

腐殖质呼吸作用及其生态学意义

武春媛^{1,2}, 李芳柏², 周顺桂^{2,*}

(1. 中国科学院广州地球化学研究所, 广州 510640; 2. 广东省生态环境与土壤研究所, 广东省农业环境综合治理重点实验室 广州 510650)

摘要: 腐殖质呼吸是厌氧环境中普遍存在的一种微生物呼吸代谢模式。自 1996 年发现以来, 日益成为生态学与环境科学领域的研究热点。在厌氧条件下, 一些微生物能以腐殖质作为唯一电子受体, 氧化环境中的有机质或者甲苯等环境有毒物质, 产生 CO₂, 参与碳循环; 同时, 腐殖质呼吸作用产生的还原态腐殖质可以还原环境中的一些氧化态物质, 如 Fe(III)、Mn(IV)、Cr(VI)、U(VI)、硝基芳香化合物和多卤代污染物。因此, 腐殖质呼吸能够影响环境中 C、N、Fe、Mn 以及一些痕量金属元素的生物地球化学循环, 并且能够促进重金属以及有机污染物的脱毒, 在水体自净、污染土壤原位修复、污水处理等方面具有积极作用。

关键词: 腐殖质呼吸; 腐殖质还原菌; 电子穿梭体; 生态学意义

文章编号: 1000-0933 (2009) 03-1535-08 中图分类号: Q143 文献标识码: A

Humus respiration and its ecological significance

WU Chun-Yuan^{1,2}, LI Fang-Bai², ZHOU Shun-Gui^{2,*}

1 Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, 510640, China

2 Guangdong Key Laboratory of Agricultural Environment Pollution Integrated Control, Guangdong Institute of Eco-Environment and Soil Sciences, Guangzhou, 510650, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(3): 1535 ~ 1542.

Abstract: Humus is a ubiquitous component in the environment and can be readily isolated from nearly all soils, waters, and sediments. Humus biodegrades poorly and is formed from the decomposition of plant, animal, and microbial cells in soils and sediments. The functional groups of humus, which determine the physical and chemical characteristics, vary depending on the origin and age of the material. An in-depth understanding of the reaction chemistry of humus and the role played by these compounds in geochemical cycles has been a major scientific focus for over a century. However, the interactions between these compounds and microbial populations have only recently gained scientific attention. It is now known that humic substances may play an important role in the anaerobic biodegradation and biotransformation of organic as well as inorganic compounds. Humus can be utilized by microorganisms as effective electron acceptors for the oxidative degradation of organic carbon in anaerobic environments. Alternatively, reduced humic substances can be utilized by microorganisms as electron donors for the assimilation of organic carbon coupled to denitrification. Microbially reduced humus can act as soluble electron carriers between microorganisms and metal oxides such as Fe(III) oxides, allowing for the regeneration of humus to the oxidized form. Thus, even sub-stoichiometric concentrations of humus can mediate both anaerobic substrate oxidation and metal oxide reduction. Additionally, humus can serve as electron shuttles, abiotically transferring electrons from an external electron donor to priority pollutants, which are susceptible to reductive transformations (e. g., nitroaromatics, azo dyes and polyhalogenated compounds). These interactions may have a significant impact on the fate and transport of organic and inorganic environmental pollutants. An understanding of these interactions may improve strategies for bioremediation of particular pollutants. Likewise, predicting the behavior and longevity of pollutants within the environment may be better modeled, resulting in improved design strategies for

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (40601043, 20777013)

收稿日期: 2007-10-12; 修订日期: 2008-03-13

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: sgzhou@soil.gd.cn

bioremediative processes. This paper presented a review on humus respiration which has only recently been recognized as a novel respiratory pathway for a diverse community of humus-reducing microorganisms. Likewise, the role of humic substances on the degradation of priority pollutants was discussed in this paper.

Key Words: humus respiration; humus-reducing microorganisms; electron shuttle; ecological significance

腐殖质(Humic substances, HS)是由动、植物及微生物残体经生物酶分解、氧化以及微生物合成等过程逐步演化而形成的一类高分子芳香族醌类聚合物,广泛存在于土壤、沉积物和水生环境中。根据溶解性,HS 主要分为:胡敏素(Humins),腐殖酸(Humic acid, HA),富里酸(Fulvic acid, FA)^[1~5]。HS 具有重要的反应活性,可以通过吸附、络合反应与重金属、有机污染物发生相互作用,从而影响污染物的迁移转化与归宿^[2,5,6]。

