



有机卤呼吸微生物菌群营养交互的作用机制

李晓翠, 李秀颖, 宋玉芳, 严俊*, 杨毅*

1 中国科学院沈阳应用生态研究所, 污染生态与环境工程重点实验室, 辽宁 沈阳 110016

2 中国科学院大学, 北京 100049

李晓翠, 李秀颖, 宋玉芳, 严俊, 杨毅. 有机卤呼吸微生物菌群营养交互的作用机制. 微生物学报, 2022, 62(6): 2226–2248.

Li Xiaocui, Li Xiuying, Song Yufang, Yan Jun, Yang Yi. Mechanisms of metabolic interactions in microbial communities harboring organohalide-respiring bacteria. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2226–2248.

摘 要: 有机卤呼吸细菌(organohalide-respiring bacteria, OHRB)是污染场地土壤与地下水中厌氧降解及生物修复有机卤代污染物的主力军。微生物种群间的资源竞争、生长抑制、代谢交叉喂养(cross feeding, 即营养的动态交换, 包括碳源、氮源、氨基酸、维生素、核苷酸、电子供体、电子受体和其他生长因子等)、水平基因转移及其他交互作用机制是群落结构稳定平衡的基础, 有利于促进有机卤代污染物消减效率的最大化。本文围绕 OHRB 种群及与其他微生物种群间的互作机制(如交叉喂养机制、竞争机制及抑制机制等)进行了概述, 并对未来互作机制的研究进行了探讨与展望, 旨在为有机卤代物污染场地生物修复效率的提高提供科学理论和技术参考依据。

关键词: 有机卤呼吸细菌; 还原脱卤; 互作; 交叉喂养; 竞争; 微生物群落

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFC1804400); 国家自然科学基金(42177220, 41977295, 41907287); 中国科学院前沿科学重点研究计划(ZDBS-LY-DQC038)

Supported by the National Key Research and Development Program of China (2019YFC1804400), by the National Natural Science Foundation of China (42177220, 41977295, 41907287) and by the Frontier Science Key Research Project of the CAS (ZDBS-LY-DQC038)

*Corresponding authors. E-mail: YANG Yi, yangyi@iae.ac.cn; YAN Jun, junyan@iae.ac.cn

Received: 24 March 2022; Revised: 9 May 2022; Published online: 18 May 2022

Mechanisms of metabolic interactions in microbial communities harboring organohalide-respiring bacteria

LI Xiaocui, LI Xiuying, SONG Yufang, YAN Jun*, YANG Yi*

1 Key Laboratory of Pollution Ecology and Environment Engineering, Institute of Applied Ecology, Chinese Academy of Sciences, Shenyang 110016, Liaoning, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

Abstract: Organohalide-respiring bacteria (OHRB) are key players involved in the bioremediation of the soil and groundwater contaminated with halogenated compounds. Substrate competition, growth inhibition, cross-feeding interaction (dynamic exchange of nutrients, such as carbon source, nitrogen source, amino acids, vitamins, nucleotides, electron donors, electron acceptors, and other growth factors), horizontal gene transfer, and other interaction mechanisms are contributing to the stability and balance of microbial community structure, which is critical to maintaining the optimal dechlorination efficiency of halogenated contaminants. This review summarized the interaction mechanisms (e.g., cross-feeding, competition, inhibition) in microbial communities harboring OHRB and non-dechlorinating populations. In addition, we highlighted and discussed key scientific questions arising from the current state of OHRB-driven microbial ecology. This review aimed to provide scientific theory and technical reference for enhanced bioremediation at halogenated compounds-contaminated sites.

Keywords: organohalide-respiring bacteria; reductive dehalogenation; interaction; cross-feeding; competition; microbial communities

原始自然环境中, 有机卤代物是卤素生物地球化学循环的重要组成部分, 由生物有机体(如细菌、真菌和植物)、生物量燃烧、火山活动和其他地热过程等形成^[1-2]。缺氧条件下, 有机卤呼吸微生物依靠有机卤代物的自主“呼吸”是其在漫长而古老的进化过程中衍生出来的一种能量代谢和生存方式。随着现代社会工农业的迅猛发展, 化学工业过程中三废(废水、废渣和废气)的大量排放和不合理处置, 导致陆地、海洋及地下深部(如地下水和深层污泥)等环境中有机卤代物污染日益严重。这些有机卤代物随后通过食物网的生物积累和生物放大作用对人类健康和生态系统功能产生不同程度的潜在风险危害^[3-4]。传统的物理和化学修复法成本高且可能造成环境的二次污染。相比较之下, 生物

修复技术由于其经济、绿色和环境友好等特点成为了污染场地中消减有机卤代污染物的优选方案之一。

由于许多受有机卤代物污染的含水层、沉积层等属于厌氧、缺氧环境, 因此厌氧条件下的微生物还原脱卤过程显得尤为重要。然而, 有机卤代物的脱卤一直以来都是个难题, 在好氧条件下难以进行, 在厌氧条件下更是在相当长的一段时间内被认为不可能发生。直至 1990 年, 第一株可厌氧降解有机卤代物的菌株 *Desulfomonile tiedjei* DCB-1^[5]被发现与分离, 这一“魔咒”才被打破。基于 *Desulfomonile tiedjei* 的研究也颠覆了人们对有机卤代物的脱卤机制主要依靠共代谢作用的片面认识。随后, 又有脱卤拟球菌属 (*Dehalococcoides*)^[6-7]、脱亚硫酸菌属

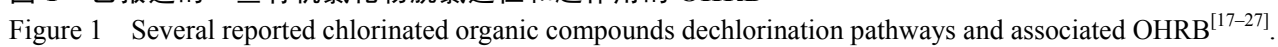
(*Desulfitobacterium*)^[8]、硫化螺旋菌属(*Sulfurospirillum*)^[9]、脱卤杆菌属(*Dehalobacter*)^[10]、脱卤单胞菌属(*Dehalogenimonas*)^[11-12]、地杆菌属(*Geobacter*)^[13]等脱卤细菌被陆续报道。这类脱卤细菌的共同特点是可以利用有机卤代物作为电子受体, H₂或甲酸、乙酸等小分子有机酸作为电子供体, 通过电子传递进行还原脱卤反应(氢原子取代卤素基团)并获得生长所需的能量。这一过程被称为“有机卤呼吸”(organohalide respiration, OHR), 参与此过程的脱卤细菌又被称为有机卤呼吸细菌(organohalide-respiring bacteria, OHRB)。还原性脱卤酶(reductive dehalogenases, RDases)作为有机卤呼吸的末端电子受体还原酶, 在脱卤过程中起着关键作用^[14-16]。不同OHRB所拥有的还原脱卤酶的功能、数量和序列相似度等存在着差异, 从而导致不同OHRB参与不同有机卤代物的脱卤过程。图1总结了常见氯代脂肪族和芳香族有机氯代物的主要脱氯途径和相关OHRB^[17-27]。

从分类上看, OHRB分为专性OHRB和兼性OHRB, 主要是依据OHRB是否以有机卤呼吸作为唯一的能量代谢方式^[28]。专性OHRB的特点是, 它们只能利用有机卤代物作为电子受体, 氢气(H₂)作为电子供体(*Dehalobacter* sp. TCA1和*Dehalogenimonas*例外, 还可利用甲酸作电子供体), 如绿弯菌门中的*Dehalogenimonas*、*Dehalococcoides*和“*Candidatus Dehalobium*”以及厚壁菌门的*Dehalobacter*均属于专性OHRB。兼性OHRB的特点是具有多条呼吸电子传递链, 可利用多种电子受体和电子供体维持自身的生长与能量代谢(例如*Geobacter*、*Sulfurospirillum*等)。

基于16S rRNA基因系统进化分析, 发现OHRB主要分布于3个门14个属中(图2)。值得注意的是专性OHRB的*Dehalogenimonas*与

*Dehalococcoides*亲缘关系较近, 同属脱卤球菌纲(*Dehalococcoidia*)^[6,29]。此外, *Dehalogenimonas*与*Dehalococcoides*基因组高度精简, 缺失一些代谢途径中的关键基因, 导致二者均为营养(例如钴胺素)缺陷型微生物。因此, 在含*Dehalogenimonas*或*Dehalococcoides*的有机卤代物脱卤菌群中, 二者需要与群落中其他微生物(兼性OHRB或非脱卤微生物)形成共代谢网络, 从其他微生物获取钴胺素、碳源和电子供体等营养物质支持自身有机卤呼吸的能量代谢。研究表明, 相比*Dehalococcoides*的纯培养物, 包含*Dehalococcoides*与发酵菌、产乙酸菌或产甲烷菌的脱氯微生物群落具有更高的生长速率和脱氯速率^[30-39]。例如, 基于共培养和宏基因组学的研究发现, *Desulfovibrio*和*Methanosarcina*可以分别为*Dehalococcoides*提供碳源(乙酸)和电子供体(H₂)来支持*Dehalococcoides*进行三氯乙烯(trichloroethylene, TCE)还原脱氯; 相比*Dehalococcoides*纯培养, 三者共培养的脱氯速率明显较快^[35]。

微生物群落并不是微生物个体的简单聚集, 而是微生物菌种之间通过多种方式的相互作用形成的复杂网络生态系统, 包括资源竞争、生长抑制、交叉喂养(代谢物的转移和消耗)、群体感应和基因水平转移等机制。例如, H₂是微生物群落中重要的一种通用电子载体, 它通常由小分子有机酸发酵生成, 然后被氢型(hydrogenotroph)原核生物利用。当微生物群落中的氢分压累积较高时, 产氢微生物(如发酵细菌)自身生长会受到抑制, 这时, 氢型细菌(硫酸还原菌、硝酸还原菌、OHRB等)对H₂的消耗会将氢分压维持在相对较低的水平, 从而促使产氢反应顺利进行。因此, 在微生物群落中, 氢型细菌和产氢细菌在生理上相互依赖^[40-41]。例如, 共培养实验发现, 发酵乳酸的脱硫弧菌(*Desulfovibrio*



