DOI: 10.11766/trxb201712070430

豫西旱作褐土剖面土壤的氧化铁还原与亚铁氧化特征^{*}

王旭刚 孙丽蓉 张颖蕾 徐晓峰 郭大勇 石兆勇 (河南科技大学农学院,河南洛阳 471023)

摘 要 土壤铁氧化物的氧化还原过程不仅与重金属的生物有效性和有机污染物降 解转化关系密切,也与旱地土壤肥力关系密切,因而备受关注。然剖面土壤耕层以下是否 存在铁氧化物的还原、氧化过程,其特征如何尚未可知。本文采用恒温厌氧泥浆培养的方 法研究旱地褐土剖面中铁的氧化还原特征。结果表明,旱地土壤剖面0~100 cm中均存在 铁的厌氧还原过程,还原潜势、最大速率均随剖面深度增加而显著降低;剖面0~80 cm土 层中均存在光合型Fe(II)氧化现象,0~40 cm土层Fe(II)氧化量和氧化速率显著高于 40~80 cm。剖面的铁氧化还原过程不仅受有机碳含量影响,也受N、K等养分元素的影响。 结果可为拓展对铁氧化还原微生物生境的认识、深入理解土壤剖面中铁氧化还原过程提供 依据。

关键词 旱地土壤;铁还原;土壤剖面;亚铁氧化;褐土中图分类号 S153.4 文献标识码 A

铁是土壤中丰度最高的可变价过渡金属元素。 Fe(III)氧化物的溶解度远小于Fe(II)氧化物, 故其还原过程伴随着吸附于表面或者包裹其中的氧 化物结合态重金属的溶解和迁移,进而增加了重 金属As、Co、Mo和Ni的生物有效性和进入食物链 的风险^[1-2]。此外,铁还原微生物(Iron reducing bacteria, IRB)可以在还原铁氧化物的同时直接或 者间接促进有机污染物的降解^[3-4]。

自然界的厌氧环境,如水体^[5]、沉积物^[6]、 土壤^[7]均可发现IRB介导的铁还原过程,甚至旱 地农田的耕层土壤中亦存在铁的还原过程^[8]。旱 地土壤铁的厌氧还原过程中99.26%的硝酸盐被还 原^[8],促使氮素可能以N₂O形式损失^[9]。此外, 铁的还原不利于形成水稳性结构体,引起土壤铁 解^[10],但可增加磷的生物有效性^[11]。豫西黄 土区土层深厚,耕层以下土壤中铁氧化物总量随 剖面呈现一定的增加趋势,但与表层土壤差异不 大^[12]。虽然土壤剖面中铁氧化物的形态及相对含量存在差异^[13],黏土矿物结构中铁亦可被IRB还原^[14-15],且耕层以下土壤易于保持厌氧环境,但耕层以下土壤中铁还原、氧化过程特征如何鲜见报道。

近中性条件下,还原产生Fe(II)在厌氧光 照条件下可被光合型Fe(II)氧化(Phototrophic ferrous oxidation, PFO)微生物^[16]、硝酸盐 依赖性Fe(II)氧化(Nitrate dependent ferrous oxidation, NDFO)微生物氧化^[17],或者被嗜中 性微好氧亚铁氧化菌氧化^[18],其氧化过程中伴随 着生物成矿和与重金属离子的共沉淀^[19],从而降 低重金属的生物有效性。研究发现水稻土、旱作褐 土耕层和表层土壤均存在光合型亚铁氧化过程, Fe(II)氧化量与土壤无定形铁、水溶性硫酸盐含 量、阳离子交换量显著负相关,与土壤总氮、总磷 显著正相关^[20-21]。研究发现微生物可以通过气、

^{*} 国家自然科学基金项目(U1504402, 41601309)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. U1504402, 41601309)

[†]作者简介: 王旭刚(1978一),男,河南南阳人,博士,副教授,主要从事土壤化学方面研究。E-mail: nywxg@126.com 收稿日期: 2017-12-07;收到修改稿日期: 2018-02-21;优先数字出版日期(www.cnki.net): 2018-05-24

水迁移等途径实现不同区域的水平迁移^[22],且土 壤耕层以下土壤与表层土壤存在气体交换和水分的 淋溶入渗,Fe(II)氧化微生物可能随气、水或者 植物根系而向下迁移。但耕层以下土壤长期不见 光。此外,硝酸盐在旱地农田土壤剖面中出现富集 现象,但含量低于研究硝酸盐依赖型Fe(II)氧化 过程采用的硝酸盐浓度^[23-25],Fe(II)氧化过程 是否存在、其特征如何尚不明晰。

鉴于此,本文采用恒温厌氧泥浆培养的方法研 究旱地淋溶褐土的剖面土壤样品在光照和避光条件 下铁的氧化还原过程,以期探索旱地土壤耕层以下 土壤中是否存在铁还原过程和光合型Fe(II)氧化 过程,为拓展对铁氧化还原微生物生境的认识、深 入理解铁氧化还原过程提供依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤剖面样品采自河南省洛阳市洛宁县 王村乡聂坟村旱作农田(111°39′19.30″E, 34°27′14.76″N),土壤类型为褐土。采样点 位于豫西丘陵山区,暖温带大陆性季风气候,海拔 561 m,年均降水量570 mm,主要作物为冬小麦/ 夏玉米。样品用带刻度的不锈钢管型土钻采集,每 20 cm深度取土钻中心土样,避光自然风干,粉碎 过20目筛备用。供试土壤基本性质见表1。

