

# 成团泛菌 MFG-3 的分离鉴定及其腐殖质/Fe(III)呼吸特性研究

武春媛<sup>1,2</sup>, 李芳柏<sup>2</sup>, 周顺桂<sup>2\*</sup>, 庄莉<sup>2</sup>, 王跃强<sup>2</sup>

(1. 中国科学院广州地球化学研究所, 广州 510640; 2. 广东省生态环境与土壤研究所广东省农业环境综合治理重点实验室, 广州 510650)

摘要: 从地下古森林沉积物样品中富集分离到 1 株腐殖质/Fe(III)还原菌 MFG-3 菌株, 经 16S rDNA 基因序列分析, 该菌与成团泛菌 *Pantoea agglomerans* WAB1951 的相似性为 99%, 确定为成团泛菌。通过序批式厌氧实验考察了 MFG-3 的腐殖质呼吸活性、电子利用情况以及对 4 种铁氧化物的还原活性。结果表明, MFG-3 能够以 AQDS 为唯一电子受体进行厌氧胞外呼吸, 可利用的电子供体有: 甲酸、乳酸、丙三醇、柠檬酸、葡萄糖和蔗糖, 且 AQDS 还原速率顺序为: 蔗糖 > 葡萄糖 > 柠檬酸 > 乳酸 > 丙三醇 > 甲酸; 以葡萄糖作为电子供体时, 48 h 内  $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  的 AQDS 被还原, 同时  $4.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  葡萄糖被消耗, 菌数增殖近 7 倍, 证明 MFG-3 能够进行腐殖质呼吸; MFG-3 还能以多种 Fe(III) 氧化物为电子受体进行厌氧呼吸, 25 d 内分别有  $2.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  水铁矿、 $2.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  纤铁矿、 $2.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  针铁矿及  $0.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  赤铁矿被还原溶解。本研究为胞外呼吸研究与应用提供 1 株适宜的模式菌株。

关键词: 成团泛菌; 腐殖质; 铁氧化物; 腐殖质/Fe(III)呼吸; 胞外呼吸

中图分类号: X172 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2010)01-0237-06

## Isolation and Characterization of a Facultative Anaerobe *Pantoea agglomerans* MFG-3 and Its Humic Substance- and Fe(III)-Respiring Activity

WU Chun-yuan<sup>1,2</sup>, LI Fang-bai<sup>2</sup>, ZHOU Shun-gui<sup>2</sup>, ZHUANG Li<sup>2</sup>, WANG Yue-qiang<sup>2</sup>

(1. Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510640, China; 2. Guangdong Key Laboratory of Agricultural Environment Pollution Integrated Control, Guangdong Institute of Eco-Environmental and Soil Sciences, Guangzhou 510650, China)

**Abstract:** A strain of humic substance- and Fe(III)-reducing bacterium was isolated from the subterranean forest sediment and designated as MFG-3. The strain is facultative anaerobic, Gram-negative, motile and rod ( $1.0-3.0 \mu\text{m}$  long,  $0.5-1.0 \mu\text{m}$  wide) and identified as *Pantoea agglomerans* with the 16S rDNA sequence analyses. Batch experiments were conducted to investigate its humic substance- and Fe(III)-respiring activity. The results showed that MFG-3 was capable of anaerobic respiration on anthraquinone 2,6-disulphonate (AQDS) as the sole terminal electron acceptor with glucose as the electron donor. Within 48 h, MFG-3 could reduce  $0.3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  AQDS at the expense of  $4.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  glucose, and the population of bacteria was increased by 7 times. The strain could use sucrose, glucose, citrate, lactate and formate as electron donors for anaerobic respiration, and the reduction rates of AQDS ranked as sucrose (77%) > glucose (66%) > citrate (50%) > lactate (33%) > glycerol (25%) > formate (17%). MFG-3 can also effectively reduce four types of Fe(III) oxides. After 25 d, the total Fe(II) concentration in the tests of using ferrihydrite,  $\alpha\text{-FeOOH}$ ,  $\gamma\text{-FeOOH}$  or  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  as electron acceptor reached 2.5, 2.1, 2.3 and 0.8  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively. As a strain of environmental origin, MFG-3 is quite useful for the study of extracellular respiration and bioremediation of chlorinated organic pollutants in Fe(III)/humic substance-rich environments.

