ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

自念弟近 Acta Ecologica Sinica



第32卷 第18期 Vol.32 No.18 2012

中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 *科 译 出 版 社* 出版



生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

中国科学院科学出版基金资助出版

第 32 卷 第 18 期 2012 年 9 月 (半月刊)

次

E

亚热带典型树种对模拟酸雨胁迫的高光谱响应……………………………………… 时启龙,江 洪,陈 健,等(5621) 珠江三角洲地面风场的特征及其城市群风道的构建...... 孙 武,王义明,王越雷,等 (5630) 粤北山地常绿阔叶林自然干扰后冠层结构与林下光照动态………………………………………… 区余端,苏志尧(5637) 四种猎物对南方小花蝽生长发育和繁殖的影响 …………………… 张昌容, 郅军锐, 莫利锋 (5646) 普洱季风常绿阔叶林次生演替中木本植物幼苗更新特征……………… 李帅锋,刘万德,苏建荣,等 (5653) 喀斯特常绿落叶阔叶混交林物种多度与丰富度空间分布的尺度效应…… 张忠华,胡 刚,祝介东,等(5663) 种植香根草对铜尾矿废弃地基质化学和生物学性质的影响…………… 徐德聪,詹 婧,陈 政,等(5683) 灌溉对三种荒漠植物蒸腾耗水特性的影响………………………………………………………………单立山,李 毅,张希明,等(5692) 庞泉沟自然保护区寒温性针叶林演替优势种格局动态分析 ………… 张钦弟, 毕润成, 张金屯, 等 (5713) 不同水肥条件下 AM 真菌对丹参幼苗生长和营养成分的影响 ……… 贺学礼,马 丽,孟静静,等 (5721) 垄沟覆膜栽培冬小麦田的土壤呼吸………………………………………………………上官宇先,师日鹏,韩 坤,等(5729) 基于大气沉降与径流的乌鲁木齐河源区氮素收支模拟 ……………… 王圣杰,张明军,王飞腾,等 (5747) 基于能值理论的循环复合农业生态系统发展评价——以福建省福清星源循环农业产业示范基地为例……… 低温暴露和恢复对棘胸蛙雌性亚成体生存力及能量物质消耗的影响…… 凌 云,邵 晨,颉志刚,等(5763) 暗期干扰对棉铃虫两个不同地理种群滞育抑制作用的比较 …………… 陈元生,涂小云,陈 超,等 (5770) 水土流失治理措施对小流域土壤有机碳和全氮的影响………………… 张彦军,郭胜利,南雅芳,等(5777) 象山港人工鱼礁区的网采浮游植物群落组成及其与环境因子的关系…… 江志兵,陈全震,寿 鹿,等(5813) 填海造地导致海湾生态系统服务损失的能值评估----以套子湾为例...... 李睿倩,孟范平(5825) 城市滨水景观的视觉环境质量评价----以合肥市为例 姚玉敏,朱晓东,徐迎碧,等 (5836) 专论与综述 生态基因组学研究进展 施永彬,李钧敏,金则新 (5846) 植物叶片最大羧化速率及其对环境因子响应的研究进展 …………………… 张彦敏,周广胜(5907) 研究简报 不同培肥茶园土壤微生物量碳氮及相关参数的变化与敏感性分析 …… 王利民,邱珊莲,林新坚,等(5930) 施肥对两种苋菜吸收积累镉的影响 …………………………………………………李凝玉,李志安,庄 萍,等(5937) 期刊基本参数:CN 11-2031/0*1981*m*16*322*zh*P* ¥70.00*1510*36*2012-09

封面图说:冬天低空飞翔的丹顶鹤——丹顶鹤是鹤类中的一种,因头顶有"红肉冠"而得名。是东亚地区特有的鸟种,因体态优 雅、颜色分明,在这一地区的文化中具有吉祥、忠贞、长寿的象征,是传说中的仙鹤,国家一级保护动物。丹顶鹤具备 鹤类的特征,即三长——嘴长、颈长、腿长。成鸟除颈部和飞羽后端为黑色外,全身洁白,头顶皮肤裸露,呈鲜红色。 丹顶鹤每年要在繁殖地和越冬地之间进行迁徙,只有在日本北海道等地是留鸟,不进行迁徙,这可能与冬季当地人 有组织地投喂食物,食物来源充足有关。

彩图提供:陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites. chenjw@163. com

DOI: 10.5846/stxb201108071155

林超峰,龚骏. 嗜中性微好氧铁氧化菌研究进展. 生态学报,2012,32(18):5889-5899. Lin C F, Gong J. Recent progress in research on neutrophilic, microaerophilic iron(Ⅱ)-oxidizing bacteria. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(18): 5889-5899.

嗜中性微好氧铁氧化菌研究进展

林超峰*,龚 骏

(中国科学院烟台海岸带研究所环境微生物实验室;中国科学院、山东省海岸带过程重点实验室,烟台 264003)

摘要:在弱酸至近中性微氧条件下,嗜中性微好氧铁氧化菌能够通过依赖氧气的呼吸机制将二价亚铁氧化成三价铁,并获得生 长所需能量。这一生物铁氧化过程的主要产物之一是无定形羟基氧化铁——一种异化铁还原作用(铁呼吸)的理想底物,故 可加速铁元素在氧化还原分界层的地质循环。有关嗜中性微好氧铁氧化菌的记载可追溯到19世纪30年代,但对其生理、生态 与系统发育学的研究自20世纪90年代中期才取得显著进展,主要得益于专性铁氧化菌新种、属的成功培养与分离。已知微好 氧铁氧化菌广泛分布于弱酸及近中性富铁地下水、湿地和深海等环境,其参与调控的铁氧化过程对铁及其他元素(如碳、氮、 磷、锰和砷等)的生物地球化学循环具有重要意义。这类古老微生物在金属成矿、地壳演变、全球气候变化及其它生源要素地 球化学过程中的作用研究已逐渐受到关注,正成为地质与环境微生物学领域的研究热点。主要总结国外近15a对嗜中性微好 氧铁氧化菌的研究进展,包括其代谢机理、种类和分布、生态学研究方法和技术、以及细菌铁氧化作用的实际应用和环境意义 等,并对今后研究方向提出展望。

关键词:铁氧化作用; 化能自养; 碳循环; 生物成矿; 嘉利翁氏铁杆菌属; 纤发菌属; 深海铁杆菌属

Recent progress in research on neutrophilic, microaerophilic iron(II)-oxidizing bacteria

LIN Chaofeng*, GONG Jun

Laboratory of Environmental Microbiology, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences; Key Laboratory of Coastal Zone Environmental Processes, Chinese Academy of Sciences & Shandong Province, Yantai 264003, China

Abstract: Neutrophilic, microaerophilic iron (II)-oxidizing bacteria (FeOB) can oxidize iron (II) for energy via O_2 -dependent mechanisms under suboxic, slightly-acidic to circumneutral conditions. This biological oxidation process commonly produces copious amorphous iron (III) oxyhydroxides, a preferential substrate for dissimilatory iron (III) reduction (iron respiration). Such oxyhydroxides have the potential to accelerate iron geochemical cycling at redox interfaces in terrestrial and aquatic systems. Despite reports on neutrophilic, microaerophilic FeOB since the 1830s, associated research progress has been slow, largely due to difficulty in laboratory cultivation and isolation of these organisms. Until the mid-1990s, modified FeS gradient methods were used for isolation of novel obligate FeOB from diverse habitats and substantial progress was achieved in understanding bacterial iron (II) oxidation. Representative neutrophilic, microaerophilic FeOB include stalked *Gallionella* and *Mariprofundus*, sheathed *Leptothrix* and *Sphaerotilus*, and several non-stalk-forming, unicellular species such as *Sideroxidans*, *Ferritrophicum* and *Ferrocurvibacter*. Related species have frequently been found in redox transition zones of circumneutral-pH, iron-rich environments such as groundwater seeps, wetland rhizosphere soils and deep-sea hydrothermal vents. Bacterial iron (II) oxidation is of global significance to biogeochemical iron cycling and other elements such as C, N, P, S and Mn. Bacterially-mediated iron cycling also

收稿日期:2011-08-07; 修订日期:2011-11-10

基金项目:中国科学院创新工程重要方向性项目课题(KSCX2-EW-G-12B)

^{*} 通讯作者 Corresponding author. E-mail: chflin@ yic. ac. cn

influences the fate and transport of organic compounds and several trace metals. There is growing interest in understanding the role of neutrophilic, microaerophilic FeOB in biomineralization, geologic evolution, global climate change, and other fundamental geochemical processes. Here we review recent findings regarding bacterial iron(II) oxidation under suboxic, circumneutral-pH conditions, and summarize associated methodologies for studying the ecology of neutrophilic, microaerophilic FeOB. Recommendations are provided regarding future study of these organisms and associated biogeochemical processes.