表1 供试土壤基本性质

		Table	I Busie son prop	erties of the sump	te promes		
剖面深度 Profile depth /cm	pН	有机碳 Organic carbon / (g·kg ⁻¹)	水溶性有机碳 Water soluble organic carbon / (mg·kg ⁻¹)	水溶性无机碳 Water soluble inorganic carbon / (mg·kg ⁻¹)	碱解氨 Alkalyzable nitrogen / (mg·kg ⁻¹)	水溶性硝酸盐 Water soluble nitrate / (mg·kg ⁻¹)	有效磷 Available phosphors / (mg·kg ⁻¹)
0~20	$8.00 \pm 0.01c$	6.80 ± 0.37a	143.0 ± 7.6a	56.73 ± 1.1a	45.50 ± 4.95c	13.56 ± 1.22a	2.52 ± 0.02a
20~40	7.97 ± 0.01d	6.63 ± 0.23a	$135.3 \pm 0.4b$	59.17 ± 1.1a	85.50 ± 4.85a	13.27 ± 0.56a	1.69 ± 0.03b
40~60	$7.99 \pm 0.02c$	$3.33 \pm 0.05b$	109.6 ± 1.3c	60.62 ± 6.51a	57.75 ± 2.47b	$4.39 \pm 0.05b$	$0.31 \pm 0.17d$
60~80	$8.10 \pm 0.01b$	$3.06 \pm 0.07b$	80.7 ± 1.4d	$35.98 \pm 0.04b$	59.50 ± 14.85b	$1.99 \pm 0.05c$	$0.54 \pm 0.11c$
80~100	8.17 ± 0.02a	$3.21 \pm 0.31b$	70.3 ± 2.7d	19.53 ± 1.05c	45.50 ± 9.90c	2.11 ± 0.17c	$0.48 \pm 0.08c$
剖面深度 Profile depth cm	缓效钾 Slowly available potassium / (g·kg ⁻¹)	速效钾 Readily available potassium / (mg·kg ⁻¹)	阳离子交换量 CEC / (cmol·kg ⁻¹)	物理性黏粒 Physical clay /%	有效铁 Available iron / (mg·kg ⁻¹)	水溶性硫酸盐 Water soluble sulfate / (mg·kg ⁻¹)	
0~20	$1.22 \pm 0.05a$	$168.8 \pm 2.0a$	85.86 ± 2.12ab	38.04	$6.44 \pm 0.59a$	$31.29 \pm 0.48b$	
20~40	$1.15 \pm 0.02b$	$1/0.0 \pm 2.0a$	$85.98 \pm 6.4/ab$	41.79	$0.49 \pm 0.09a$	$33.9/\pm 1.45a$	
40~60	$1.12 \pm 0.01b$	$147.0 \pm 2.8b$	87.85 ± 4.51a	52.11	6.20 ± 0.24ab	$17.32 \pm 0.57e$	
60~80	$0.89 \pm 0.01c$	$119.9 \pm 1.4c$	77.44 ± 7.18c	50.04	$5.87 \pm 0.02b$	$21.94 \pm 0.14d$	
80~100	0.69 ± 0.01 d	100.9 ± 1.7 d	$82.31 \pm 4.55b$	54.19	$5.42 \pm 0.14c$	$29.25 \pm 0.41c$	

注:平均值 ± 标准差;同列字母不同表示差异达到显著水平(P<0.05)。下同 Note: Mean ± SD. Different letters in the same column mean significant difference (P<0.05). The same below

1.2 恒温厌氧培养试验

称取每个剖面深度的土壤样品3.000 g若干份 于容积为10 mL的血清瓶中,加入3 mL去离子水 后盖上橡胶塞,充氮5 min以排出顶空中氧气,在 氮气保护下加铝盖密封,1/2置于光照培养箱(宁
波莱福,FPG3)中30±1℃^[25]培养作为光照处理
(2000 lux),1/2置于恒温培养箱(上海博讯,GSP-9270MBE)中30±1℃避光培养(避光处

理)。在40 d的持续恒温培养过程中,定期采样分析Fe(II)含量。每次采样时各处理取出3瓶,打开密封铝盖和橡胶塞,充分摇匀后用移液器吸取 0.4 mL泥浆,溶于预先加入4.6 mL0.5 mol·L⁻¹盐酸并称重的塑料离心管中,在30±1 ℃恒温培养箱中 浸提24 h。浸提液过0.22 μ m滤膜后测定滤液中Fe (II)浓度。

培养结束后各处理取3瓶,用27 mL去离子水 将瓶内泥浆全部洗入100 mL三角瓶,摇匀过滤后 分析其水溶性硝酸盐、硫酸盐、无机碳和有机碳的 含量。

土壤pH、有机碳、碱解氮、有效磷、缓效 钾、速效钾、阳离子交换量、物理性黏粒采用常规 分析方法测试^[26]。

0.5 mol·L⁻¹ HCl提取Fe(Ⅱ)、水溶性硫酸 盐、硝酸盐和水溶性碳含量利用文献[8]中方法 测试。

1.3 数据处理

参照文献 [8] 中提到的Logistic方程式拟合避 光培养过程中0.5 mol·L⁻¹ 可提取Fe(II)含量随时 间的变化,求出体系中Fe(II)的最大累积量(还 原潜势)、速率常数、最大速率(V_{max})及其出现 的时间。

光照条件下Fe(II)最大累积量为培养过程 中Fe(II)的最大值;氧化开始时间为培养过程 Fe(II)开始降低的时间;Fe(II)氧化量为Fe (II)的最大值与培养结束时体系Fe(II)含量的 差值;Fe(II)氧化速率为平均氧化速率,数值 上等于Fe(II)氧化量除以培养过程中氧化持续 时间。 数据采用OriginPro 8.5和SPSS 13.0分析 处理。

2 结 果

2.1 避光时剖面土壤铁的还原特征

豫西旱地土壤剖面0~100 cm范围内均存在铁 还原过程。避光培养过程中不同土层0.5 mol·L⁻¹ HC1可提取Fe(II)随培养时间均呈现"S"型 增长趋势(图1a),剖面深度并不影响Fe(II) 累积趋势,但剖面不同深度土壤中Fe(II)的累 积量之间存在明显差异(图1a)。由图2可知, 旱地土壤剖面铁氧化物的还原潜势在0~60 cm的 深度随剖面深度的增加显著降低,60~80 cm和 80~100 cm之间无显著差异。耕层(0~20 cm) 和20~40 cm土层中铁氧化物的还原速率常数、最 大速率及其出现时间均无显著差异,剖面深度超 过40 cm后呈现铁氧化物的还原速率常数、最大 速率均呈现显著降低趋势,最大速率出现时间则 显著后延。

