

doi: 10.16104/j.issn.1673-1891.2026.01.009

亚铁浓度对一株 *Pseudomonas* 属硝酸盐还原 亚铁氧化菌生理代谢的影响

张晨晨, 李文茜, 彭 超*

(西华师范大学生命科学学院, 四川 南充 637000)

摘要:硝酸盐还原亚铁氧化菌能够在无氧条件下以硝酸盐为电子受体, 将二价铁($\text{Fe}(\text{II})$)氧化为三价铁($\text{Fe}(\text{III})$)。该类微生物在土壤肥力调控、污染物迁移、温室气体排放等生态环境过程中发挥着重要作用。然而, 虽然 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度在不同生态系统间存在显著差异, 既往研究多采用固定的 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度开展微生物培养实验, 较少关注 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度变化对微生物自身代谢过程的影响。为填补这一认知空缺, 本文以一株从河流沉积物中分离得到的 *Pseudomonas* 属硝酸盐还原亚铁氧化菌为研究对象, 结合微生物厌氧培养实验、离子色谱和基因组测序分析等方法, 系统评估了 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度对该菌株亚铁氧化、硝酸盐还原、乙酸氧化及亚硝酸盐积累等代谢过程的影响。研究表明: $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度对该菌株硝酸盐呼吸速率和程度的影响相对较小, 然而, $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度对该菌株代谢反应的启动时间具有显著影响; 在 1 mmol/L $\text{Fe}(\text{II})$ 条件下, 硝酸盐还原、亚铁氧化及乙酸氧化在接种后第 1 天即开始发生, 而在 3 mmol/L 和 5 mmol/L $\text{Fe}(\text{II})$ 条件下, 上述反应的启动时间分别延迟至第 2 天和第 6 天, 但反应一旦启动, 不同 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度条件下硝酸盐还原、乙酸氧化和亚铁氧化速率和程度都趋于一致。上述结果表明, $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度变化参与了硝酸盐还原亚铁氧化菌某些代谢通路的诱导过程, 预示 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度作为潜在的化学因子, 调控不同硝酸盐还原亚铁氧化菌在自然环境中的分布和代谢过程。

关键词:硝酸盐还原; 亚铁氧化; 反硝化; *Pseudomonas*; 厌氧微生物; $\text{Fe}(\text{II})$

中图分类号: X172 文献标志码: A 文章编号: 1673-1891(2026)01-0075-09

Effects of $\text{Fe}(\text{II})$ Concentration on the Physiological Metabolism of a *Pseudomonas* Nitrate-Reducing $\text{Fe}(\text{II})$ -Oxidizing Bacterium

ZHANG Chenchen, LI Wenxi, PENG Chao*

(College of Life Sciences, China West Normal University, Nanchong 637000, Sichuan, China)

Abstract: Nitrate-reducing $\text{Fe}(\text{II})$ -oxidizing bacteria (NRFeOx) can oxidize ferrous iron ($\text{Fe}(\text{II})$) to ferric iron ($\text{Fe}(\text{III})$) with nitrate as the electron acceptor under anoxic conditions. Such bacteria play important roles in soil fertility regulation, pollutant migration, and greenhouse gas emissions in ecological environmental processes. In natural environments, $\text{Fe}(\text{II})$ concentrations vary significantly among different ecosystems. However, most previous studies adopted a

收稿日期: 2026-03-03

基金项目: 国家自然科学基金项目 (42577259、42107278)。

第一作者简介: 张晨晨(2001—), 女, 四川南充人, 硕士研究生, 主要研究方向为微生物学。E-mail: 807580023@qq.com。

*通信作者简介: 彭超(1989—), 男, 四川南充人, 副研究员, 博士, 主要研究方向为微生物生理生化。E-mail: chpeng89@cwnu.edu.cn。

fixed Fe(II) concentration for microbial culture experiments, and the effects of Fe(II) concentration changes on the metabolic processes of the bacteria themselves remained largely unexplored. To fill this knowledge gap, a *Pseudomonas* NRFeOx bacterium isolated from river sediments was taken as the research object, and the effects of Fe(II) concentration on its metabolic processes were systematically evaluated, including Fe(II) oxidation, nitrate reduction, acetate oxidation, and nitrite accumulation by combining methods such as microbial anaerobic culture experiments, ion chromatography, and whole-genome sequencing analysis. The results showed that Fe(II) concentration had a relatively minor effect on the rate and extent of nitrate respiration of the strain. In contrast, Fe(II) concentration exerted a significant effect on the initiation time of its metabolic reactions. In the presence of 1 mmol/L Fe(II), nitrate reduction, Fe(II) oxidation, and acetate oxidation all started on the first day after inoculation; while in the presence of 3 mmol/L and 5 mmol/L Fe(II), the initiation of the above reactions was delayed to the 2nd and 6th days, respectively. Nevertheless, once the reactions were initiated, the rates and extents of nitrate reduction, acetate oxidation, and Fe(II) oxidation tended to be consistent under different Fe(II) concentration conditions. These findings indicate that changes in Fe(II) concentration are involved in the induction of certain metabolic pathways in nitrate-reducing Fe(II)-oxidizing bacteria, suggesting that Fe(II) concentration can act as a potential chemical factor to regulate the distribution and metabolic processes of different nitrate-reducing Fe(II)-oxidizing bacteria in natural environments.

