

公丕贤, 幸 颖, 薛雅蓉, 等. 海岸盐沼湿地可培养硫酸盐还原菌多样性及其时空变化规律[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(4): 457–462.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.04.128

海岸盐沼湿地可培养硫酸盐还原菌多样性及其时空变化规律

公丕贤, 幸 颖, 薛雅蓉, 刘常宏

(南京大学生命科学学院医药生物技术国家重点实验室, 江苏南京 210023)

摘要:为了揭示盐沼湿地生态系统中可培养硫酸盐还原菌(sulfate-reducing bacteria, SRB)的多样性及其时空变化规律, 探讨大米草与互花米草定植对 SRB 多样性及种群数量的影响, 采用选择性培养基培养方法及 16S rRNA 基因序列分析技术, 定性、定量分析江苏射阳海岸盐沼湿地可培养 SRB 的多样性及种群数量。结果共获得 210 株硫酸盐还原菌, 归属于变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、放线菌门(*Actinobacteria*)的 17 个属, 其中假单胞菌属(*Pseudomonas*)为优势类群; 发现了一些未见报道的新 SRB 种属, 如 *Agromyces*、*Brachy bacterium*、*Oceanimonas*、*Microbulbifer*、*Photobacterium*、*Sporosarcina* 和 *Tetrathio bacter* 等; 盐沼湿地可培养 SRB 多样性及种群数量受季节变化而改变; 定植米草直接或通过改变土壤性质而间接影响盐沼湿地可培养 SRB 多样性及种群数量。SRB 是盐沼生态系统的重要组成部分, 其种群多样性、数量及分布受生物、非生物因素的影响。

关键词:盐沼湿地; 硫酸盐还原菌; 种群; 米草; 互花米草

中图分类号:Q938.1; S182 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2016)04-0457-06

硫酸盐还原菌(sulphate-reducing bacteria, SRB)是一类厌氧原核微生物, 具有利用惰性硫酸盐作为呼吸代谢的最终电子受体、氧化有机物或无机物而获得能量、异化产生具有化学性质活泼的 H_2S 的能力。SRB 是生物圈中起源较早的生物类群, 在硫元素的生物地球化学循环、有机物质降解、温室

气体释放(与甲烷产生菌共同作用)、金属离子还原、含氯化合物生物处理等方面发挥作用^[1-7]。

盐沼湿地(salt marsh)是世界上生产力最高的生态系统, 其初级生产力为 $460 \sim 3\,700\text{ g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{年})$ 。米草, 特别是互花米草(*Spartina alterniflora*)是盐沼湿地生态系统中的先锋植物, 除少量的米草及其代谢产物进入海水外, 绝大部分则留在了湿地的沉积物中, 并通过发酵、厌氧呼吸而分解。与有氧呼吸、反硝化作用和金属还原途径相比, 目前认为由 SRB 介导的硫酸盐还原是盐沼湿地土壤的主要呼吸途径, 占盐沼湿地土壤总呼吸的 67%~80%^[8]。

SRB 是盐沼湿地生态系统中的优势功能类群, 它在盐沼湿地物质循环过程中扮演重要角色^[9]。目前有关盐沼湿地 SRB 多样性的研究多基于对 16S rRNA 基因序列或异化的亚

收稿日期:2015-03-09

基金项目:国家自然科学基金(编号:31272081、31471810); 高等学校博士学科点专项科研基金(编号:20130091110036); 江苏省科技支撑计划(编号:BE2012372)。

作者简介:公丕贤(1990—), 男, 山东临沂人, 硕士研究生, 主要从事农业微生物研究。E-mail:kingpeter@126.com。

通信作者:刘常宏, 博士, 博士生导师, 主要从事农业微生物研究。E-mail:chliu@nju.edu.cn。

[7]徐 健, 周寅康, 金晓斌, 等. 基于生态保护对土地利用分类系统未利用地的探讨[J]. 资源科学, 2007, 29(2): 137–141.

[8]俞孔坚, 乔 青, 李迪华, 等. 基于景观安全格局分析的生态用地研究——以北京市东三乡为例[J]. 应用生态学报, 2009, 20(8): 1932–1939

[9]张红旗, 王立新, 贾宝全. 西北干旱区生态用地概念及其功能分类研究[J]. 中国生态农业学报, 2004, 12(2): 5–8.

[10]张海鹏. 实现我国土地资源优化配置中的两难问题[J]. 南开学报, 2008, (4): 133–140

[11]Brill E D Jr. The use of optimization models in public-sector planning [J]. Manage Science, 1979, 25: 413–422.

[12]涂小松, 濮励杰, 严 祥, 等. 土地资源优化配置与土壤质量调控的系统动力学分析[J]. 环境科学研究, 2009, 22(2): 221–226.

