

# 多糖对水稻土中异化 Fe(III)还原过程的影响

孙丽蓉<sup>1,2</sup>, 曲东<sup>1</sup>, 易维洁<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学 资源环境学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 河南科技大学 农学院, 河南 洛阳 471003)

**摘要:** 本研究通过土壤泥浆厌氧培养的方法, 在水稻土中添加不同质量浓度淀粉和纤维素, 探讨多糖作为电子供体对异化 Fe(III)还原过程的影响。结果表明, 在 2 种水稻土泥浆的厌氧培养过程中, 淀粉、纤维素可以促进水稻土中的异化 Fe(III)还原, 其质量浓度在 0~20 g/L 时, Fe(II)最大累积量和速率常数随质量浓度增加而增大, 其对土壤中 Fe(III)氧化物异化还原的促进作用与土壤 pH、有机质和无定形铁含量有关。对培养过程中 pH 与异化铁还原动力学数据的比较发现, 在微生物正常生长的 pH 范围内, 较低的 pH 利于 Fe(III)的还原。

**关键词:** 水稻土; 异化 Fe(III)还原; 淀粉; 纤维素; 多糖

**中图分类号:** S153 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2010)06-0062-05

## Effect of Polysaccharide Concentration on Dissimilatory Fe(III) Reduction in Paddy Soils

SUN Li-rong<sup>1,2</sup>, QU Dong<sup>1</sup>, YI Wei-jie<sup>1</sup>

(1. College of Resource Environmental, Northwest Agriculture & Forestry University, Yangling 712100, China;

2. College of Agriculture, Henan University of Science and Technology, Luoyang 471003, China)

**Abstract:** Effects of amylose such as starch and cellulose on the dissimilatory reduction of iron oxides in the paddy soils were investigated by soil slurry anaerobic incubation method. The accumulation of ferrous and the rate constant could be enhanced by the addition of starch and cellulose with its concentration increased from 0 to 20 g/L. The enhancement is correlated with soil characters such as pH, organic matter, and amorphous iron content. Compare with the kinetics parameters of Fe(III) reduction in anaerobic incubation, in the range microbe normal growing pH, the lower pH is more appropriate.

**Key words:** Paddy soils; Dissimilatory Fe(III) reduction; Starch; Cellulose; Polysaccharide

异化 Fe(III)还原微生物可以利用的电子供体种类较多, 主要有 H<sub>2</sub><sup>[1]</sup>、乙酸等有机酸及其盐类<sup>[2-6]</sup>、糖类<sup>[7-9]</sup>、芳香烃类<sup>[10, 11]</sup>、腐殖质类物质、Fe(II)<sup>[8, 12, 13]</sup>和电极<sup>[14]</sup>等。早期研究发现, Fe(III)还原微生物可利用糖, 但这些微生物主要是发酵型的, 而且 Fe(III)还原只是一个副反应<sup>[7]</sup>。随着更多的 Fe(III)还原微生物的分离, 发现了一些 Fe(III)还原微生物, 比如 *Acidiphilium cryptum* JF-5<sup>[9]</sup>, 在还原 Fe(III)时可直接将葡萄糖氧化为 CO<sub>2</sub> 而获得其生长的能量。

同为多糖, 淀粉和纤维素是由葡萄糖单位以不同的方式连接起来的。从化学结构上看, 淀粉是由葡萄糖通过以  $\alpha$ -1, 4 葡萄糖糖苷键连接, 而纤维素则是以

$\beta$ -1, 4 葡萄糖糖苷键连结起来的链状聚合物。不同的连接方式可能会影响其在异化还原过程中的微生物利用特性<sup>[15]</sup>。研究中发现, 添加乙酸盐、葡萄糖及腐殖酸可明显地促进土壤中的 Fe(III)还原过程<sup>[16, 17]</sup>, 证明厌氧条件下土壤中的铁氧化物的还原过程具有消耗有机酸及糖类的能力<sup>[18, 19]</sup>, 但有关多糖对铁还原过程所产生影响的程度方面的研究尚有待深入。