Key Words: Iron (II) oxidation; chemolithotroph; carbon cycle; biomineralization; *Leptothrix*; *Gallionella*; *Mariprofundus*

铁(Fe)是一种分布广泛的过渡金属元素,约占地壳质量的 5.1%,在元素分布序列中居第四位,仅次于 氧、硅和铝^[1]。铁的氧化还原活性较高,通常以二价态(Fe(Ⅱ))存在于潮湿缺氧的环境中;一旦暴露于空气 且 pH 值接近中性,Fe(Ⅱ)极易自然氧化为三价态(Fe(Ⅲ)),并以氢氧化物(Fe(OH)₃)、羟基氧化物(FeO (OH))或氧化物(如 Fe₂O₃或 Fe₂O₃ · nH₂O)等形式(通称铁氧化物)发生沉淀。这些铁氧化物微粒活性 表面积较大,能有效吸附土壤、沉积物或水体中的有机物和磷(P)、锰(Mn)、铬(Cr)、铅(Pb)及砷(As)等 重金属元素^[2]。因此,铁氧化过程对近中性环境的地质化学具有重要意义。

作为原核生物和大部分真核生物必需的微量营养元素,铁也是细菌的重要潜在能源。当 pH > 4 且 [O₂] < 1 mg/L 时,嗜中性铁氧化细菌(Neutrophilic Fe(II)-oxidizing bacteria, FeOB)与非生物铁氧化过程竞争,通 过微好氧或厌氧呼吸进行铁氧化作用,从而获得生长所需能量^[3]。这一生物过程不仅合成有机物,而且产生 大量无定形羟基氧化铁,为异化铁还原作用(铁呼吸)提供理想底物,故可能促进铁元素氧化还原循环^[4-5]。 已知嗜中性 FeOB 包括微好氧型及厌氧型,后者又分为不产氧光合型与硝酸盐(或氯酸盐)还原型^[6-7]。这 些 FeOB 广泛分布于弱酸及近中性富铁地下水、湿地和深海等环境,其参与调控的铁氧化过程对铁及其他生 源要素的生物地球化学循环具有重要意义,在金属成矿、地壳演变、全球气候变化及生命起源和进化等地球化 学和生物学过程中亦发挥重要作用^[6-10]。目前,对嗜中性 FeOB 的研究正成为地质与环境微生物学研究热 点。有关嗜中性厌氧铁氧化作用的研究进展参见其他综述性文献^[8]。本文概述弱酸及近中性 pH 值下微好 氧铁氧化作用的微生物学特征,总结国外近 15 年有关研究进展和方法技术,为国内同行研究铁氧化细菌及 其生态功能提供基础资料。

1 细菌铁氧化作用机理

在弱酸及近中性微氧条件下, Fe(II)相对稳定, FeOB 是促进其氧化的主要动力。通过生物铁氧化反应, 嗜中性微好氧 FeOB 产生还原型辅酶 (NADPH)和三磷酸腺苷 (ATP), 为合成细胞物质提供还原力和能量 $(\Delta Go'=-109 \text{ kJ/mol})^{[5]}$ 。这些微生物在淡水环境中对铁氧化作用净反应速率的平均贡献达 44.6%, 在逆向 铁氧梯度培养基中催化超过 90%的铁氧化反应^[11-13]。这主要是因为, 微好氧 FeOB 可将二价亚铁半衰期从 (30.4±12.2) min (SE, n = 13)降至 (8.72±1.5) min (SE, n = 23), 从而加快铁氧化速率; 其氧化铁产物亦 通过自催化提高非生物铁氧化速率, 加剧 Fe(II) 底物竞争^[13-15]。

目前已知的化能自养 FeOB 大多专性需铁,且在实验室条件下大量培养嗜中性微好氧 FeOB 存在一定困 难,导致其遗传学研究进展较缓,FeOB 在近中性 pH 值 下传递电子、获取能量的机制尚不完全清楚。相比之 下,关于嗜酸性好氧及嗜中性厌氧 FeOB 能量代谢机制的信息较多^[16-19]。现较为普遍接受的观点是:a) FeOB 从 Fe(II) 接受电子以获得生长能量;b) 电子传递体负责传递电子到细胞质膜;c) 生物铁氧化作用发 生在细胞周质或外膜;d) 细胞色素是首要的铁氧化酶(图 1A)。氧化铁是铁氧化作用的主要产物,其大量沉 淀可能阻碍细胞代谢。微好氧 FeOB 通常产生螺旋柄状(*Gallionella*型)或长杆鞘状(*Leptothrix*型)胞外多 聚物(Extracellular Polymer Substances, EPS),用以吸附菌体产生的氧化铁产物,避免菌体被包埋(图 1)^[20-22];胞外多聚物也可使细胞周围微环境 pH 降低,促使可溶性或胶质氧化铁产物运输到细胞远端后发生

沉淀[5,11]。



图 1 嗜中性微好氧铁氧化菌的生物铁氧化作用及矿化机制模式图^[20-22]



(A) 具有螺旋柄状物的铁氧化细菌(Galliionella型),其氧化铁产物主要沉积于柄状物表面;和(B) 具有长杆鞘状体的铁氧化细菌(Leptothrix型),其氧化铁产物主要沉积于鞘状体表面(注意分布在柄/鞘结构上的锈红色氧化铁沉淀,圆圈表示无定形铁氧化物,梭形表示 纤铁矿类铁氧化物)

2 代表性微生物

具有铁氧化能力的原核微生物系统地位分布较广,在细菌(Bacteria)和古菌(Archaea)中均有发现^[23]。 已知嗜中性微好氧 FeOB 均为变形杆菌门(Proteobacteria)(表1)。其中,代表性淡水 FeOB 均属于β-变形杆 菌纲(Betaproteobacteria),海洋 FeOB 则属于另一个待定新纲,ζ-变形杆菌纲(Zetaproteobacteria)。

栖息地 Habitat	分类 Phylogenetic groups	代表性菌属 Representative genera	代表性菌种 (菌株) Representative species (Strain)	产柄/鞘 Stalk/sheath formation	最初来源 Original source	参考文献 Reference
淡水域	Beta-propeobacteria	Gallionella	G. ferruginea	是	地下水微生物铁席	[24]
			G. capsiferriformans (ES-2)	否	美国密歇根州排水道地下水	[9]
		Leptothrix	L. ochracea	是	暂无纯培养物	[22]
		Sideroxydans	S. lithotrophicus (ES-1)	否	美国密歇根州排水道地下水	[9]
			S. paludicola (BrT)	否	美国马里兰州人工湿地草本植物根际	[10]
			CL21	否	德国巴伐利亚州酸性泥炭地	[25]
		Ferritrophicum	F. radicicola (CCJ)	否	美国弗吉尼亚州河畔草本植物根际	[10]
		Ferrocurvibacter	F. nieuwersluisensis	否	荷兰内陆湿地淹土	[26]
		Rhodocyclus	TW-2	否	美国阿拉巴马州湿地微生物铁	[27]
		Dechlorospirillum	M1	否	美国印地安那州地下水铁泉	[28]
海水域	Alfa-proteobacteria	无	FO1, 2, 3	否	海底洋壳	[29]
	Gamma-proteobacteria	无	FO4, 5, 6, 8, 9, 15	否	海底洋壳	[29]
	Zeta-proteobacteria	Mariprofundus	M. ferrooxydans	是	美国夏威夷罗希海底山微生物铁席	[30]