过去普遍认为 HS 不能参与微生物的生理代谢过程^[7]。然而,最近研究表明 HS 在有机、无机等化合物的生物降解中起到极其重要的作用,并且可以作为末端电子受体,支持有机物的厌氧微生物氧化。Lovley 等(1996)首次发现金属还原地杆菌(*Geobacter metallireducens*)能厌氧还原腐殖质及其模型物,如蒽醌-2,6-二磺酸(Anthraquinone-2,6-disulphonate, AQDS)。腐殖质在厌氧条件下可以作为末端电子受体接受来自菌体细胞膜电子传递链上的电子,腐殖质接受电子被还原,而电子在细胞膜传递过程中,形成跨膜的质子浓度电势梯度,偶联能量的形成来支持菌体的生长,这种微生物代谢类型称为腐殖质呼吸,具有腐殖质呼吸活性的微生物称为腐殖质还原菌^[8,9];随后的电子自旋共振光谱(ESR)和核磁共振(NMR)研究证实,腐殖质中的醌类基团是主要的电子接受位点^[2,9~11],因此腐殖质呼吸也可称为醌呼吸。HS 不仅可在厌氧环境中充当有机物矿化的电子受体,而且可在腐殖质还原菌和可还原态物质(Fe(III)、Mn(IV)、Hg(II)、硝酸盐、重金属、有机污染物)之间充当氧化还原介体(电子穿梭体),促进这些物质的还原^[7,9~10,12~17]。

腐殖质呼吸在元素的生物地球化学循环过程中具有重要意义,能够促进环境中有机质的矿化和生物脱氮作用,参与 Fe、Mn 等重要元素的氧化还原过程^[12]。此外,腐殖质呼吸在重金属和碳氢化合物的迁移转化,以及有机污染物的降解过程中也起到重要作用^[15,18~23]。本文就腐殖质呼吸的研究进展进行评述,以期对这一重要过程有更深入、全面的认识和理解。

1 腐殖质呼吸作用

腐殖质呼吸是一种新型的微生物厌氧呼吸代谢模式,由 Lovley 等首先发现,他们的试验表明,HS 可促进苯的厌氧氧化降解,并且在腐殖酸(HA)存在的条件下,铁还原菌(*G. metallireducens*)可使¹⁴C-标记的乙酸盐氧化成¹⁴CO₂,菌体细胞也随之同步增殖^[2,9]。这一反应,是腐殖质呼吸的第一个证据。进而,研究发现这种腐殖质还原的呼吸过程普遍存在于土壤、水体沉积物、污泥等厌氧环境中^[1,9,13]。腐殖质呼吸作用的本质是呼吸链上的电子传递过程(图1),具体表述为:厌氧条件下,腐殖质还原菌通过氧化电子供体,偶联腐殖质或腐殖质模型物还原,并从这一电子传递过程中贮存生命活动的能量。迄今已发现在腐殖质呼吸过程中可作为电子供体的物质有:有机酸、糖类、H₂、苯、甲苯、氯乙烯、聚氯乙烯等。

1.1 腐殖质呼吸作用的电子接受位点——醌分子

大量 NMR 和 ESR 研究表明,醌型基团是 HS 中主要的电子接受位点^[10,11,14,24]。醌类物质含量越高,HS



图1 腐殖质呼吸作用^[2]

Fig. 1 Model of humus respiration mechanism^[2]

接受电子的能力越强^[14]。Lovley 等利用 ESR 分析了腐殖质还原前后自由基的组成及含量,结果表明,反应后体系中的半醌自由基和氢醌显著增加,半醌自由基和氢醌是醌基的还原产物^[14]。进一步支持了醌型基团是腐殖质呼吸作用中电子接受位点的假设。

1.2 影响腐殖质呼吸的因素

厌氧环境中腐殖质呼吸速率受很多因素影响,腐殖质的组成和环境中的氧化还原条件是影响腐殖质呼吸作用的主要因素^[18,25,26]。

不同种类的腐殖质的微生物还原速率有很大差异。研究表明,HA 更容易被微生物还原,这主要是由于 HA 的溶解性较好,醌含量较高。Chen 等研究了 HS 中不同组分对腐败希瓦氏菌 (*Shewanella putrefaciens* CN32) 腐殖质呼吸作用的影响,结果表明,腐殖质中的 HA 部分比富含酚和富含碳水化合物部分更容易被微生物还原,促进了有机物的矿化^[25]。

此外,土壤中其它电子受体(如 NO_3^- 、 Mn(IV) 、 Fe(III) 、 SO_4^{2-} 、 CO_2) 的存在也会影响腐殖质呼吸速率,腐殖质还原与硝酸盐还原、铁锰还原、硫酸盐还原、产甲烷作用同时存在,并存在竞争关系。随着氧化还原体系的不同,这几种微生物的呼吸代谢途径在有机物生物降解中的贡献也不尽相同。Cervantes 等的研究表明,当在沉积物样品中添加乙酸或丙酸作为电子供体时,微生物代谢以反硝化作用和硫酸盐还原为主,而添加乳酸作为电子供体时,腐殖质呼吸作用、硫酸盐还原以及反硝化作用的贡献相当;在厌氧污泥中添加乙酸或乳酸作为电子供体时,微生物代谢以腐殖质呼吸和反硝化作用为主,当丙酸作为电子供体时,以反硝化作用和硫酸盐还原为主^[26]。

