海洋沉积物中异化铁还原细菌还原重金属 Cr(VI)研究

刘洪艳, 王　珊

(天津市海洋资源与化学重点实验室, 天津科技大学 海洋与环境学院, 天津 300457)

摘要: 利用异化铁还原细菌处理 Cr(VI)是重金属污染修复领域的一个新兴研究方向。本文以海洋沉积物中异化铁还原混合菌群为研究对象, 分析铁还原细菌异化铁还原性质对重金属 Cr(VI)还原效率的影响。菌群异化铁还原性质的实验结果表明, 以柠檬酸铁和氢氧化铁为不同电子受体时, 菌群异化铁还原的效率存在差异, 培养体系累积 Fe(II)浓度分别为 85.08 ± 5.85 mg/L 和 32.55 ± 4.78 mg/L。电子受体对混合菌群组成的影响主要表现在, 以柠檬酸铁和氢氧化铁为电子受体时, 混合菌群多样性 Shannon 指数分别是 4.615 和 4.158, 较对照组高(Shannon 指数 3.735)。异化还原 Fe(III)培养体系中, 细菌种群的优势菌属是 *Clostridium*, 属于梭菌目 Clostridiales, 表明梭菌是参与 Fe(III)还原的主要优势菌。菌群异化铁还原性质对 Cr(VI)还原效率影响的实验结果表明, 柠檬酸铁为电子受体, 细菌在 Fe(III)浓度为 1 120 mg/L 时异化铁还原效率高, 并且还原 Cr(VI)达 100%。氢氧化铁为电子受体, Fe(III)浓度 1 680 mg/L 时, 异化铁还原 Cr(VI)效率高(72%), 是对照组 4 倍。研究结果为进一步应用微生物治理重金属 Cr(VI)污染提供理论依据。

关键词: 海洋沉积物; 异化铁还原细菌; 菌群组成; Fe(III)还原; Cr(VI)还原

中图分类号: Q936　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3096(2019)05-0019-08

DOI: 10.11759/hykx20190211001

异化铁还原细菌是一类以 Fe(III)为电子受体, 并将 Fe(III)还原成 Fe(II)的微生物总称[1]。异化铁还原作用是自然界中一种十分重要的生物地球化学过程, 在异化还原 Fe(III)过程中, 异化铁还原细菌不仅影响环境中铁元素的价态变化, 还能够影响一些重金属元素的价态形式。微生物异化铁还原过程通过参与铀氧化还原循环, 即由微生物异化铁代谢产生 Fe(II)以非生物方式还原 U(Ⅵ), 最终导致毒性较大且溶解度大容易扩散的 U(Ⅵ)转化成为毒性较小 U(Ⅳ), 解决重金属铀污染[2-3]。异化铁还原细菌能够在还原 Fe(III)同时将 As(III)氧化形成 As(Ⅴ), 相比较 As(III)毒性, 氧化产物 As(Ⅴ)毒性较小, 从而减轻砷污染的问题[4]。Si 等研究表明[5], 异化铁还原菌 *Geobacter sulfurreducens* 能够介导甲基汞(MeHg)的产生, $HgCl_2$ 的初始浓度为 500 nmol/L 时, 该菌株可累计获得 MeHg 浓度为 177 nmol/L。可见, 微生物介导铁还原过程可以有效降低金属污染, 是重金属污染修复领域的一个新兴研究方向[6]。

铬污染是一种典型重金属污染类型。重金属铬存在 Cr(VI)和 Cr(III)两种价态, 其中, Cr(III)的毒性较 Cr(VI)降低 100 倍。Wielinga 等研究发现[7], 当铁氧化物存在时, 菌株 *Shewanella alga* BrY 还原 Cr(VI)为 Cr(III)的速率和效率明显提高。Xu 等利用异化铁还原细菌还原 Fe(III)生成 Fe(II), 进而再以非生物方式将 Cr(VI)还原为 Cr(III), 达到去除废水中目的 Cr(VI)[8]。在微生物燃料电池中, 对于 Cr(VI)去除率, 加入 Fe(III)是未加 Fe(III)的 1.6 倍[9]。杜艳影等研究表明[10], 异化铁还原作用能够促进并加速菌株 *Shewanella oneidensis* MR-1 对 Cr(VI)的还原, Cr(VI)还原率从空白组(未加 Fe(III))88%提高至实验组 100%(加 Fe(III))。铬还原细菌采用直接还原重金属 Cr(VI)为 Cr(III), 从而解决重金属 Cr(VI)污染问题[11]。异化铁还原细菌则采用间接还原的方式还原重金属 Cr(VI), 电子受体 Fe(III)在异化铁还原过程中产生 Fe(II), Fe(II)作为还原剂将 Cr(VI)还原为 Cr(III)。

