

Fe (III) 的微生物异化还原*

贺江舟¹ 曲东^{2**} 张莉利¹

(塔里木大学新疆兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室 阿拉尔 843300)¹

(西北农林科技大学资源环境学院 杨凌 712100)²

摘要: 异化 Fe (III) 还原微生物是厌氧环境中广泛存在的一类主要微生物类群, 它们的共同特征是可以利用 Fe (III) 作为末端电子受体而获能。异化 Fe (III) 还原微生物具有强大的代谢功能, 可还原许多有毒重金属包括一些放射性核素, 还可降解利用许多有机污染物, 在污染环境的生物修复中具有重要的应用价值。本文对异化 Fe (III) 还原微生物的分布、分类, 代谢功能多样性以及异化 Fe (III) 还原的意义做了评述, 旨在加强相关领域的研究人员对此的了解和重视, 通过学科的交叉和合作加快我国在这一领域的研究。

关键词: 异化 Fe (III) 还原, 生物修复

中图分类号: S154.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2006) 05-0158-07

Dissimilatory Fe (III) Reduction by Microorganisms*

HE Jiang-Zhou¹ QU Dong^{2**} ZHANG Li-Li¹

(Xinjiang Production & Construction Corps Key Laboratory of Protection and Utilization of Biological Resources in Tarim Basin, Tarim University, Alar 843300)¹

(Resource and Environmental College, Northwest A & F University, Yangling 712100)²

Abstract: Dissimilatory Fe (III) reducing microorganisms are dominant groups widely present in variety anaerobic environments, which share the common features with the ability to use Fe (III) as the terminal electron acceptor to gain energy. It has been found this multifunctional groups of microorganisms evolved with diverse metabolic ability reducing a variety of toxic heavy metals including some radioactive nuclear, degrading and utilizing a broad range of organic pollutants and showed an important value in the bioremediation of contaminated environment. Here the distribution, classification and metabolic diversity of dissimilatory Fe (III) reducing microorganisms and related environmental relevancies were reviewed in this paper, which aimed to attract more attentions of the related researchers and to accelerate the domestic researches in this field by the cooperation of different disciplines.

Kew words: Dissimilatory Fe (III) reduction, Bioremediation

Fe 在地壳中含量丰富, 仅次于 O、Si、Al 并通常以各种 Fe (III) 氧化物的形式存在。厌氧条件下, 环境中的 Fe (III) 氧化物会发生还原, 现在认为这一过程主要是微生物介导的异化还原, 即微生物以 Fe (III) 氧化物为最终电子受体的厌氧呼吸过程。异化 Fe (III) 还原具有重要的地学和环境学意义。含 Fe (III) 矿物的还原可促进 Si、P 等元素的释放, 提高这些营养元素的有效性。异化 Fe (III) 还原微生物具有强大的代谢功能, 它们可利用除 Fe (III) 以外的许多其它电子受体包括许多有毒重金属和类

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 40271067)

新疆生产建设兵团塔里木盆地生物资源保护利用重点实验室开放课题 (No. BR0607)

** 通讯作者 Tel: 13709129185, E-mail: dongqu@nwsuaf.edu.cn

收稿日期: 2005-12-30, 修回日期: 2006-03-12

金属, 如 Mn (IV)、Cr (VI)、Co (III)、As (V)、Se (V) 等以及放射性元素 U (VI)、Tc (VII)、V (V) 等, 从而对这些有毒重金属起到还原解毒或还原固定的作用。异化 Fe (III) 还原微生物在 Fe (III) 及金属氧化物的还原过程中可促进一些有机污染物, 如芳香烃、卤代芳烃化合物、一些染料化合物及长链脂肪酸的降解。异化 Fe (III) 还原过程可有效的竞争厌氧环境中电子向产甲烷菌的流动, 从而抑制甲烷气体的产生。一些异化 Fe (III) 还原微生物还可将电子传递向电极, 产生电流, 在清洁能源的生产上表现出了巨大的潜力。国内有关异化 Fe (III) 还原的研究不多, 这方面的综述更是少见。本文就国内外有关异化 Fe (III) 还原的研究状况作一评述。

