

唐朱睿, 黄彩红, 高如泰, 等. 胞外呼吸菌在污染物迁移与转化过程中的应用进展[J]. 农业资源与环境学报, 2017, 34(4):299-308.

TANG Zhu-rui, HUANG Cai-hong, GAO Ru-tai, et al. Review on Extracellular Respiratory Bacteria and Its Application in Migration and Transformation of Pollutants[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2017, 34(4):299-308.

胞外呼吸菌在污染物迁移与转化过程中的应用进展

唐朱睿^{1,2}, 黄彩红^{1,3}, 高如泰^{1,3}, 檀文炳^{1,3}, 张 慧^{1,3}, 李 丹^{1,3}, 席北斗^{1,3,4*}

(1.中国环境科学研究院, 北京 100012; 2.桂林理工大学环境工程学院, 广西 桂林 541006; 3.环境基准与风险评估国家重点实验室, 北京 100012; 4.兰州交通大学环境与市政工程学院, 甘肃 兰州 730070)

摘 要:胞外呼吸菌是在厌氧条件下氧化有机物产生电子,进而将电子传递至胞外电子受体并产生能量维持自身生长的一类微生物,在重金属和有机污染物迁移转化过程中发挥着重要作用,且菌群的协同作用效果较单一微生物更为显著。胞外呼吸菌在自然环境中广泛存在,主要集中在变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Acidobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes),且多数为革兰氏阴性菌,其中希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis* MR-1)和地杆菌(*Geobacter sulfurreducens*)是研究较为深入的胞外呼吸模式菌。目前已知的5种胞外电子传递机制包括直接电子传递、电子穿梭体、应电运动、纳米导线和细胞间电子传递机制,各种机制非独立存在而是共同作用以促进污染物降解。文章从胞外呼吸菌的种类、胞内与胞外电子传递机制等方面进行综述,并着重论述了胞外呼吸菌在污染物迁移转化中的最新应用进展,为更好地发挥其环境效应提供参考。

关键词:胞外呼吸菌; 重金属; 有机污染物

中图分类号: X172

文献标志码: A

文章编号: 2095-6819(2017)04-0299-10

doi: 10.13254/j.jare.2017.0036

Review on Extracellular Respiratory Bacteria and Its Application in Migration and Transformation of Pollutants

TANG Zhu-rui^{1,2}, HUANG Cai-hong^{1,3}, GAO Ru-tai^{1,3}, TAN Wen-bing^{1,3}, ZHANG Hui^{1,3}, LI Dan^{1,3}, XI Bei-dou^{1,3,4*}

(1.Chinese Research Academy of Environmental Sciences, Beijing 100012, China; 2.College of Environmental Science and Engineering, Guilin University of Technology, Guilin 541006, China; 3.State Key Laboratory of Environmental Criteria and Risk Assessment, Beijing 100012, China; 4.School of Environmental and Municipal Engineering, Lanzhou Jiaotong University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Extracellular respiratory bacteria (ERB) could produce electrons by oxidation of organic matter under anaerobic conditions, then transfer them to the extracellular electron acceptors and gain energy to maintain their growth. ERB play an important role in the migration and transformation of heavy metals and organic pollutants, and the synergy effect between different microorganisms exerts greater advantage than single microorganisms. These bacteria, mainly including Proteobacteria, Acidobacteria and Firmicutes, are widely distributed in the environment, and most of them are Gram-negative bacteria. *Shewanella oneidensis* MR-1 and *Geobacter sulfurreducens* are often used as model microorganisms to reveal the mechanism of electron transport. Five mechanisms regarding extracellular electron transport have been identified, including direct electron transport, electron shuttling, electrokinesis, conductive nanowires, and intercellular electron transport. These mechanisms do not exist independently in environment, but simultaneously exert effects on contaminants degradation. The present review underlines the species, distribution and electron transfer mechanisms of ERB, with an emphasis on their recent applications on the migration and transformation of contaminants in environments. This review could provide theoretical foundation on how to better exert the environmental effects of ERB.

Keywords: extracellular respiratory bacteria; heavy metals; organic pollutants

收稿日期: 2017-02-13

基金项目: 国家自然科学基金(51508540)

作者简介: 唐朱睿(1993—),男,安徽安庆人,硕士研究生,主要从事固废污染治理研究。E-mail: tangzhurui@live.com

* 通信作者: 席北斗 E-mail: xibd@craes.org.cn

胞外呼吸菌广泛分布于土壤、污泥、河流/海洋沉积物以及水体等环境介质中,能够在厌氧条件下,分解有机物并产生能量维持自身生长,可通过细胞色素 *c* 和功能蛋白的共同作用将产生的电子跨膜传递至胞外电子受体^[1]。在胞外电子传递过程中,胞外呼吸菌既可以通过直接电子传递方式,也可以通过分泌中介体等间接电子传递方式将电子传递到胞外受体^[2]。胞外电子传递方式的多样性极大地提高了胞外呼吸菌的生存率,为胞外呼吸菌在自然环境中竞争提供了强有力的“武器”,而且在有机污染物降解、重金属价态形态转变和迁移、减少温室气体的排放等方面都起到了重要作用。胞外呼吸菌降解污染物主要有两种方式,一种是将有机物作为电子供体,如部分有机污染物的降解;一种是以污染物为电子受体,如将高价有毒的重金属还原为低价无毒或低毒状态。不仅如此,胞外呼吸菌在地球物质循环中也起到了重要作用^[3],它能够以 Fe(Ⅲ)氧化物(赤铁矿等)作为末端电子受体,将 Fe(Ⅲ)转化为 Fe(Ⅱ),这是生物还原 Fe(Ⅲ)的重要途径^[4]。

本文从胞外呼吸菌的种类、胞内与胞外电子传递机制等方面进行综述,并着重讨论胞外呼吸菌在污染物迁移转化中的应用,为进一步研究胞外呼吸菌如何更好地发挥环境效应提供理论基础。

1 胞外呼吸菌的种类

目前,在土壤、污泥、河流/海洋沉积物以及水体等各种环境中都分离富集出许多具有胞外电子传递功能的微生物^[5]。根据胞外电子受体的不同,微生物胞外呼吸菌主要分为腐殖质还原菌、异化金属还原菌和产电微生物。除了常规微生物,许多极端环境微生物也具有胞外电子传递能力,如嗜热菌、嗜酸菌和嗜碱菌等。胞外呼吸菌大部分集中在以下三个门:变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Acidobacteria)和厚壁菌门(Firmicutes),大多数为革兰氏阴性菌,仅少数为阳性菌。目前报道的胞外呼吸菌的数量仅占自然界的极小部分^[6],而且很多菌的功能机制还不完全清楚。随着研究的不断深入以及微生物分离方法和分子生物学方法的不断完善,胞外呼吸菌资源将会继续不断被发现和丰富(表 1)。