[13]董品杰, 赖红松. 基于多目标遗传算法的土地利用空间结构优化配置[J]. 地理与地理信息科学, 2003, 19(6): 52–55

[14]康慕谊, 姚华荣, 刘 硕. 陕西关中地区土地资源的优化配置

[J]. 自然资源学报, 1999, 14(4): 363–367

[15]黎 夏, 叶嘉安. 基于神经网络的元胞自动机及模拟复杂土地利用系统[J]. 地理研究, 2005, 24(1): 19–27

[16]刘小平, 黎 夏, 彭晓鹏. “生态位”元胞自动机在土地可持续规划模型中的应用[J]. 生态学报, 2007, 27(6): 2391–2402

[17]郑新奇, 阎弘文, 赵 涛. RS 和 GIS 支持的城市土地优化配置——以济南市为例[J]. 国土资源遥感, 2001, 12(1): 15–18, 53

[18]倪绍祥, 刘彦随. 区域土地资源优化配置及其可持续利用[J]. 农村生态环境, 1999, 15(2): 8–12, 21

[19]任 奎, 周生路, 张红富, 等. 基于精明增长理念的区域土地利用结构优化配置[J]. 资源科学, 2008, 30(6): 912–918

[20]陈梅英, 郑荣宝, 王朝晖. 土地资源优化配置研究进展与展望[J]. 热带地理, 2009, 29(5): 465–471

[21]张红旗, 许尔琪, 朱会义. 中国“三生用地”分类及其空间格局[J]. 资源科学, 2015, 37(7): 1332–1338.

硫酸盐还原酶(dissimilatory sulfite reductase, Dsr)基因序列分析结果,对于可培养的 SRB 多样性研究报道较少,而可培养 SRB 的获得是认知生态系统中 SRB 多样性及功能的关键。为此,本研究以江苏射阳海岸盐沼湿地为对象,采用选择性培养基培养的方法研究不同季节、不同米草定植以及不同土壤深度 SRB 的多样性及种群数量分布规律,为深入了解盐沼湿地生态系统中硫循环生物驱动机理提供新的参考依据。

1 材料与方法

1.1 选择培养基组成

选择性培养基^[10-13]组成:0.33 g 乙酸钠,230 μL 无水乙醇,0.12 g 苯甲酸钠,0.45 g 乳酸钠,0.19 g 丙酸钠,15 g NaCl,6.8 g MgSO₄ · 7H₂O,5.7 g MgCl₂ · 6H₂O,0.09 g KBr,0.7 g KCl,0.25 g NH₄Cl,0.2 g KH₂PO₄,1.5 g CaCl₂ · 2H₂O,2.52 g NaHCO₃,0.1 g 酵母膏,1.66 g Fe(NH₄)₂(SO₄)₂ · 6H₂O,20 g 琼脂,定容至 1 L,调节 pH 值为 7.0,1 × 10⁵ Pa 灭菌 30 min。

1.2 样品采集

如图 1,样点 A 为大米草(*Spartina anglica*)地,B 为互花米草地,C 为无植被光滩(naked beach)。A、B、C 样地沿着潮汐沟,垂直于海岸线呈地带性分布。取样时间分别为米草生长初期(5 月)、扬花期(9 月)、成熟期(11 月)。每个样点随机选取 3 个 1 m × 1 m 的样方,样方间距 10 m 以上。样方内分别取 0 ~ 5 cm、5 ~ 10 cm 2 个深度的土壤样品各 100 g 左右,置于聚丙烯塑料样品袋中,立即带回实验室,在超净工作台中将每个样地的 3 个样方土壤样品充分混匀,即每个样地最终得到 2 个深度共 2 份土样,于 4 ℃ 保存。

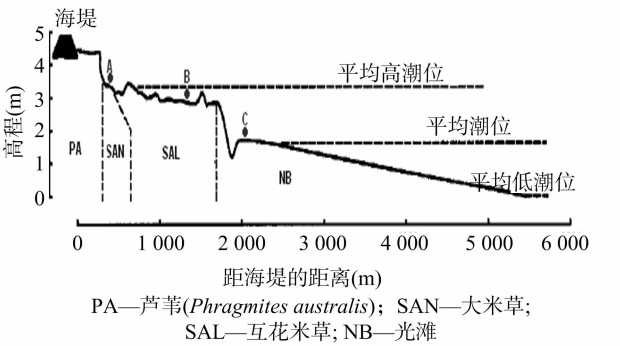


图1 江苏省射阳县海岸盐沼植被分布(根据沈永明等报道^[14]修改)

1.3 土壤理化性质的测定

按照 GB 7833-1987《森林土壤含水量的测定》,分别测定土壤含水量、pH 值^[15]。采用铬酸钼光度法测定土壤 SO₄²⁻浓度^[16-17]。土壤样品中碳、氮元素含量用德国 Heraeus 公司的 CHN-O-Rapid 型元素分析仪测定;硫元素含量用 ZCL 自动定硫仪测定。

1.4 可培养 SRB 种群数量的测定

土壤样品经系列稀释后,涂布于选择培养基上,然后置于密闭的干燥器中,采用燃烧蜡烛耗氧法去除干燥器中的氧气,于 30 ℃ 培养箱中培养 24 h,菌落及其周围变黑的即为硫酸盐还原菌。统计各平板 SRB 菌落数,换算为单位质量土壤中的菌落数,单位 CFU/g。同时,根据菌落形态及生长差异纯化 SRB 菌株。

1.5 16S rRNA 基因序列分析

根据徐晓宇等方法^[18],提取各 SRB 菌株的基因组 DNA,并进行 16S rRNA 基因的 PCR 扩增。PCR 扩增引物为 8f^[19]、907r^[8]。反应条件:95 ℃ 5 min;94 ℃ 30 s,57 ℃ 1 min,72 ℃ 1 min,25 个循环;72 ℃ 10 min;4 ℃ 保存。PCR 产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测和胶回收后测序。采用序列图谱软件 Chromas 对所得序列进行核对,将序列相同的菌株合并为 1 个种,并选择 1 个菌株的序列作为代表序列,使用 BLASTN 在 GenBank + EMBL + DDBJ + PDB 基因库中对每株菌的 16S rDNA 序列进行同源性分析,同时选择相似性较高的序列作为参比,用 MEGA 5.0 进行系统进化树构建。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质