1 异化 Fe (III) 还原微生物

Fe (III) 的异化还原 (dissimilatory Fe (III) reduction) 是指微生物以 Fe (III) 为末端电子受体, 所进行的无氧呼吸过程。该过程偶联着有机或无机电子供体的氧化, 可释放能量, 支持微生物生长。由于 Fe (III) 的地球化学丰度比较高, 在自然界中只要有厌氧环境, 几乎都会发生异化 Fe (III) 还原现象, 都可发现异化 Fe (III) 还原微生物。迄今, 研究人员已经从各种厌氧环境中分离得到了许多种类不同的异化 Fe (III) 还原微生物。

1.1 异化 Fe (III) 还原微生物的种类 目前发现的可利用 Fe (III) 作为末端电子受体进行呼吸获能的微生物在古生菌和真细菌中都有分布。异化 Fe (III) 还原古生菌分布在古生菌域 2 个门下的 5 个纲 7 个目中, 它们都是嗜高温菌。已发现在细菌域中的 8 个门下、13 个纲、22 个目中都有异化 Fe (III) 还原微生物的分布 (见图 1)。尤其是变形杆菌 δ 亚纲中土杆菌科 (Geobacteraceae) 的成员以及 γ 亚纲希瓦氏菌属 (*Shewanella*) 的成员, 它们是发现相对较早, 研究也比较深入的两类 Fe (III) 还原微生物。第一个被发现利用 Fe (III) 作为电子受体可完全将有机物氧化为 CO_2 的微生物就是变形杆菌 δ 亚纲土杆菌科的成员。目前已经分离培养了该家族的许多微生物, 并且利用分子生物学方法发现, 在发生 Fe (III) 还原的各种环境中土杆菌科的微生物丰度最高。Lovley 认为, 因为土杆菌科的微生物在各种厌氧环境中是主要的微生物种群, 并且土杆菌科的微生物多数都可利用乙酸盐, 这种厌氧条件下有机物降解的主要中间产物, 因此土杆菌科的成员是厌氧条件下 Fe (III) 和其它金属还原以及有机污染物降解的主要微生物类群^[1]。

变形杆菌 γ 亚纲的希瓦氏菌属 (*Shewanella*) 的微生物也是研究比较深入的异化 Fe (III) 还原菌。希瓦氏菌是兼性革兰氏阴性菌, 在许多环境中都有分布, 厌氧条件下可利用许多电子受体获能, 如 Mn (IV)、U (VI)、 NO_3^- 、 NO_2^- 、S (0)、延胡索酸盐、三甲胺-N-氧化物 (trimethylamine-N-oxide) 和二甲基砷。但实验室纯培养条件下发现该属的微生物多数只利用乳酸盐和丙酮酸盐, 而这两种基质在环境中非常有限, 因此在自然条件下或对污染环境进行生物修复时, 希瓦氏菌属的成员很难成为 Fe (III) 还原的主要微生物。

迄今发现所有的超嗜热菌 (hyperthermophiles) 包括多数古生菌、栖热袍菌门 (Thermotogae) 和热脱硫杆菌门 (Thermodesulfobacter) 的一些成员都具有通过还原 Fe (III) 氧化 H_2 而获能的能力。一些超嗜热菌如 *Thermotoga maritime*, *Thermodesulfobacterium commune*, *Pyrobaculum islandicum* 和 *Ferroglobus placidus* 它们起初并不是因为可还

