

一株中度嗜热嗜酸铁氧化细菌特性研究*

李雅芹 何正国

(中国科学院微生物所 北京 100080)

摘要: 从我国煤矿废石堆分离到一株中度嗜热嗜酸铁氧化细菌 MLY 菌株, 最适生长温度 50℃ ~ 54℃, 最适 pH 1.2 ~ 1.4。MLY 菌株是兼性能自养菌, 能利用酵母粉异养生长。在自养和混合营养条件下, 能氧化 Fe^{2+} 、黄铁矿 (FeS_2) 和元素硫 (S^0)。自养营养时, 氧化元素硫较弱。对比研究 MLY 菌株和氧化亚铁硫杆菌 (*Thiobacillus ferrooxidans*) A10 菌株对 Fe^{2+} 和黄铁矿的氧化作用, 结果表明, MLY 比 A10 的氧化速度快 1 倍多。

关键词: 中度嗜热嗜酸菌, 铁氧化细菌, 氧化亚铁硫杆菌

中图分类号: Q93 **文献标识码:** A **文章编码:** 0253-2654 (2001) 06-0045-03

STUDIES ON THE CHARACTERISTICS OF A MODERATELY THERMOACIDOPHILIC IRON-OXIDIZING BACTERIUM

LI Ya-Qin HE Zheng-Guo

(Institute of Microbiology Academia Sinica, Beijing 100080)

Abstract: A moderately thermoacidophilic iron-oxidizing bacterium, designated as strain MLY, was isolated from a coal spoil heap in China. The optimum of temperature for growth is 50℃ ~ 54℃. The optimum of pH is 1.2 ~ 1.4. The strain MLY is facultative autotroph and grows heterotrophically on yeast extract. It is able to oxidize ferrous iron (Fe^{2+}), pyrite (FeS_2), and elemental sulfur (S^0) autotrophically and mixotrophically in the presence of yeast extract. Autotrophic oxidation of elemental sulfur is relative weak. The comparison of ferrous iron and pyrite oxidation between strain MLY and A10 *Thiobacillus ferrooxidans*, strain indicated that MLY is one time faster than A10.

Key words: Moderately thermoacidophilic bacteria, Iron-oxidizing bacteria, *Thiobacillus ferrooxidans*

能氧化铁 (Fe^{2+}) 的嗜酸菌包括中温菌、中度嗜热菌和极端嗜热菌, 最佳生长温度分别是 30℃、50℃ 和 70℃。其中, 中温菌氧化亚铁硫杆菌 (*Thiobacillus ferrooxidans*) 已成功地用来从硫化矿物中提取和回收金属^[1]。70 年代以来, 相继报道了从酸热环境分离到中度嗜热嗜酸菌^[2]。研究表明, 这是继氧化亚铁硫杆菌之后具有潜在应用前景的一个类群, 同时也是酸热环境中起重要地球化学作用的微生物类群。

本文报道从我国煤矿废石堆分离到一株中度嗜热嗜酸铁氧化细菌的主要特性, 并与氧化亚铁硫杆菌比较对 Fe^{2+} 和黄铁矿 (FeS_2) 的氧化作用, 为其应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 菌种

中度嗜热嗜酸菌 MLY 菌株系从我国煤矿废石堆分离得到。用来作对比研究的氧化

* 国家自然科学基金重点资助项目 (No. 59834150)

Project Granted by Chinese National Natural Science Fund (No. 59834150)

收稿日期: 2000-12-04, 修回日期: 2001-02-28

亚铁硫杆菌 A10 菌株, 是从我国金矿分离得到的。

1.2 培养基

研究细菌利用亚铁 (Fe^{2+}) 生长的培养基为 leathen 培养基^[3], 利用元素硫 (S^0) 生长的培养基为 Allen 的改良培养基^[3]。研究混合营养或异养营养生长时, 添加酵母粉。