盐沼湿地土壤含水量因季节、是否种植植物以及植物品种而异(表 1)。大米草、互花米草种植土壤最大含水量分别发生在 9 月(44.4% ~ 49.8%)、11 月(36.1% ~ 41.9%);而光滩土壤含水量随季节变化不大(27.3% ~ 33.1%)。相同季节不同土壤含水量有较大差异。5 月、9 月大米草土壤含水量(36.2% ~ 49.8%)明显高于互花米草土壤(25.3% ~ 31.8%)、光滩土壤(30.2% ~ 33.1%),而互花米草土壤在此期间含水量与光滩土壤相比偏低。11 月,互花米草土壤含水量(36.1% ~ 41.9%)明显高于大米草土壤(30.6% ~ 32.7%)、光滩土壤(27.3% ~ 32.3%)。

表 1 盐沼湿地土壤不同时期的含水量、pH 值和 SO₄²⁻ 浓度

样地	时期	深度 (cm)	含水量 (%)	pH 值	SO ₄ ²⁻ 浓度 (μg/g)
大米草	5 月	0 ~ 5	36.2	8.44	761.9
		5 ~ 10	40.8	8.36	952.4
	9 月	0 ~ 5	49.8	8.51	482.1
		5 ~ 10	44.4	8.43	547.6
	11 月	0 ~ 5	30.6	8.52	553.6
		5 ~ 10	32.7	8.43	571.4
互花米草	5 月	0 ~ 5	25.3	8.53	991.1
		5 ~ 10	28.5	8.49	955.4
	9 月	0 ~ 5	31.8	8.46	994.0
		5 ~ 10	26.1	8.53	779.8
	11 月	0 ~ 5	41.9	8.49	708.3
		5 ~ 10	36.1	8.60	529.8
光滩	5 月	0 ~ 5	32.0	8.27	916.7
		5 ~ 10	30.6	8.43	601.2
	9 月	0 ~ 5	30.2	8.46	577.4
		5 ~ 10	33.1	8.50	696.4
	11 月	0 ~ 5	27.3	8.39	428.6
		5 ~ 10	32.3	8.61	500.0

0 ~ 5 cm、5 ~ 10 cm 深度土壤样品的含水量也有一定的差异。5 月,大米草、互花米草 0 ~ 5 cm 深土壤含水量明显低于 5 ~ 10 cm,而 9 月恰好相反。11 月,大米草土壤含水量随深度升高而升高,而互花米草土壤含水量则正好相反。光滩土壤除 11 月表层土壤(0 ~ 5 cm)、深层土壤(5 ~ 10 cm)有较大差异(5%)外,其他月份没有明显差异。

虽然种植米草及季节变化对盐沼湿地土壤 pH 值影响不大(表 1),但是与光滩相比(5 ~ 10 cm > 0 ~ 5 cm),互花米草定植土壤 pH 值的变化具有类似趋势(5 ~ 10 cm > 0 ~ 5 cm),

而大米草定植土壤的 pH 值则随深度加深而略有降低(5 ~ 10 cm < 0 ~ 5 cm)。

盐沼湿地土壤 SO₄²⁻ 浓度随季节变化而逐渐降低,而种植米草则能够明显提高盐沼湿地土壤中的 SO₄²⁻ 浓度(表 1)。在相同月份,种植互花米草土壤 SO₄²⁻ 浓度基本明显高于种植大米草、光滩土壤。不同深度土壤中的 SO₄²⁻ 浓度因定植植物品种而异:定植大米草土壤中的 SO₄²⁻ 浓度随深度加深而增加,而互花米草土壤则正好相反。

对 9 月份各土壤样品的碳、氮、硫元素含量检测结果显示,与光滩土壤相比,定植米草可明显提高表层土壤(0 ~ 5 cm)中这些营养元素的含量,而对深层土壤(5 ~ 10 cm)中的含量无明显影响(表 2)。

表 2 盐沼湿地不同土壤样品中碳、氮、硫元素平均含量(9 月)				
样地	深度 (cm)	碳元素含量 (%)	氮元素含量 (%)	硫元素含量 (%)
大米草	0 ~ 5	1.99	0.11	0.50
	5 ~ 10	1.23	0.04	0.27
互花米草	0 ~ 5	2.05	0.08	0.60
	5 ~ 10	1.38	0.05	0.37
光滩	0 ~ 5	1.08	0.03	0.26
	5 ~ 10	1.16	0.04	0.29

