

地下水脱卤过程中的微生物种间代谢互作：提高原位氯代烯烃厌氧脱氯效能的有效途径

王泽懿¹，吕梦冉¹，于洋¹，张悦妍¹，温丽莲^{*2}，李昂^{*1}

1 哈尔滨工业大学环境学院，黑龙江 哈尔滨 150090

2 湖北大学资源与环境学院，湖北 武汉 430062

王泽懿，吕梦冉，于洋，张悦妍，温丽莲，李昂. 地下水脱卤过程中的微生物种间代谢互作：提高原位氯代烯烃厌氧脱氯效能的有效途径[J]. 微生物学通报, 2023, 50(4): 1576-1590.

WANG Zeyi, LÜ Mengran, YU Yang, ZHANG Yueyan, WEN Lilian, LI Ang. Metabolic interactions among microbial species during groundwater dehalogenation: an effective way to improve *in-situ* anaerobic dechlorination of chlorinated ethenes[J]. Microbiology China, 2023, 50(4): 1576-1590.

摘要：有机卤呼吸细菌(organohalide-respiring bacteria, OHRB)在氯代烯烃污染地下水的原位生物修复中扮演着关键性的角色，提高其丰度及活性对氯代烯烃的完全去除具有重要意义。在实际环境中，有机卤呼吸细菌往往与多种微生物共存，微生物种间代谢互作现象十分普遍，有机污染物的完全无害化往往需要通过微生物菌群的协同代谢作用来实现。因此，本文围绕微生物种间代谢互作进行综述，对目前获得的脱氯微生物菌种资源及脱氯机理进行了回顾，重点阐述了专性 OHRB、非专性 OHRB 和非 OHRB 的种间代谢互作行为及机制，并提出以种间代谢互作为指导进行合成微生物群落的构建来有效提高氯代烯烃厌氧生物降解效率，为实现环境氯代烯烃类有机污染物的快速、彻底无害化提供理论指导。

关键词：微生物种间代谢互作；有机卤呼吸细菌；合成微生物群落；氯代烯烃；厌氧脱氯

资助项目：国家重点研发计划(2020YFC1808204-01)；国家自然科学基金青年项目(202110801683004)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2020YFC1808204-01) and the National Natural Science Foundation of China Youth Program (202110801683004).

*Corresponding authors. E-mail: WEN Lilian, wll@hubu.edu.cn; LI Ang, li.ang@hit.edu.cn

Received: 2022-07-30; Accepted: 2022-10-06; Published online: 2022-11-17

Metabolic interactions among microbial species during groundwater dehalogenation: an effective way to improve *in-situ* anaerobic dechlorination of chlorinated ethenes

WANG Zeyi¹, LÜ Mengran¹, YU Yang¹, ZHANG Yueyan¹, WEN Lilian^{*2}, LI Ang^{*1}

1 School of Environment, Harbin Institute of Technology, Harbin 150090, Heilongjiang, China

2 School of Resources and Environmental Science, Hubei University, Wuhan 430062, Hubei, China

Abstract: Organohalide-respiring bacteria (OHRB) play a key role in the *in-situ* bioremediation of chlorinated ethenes-contaminated groundwater. Improving the abundance and activity of OHRB is of great significance for the complete removal of chlorinated ethenes. Given that OHRB tend to coexist with multifarious microorganisms, metabolic interaction among microbial species has been considered to be a common phenomenon. The complete innocuity of organic pollutants requires the cooperative metabolism of microbial flora. Therefore, from the perspective of interspecific metabolic interaction of microorganisms, this paper presented a brief review of the current dechlorinating microbial resources as well as the mechanism of the dechlorination, particularly the interspecific metabolic interaction of obligate OHRB, non-obligate OHRB and non-OHRB, and the mechanisms. Moreover, we proposed to construct the synthetic microbial community based on interspecific interaction to improve the anaerobic biodegradation efficiency of chlorinated ethenes, hoping to guide the rapid and complete innocuity of chlorinated ethenes in the environment.

Keywords: metabolic interactions among microbial species; organohalide-respiring bacteria; synthetic microbiome; chlorinated ethenes; anaerobic dechlorination

氯代烯烃作为一类重要的工业生产原料, 被广泛应用于化工业、制药业、印染业及农业等众多领域^[1-2]。然而, 由于生产和使用过程中不合理的处置及地下储罐渗漏等原因, 地下水等环境已被四氯乙烯(tetrachloroethylene, PCE)、三氯乙烯(trichloroethylene, TCE)等氯代烯烃污染^[3]。近年来, 地下水安全越来越受到公众重视。研究表明, 近几十年来在受污染的地下水中普遍检测到 PCE 和 TCE^[4]。PCE 和 TCE 等氯代烯烃具有致癌性, 已被列入有毒有害水污染物名录^[5]。地下水氯代烯烃污染状况已不容忽视, 对其进行修复、治理及防范势在必行。根据修复原理和机制的不同, 目前已有的针对氯

代烯烃污染地下水的修复技术可分为物理、化学及生物三类。其中, 微生物修复因具有易于原位修复、经济高效、无二次污染、费用低等优势, 被认为是较为理想的修复技术^[6]。

在地下水中, PCE 和 TCE 等氯代烯烃会向下迁移, 最终转移到溶解氧及氧化还原电位极低的厌氧区域, 因此, 地下水环境中微生物厌氧还原脱氯成为最主要的生物修复方式。微生物在地下水环境中以群落的形式存在, 具有脱氯能力的微生物往往与其他微生物共存, 微生物间存在着互惠/偏利/竞争等复杂的种群相互作用关系^[7]。对于脱氯微生物而言, 足够的电子供体、适当的辅酶因子对其生长繁殖及脱氯