2 腐殖质还原菌

2.1 腐殖质还原菌的富集和分离

HS 主要是在厌氧环境中被还原,多数腐殖质还原菌是严格厌氧的。兼性厌氧菌(例如发酵细菌)只有在 O_2 耗尽时才会以 HS 作为电子受体支持生长,因此,培养基的配制和菌的富集要在严格厌氧条件下进行。在厌氧条件下,兼性厌氧菌和厌氧菌通过发酵或呼吸作用获得生长能量。如果要限制发酵细菌的生长,应使用不易被发酵的电子供体和碳源(如乙醇、脂肪酸),避免使用复杂的营养物质(如酵母浸提物和蛋白胨)。目前常用的腐殖质还原菌的富集分离培养基的成分如表 1^[10,12,27~31]。在富集培养前,充 $\text{N}_2:\text{CO}_2$ 混合气体以保证培养液严格厌氧。

在富集和分离 HS 还原菌时多选择腐殖质模型物 AQDS 作为电子受体,一般不直接使用 HS。主要原因是:(1) AQDS 的还原产物 AHQDS 在中性条件下呈橙黄色,容易辨别,也可在 450nm 处测吸光值来定量检测;(2) HS 纯化操作复杂,而且它的还原速率要显著慢于 AQDS^[2]。尽管研究中多使用 AQDS,但 AQDS 并不完全等同于 HS, AQDS 的氧化还原电位为 -184mV ,接近 HS 氧化还原电位的下限,在高于此电位时能将电子传递给 HS 的还原过程就被忽略。而且, AQDS 进入细菌体内的机制还不清楚,大分子的 HS 可能不容易进入细胞内,因此能还原 AQDS 的菌不一定也能还原 HS。另外,有文献报道高浓度 AQDS 对纯菌和土著微生物具有潜在的毒性^[2,12]。

2.2 腐殖质还原菌的多样性

金属还原地杆菌 (*Geobacter metallireducens*) 是最先发现的腐殖质还原菌^[9]。从 20 世纪 90 年代后期以来,多种以腐殖质或 AQDS 为末端电子受体的细菌被分离和鉴定,其中包括与短链脂肪酸及 H_2 氧化相

表 1 腐殖质还原菌富集和分离培养基组成

Table 1 Compositions of media used for enrichment and isolation of humus-reducing microorganisms

组成成分 Compound	含量 Content
无机盐 Mineral media	NaHCO_3 2.0 ~ 5.0 g/L
	NH_4Cl 0.1 ~ 0.5 g/L
	K_2HPO_4 0.02 ~ 0.6 g/L
	KCl 0.1 ~ 0.2 g/L
	$\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.012 ~ 0.4 g/L
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.05 ~ 0.1 g/L
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.025 ~ 0.2 g/L
电子供体 Electron donor	acetate 2 ~ 5 mmol/L
	lactate 2 ~ 5 mmol/L
电子受体 Electron acceptor	HS 2 g/L
	HA 5 ~ 20 g/L
	AQDS 0.1 ~ 5 mmol/L

偶联的铀还原菌(如 *Deinococcus radiodurans*)^[8],与多种底物相偶联的铁还原菌(如 *Pantoea agglomerans* SPI)^[9],几种硫还原细菌(如 *Desulfovibrio* G11),发酵性细菌(如 *Propionibacterium freudenreichii*)以及嗜热菌^[27]。一些产甲烷细菌还可以直接氧化有机污染物,例如氯乙烯(VC)、二氯乙烯(DCE)、甲苯作为电子供体还原 HS^[10,27]。目前已发现的 HS 还原菌见表 2。

