



# 黄河滩地和稻田土中铁还原菌、不产氧光合细菌分布机制

田莹莹<sup>1\*</sup>, 王强<sup>2</sup>, 赵京<sup>1</sup>, 孙向辉<sup>1</sup>, 姬燕培<sup>1</sup>

1 河南工学院材料科学与工程学院, 河南 新乡 453003

2 河南大学 作物逆境适应与改良国家重点实验室, 河南 开封 475001

田莹莹, 王强, 赵京, 孙向辉, 姬燕培. 黄河滩地和稻田土中铁还原菌、不产氧光合细菌分布机制[J]. 微生物学报, 2023, 63(2): 805-820.

TIAN Yingying, WANG Qiang, ZHAO Jing, SUN Xianghui, JI Yanpei. Distribution of ferric reducing bacteria and anoxygenic phototrophic bacteria in the Yellow River beach and paddy soil[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(2): 805-820.

**摘要:**【目的】探讨沿黄流域土壤中铁还原菌(ferric reducing bacteria, FeRB)、不产氧光合细菌(anoxygenic phototrophic bacteria, AnPB)的分布机制。【方法】以沿黄流域(原阳段)为研究对象, 采集黄河滩地和稻田土样, 利用 16S rRNA 基因高通量测序和实时荧光定量分析技术, 结合统计学分析, 揭示 FeRB、AnPB 菌群结构、丰度和主要环境影响因子。【结果】二者中的优势 FeRB 在科(属)水平为 *Hydrogenophilaceae* (*Thiobacillus*)、*Bacillaceae* (*Bacillus*)、*Clostridiaceae*、*Rhodobactereace* (*Rhodobacter*)、*Geobacteraceae* (*Geobacter*), 优势 AnPB 为 *Rhodobactereace* (*Rhodobacter*)、*Chloroflexaceae* (*Chloronema*)、*Acetobacteraceae* (*Roseomonas*)。AnPB 中 *Rhodobacteraceae* 与 FeRB 中 *Bacillaceae*、*Clostridiaceae* 的相对丰度负相关; AnPB 中 *Sphingomonadaceae* 与 *Hydrogenophilaceae*、*Clostridiaceae* 的相对丰度亦负相关。土壤硝酸盐氮( $\text{NO}_3^-$ -N)与 *Rhodobactereace* 相对丰度负相关, 与 *Geobacteraceae* 相对丰度正相关。二价铁( $\text{Fe}^{2+}$ )对 FeRB、AnPB 菌群组成的差异分别可解释 13.5%、41.8%, pH 对 FeRB、AnPB 菌群组成的差异分别可解释 65.7%、42.8%。黄河滩地总细菌(total bacteria, BAC)、地(热)杆菌[*Geo(thermo)bacter*, GEO]、光合紫细菌(phototrophic purple bacteria, PPB)的拷贝数分别为  $2.52 (\pm 3.43) \times 10^9$ 、 $5.21 (\pm 7.58) \times 10^7$ 、 $2.9 (\pm 3.70) \times 10^7$  copies/g 干土。稻田土中 BAC、GEO、PPB 拷贝数依次为  $3.82 (\pm 1.29) \times 10^{10}$ 、 $3.05 (\pm 2.44) \times 10^8$ 、 $4.31 (\pm 0.90) \times 10^8$  copies/g 干土。0–1 cm 土层中 PPB 拷贝数显著高于 1–2 cm、2–3cm 土层。

资助项目: 河南省高等学校重点科研项目(21A610003); 河南工学院博士基金项目(9001/KQ1811); 河南省科技攻关项目(202102210253, 212102310079)

This work was supported by the Henan Province Key Programs for Colleges and Universities (21A610003), the Doctoral Fund of Henan Institute of Technology (9001/KQ1811), and the Henan Province Science and Technique Program (202102210253, 212102310079).

\*Corresponding author. E-mail: [sweetty.5577@163.com](mailto:sweetty.5577@163.com)

Received: 2022-06-28; Accepted: 2022-08-18; Published online: 2022-08-30

Fe<sup>2+</sup>对 BAC、GEO、PPB 数量分布变异的解释度为 81.5%。【结论】土壤类型不同，潜在 FeRB、AnPB 物种组成不同，GEO、PPB 丰度也不同。Fe<sup>2+</sup>对 FeRB、AnPB 分布起关键驱动作用。

关键词：铁还原菌；不产氧光合细菌；稻田土；黄河滩地

## Distribution of ferric reducing bacteria and anoxygenic phototrophic bacteria in the Yellow River beach and paddy soil

TIAN Yingying<sup>1\*</sup>, WANG Qiang<sup>2</sup>, ZHAO Jing<sup>1</sup>, SUN Xianghui<sup>1</sup>, JI Yanpei<sup>1</sup>

1 College of Materials Science and Engineering, Henan Institute of Technology, Xinxiang 453003, Henan, China

2 State Key Laboratory of Crop Stress Adaptation and Improvement, Henan University, Kaifeng 475001, Henan, China

**Abstract:** [Objective] To explore the distribution of ferric reducing bacteria (FeRB) and anoxygenic phototrophic bacteria (AnPB) in the soil along the Yellow River. [Methods] Soil samples were collected from the beach and paddy fields at the Yuanyang section of the Yellow River. High-throughput sequencing of 16S rRNA gene and quantitative real-time PCR were combined with statistical analysis to reveal the structure and abundance of FeRB and AnPB and the main environmental factors affecting the bacteria. [Results] The dominant FeRB families (genera) were *Hydrogenophilaceae* (*Thiobacillus*), *Bacillaceae* (*Bacillus*), *Clostridiaceae*, *Rhodobactereace* (*Rhodobacter*) and *Geobacteraceae* (*Geobacter*). The dominant AnPB families (genera) were *Rhodobactereace* (*Rhodobacter*), *Chloroflexaceae* (*Chloronema*) and *Acetobacteraceae* (*Roseomonas*). The relative abundance of *Rhodobacteraceae* (AnPB) was negatively correlated with that of *Bacillaceae* and *Clostridiaceae* (FeRB). The relative abundance of *Sphingomonadaceae* (AnPB) was negatively correlated with that of *Hydrogenophilaceae* and *Clostridiaceae* (FeRB). Soil nitrate nitrogen (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N) was negatively correlated with the relative abundance of *Rhodobacteraceae* but positively correlated with that of *Geobacteraceae*. Ferrous ions (Fe<sup>2+</sup>) explained 13.5% and 41.8% of the community variations of FeRB and AnPB, respectively; pH explained 65.7% and 42.8%, respectively. The number of total bacteria (BAC), *Geo(thermo)bacter* (GEO) and phototrophic purple bacteria (PPB) in the Yellow River beach was 2.52 (±3.43)×10<sup>9</sup>, 5.21 (±7.58)×10<sup>7</sup> and 2.9 (±3.70)×10<sup>7</sup> copies/g dry soil, respectively, and that in the paddy soil was 3.82 (±1.29)×10<sup>10</sup>, 3.05 (±2.44)×10<sup>8</sup> and 4.31 (±0.90)×10<sup>8</sup> copies/g dry soil, respectively. Moreover, the PPB in the upmost soil layer (0–1 cm) were significantly more than those in the 1–2 cm and 2–3 cm soil layers. Fe<sup>2+</sup> explained 81.5% variations in the absolute abundance of BAC, GEO and PPB. [Conclusion] The potential community of FeRB and AnPB and the abundance of GEO and PPB varied between different soil types. Overall, Fe<sup>2+</sup> played a key role in shaping the distribution pattern of FeRB and AnPB.

**Keywords:** ferric reducing bacteria; anoxygenic phototrophic bacteria; paddy soil; the Yellow River beach

铁(Fe)是地壳中含量第四丰富的元素。Fe的氧化还原耦合着碳(C)、氮(N)、硫(S)、磷(P)等元素的转化,是地球生物化学循环重要的驱动力<sup>[1-2]</sup>。土壤和沉积环境中大量的代谢铁(Fe)微生物<sup>[3]</sup>,主要包括铁还原细菌[ferric reducing bacteria, FeRB, 如希瓦氏菌属(*Shewanella*)、地杆菌属(*Geobacter*)等,占2.8%]、光合铁氧化菌(photoferotrophic bacteria, PFeOB, 占0.2%)、微需氧铁氧化菌(占0.1%)及硝酸盐依赖铁氧化菌(占0.3%)<sup>[4]</sup>,这可能得益于环境中持续进行的铁氧化还原过程。不产氧光合细菌(anoxygenic phototrophic bacteria, AnPB)为进行光合作用不产生氧气的微生物的总称,其中PFeOB为AnPB中能利用光能氧化二价铁( $\text{Fe}^{2+}$ )还原无机二氧化碳( $\text{CO}_2$ )的类群。稻田土中FeRB、AnPB种类多样、数量丰富<sup>[5-8]</sup>,但有关稻田土中FeRB、AnPB菌群组成相关性、丰度和主要环境影响因子的研究还有待完善。

根据能量来源的不同,FeRB有呼吸型和发酵型两类。呼吸型FeRB,如地杆菌属(*Geobacter*)和厌氧粘细菌属(*Anaeromyxobacter*),能够通过还原三价铁( $\text{Fe}^{3+}$ )从有机质或 $\text{H}_2$ 氧化中获取能量;发酵型FeRB,如芽孢杆菌属(*Bacillus*)和梭菌属(*Clostridium*),在厌氧环境下代谢有机物生成有机酸或 $\text{H}_2$ ,并将少量电子传递给 $\text{Fe}^{3+}$ 使其还原和获得能量。*Geobacter*是土壤、河流底泥、入海口沉积物等各种厌氧环境中的优势微生物种群,是最早发现的能够氧化有机物同时利用 $\text{Fe}^{3+}$ 作为唯一电子受体介导Fe异化还原的FeRB<sup>[9]</sup>。FeRB在土壤有机质的转化<sup>[10-11]</sup>、有机氯污染脱氯<sup>[12]</sup>等过程中发挥着重要作用。近年来,学者们还发现以*Geobacter*、*Anaeromyxobacter*和酸微菌科细菌(*Acidimicrobiaceae* sp. A6)为代表的FeRB还能够