2.2 光照时剖面土壤铁的还原及Fe(II)的氧化

光照条件下,0~80 cm土层中Fe(II)随培养时间的累积趋势与避光明显不同(图1),培养前期表现为Fe(III)还原,后期Fe(II)累积量明显降低,表现为Fe(II)氧化,说明旱地土壤0~80 cm土层中均存在光合型Fe(II)氧化微生物。

光照条件下20~40 cm 土层中Fe(II)的累积 量、氧化量和氧化速率均为最大。除了20~40 cm 土层外,Fe(II)累积量、氧化量和氧化速率均随 剖面深度呈现降低趋势(图3)。









Fig. 2 Variation of key parameters of the reducing processes of iron in the soil incubated in darkness with soil depth in profile

虽80~100 cm土层在培养过程中未出现Fe(II) 累积量降低所表现出的氧化现象,但该土层在30 d 培养结束时Fe(II)的累积量为383.3 μg·g⁻¹,较之 避光时降低了28.74%。前期Fe(II)最大累积量以 20~40 cm土层最大,与剖面深度的关系与避光基 本一致。对于耕层(0~20 cm)和20~40 cm土层而 言,虽然Fe(II)分别在培养12 d和15 d时开始明 显降低,但均自第7 天开始不再明显上升,显著区 别于避光处理(图1 a)。

2.3 培养结束后的水溶性碳

在避光或光照条件,培养结束后剖面土壤中水 溶性有机碳均呈现降低趋势,减少量随剖面深度增 加而降低(图4)。避光处理水溶性有机碳平均降 低19.38 mg·kg⁻¹,平均降幅14.98%;不同土层减少 量随剖面深度减小,降幅在0~60 cm土层之间未见 显著变化;光照处理水溶性有机碳平均降低34.62 mg·kg⁻¹,平均降幅32.09%。

避光培养显著增加了剖面中水溶性无机碳的 含量,平均增量55.50 mg·kg⁻¹,增量在0~60 cm 深度随剖面深度增加而显著减少,40~100 cm深度 土层之间无显著差异(图5)。光照培养结束后剖 面土壤水溶性无机碳含量平均为21.65 mg·kg⁻¹, 不同深度土层之间无显著差异。光照培养降低了 0~80 cm土层中水溶性无机碳的含量,减少量介于 16.45~39.80 mg·kg⁻¹之间(图5)。

进一步分析培养过程水溶性碳变化量与铁氧化 还原关键参数的关系发现(表2),避光时铁还原 潜势与水溶性无机碳增量之间存在正相关关系,铁 还原速率常数、最大速率与水溶性有机碳减少量呈 显著正相关关系,显示铁的避光还原过程促进了有 机碳的矿化。光照时,Fe(II)氧化量与水溶性无 机碳减少量显著正相关,氧化速率水溶性有机碳变



图3 光照培养时铁还原氧化过程的关键参数随剖面深度的变化

Fig. 3 Variation of key parameters of iron redox processes in the soil anaerobically incubated in light with soil depth in profile



图4 厌氧培养结束后剖面土层中水溶性有机碳含量(a)及减少量(b)

Fig. 4 Water soluble organic carbon in the soil profile after anaerobic incubation, (a) content and (b) amount reduced

化量正相关(表2),其原因可能与水溶性无机碳 被光合产氧微生物用以产氧,促使Fe(II)的再氧 化有关。

2.4 培养结束后的水溶性硝酸盐和硫酸盐

培养结束后,体系中水溶性硝酸盐含量如表 3所示,可以看出无论避光还是光照条件,培养结 束后水溶性硝酸盐含量均呈现降低趋势,降幅介于 83.41%~98.60%,且随剖面深度增加而减少。光 照处理平均降幅93.12%,与避光处理的降幅之间 无显著差异。

避光培养结束后水溶性硫酸盐含量降低,降幅 介于22.19%~92.36%,降幅随剖面深度增加而减



Fig. 5 Water soluble inorganic carbon in the soil profile after anaerobic incubation, (a) content and (b) variation

表2 铁氧化还原关键参数与培养过程水溶性碳、硝酸盐、硫酸盐变化量的相关系数

 Table 2
 Correlation coefficient between key parameters of iron redox and variations of water soluble carbon, nitrate and sulphate in the process of anaerobic incubation

	水溶性无机碳变化量	水溶性有机碳变化量	硝酸盐减	硫酸盐减
铁氧化还原关键参数	Variation of water	Variation of water	少量	少量
Key parameters of iron redox	soluble inorganic soluble organic		Decrease of	Decrease of
	carbon	carbon	nitrate	sulfate
还原潜势 Reducing potential	0.984**	0.846	0.997**	0.993**
速率常数 Rate constant	0.633	0.913*	0.759	0.695
最大速率 Maxi velocity	0.945*	0.882*	0.990**	0.971**
最大Fe(II)产生量 Maximum Fe(II)generated	0.781	0.863	0.972**	-0.957*
Fe(II) 氧化开始时间 Time Fe(II) oxidation began	-0.925*	-0.536	-0.412	0.333
Fe(II) 再氧化量 Amount of ferrous re-oxidized	0.914*	0.861	0.903*	-0.878*
Fe(II) 再氧化速率 Ferrous re-oxidization rate	0.851	0.929*	0.956*	-0.926*

*, P<0.05; **, P<0.01

少(表4)。光照培养结束后0~40 cm土层水溶性 硫酸盐含量略有增加,增幅介于7.30%~8.63%; 40~100 cm土层水溶性硫酸盐含量降低,降幅 15.21%~26.44%。