表 2 腐殖质还原菌

Table 2 Humus-reducing microorganisms

腐殖质还原菌 Humus-reducing microorganisms	电子供体 Electron donor	电子受体 Electron acceptor	其他电子受体 Other electron acceptors
地杆菌 <i>Geobacter</i> bacteria			
<i>Geobacter metallireducens</i> ^[9]	乙酸、H ₂	AQDS、HA、HS	铁氧化物、柠檬酸铁
<i>Geobacter</i> sp. JW-3 ^[32]	乙酸、丙酸、乳酸、乙醇、H ₂	AQDS、HA	柠檬酸铁、Mn(IV)
<i>Geobacter</i> sp. TC-4 ^[32]	乙酸	AQDS、HA	柠檬酸铁、Mn(IV)
<i>Geobacter humireducens</i> ^[8]	乙酸	AQDS、HA	Fe(III)
<i>Geobacter sulfurreducens</i> ^[8]	乙酸	AQDS、HA	Fe(III)
脱亚硫酸菌 <i>Desulfitobacteria</i>			
<i>Desulfitobacterium dehalogenans</i> ^[33]	乳酸、H ₂	AQDS、HA	Se(VI)
<i>Desulfitobacterium</i> PCE1 ^[33]	乳酸、H ₂	AQDS、HA	Se(VI)
<i>Desulfitobacterium chlororespirans</i> Co23 ^[17]	乙酸	AQDS、HA	Se(VI)、Fe(III)、Mn(IV)
<i>Desulfitobacterium</i> SDB-1 ^[32]	乙酸、丙酸、乙醇、琥珀酸	AQDS	柠檬酸铁、Mn(IV)
<i>Desulfitobacterium</i> FD-1 ^[32]	乙酸、丙酸、琥珀酸	AQDS	ND
希瓦氏菌 <i>Shewanella</i>			
<i>Shewanella alga</i> ^[9]	乳酸、H ₂	AQDS、HS	Fe(III)
<i>Shewanella cinica</i> D14 ^T ^[34]	乳酸	AQDS	铁氧化物
<i>Shewanella putrefaciens</i> DK ^[35]	乳酸	AQDS	ND
<i>Shewanella sacchrophila</i> ^[8]	乙酸	AQDS	Fe(III)
发酵细菌 <i>Fermenting bacteria</i>			
<i>Propionibacterium freudenreichii</i> ^[36]	乙酸、丙酸	AQDS、HA	水铁矿
<i>Enterococcus cecorum</i> ^[36]	葡萄糖	HA	Fe(III)
<i>Lactococcus lactis</i> ^[36]	葡萄糖	HA	Fe(III)
产甲烷菌 <i>Methanogenic bacteria</i>			
<i>Methanobacterium palustre</i> F ^[27]	H ₂ 、异丙醇	AQDS	铁氧化物
<i>Methanobacterium thermoautotrophicum</i> ^[10]	H ₂	AQDS、HS	铁氧化物
<i>Methanococcus thermolithotrophicus</i> ^[27]	H ₂	AQDS、HA	铁氧化物
<i>Methanococcus voltaei</i> ^[10]	H ₂	AQDS	铁氧化物
<i>Methanobolus vulcani</i> PL-12/M ^[10]	H ₂	AQDS	铁氧化物
<i>Methanosarcina barkeri</i> MS ^[10]	H ₂ 、乙酸	AQDS	铁氧化物
<i>Methanospaera cuniculi</i> ^[10]	H ₂	AQDS、HA	铁氧化物
<i>Methanospirillum hungatei</i> ^[33]	H ₂	AQDS、HA	铁氧化物
嗜热菌 <i>Thermophilic bacteria</i>			
<i>Archaeoglobus fulgidus</i> ^[27]	乳酸	AQDS、HS	铁氧化物
<i>Methanopyrus kandleri</i> ^[27]	H ₂	AQDS、HS	铁氧化物
<i>Pyrobaculum islandicum</i> ^[27]	H ₂	AQDS、HS	铁氧化物
<i>Pyrococcus furiosus</i> ^[27]	H ₂	AQDS、HS	铁氧化物
<i>Pyrodictium abyssi</i> ^[27]	H ₂	AQDS、HS	铁氧化物
<i>Thermococcus celer</i> ^[27]	H ₂	AQDS、HS	铁氧化物
<i>Thermotoga maritima</i> ^[27]	H ₂	AQDS、HS	铁氧化物

乙酸 Acetate; 丙酸 Propionic acid; 乳酸 Lactic acid; 乙醇 Ethanol; 琥珀酸 Succinic acid; 葡萄糖 Glucose; 异丙醇 Isopropanol; 铁氧化物 Iron oxides; 柠檬酸铁 Ferric citrate; 水铁矿 Ferrihydrite

产甲烷细菌和嗜热菌具有还原胞外醌类物质的特性表明,腐殖质呼吸作用可能是一种古老的微生物呼吸代谢方式。这种最初的呼吸形式在细菌的进化过程中也不断发生着变化。有的细菌仍然保留着腐殖质还原

能力,而有的细菌在生物的进化中可能失去了腐殖质呼吸能力,被更能适应其生存环境的其它呼吸形式所代替^[27]。随着研究的深入,将会有更多的细菌腐殖质还原形式被发现。

3 腐殖质呼吸作用的生态学意义

微生物腐殖质呼吸作为新的呼吸代谢模式,是厌氧环境中一种重要的电子转移途径,具有重要的生态学意义。这种重要性在于:(1)腐殖质在厌氧环境中充当有机物矿化的电子受体,直接参与自然界的碳循环过程。据报道,在某些淹水土壤与淡水沉积物中,腐殖质呼吸直接导致了 80% 以上的有机碳矿化,其贡献超过硝酸盐呼吸、硫酸盐呼吸、产甲烷作用等其它厌氧代谢方式的总和;(2)腐殖质可作为电子穿梭体,影响氮、磷、金属元素的生物地球化学循环,以及有机污染物(如含氯有机物、含硝基芳香族化合物、各种偶氮染料等)的还原降解。腐殖质呼吸介导的 Fe(III),Mn(IV)或有机污染物还原机制如图 2 所示,具体过程为:腐殖质还原菌在腐殖质呼吸作用中氧化电子供体,将电子传递给 HS,HS 得到电子被还原,还原态的腐殖质(含半醌或氢醌基团)又将电子传递给金属氧化物或可还原有机污染物,同时还原态的腐殖质又转化为氧化态形式,继而又可以接受电子被微生物还原,如此循环往复,即使低浓度的腐殖质也可以发挥重要的作用^[2,9,37]。