2.2 SRB 种群结构

由于硫酸盐还原菌还原 SO₄²⁻ 的产物 H₂S 可与培养基中 Fe²⁺ 形成黑色沉淀 FeS,因此平板上出现黑色菌落或菌落周

围变黑的即为 SRB 菌株。从大米草、互花米草和光滩土壤样品中共分离获得 210 株 SRB。经基因序列同源性(>98%)比对和系统发育分析可知,这些菌株分布于 17 个属,其中 20 株(R14、R15、R24、R27、R29)属于厚壁菌门的 2 个属 *Bacillus*、*Sporosarcina*(相似性均达 100%),27 株(R6、R16、R18、R19、R21、R25、R30)属于放线菌门的 5 个属 *Agromyces*、*Brachybacterium*、*Dietzia*、*Micrococcus* 和 *Rhodococcus*(相似性均达 100%)。其他 163 株属于变形菌门细菌,其中 39 株(R11、R13、R23、R28、R31)属于 α-变形菌纲的 3 个属 *Paracoccus*、*Rhizobium*、*Rhodobacter*(相似性均达 100%),5 株(R20)为 β-变形菌纲的 *Tetrathiobacter* 属(相似性达 100%),119 株属于 γ-变形菌纲 6 个属 *Aeromonas*(相似性 100%)、*Halomonas*(相似性达 100%)、*Microbulbifer*(相似性达 99%)、*Oceanimonas*(相似性 99%)、*Photobacterium*(相似性 100%)和 *Pseudomonas*(相似性达 99% ~ 100%)(图 2)。*Pseudomonas* 属细菌在 3 种土壤及不同季节中所占比例(28.90% ~ 43.40%)明显高于其他属,为优势种群(表 3)。从大米草与互花米草定植土壤以及光滩土壤中分别分离到属于 11、16、12 属 SRB,其中 *Agromyces*、*Bacillus*、*Halomonas*、*Oceanimonas*、*Microbulbifer*、*Pseudomonas*、*Photobacterium*、*Rhizobium* 和 *Rhodobacter* 为 3 种土壤共有。从各土壤样品 SRB 的香农-威纳指数分析结果(表 3)来看,SRB 多样性大小为:大米草土壤 > 互花米草土壤 > 光滩,但是各取样点土壤中香农-威纳指数在不同季节变化不大。

表 3 各属 SRB 在不同取样点中的分布(数量百分数)及生态学指数

SRB 属	不同时间大米草分布(%)			不同时间互花米草分布(%)			不同时间光滩分布(%)		
	5 月	9 月	11 月	5 月	9 月	11 月	5 月	9 月	11 月
<i>Aeromonas</i>				2.30	5.80	0.80			
<i>Agromyces</i>	4.50	16.20	19.50	3.90	6.00	7.90	7.70	0.60	6.20
<i>Bacillus</i>	17.10	10.30	22.30	1.80	3.10		9.40	3.50	8.60
<i>Brachybacterium</i>					0.60	0.70		1.60	1.00
<i>Dietzia</i>					0.10	0.10			
<i>Halomonas</i>	5.30	5.90	3.20	26.70	22.60	24.20	2.60	1.90	2.40
<i>Oceanimonas</i>	0.30	1.20	1.80	0.70	2.70	7.80	2.00	0.20	0.30
<i>Microbulbifer</i>	3.20	6.50	8.20	1.10	6.90	3.60	8.50	1.30	4.10
<i>Micrococcus</i>					0.50	0.30		6.50	2.80
<i>Paracoccus</i>					0.80	0.90	10.00	19.00	13.80
<i>Pseudomonas</i>	42.50	43.40	31.80	32.30	28.90	31.70	42.10	34.00	38.60
<i>Photobacterium</i>	2.70	2.20	2.20	3.20	0.50	0.80	2.00	1.20	1.60
<i>Rhizobium</i>	5.40	5.20	1.80	14.70	14.80	18.00	7.70	22.80	18.00
<i>Rhodobacter</i>	4.70	5.50	2.20	12.40	3.00	2.30	8.00	7.40	2.60
<i>Rhodococcus</i>	0.90	1.80	1.10	0.90					
<i>Sporosarcina</i>					3.70	0.90			
<i>Tetrathiobacter</i>	13.40	1.80	5.90						
香农-威纳指数	1.80	1.83	1.86	1.62	1.54	1.58	1.19	0.80	1.00

2.3 SRB 种群数量及结构的时空分布规律

盐沼湿地土壤 SRB 种群数量因定植植物品种、季节变化以及深度而改变,定植米草土壤的 SRB 种群数量明显高于光滩土壤(图 3)。在大米草、互花米草定植的浅层土壤(0 ~ 5 cm)中,SRB 种群数量分别在 9、11 月到达最高值,而在深层土壤(5 ~ 10 cm)中均于 11 月到达最高值,其中 5—9 月,大米草定植土壤中 SRB 种群数量明显高于互花米草定植土壤。

虽然 *Pseudomonas* 为 3 个样地的优势 SRB 类群,但不同采样地点土壤样品的亚优势 SRB 仍有一定差异,如大米草定植土壤、互花米草定植土壤、光滩土壤的亚优势种所属属别分别为 *Bacillus*、*Agromyces*、*Halomonas*、*Rhizobium*、*Rhizobium*、*Paracoccus*(图 4)。