2 胞外呼吸菌电子传递机制

2.1 胞内电子传递机制

希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis* MR-1)和地杆

菌(*Geobacter sulfurreducens*)是研究最多、最系统的两种胞外呼吸菌,也是广大学者研究胞外电子传递机制的模式菌株,至今仍有更多胞外呼吸菌的电子传递过程不清楚,有待于进一步深入研究。

S. oneidensis MR-1 能够利用 20 多种电子受体,延胡索酸、硝酸盐、亚硝酸盐、硫代硫酸盐、亚硫酸盐、三甲胺 N-氧化物以及二甲亚砷等电子受体可进入细胞内接受电子,而三价铁矿物、腐殖质和石墨电极等^[34-35]则不能进入胞内接受电子。细胞色素 *c* 等多种蛋白在 *S. oneidensis* MR-1 的电子传递过程中共同发挥着作用,*S. oneidensis* MR-1 全基因测序的完成,对于认识微生物不同蛋白在胞外呼吸中的功能并阐明其作用机制提供了帮助。细胞内部电子传递首先是在脱氢酶的作用下,从电子供体上转移出电子传递给醌类中间体,后者将电子传递至 CymA,并将电子传递给下游的电子运输途径。CymA 作为胞内电子传递的“换乘站”,将电子通过细胞色素 *c3* 传递到 Mtr 途径。细胞色素 *c3* 将电子传递到 MtrA 上之后,再由 Mtr 途径,将电子传递至外膜与末端电子受体结合。MtrA、MtrB、MtrC 及 MtrC 的同族蛋白 OmcA 构成 Mtr 途径。MtrA 的一端镶嵌在 MtrB 上,存在于细胞周质中,是基于两个五血红素辅基 NrfB 单体末端相连组成的细胞色素结构。MtrB 呈桶状穿过细胞外膜,两端分别嵌合 MtrA 与 MtrC。MtrC 与 OmcA 按照 1:2 的数量形成蛋白复合体,存在于细胞外膜,这个蛋白质复合体直接与胞外末端电子受体相接触,并将电子传递至末端电子受体。MtrA 是电子由周质传递到外膜过程中起主要作用的细胞色素,MtrA 将电子传递给 MtrB,再由 MtrB 将电子传递给 MtrC/OmcA。MtrB 不仅对传递电子起到重要作用,对于脂蛋白的运输也很重要,它能够促进 MtrC 和 OmcA 的转移和定位^[36]。

G. sulfurreducens 中含有 111 个与膜有关的细胞色素 *c* 基因,许多蛋白质都参与胞外电子传递的过程。*G. sulfurreducens* 的胞外电子传递模式类似于 *S. oneidensis* MR-1,质子泵将产生的电子送入醌池中,再由镶嵌在内膜上的二亚铁血红素 MacA 从醌池中获得电子。MacA 能够还原细胞周质中的三价铁血红素 PpcA,其作为周质中最有效的电子载体,对将电子传递至外膜氧化还原酶上起着重要的作用。在利用微生物燃料电池的阳极和三价铁离子作为电子受体时,位于外膜上的终端还原酶四亚铁血红素 OmcE 和六亚铁血红素 OmcS 都必不可少,而外膜细胞色素 Omc-cB 的基因缺失只影响三价铁离子的还原,不会对电

表 1 胞外呼吸菌部分代表菌
Table 1 Part of the extracellular respiration bacteria

代表微生物 Microorganisms	革兰氏染色 Gram staining	胞外电子受体 Extracellular electro acceptor	文献 References
<i>Geobacter metallireducens</i>	G ⁻	铁氧化物/AQDS/腐殖质/电极	[7]
<i>Geobacter sulfurreducens</i>	G ⁻	AQDS/HS/柠檬酸铁/电极	[8]
<i>Desulfuromonas acetoxidans</i>	G ⁻	铁氧化物/电极	[9]
<i>Geopsychrobacter electrodiphilus</i>	G ⁻	铁氧化物/电极	[10]
<i>Desulfobulbus propionicus</i>	G ⁻	铁氧化物/腐殖质/电极	[11]
<i>Rhodospirillum rubrum</i> T118 ^T	G ⁻	铁氧化物/腐殖质/电极	[12]
<i>Rhodospseudomonas palustris</i>	G ⁻	电极	[13]
<i>Shewanella oneidensis</i> MR-1	G ⁻	铁氧化物/AQDS/腐殖质	[14]
<i>Enterobacter cloacae</i> 13047 ^T	G ⁻	电极	[15]
<i>Klebsiella pneumoniae</i> L17	G ⁻	铁氧化物/电极	[16]
<i>Pelobacter carbinolicus</i>	G ⁻	铁氧化物	[17]
<i>Pantoea agglomerans</i>	G ⁻	AQDS	[18]
<i>Corynebacterium</i> sp. MFC03	G ⁺	腐殖质/电极	[19]
<i>Acidiphilium cryptum</i>	G ⁻	铁氧化物/电极	[20]
<i>Thermincola ferriacetica</i>	G ⁺	电极	[21]
<i>Shewanella alga</i>	G ⁻	AQDS/腐殖质	[22]
<i>Shewanella putrefaciens</i>	G ⁻	AQDS	[23]
<i>Paracoccus versutus</i> GW1	G ⁻	AQDS	[24]
<i>Azospirillum humicireducens</i>	G ⁻	AQDS	[25]
<i>Thauera humireducens</i>	G ⁻	AQDS	[25]
<i>Comamonas koreensis</i> CY01	G ⁻	AQDS	[26]
<i>Fuchsiella alkaliacetigena</i>	G ⁻	AQDS	[27]
<i>Calderihabitans maritimus</i>	G ⁻	AQDS	[28]
<i>Carboxydotherrnus pertinax</i>	G ⁺	AQDS	[29]
<i>Carboxydotherrnus ferrireducens</i>	G ⁺	AQDS	[30]
<i>Moorella humiferrea</i>	G ⁺	AQDS/腐殖质	[31]
<i>Bacillus thermotolerans</i>	G ⁺	AQDS	[32]
<i>Desulfotobacterium dehalogenans</i>	G ⁺	AQDS/腐殖质	[33]

子到阳极的转移过程产生影响。与 *S. oneidensis* MR-1 不同, *G. sulfurreducens* 外膜上的终端还原酶并不是直接将电子传递给胞外电子受体,而是传递给导电菌毛,再由导电菌毛将电子传递给电子受体^[37]。

2.2 胞外电子传递机制

胞外呼吸菌将电子由胞内传递至外膜或伞毛后,再通过各种途径将电子传递至末端受体。胞外电子受体目前主要有 5 种方式:直接电子传递模式、纳米导线机制、电子穿梭体机制、应电运动机制和细胞间电子传递机制。

(1)直接电子传递机制

直接电子传递机制是胞外呼吸菌通过末端还原酶和外膜表面粘性蛋白直接将电子传递到末端受体,这种方式多发现于希瓦氏菌属(*Shewanella* spp.)和地

杆菌属(*Geobacter* spp.)^[38-39]。胞外呼吸菌与末端电子受体之间能够直接接触是直接电子传递机制的前提条件,也会影响电子传递速率。*Shewanella* 菌不仅能够直接将电子传递给可溶性胞外电子受体,还可直接传递到固相胞外电子受体(如 Fe(Ⅲ)氧化物)。