在自然环境中, 除了细菌直接酶促生物还原铬,

收稿日期: 2019-02-11; 修回日期: 2019-04-14

基金项目: 国家自然科学基金项目(41606157); 天津市自然科学基金资助项目(16JCYBJC20900)

[Foundation: the National Science Foundation of China No. 41606157; the Natural Science Foundation of Tianjin, China No. 16JCYBJC20900]

作者简介: 刘洪艳(1977-), 女, 吉林省通化市人, 副教授, 博士, 主要从事海洋微生物研究, 电话: 022-60601458, E-mail: hongyanliu1214@163.com

非生物方式的铬还原也占据十分重要地位[12]，而异化铁还原细菌还原重金属 Cr(VI)过程包括了生物-非生物还原过程。在自然环境的还原条件下，可能存在 Cr(Ⅵ)还原产物的复杂混合物，这将影响环境中关于 Cr(VI)还原效率的精确预测[13]。因此，了解异化铁还原细菌的菌群组成以及异化铁还原性质，对于评估异化铁还原细菌还原重金属 Cr(VI)的可行性至关重要。海洋沉积物因其特殊的厌氧环境而成为铁还原微生物的重要生境，微生物还原产生的 Fe(II)参与海洋中的生物过程[14]。利用海洋沉积物中微生物异化铁还原过程治理重金属污染，具有重要意义[15]。本文以渤海底泥为研究材料，厌氧富集异化铁还原细菌，并分析异化铁还原性质及其对重金属 Cr(VI)的还原效率。旨在为利用微生物介导的异化 Fe(III)还原治理重金属污染提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 混合菌群的富集培养

海洋沉积物样品采自于渤海(塘沽海域)。沉积物样品进行厌氧富集培养，培养基成分为(g/L)：葡萄糖 20.00，胰蛋白胨 4.00，$MgCl_2$ 0.10，NaCl 4.00，L-半胱氨酸 0.50，K_2HPO_4 1.50，pH 值 7.00 ± 0.50。称取沉积物样品 10.00 g 于 150 mL 血清瓶中，加入 100 mL 富集培养基和 1.0 mL 人工合成 $Fe(OH)_3$ 溶液，合成步骤见参考文献[16]。充氮气 10 min，保证血清瓶内无氧培养环境，泥浆混合物于 120 r/min，30℃恒温培养 72 h。富集培养步骤重复 3 次。

1.2 菌群组成分析

培养结束，提取菌群基因组 DNA。采用通用引物 515F：GTGCCAGCMGCCGCGGTAA 和 806R：GGACTACHVGGGTWTCTAAT 对细菌进行 16S rRNA V4 区 PCR 扩增。反应条件为：98℃预变性 2 min，98℃变性 10S，55℃退火 45S，72℃延伸 1 min，25 个循环，72℃最终延伸 10 min。PCR 产物进行电泳检测后，对目的 DNA 条带进行产物回收。使用建库试剂盒(TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit)进行 DNA 文库的构建，采用 Qubit 和 Q-PCR 对文库进行定量。文库合格，HiSeq2500 PE250 进行上机测序。基于 Illumina HiSeq 测序平台，根据所扩增 16S 区域特点，利用双末端测序(Paired-End)方法，构建小片段文库进行双末端测序，通过对 Reads 拼接过滤，OTUs(Operational Taxonomic Units)聚类，进行物种注释及丰度分析。测序由北京诺禾致源生物信息科技有限公司完成。

1.3 异化铁还原性质分析

Fe(III)分别以可溶性(柠檬酸铁)和不可溶性[人工合成 $Fe(OH)_3$]添加到富集培养基中。间隔 12 h 取样，测定菌体生长量 OD_{600} 及培养液 Fe(II)浓度，绘制菌群在不同 Fe(III)形态条件下细胞生长和 Fe(III)还原性质随时间变化曲线。

1.4 Cr(VI)的还原

设置初始 Cr(VI)浓度：0，10，20，30，40，50 mg/L。将菌株分别接种于不同 Cr(VI)浓度的培养基，测定菌株细胞生长量 OD_{600}，蛋白质含量及培养液剩余 Cr(VI)浓度，分析 Cr(VI)浓度对菌株细胞生长的影响。设置不同初始 Fe(III)浓度：0，280，560，1120，1680，2240 mg/L，分别添加至含铬浓度为 20 mg/L 培养基中，测定菌群细胞生长量 OD_{600}，培养液生成 Fe(II)浓度及 Cr(VI)还原率，分析 Fe(III)还原性质对 Cr(VI)还原的影响。