同一季节、同一 SRB 类群在不同土壤样品中的分布比例也存在差异(图 4)。例如在 5 月,优势类群 *Pseudomonas* 占互

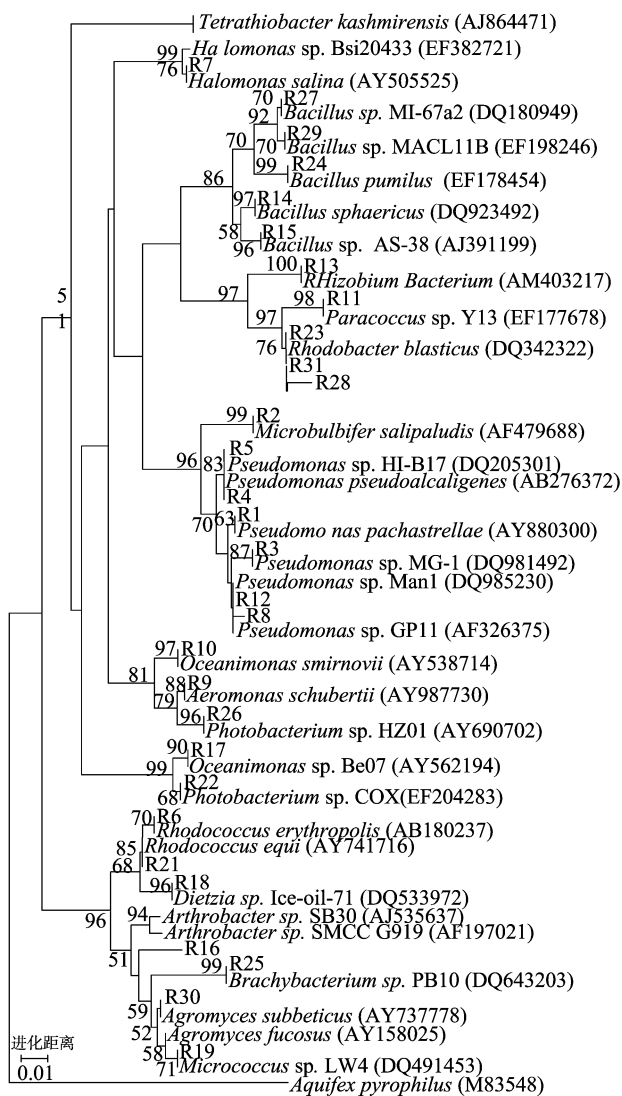


图2 盐沼湿地可培养 SRB 16S rDNA 序列系统发育树

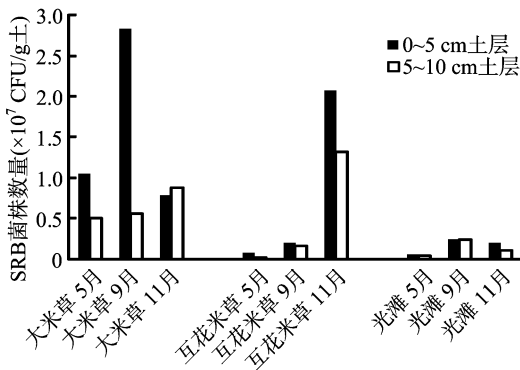


图3 不同盐沼土壤中 SRB 种群数量变化

花米草定植土壤中总 SRB 的 32.30%, 较在大米草定植土壤、光滩土壤 (约 42%) 约低 10%; 而 *Halomonas* 在互花米草定植土壤中的比例 (26.70%) 远高于大米草定植土壤 (5.30%)、光滩土壤 (5.30%)。9 月的结果与 5 月类似, *Pseudomonas* 在大米草定植土壤中的比例 (43.40%) 高于互花米草定植土壤 (28.90%)、光滩土壤 (34.00%); *Halomonas* 在互花米草定植土壤中的比例 (22.60%) 远高于大米草定植土壤 (5.90%)、

光滩土壤 (1.90%)。而到了 11 月, 优势种群 *Pseudomonas* 在光滩土壤中的比例明显提高 (38.60%), 高于互花米草 (31.70%)、大米草 (31.8%) 定植土壤中的比例。

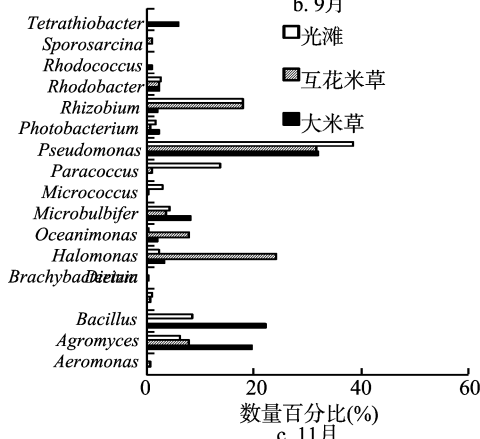
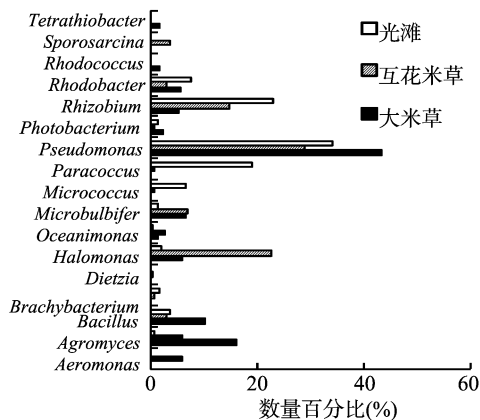
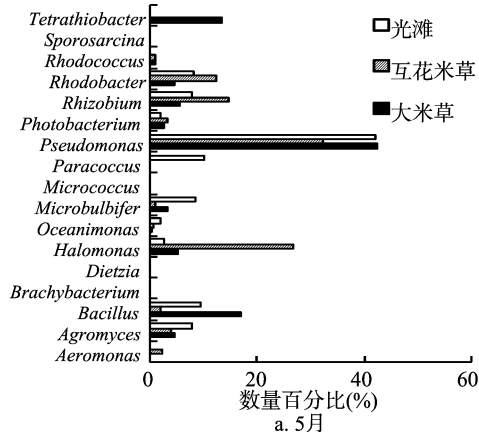


图4 不同月份各类 SRB 类群在测试土壤中所占百分比

SRB 类群在不同土壤样品中的分布也存在一定的专化性, 只存在于某一种或某几种土壤中 (图 4)。例如, *Tetrathibacter* 只分布于大米草定植土壤, 而 *Aeromonas*、*Dietzia*、*Sporosarcina* 则只分布于互花米草定植土壤中。此外, *Rhodococcus* 只分布于米草定植土壤中, *Brachybacterium*、*Micrococcus*、*Paracoccus* 分布于互花米草定植土壤、光滩土壤中, 但在大米草定植土壤中没有发现。