效能具有至关重要的作用^[8-9]。然而,微生物对代谢底物的竞争导致种群间发生抑制性相互作用,使脱氯微生物丰度及活性降低,延长了氯代烯烃的无害化进程。与此同时,地下水环境中的其他功能微生物可以与脱氯微生物形成相互促进的网络代谢关系。例如,非脱氯菌群可以通过协同代谢作用为脱氯微生物提供营养物质和电子供体,解决地下水营养贫瘠的问题,以实现有机污染物的完全无害化^[10-11]。因此,精准调控菌群间的相互作用以促进脱氯微生物的生长繁殖并提升生物修复效率是近年来研究人员关注的热点,越来越多的研究从微生物种群间的促进性相互作用入手,通过相应处理技术来提高对环境中有机污染物的去除效率。

本文围绕地下水氯代烯烃脱氯过程中的微生物种间代谢互作,综述了具有厌氧还原脱氯能力的微生物,并概述了有机卤呼吸细菌(organohalide-respiring bacteria, OHRB)的脱氯机制及目前微生物厌氧还原脱氯所面临的瓶颈问题;并以此为基础,对专性有机卤呼吸细菌、非专性有机卤呼吸细菌和非有机卤呼吸细菌的种间代谢互作行为及机制进行重点阐述,提出以微生物种间代谢互作为原则构建微生物群落来有效提高专性脱卤菌厌氧还原脱氯效率,以期为实现环境氯代烯烃类有机污染物的快速、彻底无害化提供理论指导及技术方案。

1 微生物厌氧还原脱氯的研究进展

有机卤呼吸细菌是指以有机卤化物作为最终电子受体进行产能代谢的细菌^[12]。在整个过程中,有机卤化物中的碳-卤键断裂,有机卤取代基以无机卤的形式被释放,进而实现细胞的生长和有机物的消除^[13]。微生物厌氧还原脱氯

通常由有机卤呼吸细菌完成,电子传递链在还原脱氯过程中发挥着至关重要的作用。

1.1 有机卤呼吸细菌的种类

目前,已分离得到的有机卤呼吸细菌主要分布于变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)及绿屈挠菌门(*Chloroflexi*)。根据是否以有机卤化物作为唯一电子受体可将 OHRB 进一步划分为专性 OHRB 及非专性 OHRB^[14]。其中,非专性 OHRB 主要分布于变形菌门及厚壁菌门,主要种类包括脱硫念珠菌(*Desulfomonile*)、氯乙烯脱硫单胞菌(*Desulfuromonas chloroethenica*)、脱硫弧菌(*Desulfovibrio*)、地杆菌(*Geobacter*)、多食硫化螺旋菌(*Sulfurospirillum multivorans*)、脱亚硫酸杆菌(*Desulfitobacterium*)等^[15-18]。这些微生物可用的电子供体较为广泛(乳酸、丙酮酸、葡萄糖等),有些种属不仅可以进行厌氧还原脱氯作用,还具有产乙酸、电子传递等特殊性能。但上述非专性 OHRB 有一个共同特点,即只能将 PCE/TCE 部分脱氯至毒性更大的低含氯有机物 DCE,因此,采取上述微生物进行生物修复无法满足实际需求^[10]。

目前,分离得到的专性 OHRB 均属于绿屈挠菌门,包括脱卤拟球菌(*Dehalococcoides*)和脱卤单胞菌(*Dehalogenimonas*)等^[19]。不同于非专性 OHRB,专性 OHRB 可将 PCE/TCE 等高氯代烯烃彻底还原为无毒物质乙烯(ethylene, ETH),实现有机污染物的无毒化。1997 年,Maymó-Gatell 等成功从自然界中分离纯化得到了第一株具有完全脱氯能力的专性 OHRB 麦卡蒂氏脱卤拟球菌(*Dehalococcoides mccartyi* strain, Dhc) 195^[20]。此后,相继从受污染的地下水、含水层及消化污泥等环境中分离出脱卤拟球菌 NIT01、GEO12、BAV1、CBDB1、FL2、GT、VS、CG-1 和 CG-5 等。然而,它们只能以氢气作为电子供体,以氯代烯烃等卤化物作为

电子受体, 详细信息见表 1。相较于其他已经得到深入研究的脱卤微生物种属, 脱卤单胞菌属(*Dehalogenimonas*)是近年来发现的新型专性有机卤呼吸细菌, 目前仅分离得到了 6 株纯培养菌株, 包含 3 个正式命名的种: *Dehalogenimonas lykanthroporepellens*、*Dehalogenimonas alkenignignens* 和 *Dehalogenimonas formicexedens*, 以及尚未正式命名的种 *Candidatus Dehalogenimonas etheniformans*, 菌种资源有待进一步开发^[31-34]。这些已分离得到的专性 OHRB 具有相同或高度类似特征。例如, 均为革兰氏阴性细菌, 生长严格厌氧, 耐受一定浓度的氨苄青霉素(1.0 g/L), 只能以氢气或甲酸盐为电子供体等^[34]。筛选获得具有较优降解性能及不同代谢性质的 OHRB 以扩充菌种资源库、提高对微生物还原脱氯的认识是目前的一大研究方向。不同代谢性质的高效微生物共存于同一环境中, 如果相互之间生态位分离, 形成了互生关系, 就能产生协同作用, 相互提供营养及其他生活条件, 进而实现对有机污染物的高效降解^[35]。