利用无机铵盐( $\text{NH}_4^+$ )作为电子供体还原 $\text{Fe}^{3+}$ 为 $\text{Fe}^{2+}$ ,并生成氮气( $\text{N}_2$ )、硝酸盐态氮( $\text{NO}_3^-$ -N)、亚硝酸盐态氮( $\text{NO}_2^-$ -N)中的一种或多种<sup>[13]</sup>,该过程被称为厌氧铁氨氧化(feammox)。研究报道,稻田土中发生的feammox反应以生成 $\text{N}_2$ 为主<sup>[14]</sup>,但生境不同feammox反应生成的氮的种类也不一样。

土壤中含有种类丰富多样的AnPB。稻田土干湿交替的环境适宜AnPB生存<sup>[15]</sup>。AnPB在太阳辐照作用下可以氧化 $\text{H}_2$ 、 $\text{Fe}^{2+}$ 、硫化物、单质硫等还原 $\text{CO}_2$ 自养生长。某些AnPB代谢方式灵活多样,尤以紫色硫细菌(PSB)、紫色非硫细菌(PNSB)为主,二者统称为光合紫细菌(PPB)。PPB在环境中的有机质丰富时可以光合异养生长,在有机质缺乏的环境中又可以营光合自养生长,其中PNSB对氧气有一定的耐受能力,在辐射光能到达的稻田土表层广布<sup>[16]</sup>。光辐射作用下某些AnPB以 $\text{Fe}^{2+}$ 为电子供体还原 $\text{CO}_2$ 或碳酸氢盐( $\text{HCO}_3^-$ )生长的代谢被称为光合铁氧化(PFeOx)。PFeOx过程所生成的 $\text{Fe}^{3+}$ 可为微生物异化还原。目前,已分离的PFeOB有*Rhodovulum iodolum*<sup>[17]</sup>、*Rhodopseudomonas palustris* TIE-1<sup>[18]</sup>、*Rhodobacter ferrooxidans* SW2<sup>[19]</sup>和*Chlorobium ferrooxydans*<sup>[20]</sup>,主要来自于PSB、PNSB和绿硫菌(GSB)。Ha等<sup>[21]</sup>观察到江口突柄绿菌(*Prosthecochloris aestaurii*, 属GSB)与硫还原地杆菌(*G. sulfurreducens*)之间紧密连接生长,且这种互营关系在多次传代培养过程中稳定,显示了AnPB与FeRB的互营潜力。Byrne等<sup>[22]</sup>发现,*R. palustris* TIE-1能利用光能氧化纳米磁铁矿( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ )中 $\text{Fe}^{2+}$ ,当与*G. Sulfurreducens*共培养时该反应可逆,表明高晶形化的 $\text{Fe}_3\text{O}_4$ 可同时充当电子供体和受体被微生物利用。Berg等<sup>[23]</sup>提出,PFeOB、微需氧铁氧化菌、FeRB的作用形成了低Fe湖泊水柱中活

跃而隐秘的 Fe 循环。自然界中微生物异化 Fe 还原和不产氧光合作用共存<sup>[24]</sup>, 并可能通过 Fe 循环耦联。学者们虽对 FeRB、AnPB 菌群进行了一些研究, 但对二者物种组成间的相关性较少涉及, 对影响它们的关键环境因子也不清楚。

河南省原阳县地处黄河中下游冲积平原, 是优质大米的重要产区。黄河滩地和稻田土的土壤类型、理化因子水平不同, 且都有周期性干湿交替的特性, 是解析 FeRB、AnPB 分布规律的良好材料。本研究以沿黄流域(原阳段)黄河滩地、稻田土为研究对象, 通过利用 16S rRNA 基因高通量测序、实时荧光定量分析技术, 结合统计分析, 揭示潜在 FeRB、AnPB 分布机制, 为理解沿黄流域土壤中 C、N、Fe 元素转化过程提供理论支持。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 研究区域及土壤样品的采集

所有土壤样品取自河南省原阳县黄河滩区(7°45'46"N, 118°58'40"E)附近, 采集时间为 2021 年 11 月。在黄河岸边泥沙冲击滩地采集 3 个点(S1、S2 和 S3), S1 距离地上河堤 200 m (有植被覆盖), S2 距离地上河堤 50 m (偶有淤泥), S3 为地上河堤边缘(受黄河水影响相对大)。每采样点以 1 cm 为间隔采集 3 个分层样, 以 S1 为例, 分别记为 S1\_1、S1\_2、S1\_3。在黄河滩区附近(5 km)稻田亦选取 3 个采样点 P1、P2、P3, 按上述方法取分层土样, 另选取 P2 田块旁干涸稻田排水沟渠(D1)和毗邻的稻田改作藕塘(D2, 一年龄)采集表层 1 cm 土样。共获得 20 个土样, 其中表层土样品 8 个。对所有土样中的总细菌(BAC)、地(热)杆菌(GEO)、PPB 用实时荧光定量法定量。对 8 个表土样品通过测定 16S rRNA 基因序列进行微生物多样性

分析, 所得序列号上传至国家微生物科学数据中心(<https://nmdc.cn/>), 登录号 NMDC40024174–NMDC40024181。按照土样类型、采集位置分为 2 组, 即稻田相关土壤(记为 Paddy)和河滩地土壤(记为 Sand)。所有土壤样品采集后放入无菌密封袋中运回实验室分析, 不能立即分析的按监测方法需要分别存储在 4 °C 与–80 °C 备用。

### 1.2 土壤理化性质的测定

土壤中 Fe<sup>2+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 和 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的测定采用新鲜土样, 总铁(Fe<sup>T</sup>)、总有机碳(TOC)和 pH 值的测定采用风干土样。土壤 pH 值采用电极电位法(水土比 2.5: 1)测定。土壤含水率(WC)用干燥法称重测定。土壤中 Fe<sup>T</sup>、Fe<sup>2+</sup>含量采用邻菲罗啉比色法测定<sup>[25]</sup>。土壤中 TOC 的测定采用湿式重铬酸钾分光光度法测定<sup>[26]</sup>。土壤中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 的测定采用 2 mol/L KCl 溶液浸提, 其中 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 采用靛酚蓝比色法, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 采用紫外分光光度法。

### 1.3 铁还原菌、不产氧光合细菌群落组成

本研究利用 Illumina MiSeq PE300 平台(上海美吉生物医药科技有限公司)对土壤中潜在 FeRB、AnPB 的群落组成进行分析, 所用引物为细菌 16S rRNA 基因 V3–V4 区的 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')<sup>[27]</sup>。测序完成后, 从细菌高通量测序结果中筛选出已知的 FeRB、AnPB 序列, 进行重分析。根据 E.Z.N.A. Soil DNA Kit (Omega Bio-tek)说明书抽提微生物总 DNA, 使用 NanoDrop 2000 测定 DNA 浓度和纯度。使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 的提取质量。利用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences)进行回收产物纯化, 2%琼脂糖凝胶电泳检测, 并用 Quantus Fluorometer (Promega)对回收产物进行

检测、定量。使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 进行建库。利用 Illumina MiSeq PE300 平台进行测序。使用 Fastq 软件对原始测序序列进行质控, 使用 Flash 软件进行拼接。使用 QIIME2 (v2020.2) 软件, 利用 DADA2 算法对序列进行 ASV 聚类并剔除嵌合体。基于 Silva 16S rRNA 数据库(v138), 利用 RDP classifier 贝叶斯算法对 ASV 代表序列进行物种分类学注释, 置信度阈值为 0.7, 得到物种分类学注释结果。

#### 1.4 铁还原菌、不产氧光合细菌的荧光定量

将纯化、质检后的 DNA 样本与大肠杆菌 pMD18-T 载体连接, 进行蓝白斑筛选。构建好的质粒经测序鉴定无误后用紫外分光光度计 (NanoDrop 2000) 测定质粒  $OD_{260}$  值, 通过公式换算成拷贝数。10 倍梯度稀释构建好的各质粒, 分别选取总细菌(BAC) 16S rRNA 基因(引物 338F/806R)标准品的  $10^{-2}$ – $10^{-7}$  稀释液, *Geobacteraceae*、*Geothermobacteraceae* 16S rRNA 基因[引物 Geo.564F (5'-AAGCGTTGTTTCGGA WTTAT-3')/Geo.840R (5'-GGCACTGCAGGGGT CAATA-3')<sup>[28]</sup>]的  $10^{-4}$ – $10^{-8}$  稀释液, PPB 光合反应中心 M 亚基基因[引物 pufM.557F (5'-CGCAC CTGGACTGGAC-3')/pufM.750R (5'-CCCATGG TCCAGCGCCAGAA-3')<sup>[29]</sup>]标准品的  $10^{-1}$ – $10^{-8}$

稀释液用于制备标准曲线。

#### 1.5 数据处理与统计

采用 Excel 2010 计算各试验原始数据的均值、标准差。利用 Origin 8 进行绘图。用 R 语言 Psych 数据包绘制相关性热图, 其中对土壤基础理化指标与 BAC、PPB、GEO 拷贝数作 Pearson 相关性分析, 对 FeRB、AnPB 菌群各组成物种之间及 FeRB、AnPB 菌群各组成与环境因子的相关性作 Spearman 相关性分析。对 FeRB、AnPB 群落结构, BAC、PPB、GEO 拷贝数与环境变量的关系采用 Canoco 5 软件进行冗余分析 (redundancy analysis, RDA)。