相同类型的 SRB 种群在同一土壤样地中分布比例随季节变化而改变 (图 4)。例如 *Pseudomonas* 属在 5—9 月是大米草定植土壤中的绝对优势种群, 但其种群数量到 11 月明显降

低,而 *Agromyces*、*Microbulbifer* 属则不断提高;在互花米草定植土壤中, *Agromyces* 属细菌数量随季节变化而增加,而 *Rhodobacter* 则不断下降,作为优势种群的 *Pseudomonas* 在 5、11 月所占比例很高,在 9 月略有下降;在光滩土壤中, *Agromyces*、*Pseudomonas* 在 9 月的比例低于 5、11 月,而 *Paracoccus*、*Rhizobium* 在 9 月的比例高于 5、11 月。上述结果显示,盐沼湿地 SRB 种群结构与数量随季节而呈动态变化,米草的定植显著改变了盐沼湿地生态系统中 SRB 的种群结构及数量。

3 讨论与结论

本研究利用选择性培养基以及 16S rRNA 基因序列分析,从米草定植以及光滩土壤中共分离获得 210 株可培养 SRB,主要分属于变形菌门、厚壁菌门、放线菌门的 17 个属,其中 *Aeromonas*、*Bacillus*、*Dietzia*、*Halomonas*、*Micrococcus*、*Paracoccus*、*Pseudomonas*、*Rhizobium*、*Rhodobacter*、*Rhodococcus* 等属已有报道^[20-27],且都在兼性厌氧条件下有硫酸盐还原活性,但 *Agromyces*、*Brachy bacterium*、*Oceanimonas*、*Microbulbifer*、*Photobacterium*、*Sporosarcina*、*Tetrathiobacter* 等属未见报道,但经本试验研究表明,其可在培养基平板上产生 H_2S ,具有硫酸盐还原活性,可能为新的 SRB 类群。

Pseudomonas 为优势种群,这与房琳在十红滩铀矿床中分离的 SRB 优势种群^[28]一致,该研究采用燃烧蜡烛法,不能完全去除容器中的氧,分离到一些兼性厌氧和微好氧 SRB 菌株,没有分离到如脱硫弧菌科 (*Desulfovibrionaceae*)^[4]、降硫细菌科 (*Desulfobacteriaceae*)^[29] 等严格厌氧 SRB。由美国材料实验协会 (ATSM) 标准 D2863 - 2000 (石蜡) 可知,蜡烛燃烧的临界氧浓度为 1.42 ~ 8.52 mg/L;张小里等研究表明,降硫弧菌属 SRB 能够耐受 4.5 mg/L 的环境溶解氧浓度,而氧浓度到 9.0 mg/L 时不能存活^[30],因此蜡烛燃烧法可以满足 SRB 生长的氧化还原电位要求。*Desulfovibrio* 的比较基因组结果显示,该菌含有编码还原酶 CytD 的基因,因此可以产生抗分子氧的保护酶,可以在微好氧条件下生长^[31]。本研究分离到的 *Bacillus*、*Pseudomonas*、*Rhizobium*、*Paracoccus*、*Rhodobacter* 等属 SRB 中也检测到了相应分子氧的还原酶^[32-36]。房琳在有大量含氧水的氧化带铀矿中也分离到厌氧 SRB 菌株^[28]。这些结果表明,耐氧或微好氧 SRB 可能是盐沼湿地生态系统的重要成员,在驱动硫的化学循环中扮演着重要角色。

影响盐沼湿地土壤中 SRB 种群数量及分布的因素很多,如温度、土壤基质、植被等。Edgcomb 等发现,SRB 的种群数量、硫酸盐还原速率在 8 月以后达到峰值^[37];Nie 等发现,扬子江河口三角洲盐沼湿地硫酸盐还原菌种群多样性及数量在互花米草的生长后期 (秋冬季) 达到最高^[38]。本研究进一步证明了盐沼湿地可培养 SRB 种群数量随季节变化较大,但季节对各个取样点中 SRB 的种群多样性影响不大。

通过比较不同深度土壤 SRB 数量,发现浅层土壤 (0 ~ 5 cm) 的 SRB 种群数量高于深层土壤 (5 ~ 10 cm)。此外,土壤基质的性质也会对土壤中 SRB 种群产生一定的影响,例如土壤含水量、pH 值、离子浓度、有机质含量等。大米草、互花米草定植土壤中的碳、氮、硫含量及 SO_4^{2-} 浓度均明显高于光滩,这些营养元素及底物浓度的增加可能是导致米草定植土壤 SRB 种群结构和数量显著高于光滩土壤的主要原因。

Wang 等也报道了类似的现象,认为互花米草通过提高土壤中有机碳含量而促进 SRB 种群数量的增加^[39]。土壤性质对硫酸盐还原菌的种群构成也有一定影响,大米草土壤含水量高于互花米草、光滩土壤,对应的 *Pseudomonas*、*Agromyces*、*Bacillus* 属的比例也较高;互花米草土壤中 SO_4^{2-} 浓度明显高于大米草、光滩土壤,对应的 *Halomonas*、*Oceanimonas*、*Rhizobium* 属的比例也较高,这与不同种类微生物生长所需理化条件不同有关。据报道,海水及海岸盐沼湿地中典型 SRB 的最适 pH 值为 7.0 ~ 7.8^[40],而取样点土壤 pH 值为 8.4 左右,这就可能造成当地土壤酸碱度不适宜典型厌氧 SRB 生长,因此在本研究中未分离到。总之,射阳盐沼湿地土壤理化性质的特殊可能造成了该地 SRB 种群结构的特异性。