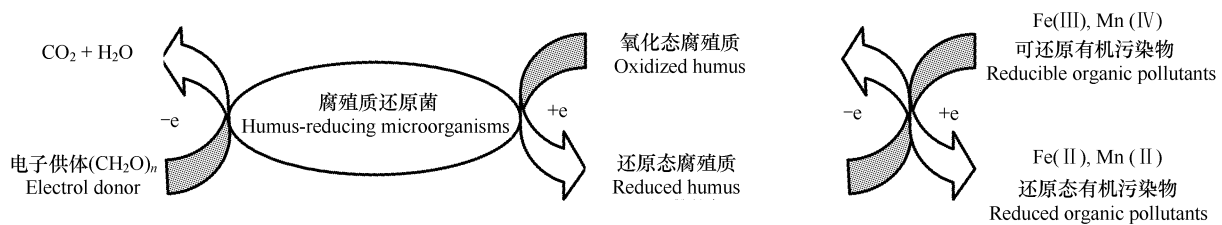


图 2 腐殖质呼吸介导的 Fe(III),Mn(IV),有机污染物还原机制^[2]

Fig. 2 Model for mechanism by which humus respiration stimulate Fe(III), Mn(IV) and organic pollutant reduction^[2]

3.1 腐殖质呼吸影响碳、氮循环

HS 本身不易被微生物分解,矿化率很低,但它能促进其他有机质的矿化。在厌氧环境中,HS 可作为微生物呼吸的电子受体,氧化小分子有机质,产生 CO₂^[12,33]。表 3 列举了以 AQDS 为电子供体的降解反应。Bradley 等(1998)研究了微生物以 HA 作为电子供体,对 1,2-二氯乙烯(DCE)和氯乙烯(VC)的厌氧氧化作用,实验中用¹⁴C 标记方法,监测 DCE 和 VC 中 C 的去向,结果显示体系中不断有¹⁴CO₂产生,表明通过腐殖质呼吸作用,DCE 和 VC 能完全氧化生成 CO₂^[16]。

表 3 腐殖质呼吸过程中电子供体降解反应

Table 3 Reaction of electron donor degradation in the humus respiration process

电子供体(CH ₂ O) _n	降解反应 Degradation reaction	参考文献 Reference
乙酸 acetate	CH ₃ COOH + 4H ₂ O + 4AQDS → 4AHQDS + 2HCO ₃ ⁻ + H ₊	[8]
乳酸 lactate	C ₃ H ₆ O ₃ + 2H ₂ O + 2AQDS → CH ₃ COOH + 2AH ₂ QDS + HCO ₃ ⁻ + HV +	[9]
甲苯 toluene	C ₇ H ₈ + 21H ₂ O + 18AQDS → 18AH ₂ QDS + 7HCO ₃ ⁻ + 7H ₊	[38]

腐殖质呼吸过程中产生的还原态 HS 可以作为电子供体,参与反硝化作用和生物脱氮,从而影响到沉积物和土壤中的氮循环。金属还原地杆菌(*G. metallireducens*)以及两种硝酸盐还原细菌 *Geothrix fermentans* 和 *Wolinella succinogenes* 能以腐殖质呼吸产生的 AHQDS 为电子供体,还原硝酸盐,反应式为:NO₃⁻ + 2H⁺ + 4AHQDS → 4AQDS + 2H₂O + NH₄⁺。脱氮细菌 *Paracoccus denitrificans* 和 *Pseudomonas denitrificans* 也能将腐殖质呼吸作用产生的 AHQDS 氧化,还原硝酸盐,生成 N₂,反应式为:2NO₃⁻ + 2H⁺ + 5AHQDS → 5AQDS + 6H₂O + N₂^[13]。

4.2 腐殖质呼吸对 Fe(III)还原促进作用

腐殖质和 Fe(III)都是土壤和沉积物中大量存在的物质。厌氧环境中 Fe(III)呼吸的普遍性已经被广泛

证实^[1,10,28,29,39]。然而,Fe(III)作为电子受体,尽管丰度很高,但多以难溶性氧化铁形式存在,细菌生物氧化产生的电子传递到铁氧化物表面的过程往往受到抑制,电子传递速率成为铁还原反应的限速步骤。溶解性腐殖质能通过电子穿梭机制加速 Fe(III) 还原,在这一机制中,腐殖质还原菌氧化基质,将电子传递给 HS 中的醌基,醌基被还原成半醌或氢醌,氢醌再将电子传递给铁氧化物,将其还原,氢醌被化学氧化为醌基,从而进入下一轮循环。HS 作为还原菌和铁氧化物之间的电子穿梭体,具有类似催化剂的作用,在极低浓度下就能表现出显著作用^[13-15,29,32]。例如,在反应体系中加入微量 HA,能明显促进腐败希瓦氏菌(*S. Putrefaciens* CN32)对 Fe(III) 的还原速率,2h 内可将 Fe(III) 全部还原,而未加 HA 对照体系的 Fe(III) 几乎没有减少^[25]。