Keywords: nitrate reduction; Fe(II) oxidation; denitrification; *Pseudomonas*; anaerobic microorganism; Fe(II)

0 引言

硝酸盐还原亚铁氧化菌广泛存在于农田土壤、水体沉积物、地下水等多种环境中^[1-3]。其能够在无氧条件下,将二价铁(Fe(II))氧化为三价铁(Fe(III)),在这一过程中形成的Fe(III)矿物不仅可作为催化剂,促进环境中多种化学反应的发生^[4],还可通过吸附、沉淀、共沉淀等途径,有效固定包括砷在内的重金属污染物,以及包括磷元素在内的植物和土壤微生物所需的营养元素^[5-6]。此外,由于该类微生物在氧化Fe(II)的同时,还会将处于溶解态的硝酸盐还原为氮气(N₂)或温室气体N₂O释放到大气中^[7-8],并在过程中氧化有机质为CO₂。因此,其在农业生产、环境污染治理、气候变化调控等领域起着相当重要的作用,具有广阔的应用潜力^[9]。

相比于其重要的生态环境意义,目前对硝酸盐还原亚铁氧化菌代谢机制的认识仍然有限。主流观点认为,该类微生物包括自养型和异养型2种,其中异养型的硝酸盐还原亚铁氧化菌以有机质为电子供体,在细胞内将硝酸根(NO₃⁻)逐步还原为亚硝酸根(NO₂⁻)、一氧化氮(NO)、氧化亚氮(N₂O)等中间产物(NO₃⁻ → NO₂⁻ → NO → N₂O → N₂)。与此同

时,其中亚硝酸根(NO₂⁻)和一氧化氮(NO)能够通过非生物反应将Fe(II)化学氧化为Fe(III)^[9],同时产生N₂O等温室气体^[7-8]。由于Fe(II)是被亚硝酸盐(NO₂⁻)、一氧化氮(NO)等硝酸盐还原过程的中间产物所氧化的,意味着亚铁氧化的能力可能广泛存在于多种硝酸盐还原菌中,而并非局限于特定的硝酸盐还原亚铁氧化菌类群^[10]。也有研究^[8]指出,在特定温度条件下,仍存在尚未鉴定的酶促机制参与Fe(II)氧化过程。

在自然环境中,Fe(II)浓度因生态系统类型不同而存在显著差异,在农田土壤、水体沉积物和地下水等低氧和无氧环境中,其浓度范围可从μmol/L级到mmol/L级^[11-12]。相较于环境中多样的Fe(II)浓度,在前人对这类菌株的研究中多采用某一特定浓度的Fe(II)进行微生物培养实验^[10, 13-14],缺乏对Fe(II)浓度变化所造成对微生物自身代谢过程的研究。Fe(II)不仅能够作为硝酸盐还原亚铁氧化菌生化反应过程中的电子供体,其还可能对微生物的代谢、生理和生态有重要的影响。除了在有氧条件下,Fe(II)通过与氧气的芬顿反应产生活性氧对细胞造成损伤以外,一些研究发现,向土壤中添加Fe(II)可显著改变硝酸盐还原菌的群落结构^[15],在

与Fe(II)共培养条件下硝酸盐还原菌 *Pseudogulbenkiana* sp. strain 2002的硝酸盐还原速率和程度受到显著抑制^[16]。同时,在Fe(II)被氧化后形成的Fe(III)矿物常沉淀于微生物细胞表面、周质空间,甚至细胞质内部^[7,17]。这些现象预示Fe(II)可能参与了某些硝酸盐还原亚铁氧化菌的代谢过程的调控过程,但其具体影响是否随着菌株种属的变化而变化,以及其影响程度是否受Fe(II)浓度调控仍有待系统研究。

为探究Fe(II)浓度对硝酸盐还原亚铁氧化菌代谢过程的影响,本文从四川南充城市河流沉积物中分离获得了一株硝酸盐还原亚铁氧化菌,对其形态、种属进行鉴定,并对其基因组进行了测序。同时,以该菌株为研究对象,通过微生物厌氧培养实验、全基因组测序、化学成分分析等手段,系统评估了Fe(II)浓度变化对该菌株硝酸盐还原、亚铁氧化及乙酸氧化等代谢过程的影响。

