woodward J C, Chapelle F H. Rapid anaerobic benzene oxidation with a variety of chelated Fe(III) forms[J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62: 288-291.