	表1	代表性嗜中性微好	氧铁氧化菌	
Table 1	Renrese	ntative neutronhilic	microseronhilic	FOR

2.1 淡水铁氧化细菌

1950 年代,Kucera 和 Wolfe 首次从淡水环境中分离到产螺旋形柄状物的嘉利翁氏铁柄杆菌(Gallionella ferruginea),证实其偏好生长于具有一定铁氧浓度的氧化还原边界层^[24]。有关研究表明,G. ferruginea 微好 氧,能以 Fe(II)为能源进行化能自养,或利用有机碳源进行混合营养;其细胞呈豆形,松散地着生于螺旋形 柄状物末端,柄的生长速度可达 90 μ m/h;当[O₂]过低或 pH < 6 时,该菌不产生柄状物^[31-33]。电镜照片显 示,G. ferruginea 柄状物为包埋于羟基氧化铁的细纤维束。该柄状物可能富含酸性多聚糖,具有定位(将细胞

维持在生长所需的铁氧浓度梯度)与协调(为羟基氧化铁沉淀提供吸附部位,阻止细胞被包埋于不溶性金属 铁氧化物外壳)功能^[34-35]。

具有长杆形胞外鞘状结构的纤发菌属(Leptothrix)和球衣菌属(Sphaerotilus)代表另一类典型的微好氧 FeOB,可同时进行铁锰氧化及沉淀作用^[22]。现已知4种纤发菌,其中3种(L. discophora,L. cholodnii和L. mobilis)与Sphaerotilus的代表菌种浮游球衣菌(S. natans)均为专性异养。相比之下,赭色纤发菌(L. ochracea)最早被描述,且常见于富铁淡水环境,但至今未在实验室条件下获得纯培养。大量环境数据显示, L. ochracea可能为化能自养型生物^[36-39],但其生理学特征及系统发育地位仍有待于进一步研究。胞外鞘状体是 Leptothrix和 Sphaerotilus的共同标志性特征,其被认为是铁锰氧化物沉淀的场所,可防止细胞被不溶性 羟基氧化铁包埋^[40]。有研究表明,L. cholodnii的胞外鞘状体是一个弹性纤维骨架,其中富含大量二硫键,将 鞘纤维紧密连结在一起^[41];鞘中可能含有酸性多糖物质,但详细组份有待进一步测定^[34]。

自 1990 年代中期以来,数个新型 FeOB 陆续被被分离自富铁地下水、湿地草本植物根际以及淹土等环境,包括 G. capsiferriformans,来自同一个新属的 Sideroxydans lithotrophicus 和 S. paludicola,以及分别代表一个新目和新属的 Ferritrophicum radicicola 和 Ferrocurvibacter nieuwersluisensis (表 1)。与 G. ferruginea 相似,这几种专性 FeOB 微好氧,但在形态学上均属于单细胞杆菌,即在生长过程中不形成柄鞘状特殊胞外结构^[9-10, 26]。其中, Sideroxydans (包括 S. lithotrophicus 和 S. paludicola)与 Gallionella (包括 G. ferruginea 和 G. capsiferriformans)共同组成 Betaproteobacteria 中利用铁源进行生长的嘉利翁氏铁杆菌目 (Gallionellales); Ft. radicicola 和 Fc. nieuwersluisensis 较为少见,不与其他已知 FeOB 聚为一类。目前尚无证据直接证明有关单细胞 FeOB 如何调控细胞周围铁氧化物的沉淀,或自身被包埋时是否保持代谢活性。

来自湿地沉积物的菌株 TW-2 代表 Betaproteobacteria 中另一个新型单细胞 FeOB。该菌与红环菌属 (Rhodocyclus) 亲缘关系较近,在新陈代谢方面较 Gallionellales 更为多样化。例如,TW-2 利用 Fe(II)和 CO₂ 进行化能自养生长时倍增时间约为 25 h,乙酸盐可促进其自养生长速率及生物量产量;该菌亦利用乙酸盐做 能源进行异养生长,但长势较慢,倍增时间约为 70 h^[27]。这些生理学特征与 G. ferruginea 利用葡萄糖类有机 碳源进行混合营养型生长较为相似,说明其对生态环境具有特殊适应机制。此外,TW-2 在生长过程中不产 生特殊胞外结构,但可能分泌铁螯合物,使氧化铁产物从细胞近端迅速移除,避免细胞被包埋^[11]。最近, Ludecke 等从酸性泥炭地分离获得 1 株与 Sideroxydans lithotrophicus 亲缘关系较近的微好氧 FeOB (CL21)^[25]。该菌在 pH 值 4—6 条件下进行铁氧化作用,其产生的纳米级针铁矿微粒明显不同于非生物氧化 产生的铁氧化物微粒。另一株来自地下水铁泉沉积物的微好氧 FeOB (M1)属于 Dechlorospirillum,尽管后者 的已知成员多为高氯酸盐降解菌或硝酸盐还原菌^[28]。上述新型 FeOB 的发现有助于进一步理解有关微生物 的生理学及物种多样性。

2.2 海洋铁氧化细菌

代表性海洋 FeOB 氧化亚铁深海铁杆菌 (*Mariprofundus ferrooxydans*)最早被分离自夏威夷附近深约1300 m 处的罗希海底山 (Loihi Seamount)^[30]。与淡水 FeOB *G. ferruginea* 相似,*M. ferrooxydans* 嗜温,微好氧,通过 卡尔文循环进行自养生长;其螺旋形柄状物主要成分为富羧基多聚糖,平均生长速度为 2.2 µm/h^[21]。此外, 几株嗜寒性 FeOB 被分离自胡安·德·富卡洋中脊 (Juan de Fuca Ridge) 的地壳扩张中心^[29]。这些新型单 细胞 FeOB 在 3—10 ℃ 下利用 O₂或 NO₃*为电子受体,依靠铁源进行化能无机自养型生长;其分别属于 *Alpha*-和 *Gamma-proteobacteria*,与异养型水油海杆菌 (*Marinobacter aquaeolei*)亲缘关系较近^[29]。最近,Sudek 等^[42] 从太平洋 Vailulu'u 海底山分离到许多异养微好氧 FeOB,大部分菌株与假交替单胞菌属 (*Pseudoalteromonas*) 有亲缘关系。以上结果说明异养和自养微生物共同参与促进海洋铁氧化作用。

3 微生物生态学研究方法和技术

3.1 富集培养

微好氧 FeOB 的实验室富集培养通常采用 Kucera 和 Wolfe^[24]提出的硫化铁梯度管法,其原理是将新鲜

5893

制备的硫化铁悬液添加到盛有液态矿质培养基的玻璃试管中,形成反向铁氧浓度梯度。当梯度管中 pH 值, Eh,[O₂]和[Fe²⁺]等均达合适范围时,产螺旋形柄状物的 *Gallionella*型 FeOB 松散地着生于管壁上,其菌落 最初为白色絮状,呈辐射状生长 (<1 mm),后逐渐变成锈红色,最终可能从管壁脱落^[24];不产特殊胞外结构 的单细胞 FeOB 菌落较小,通常散布于管壁上,或集中在特定深度形成环状铁氧化带(图 2A)^[43]。

为避免产生碱土磷酸盐沉淀,Hanert^[44]将矿质培养 基中 [K₂HPO₄] 降至原来的 1/10 (0.05 g/L),并优化 硫化铁悬液制备方法。改良后的矿质培养基 (modified Wolfe's mineral medium, MWMM) 被广泛用于富集培养 产 *Gallionella* 型螺旋柄状物的 FeOB。随后,Verran 等^[45]报道了双相斜面梯度管技术,用于检测和培养富 铁环境样品中的 *Gallionella* 型 FeOB。该梯度管底部为 硫化铁琼脂斜面,上覆液态 MWMM,双相在制备过程中 均通入 CO₂ 作碳源,*Gallionella* 在斜面或管壁侧面呈带 形生长 (图 2B)。该斜面梯度管技术未被广泛采用,可 能与其生物量产量过低有关^[43]。