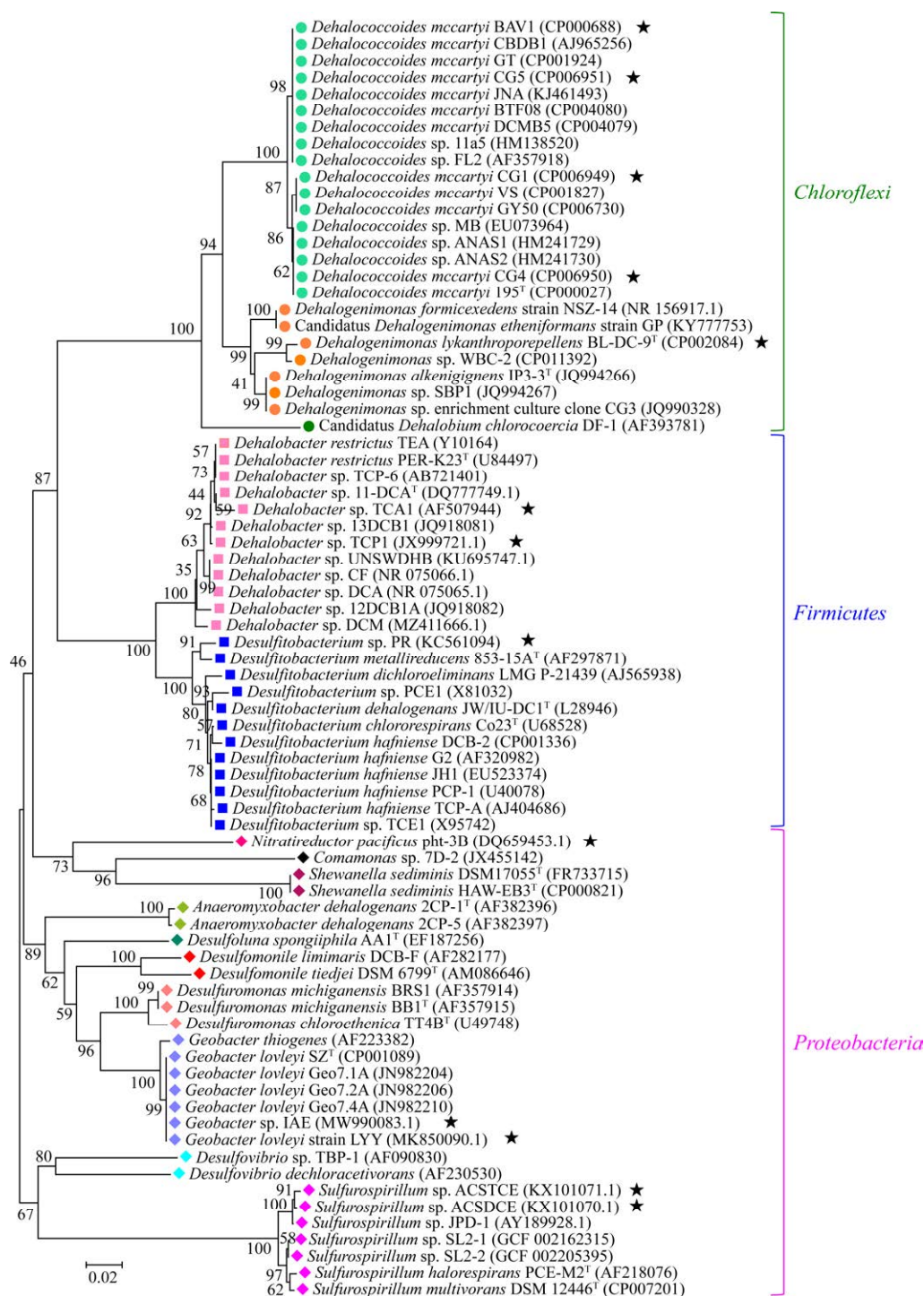


图 2 基于 16S rRNA 基因序列的 OHRB 系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of OHRB based on 16S rRNA gene sequences from phyla *Firmicutes*, *Chloroflexi* and *Proteobacteria*. ★ indicate the OHRB isolated by Chinese researchers. Of note, *Nitratireductor pacificus* pht-3B isolated by Lai et al.^[42] contains a non-respiratory RDase (*RdhA_{NP}*) catalyzing the dehalogenation of *ortho*-halogenated phenolic compounds through the formation of a cobalamin-halide complex via oxidative addition to the Co ion, a mechanism different from characterized respiratory RDases^[43].

desulfuricans)和还原 TCE 的 *Dehalococcoides* 之间存在着种间 H_2 转移^[44]。另外,以 *Dehalococcoides* 参与四氯乙烯(tetrachloroethene, PCE)还原脱氯为例,在含有 *Dehalococcoides* 的微生物群落中,发酵细菌与 *Dehalococcoides* 之间的 H_2 转移互作促进了四氯乙烯被完全还原至无毒乙烯(ethene)^[26,45-47]。一些发酵细菌除了产氢,还可利用乳酸或丁酸发酵产生乙酸和钴胺素(例如维生素 B_{12})等营养物质供给 OHRB 生长^[30,33,35]。例如,产乙酸菌 *Sporomusa ovata* 和脱硫弧菌(*Desulfovibrio*)可以产生不同类型的钴胺素供给 *Dehalococcoides* 脱氯^[48-49]。但并不是所有产钴胺素微生物均能支持脱氯微生物的生长。例如,*Methanosarcina barkeri* 菌株 Fusaro、*Sporomusa ovata* 和 *Sporomusa* sp.菌株 KB-1 所产生的特定类型的钴胺素不能支持 *Dehalococcoides* 脱氯,它们需要在外加二甲基苯并咪唑(dimethyl benzimidazole, DMB)条件下对其加以修饰,合成 *Dehalococcoides* 脱氯所能利用的钴胺素^[38]。

近年来,关于有机卤呼吸微生物菌群营养交互作用机制的研究不断增多,为揭示微生物互作及生态机制提供了很多新见解。本文围绕 OHRB,从微生物间的交叉喂养、竞争、抑制、水平基因转移和互作研究方法等方面,概述 OHRB 间和 OHRB 与其他微生物间的互作机制,从而为开发更为有效的有机卤污染场地生物修复技术提供科学依据和理论参考。

1 OHRB 之间的交互作用机制

在自然环境中,许多兼性 OHRB 的共同特点是具有多条呼吸电子传递链和多样化的能量代谢模式^[13,50-53]。如厚壁菌门(*Firmicutes*)的 *Desulfitobacterium*、变形菌门(*Proteobacteria*)的 *Geobacter*、*Sulfurospirillum*、*Desulfuromonas*、*Desulfoluna* 和厌氧粘细菌(*Anaeromyxobacter*)

等均有着多样化的代谢特征和生态位。脱氯微生物 *Sulfurospirillum multivorans* 菌株 DSM 12446^T 可以通过脱氢酶、丙酮酸氧化酶、NADH 脱氢酶(Nuo)等氧化还原酶,分别从多种电子供体(如 H_2 、甲酸、丙酮酸或 NADH)中获得电子来支持有机卤呼吸能量代谢,同时将 PCE 还原为顺式二氯乙烯(*cis*-dichloroethene, cDCE)^[50,54-55]。*Desulfitobacterium hafniense* 菌株 DCB-2 除了能够利用 PCE 和氯苯酚类化合物进行有机卤呼吸外,还可以利用其他电子受体,包括硝酸盐、亚硫酸盐、磺酸盐、硫代硫酸盐、富马酸盐、Fe(III)和 Mn(IV)等,同时可耦合多种电子供体(如 H_2 、甲酸、乳酸、丙酮酸等)来获取能量^[56]。相比较之下,专性有机卤呼吸细菌 *Dehalogenimonas* 与 *Dehalococcoides* 具有相似的代谢特性,且同属营养缺陷型微生物。已有研究表明,一些具有多样化能量代谢模式的兼性 OHRB 可为营养缺陷的专性 OHRB 提供其能量代谢和生长所必需的碳源、电子供体和钴胺素等营养因子,它们之间可能存在某种依赖底物的相互作用,包括交叉喂养、抑制和竞争等。

1.1 不同 OHRB 之间的交叉喂养机制

营养交叉喂养是指一种细菌所分泌的产物被另一种细菌利用和分解代谢。这是微生物群落中广泛存在的一种现象,影响到微生物群落组成、结构、进化、毒力和抗生素敏感性等。例如,寡营养环境可以促进物种间的合作交叉喂养,从而提高群落的稳定性^[57]。微生物菌群中交叉喂养机制已有不少研究报道^[57-59],但是有机卤呼吸微生物菌群中同时存在的专性和兼性 OHRB 之间的交叉喂养代谢物类型(碳源、电子受体、电子供体、生长因子等)及代谢物转移机制研究相对较少。

事实上,专性和兼性 OHRB 的共存和相互作用往往会为微生物群落提供功能冗余和群落

稳定性,同时确保了有机卤污染物的逐步无毒转化和更快的脱卤速率^[60-62]。多项研究表明,*Dehalococcoides*可与其他一些 OHRB 基于有机卤电子受体而共存相互作用,实现有机卤污染物的彻底脱氯和无毒化。例如,兼性 *Desulfitobacterium* 和专性 *Dehalococcoides*^[61,63-64]、兼性 *Geobacter* 和专性 *Dehalococcoides*^[65-66]、兼性 *Sulfurospirillum* 和专性 *Dehalococcoides*^[67-68] 等组合均可彻底还原氯乙烯类化合物[如 PCE、*c*DCE 或一氯乙烯(vinyl chloride, VC)等]至无毒害的乙烯;专性 *Dehalococcoides* 和专性 *Dehalobacter* 组合还可还原 1,2-二氯乙烷(1,2-dichloroethane, 1,2-DCE)和 1,1,2-三氯乙烷(1,1,2-trichloroethane, 1,1,2-TCE)至乙烯^[69-70];专性 *Dehalogenimonas* 和专性 *Dehalobacter*^[25] 组合可将 1,2,4-三氯苯(1,2,4-trichlorobenzene, TCB)还原脱氯至苯。此外,来自于 3 个不同属的 OHRB 共存也有助于有机卤污染物的还原脱卤。例如,*Dehalococcoides*、*Desulfuromonas* 和 *Desulfitobacterium* 组合^[71]可将 1,2,3-三氯二苯并-对-二恶英(1,2,3-trichlorodibenzo-*p*-dioxin, TrCDD)、PCE 和 1,2,3-三氯苯(1,2,3-trichlorobenzene, TCB)分别还原至 2-氯二苯并-对-二恶英(2-momochlorodibenzo-*p*-dioxin, 2-MCDD)、*c*DCE 或反式二氯乙烯(*trans*-dichloroethene, *t*DCE)和 1,3-二氯苯(1,3-dichlorobenzene, 1,3-DCB);*Dehalogenimonas*、*Dehalobacter* 和 *Dehalococcoides* 组合可将 1,1,2,2-四氯乙烷(1,1,2,2-tetrachloroethane, TeCA)还原脱氯至乙烯^[72]; *Dehalococcoides*、*Dehalobacter* 和 *Desulfitobacterium* 组合可将六氯苯(hexachlorobenzene, HCB)还原脱氯,生成的产物为二氯苯(dichlorobenzene, DCB)或一氯苯(monochlorobenzene, MCB)^[73]。同一个属内的不同 OHRB 组合也有益于含氯烯烃和烷

烃^[46,65,69,74-78]、氯苯^[79-80]及多氯联苯^[81-82]等污染物的还原脱氯。例如,可厌氧还原氯苯的富集培养微生物群落中包含了 *Dehalobacter* 属的多个不同菌株^[80],研究发现二氯苯的 3 种同分异构体 1,2-DCB、1,3-DCB 和 1,4-DCB 分别由 *Dehalobacter* 的 3 个不同菌株负责脱氯,生成的产物 MCB 由另一个 *Dehalobacter* 菌株继续脱氯生成苯。同样,在 ACT-3 富集培养菌群还原氯仿(chloroform, CF)、1,1,1-三氯乙烷(1,1,1-trichloroethane, 1,1,1-TCA)和 1,1-二氯乙烷(1,1-dichloroethane, 1,1-DCE)复合污染物的过程中,CF 和 1,1,1-TCA 的脱氯由同一 *Dehalobacter* 菌株完成,而 1,1-DCE 的脱氯则由另一株具有不同功能的 *Dehalobacter* 菌株来完成^[77]。以上研究表明,多种 OHRB 的协同互作可实现有机卤代物的逐步脱卤过程,进而达到有机卤污染物彻底脱卤转化和无害化的目的。

专性与兼性 OHRB 不仅在电子受体利用上存在互作关系,使有机卤代物的脱卤转化更为彻底,还可通过彼此之间为对方提供必要的营养物质支持生长来形成交叉喂养的互作机制。某些兼性 OHRB 能为专性 OHRB 提供必要的营养物质,这主要通过自身的生物合成功能(例如,钴胺素合成)和分解代谢功能(例如,乳酸转化为乙酸)来实现。例如,兼性 OHRB 的硫磺单胞菌 *Sulfurospirillum multivorans* 不仅可以将 PCE 还原脱氯至 *c*DCE,还可以通过自身完整的钴胺素合成路径合成钴胺素^[83-85];另外,在无电子受体(例如 PCE)存在的条件下,硫磺单胞菌 *Sulfurospirillum multivorans* 可以发酵丙酮酸或乳酸产生乙酸和 H₂^[50]。基于此,研究人员成功构建了 *S. multivorans* 与 *Dehalococcoides mccartyi* 195/BTF08 的共培养体系:以乳酸作为电子供体,PCE 作为电子受体,二者通过协同互作将 PCE 还原为乙烯,其脱氯速率较纯培养

条件至少快了 3 倍; 其中, *S. multivorans* 利用乳酸作电子供体和碳源将 PCE 脱氯至 *c*DCE, 并将乳酸发酵产生的乙酸和 H_2 分别作为碳源和电子供体供给 *Dehalococcoides mccartyi* 195/BTF08 进行 *c*DCE 至乙烯的还原脱氯。同时, 观察发现 *S. multivorans* 与 *Dehalococcoides* 形成的一种团聚体将它们紧密地联系在一起^[86]。