相关分析显示,水溶性硝酸盐减少量与避光时 铁还原潜势、最大还原速率之间存在极显著正相关 关系,与光照时铁的还原量、再氧化量及再氧化速 率呈显著正相关关系(表2)。避光时水溶性硫酸 盐减少量与铁还原潜势、最大还原速率呈极显著正 相关关系;光照时与最大Fe(II)产生量、再氧化 量、再氧化速率之间存在显著负相关关系。

2.5 铁还原氧化关键参数与培养前土壤性质的 关系

本试验在特定土壤的垂直方向上探索了土壤 性质与铁氧化还原的关系(表5)。避光时铁还原 潜势与培养前有机碳、水溶性有机碳含量显著正相 关,这与以前在不同地区耕层土壤水平方向得到的 结果一致^[8];同时也与水溶性硝酸盐含量、有效 磷含量、速效钾含量显著正相关,与物理性黏粒含 量显著负相关。由此可见耕层以下土壤有效态N、 P、K含量较低可能是制约铁还原的原因之一。铁 还原的最大速率除与上述指标正相关外,还与水溶

Table 3 Water soluble nitrate in the soil profile after the incubation								
刘五次庄	光照	Illumination	 避光 Dark					
司面标度 Profile depth/cm	含量Content / (mg·kg ⁻¹)	降幅Decrease range/%	含量Content /(mg·kg ⁻¹)	降幅Decrease range/%				
0~20	0.26 ± 0.03	98.08	0.19 ± 0.03	98.60				
20~40	0.45 ± 0.02	96.61	0.22 ± 0.02	98.34				
40~60	0.24 ± 0.11	94.53	0.21 ± 0.03	95.22				
60~80	0.14 ± 0.04	92.96	0.27 ± 0.01	86.43				
80~100	0.35 ± 0.12	83.41	0.28 ± 0.05	86.73				
平均 Average	0.29 ± 0.10	93.12 ± 5.77	0.23 ± 0.03	93.06 ± 6.07				
变异系数CV(%)	34.48	6.16	13.04	6.51				

表3 培养结束剖面土层中水溶性硝酸盐含量

表4	培养结束剖面土层中水溶性硫酸盐含量	

刘五返庄	光照日	Illumination	避光 Dark		
前面深度 Profile depth/cm	含量Content /(mg·kg ⁻¹)	降幅Decrease range/%	含量Content /(mg·kg ⁻¹)	降幅Decrease range/%	
0~20	33.99 ± 5.32	-8.63	2.39 ± 1.33	92.36	
20~40	36.45 ± 1.53	-7.30	7.09 ± 2.89	79.13	
40~60	13.87 ± 1.84	19.92	8.73 ± 5.14	49.60	
60~80	16.14 ± 2.56	26.44	15.71 ± 1.67	28.40	
80~100	24.8 ± 3.42	15.21	22.76 ± 3.98	22.19	
平均 Average	25.05 ± 9.10	9.13 ± 14.41	11.34 ± 7.13	54.33 ± 30.78	
变异系数CV(%)	36.33	157.83	62.87	54.65	

Cable 4 Water soluble sulfate in the soil profile after the incubation

性硝酸盐显著正相关。

光照时影响最大Fe(II)产生量的因素与避光时的因素基本相同。Fe(II)的氧化量除与培养前水溶性有机碳、缓效钾、速效钾、水溶性硝酸盐含量正相关外,也与水溶性无机碳含量显著正相关,说明光照时Fe(II)氧化的过程需要消耗土壤的水溶性无机碳。Fe(II)氧化速率则与有机碳、水溶性有机碳、缓效钾、速效钾、水溶性硝酸盐正相关。

3 讨 论

褐土是我国小麦与玉米产区的重要土壤类型之 一,分布总面积达2.52×10⁷ hm²,具有低有机碳、 高碳酸盐等特征^[12]。土壤有机质和全氮含量是褐 土区农业生产和可持续发展的重要影响因素^[27]。 土壤铁氧化物的厌氧还原与有机碳的矿化、氮的损 失密切相关,且受土壤pH^[28]、有机碳^[29]、含水 量和光照^[30]等因素影响。

本试验显示避光时豫西旱地褐土0~100 cm的 剖面土壤中的铁氧化物均可被还原,铁还原潜势介 于0.92~3.95 mg·g⁻¹之间,表明铁还原微生物可在 旱地土壤剖面0~100 cm深度存在,拓展了对铁还 原微生物生境的认识。不同区域褐土中铁还原潜势 与有机碳含量之间存在显著正相关关系^[8],本试 验结果显示铁还原潜势与有机碳含量之间的正相关 关系在土壤剖面中依然存在(表2)。耕层以下土 壤尤其是40 cm以下,长期少人为耕作扰动,处于 厌氧状态,而且铁氧化物含量有增加趋势^[12],但 厌氧培养后铁还原量较之表层显著降低,可能原因 之一就是40 cm以下土壤有机碳含量平均含量3.20 mg·g⁻¹,不足0~40 cm土层的1/2。此外,下层土壤 底物供给不适宜微生物繁育,研究也显示土壤微生 物量碳随剖面深度显著降低^[31];下层土壤铁氧化

表5 铁氧化还原关键参数与培养前土壤性质的相关系数

 Table 5
 Correlation coefficient between key parameters of iron redox and soil properties before the incubation