## 2 结果与分析

### 2.1 沿黄流域土壤主要理化性质

对比黄河滩地和稻田土发现, 除 WC ( $P=0.833$ ) 外, 二者的其他土壤理化因子之间均呈极显著差异 ( $P<0.001$ )。具体为, 稻田土中的  $Fe^{2+}$ 、 $Fe^T$ 、 $NH_4^+-N$ 、 $NO_3^--N$ 、TOC 含量均高于黄河滩地, 但 pH 值小于黄河滩地(表 1)。对于分层土样, 除  $NH_4^+-N$  ( $P<0.05$ ) 外, 0–1 cm、1–2 cm 和 2–3 cm 土层间的其他理化因子均无显著性差异 ( $P>0.308$ ), 这主要是所采集的样品都相对位于土壤浅表层, 土壤性质相对均匀。

表 1 黄河滩地、稻田土理化性质

Table 1 Soil physicochemical properties of the Yellow River beach and paddy soil

Soil type	Sample sites	pH	WC (%)	$Fe^{2+}$ (mg/g)	$Fe^T$ (mg/g)	$NH_4^+-N$ (g/g)	$NO_3^--N$ (g/g)	TOC (mg/g)
Sand	S1	8.63±0.38	33.72±21.89	0.14±0.10	0.81±0.25	2.04±1.74	1.13±1.05	5.49±4.58
	S2	8.53±0.10	28.10±1.92	0.37±0.03	0.94±0.14	2.79±3.21	1.21±2.10	3.83±0.33
	S3	8.80±0.17	22.09±4.10	0.25±0.01	0.76±0.06	0.65±0.64	ND	2.65±0.55
Paddy	P1	7.95±0.04	45.25±12.52	0.57±0.12	2.56±0.51	8.89±2.58	26.09±9.08	22.10±1.69
	P2	7.98±0.11	16.73±0.17	0.63±0.04	1.90±0.16	14.66±9.60	23.72±6.82	16.60±0.22
	P3	8.01±0.07	19.93±0.99	0.67±0.05	2.14±0.02	13.19±5.23	10.64±0.89	16.79±0.26
	D1	7.76	39.64	0.939	2.37	22.05	1.41	16.96
	D2	7.85	36.34	0.74	2.04	22.00	1.04	17.50

ND: Not detected. Values for S1 to P3 are mean±standard deviation of three vertical soils, depth 0–3 cm. D1, D2 are measured value of surface layer of 0–1 cm.

## 2.2 沿黄流域土壤铁还原菌、不产氧光合细菌组成

### 2.2.1 FeRB、AnPB 主要组成物种

选取相对丰度较多的前二十属，在科(属)

上对 FeRB 进行群落组成分析，结果如图 1A 所示。8 个土样中优势 FeRB 在科(属)水平是 *Hydrogenophilaceae* (*Thiobacillus*)、*Bacillaceae* (*Bacillus*)、*Clostridiaceae* (主要是 *Clostridium*\_

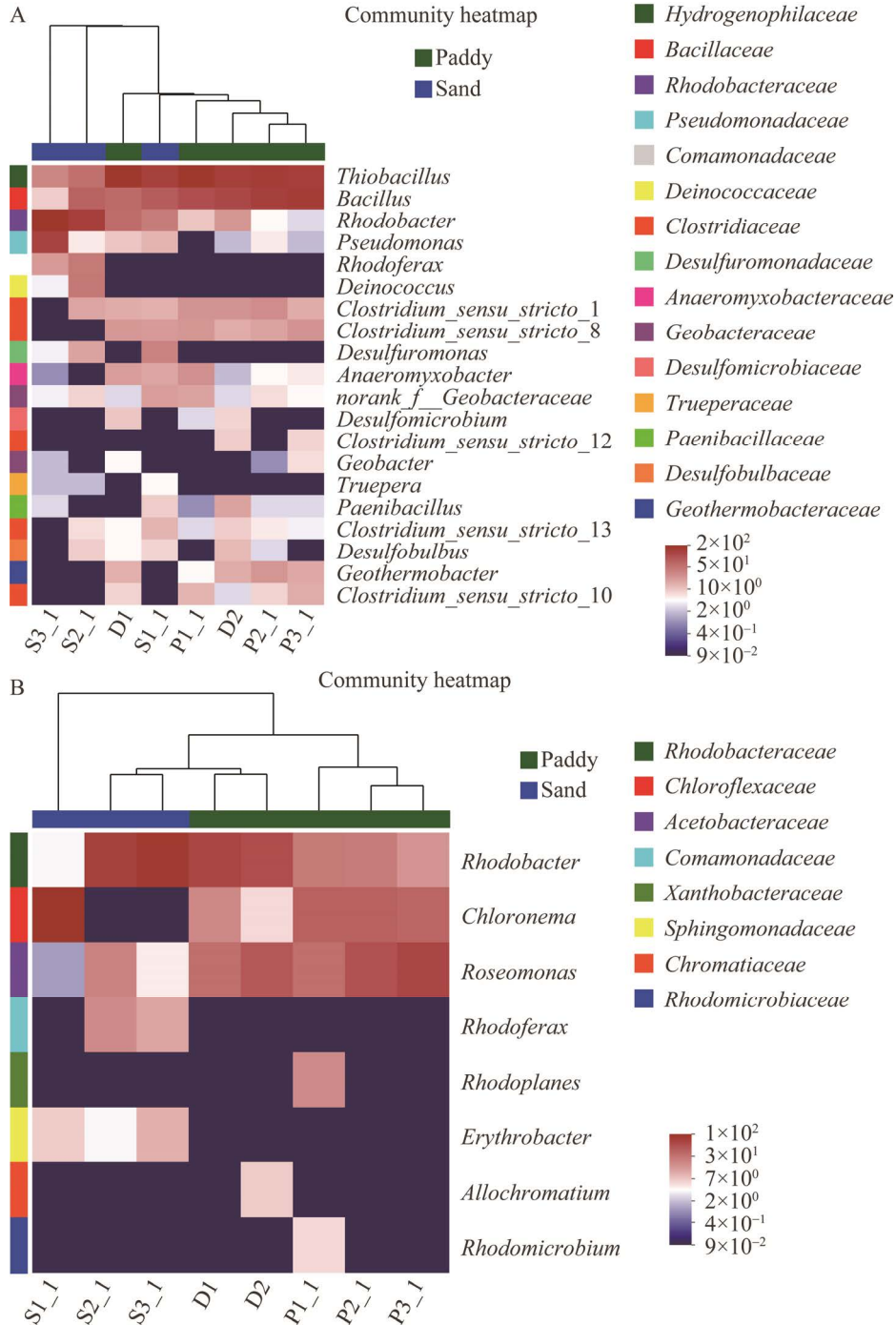


图 1 科(属)水平潜在 FeRB (A)、AnPB (B) 菌群组成

Figure 1 Potential FeRB (A) and AnPB (B) at family (genus) level.

*sensu stricto*\_1、*Clostridium\_sensu stricto*\_8、*Clostridium\_sensu stricto*\_10、*Clostridium\_sensu stricto*\_13 属, 占 86.87%)、*Geobacteraceae* (*Geobacter*、*norank\_f\_Geobacteraceae* 属); 稻田土中优势 FeRB 还包括 *Anaeromyxobacteraceae* (*Anaeromyxobacter*)、*Geothermobacteraceae* (*Geothermobacter*); 黄河滩地还包括 *Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*)、*Comamonadaceae* (*Rhodoferrax*)、*Desulfuromonadaceae* (*Desulfuromonas*)。AnPB 菌群共有 8 属, 分属 8 个科, 结果如图 1B 所示。*Rhodobacteraceae* (*Rhodobacter*) 是所有土样中的优势 AnPB; 稻田土中优势 AnPB 还包括 *Chloroflexaceae* (*Chloronema*)、*Acetobacteraceae* (*Roseomonas*); 黄河滩地还包括 *Comamonadaceae* (*Rhodoferrax*)、*Sphingomonadaceae* (*Erythrobacter*), 可能是河滩砂质土壤具有更佳的透气性和相对高的氧气含量, 更适宜它们生长。黄河滩地 S1\_1 表面覆盖一薄层生物膜, 含水率高(58.83%), 可能形成了适宜 *Chloronema* 的微环境, 使得

*Chloronema* 在 S1\_1 点成为绝对优势 AnPB。

### 2.2.2 FeRB、AnPB 组成物种的相关性

FeRB、AnPB 群落组成物种间相关性采用 Spearman 秩相关性分析法检验, 结果如图 2 所示。AnPB 中 *Chloroflexaceae* 与 FeRB 中的 *Rhodobacteraceae* 显著负相关( $P<0.05$ ), 但与 *Geobacteraceae* 极显著正相关( $P<0.01$ ); AnPB 中 *Rhodobacteraceae* 与 FeRB 中的 *Comamonadaceae* ( $P=0.039$ )、*Paenibacillaceae* ( $P=0.039$ ) 显著正相关, 但与 *Geobacteraceae*、*Bacillaceae* 显著负相关( $P<0.05$ )、与 *Clostridiaceae* 极显著负相关( $P<0.01$ ); AnPB 中 *Sphingomonadaceae* 与 FeRB 中的 *Hydrogenophilaceae*、*Clostridiaceae* 显著负相关( $P<0.05$ ), 与 *Bacillaceae*、*Geothermobacteraceae* 极显著负相关( $P<0.01$ ), 但与 *Desulfuromonadaceae*、*Trueperaceae* 极显著正相关( $P<0.01$ ); AnPB 中 *Comamonadaceae* 与 FeRB 中的 *Geobacteraceae*、*Hydrogenophilaceae*、*Clostridiaceae*、*Anaeromyxobacteraceae* 显著负相关( $P<0.05$ ), 但与 *Deinococcaceae* 极显著正相关( $P<0.01$ )。