近期, 中山大学汪善全研究团队从一个 *Dehalococcoides* 占优势的 PCB/PCE 脱氯微生物群落中分离出一株兼性 OHRB—*Geobacter lovleyi* 菌株 LYY^[87]。通过进一步生理生化测试、基因组测序和共培养等一系列实验, 揭示了 *Dehalococcoides* 和 *Geobacter* 2 株脱氯菌之间存在 3 种互作机制。其中之一即是交叉喂养互作机制, 即在添加丙酸和多氯联苯的培养基中, 供体菌株利用丙酸产生电子和碳源供给受体菌株进行多氯联苯脱氯(图 3)。由此推测, 类似以上 *Geobacter* 与 *Dehalococcoides*、*S. multivorans* 与 *Dehalococcoides* 之间的交叉喂养互作关系在自然界中可能广泛存在。一些兼性 OHRB 可能通过其多样的能量代谢模式为专性 OHRB 提供脱卤所必需的营养物质(碳源、电子供体、生长因子等), 同时代谢产物的消耗又可促进兼性

OHRB 自身的生长和代谢, 或者二者的某些中间代谢产物供彼此相互利用, 这些我们尚未可知, 更明确的交叉喂养机制亟待深入探索和解析。

1.2 OHRB 之间的相互竞争机制

OHRB 之间的相互作用关系可能建立在竞争的基础上^[60,62,88]。一些学者基于莫诺特动力学(Monod kinetic-based models)模型探究了不同 OHRB 属之间的竞争关系^[88-90]。Becker 和 Seagren^[90]的研究发现 *Dehalococcoides* 和 *Desulfuromonas michiganensis* 在对电子受体 PCE 的竞争过程中会出现生物活性增强的现象, 从而促进细胞生长、PCE 的溶解和还原转化, 最终实现 PCE 完全脱氯及无害化。研究还发现, 在地下水流速较低时, OHRB 之间的相互竞争具有更好的生物活性增强潜力。Chen 等^[91]以 *Geobacter* 和 *Dehalococcoides* 作为模型有机卤呼吸微生物种群的研究, 也发现了增强的 PCE 溶解及脱氯解毒现象。Liang 等^[87]研究发现除了交叉喂养互作关系外, *Dehalococcoides* 和 *Geobacter* 之间还存在其他 2 种竞争机制: (1) 自由竞争机制, 即二者对培养基中的电子供体(乙酸/ H_2)和电子受体(PCE)存在自由竞争关系; (2) 条件依赖竞争机制, 即营养缺陷型

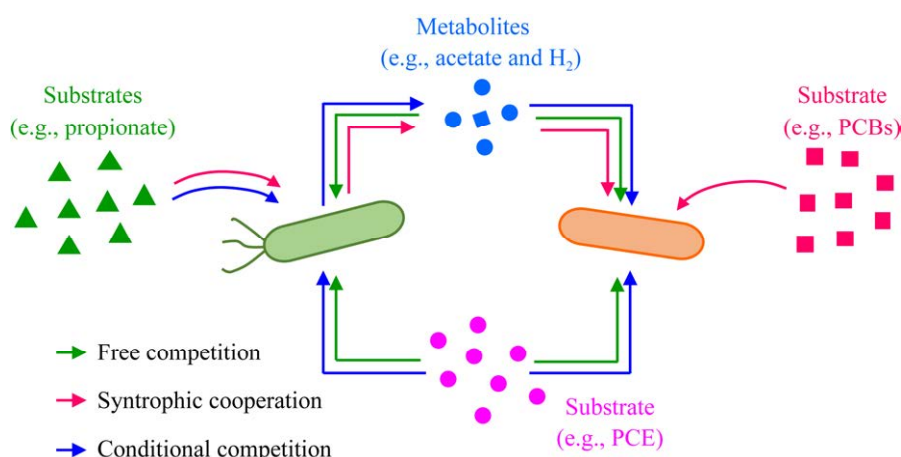


图 3 专性和兼性 OHRB 间的互作模型^[87]

Figure 3 A conceptual model illustrating multiple interactions between obligate and non-obligate OHRB^[87].

OHRB 在依赖兼性 OHRB 为其提供碳源(乙酸)和电子供体(H_2)的条件下二者竞争电子受体促进共同生长和对有机氯化物的快速还原脱氯。例如,在添加丙酸和 PCE 的培养基中,*Dehalococcoides* 需要依赖 *Geobacter* 为其提供乙酸和 H_2 ,但二者却竞争共同电子受体(PCE)(图 3)。这 2 种竞争机制在一定程度上促进了 *Dehalococcoides* 和 *Geobacter* 的共同生长和 PCE 的快速脱氯。因此,OHRB 间的一些竞争机制在一定程度上对有机卤呼吸代谢是有利的,并能够促进有机卤代物的脱卤或完全解毒。从指导生物修复的角度来讲,应考虑利用多个 OHRB 种群,通过它们之间的竞争机制,最大效率地利用添加的营养物质,以此来实现有机卤代物的消减,并达到有机卤代物完全脱毒的终极目标。

1.3 OHRB 之间的相互抑制机制

由于还原性脱卤反应的阶段性特征,多卤化电子受体及其相应的中间脱卤产物几乎总是同时出现在同一环境中。此外,各种多卤代工业化学品往往通过同一生产过程或加工设施进入环境中,使得污染环境中复合污染现象十分普遍。在地下水中,最常见的卤代有机污染物包括氯代乙烯(如 PCE、TCE)、氯代乙烷[如 1,1,1-三氯乙烷/1,1,2-三氯乙烷(1,1,1-TCA/1,1,2-TCA)、1,1-二氯乙烷/1,2-二氯乙烷(1,1-DCA/1,2-DCA)]和氯甲烷[如氯仿(CF)和二氯甲烷(dichloromethane, DCM)]等,且在较多场地中它们是以复合污染的形式存在^[92]。例如,美国环境保护署的国家优先清单显示,约 20%的场地中 TCE 和 1,1,1-三氯乙烷(1,1,1-TCA)污染物共存;氯仿(CF)是有机卤污染场地中与氯代乙烯共存最常见的污染物^[93]。OHRB 菌种及其脱卤酶对不同的有机卤代物有明显的专属性或特

异性,即不同的 OHRB 有不同的底物偏好性,表达的还原脱卤酶也各有不同。脱卤酶在显示底物偏好性的同时也会受到不同有机卤污染物的抑制。例如,1,1,1-TCA 和 CF 能够不同程度地抑制 *Dehalococcoides* 对 VC 的还原脱氯(1,1,1-TCA 的抑制性较强),从而导致有毒中间产物 cDCE 和 VC 的积累^[75,93-94]。反之亦然,VC 本身也可以抑制 *Dehalobacter* 对 1,1,1-TCA 和 CF 的还原脱氯,且对 CF 的抑制较强^[95]。另外一些研究发现,氯取代基越多的氯乙烯可以竞争性地抑制氯取代基少的氯乙烯的还原脱氯^[96-98]。1,1,2-TCA 和 1,2-DCA 在环境中共存时,高浓度的 1,1,2-TCA 会抑制 *Dehalogenimonas* 对 1,2-DCA 的还原脱氯^[99]。根据不同有机卤代物对特定脱卤酶作用类型的不同,将脱卤酶的抑制机制主要分为 3 种:竞争性抑制、非竞争性抑制和反竞争性抑制^[26]。除此之外,存在于环境和受污染地点的有机卤代物的抑制效应可能还受水溶性、环境浓度等因素的影响。因此,多种有机卤代物共存产生的交叉抑制现象会使得环境中部分有机卤的脱卤效率受到影响。鉴于此,在有机卤污染场地的修复过程中,应当首先考虑共存有机卤污染物是否对目标 OHRB 脱卤产生抑制作用,然后有针对性地制定有效策略,例如可以考虑优先去除抑制性较强的有机卤代物等。

1.4 OHRB 之间的水平基因转移

Dehalococcoides 基因组高度精简,大小为 1.34–1.50 Mb,包含 11–36 套编码还原脱卤酶的基因,且脱卤酶复合体一般主要由一个催化亚基(RdhA)和一个小的膜锚定亚基(RdhB)组成,而 RdhB 的功能主要是将 RdhA 定位于细胞质膜外侧^[100-102]。比较基因组研究表明不同 *Dehalococcoides* 菌株之间有部分还原脱卤

酶基因高度相似甚至完全相同,它们之间可能存在还原脱卤酶基因的交换^[100,103]。例如,*Dehalococcoides mccartyi* 菌株 195 和菌株 FL2 所含的 *tceA* 基因在核苷酸水平上有 99.4% 的相似度^[104],在 *Dehalococcoides* 的 3 个不同分支中(Cornell、Victoria 和 Pinellas 分支)都可以找到 *vcrAB* 基因^[105],*Dehalococcoides mccartyi* 菌株 RC 中的 1,2-二氯丙烷(1,2-dichloropropane)还原脱卤酶基因与 *Dehalogenimonas lykanthroporepellens* 菌株 BL-DC-9 的双脱卤酶 *dcpA* 基因几乎相同^[106]。*Dehalobacter* 属和 *Dehalogenimonas* 属内的菌株间也可能存在还原脱卤酶基因的水平转移。例如,*Dehalobacter* sp. 菌株 UNSWDHB 基因组上有 17 个还原脱卤酶基因,其中 14 个与 *Dehalobacter* 菌株 CF 和 DCA 中发现的脱卤酶基因完全相同^[107]。*Dehalogenimonas lykanthroporepellens* 菌株 BL-DC-9 的基因组中包含一个噬菌体区域(约占染色体的 4%)和一个编码 74 个全长或截断转座酶的插入序列元件(约占染色体的 4.3%),菌株 BL-DC-9 所特有的一些基因位于这 2 个区域。Siddaramappa 等由此推断,水平基因转移和基因交换可能在 *Dehalogenimonas* 的进化过程中发挥了重要作用^[108]。此外,*Dehalobacter restrictus* 的 *pceABCT* 基因簇与 *Desulfotobacterium dichloroeliminans* 菌株 1,2-DCA 脱卤酶基因簇也具有高度的序列保守性^[109]。Duret 等由此提出,这两个属之间可能由于受同一有机卤代物的选择压力发生了水平基因转移^[110]。Grostern 的研究也印证了这一点^[95]。*Geobacter lovleyi* 菌株 SZ 的还原脱卤酶基因操纵子附近含有整合酶和转座酶基因的移动遗传元件,暗示着可能存在基因水平转移事件^[111]。*Dehalobacter restrictus* 的操纵子与 *Acetobacterium woodii* 中存在的一个操纵子具有很强的同源性,也表明可能发生了水平基因转移^[112]。

2 OHRB 与非脱氯微生物之间的交互作用机制

2.1 OHRB 与非脱氯微生物间的竞争和抑制机制

在厌氧脱卤微生物群落中,硫酸盐还原菌、硝酸盐还原菌和铁还原菌等厌氧微生物可能与 OHRB 共存,它们会与 OHRB 在电子供体、碳源、小分子营养物质等资源的获取中产生竞争。当电子供体(例如 H_2)有限时,热力学计算预测电子可能更倾向于被产能较多的能量代谢过程所利用;当电子供体过量时,多个电子受体还原过程将同时发生^[113-114]。Aulenta 等^[115]在转接 OHRB 富集培养时,利用多种电子供体同时还原电子受体混合物[氯代乙烯、硝酸盐、硫酸盐和 Fe(III)],结果发现 99% 以上的电子供体被非有机卤呼吸还原过程利用(如硝酸盐还原、硫酸盐还原等)。在富营养培养条件下,大多数培养基中通常含有 CO_2 和碳酸氢盐以及充足的电子供体,添加唯一外部电子受体——有机卤代物,会有甲烷、乙酸生成和脱氯等现象同时发生;但是如果额外添加其他末端电子受体时(如硫酸盐、硝酸盐、三价铁等),微生物群落则会发生显著变化^[116]。有研究报道显示,当向培养体系内提供 1 mmol/L 硫酸盐时,硫酸盐还原菌竞争电子供体生成硫化物,从而导致还原脱氯效率下降——主要终产物从乙烯转变为一氯乙烯和二氯乙烯^[117]。因此,OHRB 与群落中的非脱卤微生物间因竞争有限的关键营养物质(图 4)而存在某些竞争或抑制效应,从而影响整个微生物群落的脱卤功能。