(2)纳米导线机制

纳米导线机制最先发现于 *G. sulfurreducens* 中,它是指一定条件下微生物形成类似菌毛的导电附属肢体,这种导电附属肢体被称为“纳米导线”^[40]。这种“纳米导线”能够在胞外呼吸菌无法与电子受体直接接触的条件下,进行远距离电子传递,主要是通过细胞色素之间电子跃迁或者类似金属导电的形式来传递电子。*G. sulfurreducens* 的“纳米导线”呈单根状表面附生结构,菌毛较细,直径一般是 3~5 nm,长度是

直径的 1 000 多倍,具有非常好的柔韧性。而 *S. oneidensis* MR-1 的“纳米导线”呈电缆状,由多束更纤细的丝状物组成较粗菌毛状结构^[8]。“纳米导线”可以进入土壤和沉积物的纳米孔隙,不仅有利于细胞吸附于不溶性电子受体表面,还可以传递电子进行还原作用^[40]。

(3) 电子穿梭体机制

电子穿梭体机制是指胞外呼吸菌利用自然环境中存在的腐殖质、植物根系分泌物或者微生物自身合成的核黄素等物质作为电子穿梭体^[41-42],接受来自胞内传递出的电子,并将电子传递给末端电子受体,之后以氧化态形式返回细胞再次接受电子,如此反复循环,在胞外呼吸菌与末端电子受体之间起到穿梭体的作用。在外界环境中,胞外呼吸菌在利用不可溶性物质作为电子受体时,电子穿梭体起到了非常重要的作用。作为一个典型的例子,异化铁还原菌一直被认为必须直接接触 Fe(Ⅲ)氧化物才能将其作为电子受体,而最新研究表明,自然存在的和自身分泌合成的电子穿梭体在异化铁还原菌和 Fe(Ⅲ)氧化物之间的长距离电子传递中能起到有效的作用^[43]。

(4) 应电运动机制

应电运动机制是指有些胞外呼吸菌能将氧化底物所产生的电子储存在细胞表面,形成一种“生物电容”,然后以“接触-传递”的方式将电子传递给末端电子受体,或者通过细菌伞毛接触末端电子受体后将电子传递出去,并迅速脱离电子受体表面,然后参与下次电子传递^[44]。这种应电运动机制与电子穿梭体机制存在显著差异,应电运动机制依靠微生物自身的运动,不需要借助电子穿梭体。通过这种方式传递电子的微生物主要是 *Shewanella* 菌,包括 MR-1、SB2B 和 CN32,尤其是 MR-1 最为突出。有研究表明,缺失 MtrA、MtrB 或 CymA 的三种突变菌株都不能通过应电运动的方式向胞外电子受体传递电子^[45],可见细胞色素 MtrA、MtrB 和 CymA 在应电运动机制中都是不可缺少的。并不是任何条件下都能发生应电运动,需要有合适的胞外电子受体才能激发应电运动的发生,这种应电运动区别于微生物的趋电性和趋药性^[45]。Yang 等^[46]研究发现,在利用 MnO₂ 和微生物燃料电池的石墨电极作为末端电子受体时,仅部分 *Shewanella* 菌以应电运动的方式传递电子,而加入可溶性电子穿梭体后(如 AQDS),以应电运动传递电子的 *Shewanella* 菌数量会大大增加,进而也加大了微生物燃料电池的电流并促进了 MnO₂ 的还原。这可能是因

在有可溶性电子穿梭体的体系中,*Shewanella* 菌先将电子通过应电运动传递给电子穿梭体,再由电子穿梭体将电子传递给末端电子受体。可见可溶性电子穿梭体比固相末端电子受体更容易激发应电运动。此外,可溶性电子受体还能激发缺失 MtrB 的 *Shewanella* 菌产生应电运动^[44]。

(5) 细胞间电子传递机制

胞外电子传递的过程不仅存在于微生物与电子受体之间,也存在于不同种微生物之间。最典型的细胞间电子传递途径是 H₂ 细胞间电子传递体机制,胞外呼吸菌将电子用于还原质子产生 H₂,再由产甲烷菌将 H₂ 与 CO₂ 转化为 CH₄^[47]。在沉积物、厌氧土壤以及厌氧分解池中都发现有大量利用 H₂/甲酸盐生长的产甲烷菌,这说明细胞间电子传递体对调控环境中的甲烷生成具有重要作用。此外,细胞间也存在直接电子传递机制。如产甲烷丝菌(*Methanosaeta haurindacaea*)与地杆菌(*Geobacter metallireducens*)混合培养过程中能够接受来自后者直接传递的电子并还原在 CO₂ 为 CH₄^[48]。除上述微生物间电子传递途径外,微生物细胞之间还可以通过电介质进行间接电子传递,其效率和速率都会高于细胞间直接接触传递。Kaden 等^[49]研究发现半胱氨酸能够在 *G. sulfurreducens* 和产琥珀酸沃廉菌(*Wolinella succinogenes*)共培养时介导两种微生物之间传递电子。

3 胞外呼吸菌在污染物迁移和转化中的应用

人类活动产生的有机和无机污染物引发了很多环境问题。多数情况下,污染物的行为是由复杂的生物地球化学过程控制,而微生物在调控这些过程中发挥着重要作用。胞外呼吸是近年来发现的新型微生物厌氧能量代谢方式,与传统的有氧呼吸、胞内厌氧呼吸存在显著差异,丰富了人们对微生物呼吸多样性的认识,在污染物修复、污水处理及清洁生物能源提取等方面具有重要应用前景,是当前研究的热点。胞外呼吸菌广泛参与这种独特的氧化还原过程,同样受到了广大科研工作者的关注。

3.1 重金属的氧化还原

(1) 重金属铬(Cr)的还原

Cr 在环境中一般有两种形态 Cr(VI)和 Cr(Ⅲ),前者有剧毒,在工业废水中含量很高,而 Cr(Ⅲ)无毒,是糖脂代谢必需的营养物质。Cr(VI)/Cr(Ⅲ)氧化还原电位较高,溶解氧对 Cr(Ⅲ)的再氧化在动力学上是非常缓慢的^[50]。因此,Cr 传统处理思路就是将

Cr(VI)转化为Cr(III)。微生物可以通过胞外呼吸途径产生Fe(II)或硫化物来间接促进Cr(VI)的还原,也有研究表明微生物也可以通过直接电子传递方式来还原Cr(VI)。一些专性厌氧菌还原Cr(VI)时,会把Cr(VI)当作电子受体。