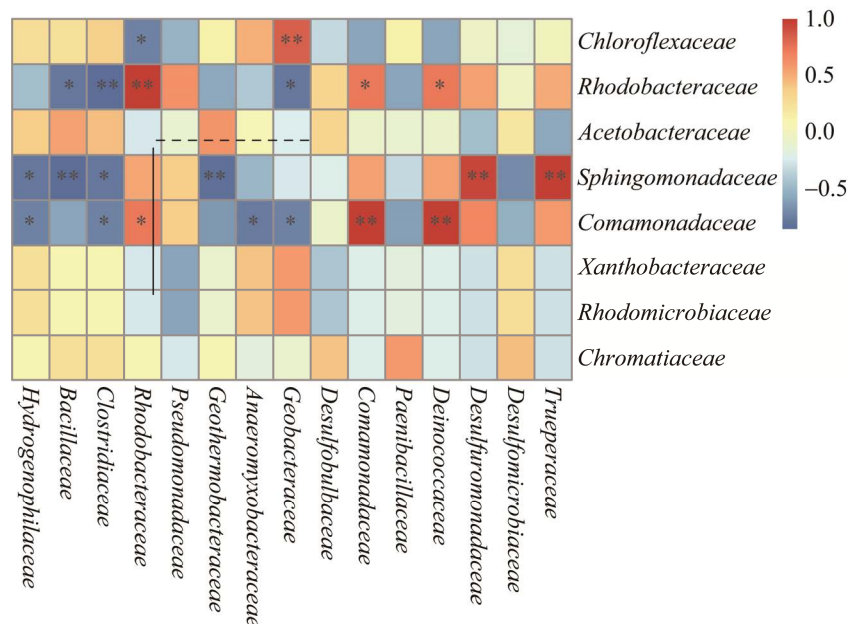


图 2 FeRB、AnPB 组成物种间的相关性

Figure 2 Correlation between compositions of FeRB and AnPB. Solid line: FeRB; Dashed line: AnPB.

### 2.2.3 FeRB、AnPB 组成物种与土壤性质的相关性

如图 3A 所示, *Hydrogenophilaceae* 相对丰

度与 pH 极显著负相关( $P<0.01$ ), 与  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{\text{T}}$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、TOC 显著正相关 ( $P<0.05$ ) ; *Pseudomonadaceae* 相对丰度与 WC 显著负相关

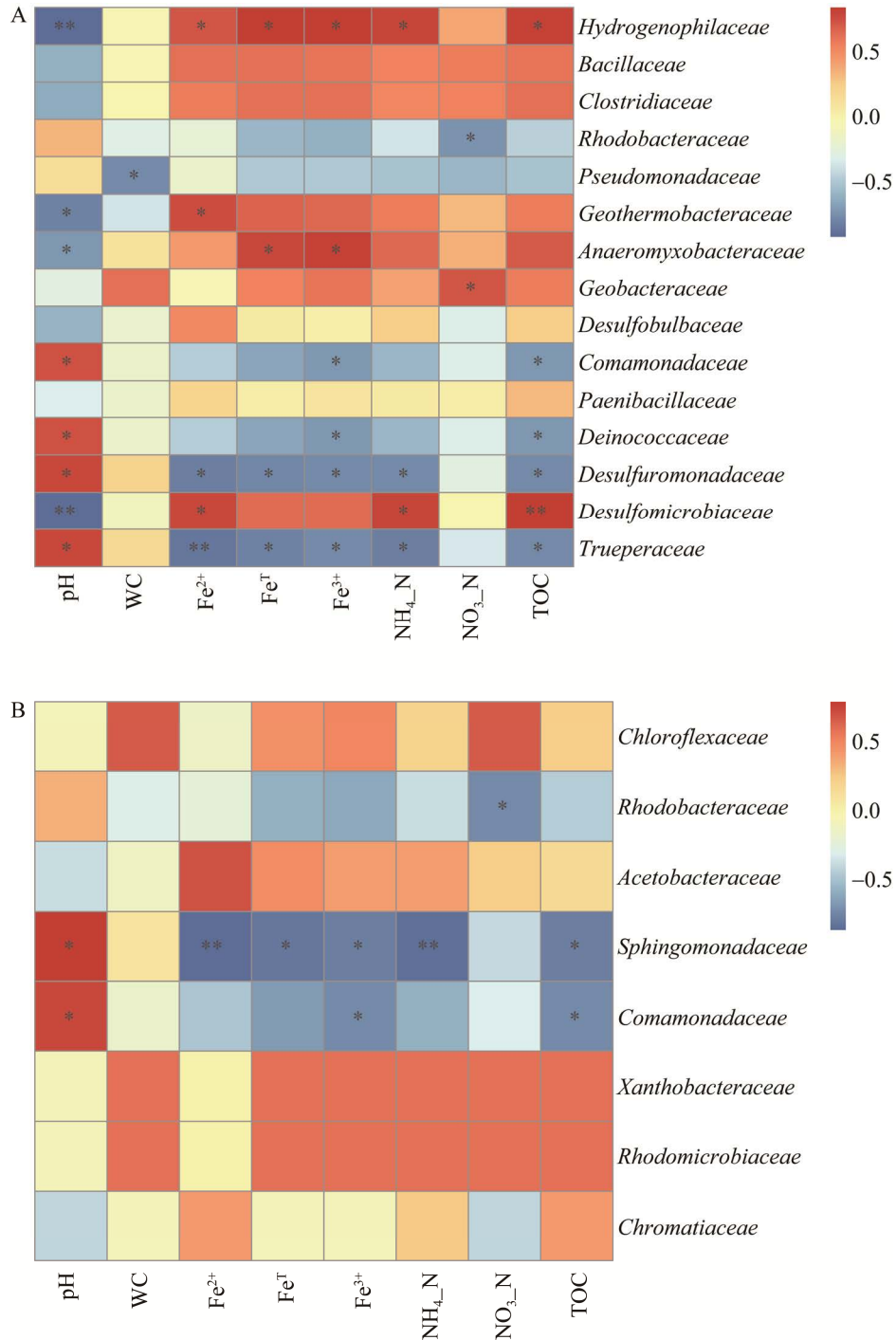


图 3 FeRB (A)、AnPB (B)与环境因子的相关性

Figure 3 Correlation of community of FeRB (A) and AnPB (B) and environmental factors.



( $P < 0.01$ ); *Geothermobacteraceae* 相对丰度与 pH 显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 与  $\text{Fe}^{2+}$  显著正相关 ( $P < 0.05$ ); *Anaeromyxobacteraceae* 相对丰度与 pH 显著负相关 ( $P < 0.05$ ), 与  $\text{Fe}^{\text{T}}$  显著正相关 ( $P < 0.05$ ); *Geobacteraceae* 相对丰度与  $\text{NO}_3^-$ -N 显著正相关 ( $P < 0.05$ ); *Deinococcaceae* 相对丰度与 pH 显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 与 TOC 显著负相关 ( $P < 0.05$ ); *Desulfuromonadaceae* 相对丰度与 pH 显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 与  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{Fe}^{\text{T}}$ 、 $\text{NH}_4^+$ -N、TOC 显著负相关 ( $P < 0.05$ ); *Desulfomicrobiaceae* 相对丰度与 pH 极显著负相关 ( $P < 0.01$ ), 与  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ -N 显著正相关 ( $P < 0.01$ ), 与 TOC 极显著正相关 ( $P = 0.010$ ); *Trueperaceae* 相对丰度与 pH 显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 与  $\text{Fe}^{2+}$  极显著负相关 ( $P < 0.01$ ), 与  $\text{Fe}^{\text{T}}$ 、 $\text{NH}_4^+$ -N、TOC 显著负相关 ( $P < 0.05$ )。综上所述, 非优势 FeRB, 如 *Deinococcaceae*、*Desulfuromonadaceae*、*Desulfomicrobiaceae*、*Trueperaceae* 在菌群中的相对丰度往往与多种土壤理化因子相关; 优势 FeRB (除 *Hydrogenophilaceae* 外), 如呼吸型 *Geothermobacteraceae*、*Anaeromyxobacteraceae*、*Geobacteraceae* 和发酵型 *Bacillaceae*、*Clostridiaceae* 的相对丰度主要与单一土壤理化因子有关或甚至与土壤理化因子变化无关。

如图 3B 所示, *Rhodobacteraceae* 相对丰度与  $\text{NO}_3^-$ -N 显著负相关 ( $P < 0.05$ ); *Sphingomonadaceae* 相对丰度与 pH 显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 与  $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ -N 极显著负相关 ( $P < 0.01$ ), 与  $\text{Fe}^{\text{T}}$ 、TOC 显著负相关 ( $P < 0.05$ ); *Comamonadaceae* 相对丰度与 pH 显著正相关 ( $P < 0.05$ ), 与 TOC 显著负相关 ( $P < 0.05$ ); 其他属 AnPB 相对丰度与土壤理化因子无关。因此, 除 *Sphingomonadaceae*、*Comamonadaceae* 外, 其他优势和非优势 AnPB 的相对丰度与土壤理化因子无关, 或仅受单一土壤理化因子影响 (如 *Rhodobacteraceae*)。

## 2.2.4 RDA 分析

前向选择结果显示  $\text{Fe}^{2+}$ 、pH 对 FeRB 组成变异的解释度分别为 13.5%、65.7%, 对 AnPB 组成变异的解释度分别为 41.8%、42.8%, 是驱动沿黄流域土壤中 FeRB、AnPB 菌群结构差异的最关键的 2 个环境因子。选取对物种组成变异贡献位于前四的环境因子与潜在 FeRB、AnPB 进行 RDA 分析。pH、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{Fe}^{\text{T}}$  对 FeRB 组成变异的解释度为 87.0%, 其中 RDA1 可解释 74.68% (图 4A); pH、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+$ -N、 $\text{Fe}^{\text{T}}$  为影响 AnPB 组成最重要的 4 个环境变量, 它们可解释的变异占 85.5%, 其中 RDA1 可解释 80.33% (图 4B), 说明了 Fe、N 元素在塑造 FeRB、AnPB 菌群结构中的重要作用。