OHRB 通常与发酵细菌、产乙酸菌和产甲烷菌在同一厌氧群落中共存,抑制脱氯的原因通常来自 3 个方面,分别是:(1) 酶活性水平的抑制效应,产生抑制效应的主体分别来自各种

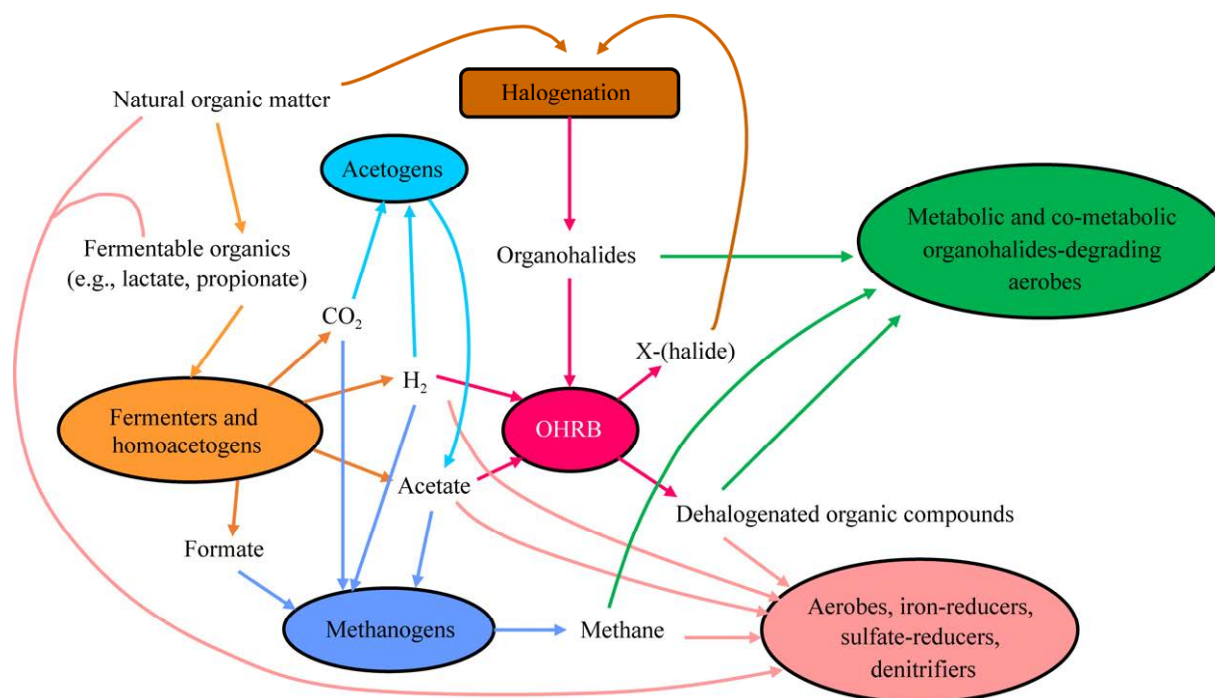


图 4 含有 OHRB 群落中的种群间代谢互动示意图^[40,129]

Figure 4 Schematic of catabolic interactions between OHRB and non-dechlorinating populations^[40,129].

电子受体(如有机卤代物、硫酸盐、硝酸盐以及部分代谢产物等), 它们对还原脱卤酶自身活性产生了抑制效应; (2) 生物体水平的抑制效应, 这类抑制效应主要源于各种电子受体对还原性脱卤酶以外的细胞关键功能成分的干扰而产生, 导致 OHRB 生长和脱卤活性受损; (3) 群落水平的抑制效应, 群落中负责向 OHRB 提供氢、碳源、辅助因子和其他必需营养物质的关键非脱卤微生物受到各种电子受体, 如有机卤代物、硫酸盐、硝酸盐以及部分代谢产物等的干扰, 而在群落水平产生抑制效应^[26]。除此之外, 环境中的其他影响因子, 如温度、碳源、氮源、pH、氧气含量等也会影响 OHRB 的脱氯活性。

2.2 OHRB 与非脱氯微生物间的交叉喂养机制

2.2.1 OHRB 与非脱氯微生物间交叉喂养涉及的常见代谢物转移

(1) 微生物群落中的氢气转移: OHRB 均可

利用 H_2 作为电子供体, 它们所需的 H_2 可能来源于产乙酸菌^[118]、分解乙酸的甲烷八叠球菌 (*Methanosarcina*)^[119]和乙酸氧化的地杆菌^[120]等(图 4)。另外, OHRB 一般可利用较低分压的 H_2 ^[6]。例如, *Dehalococcoides* 可利用小于 0.3 nmol/L 的 H_2 , 这意味着相比其他微生物(如硫酸盐还原菌等), OHRB 可以占据一些独特的低氢分压生态位^[6,121]。在混合培养中, H_2 通常由发酵细菌发酵有机质产生, 常见的发酵细菌包括脱硫弧菌 (*Desulfovibrio*)、各种梭状芽孢杆菌(*Clostridiales*)和拟杆菌(*Bacteroidetes*)等^[35,79,122–125]。共培养实验表明, 发酵乳酸的脱硫弧菌(*Desulfovibrio desulfuricans*)和还原 TCE 的 *Dehalococcoides* 之间就存在种间的 H_2 转移, 这类种间 H_2 转移同时促进了发酵细菌和氢型细菌的生长^[44]。乳酸、乙醇和糖即使在高水平的 H_2 供给条件下也极易被发酵, 但其他一些有机底物如丙酸和丁

酸的发酵,只能在氢型细菌(例如 OHRB 和氢营养的产甲烷菌)将 H_2 保持在低水平时才能被发酵^[40,126–127]。微生物群落中的耗氢细菌与产 H_2 的发酵细菌在能量代谢上相互依赖^[40,127–128]。

(2) 乙酸的转移和利用:同 H_2 一样,乙酸也是厌氧发酵过程产生的一种代谢产物。除此之外,乙酸的另一个重要来源是由产乙酸菌利用 H_2 和 CO_2 或一碳化合物(如甲醇)生成而来(图 4)。乙酸可作为碳源被专性 OHRB (例如 *Dehalococcoides*、“*Dehalobium*”菌株 DF1、*Dehalobacter* 和 *Dehalogenimonas* 等)吸收利用,供给微生物自身生物合成和生长。此外,乙酸也可作为一些兼性 OHRB (例如 *Geobacter* 和 *Desulfuromonas* 等)的电子供体,将 PCE 脱氯至 *c*DCE^[119,130]。已商业化的厌氧修复菌剂 KB-1^[48] 可以使用乙酸作为电子供体和碳源将三氯乙烯还原脱氯至乙烯,在此过程中,甲烷八叠球菌可以利用乙酸产生 H_2 和甲烷^[119],产生的 H_2 进而驱动 *Dehalococcoides* 的有机卤代物呼吸。因此,发酵微生物、产乙酸菌与 OHRB 在能量代谢上相互依赖。

(3) 钴胺素的转移与利用:*Dehalococcoides* 等专性 OHRB 需要特定的钴胺素(例如维生素 B_{12})作为还原性脱卤酶的辅因子参与有机卤呼吸能量代谢过程^[105]。然而 *Dehalogenimonas*、*Dehalococcoides* 和 *Dehalobacter* 等皆属于钴胺素缺陷型微生物,并不具备完整的钴胺素合成途径,因此不能从头合成钴胺素^[6,131],需要依赖其他微生物(例如 *Sporomusa ovata*、*Sulfurospirillum*、*Geobacter*、*Desulfovibrio* 等)为其提供钴胺素来支持自身进行有机卤呼吸^[39,48–49,86–87]。例如,产乙酸菌 *Sporomusa ovata* 和脱硫弧菌 *Desulfovibrio* 可以产生不同类型的钴胺素供给 *Dehalococcoides* 脱氯^[48–49]。由于专性 OHRB 的还原性脱卤酶只能利用具有特定低位配体的钴胺素作为辅因子,并

不是所有类型的钴胺素都能供给 *Dehalococcoides* 等专性 OHRB 进行脱氯。迄今为止,只有一些苯并咪唑类型的钴胺素可以被 *Dehalococcoides* 菌株所利用,例如 5,6-二甲基苯并咪唑钴胺酰胺(5,6-dimethylbenzimidazolycobamide, B_{12}), 5-甲基苯并咪唑钴胺酰胺(5-methylbenzimidazolycobamide, [5-MeBza]Cba)和 5-甲氧基苯并咪唑钴胺酰胺(5-methoxybenzimidazolycobamide, [5-OMeBza]Cba)。

虽然 *Dehalococcoides* 基因组没有完整的钴胺素合成路径^[132],但研究表明 *Dehalococcoides* 可以捕获和重塑钴胺素,从而满足自身对钴胺素特异性的需求^[34,44,133]。当给培养体系中提供 DMB 时,*Dehalococcoides* 可以通过低位配体的替换,将其不能利用的钴胺素(低位配体为 5-羟基苯并咪唑或 7-腺嘌呤基的钴胺酰胺)转化为可利用的钴胺素^[34,133]。例如,在培养体系中加入 DMB 时,甲烷八叠球菌 *Methanosarcina barkeri* 菌株 Fusaro 与 *Dehalococcoides mccartyi* 菌株 BAV1、GT 和 FL2 之间存在种间钴胺酰胺转移^[38–39]。以上研究表明,钴胺素合成缺陷的 OHRB 可通过环境中其他微生物的合成代谢活动获取有功能的钴胺素或捕获无功能的钴胺素并进行修饰,最后得到脱氯所必需的钴胺素。

(4) 氨基酸转移与利用:氨基酸是微生物生长和蛋白质等生物合成所需的关键营养物质^[134]。通常,大多数 OHRB 并不是氨基酸缺陷型,在富集培养和分离纯化过程中不需要额外添加氨基酸。虽然全基因组分析表明 *Dehalococcoides* 存在某些氨基酸合成路径的缺失,但培养实验验证了 *Dehalococcoides* 可以从头合成所需氨基酸^[131,135–136]。此外, *Dehalococcoides mccartyi* 菌株 195 还具有固氮能力,具备为微生物群落中其他微生物提供合成代谢所需的关键氨基酸的能力^[137–138]。相比而言, *Dehalobacter* 菌株 PER-K23 和 CF 生长过程中需要外源精氨酸、组

氨酸和苏氨酸等氨基酸,虽然菌株 CF 基因组中具有这些氨基酸的完整生物合成途径^[139]。因此,有机卤呼吸微生物菌群中还可能存在着基于氨基酸等营养物质的交叉喂养机制。

2.2.2 OHRB 与其他微生物间代谢物的转移机制

考虑到细菌生活方式的多样性以及可交换的代谢物结构和功能多样性,细菌很可能使用不同的机制将代谢物从一个细胞转移到另一个细胞。细菌间代谢物交换模式基于微生物之间是否有物理接触通常可分为接触型和非接触型^[57]。非接触型代谢物转移模式通常包括被动扩散、主动运输和囊泡介导转运。接触型代谢物转移模式需要相互作用的微生物之间建立物理接触,包括细胞接触、鞭毛、菌毛等,从而将代谢物特定地在微生物之间进行交换。