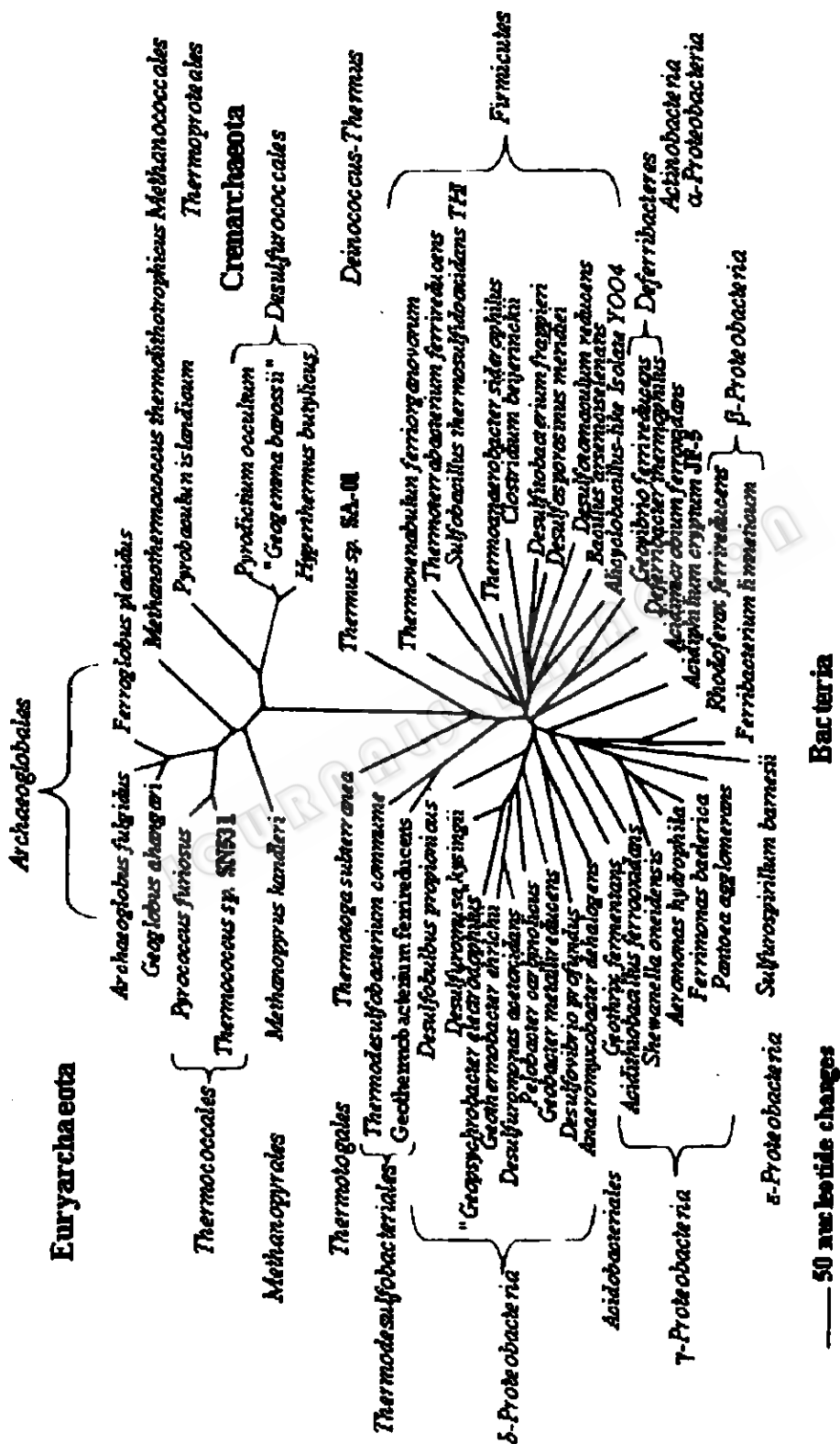


图1 基于16S rRNA序列的异化Fe(III)还原微生物系统发育树^[1]

原 Fe (III) 而被发现分离,但在对它们更为深入的研究中发现,它们都可利用 Fe (III) 作为唯一的电子受体进行呼吸。而且许多超嗜热菌在 Fe (III) 呼吸时,底物谱更广,代谢能力大大增强^[2,3]。利用 Fe (III) 为唯一的电子受体已经从一些热环境中分离了一些以前从未得到的微生物^[4],这表明某些超嗜热微生物只能唯一的呼吸 Fe (III)。因为超嗜热微生物与地球的早期生命形式联系紧密,因此科学家们猜想,异化 Fe (III) 还原可能是地球上最早的呼吸形式。但由于目前对超嗜热微生物还原 Fe (III) 的机理认识非常有限,这一猜想还不能确证。但毫无疑问,Fe (III) 呼吸至少是最古老的生命获能形式之一,而且在生命的进化历程中这一遗传烙印在一定范围和一定程度上都会被继承,因此势必有更多的微生物种类都具有还原 Fe (III) 的能力或潜能。