## 2.3 沿黄流域土壤地(热)杆菌、光合紫细菌分布

### 2.3.1 地(热)杆菌、光合紫细菌丰度

黄河滩地 BAC、GEO、PPB [以平均值( $\pm$ 标准差)表示] 为  $2.52 (\pm 3.43) \times 10^9$ 、 $5.21 (\pm 7.58) \times 10^7$ 、 $2.9 (\pm 3.70) \times 10^7$  copies/g 干土, 稻田土中三者依次为  $3.82 (\pm 1.29) \times 10^{10}$ 、 $3.05 (\pm 2.44) \times 10^8$ 、 $4.31 (\pm 0.90) \times 10^8$  copies/g 干土 (图 5A)。在黄河滩地、稻田土中 GEO 相对丰度 (GEO%) 分别为 1.40 ( $\pm 1.96$ )%、0.74 ( $\pm 0.37$ )%, PPB 相对丰度 (PPB%) 分别为 1.40 ( $\pm 0.51$ )%、1.26 ( $\pm 0.49$ )% (图 5B)。SPSS 统计结果显示, BAC、GEO、PPB 拷贝数在稻田土中极显著高于黄河滩地 ( $P < 0.01$ ), 而 GEO%、PPB% 在 2 种类型土壤中无显著性差异。垂直分布上, 0–1 cm 土层中 PPB 数量为  $3.62 (\pm 2.67) \times 10^8$  copies/g 干土, 显著高于 1–2 cm 土层的  $8.21 (\pm 8.83) \times 10^7$  copies/g 干土 ( $P < 0.05$ ) 和 2–3 cm 土层的  $7.19 (\pm 7.48) \times 10^7$  copies/g 干土 ( $P < 0.05$ ), 但 1–2 cm、2–3 cm 土层间无显著性差异。

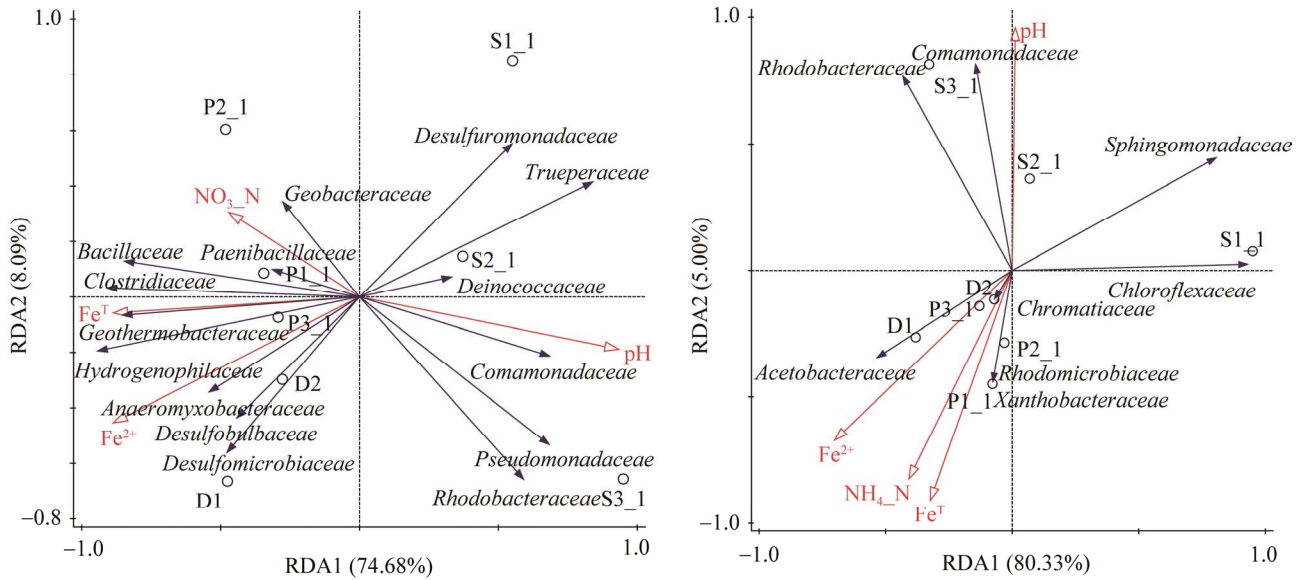


图 4 FeRB (A)、AnPB (B)与主要环境因子冗余分析  
Figure 4 Redundancy analysis of FeRB (A) and AnPB (B) and main environmental factors.

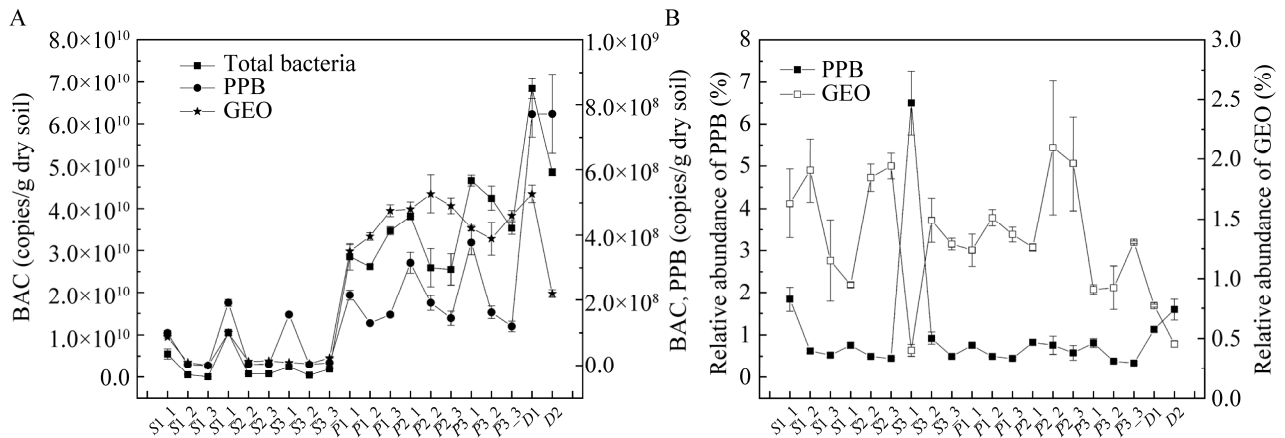


图 5 总细菌、地(热)杆菌、光合紫细菌拷贝数(A)和相对丰度(B)  
Figure 5 Copies (A) and relative abundance (B) of BAC, GEO and PPB.

### 2.3.2 地(热)杆菌、光合紫细菌与土壤理化因子相关性

采用 Pearson 相关性分析方法检验 BAC、GEO、PPB 丰度与土壤理化因子的相关性,结果如图 6 所示。WC 与 BAC、GEO、PPB 及其他理化因子均不相关。BAC、GEO、PPB 与  $Fe^{2+}$ 、 $NH_4^+$ -N 极显著正相关,与 pH 极显著负相关( $P < 0.01$ ),且 PPB 与  $Fe^T$ 、TOC 显著正相关( $P < 0.05$ ),GEO 与

$Fe^T$ 、 $NO_3^-$ -N、TOC 极显著正相关( $P < 0.01$ )。上述结果显示,GEO、PPB 丰度亦与 Fe、N 元素,尤其是与  $Fe^{2+}$ 、 $NH_4^+$ -N、 $NO_3^-$ -N 密切相关。

### 2.3.3 RDA 分析

由图 7 可知,稻田土表层 0-1 cm 样品与较深的 1-2 cm、2-3 cm 土样差异较大,且表层稻田土又以 D1、D2 与其他点位(P1\_1、P1\_2、P1\_3)差异大。RDA1 可解释的变异为 96.51%,其中

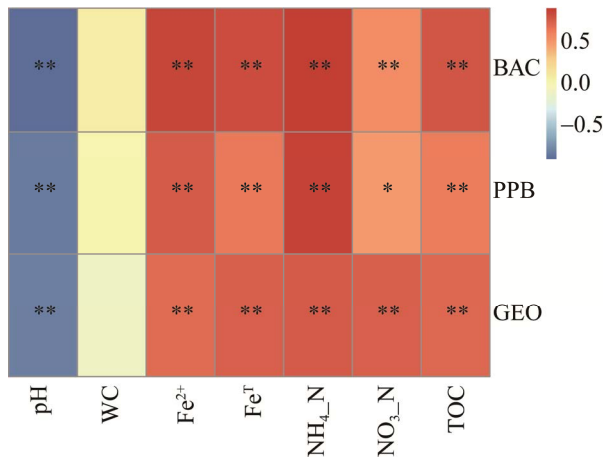


图 6 总细菌、地(热)杆菌、光合紫细菌拷贝数与环境因子相关性

Figure 6 Correlation of copies of BAC, GEO and PPB and environmental factors. \*:  $P < 0.05$ ; \*\*:  $P < 0.01$ .