本研究以水稻土为试验材料, 采用厌氧泥浆培养试验探讨了淀粉和纤维素等多糖作为电子供体对氧化铁还原过程的影响, 进一步明确了不同土壤中铁还原微生物的碳源利用特征, 为深入认识水稻土中氧化铁的微生物还原过程及其影响因素提供必要

收稿日期: 2009-11-21

基金项目: 国家自然科学基金项目(40271067); 河南科技大学科研启动基金项目(09001268, 09001270)

作者简介: 孙丽蓉(1977-), 女, 湖南长沙人, 讲师, 博士, 主要从事土壤环境化学研究。E-mail: slr1206@126.com

的理论依据,对于阐明稻田生态系统中有机物代谢及其与微生物铁还原过程的关系具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 供试土壤

供试水稻土分别采自四川省邛崃市回龙镇(用 SC 表示),天津市塘沽区四道桥农场(用 TJ 表示)。采集 0~20cm 耕层土样,自然风干,磨细,过孔径为 1mm 土壤筛。土壤有机质含量分别为 48.9g/kg 和 20.4g/kg, pH 值分别为 7.34 和 7.85,无定形铁含量分别为 3.08g/kg 和 2.03g/kg,游离铁含量分别为 11.69g/kg 和 10.68g/kg。

1.2 淀粉和纤维素对土壤厌氧培养中 Fe(III)还原的影响试验

称取采自不同地区(SC、TJ)风干土壤样品 3 000 g 若干份,分别添加不同质量浓度淀粉、纤维素(5、20、40 g/L) 3 mL。可溶性淀粉配制成溶液,纤维素配制成悬浊液,以添加同体积无菌水为对照,控制液土比(M:V)为 1:1,充氮除氧,密封。于 30℃恒温培养箱中暗光培养。定期随机取出 1 瓶,测定土壤泥浆中 Fe(II)质量浓度,比较添加不同糖类后对土壤中 Fe 还原的影响。

1.3 采样及测定方法

采样时,各处理取出 1 瓶充分摇匀,用移液枪吸

取 0.4mL 悬液置于含 4.6mL 浓度为 0.5mol/L 的盐酸溶液中浸提。3 次重复,置于培养箱中在 30℃下浸提 24h<sup>[20]</sup>。测定时将浸提液过 0.22μm 滤膜,用邻菲罗啉分光光度法测定滤液中 Fe(II)质量浓度<sup>[21]</sup>。

1.4 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)质量浓度随时间的变化进行拟合。Logistic 方程的表达式为:  $C_t = \frac{a}{1 + be^{-kt}}$ 。公式中,  $C_t$  为培养时间  $t$  时,体系中 Fe(II)的质量浓度;  $t$  为培养时间;  $a$  为体系中 Fe(II)的最大累积量;  $k$  为反应的速率常数,即 Fe(II)的累积速率常数;  $b$  为模型参数。用参数  $a$  和  $k$  可求出最大反应速率  $V_{max}$ ,其数值等于  $0.25ak$ 。

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度淀粉对土壤泥浆厌氧培养中 Fe(III)还原的影响

图 1 所示为 2 种水稻土添加不同质量浓度淀粉后 Fe(II)累积量(a)和 pH 值(b)随时间的变化。淀粉质量浓度对 2 种水稻土中铁氧化物的还原在培养初期影响不大,其 Fe(II)累积量与 CK 之间无明显的差异。随着培养时间延长,不同质量浓度淀粉处理之间铁氧化物的还原速率有了明显的区别。

