

硝酸盐型厌氧铁氧化菌的种类、分布和特性

王茹 郑平* 张萌 赵和平 周晓馨

(浙江大学 环境与资源学院 浙江 杭州 310013)

摘要: 硝酸盐型厌氧铁氧化(NAFO)是指微生物在厌氧条件下利用硝酸盐或亚硝酸盐作为电子受体,将低价铁(二价铁或零价铁)氧化为高价铁(三价铁)的过程。具有NAFO代谢能力的微生物称为硝酸盐型厌氧铁氧化菌(NAFOM)。NAFO是微生物领域的重大发现,也是环境领域开发新型脱氮技术和地学领域研究铁、氮循环的理论依据。整理文献报道的NAFOM资料,分析NAFOM系统发育性状,探讨典型NAFOM的生态分布及其营养、代谢特性,以期为NAFOM菌种资源的开发、地球铁素和氮素循环的研究、NAFO过程的优化提供借鉴。

关键词: 硝酸盐型厌氧铁氧化菌, 种属分类, 生态分布, 营养代谢

Nitrate-dependent anaerobic ferrous/iron oxidation microorganism: review on its species, distribution and characteristics

WANG Ru ZHENG Ping* ZHANG Meng ZHAO He-Ping ZHOU Xiao-Xin

(College of Environmental & Resource Sciences, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310013, China)

Abstract: The process of nitrate-dependent anaerobic ferrous/iron oxidation (NAFO) is performed by specific microorganism, called nitrate-dependent anaerobic ferrous/iron oxidation microorganism (NAFOM), with nitrate/nitrite as electron acceptor and ferrous/iron as electron donor in anaerobic conditions. The discovery of NAFO is of great significance for the exploration of new microbial resources, the development of new denitrification techniques, and the new insight into Fe and N cycle in geoscience. In this paper, literatures about NAFO in recent decades were reviewed to analysis phylogeny, distribution, nutrition and metabolism of NAFOM. All the analysis aim at providing basis for discovering new NAFOM species, researching Fe and N cycle and optimizing NAFO process.

Keywords: Nitrate-dependent anaerobic ferrous/iron oxidation microorganism, Phylogeny, Distribution, Nutrition metabolism

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 51278457); 国家科技支撑计划项目(No. 2013BAD21B04); 浙江省创新团队项目(No. 2013TD12)

*通讯作者: Tel: 86-571-88982339; 信箱: pzheng@zju.edu.cn

收稿日期: 2015-03-12; 接受日期: 2015-05-25; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2015-06-02

1996年,德国学者 Straub 等在溪流、城市沟渠等水体沉积物中观察到以硝酸盐为电子受体的铁氧化现象,称之为硝酸盐型厌氧铁氧化(Nitrate-dependent anaerobic ferrous/iron oxidation, NAFO);经过分离纯化,获得了具有 NAFO 能力的纯培养物,称之为硝酸盐型厌氧铁氧化菌(Nitrate-dependent anaerobic ferrous/iron oxidation microorganism, NAFOM)^[1]。在此后 20 年的持续研究中发现,这类微生物广泛存在于自然界许多生境中,如淡水底泥、稻田土、海洋沉积物及地下水^[2-4]。

NAFO 的发现不仅为废水生物脱氮技术的开发提供了依据,也为 NAFOM 菌种的发掘和铁、氮循环的认识提供了新的线索^[5-7]。本文整理了近 20 年文献报道的 NAFOM 资料,从系统分类学角度探讨了 NAFOM 的种类;从自然生境和人为生境两方面阐述了 NAFOM 的分布;从营养需求和生长代谢两层次分析了 NAFOM 的特性;从工程应用和生态系统铁、氮循环两个领域展示了 NAFOM 的研究意义。研究 NAFOM 的种类、分布和特性,了解 NAFO 研究进展,以期为 NAFOM 菌种资源的开发、地球铁素和氮素循环的研究、NAFO 过程的优化提供借鉴。

1 NAFOM 种类

据文献报道,NAFOM 广泛分布于细菌域和古菌域,涉及 8 个科,10 个属(图 1)。在细菌域中,NAFOM 主要分布于变形菌门,包括 α -变形菌纲中 1 个科 1 个属、 β -变形菌纲中 3 个科 5 个属及 γ -变形菌纲中 2 个科 2 个属,同时包括放线菌纲中 1 个科 1 个属。在古菌域中,NAFOM 仅见报道于广古菌门古丸菌纲古丸菌科铁丸菌属。

NAFO 细菌多呈杆状,大小为(1.5–2.5) $\mu\text{m} \times$ (0.5–1) μm ,革兰氏阴性。NAFO 古菌 *Ferroglobus placidus* strain AEDIII2DO 为不规则球菌,表面有网格纹,直径 0.7–1.3 μm ,单生或对生,有 1–2 根鞭毛^[8]。根据对氧气的需求状况,NAFOM 可分为兼性厌氧菌和严格厌氧菌(表 1)。