1.2 异化 Fe (III) 还原微生物功能多样性 异化 Fe (III) 还原微生物具有强大的代谢能力。尽管,一些超嗜热菌只能利用 Fe (III) 为唯一的电子受体,但许多异化 Fe (III) 还原微生物可利用其它的一种或多种电子受体,以及多种电子供体,此外它们还对污染环境和极端环境表现出不寻常的适应和耐受能力。

1.2.1 电子受体:一些兼性 Fe (III) 还原微生物如希瓦氏菌属 (*Shewanella*), 泛菌属 (*Panatoea*), 嗜酸菌属 (*Acidiphilium*) 以及红育菌属 (*Rhodoferrax*), 利用氧气生长比 Fe (III) 呼吸更好,这是因为在中性或偏碱性 pH 下 Fe (III) 的溶解度和氧化还原电位都比较低,微生物利用氧气呼吸可产生更多的能量。在酸性条件下 Fe (III) 以 Fe^{3+} 的形式存在, Fe^{3+} 的氧化还原电位和 O_2 的相差不多,利用 O_2 和 Fe (III) 的呼吸可同时发生。以前认为土杆菌科 (*Geobacteriaceae*) 的成员是严格厌氧的,但最近对 *G. sulfurreducens* 的研究发现,该微生物基因组不但包含着耐受氧气的基因,而且含有编码着与有氧呼吸密切相关的细胞色素氧化酶基因。进一步研究发现 *G. sulfurreducens* 在 O_2 浓度高达 10% 时,可利用 O_2 为唯一的电子受体进行呼吸^[5]。可利用 O_2 对 Fe (III) 还原微生物是非常有利的,因为通常在有氧和缺氧界面,Fe (III) 尤其是易还原的氧化铁的含量最高,可同时利用 O_2 或 Fe (III) 进行呼吸增强了生活在这里的微生物的适应性。

许多 Fe (III) 还原微生物还可以还原 Mn (IV)、Co (III)、V (V) 等重金属以及放射性元素 U (VI)、Te (VII) 等。Fe (III) 还原微生物对放射性元素的还原引起了人们极大的兴趣,因为多数这些放射性核素在氧化态时溶解度大,在环境,尤其是水环境中容易扩散。一旦被还原,它们会被沉淀固定下来。脱亚硫酸菌属 (*Desulfuobacterium*) 和硫化螺旋菌属 (*Sulfurospirillum*) 的成员可还原类金属 As (V) 和 Se (V)。一些异化 Fe (III) 还原微生物甚至还可利用 H_2 将 Au (III) 还原为 Au (0) 而沉淀下来。

除了 Fe (III) 和其它氧化态金属和类金属外,一些非金属的有机和无机化合物也可作为许多异化 Fe (III) 还原微生物的电子受体,如腐殖质物质、S (0)、 NO_3^- 、延胡索酸。近年来还发现土杆菌科的成员 (*Geobacteraceae*)、粘细菌 (*Myxobacteria*) 和脱亚硫酸盐菌属 (*Desulfuobacterium*) 的一些种、*Desulfuromonas chloroethenica*, *Anaeromyxobacter dehalogens* 通过将电子传递给含氯化物从而使它们还原脱氯。此外,一些土杆菌科的微生物还可将电子传递给石墨电极^[6],这充分体现了异化 Fe (III) 还原微生物在利用电子受体上的功能多样性。

1.2.2 电子供体:多数异化 Fe (III) 还原微生物都是通过利用 H₂ 和有机电子供体还原 Fe (III) 进行生长的。Fe (III) 还原微生物可利用的有机电子供体, 最常见的是有机酸, 尤其是短链有机酸, 如甲酸、乙酸、丙酮酸、琥珀酸等。只有 *Geoglobus ahangari*、*Desulfuromonas palmitatis* 和 *Geothrix fumentans* 可利用一些长链有机酸如硬脂酸、棕榈酸等。一些异化 Fe (III) 还原微生物在 Fe (III) 还原时可氧化利用糖而获能, 但多数情况下, 它们对糖只是一种发酵利用, 会产生乙酸。迄今只发现个别种可完全将糖氧化为 CO₂^[7]。纯培养研究发现, 一些异化 Fe (III) 还原微生物还可利用芳香族化合物作为电子供体^[3]。