除了电子穿梭机制,腐殖质还可以通过络合机制来促进 Fe(III) 微生物还原。在络合机制中,腐殖质和 Fe(III) 或 Fe(II) 形成相应的络合物。其中,Fe(III)-HS 络合物有利于 Fe(III) 到达微生物表面,提高底物的生物有效性;而 Fe(II)-HS 络合物可以降低矿物表面的 Fe(II) 浓度,为 Fe(III) 提供更多的还原位点;此外,Fe(II)-HS 络合物也有利于降低游离 Fe(II) 的浓度,增加 Fe(III) 还原的热力学驱动力。HS 和铁形成的络合物在铁还原中的作用还需要进一步证实^[29]。

3.3 腐殖质呼吸促进 Cr(VI) 和 U(VI) 还原

研究表明,腐殖质呼吸能促进 Cr(VI) 和 U(VI) 的微生物还原^[18,15,40]。在腐败希瓦氏菌(*S. putrefaciens* CN32) 还原 Cr(VI) 的体系中加入少量 HS,能明显加强 Cr(VI) 的还原速率,28h 就有 50% 的 Cr(VI) 被还原,而对照只有 10% 的 Cr(VI) 被还原^[18]。

Gu 等研究了腐殖质对微生物还原铀的影响,结果表明 HS 不仅能将 U(VI) 的微生物还原速率提高近 10 倍,而且明显降低了 Ca 和 Ni 对铀还原的抑制作用。反应中,HS 可能作为电子穿梭体促进微生物和铀之间的电子转移速率;或者 HS 与铀形成配合物,增加铀的溶解性,从而提高铀的微生物可利用性^[15]。

3.4 腐殖质呼吸促进有机污染物脱毒

HS 可以作为厌氧环境中微生物呼吸的最终电子受体,氧化有机污染物。Bradley 首先发现 HS 能厌氧氧化环境优先污染物 VC、DCE,HA 明显促进了 VC、DCE 的矿化^[16]。随后又有研究表明,苯酚、p-甲酚、甲苯也可以作为腐殖质呼吸作用的电子供体被降解,最终转化为 CO₂^[27,38,41]。

HS 还可以通过在微生物和有机污染物之间的电子往返传送,促进偶氮染料、硝基芳香化合物和多卤代污染物的微生物还原转化^[19-23,42-45]。Zee 等研究表明,在用 UASB(升流式厌氧污泥床反应器)处理偶氮染料废水的过程中加入少量 AQDS,可以明显加速偶氮染料 RR2 的偶氮键的断裂,0.24mmol/L 的 AQDS 就可使脱色率增加 6 倍^[19]。AQDS 也能促进希瓦氏菌 *Shewanella cinica* D14^T 对偶氮染料苋菜红的还原脱色^[20]。AQDS 和 HA 作为电子穿梭体,还能促进厌氧菌 *Clostridium* sp. EDB2 降解三硝基苯甲硝胺(RDX)^[21]。此外,有文献报道 HA 能明显缩短微生物降解多环芳烃(PAHs)的延滞期,从而加快 *Mycobacterium* sp. JLS 对 PAHs 的降解速率^[22]。

总之,腐殖质呼吸作用具有重要的生态学意义,其不仅影响环境物质碳、氮的生物地球化学循环,而且呼吸过程中产生的还原态腐殖质还能偶联多种有机物和氧化态金属的还原,从而影响 Fe、Mn 以及其它一些痕量金属元素(如 Se、Cr、U)的生物地球化学循环,促进有机污染物的降解脱毒。

4 研究展望

腐殖质呼吸作用涉及生物进化和生物地球化学循环等基本问题,且与资源利用、环境修复等热点问题相关,深入开展腐殖质呼吸机理与应用研究具有一定意义。未来的研究应重点解决如下问题:(1) 目前,关于腐殖质呼吸作用的研究,以及腐殖质呼吸影响环境中碳、氮等元素的循环,促进环境有毒物质降解的研究还局限在生理水平上,如何从分子水平上揭示腐殖质呼吸的本质,找到腐殖质还原酶系及腐殖质呼吸链的电子传递途径,构建完整的腐殖质呼吸电子传递链模型是未来研究的重点之一。(2) 腐殖质还原菌通常对环境有毒污染物具有很好的降解效果,但迄今发现的腐殖质还原菌只是一小部分,还需要继续从环境中分离高效的腐殖质还原菌,为环境重要污染物的生物降解和生物修复提供更多微生物资源。(3) 目前,对于腐殖质呼吸促进

污染物脱毒的研究刚起步。拓宽腐殖质呼吸的应用范围,特别是腐殖质呼吸偶联有机污染物和重金属脱毒方面的研究,应该成为今后研究的重点。(4) 腐殖质呼吸能够影响地球元素(如碳、氮、铁、锰)的循环,如何从生态系统宏观尺度出发,开展腐殖质呼吸在元素生物地球化学循环中的作用研究,是需要多学科参与的研究热点及难点。

References:

- [1] Straub K L, Kappler A, Schink B. Enrichment and isolation of ferric-iron-and humic-acid-reducing bacteria. *Methods in Enzymology*, 2005, 397: 58 — 77.
- [2] Hofrichter M, Steinbüchel A. Guo S R Trans. *Biopolymers*. Beijing: Chemical Industry Press, 2004. 273 — 315
- [3] Zhou J M, Dai J Y, Pan G X. Characterization of dissolved organic matters in soil and its significance for environment. *Journal of Agro-Environment Science*, 2003, 22(6): 731 — 735.
- [4] Adani F, Spagnol M, Genecini P. Biochemical origin and refractory properties of humic acid extracted from the maize plant. *Biogeochemistry*, 2006, 78(1): 85 — 96.
- [5] Perminova I V, Hatfield K, Hertkom N. Use of humic substances to remediate polluted environments: from theory to practice. Netherlands: Springer, 2005. 3 — 37.
- [6] Serudo R L, Oliveira L C, Rocha J C, *et al.* Reduction capability of soil humic substances from the rio negro basin, brazil, towards Hg(II) studied by a multimethod approach and principal component analysis (PCA). *Geoderma*, 2007, 138(3-4): 229 — 236.
- [7] Qualls R G. Biodegradability of humic substances and other fractions of decomposing leaf litter. *Soil Science Society of America Journal*, 2004, 68(5): 1705 — 1712.
- [8] Lovley D R, Fraga J L, Blunt-harris E L, *et al.* Humic substances as a mediator for microbially catalyzed metal reduction. *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 1998, 26(3): 152 — 157.
- [9] Lovley D R, Coates J D, Blunt-harris E L, *et al.* Humic substances as electron acceptors for microbial respiration. *Nature*, 1996, 382(6590): 445 — 448.
- [10] Bond D R, Lovley D R. Reduction of Fe(III) oxide by methanogens in the presence and absence of extracellular quinines. *Environmental Microbiology*, 2002, 4(2): 115 — 124.
- [11] Lu X Q, Johnson W D, Hook J. Reaction of vanadate with aquatic humic substances: an ESR and 51V NMR study. *Environmental Science & Technology*, 1998, 32(15): 2257 — 2263.
- [12] Cervantes F J, van der Velde S, Lettinga G, *et al.* Competition between methanogenesis and quinone respiration for ecologically important substrates in anaerobic consortia. *FEMS Microbiology Ecology*, 2000, 34(2): 161 — 167.
- [13] Lovley D R, Fraga H L, Coates J D, *et al.* Humics as an electron donor for anaerobic respiration. *Environmental Microbiology*, 1999, 1(1): 89 — 98.
- [14] 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. *Environmental Science & Technology*, 1998, 32(19): 2984 — 2989.
- [15] Gu B H, Yan H, Zhou P, Watson D. Natural humics impact uranium bioreduction and oxidation. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(14): 5268 — 5275.
- [16] Bradley P M, Chapelle F H, Lovley D R. Humic acids as electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of vinyl chloride and dichloroethene. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(8): 3102 — 3105.
- [17] Luijten M L, Weelink S A, Godschalk B, *et al.* Anaerobic reduction and oxidation of quinone moieties and the reduction of oxidized metals by halorespiring and related organisms. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 49(1): 145 — 150.
- [18] Gu B H, Chen J. Enhanced microbial reduction of Cr(VI) and U(VI) by different natural organic matter fractions. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2003, 63(19): 3575 — 3582.
- [19] Zee F P, Renske H M. Application of redox mediators to accelerate the transformation of reactive azo dyes in anaerobic bioreactors. *Dutch Governmental Economy Ecology Technology*, 2001, 75(6): 691 — 701.
- [20] Xu Z C, Hong Y G, Luo W. The effects of the humic substances on azoreduction by *Shewanella* spp. *Acta Microbiologica Sinica*, 2006, 46(4): 591 — 597.
- [21] Bhushan B, Halasz A, Hawari J. Effect of iron(III), humic acids and anthraquinone-2,6-disulfonate on biodegradation of cyclic nitramines by *Clostridium* sp. EDB2. *Journal of Applied Microbiology*, 2006, 100(3): 555 — 563.
- [22] Holman H Y, Nieman K, Sorensencharlesd D L, *et al.* Catalysis of PAH biodegradation by humic acid shown in synchrotron infrared studies. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(6): 1276 — 1280.
- [23] Dunnivant F M, Schwarrenbach R P. Reduction of substituted nitrobenzenes in aqueous solutions containing natural organic matter. *Environmental Science & Technology*, 1992, 26(11): 2133 — 2411.
- [24] Luu Y, Ramsay B A, Ramsay J A. Nitrilotriacetate stimulation of anaerobic Fe(III) respiration by mobilization of humic materials in soil. *Applied*