**Key words:** *Pantoea agglomerans*; humic substance; Fe(III) oxides; humic substance/Fe(III) respiration; extracellular respiration

腐殖质呼吸和 Fe(III) 呼吸是近年来备受关注的新型微生物能量代谢方式<sup>[1-3]</sup>。腐殖质呼吸, 是指微生物以腐殖质为末端电子受体, 通过氧化电子供体偶联腐殖质还原, 并从这一过程中贮存生命活动的能量。过去普遍认为, 腐殖质不能参与微生物的生理代谢过程。1996 年, Lovley 等<sup>[3]</sup>最先提出腐殖质呼吸的概念, 他们发现铁还原菌 *Geobacter metallireducens* 能利用纯化的腐殖质为电子受体, 将电子供体乙酸完全氧化为  $\text{CO}_2$ , Fe(III) 呼吸, 又称异化 Fe(III) 还

原, 它的末端电子受体为固态铁氧化物<sup>[4]</sup>。Fe(III) 呼吸和腐殖质呼吸是厌氧环境中 2 种最重要的胞外呼吸形式, 它们与普通胞内呼吸的显著区别是: 作为电子受体的腐殖质与 Fe(III) 氧化物在呼吸过程中不能

收稿日期: 2009-02-17; 修订日期: 2009-04-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(20777013, 40801119); 广东省自然科学基金项目(8151065003000005)

作者简介: 武春媛(1981~), 女, 博士研究生, 主要研究方向为厌氧微生物技术, E-mail: wuchunyuan1981@126.com

\* 通讯联系人, E-mail: szhou@soil.gd.cn

进出细胞内,而呼吸链上的电子通过特殊的途径传递至胞外电子受体<sup>[2,5,6]</sup>。

目前,腐殖质/Fe(III)呼吸的环境重要性已被广泛接受与认同<sup>[6~10]</sup>:①充当有机物矿化的电子受体,直接参与碳循环过程。据报道,在某些淡水沉积物中,腐殖质/Fe(III)呼吸直接导致了80%以上的有机碳矿化,其贡献超过硝酸盐呼吸、硫酸盐呼吸、产甲烷作用等其它厌氧方式的总和;②充当有机污染物氧化降解的电子受体。苯、甲苯、二甲苯、苯酚、氯乙烯等难降解污染物都被报道在腐殖质/Fe(III)呼吸条件下矿化<sup>[6]</sup>;③作为电子穿梭体,加速可还原性污染物(有机氯、偶氮染料等)的还原降解与重金属还原脱毒<sup>[5,10]</sup>。

能进行腐殖质呼吸的微生物称为腐殖质还原菌,一般来说,腐殖质还原菌大都具有Fe(III)呼吸活性,因此统称为腐殖质/Fe(III)还原菌<sup>[9]</sup>。迄今为止,已从土壤、沉积物、污泥等厌氧环境中分离到上百株腐殖质/Fe(III)还原菌,大多数分布在地杆菌属(*Geobacter*)和希瓦氏菌属(*Shewanella*)<sup>[11~14]</sup>。发现与分离新的高效腐殖质/Fe(III)还原菌,是胞外呼吸研究的基础。2008年,本课题组报道了肠杆菌属*Klebsiella pneumoniae* L17<sup>[15]</sup>与丛毛单胞菌属*Comamonas koreensis* CY01菌株<sup>[16]</sup>的腐殖质/Fe(III)呼吸特性。但是,有关泛菌属的腐殖质/Fe(III)呼吸特性的研究国内鲜见报道。本实验从古森林沉积物样品中分离到1株具有腐殖质/Fe(III)呼吸活性的成团泛菌MFG-3,研究了其电子供体利用谱,考察了它对4种铁氧化物的厌氧还原能力。

## 1 材料与方法

### 1.1 培养基组成

基础厌氧培养基(BAS),每L含NaHCO<sub>3</sub> 2.5 g, NH<sub>4</sub>Cl 0.25 g, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.6 g, KCl 0.1 g, 酵母浸提物0.2 g, 1% (体积分数) 维生素储备液及1% (体积分数) 微量元素储备液。富集培养基,在已灭菌的BAS中添加灭过菌的0.5 mmol·L<sup>-1</sup> AQDS作为微生物厌氧呼吸的电子受体和5 mmol·L<sup>-1</sup>葡萄糖作为电子供体。AQDS固体培养基,在富集培养基中添加1.8%琼脂粉,灭菌后分装于平板培养皿,备用。AQDS还原和铁氧化物还原实验所用培养基,在已灭菌的BAS培养基中添加5 mmol·L<sup>-1</sup>甲酸、乙酸、丙酸、柠檬酸、乳酸、乙醇、丙三醇、葡萄糖或蔗糖作为电子供体,25 mmol·L<sup>-1</sup>水铁矿(ferrihydrite)、针铁矿( $\alpha$ -FeOOH)、纤铁矿( $\gamma$ -FeOOH)、赤铁矿( $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)