1.2 微生物厌氧还原脱氯机制

研究表明, OHRB 的高效还原脱氯是通过电子传递链实现的, 对 OHRB 的电子传递链进行研究有助于更深层次地理解还原脱氯过程, 为实现微生物的高效还原脱氯提供理论基础。如图 1 所示, 非专性 OHRB 的电子传递链主要由 3 部分组成: 氢化酶、电子载体醌(甲基萘醌)及末端还原脱卤酶(reductive dehalogenase, RDase)^[36]。氢气经由氢化酶分解生成电子及质子, 其中电子经由电子载体醌传递至脱卤酶, 并利用脱卤酶实现高氯代有机卤化物的还原^[37-38]。不同于非专性 OHRB 的醌依赖型电子传递方式, 专性 OHRB 依赖于铁硫簇钼酶簇(complex iron-sulfur molybdoenzyme, CISM)代替醌将电子传递至末端还原脱卤酶^[39]。因此, 不同类型 OHRB 的电子传递链在组成上存在一定差异, 这种差异为提高 OHRB 的丰度及活性提供了有效参考^[40]。

还原脱卤酶(reductive dehalogenase, RDase)在氯代烯烃的还原过程中起着关键性作用, 如图 2 所示, OHRB 具有以下几种还原脱卤酶^[41]:

表 1 具有氯代烯烃降解能力的脱卤拟球菌

Table 1 *Dehalococcoides* with the ability to degrade chlorinated ethenes

菌株名称 Strain name	电子受体 Electron acceptor	最终产物 Final product	还原脱卤酶 RDase	参考文献 References
NIT01	TCE	ETH	PceA/VcrA	[16]
195	PCE/TCE	VC, ETH	PceA/TceA	[20]
CBDB1	PCE/TCE	DCEs	CbrA	[21]
FL2	TCE	VC, ETH	TceA	[22]
GT	TCE	ETH	VcrA	[23]
VS	DECs/VC	ETH	VcrA	[24]
CG-1	PCE/PCBs	ETH	PcbA1	[25]
CG-5	PCE/PCBs	ETH	PcbA5	[25]
CG-4	PCE/PCBs	ETH	PcbA4	[26]
11a5	PCE	ETH	PteA	[27]
GEO12	TCE	ETH	TceA/VcrA	[28]
BAV1	DCEs/VC	ETH	BvcA	[29]
BTF08	PCE/TCE	ETH	PceA/TceA	[30]

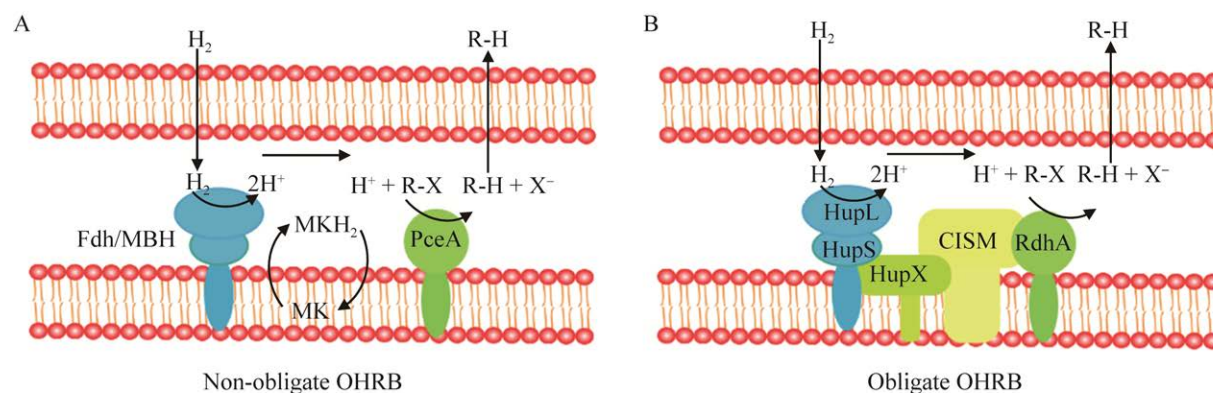


图 1 有机卤呼吸细菌电子传递链示意图 A: 非专性 OHRB 电子传递链. Fdh/MBH: 甲酸脱氢酶/膜结合 NiFe 氢化酶; MK/MKH₂: 甲基萘醌类; PceA: PCE 还原脱卤酶. B: 专性 OHRB 电子传递链. HupL/HupS/HupX: 氢化酶; CISM: 铁硫簇钼酶簇; RdhA: 还原脱卤酶

Figure 1 Diagram of the electron transport chains in organohalide-respiring bacteria. A: The non-obligate OHRB electron transport chains. Fdh/MBH: Formate dehydrogenase/membrane-bound NiFe hydrogenase; MK/MKH₂: Menaquinones; PceA: PCE-RDase. B: Obligate OHRB electron transport chains. HupL/HupS/HupX: Hydrogenase; CISM: Complex iron-sulfur molybdoenzyme; RdhA: Reductive dehalogenase.