2 NAFOM 分布

NAFOM 广泛分布于富含硝酸盐和亚铁盐的自然或人为生境中。

在自然生境中,已从封闭或半封闭淡水水源地地底泥样品内分离到不少 NAFOM 菌株(表 1)。这

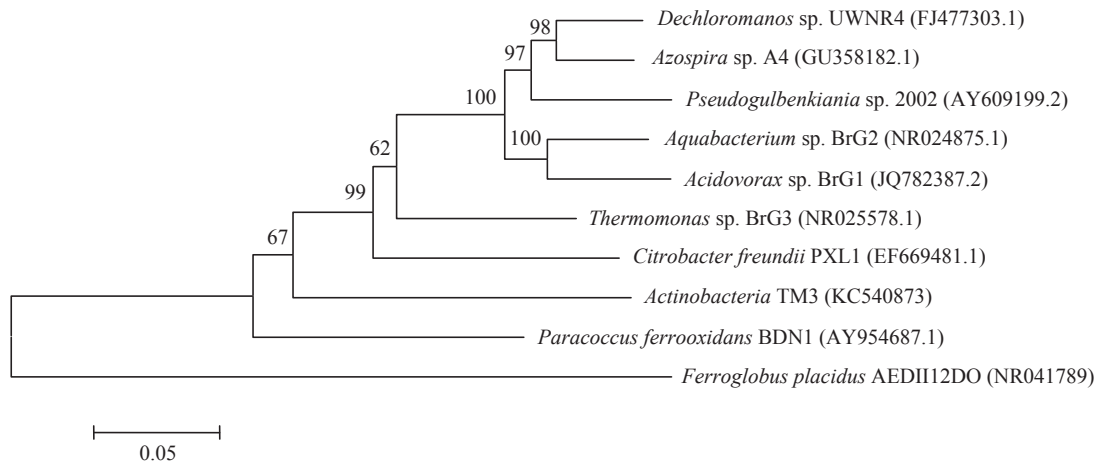


图1 硝酸盐型厌氧铁氧化菌系统发育树

Figure 1 Phylogenetic tree of NAFOM

注:括号内为菌株NCBI序列号;分支点数字为步长1 000时百分比;标尺体现生物体与序列之间差异;分支长度对应序列与序列之间差异。

Note: Serial numbers in brackets are from NCBI; Numbers at the nodes are percentages of bootstrap values based on 1 000 re-samplings; The scale bar stands for the differences between organisms and sequence; Branch lengths correspond to sequence differences as indicated by the scale bar.

表1 NAFOM 种类、特性及生境分布
Table 1 The variety and habitats of NAFOM

种属 Species	电子供体 Electron donor	电子受体 Electron acceptor	需氧型 Oxygen type	营养型 Nutrition type	生境 Habitat	参考文献 Reference
<i>Paracoccus ferrooxidans</i> strain BDN-1	[Fe(II)EDTA] ²⁻	NO ₃ ⁻ /NO ₂ ⁻	兼氧	兼养	实验室反硝化生物流化床反应器	[9]
<i>Acidovorax</i> sp. strain BoFeN1	FeCl ₂	NO ₃ ⁻ /NO ₂ ⁻	厌氧	兼养	德国康斯坦茨湖沿岸底泥沉积物	[10-11]
<i>Acidovorax</i> sp. strain 2AN	[Fe(II)EDTA] ²⁻	NO ₃ ⁻	厌氧	兼养	实验室缺氧序批式反应器	[12-13]
<i>Acidovorax</i> sp. strain BrG1	FeSO ₄	NO ₃ ⁻ /NO ₂ ⁻ /N ₂ O	兼氧	兼养	德国淡水沟渠、溪流和池塘底泥	[1,14-15]
<i>Aquabacterium</i> sp. strain BrG2	FeSO ₄	NO ₃ ⁻ /NO ₂ ⁻ /N ₂ O	兼氧	兼养	德国淡水沟渠、溪流和池塘底泥	[1,14-15]
<i>Pseudogulbenkiania</i> sp. strain 2002	FeCl ₂	NO ₃ ⁻	厌氧	兼养	美国南伊利诺伊斯大学卡本代尔分校淡水湖底泥	[16-17]
<i>Azospira</i> sp. strain TR1	FeSO ₄	NO ₃ ⁻	厌氧	自养	加拿大不列颠哥伦比亚省特雷尔某环境修复现场	[18]
<i>Dechloromonas</i> sp. strain UWNR4	[Fe(II)EDTA] ²⁻	NO ₃ ⁻	厌氧	兼养	美国威斯康星河河水底泥	[10,19]
<i>Acidovorax</i> sp. strain BrG3	FeSO ₄	NO ₃ ⁻ /NO ₂ ⁻	兼氧	兼养	德国淡水沟渠、溪流和池塘底泥	[1,14-15]
<i>Citrobacter freundii</i> strain PXL1	FeCl ₂	NO ₃ ⁻	厌氧	自养	乌鲁木齐河东污水处理厂	[20]
<i>Actinobacteria</i> strain TM3	FeCl ₂	NO ₃ ⁻	厌氧	自养	德国勃兰登堡梅克伦堡湖区底泥沉积物	[21]
<i>Ferroglobus placidus</i> strain AEDII12DO	FeS	NO ₃ ⁻	厌氧	自养	意大利火山岛附近的浅滩沉积物	[8]