脱硫弧菌(*Desulfovibrio* spp.)是受到关注较多的微生物,既能氧化乳酸又能还原Cr(VI),与还原硫酸盐和铬酸盐的机理相似^[51]。*Desulfovibrio* spp.可以把H₂作为电子供体,利用细胞色素c与氢化酶将Cr(VI)还原^[52]。*S. oneidensis*可以利用MtrC和OmcA两种细胞色素作为终端还原酶将胞外Cr(VI)还原,而当敲除相应的MtrC和OmcA两组基因后,*S. oneidensis*不再还原Cr(VI),同时胞内Cr(III)积累增加,胞外Cr(III)减少^[53]。

Cr(VI)污染的原位处理也是一项重要的技术,土壤或沉积物中都存在Cr(VI)土著还原菌。通过向电镀污染土壤中添加大豆胰蛋白酶、葡萄糖和矿物盐等不同手段刺激细菌代谢,发现细菌不仅还原了Cr(VI),还刺激了CO₂的转化^[54]。原位修复试验的环境条件不易控制,微生物代谢活动很难处于持续的最佳状态,就大多数地下含水层而言,通常温度较低且电子供体有限。Cr(VI)主要存在于碱性环境中,极端的酸碱度也是影响Cr(VI)污染原位处理效果的重要因素。最近,不同研究者从碱性环境中分离出了适应高pH值(通常pH 9~10)的多株Cr(VI)还原细菌,如嗜碱菌(*Alkaliphilus metalliredigens*)、洋葱伯克氏菌(*Burkholderia cepacia* MCMB-821)和盐单胞菌(*Halomonas* spp.)^[55-56]。复合菌群较单株菌具有更好的环境适应性,Jeyasingh等^[57-58]从不同的Cr(VI)污染样品中分离出Cr(VI)还原细菌,并进行混合培养,发现混合培养的Cr(VI)还原细菌能够将Cr(VI)完全还原。

(2)重金属铀(U)的还原

U在环境中主要以U(IV)氧化物和U(VI)氧化物的形式存在。U(IV)氧化物可溶性差,而U(VI)碳酸盐复合物的可溶性很强,如UO₂(CO₃)₂和UO₂(CO₃)₃⁴⁻^[41]。将U还原可实现U的固定^[59],这是一种重要的污染修复方式,能够有效防止U(VI)迁移到地下水系统。

目前,普遍认为在厌氧环境中U的去除是一种间接还原,而且会牵涉到许多微生物胞外呼吸的过程^[60]。Lovley等^[61]认为,微生物会产生Fe(II)或硫化物等还原剂将U还原。此外,Williams等^[59]将醋酸盐和H₂作为电子供体,研究了*G. metallireducens*、*S. oneidensis*、硫酸盐还原菌(*Desulfovibrio desulfuricans*)

和脱硫弧菌(*Desulfovibrio vulgaris*)对U的还原,结果表明这些胞外呼吸菌在直接催化还原U(VI)的同时自身也在进行代谢生长。最新研究表明,在电子供体碳源供应充足的情况下,U(VI)的微生物还原速率与微生物量存在密切关系^[62],地杆菌与硫酸盐还原菌对还原U(VI)不存在竞争关系,表明两种菌对还原U(VI)的机制相互独立。研究发现,微生物*D. vulgaris*在还原U(VI)的过程中,细胞色素c₃起到了关键作用,这与Cr(VI)的微生物还原机理相似,而当用阳离子交换柱把可溶性电子传递蛋白从细胞移除后,发现微生物就失去了还原能力^[63]。*G. sulfurreducens*还原U(VI)的机理相对复杂,涉及多种细胞色素,且最新研究发现,胞外纳米导线也参与了*G. sulfurreducens*对U(VI)的还原^[64]。Jeon等^[65]用多种天然Fe(III)氧化物、合成Fe(III)氧化物探究其对*G. sulfurreducens*还原U(VI)的影响,结果发现,有天然Fe(III)氧化物参与时,U(VI)的还原速率大大降低了。

3.2 有机污染物修复

(1)芳香族有机污染物的矿化

人类活动产生的有机污染物通常含有芳香族化合物,苯环的热稳定性使得这些污染物难以转化,长期存留于环境当中^[66]。大量有机物电子供体的异化作用会把O₂作为电子受体而迅速消耗掉,从而形成厌氧环境^[67],为Fe(III)氧化物作为电子受体参与有机物的氧化提供了主要场所。环境现场检测也证明了Fe(III)氧化物还原时会促进有机物降解^[68-70]。

最先被发现的能够将Fe(III)氧化物还原同时又可氧化芳香族化合物的菌是*G. metallireducens*,该菌是从烃类污染土壤中分离出来的,可以利用Fe(III)氧化物当作电子受体,从苯甲酸酯、甲苯、苯酚和对甲苯酚的氧化过程中获得能量^[71]。*G. metallireducens*还能将芳香族化合物转化为苯甲酰基-CoA,然后通过脂肪酸氧化转化为乙酰基-CoA,最后通过TCA循环转化为CO₂^[72]。黄杰勋等^[73]以乳酸钠作为电子供体在厌氧条件下利用*S. oneidensis* MR-1降解二硝基甲苯,得到还原产物二硝胺甲苯,后者在好氧条件下易被降解为无毒产物。自然环境中存在丰富的胞外呼吸菌资源,还有很多具有良好环境效应的胞外呼吸菌尚未发现。

*Geobacter*菌属中,目前发现的能同时将Fe(III)氧化物还原和芳香族化合物氧化耦合的并不多,但在沉积环境中确实有丰富的*Geobacter*菌,而且其中大部分都具有还原Fe(III)氧化物能力,说明这一研究

还是有其重要的环境意义^[74]。利用 16S rDNA 高通量测序与分析等技术,发现这些 *Geobacter* 菌对芳烃污染的土壤修复意义重大^[75],说明利用这些细菌进行生物强化来促进生物降解,制定一个较好的生物修复方案是可行的。然而,目前存在的主要问题是,微生物如何可以更有效的接触到固态的铁氧化物^[74]? Fe(III) 还原与芳烃氧化耦合的过程会产生活性较强的 Fe(II) ,例如最新的研究表明,*G. metallireducens* 氧化 BTEX (苯、甲苯、乙苯和二甲苯)时所产生的 Fe(II) ,可以进一步介导污染物和硝基化合物的还原,表明微生物还原 Fe(III) 氧化物与芳烃氧化耦合过程可以将那些微生物无法直接利用的共存污染物进行降解^[76]。

自然环境中许多生物化学过程往往都是菌群共同作用完成,胞外呼吸菌底物相对单一,在处理复杂结构有机物时与其他污染物降解菌协同作用能发挥出更好的降解效应。Li 等^[77-78]通过构建土壤微生物燃料电池,发现原位驯化得到的电活性土壤微生物可以加速石油烃(烷烃和多环芳烃)的降解,利用淋洗土壤、添加碳纤维来改良土壤微生物燃料电池,石油烃(烷烃和多环芳烃)的降解速率提高了 484%^[79]。Wang 等^[80]通过构建 U 型管微生物燃料电池处理石油烃时也出现了类似的结果,其中微生物量提高了两个数量级。