1.5 分析方法

利用分光光度计(752PC，上海光谱有限公司)测定培养液在 600 nm 吸收值，指示细菌细胞生长。菌群蛋白质含量测定根据考马斯亮蓝 G250 染色法。异化还原 Fe(III)性质通过测定培养液中产生 Fe(II)浓度表示。采用邻菲啰啉分光光度法测定 Fe(II)，计算 Fe(II)浓度，具体步骤参考文献[17]。采用二苯碳酰二肼分光光度法测定培养液 Cr(VI)浓度[12]，步骤：取 1.0 mL 培养液，离心(3 000 g，5 min)，上清液 0.5 mL，与 1.0 mL DPC 显色剂混合，加蒸馏水定容至 5 mL，反应 10 min，测定反应液在波长 540 nm 处吸收值，利用标准曲线计算出培养液中 Cr(VI)浓度。Cr(VI)还原率的计算根据公式：还原率=(Ci–Cf)/Ci×100%，其中 Ci 代表初始 Cr(VI)浓度(mg/L)，Cf 代表终止 Cr(VI)浓度(mg/L)。

2 结果与讨论

2.1 菌群异化铁还原性质分析

设置可溶性 Fe(III)(柠檬酸铁)和不可溶性 Fe(III)(氢氧化铁)两组实验条件，分析 Fe(III)形态对菌群异化铁还原性质的影响，见图 1。不同 Fe(III)形态对细菌异化铁还原性质的影响表现在，混合菌群以柠檬酸铁为电子受体时，培养体系累积产生 Fe(II)浓度为

85.08 ± 5.85 mg/L; 当菌群利用氢氧化铁为电子受体时, 其累积 Fe(II)浓度为 32.55 ± 4.78 mg/L。由此可见, 菌群更容易利用可溶性 Fe(III)作为电子受体进行异化铁还原过程。这可能是由于不同电子受体条件下的电子传递链的组分不同, 导致电子传递途径存在差异[18]。异化铁还原细菌最容易利用的电子受体是络合态 Fe(III)和可溶性 Fe(III), 其次是弱晶体 Fe(III)氧化物, 而 Fe(III)氧化物晶体是最难利用, 不同形态 Fe(III)作为电子受体, 影响其对异化铁还原细菌呼吸获能过程[19]。对于不接种菌株的空白组, 在 60 h 培养时间内, 培养液中都没有测定出 Fe(II)浓度。这表明培养液中累积 Fe(II)浓度, 是菌株以 Fe(III)为电子受体异化铁还原过程中累积产生。

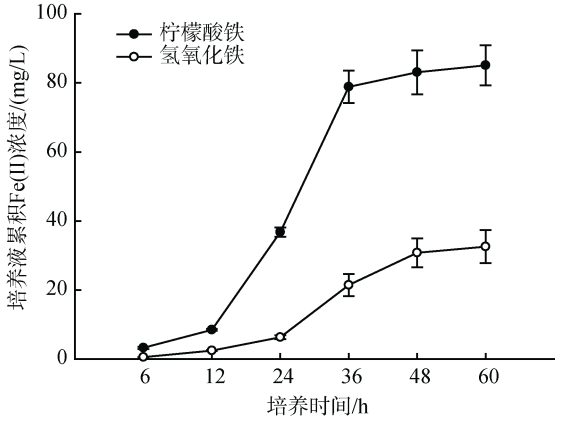


图 1 电子受体对混合菌群异化 Fe (III)还原性质的影响

Fig. 1 Effect of different electron acceptors on Fe(III)-reducing characterization of the mixed culture

2.2 混合菌群组成分析

不同电子受体下, 高通量测序分析菌群组成, 见图 2。在无添加 Fe(III)空白对照组中, 检测到 78 291 个门, 77 268 个属和 53 262 种细菌, 在属水平上, 前 3 个优势属分别为芽孢乳杆菌属 *Sporolactobacillus*, 类芽孢杆菌属 *Paenibacillus*, 梭菌属 *Clostridium*_sensu_stricto_12, 相对丰度分别为 36.7%, 16.3%和 14.7%; 在柠檬酸铁为电子受体的实验组, 检测到 75 837 个门, 71 871 个属和 12 627 种细菌, 前 3 个优势属分别为梭菌属 *Clostridium*_sensu_stricto_12, 芽孢乳杆菌属 *Sporolactobacillus*, 芽孢杆菌属 *Bacillus*, 相对丰度分别为 25.4%, 23.1%和 22.6%; 在氢氧化铁为电子受体的实验组, 检测到 75 006 个门, 73 526 个属和 50 444 种细菌, 前 3 个优势属分别芽孢乳杆菌属 *Sporolactobacillus*, 梭菌属 *Clostridium*_sensu_stricto_1, 梭菌属 *Clostridium*_sensu_stricto_12, 相对丰度分别为 24.8%, 15.4%和 13.9%。在以 Fe(III)为电子受体的培养体系中, 异化铁还原混合菌群显著富集优势菌是 *Clostridium*, 该菌隶属梭菌目 Clostridiales, 变形菌门 Firmicutes, Wang XJ 等[20]研究发现, 梭菌能够利用多种电子受体进行细胞生长。在可溶性柠檬酸铁为电子受体条件下, 菌群的多样性指数最高(shannon 指数 4.615); 在以氢氧化铁为电子受体时, 混合菌群多样性指标 shannon 指数相对降低, 为 4.158。这表明异化铁还原过程中, 混合菌群利用电子受体柠檬酸铁进行生长的效率更高。这可能是因为混合菌群进行异化铁还原时, 相比较不溶性铁, 更易利用可溶性铁进行细胞生长。