1 材料与方法

1.1 菌株的富集与分离

本文所用菌株分离自四川省南充市城区西河表层(0~5 cm)沉积物。采集沉积物样品后立即装入无菌袋,4℃冷藏保存。为富集其中的硝酸盐还原亚铁氧化菌,取10 g沉积物样品加入含25 mL 1.85 g/L无氧NaHCO₃缓冲溶液(pH 7.0)的血清瓶中,并添加5 mmol/L无氧乙酸钠和10 mmol/L无氧硝酸钠分别作为电子供体和电子受体。培养瓶顶空为N₂和CO₂(N₂和CO₂的体积比为9:1)混合气体,使用丁基橡胶塞密封,28℃避光培养。在约2周培养后,从血清瓶中取50 μL菌液涂布于R₂A固体培养基,28℃避光培养。待平板出现单菌落后,挑取形态不同的单菌落在R₂A平板上反复划线分离纯化2~3次,直至获得形态一致的纯培养菌株,命名为ZX。

1.2 菌株鉴定

为观察该菌株细胞形态,将10 mmol/L无氧硝酸钠和5 mmol/L无氧乙酸钠培养后的菌液进行离心(5 000 g, 15 min),弃上清后以质量分数为0.85%的NaCl溶液重悬。以含有1 μL NucGreen dye、2 μL EthD-III dye和8 μL 0.85% NaCl溶液的细菌染色剂(Solarbio EX3000)对细胞进行染色后,装载于载玻片上,利用荧光显微镜(Olympus BX51)对细胞形态和大小进行观察。

为绘制菌株的生长曲线,菌株ZX被接种至无氧矿物培养基,培养基中添加10 mmol/L无氧硝酸钠和5 mmol/L无氧乙酸钠作为呼吸作用的电子受体和供体进行培养。在培养过程中定期采集菌液样品,使用酶标仪在600 nm波长下测定吸光值(OD₆₀₀),并据此绘制生长曲线。

为分析该菌株的种属,对该菌株通过16S rRNA基因进行了测序。在R₂A平板上选取单菌落,悬浮于50 μL无菌水中制备菌液,采用引物27F和1492R扩增16S rRNA基因。扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳检测后测序,并在NCBI数据库进行BLAST比对,使用MEGA11软件^[18]采用Neighbor-Joining法构建系统发育树(1 000次Bootstrap)。

为分析该菌株是否持有硝酸盐还原和铁代谢相关基因,将对数生长期菌液离心收集菌体,液氮速冻后于-80℃保存,送上海美吉生物医药科技有限公司测序。采用Illumina平台进行双端测序,原始数据经fastp质控处理后使用SOAPdenovo2组装。通过将预测的编码序列与NR、KEGG和CAZy数据库进行序列比对,依据同源性匹配结果进行功能赋值与注释。使用FeGenie软件^[19]对基因组中亚铁氧化及铁代谢相关基因进行识别和分析。基因组组装结果提交至NCBI,登录号为PRJNA1430707。

1.3 微生物硝酸盐还原亚铁氧化培养实验及化学成分分析

为探究Fe(II)浓度对菌株ZX代谢过程的影

响,本文以 Fe(II)物质的量浓度为变量,开展了微生物厌氧培养实验。在实验开展前,将 R₂A 平板上的单菌落转接至 25 mL 无氧矿物培养基中。培养基组成为 0.14 g/L KH₂PO₄、0.3 g/L NH₄Cl、0.5 g/L MgSO₄·7H₂O、0.1 g/L CaCl₂·2H₂O、0.2 g/L NaCl 和 1.85 g/L NaHCO₃,并添加 1 mL/L 维生素混合溶液、微量元素混合溶液和 Selenite-Tungstate 溶液,pH 值为 7.0。在培养基中添加 10 mmol/L 无氧硝酸钠和 5 mmol/L 无氧乙酸钠,顶空为 N₂ 和 CO₂(N₂ 和 CO₂ 的体积比为 9:1)。培养条件为 28 °C 避光静置。待培养至稳定期后,取菌液按体积分数 1% 接种至含铁的无氧低磷矿物培养基中,分别设置不添加 Fe(II) 的对照组,以及分别额外添加 1、3 和 5 mmol/L FeCl₂ 的实验组,每个处理设置 3 个生物学重复。在培养过程中,定期将培养瓶转移至无氧手套箱(mBraun, 100% N₂)中采集样品。用于 Fe(II)浓度测定的样品采集后立即用 40 mmol/L 无氧氨基磺酸溶液(溶剂为 1 mol/L 无氧 HCl)稀释,用于硝酸盐、亚硝酸盐和乙酸测定的样品则在采集后立即保存于 -20 °C。