微生物团聚体有助于产乙酸和产甲烷等厌氧微生物群落中的专性营养互作^[140–142]。例如,具有胞外电子传递功能的 *Geobacter metallireducens* 可以与 *Methanosarcina barkeri* 形成团聚体并建立良好的电子互营群落,驱动 *M. barkeri* 还原 CO₂ 产甲烷^[143]。又有研究发现,*G. metallireducens* 与 *Rhodospseudomonas palustris* 共培养时也会形成团聚体。其中,*G. metallireducens* 代谢乙酸产生的电子通过胞外电子传递链传递到胞外,然后通过细胞色素 C 或者导电菌毛、鞭毛等结构直接传递,或者依赖核黄素等电子中介体间接传递给 *R. palustris*。最终,*R. palustris* 获得 *G. metallireducens* 提供的电子驱动 CO₂ 的还原固定^[144]。

目前,观察到的细胞团聚体大多只存在于共培养或富集培养体系中,而在纯培养体系中较难观察到团聚体生成的现象。胞外聚合物(extracellular polymeric substances, EPS)和鞭毛很可能通过辅助细胞粘附和附着来促进团聚体的稳定^[140,145]。另外,菌毛和鞭毛等附属物可能

也有助于种间的直接电子转移。*Dehalococcoides* 与 *S. multivorans* 共培养时会形成团聚体,相比纯培养而言,细胞生长和脱氯速率加快^[86]。其中 *S. multivorans* 在纯培养中产生鞭毛^[9],但在与 *Dehalococcoides* 共培养过程中,一些结构性的鞭毛蛋白却被下调^[86],可能是因为 *Dehalococcoides* 和 *S. multivorans* 在共培养时不能使用鞭毛进行直接的种间电子转移。其他可能与种间的直接电子转移有关的蛋白质在 *Dehalococcoides* 或 *S. multivorans* 的基因组中未被编码^[86],为此二者可能通过种间氢转移进行电子传递。通过场发射扫描电镜(field emission scanning electron microscopes, FE-SEM)在共培养中观察到的微生物间距离的减小和细胞间接触的建立,可能会导致物种之间代谢物(如 H₂)通量的增加,最终提高生长速率和代谢速率。通过量化计算发现, *Pelotomaculum thermopropiicum* 菌株 SI 和 *Methanothermobacter thermoautotrophicus* 菌株 ΔH 的共培养体系在进行丙酸转化过程中,细胞团聚体间的 H₂ 转移相比分散细胞之间的 H₂ 转移明显更优^[146]。因此,团聚体的形成可能更有利于进行种间直接或间接代谢物或电子的转移。

3 OHRB 微生物菌群营养交互作用的研究展望

相比 OHRB 的纯培养物,脱氯微生物群落具有更高的生长速率和脱氯速率,也能更好地适应环境的变化。它们在代谢上分工协作,可催化更为复杂的反应。尽管已有一些研究报道了 OHRB 不同种属间以及 OHRB 与非脱卤微生物(如发酵菌、产乙酸菌和产甲烷菌等)间存在一些基本的互作关系,如资源竞争、生长抑制、交叉喂养、水平基因转移等,但更加复杂体系

中的互作机制尚不明晰, 仍然有待于进一步深入探索 and 解析。例如, 依据微生物间的互惠程度及生产代谢物的成本, 交叉喂养可分为 5 种类型, 分别是: 单向副产物交叉喂养(unidirectional by-product cross-feeding)、双向副产物交叉喂养(bidirectional by-product cross-feeding)、副产物互惠(by-product reciprocity)、单向合作交叉喂养(unidirectional cooperative cross-feeding)和双向合作交叉喂养(bidirectional cooperative cross-feeding)^[57], 然而目前尚不清楚 OHRB 不同菌属间以及 OHRB 与非脱氯菌属间代谢物交叉喂养属于哪种类型, 它们之间又有哪些代谢物质发生转移, 代谢物转移的机制是接触依赖型还是接触非依赖型。

近年来, 组学技术在揭示细菌相互作用以及解析复杂群落中多种互动机制发挥了关键作用。随着组学技术的不断进步以及测序成本的降低, 包含 OHRB 菌群的群落生态学研究也在不断增加和深入^[147]。可以预测, 在未来 OHRB 互作代谢网络结构研究中, 这些技术将发挥更显著的作用。例如, 利用多组学技术来进行群落中微生物多样性评估(16S rRNA 基因扩增子测序、宏基因组), 功能潜力挖掘与预测(宏基因组), 实时功能监测和表征(宏转录组、宏蛋白质组和代谢组)^[148], 从而最终阐明多物种相互作用网络和作用机制。除了这些技术, 转座子插入测序(transposon-insertion sequencing, Tn-seq)也已被证明是一种研究物种间相互作用的有效高通量方法^[148]。

目前, 对于互作网络高度复杂的微生物群落的研究思路主要可概括为 2 种: “自上而下”和“自下而上”^[149]。使用“自下而上”的方法(例如, 将不同功能已知的种群合成具有目标功能的微生物群落)以及“自上而下”的方法(例如, 将自然生态系统中复杂群落解构为不同功能种

群), 可以让我们深入了解不同物种之间的相互作用。组学是一种“自上而下”的方法, 通过网络分析来推断物种之间的相互作用。这种网络方法依赖于细菌物种共存的概率, 通过正相关推断合作, 通过负相关推断竞争^[148]。然而, 依赖组学的“自上而下”的方法缺乏相互作用的结论性证据, 必须通过小规模研究进行验证。随着测序技术和多组学分析手段的出现, 使得基于菌群相互作用和可培养微生物构建合成微生物群落的设计方法成为可能。近年来, 合成微生物组的研究逐渐蓬勃兴起, 已经成为复杂微生物群落研究的重要手段。合成微生物组是人工合成的多个物种共培养的微生物体系, 具有组成明确、可操控性高等特点, 在研究功能微生物群落中的相互作用和生态机制方面有着明显的优势^[149]。基于合成微生物群落体系的研究, 可以逐步解析微生物之间的相互作用、微生物群落的动力学性质(应对外界扰动的响应), 以及在土壤和水圈等不同生态环境下的群落空间结构, 从而为有机卤代物污染场地生态治理提供理论依据^[150]。

有机卤呼吸群落中的非脱氯种群通常来自远古菌门(*Euryarchaeota*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)和螺旋菌门(*Spirocheata*)^[129], 它们与 OHRB 之间可能存在一些潜在的互作机制, 但由于研究技术和手段限制, 关于这些非脱氯种群之间以及不同 OHRB 属间的互作机制目前仍有许多未解之谜, 包括但不限于:

(1) OHRB 与其他微生物的接触型互作机制及互作机制的多样性探究;

(2) OHRB 微生物菌群中不同成员之间转移的辅助因子、营养物质和信号分子仍未被全面揭示且分子机制尚不可知;

(3) 如何利用环境因子调控有机卤呼吸

合成微生物组来研制高效且抗逆性强的微生物菌剂；

(4) OHRB 不同菌属间以及 OHRB 与非脱氯菌属间水平基因转移机制及如何从分子水平进行实验验证等。

综上所述，未来利用系统与合成生物学的方法与工具，结合厌氧微生物操作、化学分析、多组学、生物信息学和计算生物等实验技术，采取“自上而下”的微生物分离策略和“自下而上”共培养的合成微生物组策略，将会有助于从基因组水平、系统进化、表达调控和代谢等方面进一步揭示有机卤呼吸微生物与其他厌氧微生物的互作分子机制。

参考文献

- [1] Agarwal V, Miles ZD, Winter JM, Eustáquio AS, El Gamal AA, Moore BS. Enzymatic halogenation and dehalogenation reactions: pervasive and mechanistically diverse. *Chemical Reviews*, 2017, 117(8): 5619–5674.
- [2] Atashgahi S, Haggblom MM, Smidt H. Organohalide respiration in pristine environments: implications for the natural halogen cycle. *Environmental Microbiology*, 2018, 20(3): 934–948.
- [3] Falandysz J, Rose M, Fernandes AR. Mixed poly-brominated/chlorinated biphenyls (PXBs): widespread food and environmental contaminants. *Environment International*, 2012, 44: 118–127.
- [4] Zhang ZW, Pei NC, Sun YX, Li JL, Li XP, Yu S, Xu XR, Hu YX, Mai BX. Halogenated organic pollutants in sediments and organisms from mangrove wetlands of the Jiulong River Estuary, South China. *Environmental Research*, 2019, 171: 145–152.
- [5] DeWeerd KA, Mandelco L, Tanner RS, Woese CR, Suflita JM. *Desulfomonile tiedjei* gen. nov. and sp. nov., a novel anaerobic, dehalogenating, sulfate-reducing bacterium. *Archives of Microbiology*, 1990, 154(1): 23–30.
- [6] Löffler FE, Yan J, Ritalahti KM, Adrian L, Edwards EA, Konstantinidis KT, Müller JA, Fullerton H, Zinder SH, Spormann AM. *Dehalococcoides mccartyi* gen. nov., sp. nov., obligately organohalide-respiring anaerobic bacteria relevant to halogen cycling and bioremediation, belong to a novel bacterial class, *Dehalococcoidia* classis nov., order *Dehalococcoidales* ord. nov. and family *Dehalococcoidaceae* fam. nov., within the phylum *Chloroflexi*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2013, 63(Pt 2): 625–635.
- [7] Maymó-Gatell X, Chien Y, Gossett JM, Zinder SH. Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethene. *Science*, 1997, 276(5318): 1568–1571.
- [8] Utkin I, Woese C, Wiegel J. Isolation and characterization of *Desulfotobacterium dehalogenans* gen. nov., sp. nov., an anaerobic bacterium which reductively dechlorinates chlorophenolic compounds. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1994, 44(4): 612–619.
- [9] Scholz-Muramatsu H, Neumann A, Meßmer M, Moore E, Diekert G. Isolation and characterization of *Dehalospirillum multivorans* gen. nov., sp. nov., a tetrachloroethene-utilizing, strictly anaerobic bacterium. *Archives of Microbiology*, 1995, 163(1): 48–56.
- [10] Holliger C, Hahn D, Harmsen H, Ludwig W, Schumacher W, Tindall B, Vazquez F, Weiss N, Zehnder AJ. *Dehalobacter restrictus* gen. nov. and sp. nov., a strictly anaerobic bacterium that reductively dechlorinates tetra- and trichloroethene in an anaerobic respiration. *Archives of Microbiology*, 1998, 169(4): 313–321.
- [11] Moe WM, Yan J, Nobre MF, da Costa MS, Rainey FA. *Dehalogenimonas lykanthroporepellens* gen. nov., sp. nov., a reductively dehalogenating bacterium isolated from chlorinated solvent-contaminated groundwater. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2009, 59: 2692–2697.
- [12] Yan J, Rash BA, Rainey FA, Moe WM. Isolation of novel bacteria within the *Chloroflexi* capable of reductive dechlorination of 1,2,3-trichloropropane. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(4): 833–843.
- [13] Sung Y, Fletcher KF, Ritalahti KM, Apkarian RP, Ramos-Hernandez N, Sanford RA, Mesbah NM, Löffler FE. *Geobacter lovleyi* sp. nov. strain SZ, a novel metal-reducing and tetrachloroethene-dechlorinating bacterium. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(4): 2775–2782.
- [14] Leys D, Adrian L, Smidt H. Organohalide respiration: microbes breathing chlorinated molecules. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*:

- Biological Sciences*, 2013, 368(1616): 20120316.
- [15] Schubert T, Adrian L, Sawers RG, Diekert G. Organohalide respiratory chains: composition, topology and key enzymes. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, 94(4): fty035.
- [16] Schubert T, Diekert G. Comparative biochemistry of organohalide respiration//Adrian L, Löffler FE. Organohalide-Respiring Bacteria. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016.
- [17] Jiang LS, Yang Y, Jin HJ, Wang HY, Swift CM, Xie YC, Schubert T, Löffler FE, Yan J. *Geobacter* sp. strain IAE dihaloeliminates 1,1,2-trichloroethane and 1,2-dichloroethane. *Environmental Science & Technology*, 2022, 56(6): 3430–3440.
- [18] Low A, Zhao SY, Rogers MJ, Zemb O, Lee M, He JZ, Manefield M. Isolation, characterization and bioaugmentation of an acidotolerant 1,2-dichloroethane respiring *Desulfitobacterium* species from a low pH aquifer. *FEMS Microbiology Ecology*, 2019, 95(5): fiz055.
- [19] Yang Y, Yan J, Li XY, Lv Y, Cui YR, Kara-Murdoch F, Chen G, Löffler FE. Genome sequence of “Candidatus *Dehalogenimonas etheniformans*” strain GP, a vinyl chloride-respiring anaerobe. *Microbiology Resource Announcements*, 2020, 9(50): e01212–e01220.
- [20] Zhao SY, Ding C, He JZ. Detoxification of 1,1,2-trichloroethane to ethene by *Desulfitobacterium* and identification of its functional reductase gene. *PLoS One*, 2015, 10(3): e0119507.
- [21] 吕燕, 李秀颖, 王晶晶, 金慧娟, 崔逸儒, 杨毅, 严俊. 一株脱卤单胞菌属有机卤呼吸细菌的分离纯化与基础特征. *微生物学报*, 2021, 61(4): 1016–1029.
Lv L, Li XY, Wang JJ, Jin HJ, Cui YR, Yang Y, Yan J. Isolation and basic characterization of a novel organohalide-respiring bacterium within the genus *Dehalogenimonas*. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(4): 1016–1029. (in Chinese)
- [22] Bouchard B, Beaudet R, Villemur R, McSweeney G, Lépine F, Bisailon JG. Isolation and characterization of *Desulfitobacterium frappieri* sp. nov., an anaerobic bacterium which reductively dechlorinates pentachlorophenol to 3-chlorophenol. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1996, 46(4): 1010–1015.
- [23] Breitenstein A, Saano A, Salkinoja-Salonen M, Andreesen JR, Lechner U. Analysis of a 2,4,6-trichlorophenol-dehalogenating enrichment culture and isolation of the dehalogenating member *Desulfitobacterium frappieri* strain TCP-A. *Archives of Microbiology*, 2001, 175(2): 133–142.
- [24] Jayachandran G, Görisch H, Adrian L. Dehalorespiration with hexachlorobenzene and pentachlorobenzene by *Dehalococcoides* sp. strain CBDB1. *Archives of Microbiology*, 2003, 180(6): 411–416.
- [25] Qiao WJ, Luo F, Lomheim L, Mack EE, Ye SJ, Wu JC, Edwards EA. A *Dehalogenimonas* population respire 1,2,4-trichlorobenzene and dichlorobenzenes. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(22): 13391–13398.
- [26] Wei K, Grostern A, Chan WWM, Richardson RE, Edwards EA. Electron acceptor interactions between organohalide-respiring bacteria: cross-feeding, competition, and inhibition//Adrian L, Löffler FE. Organohalide-Respiring Bacteria. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016.
- [27] Yang MI, Previdsa M, Edwards EA, Sleep BE. Reductive dehalogenase gene biomarkers differentiate 1,1,1-trichloroethane from 1,1-dichloroethane dechlorination in microcosms and at a field site treated with granular ZVI and guar gum. *bioRxiv*, 2019, DOI: 10.1101/583229.
- [28] Maphosa F, de Vos WM, Smidt H. Exploiting the ecogenomics toolbox for environmental diagnostics of organohalide-respiring bacteria. *Trends in Biotechnology*, 2010, 28(6): 308–316.
- [29] Hug LA, Maphosa F, Leys D, Löffler FE, Smidt H, Edwards EA, Adrian L. Overview of organohalide-respiring bacteria and a proposal for a classification system for reductive dehalogenases. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2013, 368(1616): 20120322.
- [30] Cheng D, Chow WL, He JZ. A *Dehalococcoides*-containing co-culture that dechlorinates tetrachloroethene to *trans*-1,2-dichloroethene. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2010, 4(1): 88–97.
- [31] He JZ, Ritalahti KM, Aiello MR, Löffler FE. Complete detoxification of vinyl chloride by an anaerobic enrichment culture and identification of the reductively dechlorinating population as a *Dehalococcoides* species. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(2): 996–1003.
- [32] He JZ, Ritalahti KM, Yang KL, Koenigsberg SS, Löffler FE. Detoxification of vinyl chloride to ethene coupled to growth of an anaerobic bacterium. *Nature*,

- 2003, 424(6944): 62–65.
- [33] Mao XW, Stenuit B, Polasko A, Alvarez-Cohen L. Efficient metabolic exchange and electron transfer within a syntrophic trichloroethene-degrading coculture of *Dehalococcoides mccartyi* 195 and *Syntrophomonas wolfei*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(6): 2015–2024.
- [34] Men YJ, Seth EC, Yi S, Allen RH, Taga ME, Alvarez-Cohen L. Sustainable growth of *Dehalococcoides mccartyi* 195 by corrinoid salvaging and remodeling in defined lactate-fermenting consortia. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(7): 2133–2141.
- [35] Men YJ, Feil H, Verberkmoes NC, Shah MB, Johnson DR, Lee PKH, West KA, Zinder SH, Andersen GL, Alvarez-Cohen L. Sustainable syntrophic growth of *Dehalococcoides ethenogenes* strain 195 with *Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough and *Methanobacterium congolense*: global transcriptomic and proteomic analyses. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 410–421.
- [36] Murray A, Maillard J, Rolle M, Broholm M, Holliger C. Impact of iron- and/or sulfate-reduction on a *cis*-1, 2-dichloroethene and vinyl chloride respiring bacterial consortium: experiments and model-based interpretation. *Environmental Science Processes & Impacts*, 2020, 22(3): 740–750.
- [37] Wang SQ, Chen C, Zhao SY, He JZ. Microbial synergistic interactions for reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls. *The Science of the Total Environment*, 2019, 666: 368–376.
- [38] Yan J, Im J, Yang Y, Löffler FE. Guided cobalamin biosynthesis supports *Dehalococcoides mccartyi* reductive dechlorination activity. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2013, 368(1616): 20120320.
- [39] Yan J, Ritalahti KM, Wagner DD, Löffler FE. Unexpected specificity of interspecies cobamide transfer from *Geobacter* spp. to organohalide-respiring *Dehalococcoides mccartyi* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(18): 6630–6636.
- [40] Morris BEL, Henneberger R, Huber H, Moissl-Eichinger C. Microbial syntrophy: interaction for the common good. *FEMS Microbiology Reviews*, 2013, 37(3): 384–406.
- [41] Adams CJ, Redmond MC, Valentine DL. Pure-culture growth of fermentative bacteria, facilitated by H₂ removal: bioenergetics and H₂ production. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(2): 1079–1085.
- [42] Lai QL, Yu ZW, Wang JN, Zhong HZ, Sun FQ, Wang LP, Wang BJ, Shao ZZ. *Nitrated reductor pacificus* sp. nov., isolated from a pyrene-degrading consortium. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2011, 61(Pt 6): 1386–1391.
- [43] Payne KA, Quezada CP, Fisher K, Dunstan MS, Collins FA, Sjuts H, Levy C, Hay S, Rigby SE, Leys D. Reductive dehalogenase structure suggests a mechanism for B₁₂-dependent dehalogenation. *Nature*, 2015, 517(7535): 513–516.
- [44] He JZ, Holmes VF, Lee PKH, Alvarez-Cohen L. Influence of vitamin B₁₂ and cocultures on the growth of *Dehalococcoides* isolates in defined medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(9): 2847–2853.
- [45] Cichocka D, Nikolausz M, Haest PJ, Nijenhuis I. Tetrachloroethene conversion to ethene by a *Dehalococcoides*-containing enrichment culture from Bitterfeld. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, 72(2): 297–310.
- [46] Duhamel M, Edwards EA. Microbial composition of chlorinated ethene-degrading cultures dominated by *Dehalococcoides*. *FEMS Microbiology Ecology*, 2006, 58(3): 538–549.
- [47] Jugder BE, Ertan H, Bohl S, Lee M, Marquis CP, Manefield M. Organohalide respiring bacteria and reductive dehalogenases: key tools in organohalide bioremediation. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 249.
- [48] Duhamel M, Edwards EA. Growth and yields of dechlorinators, acetogens, and methanogens during reductive dechlorination of chlorinated ethenes and dihaloelimination of 1,2-dichloroethane. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(7): 2303–2310.
- [49] Guimarães DH, Weber A, Klaiber I, Vogler B, Renz P. Guanylcobamide and hypoxanthylcobamide-corrinoids formed by *Desulfovibrio vulgaris*. *Archives of Microbiology*, 1994, 162(4): 272–276.
- [50] Kruse S, Goris T, Westermann M, Adrian L, Diekert G. Hydrogen production by *Sulfurospirillum* species enables syntrophic interactions of *Epsilonproteobacteria*. *Nature Communications*, 2018, 9(1): 4872.
- [51] Peng P, Goris T, Lu Y, Nijse B, Burrichter A, Schleheck D, Koehorst JJ, Liu J, Sipkema D, Sinninghe Damste JSS, Stams AJM, Häggblom MM, Smidt H, Atashgahi S. Organohalide-respiring

- Desulfoluna* species isolated from marine environments. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2020, 14(3): 815–827.
- [52] Sung Y, Ritalahti KM, Sanford RA, Urbance JW, Flynn SJ, Tiedje JM, Löffler FE. Characterization of two tetrachloroethene-reducing, acetate-oxidizing anaerobic bacteria and their description as *Desulfuromonas michiganensis* sp. nov. *Applied and Environmental Microbiology*, 2003, 69(5): 2964–2974.
- [53] Wang SQ, Qiu L, Liu XW, Xu GF, Siegert M, Lu QH, Juneau P, Yu L, Liang DW, He ZL, Qiu RL. Electron transport chains in organohalide-respiring bacteria and bioremediation implications. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(4): 1194–1206.
- [54] Goris T, Schiffmann CL, Gadkari J, Schubert T, Seifert J, Jehmlich N, von Bergen M, Diekert G. Proteomics of the organohalide-respiring Epsilonproteobacterium *Sulfurospirillum multivorans* adapted to tetrachloroethene and other energy substrates. *Scientific Reports*, 2015, 5: 13794.
- [55] Goris T, Schubert T, Gadkari J, Wubet T, Tarkka M, Buscot F, Adrian L, Diekert G. Insights into organohalide respiration and the versatile catabolism of *Sulfurospirillum multivorans* gained from comparative genomics and physiological studies. *Environmental Microbiology*, 2014, 16(11): 3562–3580.
- [56] Futagami T, Furukawa K. The genus *Desulfitobacterium*//Adrian L, Löffler FE. Organohalide-Respiring Bacteria. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016.
- [57] D'Souza G, Shitut S, Preussger D, Yousif G, Waschina S, Kost C. Ecology and evolution of metabolic cross-feeding interactions in bacteria. *Natural Product Reports*, 2018, 35(5): 455–488.
- [58] Oña L, Giri S, Avermann N, Kreienbaum M, Thormann KM, Kost C. Obligate cross-feeding expands the metabolic niche of bacteria. *Nature Ecology and Evolution*, 2021, 5(9): 1224–1232.
- [59] Sokolovskaya OM, Shelton AN, Taga ME. Sharing vitamins: cobamides unveil microbial interactions. *Science*, 2020, 369(6499): eaba0165.
- [60] Atashgahi S, Lu Y, Smidt H. Overview of known organohalide-respiring bacteria—phylogenetic diversity and environmental distribution//Adrian L, Löffler FE. Organohalide-Respiring Bacteria. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016.
- [61] Rouzeau-Szynalski K, Maillard J, Holliger C. Frequent concomitant presence of *Desulfitobacterium* spp. and “*Dehalococcoides*” spp. in chloroethene-dechlorinating microbial communities. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2011, 90(1): 361–368.
- [62] Wang SQ, He JZ. Dechlorination of commercial PCBs and other multiple halogenated compounds by a sediment-free culture containing *Dehalococcoides* and *Dehalobacter*. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(18): 10526–10534.
- [63] Ise K, Suto K, Inoue C. Microbial diversity and changes in the distribution of dehalogenase genes during dechlorination with different concentrations of *cis*-DCE. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(12): 5339–5345.
- [64] Yang YR, Pesaro M, Sigler W, Zeyer J. Identification of microorganisms involved in reductive dehalogenation of chlorinated ethenes in an anaerobic microbial community. *Water Research*, 2005, 39(16): 3954–3966.
- [65] Ritalahti KM, Amos BK, Sung Y, Wu QZ, Koenigsberg SS, Löffler FE. Quantitative PCR targeting 16S rRNA and reductive dehalogenase genes simultaneously monitors multiple *Dehalococcoides* strains. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(4): 2765–2774.
- [66] Ziv-El M, Popat SC, Parameswaran P, Kang DW, Polasko A, Halden RU, Rittmann BE, Krajmalnik-Brown R. Using electron balances and molecular techniques to assess trichloroethene-induced shifts to a dechlorinating microbial community. *Biotechnology and Bioengineering*, 2012, 109(9): 2230–2239.
- [67] He JZ, Robrock KR, Alvarez-Cohen L. Microbial reductive debromination of polybrominated diphenyl ethers (PBDEs). *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(14): 4429–4434.
- [68] Maillard J, Charnay MP, Regard C, Rohrbach-Brandt E, Rouzeau-Szynalski K, Rossi P, Holliger C. Reductive dechlorination of tetrachloroethene by a stepwise catalysis of different organohalide respiring bacteria and reductive dehalogenases. *Biodegradation*, 2011, 22(5): 949–960.
- [69] Daprato RC, Löffler FE, Hughes JB. Comparative analysis of three tetrachloroethene to ethene halo-respiring consortia suggests functional redundancy. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(7): 2261–2269.
- [70] Grostern A, Edwards EA. Growth of *Dehalobacter* and *Dehalococcoides* spp. during degradation of