或0.5 mmol·L<sup>-1</sup> AQDS作为电子受体。

腐殖质模式物蒽醌-2,6-二磺酸(Anthraquinone-2,6-disulphonate, AQDS)购自Sigma公司,为分析纯;铁氧化物的合成参见文献[17]。

### 1.2 样品来源及富集分离

样品采自广东省四会地下古森林沉积物[<sup>14</sup>C年龄为(3100±29) aB.P.]。将富集培养基分装于100 mL西林瓶中(每瓶45 mL),接种5 mL沉积物样品,充N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>(80/20,体积比)混合气30 min排氧,盖橡胶塞,并迅速压铝盖密封,静置于厌氧工作站30℃厌氧培养,观察体系颜色变化。当体系颜色逐渐变黄并趋于稳定时,以10%的接种量转接于另一新鲜的富集培养基中,如此转接3次。最后系列稀释后涂平板,30℃培养,5 d后培养基表面形成单菌落。根据菌落特征差异挑取单菌落于新鲜富集培养基中再次培养,以验证纯菌厌氧还原AQDS的能力,当体系颜色由无色变橙黄色表明菌株具有还原AQDS特性<sup>[16]</sup>。将纯化菌种斜面划线保存。

### 1.3 菌株的鉴定

参考《常见细菌系统鉴定手册》对菌株进行基本生理生化特征鉴定。使用BIOLÓG(GN2)微生物鉴定系统检测菌株在好氧条件下的碳源利用情况。取对数生长期新鲜菌液,4000 r/min离心收集菌体,用扫描电子显微镜观察细胞,并测定其大小。16S rDNA序列的测定参见文献[18],即用常规方法提取基因组DNA后,采用细菌通用引物F27和R1492进行PCR扩增菌株的16S rDNA,扩增后的产物进行直接测序,利用BLAST将所得序列与GenBank/EMBL/DBJ等数据库中已登录的序列进行同源性比较,采用Clustalx Version 1.83进行序列比对,采用MEGA Version 4.0软件,据邻接法构建系统发育树。

### 1.4 腐殖质/Fe(III)还原实验

菌悬液制备:将菌株接种于LB液体培养基中,30℃好氧培养18 h,4000 r/min离心收集菌体,再用BAS培养基洗涤菌体2次,最后将菌体悬浮于新鲜的BAS中,制成菌悬液,使其光密度达到0.13~0.15( $\lambda=600$  nm)。将1 mL菌悬液接种于AQDS/铁氧化物还原培养基中,培养条件同富集分离。以不加菌悬液和不加电子供体的体系作为对照,每个体系作3个重复,不同时间点取样测定各体系中还原产物总Fe(II)、或AQDS还原产物AHQDS、葡萄糖以及活菌数的变化<sup>[15,16,19]</sup>。采用平板稀释涂布直接计数法测定菌数变化。

## 2 结果与分析

经过定向富集、纯化,获得 1 株高效 AQDS 还原菌株(12 h 即可观察到 AQDS 溶液变色),命名为 MFG-3,作进一步鉴定和腐殖质/Fe(III)呼吸特性研究.

### 2.1 菌株 MFG-3 的鉴定结果

#### 2.1.1 菌体形态

MFG-3 菌株为革兰氏阴性杆菌,兼性厌氧,短杆状,大小为(0.5~1.0)  $\mu\text{m}$   $\times$  (1.0~3.0)  $\mu\text{m}$ ,单个或成对(图 1),周生鞭毛,具运动性.在牛肉膏蛋白胨琼脂固体培养基平板上好氧培养 24 h 后,菌落表面光滑,半透明,边缘整齐,菌落直径为 2.0~3.0 mm.



图 1 *P. agglomerans* MFG-3 的扫描电镜照片

Fig. 1 SEM of the strain MFG-3

#### 2.1.2 生理生化特征

MFG-3 能在 5~40  $^{\circ}\text{C}$  下生长,最适生长温度为 30  $^{\circ}\text{C}$ .生长 pH 范围为 5.5~8.0.其它生理生化特征

列于表 1. 根据形态和生理生化特征,初步鉴定该菌属于肠杆菌科泛菌属.