为分析不同条件下 Fe(II)氧化速率,采用菲罗嗉比色法,对培养过程中不同时期采集到的样品中的 Fe(II)物质的量浓度进行了测定。首先用 80 μL 1 mol/L HCl 溶液对 20 μL 样品进行稀释,稀释后的样品与 100 μL 1 g/L 菲罗嗉溶液(溶于 500 g/L 乙酸铵水溶液中)充分混合,在 562 nm 波长下使用酶标仪(Multiskan GO, Thermo Scientific)测定吸光度,并与以 (NH₄)₂Fe(SO₄)₂·6H₂O 和 1 mol/L HCl 溶液配制的标准曲线进行定量比较。每个生物学重复均设置 3 个测试。

为分析不同 Fe(II)浓度条件下,微生物硝酸盐还原、乙酸氧化的代谢速率和程度,采集到的样品中的硝酸盐、亚硝酸盐和乙酸浓度采用离子色谱仪(ICS-2100, Thermo Scientific)测定,样品离心后取上清液,用超纯水稀释并经 0.2 μm 滤膜过滤后

上机分析。Fe(II)、硝酸盐和乙酸根的消费速率通过选取反应达到平衡前线性阶段增长最快的 2 个连续数据点计算最大斜率获得。

2 结果与分析

2.1 菌株的形态、种属鉴定及生长曲线

细胞染色及显微镜观察结果表明,菌株 *Pseudomonas* sp. ZX 呈短杆状,两端钝圆,细胞长度约 2.0 μm,宽度约 0.5 μm(图 1)。



图 1 菌株 ZX 在荧光显微镜下的形态

基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树结果(图 2)显示,菌株 ZX 归属 γ-变形菌纲假单胞菌属(*Pseudomonas*)。其 16S rRNA 基因序列与 *Pseudomonas phenolilytic* 和 *Pseudomonas stutzeri* 聚类于同一分支。据此,将该菌株命名为 *Pseudomonas* sp. ZX。

在厌氧条件下,菌株 *Pseudomonas* sp. ZX 能够以乙酸钠为电子供体和碳源、以硝酸钠为电子受体进行生长(图 3)。该菌生长较为迅速,迟滞期为 0~5 h,对数生长期为 5~22 h,22 h 后进入稳定期。

2.2 菌株 ZX 与铁和硝酸盐还原过程的基因注释和分析

对 *Pseudomonas* sp. ZX 基因组进行功能注释,结果如表 1 所示。该菌株基因组中未注释到已报道的酶促亚铁氧化功能基因,提示其 Fe(II)氧化并非主要依赖目前已报道的典型酶促通路^[20-21]。该实验结果表明该菌株 Fe(II)氧化过程主要由其在反硝化过程中产生的活性氮中间体所介导^[7],例如本文中检测到的 NO₂⁻(图 4)。然而,在菌株 ZX 的基因组中

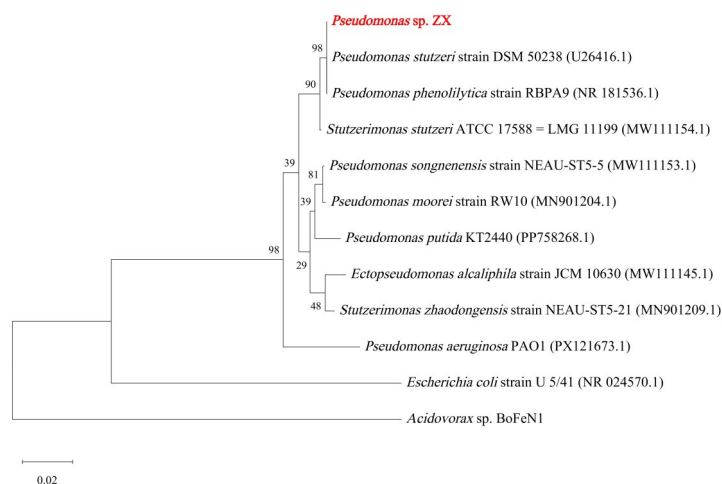


图 2 基于 16S rRNA 基因序列构建的菌株 ZX 系统发育树

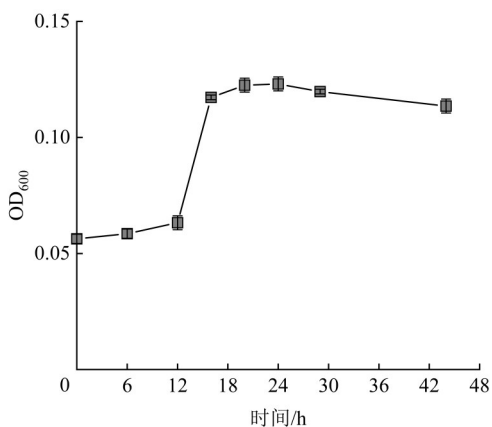


图 3 菌株 ZX 在不含 FeCl₂ 的培养基中的生长曲线

注释到大量与铁代谢相关的基因,包括参与铁代谢调控、铁载体(siderophore)合成与转运以及铁摄取系统构建等功能基因(表 1),表明该菌具有较为完善的铁吸收与调控体系。