- and Environmental Microbiology, 2003, 69(9): 5255—5262.
- [25] Chen J, Gu B H, Royer R A. The roles of natural organic matter in chemical and microbial reduction of ferric iron. The Science of the Total Environment, 2003, 307(1): 167—178.
- [26] Cervantes F J, Gutierrez C H, Lopez K Y, *et al.* Contribution of quinone-reducing microorganisms to the anaerobic biodegradation of organic compounds under different redox conditions. Biodegradation, 2008, 19(2): 235—246.
- [27] Lovley D R, Kashefi K, Vargas M, *et al.* Reduction of humic substances and Fe(III) by hyperthermophilic microorganisms. Chemical Geology, 2000, 169(3-4): 289—298.
- [28] Straub K L, Schink B. Evaluation of electron-shuttling compounds in microbial ferric iron reduction. FEMS Microbiology Letters, 2003, 220: 229—233.
- [29] Kappler A, Benz M, Schink B, *et al.* Electron shuttling via humic acids in microbial iron(III) reduction in a freshwater sediment. FEMS Microbiology Ecology, 2004, 47(1): 85—92.
- [30] Cervantes F J, Duong-Dac T, Ivanova A E, *et al.* Selective enrichment of *Geobacter sulfurreducens* from anaerobic granular sludge with quinones as terminal electron acceptors. Biotechnology Letters, 2003, 25(1): 39—45.
- [31] Cervantes F J, Duong-Dac T, Roest K, *et al.* Enrichment and immobilization of quinone-respiring bacteria in anaerobic granular sludge. Water Sciences and Technology, 2003, 48(6): 9—16.
- [32] Coates J D, Ellis D J, Blunt-harris E L. Recovery of humic-reducing bacteria from a diversity of environments. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(4): 1504—1509.
- [33] Cervantes F J, Frank A M, Tuan D D, *et al.* Reduction of humic substances by halo-respiring, sulphate-reducing and methanogenic microorganisms. Environmental Microbiology, 2002, 4(1): 51—57.
- [34] Xu M Y, Guo J, Zhong X Y, *et al.* A broad spectrum decoloration *Shewanella* new species — *Shewanella cinica*. Acta Microbiologica Sinica, 2004, 44(5): 562—566.
- [35] Lee I G, Kim S J, Ahn T. Inhibitory effect of nitrate on Fe(III) and humic acid reduction in *Shewanella putrefaciens* DK-1. The Journal of Microbiology, 2000, 38(3): 180—182.
- [36] Benz M, Schink B, Brune A. Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting Bacteria. Applied and Environmental Microbiology, 1998, 64(11): 4507—4512.
- [37] Lovley D R, Blunt-harris E L. Role of humic-bound iron as an electron transfer agent in dissimilatory Fe(III) reduction. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(9): 4252—4254.
- [38] Cervantes F J, Dijkstra W. Anaerobic mineralization of toluene by enriched sediments with quinones and humus as terminal electron acceptors. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(10): 4471—4478.
- [39] Royer R A, Burgos W D, Fisher A S, *et al.* Enhancement of hematite bioreduction by natural organic matter. Environmental Science & Technology, 2002, 36(13): 2897—2904.
- [40] Wittbrodt P, Palmer C D. Effect of temperature, ionic strength, background electrolytes, and Fe(III) on the reduction of hexavalent chromium by soil humic substances. Environmental Science & Technology, 1996, 30(8): 2470—2477.
- [41] Cervantes F J, van der Velde S, Lettinga G, *et al.* Quinones as terminal electron acceptors for anaerobic microbial oxidation of phenolic compounds. Biodegradation, 2000, 11(5): 313—321.
- [42] Stacka G A, Rosso K M, Smith D M, *et al.* Reaction of hydroquinone with hematite: II. calculated electron-transfer rates and comparison to the reductive dissolution rate. Journal of Colloid and Interface Science, 2004, 274(2): 442—450.
- [43] Cervantes F J, Vu-Thi-Thu L, Lettinga G, *et al.* Quinone-respiration improves dechlorination of carbon tetrachloride by anaerobic sludge. Applied Microbiology and Biotechnology, 2004, 64(5): 702—711.
- [44] Kim H S, Pfaender F K. Effects of microbially mediated redox conditions on PAH-soil interactions. Environmental Science & Technology, 2005, 39(23): 9189—9196.
- [45] Hong Y G, Jun Guo, *et al.* Humic substances act as electron acceptor and redox mediator for microbial dissimilatory azoreduction by *Shewanella decolorationis* S12. Journal of Microbiology and Biotechnology, 2007, 17(3): 428—437.

参考文献:

- [2] 霍夫里特, 斯泰因比歇尔主编. 郭圣荣主译. 生物高分子. 北京: 化学工业出版社, 2004. 273~315.
- [3] 周江敏, 代静玉, 潘根兴. 土壤中水溶性有机质的结构特征及环境意义. 农业环境科学学报, 2003, 22(6): 731~735.
- [20] 许志诚, 洪义国, 罗微. 厌氧条件下希瓦氏菌腐殖质还原对偶氮还原的影响. 微生物学报, 2006, 46(4): 591~597.
- [36] 许玫英, 郭俊, 钟小燕, 等. 一个降解染料的希瓦氏菌新种——中国希瓦氏菌. 微生物学报, 2004, 44(5): 562~566.