表 1 *P. agglomerans* MFG-3 的生理生化特征<sup>1)</sup>

Table 1 Phenotypic characteristics of the strain MFG-3

项目	结果	项目	结果
革兰染色	-	明胶液化	-
运动性	+	硫化氢试验	-
氧化酶	-	ONPG 测定	+
硝酸盐还原	+	吲哚试验	-
接触酶	+	苯丙氨酸脱氨酶	-
葡萄糖氧化发酵	产酸产气,发酵型	精氨酸双水解酶	-
甲基红试验	-	赖氨酸脱羧酶	+
V-P 测定	+		

1)“+”表示呈阳性,“-”表示呈阴性

#### 2.1.3 系统发育学分析

通过 PCR 扩增,得到菌株长为 1 410 bp 的 16S rDNA 的基因序列,采用 BLAST 将该序列与 GenBank 中已登录的基因序列进行相似性比对,结果发现与 MFG-3 同源性最高的菌株是肠杆菌科泛菌属的成团泛菌 *Pantoea agglomerans* strain WAB1951,同源性为 99%. 从比对结果中选择与菌株 MFG-3 同源性相近的 18 个菌种的 16S rDNA 做出系统进化树(图 2). 结果发现,所选菌株在系统进化树中分为 2 个类群,菌株 MFG-3 处于 *E. cloacae*/*E. asburiae* 类群之中,与 *P. agglomerans* strain WAB1951 亲缘关系最为接近. 综合菌株 MFG-3 的生理生化特征及分子生物学特性,确定该菌为成团泛菌,最终命名为 *Pantoea agglomerans* MFG-3.

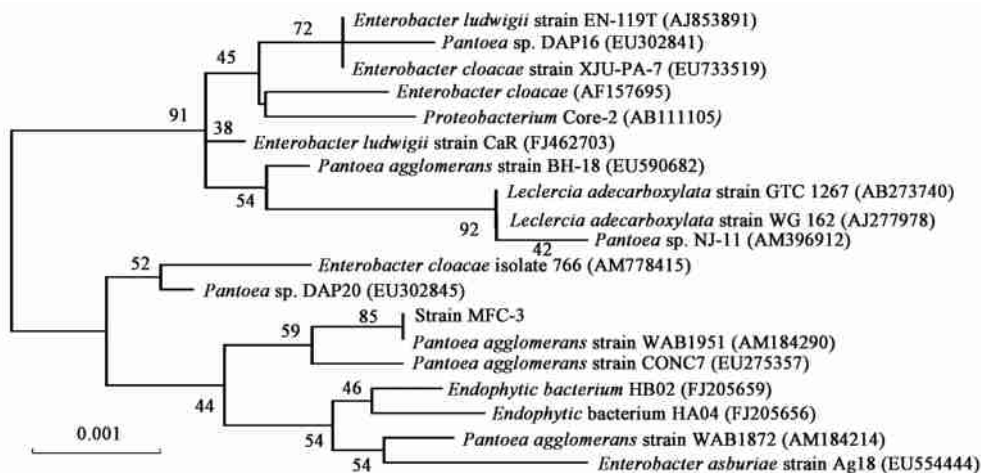


图 2 *P. agglomerans* MFG-3 的 16S rDNA 序列系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree including type of strain MFG-3 based on 16S rDNA

## 2.2 腐殖质呼吸特性

### 2.2.1 电子供体利用谱

分别以甲酸、乙酸、丙酸、柠檬酸、乳酸、乙醇、丙三醇、葡萄糖或蔗糖作为电子供体,考察菌株 MFG-3

对腐殖质模式物 AQDS 的厌氧还原活性. 图 3 显示, 以甲酸、丙三醇、乳酸作为电子供体时, 24 h 内菌株对 AQDS 几乎没有还原, 但 24 h 后 AQDS 还原启动并加速, 60 h 时还原率可达 30% 左右; 而以蔗糖和葡萄糖作为电子供体时, 12 h 时即有还原现象发生, 还原速率都较快, 60 h 时 AQDS 还原率分别可达 77% 与 66%. 未加菌体的对照体系中, 仅葡萄糖和

蔗糖对 AQDS 有少量还原, 低于  $0.04 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 未加电子供体的对照体系, AQDS 几乎没有还原. 以上结果表明, 菌株 MFG-3 能利用蔗糖、葡萄糖、柠檬酸、丙三醇、乳酸、甲酸为电子供体, 还原 AQDS, 且还原能力由大到小为蔗糖 > 葡萄糖 > 柠檬酸 > 乳酸 > 丙三醇 > 甲酸, 但乙酸、丙酸、乙醇不能作为有效的电子供体支持菌株还原 AQDS(数据未列出).