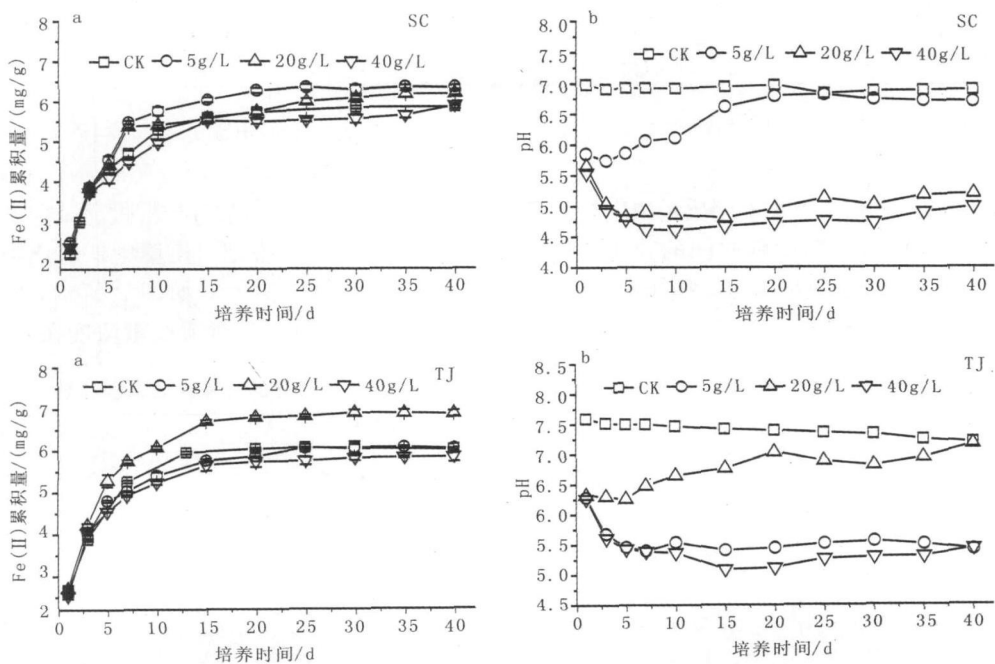


图 1 不同质量浓度淀粉对水稻土厌氧泥浆培养过程中 Fe(II)累积及 pH 变化的影响

在无外加电子供体的情况下, 2 种水稻土的 pH 值先是基本维持不变, 随后开始降低并维持在一稳定水平。添加不同质量浓度淀粉后, 除 5g/L 处理 pH 升高外, 其他质量浓度处理的 pH 先降低, 随后升高。不同类型的微生物参与有机物降解有 3 个基本步骤: (1) 发酵细菌分泌能水解有机多聚体的酶, 并分解单体成乙醇、脂肪酸及 H<sub>2</sub> 等; (2) 共营养细菌进一步降解乙醇和脂肪酸为乙酸、H<sub>2</sub> 和 CO<sub>2</sub>; (3) 乙酸和 H<sub>2</sub> 及 CO<sub>2</sub> 最后作为产甲烷细菌的底物。外加淀粉水解生成不同糖类, 糖类又被微生物利用生成 CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> 和一些小分子有机酸(如乙酸盐、丙酸盐、乳酸盐), 并有一定程度的积累, 使得体系中的 pH 值迅速下降。随后, 进入了产甲烷阶段, 有机酸、H<sub>2</sub> 和 CO<sub>2</sub> 在产甲烷菌的作用下生成 CH<sub>4</sub>。此时大量消耗了产酸阶段积累的酸和 CO<sub>2</sub>, 从而使 pH 值升高, 有的处理体系的 pH 值并没有回升至原来的水平, 而是基本保持不变, 这说明产甲烷细菌对乙酸等的利用速率和乙酸产生的速率基本相等, 使