1.3 培养方法

除了研究利用元素硫生长时静置培养, 其它都是摇瓶振荡培养, 160r/min, 温度 45℃ ~ 50℃。温度条件试验是在温度梯度摇床上进行 (日本, TN-3F)。用氧化亚铁硫杆菌作对比研究时, 培养温度为 30℃ ~ 32℃。

1.4 分析测定方法

细菌生长氧化过程中, 溶液中可溶性铁 (Fe^{2+} 和 Fe^{3+}) 浓度用重铬酸钾容量法分析, 酸度用 pH 计 (美国, Beckman, $\Phi 72$ pH Meter) 测定。

2 结果

2.1 MLY 菌株营养特征

MLY 菌株是兼性自养菌, 能利用 Fe^{2+} 、黄铁矿 (FeS_2) 和元素硫 (S^0) 作能源, 当有酵母粉时进行混合营养和异养营养代谢。但是, 利用元素硫自养生长较弱。

2.2 MLY 菌株生长温度

使用 Leathen 培养基, 以 Fe^{2+} 为能源, 混合营养, pH1.4, 在温度 10℃ ~ 70℃ 范围内培养。MLY 菌株通过氧化 Fe^{2+} 生成 Fe^{3+} 获得能量生长, 以 Fe^{2+} 的氧化率表示细菌生长情况, 18h 生长结果如表 1。由表可见, 细菌生长的最佳温度为 50℃ ~ 54℃。延长时间时, 低于 25℃ 仍能生长, 而高于 62℃ 不生长。

表 1 MLY 菌株在 Fe^{2+} 上生长的温度条件

培养温度 (℃)	34	37	39	41	43	47	50	54	59	62
Fe 氧化率 (%)	13.7	17.1	31.3	60.4	79.5	90.6	100	98.7	44.1	6.9

2.3 MLY 菌株生长 pH

使用 Leathen 培养基, 以 Fe^{2+} 为能源, 混合营养, 在 pH0.5 ~ 2.5 范围内培养。同样, 以 Fe^{2+} 氧化率表示细菌生长情况, 结果如表 2。由表可见, 细菌生长 pH 范围为 0.5 ~ 2.5, 最适 pH 为 1.2 ~ 1.4, pH2.5 以上会产生明显沉淀。

表 2 MLY 菌株在 Fe^{2+} 上生长的 pH 条件

培养基 pH	0.5	0.8	1.0	1.2	1.4	1.6	1.8	2.0	2.5
Fe 氧化率 (%)	3.9	21.5	74.6	98.4	100	74.7	43.4	31.4	9.8

2.4 MLY 菌株对 Fe^{2+} 的氧化

MLY 菌株在自养营养和混合营养条件下都能氧化 Fe^{2+} 生成 Fe^{3+} , 以 Fe^{2+} 氧化率表示氧化效果, 结果如图 1。由图可见, 混合营养比自养营养条件氧化 Fe^{2+} 快得多: 16h, 混合营养条件下, Fe^{2+} 完全氧化, 而自养营养条件下只氧化 26.5%。

氧化亚铁硫杆菌 A10 菌株为专性自养菌, 氧化 Fe^{2+} 结果同样示在图 1。可见, 在混合营养条件下, MLY 菌株比 A10 菌株氧化速度快 1 倍: MLY 氧化 Fe^{2+} 时, 延滞期为 6h, 16h 氧化率达 100%; A10 氧化 Fe^{2+} 时, 延滞期为 12h, 氧化率达 100% 需要 32h。

2.5 MLY 菌株对黄铁矿 (FeS_2) 的氧化

以黄铁矿 (FeS_2) 作能源, 在自养和混合营养条件下, 研究 MLY 菌株的氧化作用, 并与 A10 菌株对比。同样, 以可溶性铁浓度变化表示氧化效果, 结果如图 2。MLY 菌株在混合营养条件比自养营养条件氧化速度快得多, 120h 产生的可溶性铁浓度分别为 6.22g/L 和 1.11g/L。A10 菌株自养营养条件为 3.05g/L。