类生境与水体的物质交流较少,生态条件相对稳定,缺氧但富含硝酸盐和亚铁盐,适合 NAFOM 生活;由于处于淡水环境中,这类 NAFOM 大多不耐盐(<4.5% NaCl)。Actinobacteria strain TM3 分离自德国勃兰登堡梅克伦堡湖区 Grosse Fuchskuhle 湖,因接纳临近沼泽地的部分沼液,湖水呈酸性(pH 4.5),底泥中富含腐殖酸、硝酸盐(2 μmol/L)和亚铁盐(3-40 μmol/L)^[21]。

在人为生境中,已从废弃物处理系统的活性污

泥样品内分离到 NAFOM 菌株。*Paracoccus ferrooxidans* strain BDN-1 分离自生物脱氮流化床反应器^[9]; *Acidovorax* sp. strain 2AN 分离自序批式生物铁氧化反应器^[11]。*Azospira* sp. strain TR1 分离自某工业垃圾填埋场渗滤液污染环境修复现场^[18]。

迄今为止,文献报道的硝酸盐型厌氧铁氧化古菌只有 1 株,即 *Archaeoglobaceae ferroglobus placidus* strain AEDII12DO,它分离于意大利火山岛附近的浅滩沉积物中,沉积物温度为 95 °C, pH 为 7.0,

铁氧化物含量丰富^[8]。

3 NAFOM 特性

3.1 营养特性

就能源需求而言, NAFOM属化能营养型。自养NAFOM通过氧化二价铁获取能量; 兼养NAFOM通过氧化二价铁或有机物获取能量。

就碳源需求而言, NAFOM属兼性营养型。自养NAFOM以碳酸氢盐^[20]或二氧化碳^[8]为碳源; 兼养NAFOM碳源广泛, 包括以甲醇、乳糖等为代表的有机物^[16]和以碳酸氢盐、二氧化碳等为代表的无

机物^[10]。

就氮源需求而言, NAFOM可利用硝酸盐、亚硝酸盐等无机态氮源, 少部分可利用一氧化二氮为氮源^[1,14]; 多数NAFOM还可利用组氨酸、丝氨酸和天冬氨酸等有机态氮源^[12-13]。

部分兼养 NAFOM 的有机物利用性能见表 2。

NAFOM将2价铁氧化成3价铁, 后者以致密氧化物或氢氧化物形式聚集在细胞表面^[22]。图2所示为本课题获得的NAFOM表面覆盖铁沉积物照片。胞外堆积的铁氧化物或氢氧化铁可阻碍细胞与外

表 2 部分 NAFOM 的有机物利用性能
Table 2 Utilization of organics by NAFOM

有机物 Items	菌株 Strains						
	BrG1	BrG2	BrG3	2AN	BDN1	BoFeN1	2002
乙酸盐 Acetate	+	+	+	NM	+	+	NM
丙酸盐 Propionate	+	+	-	NM	+	+	NM
丁酸盐 Butyrate	+	+	-	NM	NM	+	NM
苹果酸盐 Malate	+	+	-	+	NM	+	NM
柠檬酸盐 Citrate	+	-	-	+	-	-	NM
延胡索酸盐 Fumarate	+	+	-	+	NM	+	NM
琥珀酸盐 Succinate	+	+	-	NM	+	+	NM
甲醇 Methanol	NM	NM	NM	NM	+	NM	NM
乙醇 Ethanol	+	+	-	NM	NM	+	NM
正丙醇 1-Propanol	+	+	-	NM	NM	+	NM
葡萄糖 Glucose	-	-	+	NM	+	-	+
果糖 Fructose	-	-	NM	NM	+	-	NM
乳糖 Lactose	NM	NM	NM	NM	-	NM	NM
麦芽糖 Maltose	-	-	+	NM	NM		+
丝氨酸 Serine	-	-	+	NM	+	NM	NM
组氨酸 Histidine	NM	NM	NM	NM	+	NM	NM
天门冬氨酸 Aspartate	+	-	+	NM	NM	NM	NM
谷氨酸盐 Glutamate	+	-	+	NM	NM	NM	NM
甘油 Glycerinum	NM	NM	NM	NM	NM	-	NM

注: NM: 文献中未提及; +: 阳性; -: 阴性。

Note: NM: Not mentioned; +: Positive; -: Negative.