Fe<sup>2+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、pH 对 RDA1 的贡献最大, Fe<sup>2+</sup>、NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 与 RDA1 正相关, pH 与 RDA1 负相关。Fe<sup>2+</sup>对 BAC、GEO、PPB 数量变异的解释度为 81.5%, 可以认为是驱动 BAC、GEO、PPB 分布的最关键因子。

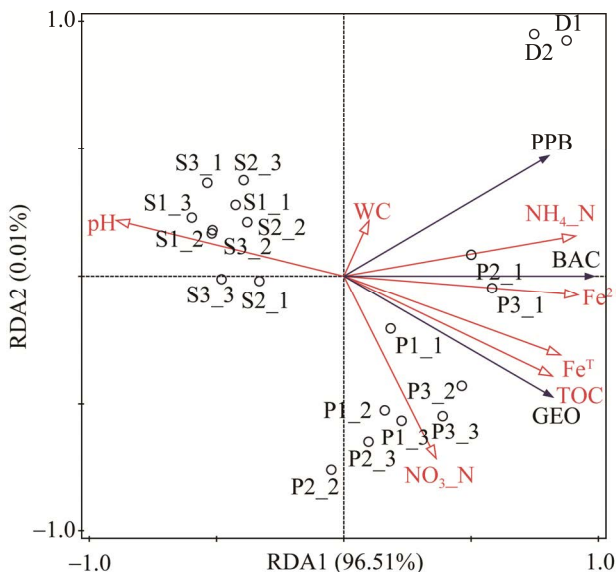


图 7 总细菌、地(热)杆菌、光合紫细菌拷贝数与环境因子冗余分析

Figure 7 Redundancy analysis of copies BAC, GEO and PPB and environmental factors.

### 3 讨论

#### 3.1 沿黄流域土壤地(热)杆菌、光合紫细菌分布

FeRB、AnPB 是土壤和沉积环境中普遍共存的功能微生物<sup>[3]</sup>。某些 AnPB 具有氧化 Fe<sup>2+</sup>还原 CO<sub>2</sub>的功能<sup>[17-20]</sup>, 可能与还原 Fe<sup>3+</sup>的 FeRB 通过铁循环耦合<sup>[21-23]</sup>, 影响土壤中 C、Fe、N 元素的循环。为了解沿黄流域土壤中 FeRB、AnPB 分布机制, 本研究采集了黄河(原阳段)河滩地和周边稻田土, 分析了土壤中 FeRB、AnPB 菌群结构以及代表性 GEO、PPB 丰度和驱动上述功能菌分布的关键环境因子。

黄河滩地和稻田土中优势 FeRB、AnPB 主要包括 *Hydrogenophilaceae* (*Thiobacillus*)、*Bacillaceae* (*Bacillus*)、*Clostridiaceae* (*Clostridium\_sensu\_stricto\_1*、*Clostridium\_sensu\_stricto\_8*、*Clostridium\_sensu\_stricto\_10*、*Clostridium\_sensu\_stricto\_13*, 占 86.87%)、*Rhodobacteraceae* (*Rhodobacter*)、*Chloroflexaceae* (*Chloronema*)、*Acetobacteraceae* (*Roseomonas*)。稻田土中 PPB、GEO 丰度较河滩土高一个数量级, 这主要是稻田经过了农事活动肥力高, 激发了多数异养微生物生长繁殖。PPB 在土壤中的分布具有分层现象, 表现为表层 0-1 cm 土中数量高, 这主要是因为表层土中 PPB 能接受一定的太阳辐射可以光合自养生长, 1-3 cm 土层基本无光导致 PPB 生长受阻。GEO 在土壤中主要受 TOC 影响最为显著, 无明显分层, 这与其氧化有机质还原 Fe<sup>3+</sup>的异养代谢方式相符。Fe<sup>2+</sup>对 BAC、PPB、GEO 数量变异的解释度达 81.5%, 是驱动三者土壤中分布多寡的最关键环境因子。NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N、Fe<sup>2+</sup>、TOC 对表层稻田土的影响大, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 主要影响深层稻田土, 这可能是由土壤中 O<sub>2</sub>分布状况的差异导致的。在空气-土界面, 土壤空隙中 O<sub>2</sub>

含量高,生物和非微生物的氧化还原反应强烈进行,耦合调控土壤中 C、N、Fe 等元素周转;较深层土壤中, O<sub>2</sub> 传递受阻,厌氧微生物过程占主导, NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 被无氧氧化成 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N。

### 3.2 优势 FeRB、AnPB 与土壤元素转化

水稻土中 *Clostridium* 和 *Bacillus* 在细菌群落结构中占有重要地位<sup>[30]</sup>。一些 *Clostridium* 和具有还原 Fe 的功能,如从始成土的稻田中分离出的 3 株 *Bacillus* 菌株具有还原 Fe<sup>3+</sup> 功能,有效改善了石灰性土壤缺 Fe 状况<sup>[31]</sup>。有研究报道, *Clostridium*、*Bacillus*、*Geobacter* 组成了 Fe 包被水稻根系中的优势微生物,约占总 16S rRNA 物种相对丰度的 65%<sup>[32]</sup>。本研究中 *Bacillaceae*、*Clostridiaceae* 在黄河滩地、稻田土中的分布与环境因子无关,但低 pH 值时, *Bacillaceae*、*Clostridiaceae* 相对丰度较高,这可能是由于 *Bacillaceae*、*Clostridiaceae* 为发酵型 FeRB<sup>[33]</sup>,它们本身代谢有机质产生有机酸和氢离子(H<sup>+</sup>),对低 pH 条件有较好的适应性。

硫杆菌属(*Thiobacillus*)的许多种是土壤与水中最重要的化能自养菌。*Thiobacillus ferrooxidans* 在厌氧条件下氧化 1 mol 单质 S 还原 6 mol Fe<sup>3+</sup> 生成 6 mol Fe<sup>2+</sup>、1 mol SO<sub>4</sub><sup>2-</sup> 和少量的 SO<sub>3</sub><sup>2-</sup>, 有氧情况下 Fe<sup>2+</sup> 被胞内 Fe 氧化酶立即再氧化而检测不到 Fe<sup>2+</sup> 生成<sup>[34]</sup>。*T. ferrooxidans* 还能通过 Fe 还原系统的硫氧化路径氧化硫代硫酸盐<sup>[35]</sup>。硫自养反硝化微生物利用元素 S 作为电子供体从水生环境中去除 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, 主要是 *T. denitrificans* 起作用。溶解性有机质(DOM)作为微生物光敏剂驱动 *T. denitrificans* 发生光电反硝化反应<sup>[36]</sup>。*T. denitrificans*、*G. sulfurreducens* 共培养体系中有有机碳可以促进 S 的转化,驱动混合营养体系中发生基于单质 S 的反硝化反应<sup>[37]</sup>。本研究中, *Hydrogenophilaceae* (*Thiobacillus*)与 pH 极显著负相关( $P < 0.01$ ), 与 Fe<sup>2+</sup>、Fe<sup>T</sup> 正相关

( $P < 0.05$ ), 说明 *T. ferrooxidans* 可能是 *Thiobacillus* 中的优势种之一, 偏酸性环境和高含量 Fe<sup>2+</sup> 会更适宜 *T. ferrooxidans* 生存。本研究还发现, *Hydrogenophilaceae* (*Thiobacillus*) 与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 显著正相关, 代表性序列 ASV42 在 *Thiobacillus* 属的序列数最多, 其在稻田土中序列数为 128.4 ± 51.9 [平均值(±标准差)]。对 ASV42 进行在线比对, 结果显示其与环境样本中一反硝化 *Thiobacillus* (登录号 MG801484.1) 相似性大于 99%, 说明 ASV42 可能为具有脱 N 功能的 *T. denitrificans*。推测 *T. ferrooxidans*、*T. denitrificans* 是本研究中 *Hydrogenophilaceae* (*Thiobacillus*) 的重要组成部分。

*Geobacter* 是最早发现的 FeRB, 是驱动元素地球生物化学循环的重要微生物。稻田土也是 *Geobacter* 的重要生境之一。*Geobacter* 作为一种重要的胞外呼吸 FeRB, 能完成直接脱氯代谢, 降低有机氯污染物毒性, 生物炭可发挥固态电子穿梭体的功能加速还原脱氯<sup>[38]</sup>。淹水条件下, 微生物介导 Fe(III) 还原会将吸附的 As(V) 释放到水中。研究表明生物炭提高了淹水稻田土中 *Geobacter*、*Anaeromyxobacter* 和 *Clostridium* 3 种与 As、Fe 相关细菌丰度, 促进了 As(V)、Fe(III) 还原, 提高土壤溶液中 As(III) 释放<sup>[39]</sup>。因此, 对 As(V)、有机氯复合污染稻田的修复应谨慎选用生物炭。本研究中 *Geobacteraceae* (*Geobacter*) 与 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 显著正相关, Fe<sup>2+</sup> 与 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N 极显著正相关, 说明黄河滩地和稻田土中发生了以生成 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 为主要含氮产物的 *feammox*。Clément 等<sup>[40]</sup> 最早发现了湿地生物利用 Fe<sup>3+</sup> 作为电子受体生成 Fe<sup>2+</sup> 同时氧化 NH<sub>4</sub><sup>+</sup> 为 NO<sub>2</sub><sup>-</sup>。现已证明, *feammox* 参与了稻田、湿地、沉积物等的 N 转化过程, 产生的 N<sub>2</sub> 损失量约为输入总 N 的 3.1%–9.4%<sup>[28,41–42]</sup>。