2.3 含铬条件下混合菌群生长及菌群组成

2.3.1 菌群生长

设置不同 Cr(VI)浓度: 0, 10, 20, 30, 40, 50 mg/L, 分析 Cr(VI)对菌群生长的影响, 见图 3。在低浓度 Cr(VI)(0~10 mg/L)条件下, 富集培养的混合菌群细胞能够正常生长。Cr(VI)浓度为 10 mg/L 时, 菌群细胞密度 OD_{600} 为 0.23 ± 0.02, 菌群蛋白质含量 19.22 ± 1.85 mg/L, 对 Cr(VI)还原率达到 29%。随着 Cr(VI)浓度增加, 较高 Cr(VI)浓度(20~30 mg/L)条件下, 混合菌群细胞生长表现出明显抑制。当 Cr(VI)20 mg/L 时, 菌群细胞生长受到严重抑制, Cr(VI)还原率只有 18%。菌群在 30 mg/L Cr(VI)时基本停止生长。伍迪等报道了粘质沙雷氏菌对 Cr(VI)浓度耐受范围, 当 Cr(VI)达到 20 mg/L 时, 菌株细胞生长受到严重抑制, 30 mg/L Cr(VI)导致菌株停止生长[21]。Cr(VI)浓度大于 5 mmol/L, 对海洋沉积物腐殖质还原菌生长明显抑制[22]。可见, Cr(VI)作为一种重金属污染物, 严重抑制细胞生长, 对微生物产生毒害抑制作用大。

2.3.2 菌群组成分析

固定 Cr(VI)浓度为 20 mg/L, 分别添加置不同电子受体的培养体系中, 分析重金属 Cr(VI)对细菌菌群组成的影响, 见图 4。高通量测序分类结果表明, 不含 Fe(III)的空白对照组, 即含铬培养条件下混合菌群优势菌属发生改变, 空白对照组中芽孢乳杆菌属 *Sporolactobacillus*(36.7%)和类芽孢杆菌属 *Paenibacillus*(16.3%)丰度下降明显, 分别为 1.9%和 1.2%, 而且其他菌属的相对丰度也明显下降。含铬实验组中, 优势菌属是梭菌属 *Clostridium*_sensu_stricto_6 相对丰度提高, 达到 22.2%。