除了 H₂ 和上述的有机电子供体外, 在一定条件下 Fe (III) 还原的产物 Fe (II) 也可作为电子供体。如 *Acidithiobacillus ferrooxidans* 在酸性条件下它是 Fe (II) 氧化菌, 事实上也是一种 Fe (III) 还原菌, 其它的嗜酸性 Fe (II) 氧化菌也是这样。超嗜热 Fe (III) 还原菌 *Ferroglobus placidus* 起初分离时发现是一种 Fe (II) 氧化, 硝酸盐还原菌。而 Fe (III) 还原菌 *Desulfitobacterium frappieri* 在硝酸盐还原过程中不但可利用可溶性 Fe (II) 而且可利用粘粒矿物中的结构性 Fe (II) 作为电子供体。此外还发现 *G. metallireducens* 在硝酸盐还原过程中, *G. sulfurreducens* 还原延胡索酸盐时, 它们可以利用电位足够负的石墨电极作为电子供体, 分别在电极表面形成各自的克隆。

1.2.3 自营养和固氮能力:一些超嗜热异化 Fe (III) 还原微生物, 在完全没有有机物时可利用 H₂ 为电子供体在 Fe (III) 还原过程中获能, 表现出了自养能力。这些微生物多数生长在热液流 (hydrothermal fluid) 环境中。自营养可能是一种适应, 因为在热液流环境中, H₂ 含量非常高, 而有机质非常有限。

在对 30 多种地杆菌科的成员进行研究时发现, 它们都含有固氮基因。而且它们在缺乏固定化氮源 (fixed nitrogen) 上可进行正常生长^[8]。固氮能力是一种强大的竞争优势, 尤其是在氮源匮乏的地表下层, 如在遭受石油污染的砂性含水层中, 虽然可利用的碳源物质非常充分, 但可利用的氮源则是微生物生长的限制因子。地杆菌的固氮能力使得它们成为这些环境下的优势种。

异化 Fe (III) 还原菌的功能多样性还表现在它们可以适应许多极端条件。许多 Fe (III) 还原微生物都是从一些极端环境中分离得到的, 如重金属污染区、尾矿区、辐射污染区、极端的酸性或高温环境。这些极端环境对许多生物都是不利的, 然而生长在这些环境中的 Fe (III) 还原微生物在长期的进化适应过程中形成了自己独特的代谢方式。

纯培养实验表明, 一些异化 Fe (III) 还原微生物可在 4℃ 以下的低温下生长。而另一种 Fe (III) 还原微生物则保持着纯培养条件下, 微生物可适应的最高生长温度 121℃。一些 Fe (III) 还原菌如 *A. ferrooxidans* 和 *Acidiphilium cryptum* 生长酸性环境中, 而一种可还原 As (V) 的芽孢杆菌在 pH 为 9.0 的条件下仍具有还原 Fe (III) 的能力。已发现在含水层沉积物中盐度高达海水 10 倍时仍可观察到 Fe (III) 还原发生, 16S rRNA 分析表明, 该环境下 Fe (III) 还原微生物主要是假单胞菌 (*Pseudomonas*) 和脱硫芽孢弯曲菌 (*Desulfosporosinus*)。

许多 Fe (III) 还原微生物不只是可适应类似于自己生境的极端条件。如 Fe (III) 还原菌 *Acidiphilium cryptum* JF-5, 它是从酸性沉积物中分离得到的, 它生长的 pH 的范围是 2.1 ~ 5.8, 温度范围是 12℃ ~ 37℃。没有发现 *Acidiphilium cryptum* JF-5 的孢子,

但是它可适应短暂的高温处理,在80℃加热15min或在90℃加热5min后仍可观察到生长和Fe(III)还原^[7]。可还原Fe(III)的*Deinococcus radiodurans*它对一些极端条件的适应能力表现的更为强大,可抵挡辐射剂量高达15,000Gy的电离辐射而不致死^[9]。