- chlorinated ethanes. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(1): 428–436.
- [71] Ballerstedt H, Hantke J, Bunge M, Werner B, Gerritse J, Andreesen JR, Lechner U. Properties of a trichlorodibenzo-p-dioxin-dechlorinating mixed culture with a *Dehalococcoides* as putative dechlorinating species. *FEMS Microbiology Ecology*, 2004, 47(2): 223–234.
- [72] Manchester MJ, Hug LA, Zarek M, Zila AN, Edwards EA. Discovery of a *trans*-dichloroethene-respiring *Dehalogenimonas* species in the 1,1,2,2-tetrachloroethane-dechlorinating WBC-2 consortium. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(15): 5280–5287.
- [73] Vandermeeren P, Herrmann S, Cichocka D, Busschaert P, Lievens B, Richnow HH, Springael D. Diversity of dechlorination pathways and organohalide respiring bacteria in chlorobenzene dechlorinating enrichment cultures originating from river sludge. *Biodegradation*, 2014, 25(5): 757–776.
- [74] Brisson VL, West KA, Lee PKH, Tringe SG, Brodie EL, Alvarez-Cohen L. Metagenomic analysis of a stable trichloroethene-degrading microbial community. *The ISME Journal*, 2012, 6(9): 1702–1714.
- [75] Duhamel M, Wehr SD, Yu L, Rizvi H, Seepersad D, Dworatzek S, Cox EE, Edwards EA. Comparison of anaerobic dechlorinating enrichment cultures maintained on tetrachloroethene, trichloroethene, *cis*-dichloroethene and vinyl chloride. *Water Research*, 2002, 36(17): 4193–4202.
- [76] Futagami T, Okamoto F, Hashimoto H, Fukuzawa K, Higashi K, Nazir KHMNH, Wada E, Suyama A, Takegawa K, Goto M, Nakamura K, Furukawa K. Enrichment and characterization of a trichloroethene-dechlorinating consortium containing multiple “*Dehalococcoides*” strains. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2011, 75(7): 1268–1274.
- [77] Tang SQ, Edwards EA. Identification of *Dehalobacter* reductive dehalogenases that catalyse dechlorination of chloroform, 1,1,1-trichloroethane and 1,1-dichloroethane. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2013, 368(1616): 20120318.
- [78] Vainberg S, Condee CW, Steffan RJ. Large-scale production of bacterial consortia for remediation of chlorinated solvent-contaminated groundwater. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 2009, 36(9): 1189–1197.
- [79] Nelson JL, Fung JM, Cadillo-Quiroz H, Cheng X, Zinder SH. A role for *Dehalobacter* spp. in the reductive dehalogenation of dichlorobenzenes and monochlorobenzene. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(16): 6806–6813.
- [80] Nelson JL, Jiang JD, Zinder SH. Dehalogenation of chlorobenzenes, dichlorotoluenes, and tetrachloroethene by three *Dehalobacter* spp.. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(7): 3776–3782.
- [81] Fagervold SK, Watts JEM, May HD, Sowers KR. Sequential reductive dechlorination of meta-chlorinated polychlorinated biphenyl congeners in sediment microcosms by two different *Chloroflexi* phylotypes. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12): 8085–8090.
- [82] Watts JE, Wu Q, Schreier SB, May HD, Sowers KR. Comparative analysis of polychlorinated biphenyl-dechlorinating communities in enrichment cultures using three different molecular screening techniques. *Environmental Microbiology*, 2001, 3(11): 710–719.
- [83] Kräutler B, Fieber W, Ostermann S, Fasching M, Ongania K-H, Gruber K, Kratky C, Mikl C, Siebert A, Diekert G. The cofactor of tetrachloroethene reductive dehalogenase of *Dehalospirillum multivorans* is norpseudob₁₂, a new type of a natural corrinoid. *Helvetica Chimica Acta*, 2003, 86(11): 3698–3716.
- [84] Neumann A, Wohlfarth G, Diekert G. Purification and characterization of tetrachloroethene reductive dehalogenase from *Dehalospirillum multivorans*. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271(28): 16515–16519.
- [85] Schubert T. The organohalide-respiring bacterium *Sulfurospirillum multivorans*: a natural source for unusual cobamides. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2017, 33(5): 1–10.
- [86] Kruse S, Türkowsky D, Birkigt J, Matturro B, Franke S, Jehmlich N, von Bergen M, Westermann M, Rossetti S, Nijenhuis I, Adrian L, Diekert G, Goris T. Inter species metabolite transfer and aggregate formation in a co-culture of *Dehalococcoides* and *Sulfurospirillum* dehalogenating tetrachloroethene to ethene. *The ISME Journal*, 2021, 15(6): 1794–1809.
- [87] Liang YY, Lu QH, Liang ZW, Liu XK, Fang WW, Liang DW, Kuang JL, Qiu RL, He ZL, Wang SQ. Substrate-dependent competition and cooperation relationships between *Geobacter* and *Dehalococcoides*

- for their organohalide respiration. *ISME Communications*, 2021, 1(1): 23.
- [88] Lai Y, Becker JG. Compounded effects of chlorinated ethene inhibition on ecological interactions and population abundance in a *Dehalococcoides-Dehalobacter* coculture. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(3): 1518–1525.
- [89] Becker JG. A modeling study and implications of competition between *Dehalococcoides ethenogenes* and other tetrachloroethene-respiring bacteria. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(14): 4473–4480.
- [90] Becker JG, Seagren EA. Modeling the effects of microbial competition and hydrodynamics on the dissolution and detoxification of dense nonaqueous phase liquid contaminants. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(3): 870–877.
- [91] Chen M, Abriola LM, Amos BK, Suchomel EJ, Pennell KD, Löffler FE, Christ JA. Microbially enhanced dissolution and reductive dechlorination of PCE by a mixed culture: model validation and sensitivity analysis. *Journal of Contaminant Hydrology*, 2013, 151: 117–130.
- [92] 高存荣, 王俊桃. 中国 69 个城市地下水挥发性卤代烃污染检测与特征研究. 地球科学与环境学报, 2012, 34(1): 66–71.
Gao CR, Wang JT. Investigation and research on volatile halogenated hydrocarbon contamination from groundwater in 69 cities of China. *Journal of Earth Sciences and Environment*, 2012, 34(1): 66–71. (in Chinese)
- [93] Scheutz C, Durant ND, Hansen MH, Bjerg PL. Natural and enhanced anaerobic degradation of 1,1,1-trichloroethane and its degradation products in the subsurface—a critical review. *Water Research*, 2011, 45(9): 2701–2723.
- [94] Chan WWM, Grostern A, Löffler FE, Edwards EA. Quantifying the effects of 1,1,1-trichloroethane and 1,1-dichloroethane on chlorinated ethene reductive dehalogenases. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(22): 9693–9702.
- [95] Grostern A, Chan WWM, Edwards EA. 1,1,1-trichloroethane and 1,1-dichloroethane reductive dechlorination kinetics and co-contaminant effects in a *Dehalobacter*-containing mixed culture. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(17): 6799–6807.
- [96] Cupples AM, Spormann AM, McCarty PL. Comparative evaluation of chloroethene dechlorination to ethene by *Dehalococcoides*-like microorganisms. *Environmental Science & Technology*, 2004, 38(18): 4768–4774.
- [97] Yu SH, Semprini L. Kinetics and modeling of reductive dechlorination at high PCE and TCE concentrations. *Biotechnology and Bioengineering*, 2004, 88(4): 451–464.
- [98] Yu S, Dolan ME, Semprini L. Kinetics and inhibition of reductive dechlorination of chlorinated ethylenes by two different mixed cultures. *Environmental Science & Technology*, 2005, 39(1): 195–205.
- [99] Dillehay JL, Bowman KS, Yan J, Rainey FA, Moe WM. Substrate interactions in dehalogenation of 1,2-dichloroethane, 1,2-dichloropropane, and 1,1,2-trichloroethane mixtures by *Dehalogenimonas* spp. *Biodegradation*, 2014, 25(2): 301–312.
- [100] McMurdie PJ, Behrens SF, Muller JA, Goke J, Ritalahti KM, Wagner R, Goltsman E, Lapidus A, Holmes S, Löffler FE, Spormann AM. Localized plasticity in the streamlined genomes of vinyl chloride respiring *Dehalococcoides*. *PLoS Genetics*, 2009, 5(11): e1000714.
- [101] Seidel K, Kühnert J, Adrian L. The complexome of *Dehalococcoides mccartyi* reveals its organohalide respiration-complex is modular. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1130.
- [102] Seshadri R, Adrian L, Fouts DE, Eisen JA, Phillippy AM, Methe BA, Ward NL, Nelson WC, Deboy RT, Khouri HM, Kolonay JF, Dodson RJ, Daugherty SC, Brinkac LM, Sullivan SA, Madupu R, Nelson KE, Kang KH, Impraim M, Tran K, Robinson JM, Forberger HA, Fraser CM, Zinder SH, Heidelberg JF. Genome sequence of the PCE-dechlorinating bacterium *Dehalococcoides ethenogenes*. *Science*, 2005, 307(5706): 105–108.
- [103] McMurdie PJ, Hug LA, Edwards EA, Holmes S, Spormann AM. Site-specific mobilization of vinyl chloride respiration islands by a mechanism common in *Dehalococcoides*. *BMC Genomics*, 2011, 12: 287.
- [104] Krajmalnik-Brown R, Sung Y, Ritalahti KM, Saunders FM, Löffler FE. Environmental distribution of the trichloroethene reductive dehalogenase gene (*tceA*) suggests lateral gene transfer among *Dehalococcoides*. *FEMS Microbiology Ecology*, 2007, 59(1): 206–214.
- [105] Zinder SH. The genus *Dehalococcoides*//Adrian L, Löffler FE. Organohalide-Respiring Bacteria. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016.
- [106] Padilla-Crespo E, Yan J, Swift C, Wagner DD, Chourey