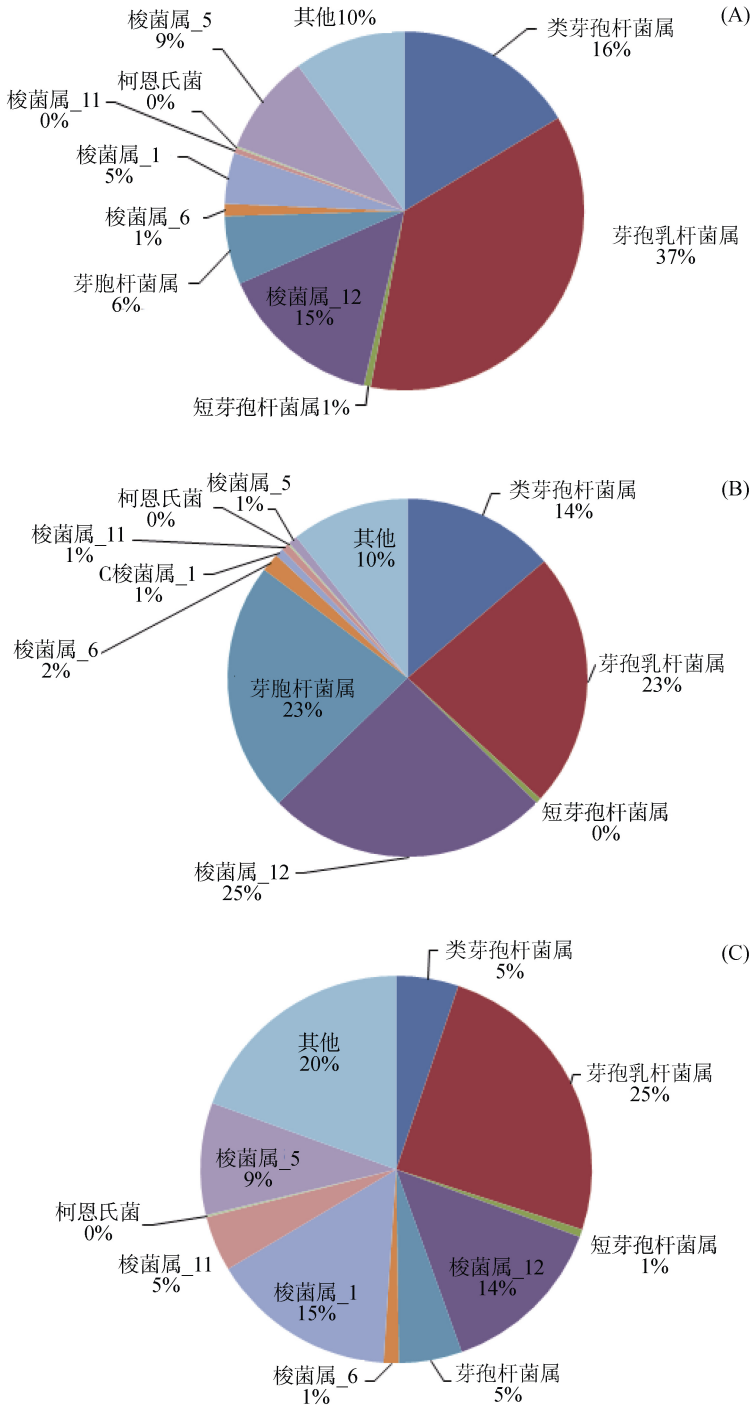


图 2　不同电子受体培养下菌群在属水平上的分类组成(A 无添加 Fe(III); B 柠檬酸铁; C 氢氧化铁)

Fig. 2　Bacterial community compositions, at genus levels, of the mixed cultures under different electron acceptors (A) without adding Fe(III); (B) adding citric acid iron; (C) adding iron hydroxide

由此可见，Cr(VI)的添加明显减少了混合菌群的组成种类，菌群多样性下降明显，优势菌属被替代。在含 Cr(VI)培养环境中，由于 Cr(VI)对细胞的毒害效应，生存竞争逐渐加剧，竞争能力较弱的 Bacillus 菌属逐渐被竞争能力较强的 Clostridium 所取代，成为绝对优势类型。以 Fe(III)为电子受体的培养体系，无论是柠檬酸铁还是氢氧化铁为电子受体，Cr(VI)的添加没有显著改变菌群优势菌的组成。异化铁还原细菌产生的 Fe(II)以非生物方式，即是一种化学作用将 Cr(VI)还原为 Cr(III)。反应式为：$3Fe^{2+}+HCrO_4^-+8H_2O=3Fe(OH)_3+$

$Cr(OH)_3+5H^+$。以解除 Cr(VI)对细胞毒害效应[23]。因此，Cr(VI)的添加没有明显改变异化铁还原细菌菌群组成。

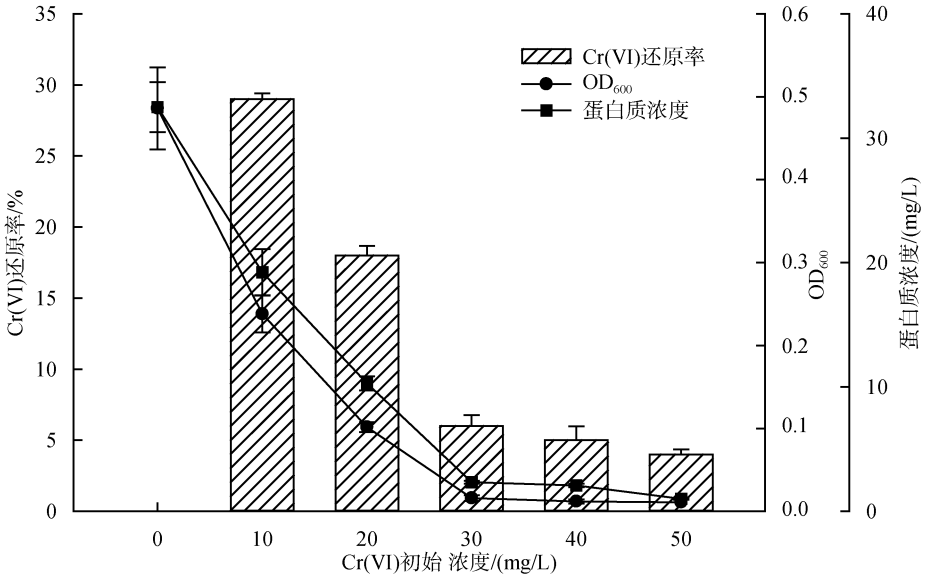


图 3　Cr(VI)浓度对菌群细胞生长及 Cr(VI)还原率影响

Fig. 3　Effects of Cr(VI) concentration on Cr(VI) reduction and cell growth by the mixed culture