与其他 FeRB 相比, *Rhodobacter* 在黄河滩

地中相对占比更大, 在稻田土(除 D1)中占比相对小, 且随着河滩土 TOC 的减少其在总 FeRB 菌群中的占比增多。这可能是因为河滩土中有机质含量少, 限制了其他 FeRB 增殖, 而 *Rhodobactereace* (*Rhodobacter*) 在环境中有机质含量不足时可利用无机碳源满足自身生长需要, 逐渐在 FeRB 中成为主导。研究发现, *Rhodobacter* 是沉积物中一种关键的好氧反硝化类群<sup>[43]</sup>, 其可以  $\text{NO}_3^-$ -N 为电子受体, 有机碳源为电子供体光合异养生长。汪银龙等<sup>[44]</sup>发现, *Rhodobacter* 是汾河下游水体中 nir S 型反硝化细菌群落的三个主导菌属之一, 某些采样点相对丰度高于 98%, 与  $\text{NO}_3^-$ -N 负相关, 与  $\text{NH}_4^+$ -N 正相关。活性污泥池中以氧化亚氮( $\text{N}_2\text{O}$ )输出的 N 占输入  $\text{NH}_4^+$ -N 的 0.001%–0.280%, 所释放的  $\text{N}_2\text{O}$  主要与 *Nitrotoga*、*Candidatus Microthrix*、*Rhodobacter* 丰度相关, 它们得益于污泥池中较高的  $\text{NO}_3^-$ -N 和  $\text{DO}$ <sup>[45]</sup>。本研究中 *Rhodobacter* 与  $\text{NO}_3^-$ -N 显著负相关, 与上述研究一致, 说明黄河滩地、稻田土中 *Rhodobacter* 属也具有反硝化脱 N 潜力。Richardson 等<sup>[46]</sup>发现细胞色素 c、b 可能参与转移电子到 *Rhodobacter capsulatus*

周质  $\text{NO}_3^-$  还原酶, 且硝酸盐+丁酸盐组合较硝酸盐+苹果酸盐组合显著提高 *R. capsulatus* 硝酸盐还原速率达 5 倍以上。本研究中具有 feammox 功能的 FeRB 与反硝化 *Rhodobacter*、*T. denitrogen* 通过  $\text{NO}_3^-$  的生成和利用耦合协同维持土壤 N 素循环。

本研究中沿黄流域黄河滩地、稻田土中与氧化  $\text{NH}_4^+$  相关的亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)共 69 条序列(稻田土共 62 条), 主要参与氧化  $\text{NH}_4^+$ -N 为  $\text{NO}_2^-$ -N, 分属亚硝酸盐细菌(*Nitrospira*、*Candidatus Nitrotoga*)的序列共计 480 条(稻田土 294 条), 主要参与氧化  $\text{NO}_2^-$ -N 为  $\text{NO}_3^-$ -N。本研究中 *Geobacter*、*Anaeromyxobacter* 可氧化  $\text{NH}_4^+$ -N 提供  $\text{NO}_2^-$ -N、 $\text{NO}_3^-$ -N, 但它们较反硝化类群的 *Rhodobacter*、*Thiobacillus* 丰度低。鉴于此, 认为所调查区域  $\text{NH}_4^+$ -N 向  $\text{NO}_2^-$ -N 转化可能是硝化反硝化的限速步骤, 一定程度上解释了 *Hydrogenophilaceae* (*Thiobacillus*) 与  $\text{NH}_4^+$ -N 的正相关关系。综上所述, 黄河滩地、稻田土中潜在 FeRB、AnPB 与土壤 C、Fe、N、S 元素循环可能存在如下作用机制(图 8)。

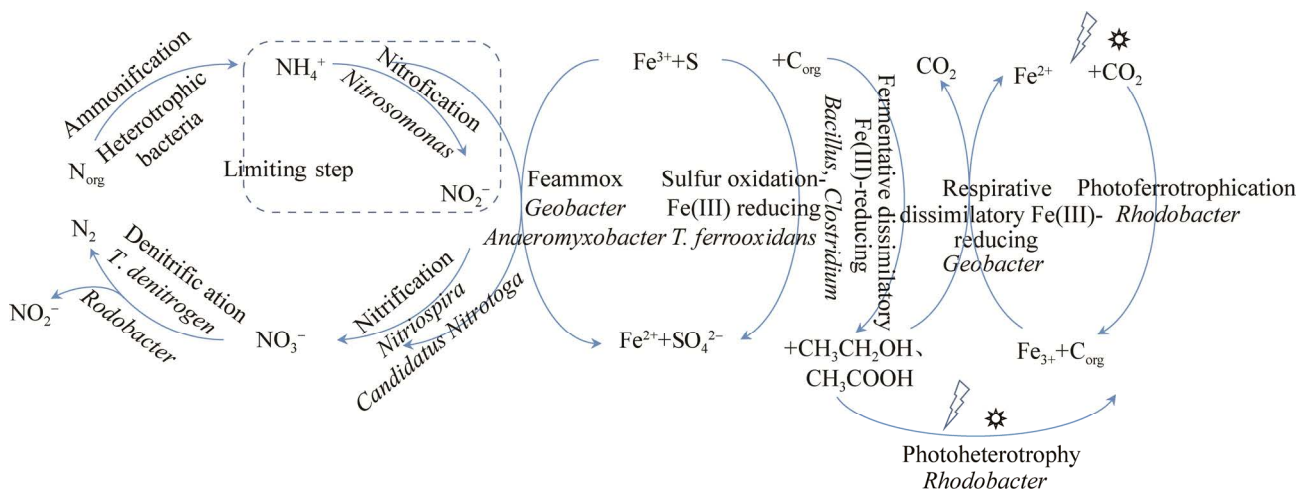


图 8 优势 FeRB、AnPB 与土壤元素转化的潜在作用机制

Figure 8 Potential microbial mechanism of soil element transformation mediated by dominant FeRB and AnPB.  $\text{N}_{\text{org}}$ : Organic nitrogen;  $\text{C}_{\text{org}}$ : Organic carbon.

## 4 总结

本研究解析了沿黄流域(原阳段)土壤中 FeRB、AnPB 分布特征。研究发现,土壤类型不同潜在 FeRB、AnPB 物种组成、数量不同。*Hydrogenophilaceae* (*Thiobacillus*)、*Bacillaceae* (*Bacillus*) 在稻田土和黄河滩地 2 种类型土壤中普遍存在且丰度高。此外,稻田土中 *Anaeromyxobacteraceae* (*Anaeromyxobacter*)、*Geothermobacteraceae* (*Geothermobacter*)、*Acetobacteraceae* (*Roseomonas*)、*Chloroflexaceae* (*Chloronema*) 相对丰度高,黄河滩地 *Rhodobacteraceae* (*Rhodobacter*)、*Pseudomonadaceae* (*Pseudomonas*)、*Comamonadaceae* (*Rhodoferrax*)、*Desulfuromonadaceae* (*Desulfuromonas*) 相对丰度高。相关分析显示,某些 AnPB、FeRB 物种间的相对丰度呈负相关。荧光定量结果显示,肥力高的稻田土中 GEO、PPB 丰度显著高于黄河滩地,具光合作用的 PPB 在表层土中数量更高。pH、 $\text{Fe}^{2+}$ 、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$  是直接或间接影响沿黄流域(原阳段)土壤中 FeRB、AnPB 菌群结构、丰度的重要环境因子,其中  $\text{Fe}^{2+}$  是驱动 FeRB、AnPB 组成、数量分布的关键环境因子。*Rhodobacter*、*Thiobacillus*、*Bacillus*、*Geobacter*、*Anaeromyxobacter* 物种间通过直接或间接作用介导土壤 C、N、Fe 元素循环。本研究揭示了沿黄流域不同土壤类型中 FeRB、AnPB 菌群结构和主要影响因子,对理解土壤元素耦合循环机制提供理论支持。

## 参考文献

- [1] WANG XG, SUN LR, CHEN ZH, GUO DY, FAN HL, XU XF, SHI ZY, CHEN XN. Light inhibition of carbon mineralization associated with iron redox processes in calcareous paddy soil[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2020, 20(8): 3171-3180.
- [2] MELTON ED, SWANNER ED, BEHRENS S, SCHMIDT C, KAPPLER A. The interplay of microbially mediated and abiotic reactions in the biogeochemical Fe cycle[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, 12(12): 797-808.
- [3] WEBER KA, ACHENBACH LA, COATES JD. Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(10): 752-764.
- [4] OTTE JM, HARTER J, LAUFER K, BLACKWELL N, STRAUB D, KAPPLER A, KLEINDIENST S. The distribution of active iron-cycling bacteria in marine and freshwater sediments is decoupled from geochemical gradients[J]. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(7): 2483-2499.
- [5] WANG XJ, YANG J, CHEN XP, SUN GX, ZHU YG. Phylogenetic diversity of dissimilatory ferric iron reducers in paddy soil of Hunan, South China[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2009, 9(6): 568-577.
- [6] HORI T, MÜLLER A, IGARASHI Y, CONRAD R, FRIEDRICH MW. Identification of iron-reducing microorganisms in anoxic rice paddy soil by  $^{13}\text{C}$ -acetate probing[J]. *The ISME Journal*, 2010, 4(2): 267-278.
- [7] LUO D, MENG XT, ZHENG NG, LI YY, YAO HY, CHAPMAN SJ. The anaerobic oxidation of methane in paddy soil by ferric iron and nitrate, and the microbial communities involved[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 788: 147773-147783.
- [8] KANTACHOTE D, NUNKAEW T, NITODA T, KANZAKI H. The use of rice straw broth as an appropriate medium to isolate purple nonsulfur bacteria from paddy fields[J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2012, 15(6). DOI: 10.2225/vol15-issue6-fulltext-8.
- [9] LOVLEY DR, PHILLIPS EJ. Novel mode of microbial energy metabolism: organic carbon oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron or manganese[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 54(6): 1472-1480.
- [10] LOVLEY DR, PHILLIPS EJ. Organic matter mineralization with reduction of ferric iron in anaerobic sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1986, 51(4): 683-689.
- [11] ACHTNICH C, SCHUHMANN A, WIND T, CONRAD R. Role of interspecies  $\text{H}_2$  transfer to sulfate and ferric iron-reducing bacteria in acetate consumption in anoxic paddy soil[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 1995, 16(1): 61-69.