(2) 卤代有机物污染物的降解

胞外呼吸菌还原 Fe(III) 氧化物产生的 Fe(II) 可以通过非生物电子交换反应还原转化污染物。事实上,在工业生产以及污染物的化学修复中, Fe(II) 是很常用的还原剂^[81]。生物 Fe(II) 通常是由含铁的生物矿物产生,这些 Fe(II) 或是存在于矿物结构中,或是吸附在矿物表面^[82]。已有研究证实 Fe(II) 矿物参与了六氯乙烷的脱卤和硝基氯苯的硝基还原^[83], Fe(II) 矿物成分不同,反应速率也不同,其中铁硫化物反应速率较大。McCormick 等^[84]将磁铁矿应用到了 CCl_4 的转化中,发现反应过程中约有 47% 的 CCl_4 经过脱卤反应转化成了 CO_2 和 CH_4 ,但是关于 CH_4 的产生机理尚不明确。

(3) 硝基苯的降解

硝基苯对人体和生物都有很强的毒性,已被我国环保部门列入优先污染物名单。由于硝基基团具有吸电性,所以硝基苯的好氧降解速度较为缓慢。在厌氧条件下,硝基苯先被降解为苯胺,再开环降解^[85]。在地下环境系统中,由胞外呼吸菌还原 Fe(III) 氧化物产生的磁铁矿是一种很常见的矿物,它能与污染物发生

反应,这已经引起了许多关注^[86]。Gorski 等^[87]还发现,当磁铁矿中 Fe(II) 的含量增加,硝基苯反应速率和铁矿合成的反应速率都会加快。在分子生物层面的研究中,Cai 等^[88]发现 *S. oneidensis* MR-1 在厌氧条件下还原硝基苯时,*omcA-mtr* CAB 这些与胞外电子传递有关的基因簇并没有参与该还原过程,仅 CymA 观察到了电子传递现象,说明厌氧条件降解硝基苯不是单胞外反应,可能还有 CymA 与其他蛋白质发挥作用。许超等^[89]研究表明,在铁矿物、硝基苯和电子穿梭体共存的体系中,添加电子穿梭体比未添加的体系中硝基苯降解率提高了 10% 以上。这可能是由于电子穿梭体提高了胞外呼吸菌与铁矿物之间的电子传递效率,这种作用途径为利用微生物进行原位修复硝基苯污染场地提供了新思路。Zhang 等^[90]人通过构建微生物电解池厌氧反应器,将硝基苯转化为毒性低、可被微生物降解的苯胺,与非生物电极相比,在有混菌存在的阴极附近,硝基苯降解速率更高。

(4) 六氯苯的降解

六氯苯是联合国环境规划署国际公约中首批控制的持久性有机污染物(POPs)之一。六氯苯中电子云被氯原子吸引,导致苯环上电子云密度降低,这使得好氧条件下苯环上的电子难以被氧化酶获取而发生氧化反应。但是在厌氧条件下,微生物可以通过还原取代氯离子来降解六氯苯^[91]。目前六氯苯厌氧降解多基于微生物菌群共同作用,很少有单一微生物能起脱氯作用。萨如拉等^[92]在厌氧条件下驯化出带有胞外呼吸菌的微生物菌群,添加 Fe(III) 矿物后促进了六氯苯的降解。李东阳等^[93]利用六氯苯淋滤驯化出的胞外呼吸菌,在加入腐殖质作为电子穿梭体后,对六氯苯的降解效率也有所提高,且厌氧环境下微生物对腐殖酸的还原效果更好,更有利于促进六氯苯的脱氯。戈舒昱^[94]利用厌氧污泥构建土壤微生物燃料电池(MFC),并以六氯苯作为目标污染物降解,发现去除率较断路土壤 MFC 系统及无厌氧污泥断路土壤 MFC 系统显著提高。对于无厌氧污泥断路土壤 MFC,整个实验过程中均未检出任何降解产物,也证明了在实验条件下土壤自身无法完成对六氯苯的还原。

4 结论与展望

目前对胞外呼吸菌的胞内电子传递机制研究主要集中于 *S. oneidensis* MR-1 和 *G. sulfurreducens* 这两种模式菌。胞外呼吸菌在污染物降解,特别是污染物原位修复上有很大的潜力。阐明胞外呼吸菌的电子

传递机理对研究污染物的迁移转化具有重要指导作用。胞外呼吸菌主导污染物迁移转化主要分为两种模式。一种是利用污染物作为电子供体,这主要是降解有机污染物为主,将有机污染物分解产生能量用于自身生长;另一种模式是将污染物作为电子受体,这种模式主要是还原重金属和部分有机污染物,而且在Fe(Ⅲ)氧化物的参与下效果更加显著。在胞外呼吸过程中,高价态有毒重金属通过接受电子还原为无毒或低毒的低价态存在于环境中,卤代有机污染物能够作为电子受体起到脱卤素的效果。胞外呼吸菌在厌氧条件下对硝基苯和六氯苯的降解也很有效。尽管利用胞外呼吸菌降解污染物的研究已有很多报道,但仍有很多问题值得探索。如针对不同污染物的新型特异性胞外呼吸菌的筛选、驯化、分离和鉴定;更多胞外呼吸菌电子传递机制亟待阐明,以期为更广泛的污染物降解提供理论参考;部分污染物难以被单一菌株降解,需要多种微生物共同作用,那么其间涉及的作用机制也是值得深入探讨的问题。

参考文献:

- [1] Clarke T A, Richardson D J. Structure of a bacterial cell surface decaheme electron conduit[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(23):9384-9389.
- [2] Watanabe K, Manefield M, Lee M, et al. Electron shuttles in biotechnology[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2009, 20(6):633-641.
- [3] 王莹,刘同旭,李芳柏.微生物-矿物间半导体介导电子传递机制研究进展[J]. *地球科学进展*, 2016, 31(4):347-356.
WANG Ying, LIU Tong-xu, LI Fang-bai. Advances in the semiconductor-mediated electron transfer mechanism at microbe-mineral interface [J]. *Advances in Earth Science*, 2016, 31(4):347-356. (in Chinese)
- [4] Lovley D R, Ueki T, Zhang T, et al. Geobacter: the microbe electric's physiology, ecology, and practical applications[J]. *Advances in Microbial Physiology*, 2011, 59:1.
- [5] 吴云当,李芳柏,刘同旭.土壤微生物-腐殖质-矿物间的胞外电子传递机制研究进展[J]. *土壤学报*, 2016, 53(2):277-291.
WU Yun-dang, LI Fang-bai, LIU Tong-xu. Mechanism of extracellular electron transfer among microbe-humus-mineral in soil: A review [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2016, 53(2):277-291. (in Chinese)
- [6] 马晨,周顺桂,庄莉,等.微生物胞外呼吸电子传递机制研究进展[J]. *生态学报*, 2011, 31(7):2008-2018.
MA Chen, ZHOU Shun-gui, ZHUANG Li, et al. Electron transfer mechanism of extracellular respiration: A review [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2011, 31(7):2008-2018. (in Chinese)
- [7] Trump J I V, Sun Y, Coates J D. Microbial interactions with humic substances[J]. *Advances in Applied Microbiology*, 2006, 60(2):55-96.
- [8] Gorby Y A, Fredrickson J K. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* Strain MR-1 and other microorganisms[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2006, 103(30):11358-11363.
- [9] Lovley D R. Bug juice: Harvesting electricity with microorganisms[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2006, 4(7):497-508.
- [10] Holmes D E, Nicoll J S, Bond D R, et al. Potential role of a novel psychrotolerant member of the family *Geobacteraceae*, *Geopsychrobacter electrophilus* gen. nov., sp. nov., in electricity production by a marine sediment fuel cell[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2004, 70(10):6023-6030.
- [11] Holmes D E, Bond D R, Lovley, et al. Electron transfer by *Desulfobulbus Propionicus* to Fe(Ⅲ) and graphite electrodes[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2004, 70(2):1234-1237.
- [12] Risso C, Sun J, Zhuang K, et al. Genome-scale comparison and constraint-based metabolic reconstruction of the facultative anaerobic Fe(Ⅲ)-reducer *Rhodospirillum rubrum* [J]. *BMC Genomics*, 2009, 10(1):447.
- [13] Xing D, Zuo Y, Cheng S, et al. Electricity generation by *Rhodospirillum rubrum* [J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(11):4146-4151.
- [14] Meyer T E, Tsapin A I, Vandenberghe I, et al. Identification of 42 possible cytochrome C genes in the *Shewanella oneidensis* genome and characterization of six soluble cytochromes[J]. *Omics: A Journal of Integrative Biology*, 2004, 8(1):57-77.
- [15] Rezaei F, Xing D, Wagner R, et al. Simultaneous cellulose degradation and electricity production by enterobacter cloacae in a microbial fuel cell[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2009, 75(11):3673-3678.
- [16] Zhang L, Zhou S, Zhuang L, et al. Microbial fuel cell based on *Klebsiella pneumoniae* biofilm[J]. *Electrochemistry Communications*, 2008, 10(10):1641-1643.
- [17] Richter H, Lanthier M, Nevin K P, et al. Lack of electricity production by *Pelobacter carbinolicus* indicates that the capacity for Fe(Ⅲ) oxide reduction does not necessarily confer electron transfer ability to fuel cell anodes[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2007, 73(16):5347-5353.
- [18] Chris A, Francis A Y O, Bradley M Tebo. Dissimilatory metal reduction by the facultative anaerobe *Pantoea agglomerans* SP1 [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2000, 66(2):543-548.
- [19] Liu M, Yuan Y, Zhang L X, et al. Bioelectricity generation by a Gram-positive *Corynebacterium* sp. strain MFC03 under alkaline condition in microbial fuel cells[J]. *Bioresource Technology*, 2009, 101(6):1807-1811.
- [20] Borole A P, O'Neill H, Tsouris C, et al. A microbial fuel cell operating at low pH using the acidophile *Acidiphilium cryptum*[J]. *Biotechnology Letters*, 2008, 30(8):1367-1372.
- [21] Marshall C W, May H D. Electrochemical evidence of direct electrode reduction by a thermophilic Gram-positive bacterium, *Thermococcus ferrireducens*[J]. *Energy & Environmental Science*, 2009, 2(6):699-705.
- [22] Fredrickson J K, Zachara J M, Kennedy D W, et al. Reduction of U(VI) in goethite(α -FeOOH) suspensions by a dissimilatory metal-reducing bacterium[J]. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2000, 64(18):3085-3098.

- [23] Lee I G, Kim S J, Ahn T Y. Inhibitory effect of nitrate on Fe(III) and humic acid reduction in *Shewanella putrefaciens* DK-1[J]. *Journal of Microbiology*, 2000, 38(3): 180-182.
- [24] Li H, Guo J, Lian J, et al. Effective and characteristics of anthraquinone-2, 6-disulfonate(AQDS) on denitrification by *Paracoccus versutus* sp. GW1[J]. *Environmental Technology*, 2013, 34(17): 2563-2570.
- [25] Zhou S, Han L, Wang Y, et al. *Azospirillum humicireducens* sp. nov., a nitrogen-fixing bacterium isolated from a microbial fuel cell[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2013, 63(7): 2618-2624.
- [26] Wang J, Li L H, Zhou J, et al. Enhanced biodecolorization of azo dyes by electropolymerization-immobilized redox mediator[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 168(2-3): 1098-1104.
- [27] Zhilina T N, Zavarzina D G, Panteleeva A N, et al. *Fuchsiella alkaliacetigena* gen. nov., sp. nov., an alkaliphilic, lithoautotrophic homoacetogen from a soda lake[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2012, 62(7): 1666-1673.
- [28] Yoneda Y, Yoshida T, Yasuda H, et al. A thermophilic, hydrogenogenic and carboxydutrophic bacterium, *Calderihabitans maritimus* gen. nov., sp. nov., from a marine sediment core of an undersea caldera[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2013, 63(10): 3602-3608.
- [29] Yoneda Y, Yoshida T, Kawaichi S, et al. Carboxydotherrmus pertinax sp. nov., a thermophilic, hydrogenogenic, Fe(III)-reducing, sulfur-reducing carboxydutrophic bacterium from an acidic hot spring[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2011, 62(7): 1692-1697.
- [30] Gavrillov S N, Lloyd J R, Kostrikina N A, et al. Fe(III) oxide reduction by a gram-positive thermophile: physiological mechanisms for dissimilatory reduction of poorly crystalline Fe(III) oxide by a thermophilic gram-positive bacterium *Carboxydotherrmus ferrireducens*[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2012, 29(9): 804-819.
- [31] Nepomnyashchaya Y N, Slobodkina G B, Baslerov R V, et al. *Moorella humiferrea* sp. nov., a thermophilic, anaerobic bacterium capable of growth via electron shuttling between humic acid and Fe(III)[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2012, 62(3): 613-617.
- [32] Yang G, Zhou X, Zhou S, et al. *Bacillus thermotolerans* sp. nov., a thermophilic bacterium capable of reducing humus[J]. *International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology*, 2013, 63(10): 3672-3678.
- [33] Cervantes F J, De Bok F A, Duong-Dac T, et al. Reduction of humic substances by halo-respiring, sulphate-reducing and methanogenic microorganisms[J]. *Environmental Microbiology*, 2002, 4(1): 51-57.
- [34] Yuan Y, Tan W B, He X S, et al. Heterogeneity of the electron exchange capacity of kitchen waste compost-derived humic acids based on fluorescence components[J]. *Analytical & Bioanalytical Chemistry*, 2016, 408(27): 1-9.
- [35] Xi B, Zhao X, He X, et al. Successions and diversity of humic-reducing microorganisms and their association with physical-chemical parameters during composting[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 219: 204-211.
- [36] 赵昕宇, 何小松, 檀文炳, 等. 典型胞外呼吸细菌的胞内电子转移机制研究进展[J]. *生态学报*, 2017, 37(8): 1-11.
ZHAO Xin-yu, HE Xiao-song, TAN Wen-bing, et al. Intracellular electron transfer mechanism of typical extracellular respiratory bacteria[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2017, 37(8): 1-11. (in Chinese)
- [37] Inoue K. Purification and characterization of OmcZ, an outer-surface, octaheme c-type cytochrome essential for optimal current production by *Geobacter sulfurreducens*[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2010, 76(12): 3999-4007.
- [38] Shi L, Chen B, Wang Z, et al. Isolation of a high-affinity functional protein complex between OmcA and MtrC: Two outer membrane decaheme c-type cytochromes of *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(13): 4705-4714.
- [39] Inoue K, Qian X, Morgado L, et al. Purification and characterization of OmcZ, an outer-surface, octaheme c-type cytochrome essential for optimal current production by *Geobacter sulfurreducens*[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2010, 76(12): 3999-4007.
- [40] Reguera G, McCarthy K D, Mehta T, et al. Extracellular electron transfer via microbial nanowires[J]. *Nature*, 2005, 435(7045): 1098-1101.
- [41] Clark D L, Hobart D E, Neu M P. Actinide carbonyl complexes and their importance in actinide environmental chemistry[J]. *Chemical Reviews*, 1995, 95(1): 25-48.
- [42] Lovley D R, Phillips E J. Reduction of uranium by *Desulfovibrio desulfuricans*[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1992, 58(3): 850-856.
- [43] Nevin K P, Lovley D R. Mechanisms for accessing insoluble Fe(III) oxide during dissimilatory Fe(III) reduction by *Geothrix fermentans*[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2002, 68(5): 2294-2299.
- [44] Harris H W, Elnaggar M Y, Bretschger O, et al. Electrokinesis is a microbial behavior that requires extracellular electron transport[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2009, 107(1): 326-331.
- [45] Bretschger O, Obraztsova A, Sturm C A, et al. Current production and metal oxide reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 wild type and mutants[J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2007, 73(21): 7003-7012.
- [46] Yang Y, Harris D P, Luo F, et al. Snapshot of iron response in *Shewanella oneidensis* by gene network reconstruction[J]. *BMC Genomics*, 2009, 10(1): 1-17.
- [47] Sieber J R, McInerney M J, Gunsalus R P. Genomic insights into syntrophy: The paradigm for anaerobic metabolic cooperation[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2012, 66: 429-452.
- [48] Nagarajan H, Embree M, Rotaru A E, et al. Characterization and modelling of interspecies electron transfer mechanisms and microbial community dynamics of a syntrophic association[J]. *Nature Communications*, 2013, 4(7): 2809.
- [49] Kaden J, A S G, Schink B. Cysteine-mediated electron transfer in syntrophic acetate oxidation by cocultures of *Geobacter sulfurreducens* and *Wolinella succinogenes*[J]. *Archives of Microbiology*, 2002, 178(1):