土壤微生物种群结构及数量还受到定植植物品种影响^[41]。米草的定植一方面提高了 SRB 的种群数量,另一方面又使土壤 SRB 的种群多样性提高。不同种类米草定植对土壤中 SRB 种群结构影响不同,如互花米草定植后 *Aeromonas*、*Dietzia*、*Sporosarcina* 属才在土壤中出现,而 *Tetrathiobacter* 只存在于大米草土壤。又如,大米草定植使 *Bacillus* 属比例明显升高,而使 *Rhizobium* 属比例明显降低,互花米草定植使 *Halomonas* 属比例明显升高而使 *Micrococcus* 属比例明显降低。可见不同植物定植对不同的 SRB 种群有影响。不同植物的定植会影响土壤理化性质,从而形成特定的生境系统,进而影响微生物种群结构^[42],因此不同类型米草的定植就形成了当地植物 - 土壤系统的特异性,从而综合影响 SRB 种群。

总之,盐沼湿地土壤中 SRB 种群数量及分布受多种因素的影响,植物种类、季节变化以及深度等都会影响其动态变化规律。今后有必要针对优势 SRB 类群,通过定量 PCR 技术和酶活检测技术,进一步评估盐沼湿地 SRB 在元素硫循环中的作用,探讨 SRB 的生态学效应。

参考文献:

- [1] Castro H F, Williams N H, Ogram A. Phylogeny of sulfate - reducing bacterial [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2000, 31 (1): 1 - 9.
- [2] Holmer M, Storkholm P. Sulphate reduction and sulphur cycling in lake sediments : a review [J]. Freshwater Biology, 2001, 46 (4): 431 - 451.
- [3] 陈效, 孙立苹, 徐盈, 等. 硫酸盐还原菌的分离和生理特性研究 [J]. 环境科学与技术, 2006, 29 (9): 38 - 40.
- [4] 陈涛, 曹毅, 伊芬芬, 等. 一株耐酸硫酸盐还原菌的分离筛选及生理特性研究 [J]. 四川大学学报: 自然科学版, 2006, 43 (2): 451 - 457.
- [5] 李新荣, 沈德中. 硫酸盐还原菌的生态特性及其应用 [J]. 应用与环境生物学报, 1999 (增刊 1): 10 - 13.
- [6] 吕琴, 陈中云, 闵航. 重金属污染对水稻田土壤硫酸盐还原菌种群数量及其活性的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2005, 11 (3): 399 - 405.
- [7] 孙翠霞, 弓爱君, 邱丽娜, 等. 硫酸盐还原菌对环境的影响及其应用 [J]. 腐蚀科学与防护技术, 2006, 18 (3): 196 - 198.
- [8] Klepac - Ceraj V, Bahr M, Crump B C, et al. High overall diversity and dominance of microdiverse relationships in salt marsh sulphate - reducing bacteria [J]. Environmental Microbiology, 2004, 6 (7):