由于液态铁氧梯度管可能不支持某些单细胞 FeOB,Emerson和 Moyer^[5]向 MWMM 中添加 0.15% 的 琼脂,获得半固态梯度管(图 2C)。这一改进能有效阻 止细胞被铁氧化物包埋后从氧化还原界面沉降出来,且 不会对铁源和 O₂运输产生显著影响。因此,半固态铁 氧梯度管被成为富集培养新型单细胞 FeOB 的理想工 具之一^[9-10,27]。在半固态梯度管中,FeOB 优先生长于 管内氧化还原分界面,活跃的生物铁氧化作用将在其周 围形成紧实的红褐色铁氧化带(图 2C)。琼脂糖凝胶 形成的网状结构似乎阻碍细胞分泌合成特殊胞外结构, 因此,半固态铁养梯度管可能不适于培养产 Gallionella 型螺旋柄状物的 FeOB。



图 2 硫化铁梯度培养基模式图以及微好氧自养铁氧化菌生长 反应

Fig. 2 Schematic diagrams of FeS gradient media showing different growth reactions of microaerophilic, lithotrophic, Fe (II)-oxidizing bacteria

(A) 液态梯度管;(B) 双相斜面管;(C) 半固态梯度管;以及(D) 双相梯度皿;(a) 液态改良矿质培养基;(b) Gallionella 型产柄铁氧化菌絮状菌落;(c) 细菌铁氧化带;(d) 不产柄单细胞铁氧化菌菌落(e) FeS 悬液;(f) 半固态改良矿质培养基;(g) 接种痕迹;以及(h) 1% 琼脂-FeS

微好氧 FeOB 生长较慢,且生物量较低是研究该类微生物所面临的难题之一^[35]。为了提高细胞生物量, Emerson 和 Weiss^[38]利用培养皿制备双相梯度培养基,即将含有 1% 琼脂的硫化铁热液加入培养皿底部,在 厌氧环境中凝固约 30 min 后加入接种过的液态 MWMM,再放入 BD 或 OXOID 系列厌氧罐进行培养。罐中 放入微好氧产气袋将为 FeOB 创造最佳生长条件(约10% O₂/CO₂),生物铁氧化作用则在梯度皿表层形成絮 状铁氧化膜(图 2D)。据估算,这一方法可将 FeOB 的细胞产量提高 10—100 倍。此外,一些大型生物反应 器(升)被用于富集培养 FeOB,但似乎并未显著提高细胞浓度^[14]。

3.2 分离、纯化及保藏

使用液态梯度管分离纯化 *Gallionella* 型 FeOB 的方法有两种:一是单菌落稀释转接法,即利用其对管壁 的吸附与污染物进行区分,通过制备 10 倍梯度稀释系列 (10⁻⁴—10⁻⁶),将单菌落连续转接 5—10 次达到纯化 目的;二是福尔马林抵抗法,即利用某些 *Gallionella* 菌株对 0.5% 福尔马林具有抵抗性将其与污染物进行区 分,然后将培养物连续转接 2—3 次达到纯化目的^[33]。同样,使用半固态梯度管分离纯化单细胞 FeOB 亦可 采用单菌落稀释转接法。所得培养物的纯度须经荧光染色显微观察和寡营养平板培养基进行检验,以及分子 遗传学分析鉴定。纯菌的转接周期以 3—4 周为宜,低温冷藏可适当延长其寿命;长期保藏需将菌液与等体 积无菌甘油 (20%,体积分数) 混匀,然后迅速置于-80 ℃ 条件下或液氮中^[46]。

3.3 显微镜观察及计数

FeOB 在生长过程中常被大量羟基氧化铁包埋,故无法使用普通光学显微镜进行直接观察。只有经过 (核酸)染色,FeOB 细胞与铁氧化物才能在(荧光)显微镜下被轻易区分。常用的核酸染料包括丫叮橙、 DAPI 和 Syto 系列,其中 Syto 13 染色效果较好^[46]。此外,相差或微分干涉显微镜可用于初步观察未经染色 的 FeOB 及其与铁氧化物之间的联系;扫描或透射电子显微镜适于进一步研究有关微生物的生物成矿机理和 存活机制^[21, 27, 43]。对嗜中性 FeOB 的活菌计数多采用不依赖培养的荧光染色直接计数法和基于实验室培养 的最大可能法计数 (Most Probable Number, MPN)。前者较为快捷,后者需将样品稀释至 10⁻¹—10⁻⁸,接种梯 度培养管后富集培养 1—2 周观察计数。目前,MPN 法仍被广泛使用,因其为嗜中性 FeOB 的分子遗传多样 性分析及菌种分离纯化提供良好材料^[9, 47-48]。

3.4 分子生物学检测

近年来,基于聚合酶链式反应(PCR)的分子生物学技术,如PCR-TGGE/DGGE 和构建克隆文库等被广 泛用于检测富铁环境样品及有关培养物中的微好氧 FeOB。对于富含 *Gallionella* 或 *Leptothrix* 型柄鞘状结构 的淡水絮状铁氧化物(又称微生物铁席,microbial iron mats),细菌 16S rRNA 通用引物适于构建有关 FeOB 的 克隆文库^[49]。对于富铁淡水淹土或沉积物,Wang 等^[48]报道的 *Betaproteobacteria* 特异性引物 122F/998R 适 于检测与 *Gallionella* 有亲缘关系的新型微好氧 FeOB。此外,McBeth 等^[50]设计并改进了 *Zetaproteobacteria* 特 异性引物,用于检测与 *Mariprofundus* 有亲缘关系的海洋 FeOB。最近,宏基因组学和单细胞基因组学技术被 用于研究淡水微生物铁席中与 *Leptothrix* 有关的 FeOB 生物群落多样性,以及深海环境中 *Zetaproteobacteria* 类 FeOB 的系统发育学特征^[51]。这些不依赖培养的新技术的应用将促进有关微生物的生理学、生态学和系统发 育学研究进展,为揭示嗜中性细菌铁氧化作用的生物地球化学意义奠定基础。

4 分布与栖息地

嗜中性微好氧 FeOB 大多分布于富铁(渗漏)地下水、湿地植物根际及深海等环境的氧化还原过渡带^[9,52-53]。在这些区域,来自缺氧源的 Fe(Ⅱ)与富氧源的 O₂供应稳定,二者混合后往往形成大量锈红色絮状氧化铁沉淀,成为该类生境的明显特征。

4.1 渗漏地下水

当富铁地下水渗出地表并接触空气时,非生物及生物过程共同促进铁氧化作用,最终形成锈红色铁泉,这一现象多发于湿地径流及农业排水系统等^[49,54-56]。对美国弗吉尼亚州铁泉中絮状铁氧化物进行显微观察发现,其中富含 G. ferruginea 型或 L. ochracea 型柄鞘状结构^[38];有关克隆文库分析显示,Betaproteobacteria 最为 丰富,占所有克隆的 26% — 57%;与 Gallionella 和 Sideroxydans 有亲缘关系的操作分类单元占 10% — 25%;与 Leptothrix 有亲缘关系的序列也经常存在,但所占比例小于 3%^[57-59]。最近,一项结合实验室培养及分子生物 学分析 (如温度梯度凝胶电泳,TGGE)的研究显示,Gallionella 和 Sideroxydans 型 FeOB 亦存在于澳大利亚亚 热带滨海渗漏地下水及河流等淡水环境中^[43]。可见,此类微好氧 FeOB 在全球范围内分布广泛。

4.2 湿地植物根际

许多湿地植物根系周围紧附一层铁氧化物,又称铁膜^[60]。这是因为有关植物能够传输 O₂到根系,其中 一部分 O₂以根系泌氧形式渗透到土壤中,导致根系周围与根际之间形成氧化还原电位差以及铁氧浓度梯度, 成为微好氧 FeOB 的良好生存场所^[52]。对美国亚特兰大中部不同湿地植物根际进行的微生物调查显示, 92% 的植物根系铁膜中含有微好氧 FeOB,其数量高达 10⁶/g 干土,但有关铁细菌数量与环境因子(如总铁 含量)之间无显著相关关系^[47];荷兰一项研究从湿地植物根际周围土壤中富集培养到与 *Gallionella* 有亲缘关 系的单细胞 FeOB,在此基础上设计的特异性 16S rRNA 基因引物被用于检测有关环境样品中的 FeOB,结果 显示与其相配的序列存在于数个研究区域,说明附近可能存在旺盛的 FeOB 群落^[48]。