- 53–58.
- [50] Rai D, Eary L E, Zachara J M. Environmental chemistry of chromium [J]. *Science of the Total Environment*, 1989, 86(1–2): 15–23.
- [51] Lloyd J R, Mabbett A N, Williams D R, et al. Metal reduction by sulphate-reducing bacteria: Physiological diversity and metal specificity [J]. *Hydrometallurgy*, 2001, 59(2–3): 327–337.
- [52] Lovley D R, Phillips E J P. Reduction of chromate by *Desulfovibrio vulgaris* and its *c3* cytochrome [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1994, 60(2): 726–728.
- [53] Belchik S M, Kennedy D W, Dohnalkova A C, et al. Extracellular reduction of hexavalent chromium by cytochromes MtrC and OmcA of *Shewanella oneidensis* MR-1 [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 2011, 77(12): 4035–4041.
- [54] Turick C E, Graves C, Apel W A. Bioremediation potential of Cr(VI)-contaminated soil using indigenous microorganisms [J]. *Bioremediation Journal*, 1998, 2(1): 1–6.
- [55] Roh Y, Chon C M, Moon J W. Metal reduction and biomineralization by an alkaliphilic metal-reducing bacterium, *Alkaliphilus metalliredigens* (QYMF) [J]. *Geosciences Journal*, 2007, 11(4): 415–423.
- [56] R W, Km K, Kr G, et al. Chromate reduction by *Burkholderia cepacia* MCB-821, isolated from the pristine habitat of alkaline crater lake [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 75(3): 627–632.
- [57] Jeyasingh J, Philip L. Bioremediation of chromium contaminated soil: Optimization of operating parameters under laboratory conditions [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2005, 118(1–3): 113–120.
- [58] Jeyasingh J, Somasundaram V, Philip L, et al. Pilot scale studies on the remediation of chromium contaminated aquifer using bio-barrier and reactive zone technologies [J]. *Chemical Engineering Journal*, 2011, 167(1): 206–214.
- [59] Williams K H, Bargar J R, Lloyd J R, et al. Bioremediation of uranium-contaminated groundwater: A systems approach to subsurface biogeochemistry [J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2013, 24(3): 489–497.
- [60] Newsome L, Morris K, Lloyd J R. The biogeochemistry and bioremediation of uranium and other priority radionuclides [J]. *Chemical Geology*, 2014, 363(1): 164–184.
- [61] Lovley D R, Phillips E J P, Gorby Y A, et al. Microbial reduction of uranium [J]. *Nature*, 1991, 350(6317): 413–416.
- [62] Barlett M, Moon H S, Peacock A A, et al. Uranium reduction and microbial community development in response to stimulation with different electron donors [J]. *Biodegradation*, 2012, 23(4): 535–546.
- [63] Lovley D R, Widman P K, Woodward J C, et al. Reduction of uranium by cytochrome *c3* of *Desulfovibrio vulgaris* [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1993, 59(11): 3572–3576.
- [64] Cologgi D L, Reguera G. Extracellular reduction of uranium via *Geobacter conductive* pili as a protective cellular mechanism [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2011, 108(37): 15248–15252.
- [65] Jeon B H, Kelly S D, Kemner K M, et al. Microbial reduction of U(VI) at the solid-water interface [J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(21): 5649–5655.
- [66] Carmona M, Díaz E. Iron-reducing bacteria unravel novel strategies for the anaerobic catabolism of aromatic compounds [J]. *Molecular Microbiology*, 2005, 58(5): 1210–1215.
- [67] Carmona M, Zamarro M T, Blázquez B, et al. Anaerobic catabolism of aromatic compounds: A genetic and genomic view [J]. *Microbiology & Molecular Biology Reviews*, 2009, 73(1): 71–133.
- [68] Christensen T H, Kjeldsen P, Bjerg P L, et al. Biogeochemistry of landfill leachate plumes [J]. *Applied Geochemistry*, 2001, 16(7–8): 659–718.
- [69] 袁英, 何小松, 席北斗, 等. 腐殖质氧化还原和电子转移特性研究进展 [J]. *环境化学*, 2014, 33(12): 2048–2057.
YUAN Ying, HE Xiao-song, XI Bei-dou, et al. Research progress on the redox and electron transfer capacity of humic substances [J]. *Environmental Chemistry*, 2014, 33(12): 2048–2057. (in Chinese)
- [70] 李丽, 檀文炳, 王国安, 等. 腐殖质电子传递机制及其环境效应研究进展 [J]. *环境化学*, 2016, 35(2): 254–266.
LI Li, TAN Wen-bing, WANG Guo-an, et al. Electron transfer mechanisms of humic substances and their environmental implications: A review [J]. *Environmental Chemistry*, 2016, 35(2): 254–266. (in Chinese)
- [71] Lovley D R, Lonergan D J. Anaerobic oxidation of toluene, phenol, and p-cresol by the dissimilatory iron-reducing organisms, GS-15 [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1990, 56(6): 1858–1864.
- [72] Butler J E, Qiang H, Nevin K P, et al. Genomic and microarray analysis of aromatics degradation in *Geobacter metallireducens* and comparison to a *Geobacter* isolate from a contaminated field site [J]. *BMC Genomics*, 2007, 8(1): 180.
- [73] 黄杰勋, 陈星, 李非里, 等. 厌氧条件下 *Shewanella oneidensis* MR-1 对 2, 4-二硝基甲苯的还原转化 [J]. *微生物学通报*, 2013, 40(9): 1734–1741.
HUANG Jie-xun, CHEN Xing, LI Fei-li, et al. Reductive biotransformation of 2, 4-dinitrotoluene by *Shewanella oneidensis* MR-1 under anaerobic conditions [J]. *Microbiology China*, 2013, 40(9): 1734–1741. (in Chinese)
- [74] Coates J D, Phillips E J, Lonergan D J, et al. Isolation of *Geobacter* species from diverse sedimentary environments [J]. *Applied & Environmental Microbiology*, 1996, 62(5): 1531–1536.
- [75] Staats M, Braster M, Röling W F. Molecular diversity and distribution of aromatic hydrocarbon-degrading anaerobes across a landfill leachate plume [J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(5): 1216–1227.
- [76] Tobler N B, Hofstetter T B, Straub K L, et al. Iron-mediated microbial oxidation and abiotic reduction of organic contaminants under anoxic conditions [J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(22): 7765–7772.
- [77] Li X, Wang X, Ren Z J, et al. Sand amendment enhances bioelectrochemical remediation of petroleum hydrocarbon contaminated soil [J]. *Chemosphere*, 2015, 141: 62–70.
- [78] Li X, Wang X, Zhao Q, et al. Carbon fiber enhanced bioelectricity generation in soil microbial fuel cells [J]. *Biosensors & Bioelectronics*, 2016, 85: 135–141.
- [79] Li X, Wang X, Zhang Y, et al. Salinity and conductivity amendment of