	避光 Dark				光照 Illumination			
土壤性质 Soil properties	还原潜势 Reduction potential	速率常数 Rate constant	最大速率 Max velocity	最大速率 出现时间 Time max velocity appeared	最大Fe(II) 产生量 Max Fe(II) generated	Fe(II)氧化 开始时间 Time Fe(II) oxidation began	Fe(II) 氧化量 Fe(II) oxidized	Fe(II) 氧化速率 Velocity of Fe(II) oxidation
рН	-0.754	-0.992**	-0.836	0.974**	-0.850	0.873	-0.957*	-0.903*
有机碳①	0.986**	0.671	0.964**	-0.655	0.946*	-0.310	0.846	0.916*
培养前水溶性无机碳 ^②	0.706	0.982**	0.787	-0.977**	0.793	-0.900*	0.921*	0.868
培养前水溶性有机碳 ³	0.960**	0.902*	0.979**	-0.885*	0.957*	-0.628	0.966**	0.988**
碱解氮④	0.310	0.510	0.424	-0.489	0.555	-0.515	0.569	0.465
有效磷⑤	0.937*	0.517	0.874	-0.562	0.825	-0.205	0.709	0.831
缓效钾⑥	0.82	0.949*	0.867	-0.977**	0.852	-0.830	0.939*	0.934*
速效钾 ^⑦	0.900*	0.954*	0.945*	-0.951*	0.940*	-0.755	0.987**	0.983**
有效铁®	0.854	0.945*	0.907*	-980**	0.916*	-0.823	0.977**	0.970**
物理性黏粒®	-0.951*	-0.634	-0.916*	0.712	-0.893*	0.405	-0.812	-0.912*
阳离子交换量⑩	0.598	0.797	0.654	-0.567	0.609	-0.402	0.690	0.609
水溶性硝酸盐 ^①	0.997**	0.756	0.989**	-0.73	0.973**	-0.404	0.902*	0.953*
水溶性硫酸盐 ¹²	0.656	0.104	0.589	-0.034	0.586	0.323	0.362	0.452

①Organic carbon; ②WSIC before incubation; ③WSOC before incubation; ④Alkalyzable nitrogen; ⑤Available phosphors; ⑥Slowly available potassium; ⑦Readily available potassium; ⑧ Available iron; ⑨Physical clay; ⑩CEC; ⑪Water soluble nitrate; ⑫Water soluble sulfate

物活化度较低^[32]也可能是下层土壤铁还原潜势显 著降低的原因。

土壤硝酸盐也与铁还原关系密切。一方面硝 酸盐(7.5 mmol·L⁻¹)可作为竞争电子受体而抑制 铁的还原^[33],其抑制作用可因铁氧化物结晶程 度和比表面不同而异^[33],亦可因外加碳源而缓 解^[34]。另一方面硝酸盐可作为微生物可利用之氮 源而被同化吸收^[35-36]。本试验条件下(硝酸盐含 量2.11~13.56 mg·kg⁻¹) 土壤中铁还原潜势和最大 还原速率与培养前土壤硝酸盐含量、培养前后硝酸 盐减少量之间的显著正相关关系(表2和表5)显示 了硝酸盐对铁还原的促进作用。此外,研究也发现 硝酸盐还原菌Pseudogulbenkiania sp. strain 2002 在还原硝酸盐的同时伴随着细胞的生长,细胞蛋白 质含量由20 μg·mL⁻¹增加至30 μg·mL^{-1[37]},表 明了硝酸盐还原菌对氮的同化需求。低浓度(<2.0 mmol·L⁻¹) 硝酸盐可以通过促进细胞活性而促进铁 的还原^[38]。故而,硝酸盐可能是在满足微生物自

身对氮的同化需要的条件下才可表现为铁氧化物异 化还原的竞争电子受体。外加硝酸盐对铁氧化还 原过程的浓度效应因土壤而异,0.59 mmol·L⁻¹硝 酸盐可促进*Pseudogulbenkiania* sp. strain 2002实 现氧化Fe(II)的功能^[37];外加低浓度硝酸盐 (0~1.0 mmol·L⁻¹)可促进广东恩平水稻土中铁的 还原,且1.0 mmol·L⁻¹硝酸盐的促进作用高于0.5 mmol·L^{-1[39]};重复添加1.0 mmol·L⁻¹硝酸盐对意 大利维切利水稻土中Fe(II)累积并无影响,对该 土壤经过有机质耗竭(30℃厌氧培养3个月)后则 表现出轻微不显著的抑制^[34]。硝酸盐是否会对本 试验所用样品中铁还原过程产生抑制、产生抑制所 需硝酸盐的量仍需要进一步研究。

厌氧条件下还原产生Fe(II)可被PFO^[16]、 NDFO微生物氧化^[17]。NDFO对Fe(II)的氧化 受NDFO微生物种类数量、碳源、硝酸盐含量等因 素影响,但不需要光。硝酸盐还原菌*Thiobacillus denitrificans*和*Pseudomonas stutzeri*可在将硝酸 盐还原为亚硝酸盐的同时氧化Fe(II)^[37,40]。 Klebsiella pneumoniae L17即可还原硝酸盐亦可还 原Fe(III)^[41]。电子供体受限时硝酸盐还原菌在 与铁还原菌竞争电子供体时占优势^[34];但也有研 究显示江西鹰潭水稻土(pH=5.90)添加生物炭pH 升至6.60~7.92后反硝化菌丰度降低而铁还原菌丰 度增加^[42]。本试验(pH介于7.97~8.17)结果也 显示培养前水溶性硝酸盐与铁还原潜势、最大还原 速率之间均存在极显著正相关关系(表3),但避 光培养过程中未见Fe(II)氧化现象(图1a)。 原因可能是: (1)本试验样品中硝酸盐浓度不足 以激活硝酸盐依赖型Fe(II)氧化微生物,研究硝 酸盐依赖型Fe(II)氧化过程采用的硝酸盐浓度多 为4.5~10.0 mmol·L^{-1 [25,43]}; (2)无论是DIRB、 PFO或者NDFO的繁育均需要氮, 而本试验条件下 铁还原微生物与硝酸盐依赖型Fe(II)氧化微生物 竞争氮源的过程中占优势^[42]。