4.3 深海热泉

在海底火山附近相对低温的热液喷口处(10—100 ℃),常堆积大量类似水铁矿的絮状铁氧化物,其中富

含类似 Mariprofundus ferrooxydans 的微生物结构,系统发育分析亦证实 Zetaproteobacteria 的存在^[53, 61]。在太 平洋西南部活跃扩张的弧后盆地——马里亚那海槽进行的定量 PCR 分析表明,有关微生物铁席中 Zetaproteobacteria 占细胞群落的 22%;进一步获得的克隆文库显示,8%—45% 的克隆属于 Zetaproteobacteria, 部分与 M. ferrooxydans 有亲缘关系。对夏威夷东南部罗希海底山进行的微生物学调查亦表明,嗜中性微好氧 FeOB 在该区域分布广泛;其中,与 M. ferrooxydans 有亲缘关系的 Zetaproteobacteria 在低温喷口处(40 °C) 絮 状物中具有生长优势,与硫氧化细菌(sulfur-oxidizing bacteria, SOB)有亲缘关系的 Epsilonproteobacteria 则是 高温喷口处(70 °C)的优势菌^[53, 62]。此外,对太平洋多个海域进行的 Zetaproteobacteria 克隆文库分析显示, 有关海洋 FeOB 的生物多样性主要受地理位置而非温度、pH 值或总铁含量等环境因子影响^[63]。

5 实际应用与环境意义

5.1 生物淤积与微生物腐蚀

在含铁量较高的淡水中, Gallionella 型和 Leptothrix 型微好氧 FeOB 往往大量繁殖,导致城市工业和居民 配水系统以及农业灌溉系统发生管道堵塞,最终降低水流速度和质量^[64]。有关 FeOB 亦直接或间接促进钢 铁腐蚀,造成巨大的工业损失^[50]。有关报告描述了这些现象的发生过程^[54-55],但未深入调查其中的微生物群 落组成。最近, McBeth 等^[50]通过野外及实验室培养试验测试 Mariprofundus 型海洋 FeOB 的钢铁腐蚀能力, 结果表明与之有亲缘关系的 Zetaproteobacteria 广泛分布于近岸及河海口区域,其生物铁氧化作用对钢铁腐蚀 过程具有显著促进作用。这些发现有助于进一步理解嗜中性微好氧 FeOB 在金属腐蚀过程中所扮演的角色, 有关纯培养可用于检测钢铁的抗腐蚀性。

5.2 生物成矿及对其他元素的吸附作用

细菌铁氧化作用的重要产物之一是羟基氧化铁,又称生物成因铁氧化物(Biologically-Induced Iron Oxides, BIOS),通常以弱结晶状水铁矿形式存在^[56,65]。由于表面积大,表面活性高,且可还原性强,BIOS 对湿地生态系统中有机质、毒性金属和非金属元素的沉降及迁移存在显著影响。*Gallionella*和*Leptothrix*型柄鞘状结构及其表面吸附的 BIOS 结合能力更强,可显著促进 P,Pb,锶(Sr),铈(Ce)和铀(U)等元素积累^[2,66]。 有关生物结构及 BIOS 的吸附能力受环境因子影响显著,后者的还原性溶解过程往往导致所吸附元素的释放。例如,在富含 *L. ochracea*类鞘状结构的淡水铁泉中,水铁矿对 Sr 的吸附率随 pH 升高而增加,降低 pH 或提高溶液离子强度则会削弱甚至逆转吸附作用^[67]。在巴格达和印度等国家,由微生物介导的铁氧化物还原性溶解过程导致 As 元素进入水体,造成大规模饮用水污染^[68]。目前,人们正逐渐认识到 BIOS 的吸附能力,并试图利用其去除环境中的毒性金属以及有机污染物等,达到生物修复目的^[68]。

5.3 微生物铁循环

嗜中性微好氧 FeOB 通常生长在富铁环境的氧化还原过渡带,其弱结晶状氧化铁产物往往通过沉降作用 进入缺氧体系,为异化铁还原作用提供理想底物;化能自养型 FeOB 亦产生有机物,为寡营养体系中的异养铁 还原菌提供限制性底物^[4-5]。另一方面,环境中的铁环原菌(Fe(Ⅲ)-reducing bacteria, FeRB)通过厌氧呼吸 促进有机质矿化以及氧化铁的还原性溶解和迁移,进而为微好氧(或厌氧型)FeOB 提供碳源和铁源。对代 表性微好氧 FeOB(菌株 TW2)和厌氧 FeRB(*Shewanella algae*菌株 BrY)进行的共培养试验证实,细菌铁氧 化及还原作用关系密切,共同促进混合体系中活跃的铁-碳元素循环^[5]。有关 FeOB 和 FeRB 共存于渗漏地 下水、湿地植物根际和深海热泉等环境^[4,47,49],其活跃的生物过程对氧化铁表面所吸附(非)金属和有机物 的再活化具有重要意义,并深刻影响其他重要元素的生物地球化学循环,包括硫酸盐还原和甲烷形成 等^[7,68-69]。然而,细菌铁氧化作用及其参与调控的铁元素循环与其他重要地球化学过程之间存在何种动力学 关系仍未可知。研究这些细节有助于深刻理解有关生源要素元素的地球化学过程及其在全球气候变化中所 发挥的作用。

5.4 太古代条带状铁建造及有关生物学标记

在原始地球上,古海洋具有富铁、缺氧等特征。约24亿年前,伴随大气层急剧氧化,古海洋中曾发生大

规模氧化铁沉淀,形成条带状铁建造 (Banded Iron Formations, BIFs)^[70]。对具有 19 亿年历史的加拿大岗弗 林 BIFs 进行显微观察发现,其中含有类似现代微好氧 FeOB 的特殊生物结构,如 *Gallionella*, *Leptothrix* 或 *Mariprofundus* 型柄鞘状结构^[71]。对具有 25 亿年历史的西澳哈默斯利 BIFs 进行化学分析显示,其富铁矿物 中所含养分与微量金属元素足以维持 FeOB 的细胞代谢^[72]。据推测,在"大氧化事件"之前,光合生物产生的 微量 O₂为微好氧 FeOB 的出现创造了条件;随着大气中 [O₂] 的变化,有关微生物在海洋-大气界面处大量繁 殖,参与促进 BIFs 的形成。这一事件的起因目前尚未被理解透彻,但越来越多的证据显示生物过程在其中扮 演了重要角色^[72-73]。由于广泛存在于现代和古代富铁岩石中,FeOB 的特殊胞外结构被认为是铁氧化代谢的 良好生物学标记^[34]。

6 展望

目前,我国对嗜中性微好氧 FeOB 的微生物学研究甚少,仅有的信息来自吴自军等^[56,74]采用地质化学方 法对浙江舟山海岸带古木埋藏区进行的铁元素生物成矿研究。由于 FeOB 在铁及其他元素的生物地球化学 循环中扮演了重要角色,且对自然及重金属污染环境具有显著影响,今后有必要加强对该类微生物的研究,主 要方向包括:(1) 微生物生态学,利用传统微生物学及现代分子生物学技术检测微好氧 FeOB 在典型栖息地 的生态多样性,获得代表性可培养新物种;(2) 微生物生理学,利用现代分子遗传学技术研究重要功能蛋白质 的活性,阐释代表性 FeOB 生长机制及电子传递机理;(3) 生物地球化学,利用多学科交叉技术探索微好氧铁 氧化作用对有机和无机污染物的自然修复能力,以及与碳、氮及其他重要地球元素循环之间的动力学关系。

References :