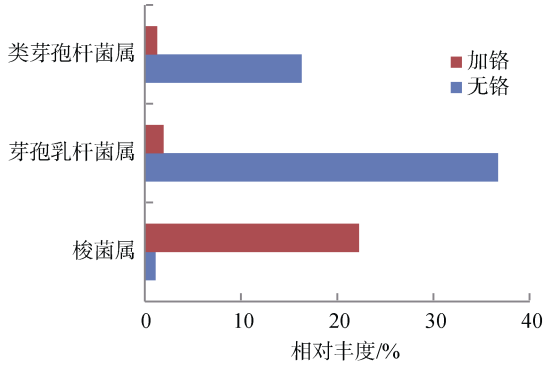


图 4　混合菌群在属水平上相对丰度的变化

Fig. 4　Variation of relative abundance by the mixed culture at genus levels

2.4　异化铁还原性质对 Cr(VI)还原效率的影响

Fe(III)浓度对异化铁还原菌群细胞生长及还原 Cr(VI)的影响见图 5，固定 Cr(VI)浓度 20 mg/L。空白组(未添加 Fe(III))菌群细胞生长指标 OD_{600} 值只有 0.10 ± 0.01。细胞生长在含铬环境中受到显著抑制。异化铁还原细菌还原 Cr(VI)效率随着柠檬酸铁添加而显著提高。浓度为 1 120 mg/L 时，异化铁还原细菌还原 Cr(VI)效率达 100%，是对照组 5.6 倍。以氢氧化铁为电子受体时，在设置 Fe(III)浓度范围内，异化铁还原细菌细胞生长及还原 Cr(VI)效率随着氢氧化铁浓度增加表现出先提高后降低规律。Fe(III)浓度为 1680 mg/L 时，菌群细胞生长及还原 Cr(VI)效率最高，OD_{600} = 0.44 ± 0.02(图中未显示)及还原率 72%。继续提高氢氧化铁浓度，异化铁还原细菌细胞生长及还原 Cr(VI)效率并没有随之提高，OD_{600} = 0.35 ± 0.03 (图中未显示)及还原率 67%。这可能是由于高浓度 Fe(III)可能对菌株细胞表面产生阻碍摩擦，最终影响细菌生长及异化铁还原过程[24]。可见，异化铁还原细菌还原 Cr(VI)效率与异化铁还原过程关系紧密。Fe(II)来源于异化铁还原过程并作为还原剂影响 Cr(VI)转化，从而能有效还原 Cr(VI)并解除 Cr(VI)对细胞生长的毒害抑制作用[25]。

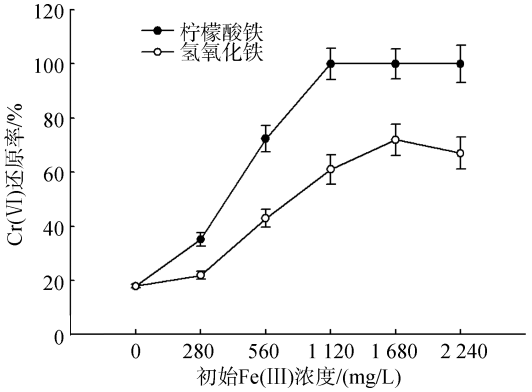


图 5　Fe(III)浓度对异化铁还原细菌还原 Cr(VI)的影响

Fig. 5　Effects of Fe(III) concentration on Cr(VI) reduction by Fe(III)-reducing bacteria

3 结论

混合菌群富集于海洋沉积物，菌群能利用不同形态 Fe(III)作为电子受体进行异化铁还原。以可溶性柠檬酸铁和不可溶性氢氧化铁为电子受体时，累积 Fe(II)浓度分别为 85.08 ± 5.85 mg/L 和 32.55 ± 4.78 mg/L。在柠檬酸铁和氢氧化铁为电子受体培养体系中，细菌种群优势属组成基本一致，相对丰度存在差异，优势菌属 *Clostridium*，属于梭菌目 Clostridiales，表明梭菌是参与 Fe(III)还原的主要优势菌。无添加 Fe(III)时，菌群在含不同初始 Cr(VI)浓度培养条件下细胞生长量都有不同程度降低，特别是当 Cr(VI)浓度高于 20 mg/L 时，重金属 Cr(VI)对菌群细胞生长的抑制作用显著。添加不同浓度 Fe(III)，菌群利用异化铁还原过程间接还原 Cr(VI)。柠檬酸铁为电子受体，Fe(III)浓度 1120 mg/L 时，异化铁还原细菌还原 Cr(VI)效率达 100%。菌群利用氢氧化铁作为电子受体，Fe(III)浓度 1680 mg/L，还原 Cr(VI)效率较高，是对照组 4 倍。利用微生物的异化铁还原过程间接还原重金属 Cr(VI)，是利用微生物解决重金属 Cr(VI)污染的重要方式。

参考文献:

[1] Anderson R T, ovley D R. Hexadecane decay by methanogenesis[J]. Nature, 2000, 404: 722-723.