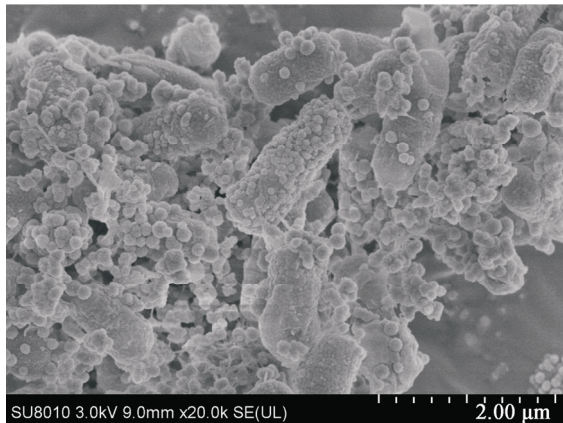


图2 NAFOM 扫描电镜照片
Figure 2 Scanning electron micrographs of NAFOM

界的物质交流以及细胞与细胞之间的信息交流，从而影响NAFOM生长和NAFO活性。

为维持生长，NAFOM 可去除细胞表面的 3 价铁，其机制有多种：(1) 通过提高细胞表面正电荷数，与胞外 3 价铁形成排斥作用，使 3 价铁远离细胞壁，避免 3 价铁在细胞表面形成固态沉积物^[22](图 3A)；(2) 通过质子泵泵出质子，产生微酸性环境，使近细胞壁的 3 价铁呈溶解态，当 3 价铁远离细胞

壁时，在中性溶液中形成 3 价铁氧化物或氢氧化物沉淀^[23-24](图 3B)；(3) 释放有机配体，与 3 价铁形成可溶性复合物，避免 3 价铁沉积^[25](图 3C)。

3.2 代谢特性

NAFO 过程的电子供体为 Fe^{2+} ，其化学形态有 $[\text{Fe}(\text{II})\text{EDTA}]^{2-}$ 、 FeCO_3 、 FeCl_2 、 FeS 和 FeSO_4 等；电子受体为 NO_3^- 和 NO_2^- ，其化学形态有 NaNO_3 、 KNO_3 、 NaNO_2 和 KNO_2 等。

根据氧化还原电位(图4)， $\text{NO}_3^-/\frac{1}{2}\text{N}_2$ 的标准电极电位高出 $[\text{Fe}(\text{OH})_3/\text{Fe}^{2+}]$ (0.699 V)， $\text{NO}_2^-/\frac{1}{2}\text{N}_2$ 的标准电极电位高出 $[\text{Fe}(\text{OH})_3/\text{Fe}^{2+}]$ (0.268 V)。从电对势能看，NAFO 过程为正向电子传递，微生物可从 NAFO 过程获取能量。

亚铁型反硝化反应的电极电位较之乙酸型异养反硝化低 0.267 V，较之氢气型、甲烷型、硫化物型自养反硝化分别低 0.400、0.238、0.210 V。而铁型反硝化则具有强大电极电位优势，较之乙酸型异养反硝化高 0.152 V，较之氢气型、甲烷型、硫化物型自养反硝化分别高 0.019、0.181、0.209 V。就电极电位角度而言，铁型反硝化过程更易发生。