2 异化Fe(III)还原机理

异化Fe(III)还原的机理一直是一个研究热点。目前对于异化Fe(III)还原的机理,主要存在3种不同的理论。一种认为微生物可产生、分泌一些小的,可扩散的氧化还原性物质,它们在微生物和不溶性Fe(III)之间充当电子穿梭体来还原Fe(III)^[10]。因为采用一定的方法将微生物和Fe(III)分开,仍可观察到Fe(III)还原发生。目前发现采用分泌电子穿梭物质还原Fe(III)的微生物有*Shewanella oneidensis*菌株MR-1(以前的*Shewanella putrefaciens*菌株MR-1)、*G. fermentans*以及*S. alga* Br. Nevin和Lovley提出,除了产生电子穿梭体外,*G. fermentans*和*S. alga* BrY分泌的Fe(III)络合物,可很大程度上促进Fe(III)氧化物的溶解,从而促进Fe(III)还原。*Geobacter metallireducens*代表着另一种Fe(III)还原模型。这种微生物在Fe(III)还原过程中必需和Fe(III)氧化物直接接触,除非环境中提供一种可溶性的电子受体如柠檬酸铁。当Fe(III)或Mn(IV)存在时,会诱导*G. metallireducens*生长鞭毛和纤毛通过趋化运动附着在金属氧化物表面。最近的一篇研究结果更有意思,指出Fe(III)诱导*G. sulfurreducens*产生的纤毛不是一种附着器官而是一种可传递电子的生物纳米电线(biological nanowire)^[11]。异化Fe(III)还原微生物种类繁多,系统发育差异很大,它们在利用Fe(III)进行无氧呼吸时经历了多次独立的进化,因此很难对Fe(III)异化还原机理形成一个总括的认识。而且微生物对环境具有很大的适应性,不同的培养条件下微生物可能采取不同的生活、生存策略,这就增加了这一研究的复杂性。关于Fe(III)还原过程中的一些呼吸链组分的研究,近年来通过构建突变体也取得了很大的进展,可见Lovley的综述^[1]。

3 异化Fe(III)还原研究的意义及其展望

由于异化Fe(III)还原微生物具有强大的代谢功能和适应恶劣环境的能力,它们在污染环境的生物修复中表现出强大的优势。异化Fe(III)还原微生物可以利用多种高价重金属、类金属或放射性核素作为电子受体而将其还原,一旦被还原这些重金属或放射性核素就会形成沉淀,或与Fe(II)形成共沉淀而被固定,或因还原而对环境的毒性降低。目前利用异化Fe(III)还原对U(VI)污染的生物修复是最为成功的。U(VI)在环境中溶解度大容易扩散,但一旦被异化Fe(III)还原微生物直接还原,或被Fe(II)还原为U(IV),它的溶解度就降低形成沉淀而被固定^[12]。和U(VI)类似,Tc(VII)一旦被异化Fe(III)还原微生物或Fe(II)还原,就会形成TcO₂而被固定。曲东等人发现,向厌氧培养的水稻土中添加外源水铁矿可促进Cr(VI)的还原解毒,在这一过程中Cr(VI)的还原是由Fe(II)提供电子的^[13]。Bernad等人发现*Geobacter metallireducens*可利用乙酸盐将V(V)还原为V(IV)而沉淀下来,这一过程用在地下水V(IV)的去除中效果非常好^[14]。异化Fe(III)还原过程还可促进苯及其衍生物的氧化和降解,有机氯污染物的还原脱氯,以及复杂的染料分子的降解。此外曲东发现向水稻土中添加Fe(III)氧化物可强烈抑制甲烷的产生^[15],不同

Fe (III) 氧化物对产甲烷的抑制程度不同, 这和它们被微生物还原的难易程度有关^[16]。

发现所有嗜高温微生物都可以组成型的还原 Fe (III), 使得人们相信地球早期的微生物都具有还原 Fe (III) 的能力, 因为嗜高温微生物是现存的与最近的现代生命共同祖先 (the last common ancestors of modern life, LCA) 关系最为密切的生物。因此加强异化 Fe (III) 还原研究对于揭示地球早期生命的能量代谢特征, 研究生命进化具有重要意义^[2]。