体系 pH 值维持在一定水平上。

用 Logistic 模型对土壤中铁氧化物的还原过程进行模拟(表 1)。淀粉质量浓度对 2 种水稻土中 Fe(II) 的最大累积量和累积速率常数的影响变化趋势相同, 淀粉质量浓度在 0~20g/L 时, Fe(II) 最大累积量和速率常数随着质量浓度的增大而增大。当淀粉质量浓度达到 40g/L 时, 水稻土 Fe(II) 最大累积量和速率常数均不同程度降低, 这可能是由于外加的淀粉质量浓度过高, 酵解产生的有机酸累积过多, 使土壤 pH 急速下降, 抑制了土壤本身的微生物区系和活性。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, 环境中的 pH 值会直接影响土壤中的异化 Fe(III) 还原过程。另外, 在本试验条件下, 添加合适质量浓度的淀粉可以增加 Fe(II) 最大累积量或者 Fe(II) 累积速率常数, 且因土壤而异, 可使 Fe(II) 累积量最大增加 9.4%(SC) 和 11.0%(TJ)。

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

土样	淀粉质量浓度/ (g/L)	Logistic 方程参数			$V_{max}/$ (mg/(g·d))
		$a$	$k$	$r$	
SC	0(CK)	5.755±0.108	0.338±0.045	0.980	0.487±0.037
	5	6.296±0.057	0.349±0.027	0.991	0.550±0.023
	20	5.962±0.103	0.379±0.057	0.965	0.565±0.047
	40	5.634±0.089	0.270±0.037	0.972	0.380±0.029
TJ	0(CK)	6.043±0.024	0.326±0.014	0.999	0.553±0.012
	5	6.113±0.077	0.333±0.040	0.978	0.496±0.033
	20	6.809±0.074	0.346±0.032	0.987	0.590±0.031
	40	5.751±0.073	0.339±0.041	0.977	0.487±0.033

2.2 不同质量浓度纤维素对土壤泥浆厌氧培养中 Fe(III) 还原的影响

图 2 所示为 2 种水稻土添加不同质量浓度纤维素后 Fe(II) 累积量(a) 和 pH 值(b) 随时间的变化。同为多糖, 对土壤中 Fe(III) 还原的影响与淀粉非常相似, 在培养初期不同质量浓度纤维素对 2 种土壤中铁还原过

程影响不大。2 种土壤添加不同质量浓度纤维素后, pH 先升高随后迅速降低后又回升。这是因为纤维素比淀粉更难分解<sup>[9]</sup>, 故其产酸过程滞后于淀粉。

用 Logistic 模型对土壤中铁氧化物还原过程进行动力学模拟(表 2)。如图 2 所示, 2 种水稻土中的变化趋势相同, 纤维素质量浓度在 0~20g/L 时,

表 2 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

土样	纤维素质量浓度/ (g/L)	Logistic 方程参数			$V_{max}/$ (mg/(g·d))
		$a$	$k$	$r$	
SC	0(CK)	5.755±0.108	0.338±0.045	0.980	0.487±0.037
	5	6.673±0.108	0.401±0.051	0.976	0.669±0.048
	20	6.673±0.070	0.485±0.042	0.989	0.809±0.039
	40	6.358±0.037	0.639±0.034	0.996	1.016±0.030
TJ	0(CK)	6.043±0.024	0.326±0.014	0.999	0.553±0.012
	5	6.741±0.078	0.571±0.063	0.981	0.961±0.058
	20	6.913±0.106	0.592±0.089	0.965	1.022±0.085
	40	6.362±0.012	0.862±0.019	0.999	1.371±0.017

Fe(II)最大累积量随着添加质量浓度的增大而增大;当纤维素质量浓度达到 40 g/L 时,水稻土中 Fe(II)的最大累积量有所降低。2 种水稻土氧化铁还原反应的 Fe(II)累积速率常数均随纤维素质量浓度的增加而增加,且在试验质量浓度范围内没有极

值出现。在试验条件下,添加合适质量浓度的纤维素可以增加 Fe(II)的最大累积量或者累积速率常数,且因土壤而异。最大可使 Fe(II)的累积量增加 16 0%(SC)和 14 4%(TJ),Fe(II)的累积速率常数最大分别增加 89.0%(SC)和 135 3%(TJ)。