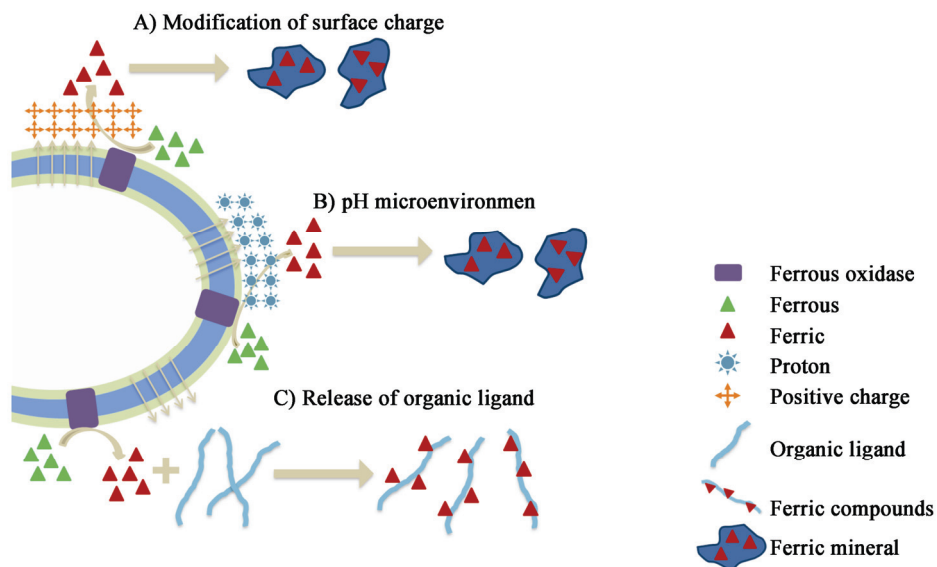


图3 NAFOM 对 Fe^{3+} 的迁移机理
Figure 3 Fe^{3+} transportation mechanism by NAFOM

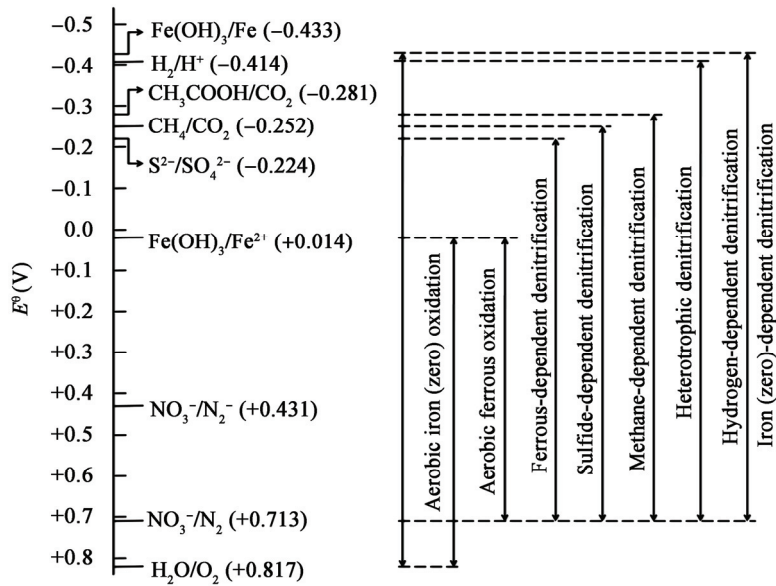
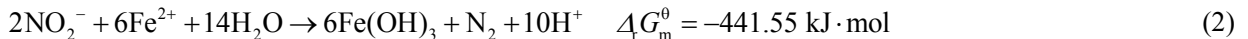
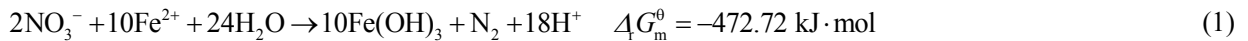


图 4 电子供体与电子受体的氧还电位

Figure 4 Redox potential electron donors and acceptors



根据化学反应方程式(1)和(2), 反应物 $\text{NO}_3^-/\text{Fe}^{2+}$ (M/M)为1:5, $\text{NO}_2^-/\text{Fe}^{2+}$ (M/M)为1:3。反应产物多为氢氧化铁和氮气。反应吉布斯自由能小于零, 化学反应能自发发生, 产生的能量可供微生物代谢。

表3列出部分NAFOM的NAFO活性。对于兼性能自养NAFOM, 添加有机物可促进NAFO活性, 例如, 添加乙酸盐($\leq 1 \text{ mmol/L}$), *Acidovorax* sp. strain BrG1的亚铁转化速率提升4倍^[1]; 添加富马酸($\leq 0.5 \text{ mmol/L}$), *Aquabacterium* sp. strain BrG2的亚铁转化速率提升3倍^[1]; 添加0.5–1.0 mmol/L乙酸盐, *Acidovorax* sp. strain 2AN可长效、连续进行NAFO反应^[12]。

有关有机物对NAFOM活性的刺激效应, 2009年Weber等提出了“共基质”的解释^[17]。有机物充足时, 有机物作为“第一基质”, 为NAFOM生长提供碳源及能源, 亚铁作为“第二基质”, 为微生物生长提供能源, 丰富的碳源和能源有利于NAFOM生

长及NAFO活性提高; 有机物匮乏时, NAFOM只能氧化亚铁获得能量, NAFOM生长缓慢, NAFO活性降低。

4 NAFOM应用

4.1 废水处理

与传统异养反硝化过程相比, NAFO利用低价铁作为电子供体进行反硝化, 具有经济成本低、二次污染少、且不产生温室气体等优势。将NAFO作为一种新型技术应用于废水脱氮处理, 具有工程价值和前景。NAFO工艺处于研发初期, 目前只见实验室NAFO小试报道。张萌等还以造纸厂IC反应器厌氧消化污泥作为接种源, 采用模拟废水运行NAFO反应器, 取得良好成效, 稳定运行时硝氮和亚铁的去除率分别为 $45.63\% \pm 3.31\%$ 和 $43.94\% \pm 3.55\%$, 容积负荷和容积去除速率分别为 $0.159 \pm 0.01 \text{ kg N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ 和 $0.073 \pm 0.01 \text{ kg N}/(\text{m}^3 \cdot \text{d})$ ^[26]。

此外, 学者还研究了异养反硝化菌和厌氧氨氧

表3 部分 NAFOM 的 NAFO 活性
Table 3 NAFO variety of NAFOM

种属 Species	硝氮浓度 Nitrate concentration (mmol/L)	亚铁浓度 Ferrous concentration (mmol/L)	反应时间 Reaction time (d)	硝氮去除 Nitrate removal (%)	亚铁去除 Ferrous removal (%)	有机物添加 Organic added (mmol/L)
<i>Acidovorax</i> sp. strain BrG1	4.0	10.0	8	50.0	58.0	0.5 乙酸盐
<i>Aquabacterium</i> sp. strain BrG2	4.0	10.0	21	100.0	83.0	无有机物添加
<i>Dechloromonas</i> sp. strain UWNR4	4.7	6.1	3	51.1	88.5	1.2 乙酸盐
<i>Acidovorax</i> sp. strain 2AN	5.0	8.0	7	43.8	90.0	1.6 乙酸盐
<i>Paracoccus ferrooxidans</i> strain BDN-1	5.0	25.0	2-3	NM	100.0	1 乙醇
<i>Acidovorax</i> sp. strain BoFeN1	5.0	2.0	6	100.0	100.0	2 乙酸盐
<i>Pseudogulbenkiania</i> sp. strain 2002	2.3	10.0	7	16.1	24.5	0.1 乙酸盐
<i>Azospira</i> sp. strain TR1	4.0	10.0	18	NM	70.0	无有机物添加
<i>Citrobacter freundii</i> sp. strain PXL1	9.5	3.4	3	30.0	85.0	无有机物添加

Note: NM: Not mentioned.