自然条件下耕层以下土壤长期不见光, 可能并不存在光合型Fe(II)氧化现象。本 试验对耕层及以下土层土壤进行光照刺激的 恒温培养试验发现,采自剖面0~80 cm的土 壤样品中均可发生Fe(II)的厌氧氧化,氧 化量介于0.26~1.21 mg·g⁻¹。此外,光合型Fe (II)氧化微生物在同化无机碳的同时氧化Fe (II)^[44]。本试验结果也显示光照时水溶性 无机碳显著降低,且Fe(II)氧化量与水溶性 无机碳减少量显著正相关(表2),与孙丽蓉 等^[29]研究结果一致。由此,本试验数据可在侧面 显示光合型Fe(II)氧化微生物可能随水分的淋溶 入渗而在0~80 cm土层存在。80~100 cm土层未见 Fe(II)氧化现象,但其光照时铁氧化物还原量显 著小于避光时还原量。此外,虽80~100 cm土层经 过光照培养后与避光处理一样增加了水溶性无机 碳含量,但增幅显著小于避光处理(图5b)。这 一差异的原因究竟是光照抑制了铁还原微生物对 铁的异化还原过程,还是虽然存在光合型Fe(II)氧化过程,受限于80~100 cm土壤有机碳、水溶性 无机碳含量低或者其他因素而使Fe(II)氧化速率 小于Fe(III)还原速率,仍需进一步直接分析光 合型Fe(II)氧化微生物可在土壤剖面淋溶的深度 并配合外加碳源、氮源等试验予以证实。

4 结 论

黄河中下游旱地土壤剖面0~100 cm土层存在 铁氧化物的厌氧还原过程,铁还原潜势随剖面深度 增加显著降低,0~40 cm土层的还原速率常数、最 大还原速率和最大速率出现时间均显著高于40 cm 以下土壤。旱地土壤剖面0~80 cm土层存在光合型 Fe(II)氧化现象,且0~40 cm土层Fe(II)氧化 量和氧化速率显著高于40~80 cm土层。剖面土壤 铁氧化还原过程不仅受到有机碳含量的影响,也受 到硝酸盐、钾等养分元素的影响,硝酸盐和钾不 仅促进光照时Fe(II)的氧化,亦促进避光时铁的 还原。

参考文献

- Vink J P M, van Zomeren A, Dijkstra J J, et al. When soils become sediments: Large-scale storage of soils in sandpits and lakes and the impact of reduction kinetics on heavy metals and arsenic release to groundwater. Environmental Pollution, 2017, 227: 146-156
- Yu H Y, Li F B, Liu C S, et al. Iron redox cycling coupled to transformation and immobilization of heavy metals: Implications for paddy rice safety in the red soil of South China. Advances in Agronomy, 2016, 137: 279-317
- [3] Li X, Li Y, Li F, et al. Interactively interfacial reaction of iron-reducing bacterium and goethite for reductive dechlorination of chlorinated organic compounds. Chinese Science Bulletin, 2009, 54 (16): 2800-2804
- Li X M, Zhou S G, Li F B, et al. Fe (III) oxide reduction and carbon tetrachloride dechlorination by a newly isolated *Klebsiella pneumoniaestrain* L17. Journal of Applied Microbiology, 2009, 106 (1): 130-139
- [5] Roden E E, Mcbeth J M, Blothe M, et al. The microbial ferrous wheel in a neutral pH groundwater seep. Frontiers in Microbiology, 2012
- [6] Weber K A, Urrutia M M, Churchill P F, et al. Anaerobic redox cycling of iron by freshwater sediment microorganisms. Environmental Microbiology, 2006, 8 (1): 100-113
- [7] Emerson D, Roden E, Twining B S. The microbial ferrous wheel: Iron cycling in terrestrial,

freshwater, and marine environments. Frontiers in Microbiology, 2012

 [8] 孙丽蓉,王旭刚,郭大勇,等. 旱作褐土中铁氧化物的厌氧还原动力学特征. 土壤学报, 2013, 50(1): 106—112
 Sun L R, Wang X G, Guo D Y, et al. Dynamics of

anaerobic reduction of iron oxides in upland cinnamon soils (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2013 (1): 106–112

- [9] Huang B, Yu K, Gambrell R P. Effects of ferric iron reduction and regeneration on nitrous oxide and methane emissions in a rice soil. Chemosphere, 2009, 74 (4): 481-486
- [10] 何群,陈家坊,许祖诒.土壤中氧化铁的转化及其对 土壤结构的影响.土壤学报,1981,18(4):326— 334
 He Q, Chen J F, Xu Z Y. Transformation of iron oxides and its influence on soil structure (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 1981, 18(4):
- [11] 田娟,刘凌,丁海山,等.淹水土壤土-水界面磷素迁移转化研究.环境科学,2008,29(7):1818—1823
 Tian J, Liu L, Ding H S, et al. Mobilization and transformation of phosphorus from water-soil interface of flooded soil (In Chinese). Environmental Science, 2008, 29(7):1818—1823

326-334

- [12] 李宪文,魏克循.河南黄土母质褐土碳酸盐特征的研究.土壤通报,1997,28(6):265-267
 Li X W, Wei K X. Study on the carbonate characteristics of loess soil in Henan (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 1997,28(6):265-267
- [13] 季峻峰,陈骏,Balsam W,等.黄土剖面中赤铁矿和 针铁矿的定量分析与气候干湿变化研究.第四纪研究, 2007,27(2):221-229
 Ji J F, Chen J, Balsam W, et al. Quantitative

analysis of hematite and goethite in the Chinese loess-paleosol sequences and its implication for dry and humid variability (In Chinese). Quaternary Sciences, 2007, 27 (2): 221–229

- Jaisi D P, Dong H L, Liu C X. Kinetic analysis of microbial reduction of Fe (III) in nontronite. Environmental Science & Technology, 2007, 41 (7): 2437-2444
- [15] Kostka J E, Wu J, Nealson K H, et al. The impact of structural Fe (III) reduction by bacteria on the surface chemistry of smectite clay minerals. Geochimica et Cosmochimica Acta, 1999, 63 (22) : 3705-3713
- [16] Caiazza N C, Lies D P, Newman D K. Phototrophic