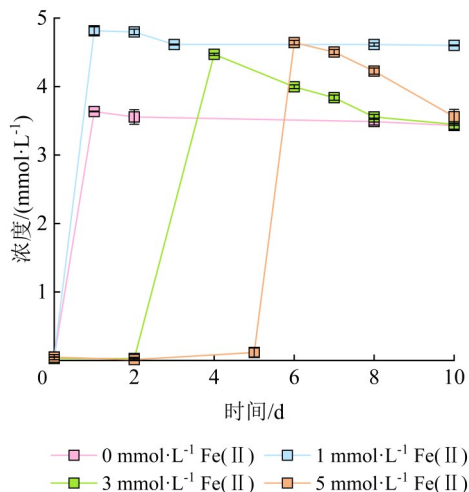


图 4 不同初始 Fe(II) 浓度培养过程中 NO₂⁻ 浓度随时间的变化

表 1 *Pseudomonas* sp. ZX 基因组中注释到的与铁代谢硝酸盐还原过程的相关基因

功能	基因
酶促亚铁氧化	未注释到
铁载体合成	<i>vabA</i> 、 <i>vabB</i> 、 <i>vabC</i> 、 <i>vabE</i> 、 <i>vabF</i>
铁载体转运	<i>pvuE</i> 、 <i>fvpE</i> 、 <i>hatD</i> 、 <i>pvdT</i> 、 <i>pvuD</i> 、 <i>pirA</i> 、 <i>fptC</i> 、 <i>piuA</i> 、 <i>fvpG</i>
铁代谢调控	<i>PchR</i> 、 <i>PvdS</i>
硝酸根还原	<i>narGHIJ</i> 、 <i>napABE</i>
亚硝酸盐还原	<i>nirBDNS</i> 、 <i>ahbAB</i> 、 <i>cysI</i> 、 <i>nasDE</i>
一氧化氮还原	<i>norV</i>
氧化亚氮还原	<i>nosDZ</i>

此外, *Pseudomonas* sp. ZX 基因组中注释到了完整的反硝化基因,包括编码硝酸盐还原酶(*Nar/Nap*)、亚硝酸盐还原酶(*Nir/Nas/Ahb*)、一氧化氮还原酶(*Nor*)及氧化亚氮还原酶(*Nos*)的相关基因(表 1)。这些基因的存在表明该菌具备将硝酸盐逐级还原为 N₂ 的完整反硝化能力,且在反硝化过程中可能产生具 Fe(II) 化学氧化潜力的活性氮物质(如 NO₂⁻、NO 等)。

2.3 Fe(II) 浓度对菌株 ZX 亚铁氧化过程的影响

通过监测厌氧培养过程中培养液中 Fe(II) 浓度随时间的变化,本文分析了菌株 ZX 的亚铁氧化速率及其对初始 Fe(II) 浓度的响应特征。结果表

明,在分别添加 1、3 和 5 mmol/L FeCl_2 的培养基中,菌株均能够实现 $\text{Fe}(\text{II})$ 的氧化(图 5)。

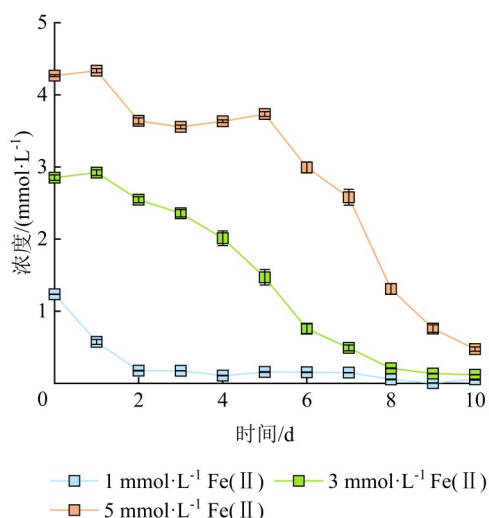


图 5 不同初始 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度培养过程中 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度随时间的变化

在培养过程中 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化反应开始的时间随初始 FeCl_2 浓度的升高而延迟。在添加 1 mmol/L FeCl_2 的培养基中,接种后第 1 天即检测到明显的 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化,约有 53.45%(摩尔分数)的 FeCl_2 ((0.66 ± 0.03) mmol/L) 被氧化。相比之下,在添加 3 mmol/L FeCl_2 的培养基中,接种后第 1 天 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度未出现显著变化, $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化自第 2 天才开始。而在添加 5 mmol/L FeCl_2 的培养基中, $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化启动时间进一步推迟,至第 6 天后才观察到显著的 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化现象(图 5)。