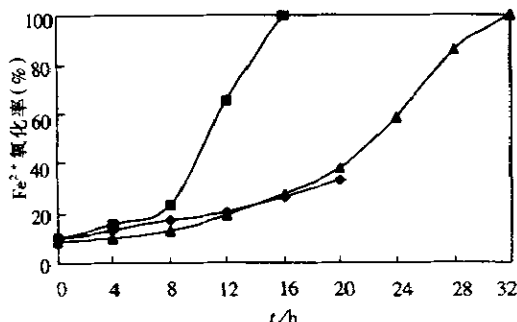


图 1 MLY 和 A10 菌株对 Fe^{2+} 的氧化

—■— MLY 混合营养, —◆— MLY 自养营养,
—▲— A10 自养营养

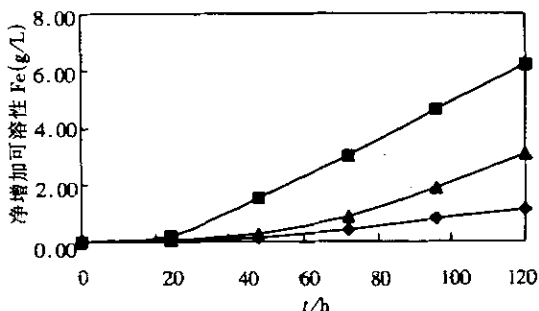


图 2 MLY 和 A10 菌株对黄铁矿 (FeS_2) 的氧化

—■— MLY 混合营养, —◆— MLY 自养营养,
—▲— A10 自养营养

从这些结果看出, MLY 菌株和 A10 菌株氧化 Fe^{2+} 和 FeS_2 速度顺序一样, 即 MLY 菌株混合营养 > A10 菌株自养营养 > MLY 菌株自养营养, 其中 MLY 菌株比 A10 菌株快 1 倍多。

3 讨论

上述研究结果表明, MLY 菌株是典型的中度嗜热嗜酸菌, 它与中温嗜酸菌氧化亚铁硫杆菌一样既能氧化 Fe^{2+} , 又能氧化硫化物矿物产生硫酸盐和硫酸。特性, 氧化亚铁硫杆菌已在回收金属过程 (如铜、铀、金等) 得到应用。但是, 氧化亚铁硫杆菌是专性自养菌, 氧化速度慢, 而 MLY 菌株是兼性自养菌, 氧化速度比中温菌快 1 倍多。同时 MLY 菌株可以在提高温度 (50℃) 条件下使用, 这样既可以提高氧化速度又能省去反应系统的冷却设备。MLY 菌株的这些特性使得其更具有潜在应用前景。

随着分子生物学的发展和新技术的应用, 嗜酸菌分类鉴定已从经典的表型特征深入到遗传学特性等新的层次上, 因此, 分类系统和位置会随之改变。对于研究较多的氧化亚铁硫杆菌来说, 其分类位置也在变化着^[4,5]。对 MLY 菌株的 16S rRNA 基因序列分析表明, 它与嗜热氧化硫化物硫化杆菌 (*Sulfobacillus thermosulfidooxidans*) 同源性最高^[2]。但是 MLY 菌株更嗜酸。然而, 基于生理学特性的分类, 在实际应用中更有价值。

参考文献

- [1] Ehrlich H L, Brierley C L (eds). Microbial Mineral Recovery, McGraw-Hill Publishing, New York, 1990, 3~28.
- [2] Norris P R, Clark D A, Owen J P, et al. Microbiology, 1996, 142: 775~783.
- [3] Karavaiko G I, Rossi G, Agate A D, et al. Biogeotechnology of Metals, Centre for international Project GKNT, Moscow, 1988, 59~61.
- [4] Holt J G, Krieg N R, Sneath P H A, et al. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, Ninth Edition, Williams & Wilkins, A Waverly Company, Baltimore, 1994, 436, 447, 561.
- [5] Kelly D P, Wood A P. Int J Syst Envol Microbiol, 2000, 50: 511~516.