[2] 司友斌, 王娟. 异化铁还原对土壤中重金属形态转化及其有效性影响[J]. 环境科学, 2015(9): 3533-3542.
Si Youbin, Wang Juan. Influence of dissimilatory iron reduction on the speciation and bioavailability of heavy metals in soil[J]. Environmental Science, 2015(9): 3533-3542.

[3] Veeramani H, Alessi D S, Suvorova E I, et al. Products of abiotic U(VI) reduction by biogenic magnetite and vivianite[J]. Geochimica et Cosmochimica Acta, 2013, 75: 2512-2528.

[4] Amstaetter K, Borch T, Larese-Casanova P, et al. Redox transformation of arsenic by Fe(II)-activated goethite (alpha-FeOOH)[J]. Environmental Science & Technology, 2010, 44(1): 102-108.

[5] Si Y B, Zou Y, Liu X H, et al. Mercury methylation coupled to iron reduction by dissimilatory iron-reducing bacteria[J]. Chemosphere, 2015, 122: 206-212.

[6] Zhang J, Dong H, Zhao L, et al. Microbial reduction and precipitation of vanadium by mesophilic and thermophilic methanogens[J]. Chemical Geology, 2014, 370(4): 29-39.

[7] Wielinga B, Mizuba M M, Hansel C M, et al. Iron promoted reduction of chromate by dissimilatory iron-reducing bacteria [J]. Environmental Science & Technology, 2001, 35(3): 522-527.

[8] Xu F, Teng M, Lian Z, et al. Chromium isotopic fractionation during Cr(VI) reduction by *Bacillus*. sp. under aerobic conditions[J]. Chemosphere, 2015, 130: 46-51.

[9] Wang Q, Huang L, Pan Y, et al. Impact of Fe(III) as an effective electron-shuttle mediator for enhanced Cr(VI) reduction in microbial fuel cells: Reduction of diffusional resistances and cathode overpotentials[J]. Journal of hazardous materials, 2016, 321: 896-906.

[10] 杜艳影, 刘小红, 李劲, 等. *Shewanella oneidensis* MR-1 对 Cr(Ⅵ)的还原及其影响因素[J]. 中国环境科学, 2018, 38(7): 342-347.
Du Yanying, Liu Xiaohong, Li Jin, et al. Reduction of Cr (VI) by Shewanella oneidensis MR-1 and its influencing factors[J]. China Environmental Science, 2018, 38(7): 342-347.

[11] 生贺, 于锦秋, 刘登峰, 等. 乳化植物油强化地下水中 Cr(VI)的生物地球化学还原研究[J]. 中国环境科学, 2015, 35(6): 1693-1699.
Sheng He, Yu Jinqiu, Liu Dengfeng, et al. Biogeochemical Cr(VI) reduction in groundwater enhanced by emulsified vegetable oil [J]. China Environmental Science, 2015, 35(6): 1693-1699.

[12] Peng L, Liu Y, Gao S H, et al. Assessing chromate reduction by dissimilatory iron reducing bacteria using mathematical modeling [J].Chemosphere, 2015, 139: 334-339.

[13] Xu F, Teng M, Lian Z, et al. Chromium isotopic fractionation during Cr(VI) reduction by *Bacillus*. sp. under aerobic conditions[J]. Chemosphere, 2015, 130: 46-51.

[14] 曲胜路, 杨茹君, 苏函, 等. 海洋中 Fe(Ⅱ)的行为及微生物参与下的过程研究概述[J]. 海洋科学, 2017, 41(10): 139-148.
Qu Shenglu, Yang Rujun, Su Han, et al. A review of the behavior and microbial activity of Fe(II) in seawater[J]. Marine Sciences, 2017, 41(10): 139-148.

[15] 刘洪艳, 王红玉, 谢丽霞, 等. 海洋沉积物中一株铁还原细菌分离及 Fe(III)还原性质[J]. 海洋科学, 2016, 40(3): 65-70.
Liu Hongyan, Wang Hongyu, Xie Lixia, et al. Isolation and characterization of a Fe (III)-reducing bacterium Klebsiella sp. KB52 from the marine sediment[J]. Marine Sciences, 2016, 40(3): 65-70.

[16] Liu H Y, Wang G C. Microbial Fe (III) reduction and hydrogen production by a transposon-mutagenized strain of *Pantoea agglomerans,* BH18[J]. Energy, 2015, 81: 691-695.

[17] 张洪霞, 郑世玲, 魏文超, 等. 水分条件对滨海芦苇湿地土壤微生物多样性的影响[J]. 海洋科学, 2017, 41(5): 144-152.

Zhang Hongxia, Zheng Shiling, Wei Wenchao, et al. Effects of water conditions on the diversity of soil microbial communities in the coastal reed wetlands [J]. Marine Sciences, 2017, 41(5): 144-152.