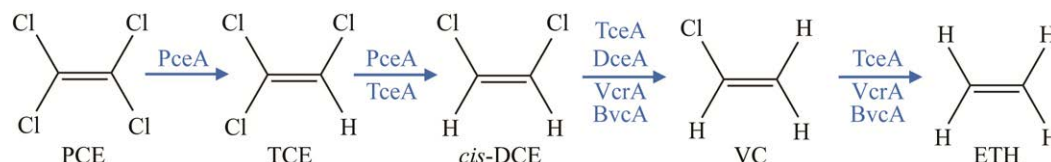


图 2 四氯乙烯微生物厌氧还原脱氯过程中涉及还原脱卤酶示意图 PCE: 四氯乙烯; TCE: 三氯乙烯; *cis*-DCE: 顺-1,2-二氯乙烯; VC: 氯乙烯; ETH: 乙烯; PceA: PCE 还原脱卤酶; TceA: TCE 还原脱卤酶; DceA: DCE 还原脱卤酶; VcrA: VC 还原脱卤酶; BvcA: VC 还原脱卤酶

Figure 2 Diagram of RDase involved in microbial anaerobic reduction dechlorination of tetrachloroethylene. PCE: Tetrachloroethylene; TCE: Trichloroethylene; *cis*-DCE: *cis*-1,2-dichloroethene; VC: Vinyl chloride; ETH: Ethylene; PceA: PCE-RDase; TceA: TCE-RDase; DceA: DCE-RDase; VcrA: VC-RDase; BvcA: VC-RDase.

由基因 *pceA* 编码的 PCE 还原脱卤酶(PCE-RDase)将 PCE/TCE 还原转化为顺-1,2-二氯乙烯(*cis*-1,2-dichloroethene, *cis*-DCE); 由基因 *tceA* 编码的 TCE 还原脱卤酶(TCE-RDase)将 TCE、*cis*-DCE 转化为氯乙烯(vinyl chloride, VC)、ETH; 由基因 *dceA* 编码的 DCE 还原脱卤酶(DCE-RDase)将 *cis*-DCE 还原为 VC; 由基因 *vcrA* 编码的 VC 还原脱卤酶(VC-RDase)将

cis-DCE、VC 还原至无毒产物 ETH; 由 *bvcA* 基因编码的 VC-RDase 将 VC 还原为 ETH^[42-43]。上述不同的还原脱卤酶功能各异, 负责不同氯代烯烃的降解, 而且分别存在于不同类型的专性 OHRB 中, 这种特异性为深入研究专性 OHRB 的脱氯机制提供了有利参考^[36]。研究表明, 所有已被生化鉴定的还原性脱卤酶的催化亚单位中基本都包含维生素 B₁₂ (vitamin B₁₂,

VB₁₂辅因子和铁硫簇, 通过 VB₁₂ 氧化态与还原态的转换将电子传递至有机氯代物, 进而形成卤-钴复合物将有机氯代物还原, 而且目前所分离得到的所有专性有机卤呼吸细菌的脱卤酶活性中心均为钴胺酰胺^[44]。然而大量的研究表明, 这些专性 OHRB 自身却不存在能够从头合成钴胺酰胺的基因, 只能从外界环境中吸收已有的钴胺酰胺, 环境中钴胺酰胺是否存在及其浓度变化将直接影响脱卤酶活力^[44-45]。

综上所述, 专性 OHRB 在氯代烯烃等有机污染物的彻底无害化中扮演着关键性的角色。然而, 目前分离得到的专性 OHRB 代谢性质较为单一, 可利用的电子供体、碳源类型较少, 电子传递链的关键组分脱卤酶活性受外界环境影响较大, 导致在地下水等环境中该细菌的丰度及活性较低, 影响了生物修复的效果^[46], 而专性 OHRB、非专性 OHRB 电子传递方式的差异为提升脱卤菌的脱氯效率提供了新思路。如在脱卤拟球菌(*Dhc* 195)降解 TCE 的培养体系中添加奥奈达湖希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*) MR-1 后, TCE 完全脱氯到 ETH 的时间从 24 d 缩短至 16 d, 大幅度提高了专性 OHRB 的还原脱氯效率; 对这一现象进行研究发现, 菌株 MR-1 在自身效能稳定发挥的同时在一定程度上增强了专性 OHRB 的电子传递效率, 使专性 OHRB 的代谢活性得到提高^[47]。因此, 在未来的研究中可基于对微生物厌氧还原脱氯机理的深入剖析, 从专性 OHRB、非专性 OHRB 及非 OHRB 生理特性、电子传递方式的差异入手, 通过相应的处理手段来促进脱氯微生物的生长代谢和还原脱氯。

1.3 微生物厌氧还原脱氯面临的瓶颈问题

专性有机卤呼吸细菌丰度及活性较低严重制约了氯代烯烃污染地下水的原位生物修复工作的开展, 多种化学和生物方法已被用来提高

专性有机卤呼吸细菌的生长速率及代谢活性, 但目前仍存在效果不明显、时效性短、成本过高等问题。例如, 添加生长基质这一手段不仅使 OHRB 的丰度及活性得到增强, 环境中其他功能微生物的活性也会得到提高, OHRB 与菌群中的其他功能微生物因竞争关键代谢底物会发生资源竞争等种间抑制性相互作用, 影响菌群的脱氯性能, 导致最终的生物修复效果不如预期目标^[48], 而投加功能菌群则因菌群结构过于简单、未形成代谢网络、相互作用不密切面临着菌群不稳定、易流失等问题^[49]。因此, 明确微生物间的相互作用对提高 OHRB 还原脱氯速度、指导原位生物修复工作的开展具有重要意义。在实际环境中, 专性 OHRB 常与其他功能微生物相互作用形成复杂的脱卤菌群, 进而对所在体系中的氯代烯烃还原脱氯, 实现污染物的无害化^[50-51]。相较于种群间的竞争或抑制效应, 营养交叉喂养、协同代谢等种间代谢互作模式在一定程度上有利于提高环境中脱氯微生物的活性、加速修复速率。利用微生物间的促进性相互作用实现关键代谢物质的自给自足并提高体系内的电子传递效率, 进而提高专性 OHRB 的丰度、增强氯代烯烃的去除效率值得被探讨。