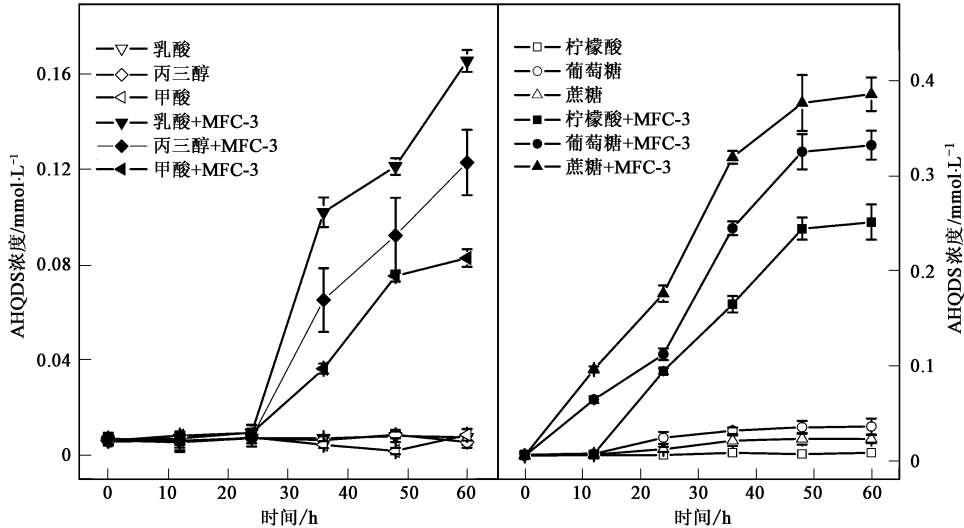


图 3 不同电子供体下 MFG-3 对 AQDS 的还原动态

Fig. 3 Reduction of AQDS by the strain MFG-3 with different organic substances as electron donors under anaerobic condition

## 2.2.2 以 AQDS 为唯一电子受体的菌株生长

厌氧条件下, 以葡萄糖作为电子供体, 研究了菌株 MFG-3 能否在还原 AQDS 的同时进行生长增殖. 结果显示(图 4), 随着 AQDS 的还原和葡萄糖的消耗, 在 10 h 内菌株数量就表现出明显的增长, 在后续的培养时间, 菌数不断增加, 50~60 h 基本趋于稳定, 达到  $7 \times 10^7$ , 增长近 7 倍. 而未加葡萄糖的对照体系 AQDS/MFG-3 中, 菌体没有明显的生长现象. 表明 MFG-3 在 AQDS 的还原过程中能够产生能量支持菌体增殖, 这一过程属于微生物厌氧呼吸代谢形式, 菌株具有腐殖质呼吸活性.

## 2.3 铁氧化物还原活性

研究了菌株 MFG-3 对 4 种铁氧化物 (ferrihydrite,  $\gamma\text{-FeOOH}$ ,  $\alpha\text{-FeOOH}$ ,  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ ) 的厌氧还原特性, 添加葡萄糖作为电子供体. 图 5 显示, 在以 4 种 Fe(III) 氧化物为电子受体的反应体系中, 还原产物 Fe(II) 浓度随时间不断增加. 25d 时, 分别有 2.5、2.1、2.3、0.8 mmol/L 的 ferrihydrite、 $\alpha\text{-FeOOH}$ 、 $\gamma\text{-FeOOH}$ 、 $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$  被微生物还原, 而不加菌的对照体系中只有少量 Fe(III) 被还原, 不加电子供体的对照体系中几乎没有 Fe(II) 生成. 以上结果表明, 菌株

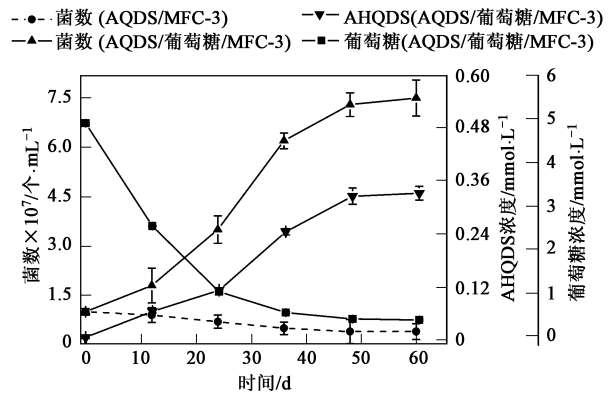


图 4 以葡萄糖作为电子供体, AQDS 作为电子受体时, 菌株 MFG-3 的生长曲线

Fig. 4 Growth of MFG-3 with AQDS as the sole terminal electron acceptor and glucose as the electron donor