- 686–698.
- [9] Teske A, Dhillon A, Sogin M L. Genomic markers of ancient anaerobic microbial pathways: sulfate reduction, methanogenesis, and methane oxidation[J]. The Biological Bulletin, 2003, 204(2): 186–191.
 - [10] Widdel F, Bak F. Gram – negative mesophilic sulfate – reducing bacteria[M]//Balows A, Truper H G, Dworkin M, et al. The Prokaryotes. New York: Springer, 1992: 3352–3378.
 - [11] So C M, Young L Y. Isolation and characterization of a sulfate – reducing bacterium that anaerobically degrades alkanes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(7): 2969–2976.
 - [12] Hines M E, Evans R S, Genthner B R, et al. Molecular phylogenetic and biogeochemical studies of sulfate – reducing bacteria in the rhizosphere of *Spartina alterniflora* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(5): 2209–2216.
 - [13] Sigalevich P, Meshorer E, Helman Y, et al. Transition from anaerobic to aerobic growth conditions for the sulfate – reducing bacterium *Desulfovibrio oxyclineae* results in flocculation[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(11): 5005–5012.
 - [14] 沈永明, 刘咏梅, 陈全站. 江苏沿海互花米草 (*Spartina alterniflora* Loisel) 盐沼扩展过程的遥感分析[J]. 植物资源与环境学报, 2002, 11(2): 33–38.
 - [15] 刘光崧. 中国生态系统研究网络观测与分析标准方法[M]. 北京: 中国标准出版社, 1996.
 - [16] 邱勋鹏, 黄承玲, 鄢建平. 间接光度法测定水和废水中硫酸盐[J]. 理化检验: 化学分册, 2003, 39(12): 711–712.
 - [17] 孙智敏, 张德强, 孙汉文. 火焰原子吸收光谱法间接测定水中硫酸盐[J]. 理化检验: 化学分册, 2005, 41(8): 573–574.
 - [18] 徐晓宇, 闵航, 刘和, 等. 土壤微生物总DNA提取方法的比较[J]. 农业生物技术学报, 2005, 13(3): 36.
 - [19] Blazejak A, Ers us C, Amann R, et al. Coexistence of bacterial sulfide oxidizers, sulfate reducers, and spirochetes in a gutless worm (Oligochaeta) from the Peru margin [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(3): 1553–1561.
 - [20] Asaulenko L H, Abdulina D R, Purish L M. Taxonomic position of certain representatives of sulphate – reducing corrosive microbial community[J]. Mikrobiologichnyi Zhurnal, 2010, 72(4): 3–10.
 - [21] Nazina T N, Grigorian A A, Sue K F, et al. Phylogenetic diversity of aerobic saprotrophic bacteria isolated from the Daqing oil field[J]. Microbiology, 2002, 71(1): 103–110.
 - [22] Zhou J M, Song Z Y, Yan D J, et al. Performance of a haloalkaliphilic bioreactor under different $\text{NO}_3^-/\text{SO}_4^{2-}$ ratios [J]. Bioresource Technology, 2014, 153(2): 216–222.
 - [23] Vogel H, Bruschi M, Le Gall J. Phylogenetic studies of two rubredoxins from sulfate reducing bacteria [J]. Journal of Molecular Evolution, 1977, 9(2): 111–119.
 - [24] Chen C, Ren N, Wang A, et al. Microbial community of granules in expanded granular sludge bed reactor for simultaneous biological removal of sulfate, nitrate and lactate[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2008, 79(6): 1071–1077.
 - [25] Kopriva S, B uchert T, Fritz G, et al. The presence of an iron – sulfur cluster in adenosine 5′ – phosphosulfate reductase separates organisms utilizing adenosine 5′ – phosphosulfate and phosphoadenosine 5′ – phosphosulfate for sulfate assimilation [J]. The Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(24): 21786–21791.
 - [26] Medihala P G, Lawrence J R, Swerhone G D, et al. Effect of pumping on the spatio – temporal distribution of microbial communities in a water well field[J]. Water Research, 2012, 46(4): 1286–1300.
 - [27] Koronelli T V, Komarova T I, Porshneva O V, et al. Extracellular metabolites of hydrocarbon – oxidizing bacteria as a substrate for sulfate reduction[J]. Prikladnaia Biokhimiia i Mikrobiologiya, 2001, 37(5): 549–553.
 - [28] 房琳. 砂岩型铀矿不同矿带中可培养硫酸盐还原菌类群及其分布[D]. 西安: 西北大学, 2009.
 - [29] Jackson K L, Whitcraft C R, Dillon J G. Diversity of *desulfobacteriaceae* and overall activity of sulfate – reducing microorganisms in and around a salt pan in a southern California coastal wetland [J]. Wetlands, 2014, 34(5): 969–977.
 - [30] 张小里, 刘海洪, 陈开勋, 等. 硫酸盐还原菌生长规律的研究[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 1999, 29(5): 397–402.
 - [31] Ravcheev D A, Thiele I. Systematic genomic analysis reveals the complementary aerobic and anaerobic respiration capacities of the human gut microbiota [J]. Frontiers in Microbiology, 2014, 5: 674.
 - [32] Larsson J T, Rogstam A, Von Wachenfeldt C. Coordinated patterns of cytochrome bd and lactate dehydrogenase expression in *Bacillus subtilis* [J]. Microbiology, 2005, 151(10): 3323–3335.
 - [33] Cooper M, Tavankar G R, Williams H D. Regulation of expression of the cyanide – insensitive terminal oxidase in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Microbiology, 2003, 149(5): 1275–1284.
 - [34] Lopez O, Morera C, Miranda – Rios J, et al. Regulation of gene expression in response to oxygen in *Rhizobium etli*: role of FnrN in fixNOQP expression and in symbiotic nitrogen fixation [J]. Journal of Bacteriology, 2001, 183(24): 6999–7006.
 - [35] Otten M F, Stork D M, Reijnders W N, et al. Regulation of expression of terminal oxidases in *Paracoccus denitrificans* [J]. European Journal of Biochemistry/FEBS, 2001, 268(8): 2486–2497.
 - [36] Roh J H, Kaplan S. Interdependent expression of the ccoNOQP – rdxBHS loci in *Rhodobacter sphaeroides* 2. 4. 1 [J]. Journal of Bacteriology, 2002, 184(19): 5330–5338.
 - [37] Edgcomb V P, McDonald J H, Devereux R, et al. Estimation of bacterial cell numbers in humic acid – rich salt marsh sediments with probes directed to 16S ribosomal DNA [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(4): 1516–1523.
 - [38] Nie M, Wang M, Li B. Effects of salt marsh invasion by *Spartina alterniflora* on sulfate – reducing bacteria in the Yangtze River estuary, China [J]. Ecological Engineering, 2009, 35(12): 1804–1808.
 - [39] Wang M, Chen J K, Li B. Characterization of bacterial community structure and diversity in rhizosphere soils of three plants in rapidly changing salt marshes using 16S rDNA [J]. Pedosphere, 2007, 17(5): 545–556.
 - [40] Vallero M V G, Lettinga G, Lens P N L. High rate sulfate reduction in a submerged anaerobic membrane bioreactor (SAMBaR) at high salinity [J]. Journal of Membrane Science, 2005, 253(1): 217–232.
 - [41] Wardle D A, Bardgett R D, Klironomos J N, et al. Ecological linkages between aboveground and belowground biota [J]. Science, 2004, 304(5677): 1629–1633.
 - [42] Kourtev P S, Ehrenfeld J G, H agblom M. Exotic plant species alter themicrobial community structure and function in the soil [J]. Ecology, 2002, 83(11): 3152–3166.