2 微生物种间代谢互作促进氯代烯烃类物质快速降解

2.1 专性 OHRB 与非专性 OHRB 种间代谢互作

在污染物降解过程中, 微生物互作形式主要分为以下几种类型^[52-54]: (1) 并联降解模式, 微生物具有完整降解酶系, 可独立进行降解, 共培养时降解效率提升; (2) 串联降解模式, 降解污染物的过程需降解酶系互补, 构成完整的降解酶系; (3) 微生物-微生物作用间接协助降

解模式, 微生物拥有完整的降解酶系, 与其互作微生物不直接参与污染物降解, 但有助于具有降解功能的微生物的活性发挥; (4) 微生物-污染物作用间接协助降解模式。深刻理解在氯代烯烃降解过程中微生物的种间互作模式有助于更好地管理并利用脱卤菌群。

在实际环境中, 脱卤拟球菌(*Dehalococcoides*)和脱卤单胞菌(*Dehalogenimonas*)等专性有机卤呼吸细菌常与地杆菌(*Geobacter*)、硫化螺旋菌(*Sulfurospirillum*)、脱卤素杆菌(*Dehalobacter*)、沉积物希瓦氏菌(*Shewanella sediminis*)等非专性有机卤呼吸细菌共存^[47]。已有研究表明, 这些非专性 OHRB 除可将高氯代烯烃脱氯还原为低氯代烯烃外, 还可为专性 OHRB 提供乙酸、氢气、VB₁₂ 等生长必需因子, 促进专性 OHRB 的生长; 反过来专性 OHRB 将有机氯化物彻底还原为无毒物质, 为非专性 OHRB 提供较为适宜的生长环境^[55-56]。同时, 各种类型的 OHRB 共存, 从一定程度上促进了高氯代烯烃的逐步还原脱氯^[57-58]。相应示意图如图 3 所示。

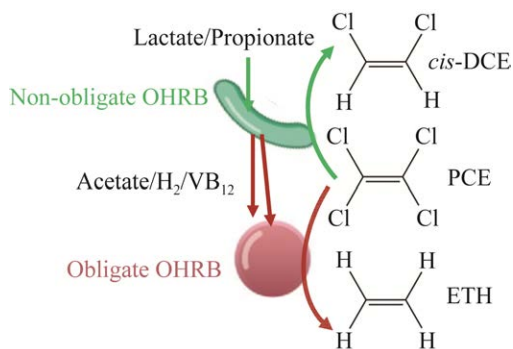


图3 专性 OHRB 与非专性 OHRB 种间代谢互作示意图 *cis*-DCE: 顺-1,2-二氯乙烯; PCE: 四氯乙烯; ETH: 乙烯; VB₁₂: 维生素 B₁₂

Figure 3 Diagram of interspecific metabolic interaction between obligate OHRB and non-obligate OHRB. *cis*-DCE: *cis*-1,2-dichloroethene; PCE: Tetrachloroethylene; ETH: Ethylene; VB₁₂: Vitamin B₁₂.

Liang 等^[59]研究了可将 PCE 还原脱氯为 *cis*-DCE 的地杆菌(*Geobacter lovleyi*) LYY 与麦卡蒂氏脱卤拟球菌(*Dehalococcoides mccartyi*) CG1 间的关系, 结果表明, 当以丙酸为碳源时菌株 LYY 可为脱卤拟球菌提供碳源与电子供体, 同单菌株培养相比, PCE 被完全转化还原的时间提前了 15 d; Yan 等^[29]利用可将 TCE 还原转化为 *cis*-DCE 的地杆菌(*Geobacter lovleyi*) SZ 与麦卡蒂氏脱卤拟球菌(*Dehalococcoides mccartyi*) BAV1/FL2 进行共培养, 发现菌株 SZ 具有产生钴胺酰胺的能力[(12.9±2.4) ng/L], 并且菌株 BAV1/FL2 在无外源钴胺酰胺添加的情况下能够利用菌株 SZ 产生的钴胺酰胺进行正常的生长代谢和还原脱氯; Kruse 等^[30]将麦卡蒂氏脱卤拟球菌(*Dehalococcoides mccartyi*) BTF08 与多食硫化螺旋菌(*Sulfurospirillum multivorans*, 非专性 OHRB, 将 PCE 脱氯还原为 *cis*-DCE)共培养, 发现与单独培养菌株 BTF08 相比, 共培养体系将 PCE 彻底转化为 ETH 的速率提高了 3 倍, 而且多食硫化螺旋菌为菌株 BTF08 提供了碳源、电子供体及辅酶因子。

上述研究显示了专性 OHRB 与非专性 OHRB 的种间正相互作用。在上述反应体系内, 非专性 OHRB 所供给的关键代谢底物在一定程度上增加了专性 OHRB 的代谢活性、电子传递效率及脱卤酶活性, 使得在共培养体系中专性 OHRB 的丰度、活性及还原脱氯效率相比单独培养均得到提高。综合以上分析, 专性 OHRB 与非专性 OHRB 的种间互作属于串联降解模式、微生物-微生物作用间接协助降解模式的结合。在这种培养体系下, 微生物间紧密联系、互依共存, 使自身生长繁殖得到保障的同时加速了有机污染物的降解进程。因此, 在实际修复过程中可以考虑将专性 OHRB 与非专性 OHRB 进行共培养, 通过微生物的种间互作实现高氯代