- K, Hettich RL, Ritalahti KM, Löffler FE. Identification and environmental distribution of dcpA, which encodes the reductive dehalogenase catalyzing the dichloroelimination of 1,2-dichloropropane to propene in organohalide-respiring *Chloroflexi*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(3): 808–818.
- [107] Maillard J, Holliger C. The genus *Dehalobacter*// Adrian L, Löffler FE. Organohalide-Respiring Bacteria. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016.
- [108] Siddaramappa S, Challacombe JF, Delano SF, Green LD, Daligault H, Bruce D, Detter C, Tapia R, Han SS, Goodwin L, Han J, Woyke T, Pitluck S, Pennacchio L, Nolan M, Land M, Chang YJ, Kyrpides NC, Ovchinnikova G, Hauser L, Lapidus A, Yan J, Bowman KS, da Costa MS, Rainey FA, Moe WM. Complete genome sequence of *Dehalogenimonas lykanthropopellens* type strain (BL-DC-9(T)) and comparison to “*Dehalococcoides*” strains. *Standards in Genomic Sciences*, 2012, 6(2): 251–264.
- [109] Marzorati M, de Ferra F, van Raemdonck H, Borin S, Alliffranchini E, Carpani G, Serbolisca L, Verstraete W, Boon N, Daffonchio D. A novel reductive dehalogenase, identified in a contaminated groundwater enrichment culture and in *Desulfitobacterium dichloroeliminans* strain DCA1, is linked to dehalogenation of 1,2-dichloroethane. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, 73(9): 2990–2999.
- [110] Duret A, Holliger C, Maillard J. The physiological opportunism of *Desulfitobacterium hafniense* strain TCE1 towards organohalide respiration with tetrachloroethene. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(17): 6121–6127.
- [111] Sanford RA, Chowdhary J, Löffler FE. Organohalide-respiring *Deltaproteobacteria*// Adrian L, Löffler FE. Organohalide-Respiring Bacteria. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016.
- [112] Rupakula A, Lu Y, Kruse T, Boeren S, Holliger C, Smidt H, Maillard J. Functional genomics of corrinoid starvation in the organohalide-respiring bacterium *Dehalobacter restrictus* strain PER-K23. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 5: 751.
- [113] Fennell DE, Gossett JM. Modeling the production of and competition for hydrogen in a dechlorinating culture. *Environmental Science & Technology*, 1998, 32(16): 2450–2460.
- [114] Ballapragada BS, Stensel HD, Ferguson JF. Comment on “comparative kinetics of hydrogen utilization for reductive dechlorination of tetrachloroethene and methanogenesis in an anaerobic enrichment culture”. *Environmental Science & Technology*, 1997, 31(4): 1250.
- [115] Aulenta F, Pera A, Rossetti S, Papini MP, Majone M. Relevance of side reactions in anaerobic reductive dechlorination microcosms amended with different electron donors. *Water Research*, 2007, 41(1): 27–38.
- [116] Zhang HS, Ziv-El M, Rittmann BE, Krajmalnik-Brown R. Effect of dechlorination and sulfate reduction on the microbial community structure in denitrifying membrane-biofilm reactors. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(13): 5159–5164.
- [117] Berggren DRV, Marshall IPG, Azizian MF, Spormann AM, Semprini L. Effects of sulfate reduction on the bacterial community and kinetic parameters of a dechlorinating culture under chemostat growth conditions. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(4): 1879–1886.
- [118] Diekert G, Wohlfarth G. Metabolism of homoacetogens. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1994, 66(1/2/3): 209–221.
- [119] Heimann AC, Batstone DJ, Jakobsen R. *Methanosarcina* spp. drive vinyl chloride dechlorination via interspecies hydrogen transfer. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(4): 2942–2949.
- [120] Löffler FE, Sanford RA. Analysis of trace hydrogen metabolism. *Methods in Enzymology*, 2005, 397: 222–237.
- [121] Yang Y, Sanford R, Yan J, Chen G, Cápiro NL, Li XY, Löffler FE. Roles of organohalide-respiring *Dehalococcoidia* in carbon cycling. *mSystems*, 2020, 5(3): e00757–e00019.
- [122] Grostern A, Edwards EA. A 1,1,1-trichloroethane-degrading anaerobic mixed microbial culture enhances biotransformation of mixtures of chlorinated ethenes and ethanes. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(12): 7849–7856.
- [123] Grostern A, Edwards EA. Characterization of a *Dehalobacter* coculture that dechlorinates 1,2-dichloroethane to ethene and identification of the putative reductive dehalogenase gene. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(9): 2684–2693.
- [124] Lee LK, Ding C, Yang KL, He JZ. Complete debromination of tetra- and penta-brominated diphenyl ethers by a coculture consisting of *Dehalococcoides* and *Desulfovibrio* species. *Environmental Science & Technology*, 2011, 45(19): 8475–8482.

- [125] Tang SQ, Gong YC, Edwards EA. Semi-automatic in silico gap closure enabled de novo assembly of two *Dehalobacter* genomes from metagenomic data. *PLoS One*, 2012, 7(12): e52038.
- [126] Mathai PP, Zitomer DH, Maki JS. Quantitative detection of syntrophic fatty acid-degrading bacterial communities in methanogenic environments. *Microbiology: Reading, England*, 2015, 161(6): 1189–1197.
- [127] Schink B, Stams AJM. Syntrophism among prokaryotes//Rosenberg E, De Long EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F. The Prokaryotes: Prokaryotic Communities and Ecophysiology. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013.
- [128] Stams AJM, Plugge CM. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7(8): 568–577.
- [129] Richardson RE. Organohalide-respiring bacteria as members of microbial communities: catabolic food webs and biochemical interactions//Adrian L, Löffler FE. Organohalide-Respiring Bacteria. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016.
- [130] He JZ, Sung Y, Dollhopf ME, Fathepure BZ, Tiedje JM, Löffler FE. Acetate versus hydrogen as direct electron donors to stimulate the microbial reductive dechlorination process at chloroethene-contaminated sites. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(18): 3945–3952.
- [131] Schipp CJ, Marco-Urrea E, Kublik A, Seifert J, Adrian L. Organic cofactors in the metabolism of *Dehalococcoides mccartyi* strains. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2013, 368(1616): 20120321.
- [132] Türkowsky D, Jehmlich N, Diekert G, Adrian L, von Bergen M, Goris T. An integrative overview of genomic, transcriptomic and proteomic analyses in organohalide respiration research. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, 94(3): fty013.
- [133] Yi S, Seth EC, Men YJ, Stabler SP, Allen RH, Alvarez-Cohen L, Taga ME. Versatility in corrinoid salvaging and remodeling pathways supports corrinoid-dependent metabolism in *Dehalococcoides mccartyi*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(21): 7745–7752.
- [134] Wu GY. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. *Amino Acids*, 2009, 37(1): 1–17.
- [135] Marco-Urrea E, Seifert J, von Bergen M, Adrian L. Stable isotope peptide mass spectrometry to decipher amino acid metabolism in *Dehalococcoides* strain CBDB1. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(16): 4169–4177.
- [136] Tang YJ, Yi S, Zhuang WQ, Zinder SH, Keasling JD, Alvarez-Cohen L. Investigation of carbon metabolism in “*Dehalococcoides ethenogenes*” strain 195 by use of isotopomer and transcriptomic analyses. *Journal of Bacteriology*, 2009, 191(16): 5224–5231.
- [137] Lee PKH, Dill BD, Louie TS, Shah M, Verberkmoes NC, Andersen GL, Zinder SH, Alvarez-Cohen L. Global transcriptomic and proteomic responses of *Dehalococcoides ethenogenes* strain 195 to fixed nitrogen limitation. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(5): 1424–1436.
- [138] Lee PKH, He JZ, Zinder SH, Alvarez-Cohen L. Evidence for nitrogen fixation by “*Dehalococcoides ethenogenes*” strain 195. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(23): 7551–7555.
- [139] Wang PH, Tang SQ, Nemr K, Flick R, Yan J, Mahadevan R, Yakunin AF, Löffler FE, Edwards EA. Refined experimental annotation reveals conserved corrinoid autotrophy in chloroform-respiring *Dehalobacter* isolates. *Multidisciplinary Journal of Microbial Ecology*, 2017, 11(3): 626–640.
- [140] Hulshoff Pol LW, de Castro Lopes SI, Lettinga G, Lens PNL. Anaerobic sludge granulation. *Water Research*, 2004, 38(6): 1376–1389.
- [141] Ishii S, Kosaka T, Hori K, Hotta Y, Watanabe K. Coaggregation facilitates interspecies hydrogen transfer between *Pelotomaculum thermopropionicum* and *Methanothermobacter thermautotrophicus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(12): 7838–7845.
- [142] Stams AJM, Worm P, Sousa DZ, Alves MM, Plugge CM. Syntrophic degradation of fatty acids by methanogenic communities//Hallenbeck PC. Microbial Technologies in Advanced Biofuels Production. Boston, MA: Springer US, 2012.
- [143] Rotaru AE, Shrestha PM, Liu F, Markovaite B, Chen S, Nevin KP, Lovley DR. Direct interspecies electron transfer between *Geobacter metallireducens* and *Methanosarcina barkeri*. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014, 80(15): 4599–4605.
- [144] Liu X, Huang LY, Rensing C, Ye J, Nealson KH, Zhou SG. Syntrophic interspecies electron transfer drives carbon fixation and growth by *Rhodospseudomonas palustris* under dark, anoxic conditions. *Science*

- Advances*, 2021, 7(27): eabh1852.
- [145] Grotenhuis JTC, Smit M, Lammeren AAM, Stams AJM, Zehnder AJB. Localization and quantification of extracellular polymers in methanogenic granular sludge. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 1991, 36(1): 115–119.
- [146] Ishii S, Kosaka T, Hotta Y, Watanabe K. Simulating the contribution of coaggregation to inter species hydrogen fluxes in syntrophic methanogenic consortia. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(7): 5093–5096.
- [147] Raes J, Bork P. Molecular eco-systems biology: towards an understanding of community function. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, 6(9): 693–699.
- [148] Ross BN, Whiteley M. Ignoring social distancing: advances in understanding multi-species bacterial interactions. *Faculty Reviews*, 2020, 9: 23.
- [149] 陈沫先, 韦中, 田亮, 谭扬, 黄建东, 戴磊. 合成微生物群落的构建与应用. *科学通报*, 2021, 66(3): 273–283.
Chen MX, Wei Z, Tian L, Tan Y, Huang JD, Dai L. Design and application of synthetic microbial communities. *Chinese Science Bulletin*, 2021, 66(3): 273–283. (in Chinese)
- [150] Parfrey LW, Walters WA, Knight R. Microbial eukaryotes in the human microbiome: ecology, evolution, and future directions. *Frontiers in Microbiology*, 2011, 2: 153.



杨毅, 博士, 研究员, 博士生导师。2007、2009 年于武汉大学获得环境工程、法学双学士学位、环境工程硕士学位; 2012、2016 年于美国田纳西大学获得环境工程硕士和博士学位; 2017 年至 2018 年在美国佐治亚大学海洋科学系从事博士后研究; 2018 年 5 月进入中国科学院沈阳应用生态研究所工作。多年来一直从事环境微生物及其应用研究, 包括发现新型一氯乙烯厌氧降解微生物(*Dehalogenimonas*), 分离两株低 pH 值有机氯厌氧降解微生物(*Sulfurospirillum*), 以及利用 VBA 语言开发 BioPIC 工具用于污染场地清除技术评估等。近年来主持国家自然科学基金青年、面上项目, 中国科学院基础前沿科学研究计划从 0 到 1 原始创新项目, “场地土壤污染成因与治理技术”重点专项子课题等项目。发表中英文论文 26 篇。



严俊, 中国科学院沈阳应用生态研究所研究员。主要从事有机卤呼吸、维生素 B₁₂ 合成等厌氧过程及相关的微生物生态研究, 尤其关注原位修复土壤与地下水环境中典型有机污染物的生物降解技术。近年来主持国家自然科学基金面上项目、科技部重点研发专项课题, 参与国家自然科学基金重点项目、美国国家卫生研究院 R01 项目。在 *Nature Chemical Biology*、*The ISME Journal*、*Environmental Microbiology*、*Environmental Science & Technology*、*Applied and Environmental Microbiology* 等期刊发表 SCI 论文 40 余篇, 论文被引用约 1 800 次。