- soil enhanced the bioelectrochemical degradation of petroleum hydrocarbons[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 32861.
- [80] Wang X, Cai Z, Zhou Q, et al. Bioelectrochemical stimulation of petroleum hydrocarbon degradation in saline soil using U-tube microbial fuel cells[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2012, 109(2): 426.
- [81] Charlet L, Silvester E, Liger E. N-compound reduction and actinide immobilisation in surficial fluids by Fe(II); the surface Fe(III) OFe(II) OH^o species, as major reductant[J]. *Chemical Geology*, 1998, 151(1-4): 85-93.
- [82] Cutting R S, Coker V S, Fellowes J W, et al. Mineralogical and morphological constraints on the reduction of Fe(III) minerals by *Geobacter sulfurreducens* [J]. *Geochimica Et Cosmochimica Acta*, 2009, 73(14): 4004-4022.
- [83] Elsner M, Schwarzenbach R P, Haderlein S B. Reactivity of Fe(II)-bearing minerals toward reductive transformation of organic contaminants[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(3): 799-807.
- [84] McCormick M L, Adriaens P. Carbon tetrachloride transformation on the surface of nanoscale biogenic magnetite particles[J]. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(4): 1045-1053.
- [85] Somerville C C, Nishino S F, Spain J C. Purification and characterization of nitrobenzene nitroreductase from *Pseudomonas pseudoalcaligenes* JS45[J]. *Journal of Bacteriology*, 1995, 177(13): 3837-3842.
- [86] Gorski C A, Scherer M M. Influence of magnetite stoichiometry on Fe(II) uptake and nitrobenzene reduction [J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(10): 3675-3680.
- [87] Gorski C A, Nurmi J T, Tratnyek P G, et al. Redox behavior of magnetite; Implications for contaminant reduction[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(1): 55-60.
- [88] Cai P J, Xiao X, He Y R, et al. Involvement of c-type cytochrome Cy-mA in the electron transfer of anaerobic nitrobenzene reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2012, 68(18): 227-230.
- [89] 许超, 温春宇, 董军, 等. 微生物异化还原及其对硝基苯的耦合降解[J]. *科学技术与工程*, 2013, 13(24): 7121-7125.
- XU Chao, WEN Chun-yu, DONG Jun, et al. Coupled degradation of nitrobenzene by bacterial dissimilatory iron reduction[J]. *Science Technology and Engineering*, 2013, 13(24): 7121-7125. (in Chinese)
- [90] Zhang J, Zhang Y, Quan X. Bio-electrochemical enhancement of anaerobic reduction of nitrobenzene and its effects on microbial community[J]. *Biochemical Engineering Journal*, 2015, 94(2): 85-91.
- [91] 蔡新美. 六氯苯厌氧降解菌的分离及其降解特性的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2006.
- CAI Xin-mei. Study on isolation and characteristic of the anaerobic bacteria dechlorinating hexachlorobenzene[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2006. (in Chinese)
- [92] 萨如拉, 曲婷, 贾晓珊, 等. 厌氧混合培养条件下六氯苯共代谢降解的活性分析[J]. *环境工程*, 2009(S1): 8-11, 95.
- SA Ru-la, QU Ting, JIA Xiao-shan, et al. Study on cometabolic degradation of hexachlorobenzene under anaerobic mixed cultivation[J]. *Environmental Engineering*, 2009(S1): 8-11, 95. (in Chinese)
- [93] 李东阳, 杨天学, 吴明红, 等. 腐殖酸强化六氯苯厌氧降解规律及其中间产物[J]. *环境科学研究*, 2016, 29(6): 870-876.
- LI Dong-yang, YANG Tian-xue, WU Ming-hong, et al. Anaerobic degradation regulation of hexachlorobenzene and degradation products enhanced by humic acid[J]. *Research of Environmental Sciences*, 2016, 29(6): 870-876. (in Chinese)
- [94] 弋舒昱. MFC 对土壤污染物的净化效能研究[D]. 南京: 东南大学, 2015.
- GE Shu-yu. Research on purification on performance of soil pollution by microbial fuel cell[D]. Nanjing: Southeast University, 2015. (in Chinese)