烯烃的快速还原脱氯。

2.2 专性 OHRB 与非 OHRB 种间代谢互作

除与非专性 OHRB 共存外, 实际环境中专性 OHRB 还与产乙酸菌、产甲烷菌、发酵细菌等微生物共存, 理清这些微生物之间的相互作用关系对实现氯代烯烃的彻底无害化也具有重要意义^[60-61]。这些非 OHRB 如梭菌(*Clostridium*) 发酵有机物产生氢气和乙酸, 为 OHRB 提供电子供体及碳源^[62-63]; 伍氏醋杆菌(*Acetobacterium woodii*)、产甲烷菌产生辅酶因子 VB₁₂, 助力脱卤拟球菌的快速培养^[64-65]; 黏土杆菌(*Pelobacter*) SFB93 可将乙炔这种抑制脱氯菌活性的物质转化为乙酸和氢气, 不仅解除了乙炔的抑制作用, 还为脱氯菌提供了碳源及电子供体^[66]。不同于专性 OHRB 与非专性 OHRB 在污染物降解过程中的种群互作模式, 专性 OHRB 与非 OHRB 间是一种微生物-微生物作用间接协助降解模式, 更类似于一种偏利共生的模式。专性 OHRB 利用体系中非 OHRB 所分泌的代谢产物进行细胞生长耦联还原性脱氯, 而非 OHRB 在这一关系

中解除了有毒物质对自身的毒害作用(相应示意图见图 4)^[67]。

以上所述均是人为建立的共培养体系或筛选得到的混菌体系中所观察到的现象, 微生物间形成了稳定共生的种间互作关系, 在提高相关微生物生长代谢活性的同时实现了污染物的高效去除, 为研究更加复杂的群落关系提供了参考。不仅如此, 这些混菌体系已越来越多地被应用到实际地下水环境中氯代烯烃的生物修复工作中, 并取得了一定的成效, 为实际生物修复尤其是生物强化过程提供了有力支持^[68]。随着合成生物学的发展, 以微生物种间代谢互作为基础进行微生物群落的构建、生物菌剂的研发越来越被研究人员所重视。

3 基于微生物种间代谢互作构建合成微生物群落

微生物种间代谢互作为复合功能微生物菌群的构建及氯代烯烃污染地下水的微生物修

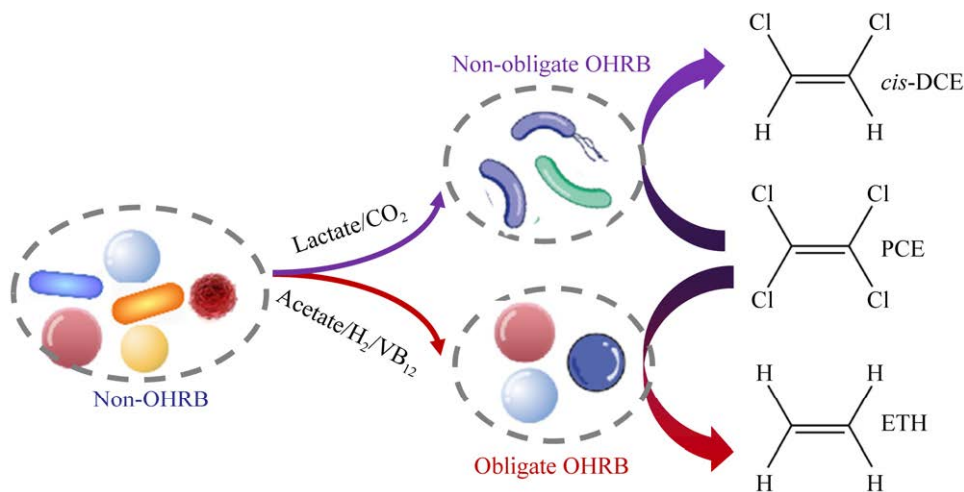


图 4 专性 OHRB 与非 OHRB 种间代谢互作示意图 *cis*-DCE: 顺-1,2-二氯乙烯; PCE: 四氯乙烯; ETH: 乙烯; VB₁₂: 维生素 B₁₂

Figure 4 Diagram of interspecific metabolic interactions between obligate OHRB and non-OHRB. *cis*-DCE: *cis*-1,2-dichloroethene; PCE: Tetrachloroethylene; ETH: Ethylene; VB₁₂: Vitamin B₁₂.