MFG-3 能以 4 种铁氧化物为电子受体进行厌氧代谢, 且还原溶解速率顺序为: ferrihydrite >  $\gamma\text{-FeOOH}$  >  $\alpha\text{-FeOOH}$  >  $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ . Fe(III) 生物还原受多种因素影响, 包括碳源的种类和含量、菌体的生长状态、铁矿物的理化性质<sup>[20]</sup>. 其中, Fe(III) 氧化物的晶型结构、比表面积等物理性质被认为是影响还原速率

的主要因素<sup>[20-22]</sup>, 一般来说, 结晶度越好, 比表面积越小, 越难被微生物还原. 本实验结果符合这一规律: ferrihydrite 结晶度差, 比表面积大, 最易被还原;

$\alpha$ -FeOOH和 $\gamma$ -FeOOH 的比表面积相近, 还原速率也相近;  $\alpha$ -Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> 比表面积最小(29.4 m<sup>2</sup>·g<sup>-1</sup>), 相应最难被还原.

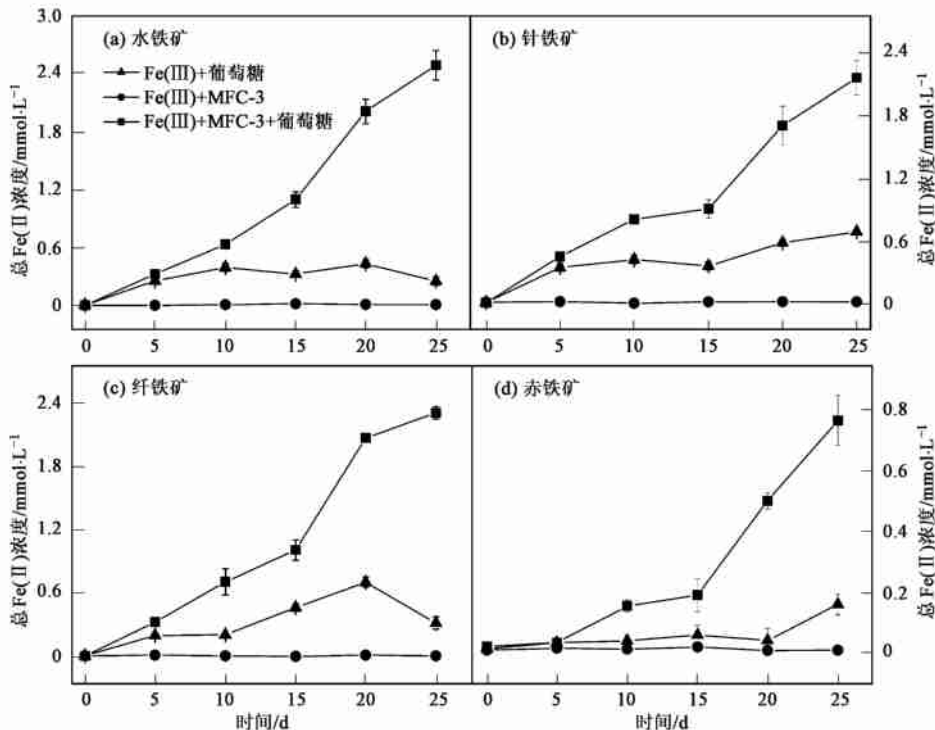


图 5 以葡萄糖为电子供体时, 菌株 MFC-3 对 4 种铁氧化物的还原动态

Fig. 5 Reduction of iron oxides by the strain MFC-3 with glucose as the electron donor under anaerobic condition

### 3 讨论

腐殖质/Fe(III)呼吸作为新的呼吸代谢模式, 是厌氧环境中一种重要的电子转移途径, 具有重要的环境学意义与应用价值<sup>[23]</sup>. 腐殖质/Fe(III)还原(呼吸)条件下的污染物原位生物修复已成为国际热门领域<sup>[2, 10, 15]</sup>. 腐殖质/Fe(III)还原菌驱动的有机物矿化与污染物降解过程为<sup>[2, 3, 9]</sup>: 还原菌在腐殖质/Fe(III)呼吸作用中氧化电子供体(即有机物矿化),