此外一些异化 Fe (III) 还原微生物, 可将电子直接传递到金属氧化物表面, 因此在开发微生物电池, 清洁能源的生产过程中具有重要的潜力。人们已经从一些异化 Fe (III) 还原微生物中筛选出了具有较高转化效率的菌株^[6]。相信随着对异化 Fe (III) 还原微生物电子转移特性及电子利用特征研究的深入, 以及生物技术的发展, 异化 Fe (III) 还原微生物在高效、实用生物电池的研究中必然发挥着更重要的作用。

有关异化 Fe (III) 还原的研究, 国外从 20 世纪 70 ~ 80 年代已经开始, 至今在 Fe (III) 还原微生物的分离、分类、生理代谢、以及系统进化方面做了大量有影响的原创性工作, 而这些研究成果多数出自于 Lovley 实验室。该实验室目前将异化 Fe (III) 还原的研究定位在微生物基因组及系统生物学、微生物电池、生物修复及极端微生物 4 个方面, 注重的是基础研究, 以及在能源、环境等领域具有重要应用价值的前沿性研究^[17]。国内有关异化 Fe (III) 还原的研究, 从 2000 年前后才开始, 处于起步阶段。主要围绕着污染环境的生物修复, 研究了 Fe (III) 还原抑制甲烷气体产生的机理, Fe (III) 还原对水稻土中磷素形态的影响, 并针对 Fe (III) 还原的调控做了一些工作。今后的工作还需要围绕着影响异化 Fe (III) 还原的环境因子和营养条件, 结合水稻田栽培管理、人工湿地系统、污水处理的运转特点, 加强调控异化 Fe (III) 还原的研究。由于这一工作涉及到土壤学、微生物学、栽培学、环境科学及工程学等许多学科, 希望相关研究人员能予以重视, 共同努力, 加强学科之间的交流与交叉。

参 考 文 献

[1] Lovley D R, Holmes D E, Kelly P N. *Advance in Microbiology Physiology*, 2004, **49**: 119 ~ 186.

[2] Vargas M, Kashefi K, Blunt-Harris, E L, *et al.* *Naure*, 1998, **395**: 65 ~ 67.

[3] Tor J M, Lovley D R. *Environ Microbiol*, 2001, **3**: 281 ~ 287.

[4] Kashefi K, Holmes D E, Reysenbach A L, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**: 1735 ~ 1742.

[5] Lin W C, Coppi M V, Lovley D R. *Appl Environ Microbiol*, 2004, **70**: 2525 ~ 2528.

[6] Chaudhuri S K, Lovley D R. *Nature*, 2003, **21** (10): 1229 ~ 1232.

[7] Kusel K, Dorsch T, Acker G, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 1999, **65**: 3633 ~ 3640.

[8] Bazylinski D A, Dean A J, Schuler D, *et al.* *Environ Microbiol*, 2000, **2**: 266 ~ 273.

[9] Daly, M J, Ouyang L, Fuchs P, *et al.* *J Bacteriol*, 1994, **176**: 3508 ~ 3517.

[10] Newman D K, Kolter R A. *Nature*, 2000, **405**: 94 ~ 97.

[11] Reguera G, McCarthy K D, Mehta T, *et al.* *Nature*, 2005, **435**: 1098 ~ 1101.

[12] Anderson R T, Vrionis H A, Ortiz-Bernard, C T, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 2003, **69**: 5884 ~ 5891.

[13] 曲 东, 毛 晖, 曾 辰. *西北农林科技大学学报 (自然科学版)*, 2004, **32** (6): 43 ~ 46.

[14] Bernad I O, Anderson R T, Vrionis H A, *et al.* *Appl Environ Microbiol*, 2004, **70** (5): 3091 ~ 3095.

[15] 曲 东, Schnell S. *环境科学学报*, 2002, **22** (1): 65 ~ 69.

[16] 曲 东, Schnell S. *微生物学报*, 2001, **41** (6): 744 ~ 749.

[17] [www. geobacter. org](http://www.geobacter.org)