复提供了新思路。生物强化是通过外加功能微生物实现氯代烯烃快速降解的同时为专性 OHRB 提供必要代谢底物,以促进其生长繁殖和还原脱氯。随着对“生物强化”这一概念的深刻理解,混合菌群因生态位广泛、代谢性质多样被越来越多地应用于实际生物强化中。例如,脱氯菌群 KB-1 作为一种商业菌群被广泛使用^[69]。然而,目前得到的具有商业用途的脱氯菌群均为富集产物或采用直接复配的形式(将具有较优性能的微生物通过适当的比例进行组合)人工构建的微生物群落,前者菌群结构复杂,不利于定向调控;后者忽视了脱氯微生物间的相互作用,造成微生物间存在代谢抑制,导致菌群功能稳定性较差,易解体^[70-71]。中国工程院发布的《全球工程前沿 2020》中明确指出在微生物菌群的构建中需要解决这一瓶颈问题,即消除或降低不同功能菌株之间的代谢抑制,突破简单复配造成的代谢抑制瓶颈,使代谢分工更加合理,菌群更加稳定^[49]。如何构建一个较优脱氯菌群并确保功能菌群在系统中的功能与活性稳定,进而增加专性 OHRB 的丰度,突破修复瓶颈,成为了目前科研人员的关注热点。而微生物种间代谢互作恰好为解决目前复合功能微生物菌群构建中存在的问题提供了科学指导^[72-73]。

综上所述,脱氯微生物间存在一定的种间代谢互作,这种正相互作用使微生物互惠共生、紧密联系、协同代谢,在脱氯菌群的效能发挥及功能稳定性上发挥着重要作用。微生物群落并不是微生物个体的简单聚集,而是微生物种群通过复杂的相互作用形成的有机结合体,各微生物间是通过代谢互作方式联系在一起的,即各单一物种的微生物之间存在代谢交换,形成复杂的代谢网络,以此决定菌群活性和功能多样性^[74]。微生物种间代谢互作对维持功能菌

群生物学功能及结构稳定性具有重要意义^[75]。在脱氯菌群构建的过程中,应首先考虑微生物的种间相互作用,并合理利用正相互作用,使微生物之间形成紧密的代谢互作,避免代谢抑制的发生,以提高所构建群落的效能及稳定性。因此,以菌株之间的代谢互作机制为指导原则构建脱氯菌群,可以有效避免生物强化过程中微生物之间潜在的竞争或抑制,确保功能菌群在系统中的功能与活性稳定。

在技术手段方面,随着微生物组学、计算生物学和合成生物学的发展,合成微生物组的理论和方法为突破目前菌群构建过程存在的问题提供了有力手段。合成微生物组是指通过对不同的微生物菌株进行整合,依据相互作用、空间协调、菌群稳定和生物遏制等原则,利用营养互补、代谢途径分割、解除生长抑制和降低突变率等方法构建的微生物群落^[76]。合成微生物组构建的多菌株共培养体系与传统的多菌株混合培养体系不同,菌株的代谢过程经过合理的设计与分工,精确实现所需功能。建立符合需求的合成微生物组,需要经过多个设计-建造-测试-学习(design-build-test-learn, DBTL)循环,从而得出最优组成的微生物群落,克服菌种复配盲目性及缺少高效组合方法和代谢抑制的问题^[77]。作为合成生物学的指导思想,“DBTL 循环”为构建多菌株共培养体系提供了强大工具。通过“DBTL 循环”人工构建的合成微生物菌群相较于富集驯化所得菌群和单一菌株具有如下优势:(1) 结构简单、易于控制;(2) 生物学功能和环境适应性更强;(3) 代谢分工更合理,微生物间存在紧密的种间互作关系;(4) 不易解体,可进行定向调控。合成微生物组因其独有的优势已被应用于脂肪酸的生产及木质素、农药的降解等领域,具有一定的应用潜力,值得深入研究^[78-79]。

通过“DBTL”循环构建合成微生物群落首先应明确微生物间的代谢关系, 通过对微生物的种间代谢互作进行数学分析, 从而理性设计功能微生物群落^[80]。如前所述, 专性 OHRB 与非专性 OHRB 及非 OHRB 间存在一定的种间代谢互作, 可通过基于基因组尺度的代谢模型 (genome scale of metabolic network model, GSMM) 及通量平衡分析 (flux balance analysis, FBA) 等对微生物种间代谢互作进行客观分析, 从而达到理性设计的目的^[81]。利用 DBTL 循环方法精确构建合成微生物群落的一般流程如图 5 所示^[82]。我们认为, 以微生物种间代谢互作为原

则, 应用合成微生物组的方法和手段, 进行合成微生物群落的人工构建是突破现有脱氯菌群构建所面临局限性的一大有力武器。

4 结论与展望

本文对目前获得的脱氯微生物菌种资源及脱氯机理进行了回顾, 以此为基础重点阐述了脱氯微生物种间正相互作用关系, 并提出了人工构建具有高效降解氯代烯烃能力的复合功能微生物菌群的一般方法, 以实现厌氧条件下氯代烯烃类污染物的快速完全脱氯。微生物种间代谢互作对维持功能菌群生物学功能及群落结