化菌参与的 NAFO 反应。Wang 等首次报道了异养反硝化活性污泥具有 NAFO 活性^[27], Zhang 等研究了理化性质, 如 Fe/N、温度以及起始 pH 等, 对该反硝化颗粒污泥 NAFO 活性的影响^[28]。Oshiki 等研究了厌氧氨氧化菌的 NAFO 活性, 厌氧氨氧化菌 *Candidatus brocadia sinica* 富集培养物对亚铁的氧化速率为 $3.7 \pm 1.2 \mu\text{mol}/(\text{g protein} \cdot \text{min})$, 对硝氮的还原速率为 $1.3 \pm 0.1 \mu\text{mol}/(\text{g protein} \cdot \text{min})$ ^[29]。

NAFO 作为一种新型废水脱氮技术, 不仅实现废水自养脱氮目的, 其反应产物三价铁还可作为高效废水除磷絮凝剂, 同步实现废水脱氮除磷。针对含氮含磷废水, 如生活污水和养殖废水等, 研发 NAFO 技术, 将大大缩减处理成本, 具有非常可观的经济价值。

4.2 生态研究

地壳中铁元素含量丰富, 广泛存在于淡水、海水及各种矿物中, 铁氧化菌和铁还原菌参与的地壳铁循环已逐步为人们所熟识^[30-31]。氮化合物种类多

样, 包括呈溶解态的硝酸盐和亚硝酸盐, 和呈气态的氮气和氮氧化物, 微生物参与的地壳氮循环也已探究透彻^[32-33]。传统意义上讲, 铁循环和氮循环被认为是两个独立的过程, 并无交集。然而, NAFO 的发现却让我们认识到一种新的地壳铁氮循环方式。NAFOM 通过氧化亚铁获取生存生长能量, 以硝酸盐作为电子受体进行厌氧呼吸, 其在自然界氮、铁循环中发挥至关重要作用, 研究 NAFOM 有助于进一步认识地球物质循环, 探明 NAFOM 代谢机理有助于了解古生物耦合硝酸盐还原和亚铁氧化的过程特性^[34-35]。

此外, 研究 NAFOM 还有助于探明前寒武世纪铁地质层形成机理, 有助于探索火星等铁矿丰富的外星球上是否存在生命现象^[36-37]。

5 小结与展望

NAFOM 是以低价铁作为电子供体的反硝化作用, 它是微生物领域的重大发现。研究 NAFOM 有助于发掘反硝化新种, 丰富反硝化菌种资源库; 有

助于探明微生物氮还原和铁氧化的代谢途径, 丰富微生物生理学知识; 有助于了解地球铁、氮循环及微生物进化史; 有助于开发新型废水脱氮技术, 促进污染环境的生物修复。

然而, 目前国内外对 NAFOM 的研究还处于起步阶段, 国外学者多围绕 NAFOM 参与的地球铁、氮循环展开研究, 未涉及 NAFOM 的代谢机理及水处理工程应用; 国内学者多围绕铁盐耦合反硝化进行废水脱氮技术研究, 未曾对 NAFOM 的铁盐脱氮机理及反应条件优化等方面进行探索^[38-40]。笔者认为, NAFO 虽具有巨大的潜在应用价值, 但离工程应用还有很大差距。今后研究工作的重点应放在 NAFO 高效菌株的分离筛选及生长代谢特性研究, NAFO 过程机理及反应条件优化, NAFO 小试装置的设计研发及运行调试等。