将电子传递给 HS<sub>ox</sub>, HS<sub>ox</sub> 得到电子被还原, 还原态的 HS<sub>red</sub> 又将电子传递给 Fe(III) 氧化物同时氧化再生成 HS<sub>ox</sub>, Fe(III) 氧化物接受电子后转化成吸附态 Fe(II), 吸附态 Fe(II) 最后将电子传递给可还原污染物[有机氯、偶氮污染、硝基苯类、Cr(VI)等], 如此循环往复, 即使低浓度的腐殖质或 Fe(III) 也可以发挥重要的作用. 在这一胞外电子传递过程中, 腐殖质/Fe(III)还原菌是核心驱动力, 而腐殖质与 Fe(III) 是电子穿梭体, 它们协同促进作为电子供体的有机

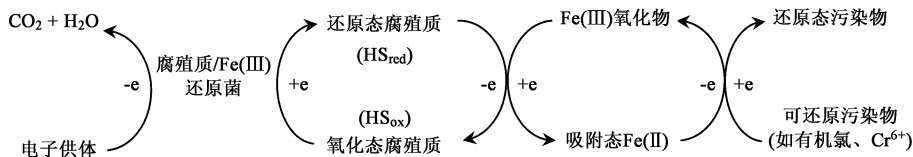


图 6 腐殖质/Fe(III)还原菌驱动的污染物原位生物修复

Fig. 6 *In situ* bioremediation driven by humics- and Fe(III)-reducing bacteria

物矿化与作为末端电子受体的污染物降解.

腐殖质/Fe(III)还原菌在厌氧环境中普遍存在性已被大量研究所证实<sup>[7,8]</sup>. 腐殖质/Fe(III)还原菌

分为兼性厌氧和严格厌氧, 常用的电子供体类型有:

- ①甲酸、乙酸、丙酸、乳酸等有机酸;
- ②葡萄糖、蔗糖等碳水化合物;
- ③苯、甲苯、苯酚、苯甲酸等芳香族化

合物。腐殖质/Fe(III)还原菌能氧化上述电子受体,使其彻底矿化成 $\text{CO}_2$ 和 $\text{H}_2\text{O}$ <sup>[4,9]</sup>。从应用角度来说,兼性厌氧、电子供体利用谱广泛的菌株,易于扩大生产、存活适应性强,因而更具应用潜力。本研究获得的成团泛菌MFG-3菌株即具备这一优势,它既可以利用短链有机酸,如甲酸、乳酸、柠檬酸,又可利用葡萄糖和蔗糖等碳水化合物进行腐殖质/Fe(II)呼吸。而且,由于它属兼性厌氧菌,本课题组已利用传统的深层好氧发酵法扩大培养,然后与腐殖质或者Fe(II)氧化物复配,制备成复合微生物菌剂<sup>[24,25]</sup>,用于有机氯污染土壤的原位生物修复。

#### 4 结论

(1) 从古森林沉积物中分离到1株腐殖质/Fe(III)还原菌MFG-3,经生理生化鉴定和16S rDNA序列分析,确定为成团泛菌*Pantoea agglomerans* MFG-3。

(2) MFG-3菌株具有腐殖质还原活性,能够以腐殖质模式物AQDS为唯一电子受体进行厌氧胞外呼吸,可利用的电子供体有:甲酸、乳酸、丙三醇、柠檬酸、葡萄糖和蔗糖,但乙酸、丙酸和乙醇不能作为其电子供体。

(3) MFG-3菌株能以多种Fe(III)氧化物为电子受体进行厌氧呼吸,4种Fe(III)氧化物的还原溶解速率顺序为:水铁矿(ferrihydrite) > 纤铁矿( $\gamma\text{-FeOOH}$ ) > 针铁矿( $\alpha\text{-FeOOH}$ ) > 赤铁矿( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ )。