- [1] Ranhama K, Sahama T G. Geochemistry. Chicago: The University of Chicago, 1950: 111-111.
- [2] Rentz J A, Turner I P, Ullman J L. Removal of phosphorus from solution using biogenic iron oxides. Water Research, 2009, 43(7): 2029-2035.
- [3] Ehrlich H L, Newman D K. Geomicrobiology. Roca Raton: Taylor and Francis, 2009, 606-606.
- [4] Emerson D. Potential for iron-reduction and iron-cycling in iron oxyhydroxide-rich microbial mats at Loihi seamount. Geomicrobiology Journal, 2009, 26(8): 639-647.
- [5] Roden E E, Sobolev D, Glazer B, Luther G W III. Potential for microscale bacterial Fe redox cycling at the aerobic-anaerobic interface. Geomicrobiology Journal, 2004, 21(6): 379-391.
- [6] Emerson D, Fleming E J, McBeth J M. Iron-oxidizing bacteria: an environmental and genomic perspective. Annual Review of Microbiology, 2010, 64(1): 561-583.
- [7] Weber K A, Achenbach L A, Coates J D. Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction. Nature Reviews Microbiology, 2006, 4(10): 752-764.
- [8] Shen D S, Li W B, Yao J, Tao P P, Tang M L. Microbial-mediated anaerobic oxidation of ferrous iron and its mechanism to remediate contaminated environments. Journal of Zhejiang University: Agriculture and Life Sciences, 2011, 37(1): 112-118.
- [9] Emerson D, Moyer C L. Isolation and characterization of novel iron-oxidizing bacteria that grow at circumneutral pH. Applied and Environmental Microbiology, 1997, 63(12): 4784-4792.
- [10] Weiss J V, Rentz J A, Plaia T, Neubauer S C, Merrill-Floyd M, Lilburn T, Bradburne C, Megonigal J P, Emerson D. Characterization of neutrophilic Fe(II)-oxidizing bacteria isolated from the rhizosphere of wetland plants and description of *Ferritrophicum radicicola* gen. nov. sp. nov., and *Sideroxydans paludicola* sp. nov. Geomicrobiology Journal, 2007, 24(7/8): 559-570.
- [11] Sobolev D, Roden E E. Suboxic deposition of ferric iron by bacteria in opposing gradients of Fe(II) and oxygen at circumneutral pH. Applied and Environmental Microbiology, 2001, 67(3): 1328-1334.
- [12] Druschel G K, Emerson D, Sutka R, Suchecki P, Luther G W III. Low-oxygen and chemical kinetic constraints on the geochemical niche of neutrophilic iron(II) oxidizing microorganisms. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2008, 72(14): 3358-3370.
- [13] Rentz J A, Kraiya C, Luther G W III, Emerson D. Control of ferrous iron oxidation within circumneutral microbial iron mats by cellular activity and autocatalysis. Environmental Science and Technology, 2007, 41(17): 6084-6089.
- [14] Neubauer S C, Emerson D, Megonigal J P. Life at the energetic edge: kinetics of circumneutral iron oxidation by lithotrophic iron-oxidizing bacteria isolated from the wetland-plant rhizosphere. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(8): 3988-3995.
- [15] Sung W, Morgan J J. Kinetics and product of ferrous iron oxygenation in aqueous systems. Environmental Science and Technology, 1980, 14(5):

561-568.

- [16] Jiao Y Q, Newman D K. The pio operon is essential for phototrophic Fe (II) oxidation in Rhodopseudomonas palustris TIE-1. Journal of Bacteriology, 2007, 189(5): 1765-1773.
- [17] Valdés J, Pedroso I, Quatrini R, Dodson R J, Tettelin H, Blake R II, Eisen J A, Holmes D S. Acidithiobacillus ferrooxidans metabolism: from genome sequence to industrial applications. BMC Genomics, 2008, 9(1): 597-597.
- [18] Croal L R, Jiao Y Q, Newman D K. The fox operon from *Rhodobacter* strain SW2 promotes phototrophic Fe (II) oxidation in *Rhodobacter* capsulatus SB1003. Journal of Bacteriolofy, 2007, 189(5): 1774-1782.
- [19] Hedrich S, Schlömann M, Johnson D B. The iron-oxidizing proteobacteria. Microbiology, 2011, 157(6): 1551-1564.
- [20] Chan C S, De Stasio G, Welch S A, Girasole M, Frazer B H, Nesterova M V, Fakra S, Banfield J F. Microbial polysaccharides template assembly of nanocrystal fibers. Science, 2004, 303(5664): 1656-1658.
- [21] Chan C S, Fakra S C, Emerson D, Fleming E J, Edwards K J. Lithotrophic iron-oxidizing bacteria produce organic stalks to control mineral growth: implications for biosignature formation. The ISME Journal, 2010, 77(9): 1-11.
- [22] Spring S. The genera Leptothrix and Sphaerotilus // Dworkin M, Schleifer K-H, Rosenberg E, Falkow S, eds. The Prokaryotes. New York: Springer-Verlag, 2006, 5: 758-777.
- [23] Lane D J, Harrison A P Jr, Stahl D, Pace B, Giovannoni S J, Olsen G J, Pace N R. Evolutionary relationships among sulfur- and iron-oxidizing eubacteria. Journal of Bacteriology, 1992, 174(1): 269-278.
- [24] Kucera S, Wolfe R S. A selective enrichment method for Gallionella ferruginea. Journal of Bacteriology, 1957, 74(3): 344-349.
- [25] Lüdecke C, Reiche M, Eusterhues K, Nietzsche S, Küsel K. Acid-tolerant microaerophilic Fe (II)-oxidizing bacteria promote Fe (III)accumulation in a fen. Environmental Microbiology, 2010, 12(10): 2814-2825.
- [26] Wang J. Ecology of Neutrophilic Iron-Oxidizing Bacteria in Wetland Soils [D]. Utrecht: Utrecht University, 2011.
- [27] Sobolev D, Roden E E. Characterization of a neutrophilic, chemolithoautotrophic Fe(II)-oxidizing β-proteobacterium from freshwater wetland sediments. Geomicrobiology Journal, 2004, 21(1): 1-10.
- [28] Picardal F W, Zaybak Z, Chakraborty A, Schieber J, Szewzyk U. Microaerophilic, Fe (II)-dependent growth and Fe (II) oxidation by a Dechlorospirillum species. FEMS Microbiology Letters, 2011, 319(1): 51-57.
- [29] Edwards K J, Rogers D R, Wirsen C O, McCollom T M. Isolation and characterization of novel psychrophilic, neutrophilic, Fe-oxidizing, chemolithoautotrophic α- and γ-Proteobacteria from the deep sea. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(5): 2906-2913.
- [30] Emerson D, Rentz J A, Lilburn T G, Davis R E, Aldrich H, Chan C, Moyer C L. A novel lineage of *Proteobacteria* involved in formation of marine Fe-oxidizing microbial mat communities. PLoS One, 2007, 2(8): e667-e667.
- [31] Hallbeck L, Pedersen K. Autotrophic and mixotrophic growth of *Gallionella ferruginea*. Journal of General Microbiology, 1991, 137 (11): 2657-2661.
- [32] Hanert H H. Untersuchungen zur individuellen Entwicklungskinetik von Gallionella ferruginea in statischer Mikrokultur. Archives of Microbiology, 1974, 96(1): 59-74.
- [33] Hanert H H. The genus Gallionella // Dworkin M, Schleifer K-H, Rosenberg E, Falkow S, eds. The Prokaryotes. New York: Springer, 2006, 7: 990-995.
- [34] Chan C S, Fakra S C, Edwards D C, Emerson D, Banfield J F. Iron oxyhydroxide mineralization on microbial extracellular polysaccharides. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2009, 73(13): 3807-3816.
- [35] Pedersen K, Hallbeck L. Gallionella ferruginea: an iron-oxidizing and stalk-forming groundwater bacterium // John B G, ed. Encyclopedia of Environmental Microbiology. New York: John Wiley and Sons, 2008: 1401-1408.
- [36] Winogradsky S. Ueber Eisenbakterien. Botanische Zeitung, 1888, 46: 262-270.
- [37] van Veen W L, Mulder E G, Deinema M H. The Sphaerotilus-Leptothrix group of bacteria. Microbiological Reviews, 1978, 42(2): 329-356.
- [38] Emerson D, Weiss J V. Bacterial iron oxidation in circumneutral freshwater habitats: findings from the field and the laboratory. Geomicrobiology Journal, 2004, 21(6): 405-414.
- [39] Mulder E G, Deinema M H. The sheathed bacteria // Balows A, Truper H, Dworkin M, Harder W, Schleifer K H, eds. The Prokaryotes. New York: Springer, 1992, 3: 2612-2624.
- [40] Ghiorse W C, Ehrlich H L. Microbial biomineralization of iron and manganese // Fitzpatrick R W, Skinner H C W. Iron and Manganese Biomineralization Processes in Modern and Ancient Environments. Cremlingen-Destedt; Catena-Verlag, 1992, 21; 75-99.
- [41] Emerson D, Ghiorse W C. Ultrastructure and chemical composition of the sheath of *Leptothrix discophora* SP-6. Journal of Bacteriology, 1993, 175 (24): 7808-7818.
- [42] Sudek L A, Templeton A S, Tebo B M, Staudigel H. Microbial ecology of Fe (hydr) oxide mats and basaltic rock from Vailulu'u seamount,

American Samoa. Geomicrobiology Journal, 2009, 26(8): 581-596.