参 考 文 献

- [1] Straub KL, Benz M, Schink B, et al. Anaerobic, nitrate-dependent microbial oxidation of ferrous iron[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1996, 62(4): 1458-1460
- [2] Hauck S, Benz M, Brune A, et al. Ferrous iron oxidation by denitrifying bacteria in profundal sediments of a deep lake (Lake Constance)[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2001, 37(2): 127-134
- [3] Hegler F, Losekann-Behrens T, Hanselmann K, et al. Influence of seasonal and geochemical changes on the geomicrobiology of an iron carbonate mineral water spring[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2012, 78(20): 7185-7196
- [4] Jorgensen CJ, Jacobsen OS, Elberling B, et al. Microbial oxidation of pyrite coupled to nitrate reduction in anoxic groundwater sediment[J]. *Environmental Science Technology*, 2009, 43(13): 4851-4857
- [5] Zhang M, Zheng P, Ji JY. Research advances on anaerobic ferrous-oxidizing microorganisms[J]. *Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(8): 2377-2382 (in Chinese)
张萌, 郑平, 季军远. 厌氧铁氧化菌研究进展[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(8): 2377-2382
- [6] Zhang M, Zheng P. Clarification, habitat and enrichment technique of Fe(II)-oxidizing microorganisms[J]. *Bulletin of Science and Technology*, 2012, 28(11): 72-76, 152 (in Chinese)
张萌, 郑平. 铁氧化菌的类型、生境及富集培养方法[J]. *科技通报*, 2012, 28(11): 72-76, 152
- [7] Wang HY, Zhang HN, Lü B, et al. Research on nitrate removal by Fe-dependent autotrophic denitrification bacteria[J]. *China Rural Water and Hydropower*, 2014(11): 59-62 (in Chinese)
王弘宇, 张惠宁, 吕斌, 等. 铁基质自养反硝化去除水中硝酸盐污染物的研究[J]. *中国农村水利水电*, 2014(11): 59-62
- [8] Hafenbradl D, Keller M, Dirmeier R, et al. *Ferroglobus placidus* gen. nov., sp. nov., a novel hyperthermophilic archaeum that oxidizes Fe²⁺ at neutral pH under anoxic conditions[J]. *Archives of Microbiology*, 1996, 166(5): 308-314
- [9] Kumaraswamy R, Sjollem K, Kuenen G, et al. Nitrate-dependent [Fe(II)EDTA]²⁻ oxidation by *Paracoccus ferrooxidans* sp. nov., isolated from a denitrifying bioreactor[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2006, 29(4): 276-286
- [10] Kappler A, Schink B, Newman DK. Fe(III) mineral formation and cell encrustation by the nitrate-dependent Fe(II)-oxidizer strain BoFeN1[J]. *Geobiology*, 2005, 3(4): 235-245
- [11] Miot J, Benzerara K, Morin G, et al. Iron biomineralization by anaerobic neutrophilic iron-oxidizing bacteria[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2009, 73(3): 696-711
- [12] Chakraborty A, Roden EE, Schieber J, et al. Enhanced growth of *Acidovorax* sp. strain 2AN during nitrate-dependent Fe(II) oxidation in batch and continuous-flow systems[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(24): 8548-8556
- [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] Straub KL, Buchholz-Cleven BEE. Enumeration and detection of anaerobic ferrous iron-oxidizing, nitrate-reducing bacteria from diverse European sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64(12): 4846-4856
- [15] Straub KL, Schönhuber WA, Buchholz-Cleven BE, et al. Diversity of ferrous iron-oxidizing, nitrate-reducing bacteria and their involvement in oxygen-independent iron cycling[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2004, 21(6): 371-378
- [16] Weber KA, Pollock J, Cole KA, 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
- [17] Weber KA, Hedrick DB, Peacock AD, et al. Physiological and taxonomic description of the novel autotrophic, metal oxidizing bacterium, *Pseudogulbenkiania* sp. strain 2002[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 83(3): 555-565
- [18] Mattes A, Gould D, Taupp M, et al. A novel autotrophic bacterium isolated from an engineered wetland system links nitrate-coupled iron oxidation to the removal of As, Zn and S[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2013, 224(4): 1-15
- [19] Chakraborty A, Picardal F. Neutrophilic, nitrate-dependent, Fe(II) oxidation by a *Dechloromonas* species[J]. *World Journal of Microbiol Biotechnol*, 2013, 29(4): 617-623
- [20] Li B, Tian C, Zhang D, et al. Anaerobic nitrate-dependent iron (II) oxidation by a novel autotrophic bacterium, *Citrobacter freundii* strain PXL1[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2014, 31(2): 138-144
- [21] Kanaparthi D, Pommerenke B, Casper P, et al. Chemolithotrophic nitrate-dependent Fe(II)-oxidizing nature of actinobacterial subdivision lineage TM3[J]. *ISME Journal*, 2013, 7(8): 1582-94
- [22] Schädler S, Burkhardt C, Hegler F, et al. Formation of cell-iron-mineral aggregates by phototrophic and nitrate-reducing anaerobic Fe(II)-oxidizing bacteria[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2009, 26(2): 93-103
- [23] Urrutia MM, Kemper M, Doyle R, et al. The membrane-induced proton motive force influences the metal binding ability of *Bacillus subtilis* cell walls[J]. *Applied Environmental and Microbiology*, 1992, 58(12): 3837-3844
- [24] Johnson KJ, Ams DA, Wedel AN, et al. The impact of metabolic state on Cd adsorption onto bacterial cells[J]. *Geobiology*, 2007, 5(3): 211-218
- [25] Kappler A, Newman DK. Formation of Fe(III)-Minerals by Fe(II)-oxidizing photoautotrophic bacteria[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2004, 68(6): 1217-1226
- [26] Zhang M, Zheng P, Li W, et al. Performance of nitrate-dependent anaerobic ferrous oxidizing (NAFO) process: A novel prospective technology for autotrophic denitrification[J]. *Bioresource Technology*, 2015, 179: 543-548
- [27] Wang R, Zheng P, Xing YJ, et al. Anaerobic ferrous oxidation by heterotrophic denitrifying enriched culture[J]. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2014, 41(5): 803-809