Fe (II) oxidation promotes organic carbon acquisition by *Rhodobacter capsulatus* SB1003. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73 (19): 6150-6158

- [17] Weber K A, Pollock J, Cole K A, et al. Anaerobic nitrate-dependent iron (II) bio-oxidation by a novel lithoautotrophic betaproteobacterium, strain 2002. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72 (1): 686-694
- [18] 陈娅婷,李芳柏,李晓敏.水稻土嗜中性微好氧亚 铁氧化菌多样性及微生物成矿研究.生态环境学报, 2016,25(4):547—554
 Chen Y T, Li F B, Li X M. Diversity and biomineralization of microaerophilic iron-oxidizing bacteria in paddy soil (In Chinese). Ecology & Environmental Sciences, 2016,25(4):547—554
- [19] Lack J G, Chaudhuri S K, Kelly S D, et al. Immobilization of radionuclides and heavy metals through anaerobic bio-oxidation of Fe (II). Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68 (6): 2704-2710
- [20] 孙丽蓉,王旭刚,徐晓峰,等.旱作褐土中氧化铁的 厌氧还原与光合型亚铁氧化特征.土壤学报,2015, 52(6):1291—1300
 Sun L R, Wang X G, Xu X F, et al. Anaerobic redox of iron oxides and photosynthetic oxidation of ferrous iron in upland cinnamon soils (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2015, 52(6): 1291—1300
- [21] 王旭刚,徐晓峰,孙丽蓉,等. 厌氧条件下水稻土中 铁硫循环与光照的关系. 土壤学报, 2013, 50(4): 712—719
 Wang X G, Xu X F, Sun L R, et al. Relationships

of illumination with iron and sulfur cyclings in paddy soil under anaerobic incubation (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2013, 50 (4): 712-719

- [22] Zhu Y, Gillings M, Simonet P, et al. Microbial mass movements. Science, 2017, 357 (6356) : 1099— 1100
- [23] 夏梦洁,陈竹君,刘占军,等.黄土高原旱地夏季 休闲期¹⁵N标记硝态氮的去向.土壤学报,2017,54 (5):1230-1239
 Xia M J, Chen Z J, Liu Z J, et al. Fate of ¹⁵N labeled nitrate in dryland under summer fallow on the Loess Plateau (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2017,54(5):1230—1239
- [24] 高亚军,李云,李生秀,等. 旱地小麦不同栽培条件对土壤硝态氮残留的影响. 生态学报, 2005, 25 (11): 109-118
 Gao Y J, Li Y, Li S X, et al. Effects of different

wheat cultivation methods on residual nitrate nitrogen in soil in dryland (In Chinese). Acta Ecologica Sinica, 2005, 25 (11): 109-118

- [25] Li X M, Zhang W, Liu T X, et al. Changes in the composition and diversity of microbial communities during anaerobic nitrate reduction and Fe (II) oxidation at circumneutral pH in paddy soil. Soil Biology & Biochemistry, 2016, 94: 70-79
- [26] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京:中国农业科学技术出版社, 2000
 Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry (In Chinese). Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000
- [27] 赵秀娟,任意,张淑香.25年来褐土区土壤养分演变特征.核农学报,2017,31(8):1647—1655
 Zhao X J, Ren Y, Zhang S X. Evolution characteristics of cinnamon soil nutrients in 25 years (In Chinese). Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2017,31(8):1647—1655
- [28] 李金珠,王旭刚,袁雪红,等.pH与石灰性水稻土铁 氧化还原过程的关系.土壤学报,2014,51(1): 143—149
 Li J Z, Wang X G, Yuan X H, et al. Relationship between pH and iron redox cycle in calcareous paddy

soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2014, 51 (1): 143-149

- [29] 孙丽蓉,黄海霞,王旭刚,等. 褐土中铁的氧化还原 与碳素转化. 土壤学报, 2013, 50 (3): 540—547
 Sun L R, Huang H X, Wang X G, et al. Relationship between anaerobic redox of iron oxides and carbon transformation in cinnamon soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2013, 50 (3): 540—547
- [30] 王旭刚,郭大勇,张苹,等.水稻土中铁氧化还原
 循环的光照水分效应.土壤学报,2014,51(4):
 853-859

Wang X G, Guo D Y, Zhang P, et al. Effect of illumination and water condition on iron redox cycle in paddy soil (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2014, 51 (4): 853-859

[31] 盛浩,周萍,袁红,等.亚热带不同稻田土壤微生物生物量碳的剖面分布特征.环境科学,2013,34
 (4):1576—1582
 Sheng H, Zhou P, Yuan H, et al. Profile of soil

microbial biomass carbon in different types of subtropical paddy soils (In Chinese). Environmental Science, 2013, 34 (4): 1576–1582

[32] 王旭刚,孙丽蓉.土壤剖面胶体中铁氧化物及其厌氧
 还原特征研究.河南农业科学,2009(3):38-42
 Wang X G, Sun L R. Iron oxides in soil colloids and

its reduction characters (In Chinese). Journal of Henan Agricultural Sciences, 2009 (3). 38-42