- [43] Lin C, Larsen E I, Nothdurft L D, Smith J J. Neutrophilic, microaerophilic Fe(II)-oxidizing bacteria are ubiquitous in aquatic habitats of a subtropical Australian coastal catchment. Geomicrobiology Journal, 2011, 28(8) (in press).
- [44] Hanert H H. The genus Gallionella // Balows A, Tüper H G, Dworkin M, Harder W, Schliefer K H, eds. The Prokaryotes. New York: Springer-Verlag, 1992, 4: 4082-4088.
- [45] Verran J, Stott J F D, Quarmby S L, Bedwell M. Detection, cultivation and maintenance of *Gallionella* in laboratory microcosms. Letters in Applied Microbiology, 1995, 20(6): 341-344.
- [46] Emerson D, Floyd M M. Enrichment and isolation of iron-oxidizing bacteria at neutral pH. Methods in Enzymology, 2005, 397: 112-123.
- [47] Weiss J V, Emerson D, Backer S M, Megonigal J P. Enumeration of Fe(II)-oxidizing and Fe(III)-reducing bacteria in the root zone of wetland plants: implications for a rhizosphere iron cycle. Biogeochemistry, 2003, 64(1): 77-96.
- [48] Wang J, Muyzer G, Bodelier P L E, Laanbroek H J. Diversity of iron oxidizers in wetland soils revealed by novel 16S rRNA primers targeting *Gallionella*-related bacteria. The ISME Journal, 2009, 3(6): 715-725.
- [49] Blöthe M, Roden E E. Microbial iron redox cycling in a circumneutral-pH groundwater seep. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75 (2): 468-473.
- [50] McBeth J M, Little B J, Ray R I, Farrar K M, Emerson D. Neutrophilic iron-oxidizing "Zetaproteobacteria" and mild steel corrosion in nearshore marine environments. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(4): 1405-1412.
- [51] Fleming E J, Langdon A E, Martinez-Garcia M, Stepanauskas R, Poulton N J, Masland E D P, Emerson D. What's new Is old: resolving the identity of *Leptothrix ochracea* using single cell genomics, pyrosequencing and FISH. Plos One, 2011, 6(3): e17769- e17769.
- [52] Emerson D, Weiss J V, Megonigal J P. Iron-oxidizing bacteria are associated with ferric hydroxide precipitates (Fe-plaque) on the roots of wetland plants. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(6): 2758-2761.
- [53] Emerson D, Moyer C L. Neutrophilic Fe-oxidizing bacteria are abundant at the Loihi seamount hydrothermal vents and play a major role in Fe oxide deposition. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(6): 3085-3093.
- [54] Stuetz R M, McLaughlan R G. Impact of localised dissolved iron concentrations on the biofouling of environmental wells. Water Science and Technology, 2004, 49(2): 107-113.
- [55] Taylor S W, Lange C R, Lesold E A. Biofouling of contaminated ground-water recovery wells: characterization of microorganisms. Ground Water, 1997, 35(6): 973-980.
- [56] Wu Z J, Jia N, Yuan L X, Sun L G. Biomineralization process occurring in iron mud of coastal seepage area of Zhoushan Island, Zhejiang Province. Chinese Science Bulletin, 2008, 53(12): 1894-1904.
- [57] Duckworth O W, Holmström S J M, Peña J, Sposito G. Biogeochemistry of iron oxidation in a circumneutral freshwater habitat. Chemical Geology, 2009, 260(3/4): 149-158.
- [58] Bruun A M, Finster K, Gunnlaugsson H P, Nornberg P, Friedrich M W. A comprehensive investigation on iron cycling in a freshwater seep including microscopy, cultivation and molecular community analysis. Geomicrobiology Journal, 2010, 27(1): 15-34.
- [59] Haaijer S C, Harhangi H R, Meijerink B B, Strous M, Pol A, Smolders A J P, Verwegen K, Jetten M S M, den Camp H. Bacteria associated with iron seeps in a sulfur-rich, neutral pH, freshwater ecosystem. The ISME Journal, 2008, 2; 1231-1242.
- [60] Mendelssohn I A, Kleiss B A, Wakeley J S. Factors controlling the formation of oxidized root channels: a review. Wetlands, 1995, 15(1): 37-46.
- [61] Neubauer S C, Toledo-Durán G E, Emerson D, Megonigal J P. Returning to their roots: iron-oxidizing bacteria enhance short-term plaque formation in the wetland-plant rhizosphere. Geomicrobiology Journal, 2007, 24(1): 65-73.
- [62] Rassa A C, McAllister S M, Safran S Z, Moyer C L. Zeta-Proteobacteria dominate the colonization and formation of microbial mats in lowtemperature hydrothermal vents at Loihi Seamount, Hawaii. Geomicrobiology Journal, 2009, 26(8): 623-638.
- [63] McAllister S M, Davis R E, McBeth J M, Tebo B M, Emerson D, Moyer C L. Biodiversity and emerging biogeography of the neutrophilic ironoxidizing Zetaproteobacteria. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(15): 5445-5457.
- [64] Cullimore R. Microbiology of Well Biofouling. Boca Raton: CRC Press, 2000: 435-435.
- [65] James R E, Ferris F G. Evidence for microbial-mediated iron oxidation at a neutrophilic groundwater spring. Chemical Geology, 2004, 212(3/4): 301-311.
- [66] Ferris F G. Biogeochemical properties of bacteriogenic iron oxides. Geomicrobiology Journal, 2005, 22(3/4): 79-85.
- [67] Langley S, Gault A G, Ibrahim A, Takahashi Y, Renaud R, Fortin D, Clark I D, Ferris F G. Strontium desorption from bacteriogenic iron oxides (BIOS) subjected to microbial Fe(Ⅲ) reduction. Chemical Geology, 2009, 262(3/4): 217-228.
- [68] Kappler A, Straub K L. Geomicrobiological cycling of iron // Banfield J S, Cervini-Silva J, Nealson K M, eds. Reviews in Minerology and

Geochemistry. Chantilly: The Mineralogical Society of America, 2005, 59: 85-108.

- [69] Lovley D R. Dissimilatory metal reduction. Annual Review of Microbiology, 1993, 47: 263-290.
- [70] Kappler A, Pasquero C, Konhauser K O, Newman D K. Deposition of banded iron formations by anoxygenic phototrophic Fe(II)-oxidizing bacteria. Geology, 2005, 33(11): 865-868.
- [71] Planavsky N, Rouxel O, Bekker A, Shapiro R, Fralick P, Knudsen A. Iron-oxidizing microbial ecosystems thrived in late Paleoproterozoic redoxstratified oceans. Earth and Planetary Science Letters, 2009, 286(1/2); 230-242.
- [72] Konhauser K O, Hamade T, Raiswell R, Morris R C, Ferris F G, Southam G, Canfield D E. Could bacteria have formed the Precambrian banded iron formations? Geology, 2002, 30(12): 1079-1082.
- [73] Trouwborst R E, Johnston A, Koch G, Luther G W III, Pierson B K. Biogeochemistry of Fe(II) oxidation in a photosynthetic microbial mat: implications for Precambrian Fe(II) oxidation. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2007, 71(19): 4629-4643.
- [74] Wu Z J, Jia N, Yuan L X, Sun L G, Fortin D. Iron biomineralization and biometallogenesis in the ancient-wood buried zone from coast of Zhoushan Island, Zhejiang Province. Earth Science-Journal of China University of Geosciences, 2008, 33(4): 465-473.