尽管 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化的启动时间存在明显差异,在不同初始 FeCl_2 浓度条件下,菌株的 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化速率和最终氧化程度总体较为接近。在 1、3 和 5 mmol/L FeCl_2 条件下, $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化速率分别为 (0.53 ± 0.01) mmol/(L·d)、 (0.39 ± 0.01) mmol/(L·d) 和 (0.38 ± 0.01) mmol/(L·d)。反应达到稳定后,剩余 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度分别为 (0.06 ± 0.01) mmol/L、 (0.12 ± 0.01) mmol/L 和 (0.48 ± 0.03) mmol/L。整体来看,提高初始 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度对于该菌株 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化的主要影响在于其反应过程的启动时间。在反应启动后,单位时间内的 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化反应速率及最终反应程度几乎不受 $\text{Fe}(\text{II})$

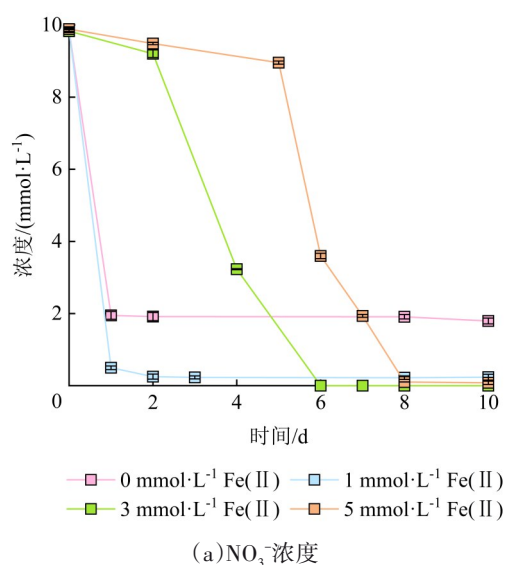
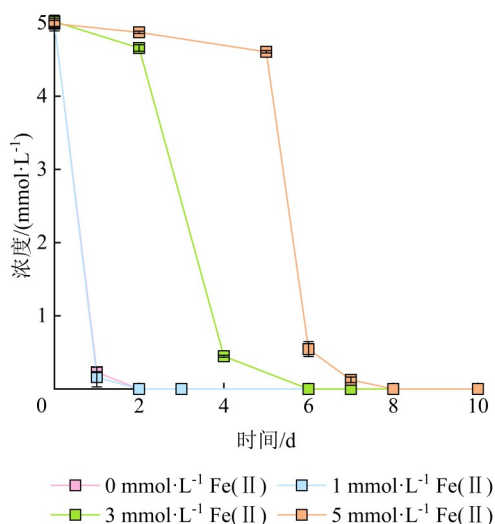
(II) 浓度的影响。

2.4 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度对菌株 ZX 硝酸根还原和乙酸氧化过程的影响

为探究 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度对 *Pseudomonas* sp. ZX 硝酸盐还原和乙酸氧化过程的影响,本文利用离子色谱测定了反应过程中 NO_3^- 、 NO_2^- 和 CH_3COO^- 物质的量浓度随时间的变化。结果表明, $\text{Fe}(\text{II})$ 对该菌株硝酸盐还原和乙酸氧化的影响,也主要体现在反应启动时间上(图 6)。无论是否添加 $\text{Fe}(\text{II})$ 还是添加不同浓度的 FeCl_2 ,菌株均可在 10 d 内完成硝酸盐还原和乙酸氧化过程(图 6)。

具体来说,硝酸盐还原的开始时间随 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度升高而延迟(图 6(a))。在不含 $\text{Fe}(\text{II})$ 和添加 1 mmol/L $\text{Fe}(\text{II})$ 的处理组中,硝酸盐还原最早发生,接种后 1 d 内,菌株将 10 mmol/L 硝酸盐分别还原了 80.25% 和 94.97%,同时亚硝酸盐分别积累至 (3.38 ± 0.02) mmol/L 和 (4.56 ± 0.010) mmol/L。添加 3 mmol/L FeCl_2 溶液的处理组中,硝酸盐还原自第 2 天才开始,其还原速率为 (4.60 ± 0.01) mmol/(L·d),同时也出现亚硝酸盐的大量积累 (3.81 ± 0.02) mmol/L。添加 5 mmol/L FeCl_2 的处理组中,硝酸盐还原的开始时间最晚,于第 6 天后才开始,但其还原速率为 (2.22 ± 0.05) mmol/(L·d),最终还原程度接近 100%,亚硝酸盐的积累量为 (4.46 ± 0.09) mmol/L,与不添加 $\text{Fe}(\text{II})$ 或添加低浓度 FeCl_2 的处理组基本相当(图 4)。