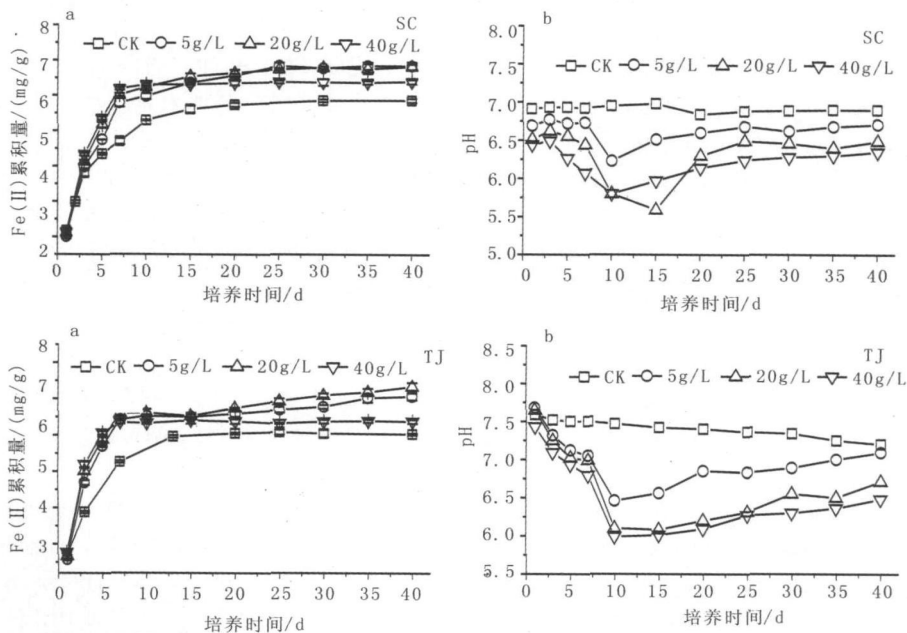


图 2 不同质量浓度纤维素对水稻土厌氧泥浆培养过程中 Fe(II)累积及 pH 变化的影响

3 讨论

土壤中氧化物的还原过程和土壤本身的性质有关,包括土壤有机质含量,土壤中易还原的氧化铁的数量以及土壤 pH 值等。微生物对氧化铁的还原有一定选择性,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,无定形氧化铁通常较容易被微生物还原<sup>[22, 23]</sup>,而对有稳定晶体结构的针铁矿及赤铁矿则难以利用。由 2 种土壤的基本理化性质可以看出:SC 水稻土的无定形氧化铁及游离铁的含量均高于 TJ 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数量不同导致了最终 2 种土壤 Fe(III)还原的  $a$  值的不同。

另外, pH 值变化对土壤中氧化铁还原过程也有影响,不同 Fe(III)还原微生物具有各自最佳的生长 pH 以及最佳的 Fe(III)还原 pH,近中性 pH 条件下的 Fe(III)还原微生物生长的 pH 范围是 5.0~8.0,当然,每一种微生物的生长 pH 范围会更窄。嗜酸性菌生长的 pH 范围会更小一些,如 Acidiphilium 属的 JF-5 最佳 pH 是 3.2<sup>[9]</sup>。比较 2 种土壤中添加不同质量浓度电子供体后 pH 值变化,发现培养初期

pH 虽然下降,但各处理 Fe(II)浓度与 CK 之间没有差异,在培养初期微生物主要是利用土壤中一些易分解的有机质作为电子供体和能源物质还原铁,随后纤维素和淀粉被微生物分解产生各种有机酸,这样在培养后期反应速率就有了差别,随着添加浓度的增大,分解产生的有机酸越多,为铁还原提供的电子供体就越多,铁还原速率就越大,但添加质量浓度过高反而使土壤中 Fe(II)的最大累积量降低,这可能是由于酵解产生的有机酸过多,使土壤 pH 迅速降低,过低的 pH 抑制了土壤本身的微生物区系和活性,从而对土壤中氧化铁还原过程产生影响。