参考文献:

- [8] 沈东升,李文兵,姚俊,陶萍萍,唐梦龄.亚铁厌氧微生物氧化及其在环境污染修复中的作用机制.浙江大学学报:农业与生命科学版. 2011, 37(1):112-118.
- [74] 吴自军,贾楠,袁林喜,孙立广,Fortin D. 浙江舟山海岸带古木埋藏区铁的微生物成矿作用. 地球科学——中国地质大学学报,2008, 33(4):465-473.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 18 September, 2012 (Semimonthly) CONTENTS

Hyperspectral characteristics of typical subtopical trees at different levels of simulated acid rain SHI Qilong, JIANG Hong, CHEN Jian, et al (5621) Wind fields and the development of wind corridors in the urban metropolis of the Pearl River Delta SUN Wu, WANG Yiming, WANG Yuelei, et al (5630) Dynamics of canopy structure and understory light in montane evergreen broadleaved forest following a natural disturbance in North Guangdong OU Yuduan, SU Zhiyao (5637) The influence of 4 species of preys on the development and fecundity of Orius similis Zheng Woody seedling regeneration in secondary succession of monsoon broad-leaved evergreen forest in Puer, Yunnan, Southwest China LI Shuaifeng, LIU Wande, SU Jianrong, et al (5653) Scale-dependent spatial variation of species abundance and richness in two mixed evergreen-deciduous broad-leaved karst forests, The spatial heterogeneity of soil nutrients in a mid-subtropical Castanopsis kawakamii natural forest SU Songjin, LIU Jinfu, HE Zhongsheng, et al (5673) Effects of Vetiveria zizanioides L. growth on chemical and biological properties of copper mine tailing wastelands Effects of different irrigation regimes on characteristics of transpiring water-consumption of three desert species SHAN Lishan, LI Yi, ZHANG Ximing, et al (5692) The response of euhalophyte Salicornia europaea L. to different nitrogen forms ······ NIE Lingling, FENG Juanjuan, LÜ Sulian, et al (5703) Dynamic analysis on spatial pattern of dominant tree species of cold-temperate coniferous forest in the succession process in Effects of AM fungi on the growth and nutrients of Salvia miltiorrhiza Bge. under different soil water and fertilizer conditions HE Xueli, MA Li, MENG Jingjing, et al (5721) The dynamics of soil respiration in a winter wheat field with plastic mulched-ridges and unmulched furrows ······ SHANGGUAN Yuxian, SHI Ripeng, HAN Kun, et al (5729) Cattle dung composted by different methods had different effects on the growth and quality of soybean GUO Livue, LIU XueMei, ZHAN Lijie, et al (5738) Nitrogen budget modelling at the headwaters of Urumqi River Based on the atmospheric deposition and runoff WANG Shengjie, ZHANG Mingjun, WANG Feiteng, et al (5747) Evaluating the ecosystem sustainability of circular agriculture based on the emergy theory: a case study of the Xingyuan circular agriculture demonstration site in Fuqing City, Fujian ZHONG Zhenmei, WENG Boqi, HUANG Qinlou, et al (5755) Effects of cold exposure and recovery on viability and energy consumption in the sub-adult female giant spiny frogs (Paa spinosa) LING Yun, SHAO Chen, XIE Zhigang, et al (5763) A comparison of night-interruption on diapause-averting among two populations of the cotton bollworm, Helicoverpa armigera CHEN Yuansheng, TU Xiaoyun, CHEN Chao, et al (5770) Effects of soil erosion control measures on soil organic carbon and total nitrogen in a small watershed Comparative analysis of Lugu Lake watershed ecosystem function under different management authorities DONG Rencai, GOU Yaqing, LI Siyuan, et al (5786) Relationship between fish community diversity and environmental factors in the Lianjiang River, Guangdong, China LI Jie, LI Xinhui, JIA Xiaoping, et al (5795) Effect of dissolved oxygen level on metabolic mode in juvenile crucian carp ZHANG Wei, CAO Zhendong, FU Shijian (5806) Community composition of net-phytoplankton and its relationship with the environmental factors at artificial reef area in Xiangshan Bay JIANG Zhibing, CHEN Quanzhen, SHOU Lu, et al (5813) Emergy appraisal on the loss of ecosystem service caused by marine reclamation: a case study in the Taozi Bay LI Ruiqian, MENG Fanping (5825) Assessing the visual quality of urban waterfront landscapes, the case of Hefei, China YAO Yumin, ZHU Xiaodong, XU Yingbi, et al (5836) **Review and Monograph** Advances in studies of ecological effects of ocean acidification WANG Siru, YIN Kedong, CAI Weijun, et al (5859) Research progress on ammonia-oxidizing microorganisms in estuarine ecosystem Recent progress in research on neutrophilic, microaerophilic iron(II)-oxidizing bacteria LIN Chaofeng, GONG Jun (5889) A comparison study on primary production in typical low-latitude seas (South China Sea and Bay of Bengal) LIU Huaxue, SONG Xingyu, HUANG Honghui, et al (5900) Advances in leaf maximum carboxylation rate and its response to environmental factors 10-years of bird habitat selection studies in mainland China: a review JIANG Aiwu, ZHOU Fang, QIN Yue, et al (5918) Scientific Note The effects of incubation temperature on embryonic metabolism and hatchling behavior in the Red-banded Snake, Dinodon rufozonatum ······ SUN Wenjia, YU Xiao, CAO Mengjie, et al (5924) Sensitivity analysis and dynamics of soil microbial biomass carbon, nitrogen and related parameters in red-yellow soil of tea garden

《生态学报》2013年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的生态学专业性高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研 究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、 新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大16开本,300页,国内定价90元/册,全年定价2160元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书 馆等订阅。

XX

通讯地址:100085 北京海淀区双清路18 号 电

E-mail: shengtaixuebao@ rcees. ac. cn

第32卷 第18期 (2012年9月)

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

址: www.ecologica.cn

话: (010)62941099; 62843362

生态学报 (SHENGTAI XUEBAO) (半月刊 1981年3月创刊)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32	No. 18	(September,	2012)
---------	--------	-------------	-------

伯	榀	《 大	Edited	h	Editorial board of
が用	邗	《土芯子Ⅲ》////////////////////////////////////	Eattea	bу	
		地址:北东西徙区从捐始10万			ACTA ECOLOGICA SINICA
		□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□□			Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
		电话:(010)02941099			Tel:(010)62941099
		www.ecologica.cn			www. ecologica. cn
+	6百	snengtaixuebao@ rcees. ac. cn 河岸捷			Shengtaixuebao@ rcees. ac. cn
土 十	细笛	/ / / / / / / / / / / / / / / / / / /	Editor-in-ch	ief	FENG Zong-Wei
土 主	官办	中国科学技术协会 中国生态学学会	Supervised	by	China Association for Science and Technology
-	, ,	中国科学院生态环境研究中心	Sponsored	by	Ecological Society of China
		地址,北京海淀区双清路18号			Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS
		邮政编码:100085			Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出	版	斜学生版社	Published	by	Science Press
		地址:北京东黄城根北街 16 号			Add:16 Donghuangchenggen North Street,
		邮政编码:1R00717			Beijing 100717, China
ED	刷	北京北林印刷厂	Printed	by	Beijing Bei Lin Printing House,
发	行	斜华出版社			Beijing 100083, China
		地址:东黄城根北街16号	Distributed	by	Science Press
		邮政编码:100717			Add:16 Donghuangchenggen North
		电话:(010)64034563			Street, Beijing 100717, China
		E-mail:journal@cspg.net			Tel:(010)64034563
订	购	全国各地邮局			E-mail.journal@cspg.net
国外发	え行	中国国际图书贸易总公司	Domestic		All Local Post Offices in China
		地址:北京 399 信箱	Foreign		China International Book Trading
ᆮᅭᄽ	z 井	即叹编码:100044	rorugii		
ノ古湾	21日 シエ	京海工商广字第 8013 号			
计月	ΊĿ				Add: P. U. Box 399 Beijing 100044, China

ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

国外发行代号 M670

定价 70.00 元