与硝酸盐还原过程类似,研究结果显示,该菌株对乙酸氧化过程也受到了 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度的调控(图 6(b))。无 $\text{Fe}(\text{II})$ 和添加 1 mmol/L $\text{Fe}(\text{II})$ 溶液的处理组在接种后第 1 天即开始了乙酸氧化;而在添加 3 mmol/L 和 5 mmol/L FeCl_2 溶液的处理组中,乙酸氧化分别于第 3 天和第 6 天才开始。然而,与启动时间的差异相比,各处理组间乙酸氧化速率差异较小。在不含 $\text{Fe}(\text{II})$,以及添加 1、3 和 5 mmol/L FeCl_2 溶液的处理组中,乙酸氧化速率分别为 (2.50 ± 0.02)

(a) NO_3^- 浓度(b) CH_3COO^- 浓度图 6 不同初始 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度培养过程中 NO_3^- 和 CH_3COO^- 浓度随时间的变化

$\text{mmol}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 、 (2.50 ± 0.02) $\text{mmol}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 、 (2.32 ± 0.04) $\text{mmol}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 和 (2.30 ± 0.05) $\text{mmol}/(\text{L}\cdot\text{d})$ 。在所有处理组中,乙酸均被完全消耗。

3 讨论与结论

本文从城市河流沉积物中分离获得一株硝酸盐还原亚铁氧化菌,基于 16S rRNA 基因的系统发育分析表明,该菌株隶属 γ -变形菌纲假单胞菌属 (*Pseudomonas*)。全基因组测序分析结果显示,菌株 ZX 基因组中未检测到已报道的铁氧化相关功能基

因(如 *cyc2*、*mtoAB* 等),但持有完整的反硝化基因簇(如 *narGHIJ*、*nirBDNS*、*norV*、*nosDZ*)。这一结果表明,该菌株对 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化主要由其在反硝化过程中积累的 NO_2^- 所介导^[22-23],即通过 NO_2^- 与 $\text{Fe}(\text{II})$ 的化学反应实现对 $\text{Fe}(\text{II})$ 的氧化。而本研究中观察到该菌株在同一 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度条件下 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化、硝酸盐还原与乙酸消耗等代谢过程在时间尺度上高度同步,支持了上述推测。

在不同 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度条件下,菌株 ZX 的 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化速率、硝酸盐还原速率以及乙酸氧化速率整体上受 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度影响较小,这与前人观察到 *Pseudogulbenkiania* sp. strain 2002 的硝酸盐还原过程受到 $\text{Fe}(\text{II})$ 显著抑制的结果相反^[16]。该结果意味着 $\text{Fe}(\text{II})$ 对硝酸盐还原菌代谢过程的影响存在种间差异性。此外,虽然菌株 ZX 代谢反应的速率和程度并不显著受 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度的影响,其代谢反应启动的时间却显著受到了 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度调控。已有研究指出,在与 $\text{Fe}(\text{II})$ 共培养条件下,为缓解 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化带来的不利影响,某些硝酸盐还原菌株的金属外排蛋白和氧化还原调控蛋白表达量显著上调^[10,24]。同时,前人通过扫描电镜实验观察到某些硝酸盐还原亚铁氧化菌在氧化 $\text{Fe}(\text{II})$ 后,其细胞表面常沉积大量 $\text{Fe}(\text{III})$ 矿物,可能对细胞代谢活动产生潜在胁迫^[7]。因此推测菌株 ZX 在较高浓度(3 和 5 mmol/L) FeCl_2 条件下, $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化、硝酸盐还原及乙酸氧化过程出现明显迟滞的原因,可能是其为适应高 $\text{Fe}(\text{II})$ 环境同时避免细胞被 $\text{Fe}(\text{III})$ 矿物包裹而启动相关蛋白合成与代谢调节机制所致。

综上所述,本研究表明,硝酸盐还原亚铁氧化菌的乙酸氧化、硝酸盐还原与 $\text{Fe}(\text{II})$ 氧化过程均受 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度调控。在高浓度 $\text{Fe}(\text{II})$ 条件下,这些代谢过程的启动时间被显著延迟。 $\text{Fe}(\text{II})$ 浓度驱动的这种代谢响应,可能有助于解释前人报道的 $\text{Fe}(\text{II})$ 添加显著改变土壤微生物群落结构的现象^[15]。鉴于硝酸盐还原亚铁氧化菌广泛分布于农业土壤

和水体沉积物等环境中^[3],本研究结果对于未来开发基于反硝化过程的废水处理方法,具有一定的理论指导意义。

参考文献:

- [1] EMMERICH M, BHANSALI A, LÖSEKANN-BEHRENS T, et al. Abundance, distribution, and activity of Fe(II)-oxidizing and Fe(III)-reducing microorganisms in hypersaline sediments of lake Kasin, southern Russia [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(12): 4386-4399.
- [2] MELTON E D, SCHMIDT C, KAPPLER A. Microbial iron(II) oxidation in littoral freshwater lake sediment: the potential for competition between phototrophic vs. nitrate-reducing iron(II)-oxidizers [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3: 197.
- [3] KAPPLER A, BRYCE C, MANSOR M, et al. An evolving view on biogeochemical cycling of iron [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19(6): 360-374.
- [4] EMERSON D. Biogeochemistry and microbiology of microaerobic Fe(II) oxidation [J]. *Biochemical Society Transactions*, 2012, 40(6): 1211-1216.
- [5] 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.
- [6] MCROSE D L, NEWMAN D K. Redox-active antibiotics enhance phosphorus bioavailability [J]. *Science*, 2021, 371(6533): 1033-1037.
- [7] KLUEGLEIN N, ZEITVOGEL F, STIERHOF Y D, et al. Potential role of nitrite for abiotic Fe(II) oxidation and cell encrustation during nitrate reduction by denitrifying bacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(3): 1051-1061.
- [8] DOPFFEL N, JAMIESON J, BRYCE C, et al. Temperature dependence of nitrate-reducing Fe(II) oxidation by *Acidovorax* strain BoFeN1-evaluating the role of enzymatic vs. abiotic Fe(II) oxidation by nitrite [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2022, 97(12).fiab155.
- [9] KLUEGLEIN N, ZEITVOGEL F, STIERHOF Y D, et al. Potential role of nitrite for abiotic Fe(II) oxidation and cell encrustation during nitrate reduction by denitrifying bacteria [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(3): 1051-1061.
- [10] CARLSON H K, CLARK I C, BLAZEWCZ S J, et al. Fe(II) oxidation is an innate capability of nitrate reducing bacteria that involves abiotic and biotic reactions [J]. *Journal of Bacteriol*, 2013, 195(14): 3260-3268.
- [11] KLAR J K, HOMOKY W B, STATHAM P J, et al. Stability of dissolved and soluble Fe(II) in shelf sediment pore waters and release to an oxic water column [J]. *Biogeochemistry*, 2017, 135(1): 49-67.
- [12] PIERRI D, CZOP M. Iron index as an organic matter decay intensity indicator in a shallow groundwater system highly contaminated with phenol (case study in northern Poland) [J]. *Environmental Earth Sciences*, 2020, 79(1-2): 15-23.
- [13] CHAKRABORTY A, PICARDAL F. Induction of nitrate-dependent Fe(II) oxidation by Fe(II) in *Dechloromonas* sp. strain UWNr4 and *Acidovorax* sp. strain 2AN [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(2): 748-752.
- [14] WEBER K A, POLLOCK J, COLE K A, et al. Anaerobic nitrate-dependent iron(II) bio-oxidation by a novel lithoautotrophic betaproteobacterium, strain 2002 [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(1): 686-694.
- [15] PAN D, CHEN P, YANG G, et al. Fe(II) oxidation shaped functional genes and bacteria involved in denitrification and dissimilatory nitrate reduction to ammonium from different paddy soils [J]. *Environmental Science & Technology*, 2023, 57(50): 21156-21167.
- [16] CHEN D, LIU T, LI X, et al. Biological and chemical processes of microbially mediated nitrate-reducing Fe(II) oxidation by

- Pseudogulbenkiania* sp. strain 2002 [J]. *Chemical Geology*, 2018, 476: 59–69.
- [17] SCHMID G, ZEITVOGEL F, HAO L, et al. 3-D analysis of bacterial cell-(iron) mineral aggregates formed during Fe(II) oxidation by the nitrate-reducing *Acidovorax* sp. strain BoFeN1 using complementary microscopy tomography approaches [J]. *Geobiology*, 2014, 12(4): 340–361.
- [18] KUMAR S, STECHER G, LI M, et al. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2018, 35(6): 1547–1549.
- [19] GARBER A I, NEALSON K H, OKAMOTO A, et al. FeGenie: a comprehensive tool for the Identification of iron genes and iron gene neighborhoods in genome and metagenome assemblies [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 37.
- [20] HE S, BARCO R A, EMERSON D, et al. Comparative genomic analysis of neutrophilic iron(II) oxidizer genomes for candidate genes in extracellular electron transfer [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1584.
- [21] SHI L, DONG H, REGUERA G, et al. Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(10): 651–662.
- [22] ZHANG W, LI X, LIU T, et al. Enhanced nitrate reduction and current generation by *Bacillus* sp. in the presence of iron oxides [J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2012, 12(3): 354–365.
- [23] LIU T, CHEN D, LI X M, et al. Microbially mediated coupling of nitrate reduction and Fe(II) oxidation under anoxic conditions [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2019, 95(4): fiz030.
- [24] STRAUB K L, BENZ M, SCHINK B. Iron metabolism in anoxic environments at near neutral pH [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, 34(3): 181–186.

责任编辑:李远辉