- Zhang W, Li X, Liu T, et al. Competitive reduction of nitrate and iron oxides by *Shewanella putrefaciens* 200 under anoxic conditions. Colloids & Surfaces A: Physicochemical & Engineering Aspects, 2014, 445 (6): 97–104
- [34] Achtnich C, Bak F, Conrad R. Competition for electron donors among nitrate reducers, ferric iron reducers, sulfate reducers, and methanogens in anoxic paddy soil. Biology & Fertility of Soils, 1995, 19 (1): 65-72
- [35] 程谊,黄蓉,余云飞,等.应重视硝态氮同化过程在降低土壤硝酸盐浓度中的作用.土壤学报,2017,54(6):1326—1331
 Cheng Y, Huang R, Yu Y F, et al. Role of microbial assimilation of soil NO₃⁻ in reducing soil NO₃⁻ concentration (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2017,54(6):1326—1331
- [36] Vitousek P M, Howarth R W. Nitrogen limitation on land and in the sea: How can it occur? Biogeochemistry, 1991, 13 (2): 87-115
- [37] Chen D, Liu T, Li X, et al. Biological and chemical processes of microbially mediated nitrate-reducing Fe (II) oxidation by *Pseudogulbenkiania* sp. strain 2002. Chemical Geology, 2018, 476: 59–69
- [38] Li B B, Cheng Y Y, Wu C, et al. Interaction between ferrihydrite and nitrate respirations by Shewanella oneidensis MR-1. Process Biochemistry, 2015, 50 (11): 1942-1946
- [39] Yu H Y, Wang Y K, Chen P C, et al. Effect of nitrate addition on reductive transformation of pentachlorophenol in paddy soil in relation to iron (III) reduction. Journal of Environmental Management, 2014, 132: 42-48
- [40] Straub K L, Benz M, Schink B, et al. Anaerobic, nitrate-dependent microbial oxidation of ferrous iron.
 Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62
 (4): 1458-1460
- [41] Liu T X, Li X M, Zhang W, et al. Fe (III) oxides accelerate microbial nitrate reduction and electricity generation by *Klebsiella pneumoniae* L17. Journal of Colloid & Interface Science, 2014, 423 (6): 25–32
- [42] Wang N, Chang Z Z, Xue X M, et al. Biochar decreases nitrogen oxide and enhances methane emissions via altering microbial community composition of anaerobic paddy soil. Science of the Total Environment, 2017, 581/582: 689-696
- [43] Chakraborty A, Picardal F. Neutrophilic,

nitrate-dependent, Fe (II) oxidation by a dechloromonas species. World Jounal of Microbiology Biotechnology, 2013, 29 (4): 617-623

[44] Melton E D, Schmidt C, Kappler A. Microbial iron

(II) oxidation in littoral freshwater lake sediment: The potential for competition between phototrophic vs. nitrate-reducing iron (II) -oxidizers. Frontiers in Microbiology, 2012

Characterization of Reduction of Iron Oxide and Oxidation of Ferrous Iron in Upland Cinnamon Soil Profiles in West Henan, China

WANG Xugang SUN Lirong ZHANG Yinglei XU Xiaofeng GUO Dayong SHI Zhaoyong (Agricultural College, Henan University of Science & Technology, Luoyang, Henan 471023, China)

[Objective] Iron redox processes are important microbial processes, which are closely Abstract related not only to bioavailablity of heavy metals and degradation of organic pollutants in anaerobic environment, but also to soil fertility of upland soils. Therefore, the issue has aroused much attention the world over. Iron redox process in plough layers of paddy fields and upland fields was already well documented, however, it is still unclear whether iron redox process exists in the soil underneath the plough layers, or what are characteristics of the iron redox processes. [Method] In the present study, samples of upland cinnamon soils, collected from different layers of a 0~100 cm deep soil profile, were prepared into slurries, separately and then incubated anaerobically in darkness or in light, 0.5 mol·L⁻¹ HCl extractable Fe (II) in the soisl samples was analyzed dynamically to study characteristics of the reduction and oxidation of iron oxide in the soil profile. To explore transformation of C, N and S coupled with the iron redox process in the profile, organic carbon, inorganic carbon, nitrate and sulfate in the profile soil samples before and after incubation were extracted by water and analyzed with a TOC analyzer and Ion Chromatography. [Result] Fe (II) accumulation was found in all the samples during anaerobically incubation. Iron reduction potential decreased with soil depth in the profile. Fe (II) re-oxidation appeared only in the 0~80 cm soil layer of the profile under illuminated incubation. Ferrous oxidation decreased with depth in the profile from 20 cm to 80 cm. Water soluble organic carbon and iron oxide reduction both decreased with depth in the profile under incubation in light illuminated or in darkness. Water soluble inorganic carbon increased in the soil during the incubation in darkness, while it decreased in illuminated incubation. Water soluble nitrate decreased by 83.4%~98.6% in the soil incubated either in darknss or in light, and the range of the decrease narrowed with depth in the profile. The range of the decrease in water soluble sulfate narrowed with depth in the profile under incubation in darkness, while water soluble sulfate increased with depth in the profile within the range from $0 \sim 40$ cm under illuminated incubation. Correlation analysis shows that iron reducing potential and ferrous oxidation was positively and significantly related to increase and decrease in water soluble inorganic carbon, respectively. Rate constant, max velocity of iron reduction and ferrous oxidation velocity was positively and significantly related to water soluble organic carbon. While decrease in nitrate was positively related to reducing potential, max velocity of iron reduction, re-oxidation and velocity of iron oxidation. Sulfate reduction was positively and significantly related to reduction potential, and max velocity of iron reduction under incubation in darkness, while it was negatively to amount and rate of ferrous oxidation under illuminated incubation. [Conclusion] Results show that iron reduction process exists throughout the whole profile from 0 to 100 cm, and iron reduction potential, and maximum velocity of iron reduction decreased significantly with depth in the profile. Phototrophic ferrous oxidation appeared

in the 0~80 cm soil layer in the profile; the amount and rate of ferrous oxidation was much higher in the 0~40 cm soil layer in the profile than in the 40~80 cm soil layer. Correlation analysis of iron redox process and soil properties in the vertical direction of the upland cinnamon soil shows that iron redox process in the profile was not only affected by soil organic carbon, but also limited by the contents of soil nutrients including N and K. The findings may help improve the cognition of the habitat of iron redox microbes, and serve as certain basis for in-depth understanding of the iron redox processes in upland cinnamon soil.

Key words Upland soil; Iron reduction; Soil profile; Ferrous iron oxidation; Cinnamon soil

(责任编辑:卢 萍)