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 ] Mikoulinskais O, Akimenko V, Galouchko A, et al. Cytochrome c-dependent methacrylate reductase from *Geobacter sulfurreducens* AM-I[ J ]. Eur J Biochem, 1999, 263: 346-352.  
[ 3 ] Galushko A S, Schink B. Oxidation of acetate through reactions of the citric acid cycle by *Geobacter sulfurre-*

- ducensin pure culture and in syntrophic coculture[ J] . Arch Microbiol 2000, 174: 314-321.
- [ 4] Esteve-Núñez A, Rothermich M M, Sharma M, *et al.* Growth of *Geobacter sulfurreducens* under nutrient-limiting conditions in continuous culture[ J] . Environ Microbiol 2005, 7(5): 641-648.
- [ 5] Methe B A, Nelson K E, Eisen J A, *et al.* Genome of *Geobacter sulfurreducens*; Metal reduction in subsurface environments[ J] . Science, 2003, 302: 1967-1969.
- [ 6] Schnarrenberger C, Martin W. Evolution of the enzymes of the citric acid cycle and the glyoxylate cycle of higher plants; A case study of endosymbiotic gene transfer Eur[ J] . J Biochem, 2002, 269: 868-883.
- [ 7] Lovley D R. Organic matter mineralization with the reduction of ferric iron: a review[ J] . Geomicrobiol J 1987, 5: 375-399.
- [ 8] Coates J D, Councell T B, Ellis D J, *et al.* Carbohydrate-oxidation coupled to Fe(III) reduction, a novel form of anaerobic metabolism[ J] . Anaerobe, 1998, 4: 277-282.
- [ 9] 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 Microbiol 1999, 65: 3633-3640.
- [ 10] Tor J M, Lovley D R. Anaerobic degradation of aromatic compounds coupled to Fe(III) reduction by *Ferroglobus placidus* [ J] . Environ Microbiol 2001, 3: 281-287.
- [ 11] Lovley D R, Lonergan D J. Anaerobic oxidation of toluene, phenol, and p-cresol by the dissimilatory iron-reducing organism, GS-15[ J] . Appl Environ Microbiol 1990, 56: 1858-1864.
- [ 12] Ohmura N, Sasaki K, Matsumoto N, *et al.* Anaerobic respiration using  $\text{Fe}^{3+}$ ,  $\text{SO}_4$  and  $\text{H}_2$  in the chemolithoautotrophic bacterium *Acidithiobacillus ferrooxidans* [ J] . J Bacteriol 2002, 184: 2081-2087.
- [ 13] Shelobolina E S, Anderson R T, Vodyanitskii Y N, *et al.* Importance of clay size minerals for Fe(III) respiration in a petroleum-contaminated aquifer[ J] . Geobiology 2003, 2(1): 67-76.
- [ 14] Gregory K B, Bond D R, Lovley D R. Graphite electrodes as electron donors for anaerobic respiration [ J] . Environ Microbiol 2004, 6: 596-604.
- [ 15] 杨文博, 牛淑敏, 刘方, 等. 微生物生物学[ M] . 8版. 北京: 科学出版社. 2000: 641-644.
- [ 16] 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.
- [ 17] 曲东, 曹宁, 王保莉. 添加 EDTA 及黄腐酸对水稻土中有效磷浓度的影响[ J] . 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2003, 31(3): 127-130.
- [ 18] 曲东, Schnell S, Conrad R. 外源氧化铁对水稻土中有机酸含量的影响[ J] . 应用生态学报, 2002, 13(11): 1425-1428.
- [ 19] 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): 858-863.
- [ 20] 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.
- [ 21] 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(6): 85-88.
- [ 22] 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.
- [ 23] Qu Dong, Stefan R, Schnell S. Microbial reduction of weakly crystalline iron(III) oxides and suppression on methanogenesis in paddy soil [ J] . Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2004, 72(6): 1172-1181.
- [ 24] 李松, 曲东. 厌氧混合培养下 Cr(VI) 的微生物还原能力[ J] . 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(10): 107-112.