- [12] GE JY, HUANG S, HAN I, JAFFÉ PR. Degradation of tetra- and trichloroethylene under iron reducing conditions by *Acidimicrobiaceae* sp. A6[J]. *Environmental Pollution*, 2019, 247: 248-255.
- [13] 丁帮璟, 李正魁, 朱鸿杰, 陈滢, 覃云斌, 杨建华, 胡优优. 河岸带表层土壤的铁氨氧化(feammox)脱氮机制的探究[J]. *环境科学*, 2018, 39(4): 1833-1839. DING BJ, LI ZK, ZHU HJ, CHEN S, QIN YB, YANG JH, HU YY. Insight into the mechanism of feammox in the surface soils of a riparian zone[J]. *Environmental Science*, 2018, 39(4): 1833-1839 (in Chinese).
- [14] DING LJ, AN XL, LI S, ZHANG GL, ZHU YG. Nitrogen loss through anaerobic ammonium oxidation coupled to iron reduction from paddy soils in a chronosequence[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(18): 10641-10647.
- [15] FENG YZ, LIN XG, YU YC, ZHU JG. Elevated ground-level O<sub>3</sub> changes the diversity of anoxygenic purple phototrophic bacteria in paddy field[J]. *Microbial Ecology*, 2011, 62(4): 789-799.
- [16] NUNKAEW T, KANTACHOTE D, NITODA T, KANZAKI H. Selection of salt tolerant purple nonsulfur bacteria producing 5-aminolevulinic acid (ALA) and reducing methane emissions from microbial rice straw degradation[J]. *Applied Soil Ecology*, 2015, 86: 113-120.
- [17] WU WF, SWANNER ED, HAO LK, ZEITVOGEL F, OBST M, PAN YX, KAPPLER A. Characterization of the physiology and cell-mineral interactions of the marine anoxygenic phototrophic Fe(II) oxidizer *Rhodovulum iodolum* - implications for Precambrian Fe(II) oxidation[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 88(3): 503-515.
- [18] JIAO YQ, KAPPLER A, CROAL LR, NEWMAN DK. Isolation and characterization of a genetically tractable photoautotrophic Fe(II)-oxidizing bacterium, *Rhodopseudomonas palustris* strain TIE-1[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(8): 4487-4496.
- [19] EHRENREICH A, WIDDEL F. Anaerobic oxidation of ferrous iron by purple bacteria, a new type of phototrophic metabolism[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1994, 60(12): 4517-4526.
- [20] HEISING S, RICHTER L, LUDWIG W, SCHINK B. *Chlorobium ferrooxidans* sp. nov, a phototrophic green sulfur bacterium that oxidizes ferrous iron in coculture with a "Geospirillum" sp. strain[J]. *Archives of Microbiology*, 1999, 172(2): 116-124.
- [21] HA PT, LINDEMANN SR, SHI L, DOHNALKOVA AC, FREDRICKSON JK, MADIGAN MT, BEYENAL H. Syntrophic anaerobic photosynthesis via direct interspecies electron transfer[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 13924-13930.
- [22] BYRNE JM, KLUEGLEIN N, PEARCE C, ROSSO KM, APPEL E, KAPPLER A. Redox cycling of Fe(II) and Fe(III) in magnetite by Fe-metabolizing bacteria[J]. *Science*, 2015, 347(6229): 1473-1476.
- [23] BERG JS, MICHELLOD D, PJEVAC P, MARTINEZ-PEREZ C, BUCKNER CRT, HACH PF, SCHUBERT CJ, MILUCKA J, KUYPERS MMM. Intensive cryptic microbial iron cycling in the low iron water column of the meromictic Lake Cadagno[J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(12): 5288-5302.
- [24] LAUFER K, NORDHOFF M, RØY H, SCHMIDT C, BEHRENS S, JØRGENSEN BB, KAPPLER A. Coexistence of microaerophilic, nitrate-reducing, and phototrophic Fe(II) oxidizers and Fe(III) reducers in coastal marine sediment[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 82(5): 1433-1447.
- [25] LOVLEY DR, PHILLIPS EJ. Rapid assay for microbially reducible ferric iron in aquatic sediments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1987, 53(7): 1536-1540.
- [26] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000. LU RK. *Agricultural Chemical Analysis Method of Soil*[M]. China Agriculture Sciencetech Press, 2000 (in Chinese).
- [27] YANG CM, SUN JL, CHEN YY, WU J, WANG YL. Linkage between water soluble organic matter and bacterial community in sediment from a shallow, eutrophic lake, Lake Chaohu, China[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2020, 98: 39-46.
- [28] LI XF, HOU LJ, LIU M, ZHENG YL, YIN GY, LIN XB, CHENG L, LI Y, HU XT. Evidence of nitrogen loss from anaerobic ammonium oxidation coupled with ferric iron reduction in an intertidal wetland[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(19): 11560-11568.
- [29] ACHENBACH LA, CAREY J, MADIGAN MT. Photosynthetic and phylogenetic primers for detection of anoxygenic phototrophs in natural environments[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2001, 67(7): 2922-2926.
- [30] DING LJ, SU JQ, XU HJ, JIA ZJ, ZHU YG. Long-term nitrogen fertilization of paddy soil shifts

- iron-reducing microbial community revealed by RNA-<sup>13</sup>C-acetate probing coupled with pyrosequencing[J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(3): 721-734.
- [31] GHORBANZADEH N, LAKZIAN A, HAGHNIA GH, KARIMI AR. Isolation and identification of ferric reducing bacteria and evaluation of their roles in iron availability in two calcareous soils[J]. *Eurasian Soil Science*, 2014, 47(12): 1266-1273.
- [32] SCHEID D, STUBNER S, CONRAD R. Identification of rice root associated nitrate, sulfate and ferric iron reducing bacteria during root decomposition[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 50(2): 101-110.
- [33] ZHOU GW, YANG XR, SUN AQ, LI H, LASSEN SB, ZHENG BX, ZHU YG. Mobile incubator for iron(III) reduction in the gut of the soil-feeding earthworm *Pheretima guillelmi* and interaction with denitrification[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(8): 4215-4223.
- [34] SUGIO T, DOMATSU C, MUNAKATA O, TANO T, IMAI K. Role of a ferric ion-reducing system in sulfur oxidation of *Thiobacillus ferrooxidans*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1985, 49(6): 1401-1406.
- [35] KUROSAWA H, MAEDA K, YAMAMOTO E, NAKAMURA K, AMANO Y. Growth of *Thiobacillus ferrooxidans* utilized thiosulfate through the oxidation route with iron recycling[J]. *The Journal of General and Applied Microbiology*, 1994, 40(6): 491-498.
- [36] HUANG SF, CHEN M, DIAO YM, FENG QY, ZENG RJ, ZHOU SG. Dissolved organic matter acting as a microbial photosensitizer drives photoelectrotrophic denitrification[J]. *Environmental Science & Technology*, 2022, 56(7): 4632-4641.
- [37] HAO W, ZHANG J, DUAN R, LIANG P, LI M, QI X, LI QC, LIU PP, HUANG X. Organic carbon coupling with sulfur reducer boosts sulfur based denitrification by *Thiobacillus denitrificans*[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 748: 142445-142452.
- [38] YU LP, YUAN Y, TANG J, WANG YQ, ZHOU SG. Biochar as an electron shuttle for reductive dechlorination of pentachlorophenol by *Geobacter sulfurreducens*[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 16221-16231.
- [39] QIAO JT, LI XM, LI FB. Roles of different active metal-reducing bacteria in arsenic release from arsenic-contaminated paddy soil amended with biochar[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 344: 958-967.
- [40] CLÉMENT JC, SHRESTHA J, EHRENFELD JG, JAFFÉ PR. Ammonium oxidation coupled to dissimilatory reduction of iron under anaerobic conditions in wetland soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2005, 37(12): 2323-2328.
- [41] 刘新, 王芳, 江和龙, 姚宗豹. 太湖梅梁湾沉积物中铁氧化氮作用及其脱氮贡献[J]. *生态环境学报*, 2018, 27(8): 1481-1487.
- LIU X, WANG F, JIANG HL, YAO ZB. Anaerobic ammonium oxidation coupled to ferric iron reduction and its contribution to nitrogen loss in the sediment of Meiliang Bay, Lake Taihu[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2018, 27(8): 1481-1487 (in Chinese).
- [42] YAO ZB, YANG L, SONG N, WANG CH, JIANG HL. Effect of organic matter derived from algae and macrophyte on anaerobic ammonium oxidation coupled to ferric iron reduction in the sediment of a shallow freshwater lake[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(21): 25899-25907.
- [43] ZHOU SL, SUN Y, LI ZX, HUANG TL. Characteristics and driving factors of the aerobic denitrifying microbial community in Baiyangdian Lake, Xiong'an new area[J]. *Microorganisms*, 2020, 8(5): 714-728.
- [44] 汪银龙, 冯民权, 董向前. 汾河下游水体 nirS 型反硝化细菌群落组成与无机氮关系[J]. *环境科学*, 2019, 40(8): 3596-3603.
- WANG YL, FENG MQ, DONG XQ. Community composition of nir S-type denitrifying bacteria in the waters of the lower reaches of the Fenhe River and its relationship with inorganic nitrogen[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(8): 3596-3603 (in Chinese).
- [45] VIEIRA A, GALINHA CF, OEHMEN A, CARVALHO G. The link between nitrous oxide emissions, microbial community profile and function from three full-scale WWTPs[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 651: 2460-2472.
- [46] RICHARDSON DJ, MCEWAN AG, PAGE MD, JACKSON JB, FERGUSON SJ. The identification of cytochromes involved in the transfer of electrons to the periplasmic NO<sub>3</sub><sup>-</sup> reductase of *Rhodobacter capsulatus* and resolution of a soluble NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (-)-reductase: cytochrome-c552 redox complex[J]. *European Journal of Biochemistry*, 1990, 194(1): 263-270.