- [28] Zhang M, Zheng P, Wang R, et al. Nitrate-dependent anaerobic ferrous oxidation (NAFO) by denitrifying bacteria: a perspective autotrophic nitrogen pollution control technology[J]. *Chemosphere*, 2014, 117: 604-609
- [29] Oshiki M, Ishii S, Yoshida K, et al. Nitrate-dependent ferrous iron oxidation by anaerobic ammonium oxidation (anammox) bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(13): 4087-4093
- [30] Hedrich S, Schlömann M, Johnson DB. The iron-oxidizing proteobacteria[J]. *Microbiology*, 2011, 157(6): 1551-1564
- [31] Kappler A, Straub KL. Geomicrobiological cycling of iron[J]. *Molecular Geomicrobiology*, 2005, 59(1): 85-108
- [32] Sparacino-Watkins C, Stolz JF, Basu P. Nitrate and periplasmic nitrate reductases[J]. *Chemical Society Reviews*, 2014, 43(2): 676-706
- [33] Zumft WG. Cell biology and molecular basis of denitrification[J]. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 1997, 61(4): 533-616
- [34] Weber KA, Achenbach LA, Coates JD. Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4: 752-764
- [35] Muehe EM, Gerhardt S, Schink B, et al. Ecophysiology and the energetic benefit of mixotrophic Fe(II) oxidation by various strains of nitrate-reducing bacteria[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2009, 70(3): 335-343
- [36] Ghiorse WC. Biology of iron-and manganese-depositing bacteria[J]. *Annual Review of Microbiology*, 1984, 38: 515-550
- [37] Widdel F, Schnell S, Heising S, et al. Ferrous iron oxidation by anoxygenic phototrophic bacteria[J]. *Nature*, 1993, 362(6423): 834-836
- [38] Feng H, Liang YX, Du Y, et al. Effect of microbial redox cycling of iron on denitrification in landfill[J]. *Acta Scientiarum Circumstantiae*, 2014, 34(2): 409-416 (in Chinese)
冯欢, 梁禹翔, 杜耀, 等. 填埋场中铁的生物化学循环对反硝化的影响[J]. *环境科学学报*, 2014, 34(2): 409-416
- [39] Shen DS, Li WB, Yao J, et al. Microbial-mediated anaerobic oxidation of ferrous iron and its mechanism to remediate contaminated environments[J]. *Journal of Zhejiang University*, 2011, 37(1): 112-118 (in Chinese)
沈东升, 李文兵, 姚俊, 等. 亚铁厌氧微生物氧化及其在环境污染修复中的作用机制[J]. *浙江大学学报*, 2011, 37(1): 112-118
- [40] Wang X, Li TL, Dong MY, et al. Reducing nitrate in groundwater by stabilized iron nanoparticles and denitrifying bacteria[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(4): 739-745 (in Chinese)
王学, 李铁龙, 东美英, 等. 稳定纳米铁与反硝化菌耦合去除地下水中硝酸盐的研究[J]. *农业环境科学学报*, 2011, 30(4): 739-745

科技信息摘录

微生物所在链霉菌启动子元件和内参基因研究中获进展

链霉菌是重要的抗生素产生菌,对链霉菌进行代谢工程和合成生物学改造需要大量不同强度的启动子元件。然而,前期链霉菌只有一个组成型启动子 *ermEp** 被广泛应用。中国科学院微生物研究所杨克迁课题组在 2013 年开发了活性明显高于 *ermEp** 的强启动子 *kasOp** (*Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(14): 4484-4492)。目前, *kasOp** 已经被提供给多个国内外的链霉菌研究组使用,同时也在该所张立新课题组和娄春波课题组的相关工作中得到应用(*Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(39): 12181-12186)。

为了得到具有不同序列、不同强度特征系列组成型启动子,杨克迁课题组从天蓝色链霉菌不同培养条件下的时序转录组数据出发,经过一系列理性的分析筛选和实验验证,获得了 166 个不同强度的组成型启动子。这些启动子将为链霉菌合成生物学研究提供元件支撑。相关工作发表在“*Microbial Cell Factories*”。

另外,转录水平的相对定量分析是链霉菌基础和应用研究的必要环节。最近有若干文献报道看家 *sigma* 因子 *hrdB* 基因的转录水平是生长依赖的,不是理想的内参基因。杨克迁课题组结合不同培养条件下的时序转录组数据和后续的同源分析、内源外源扰动分析、功能分析和转录丰度分析,得到若干内参基因;进一步通过对候选内参基因转录水平的实验和普适性验证,鉴定得到了 5 个有普适性和不同表达丰度特征的内参基因。这些内参基因能够满足链霉菌中不同转录强度目的基因的转录本相对定量分析;它们协同使用将会显著提高转录分析的数据质量。相关文章发表在“*Scientific Reports*”。

——摘自《中国生物技术信息网》2015-11-12
<http://www.biotech.org.cn/information/137708>