(4) MFG-3菌株兼性厌氧、腐殖质/Fe(III)还原能力较强、电子供体利用谱较宽,是1株适宜的腐殖质/Fe(III)还原模式菌株。

#### 参考文献:

- [1] Lovley D R. Organic matter mineralization with the reduction of ferric iron: A review [J]. *Geomicrobiol J*, 1987, **5**(3-4): 375-399.
- [2] Weber K A, Achenbach L A, Coates J D. Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction [J]. *Nat Rev Micro*, 2006, **4**(10): 752-764.
- [3] Lovley D R, Coates J D, Blunt-harris E L, *et al.* Humic substances as electron acceptors for microbial respiration [J]. *Nature*, 1996, **382**: 445-448.
- [4] Lovley D R, Holmes D E, Nevin K P. Dissimilatory Fe(III) and Mn(IV) reduction [J]. *Adv Microb Physiol*, 2004, **49**: 219-286.
- [5] Lovley D R, Phillips E J P, Gorby Y A, *et al.* Microbial reduction of uranium [J]. *Nature*, 1991, **350**: 413-416.
- [6] Galnick J A, Newman D K. Extracellular respiration [J]. *Molecular Microbiology*, 2007, **65**(1): 1-11.
- [7] Coates J D, Cole K A, Chakraborty R, *et al.* Diversity and ubiquity of bacteria capable of utilizing humic substances as electron donors for anaerobic respiration [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**(5): 2445-2452.
- [8] Jiang J, Kappler R. Kinetics of microbial and chemical reduction of humic substances: Implications for electron shuttling [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**(10): 3563-3569.
- [9] Van Trump J I, Sun Y, Coates J D. Microbial interactions with humic substances [J]. *Adv Appl Microbiol*, 2006, **60**: 55-96.
- [10] Fredrickson J K, Gorby Y A. Environmental processes mediated by iron-reducing bacteria [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 1996, **7**(3): 287-294.
- [11] Benz M, Schink B, Brune A. Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting bacteria [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64**(11): 4507-4512.
- [12] Luijten M L, Weelink S A, Godschalk B, *et al.* Anaerobic reduction and oxidation of quinone moieties and the reduction of oxidized metals by halorespiring and related organisms [J]. *FEMS Microbiol Eco*, 2004, **49**(1): 145-150.
- [13] O'Loughlin E J. Effects of electron transfer mediators on the bioreduction of lepidocrocite by *Shewanella putrefaciens* CN32 [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**(18): 6876-6882.
- [14] Wrighton K C, Agho P, Wamecke F, *et al.* A novel ecological role of the Firmicutes identified in thermophilic microbial fuel cells [J]. *ISME J*, 2008, **2**(11): 1146-1156.
- [15] Li X M, Zhou S G, Li F B, *et al.* Fe(III) oxide reduction and carbon tetrachloride dechlorination by a newly isolated *Klebsiella pneumoniae* strain L17 [J]. *J Appl Microbiol*, 2009, **106**(1): 139-139.
- [16] Wang Y B, Wu C Y, Wang X J, *et al.* The role of humic substances in the anaerobic reductive dechlorination of 2,4-D by *Comamonas koreensis* strain CY01 [J]. *J Hazard Mater*, 2009, **164**(2-3): 941-947.
- [17] Li F B, Li X Z, Li X M, *et al.* Heterogeneous photodegradation of bisphenol A with iron oxides and oxalate in aqueous solution [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2007, **311**(2): 481-490.
- [18] Chang Y H, Han J I, Chun J, *et al.* *Comamonas koreensis* sp. nov., a non-motile species from wetland in Woopo, Korea [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2002, **52**(2): 377-381.
- [19] Hong Y G, Guo J, Xu Z C, *et al.* Humic substances act as electron acceptor and redox mediator for microbial dissimilatory azoreduction by *Shewanella decoloratioris* S12 [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2007, **17**(3): 428-437.
- [20] Zachara J M, Fredrickson J K, Li S M, *et al.* Bacterial reduction of crystalline  $\text{Fe}^{3+}$  oxides in single phase suspensions and subsurface materials [J]. *Am Mineral*, 1998, **83**(11-12): 1426-1443.
- [21] Liu C, Kota S, Zachara J M, *et al.* Kinetic analysis of the bacterial reduction of goethite [J]. *Environ Sci Technol*, 2001, **35**(12): 2482-2490.
- [22] Roden E E. Fe(III) oxide reactivity toward biological versus chemical reduction [J]. *Environ Sci Technol*, 2003, **37**(7): 1319-1324.
- [23] 武春媛, 李芳柏, 周顺桂. 腐殖质呼吸作用及其生态学意义 [J]. *生态学报*, 2009, **29**(3): 1535-1542.
- [24] 李芳柏, 周顺桂, 李晓敏, 等. 一种可加速有机氯降解的铁还原菌——矿物复合菌剂及其制备方法 [P]. 中国发明专利, CN 101096646A: 2008-01-02.
- [25] 周顺桂, 武春媛, 王跃强, 等. 一株成团泛菌及其应用 [P]. 中国发明专利, 申请号: 200810198452, 2008-09-08.