[18] 马晨, 杨贵芹, 陆琴, 等. *Fontibacter* sp. SgZ-2 厌氧腐殖质/Fe(Ⅲ)还原特性及电子传递机制研究[J]. 环境科学, 2014(9): 3522-3529.
Ma Chen, Yang Guiqin, Lu Qin, et al. Anaerobic reduction of humus/Fe(Ⅲ) and electron transport mechanism of *Fontibacter* sp. SgZ-2[J]. Environmental Science, 2014, 35(9): 3522-3529.

[19] 覃海华, 忻宏蔚, 刘洪艳. 不同电子受体下铁还原细菌异化还原 Fe(III)性质及菌群特征[J]. 生态学杂志, 2018, 37(6): 1759-1764.
Qin Haihua, Xin Hongwei, Liu Hongyan. Characteristics of Fe(III) reduction and microbial community by Fe(III) reducing bacteria using different donor acceptors[J]. Chinese Journal of Ecology, 2018, 37(6): 1759-1764.

[20] Wang X J, Yang J, Chen X P, et al. 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.

[21] 伍迪, 陈晓明, 肖伟, 等. 粘质沙雷氏菌对 U(VI)、Co(II)、Cr(VI)的耐受性研究[J]. 安全与环境工程, 2017, 24(2): 53-57.
Wu Di, Chen Xiaoming, Xiao Wei, et al. Tolerance of *Serratia marcescens* to U(VI)、Co(II) and Cr(VI)[J]. Safety and Environmental Engineering, 2017, 24(2): 53-57.

[22] 吴鹏. 海洋沉积物腐殖质还原菌的分离鉴定及其对Cr(VI)的还原性能[D]. 暨南大学, 2010.
Wu Peng. Isolation and identification of humic-reducing bacteria in marine sediment and its application in Cr(VI) reduction[D]. Jinan University, 2010.

[23] Wielinga B, Mizuba M M, Hansel C M, et al. Iron promoted reduction of chromate by dissimilatory iron-reducing bacteria[J]. Environmental Science Technology, 2001, 35: 522-527.

[24] Liu C, Zachara J M, Gorby Y A, et al. Microbial reduction of Fe (III) and sorption/precipitation of Fe (II) on *Shewanella putrefaciens* strain CN32[J]. Environmental Science Technology, 2001, 35: 1385-1393.

[25] Watts M P, Coker V S, Thomas S A R A, et al. Effective treatment of alkaline Cr(VI) contaminated leachate using a novel Pd-bionanocatalyst: Impact of electron donor and aqueous geochemistry[J]. Applied Catalysis B-Environmental, 2015, 170-171: 162-172.

Characteristics of chromate reduction by Fe(III) reduction using mixed bacteria from marine sediment

LIU Hong-yan, WANG Shan

(Tianjin Key Laboratory of Marine Resources and Chemistry, College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science & Technology, Tianjin 300457, China)

Received: Feb. 11, 2019
Key words: marine sediment; Fe(III)-reducing bacteria; microbial community; Fe(III) reduction; Cr(VI) reduction

Abstract: Indirect Cr(VI) reduction by dissimilar Fe(III)-reducing bacteria are considered an important process for the protection of Cr(VI)-polluted environments. This study aimed to investigate the characteristics of microbial Cr(VI) reduction by dissimilar Fe(III)-reducing bacteria from marine sediment. Characteristic of Fe(III) reduction by mixed bacteria using different electron acceptors was determined. The differences in Fe (III)-reducing activity of the mixed culture using ferric citrate and ferric hydroxide as electron acceptors indicated that the Fe(II) concentrations of the culture were 85.08 ± 5.85 mg/L and 32.55 ± 4.78 mg/L, respectively. The effect of electron acceptors on the microbial community of the mixed culture indicated that bacterial diversity, with Shannon indeces of 4.615 and 4.158 in the mixed culture with added Fe(III), was higher than that of the control with a Shannon index of 3.735 without added Fe(III). Sequencing data analysis showed that the dominant populations were *Clostridium* in the mixed culture under Fe(III)-reducing conditions. The Cr(VI) reduction ratios in the mixed culture were determined in both the presence and absence of Fe(III). Results showed that the highest ratio of Cr(VI) reduction was almost 100% at ferric citrate concentrations of 1120 mg/L. When the ferric hydroxide concentration was 1680 mg/L, Cr(VI) reduction was achieved at 72% under Fe(III) reducing conditions, which increased Cr(VI) reduction by a factor of four compared with that of the control group with no adding of Fe(III). The reduction of Cr(VI) was clearly stimulated by Fe(III) reduction with the addition of Fe (III) as an electron acceptor. These results indicated that dissimilar Fe(III)-reducing bacteria could improve the rate of Cr(VI) reduction, which could, in turn, provide evidence for the application of microorganism to the treatment of heavy metal Cr(VI) pollution.

(本文编辑: 赵卫红)