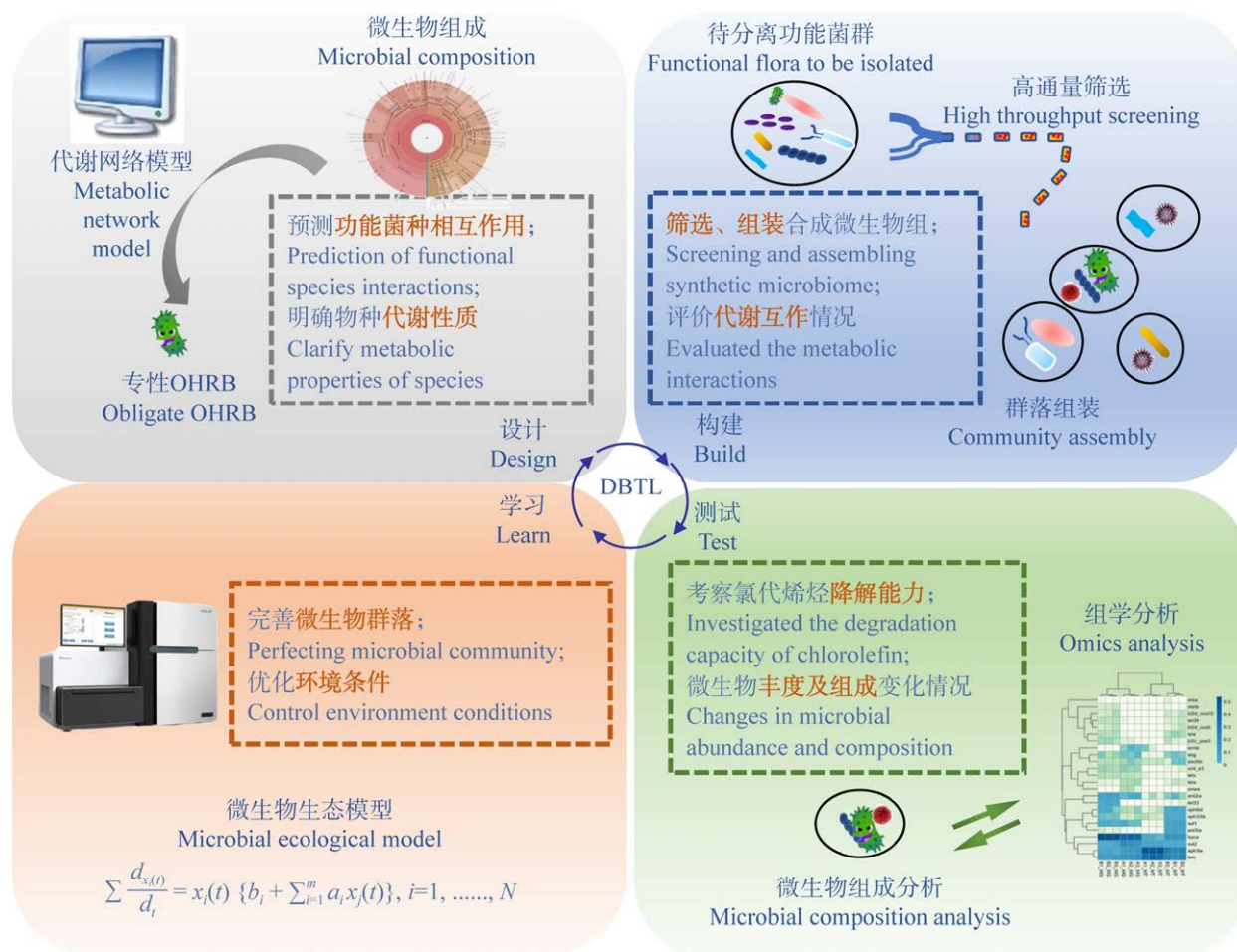


图 5 合成微生物群落构建流程

Figure 5 Construction process of synthetic microbial communities.

构稳定性具有重要意义, 阐明脱氯菌群中专性 OHRB、非专性 OHRB 及非 OHRB 间的代谢互作关系可为氯代烯烃污染场地的高效生物修复提供理论指导。同时, 以微生物种间代谢互作为原则, 提出了结合合成生物学的手段方法进行复合功能微生物菌群的构建, 可为污染场地的实际生物修复提供有力工具。

未来的研究应着力解决以下几个方面的问题: (1) 脱氯微生物种间代谢互作机制的进一步阐明、互作机制的明晰有利于更好地对脱氯菌群进行加工利用; (2) 不同代谢性质的专性有机卤呼吸细菌菌种资源的开发, 不同的代谢性质意味着微生物可能具有不同的生态位水平, 依靠这些具有不同代谢性质的微生物所构建的微生物菌群具有更强的功能稳定性; (3) 针对不同类型的氯代有机污染物进行功能菌群的构建, 对所构建微生物群落的脱氯性能进行优化, 以达到更优的氯代污染物降解效能。

REFERENCES

- [1] LIU N, LI HJ, LI MY, DING LZ, WENG CH, DONG CD. Oxygen exposure effects on the dechlorinating activities of a trichloroethene-dechlorination microbial consortium[J]. *Bioresource Technology*, 2017, 240: 98-105.
- [2] 唐诗月, 王晴, 杨森焱, 宋昕, 虞磊. 共代谢基质强化微生物修复四氯乙烯污染地下水[J]. *环境工程学报*, 2019, 13(8): 1893-1902.
TANG SY, WANG Q, YANG MY, SONG X, YU L. Co-substrates enhanced bioremediation of groundwater contaminated by tetrachloroethylene[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2019, 13(8): 1893-1902 (in Chinese).
- [3] CHEN F, YE Y, FAN BL, LÜ M, LIANG B, LIU WZ, CHENG HY, CHEN YL, LIU Y, WANG YH, WANG AJ, LI ZL. Simultaneous removal of tetrachloroethylene and nitrate with a novel sulfur-packed biocathode system: the synergy between bioelectrocatalytic dechlorination and sulfur autotrophic denitrification[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2022, 439: 135793.
- [4] XIAO ZX, JIANG W, CHEN D, XU Y. Bioremediation of typical chlorinated hydrocarbons by microbial reductive dechlorination and its key players: a review[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 202: 110925.
- [5] CRAMPON M, HELLAL J, MOUVET C, OLLIVIER P. Degradation of tetrachloroethylene by zero valent iron nanoparticles in the presence of a natural groundwater bacterial biofilm in a sandy porous media[J]. *Heliyon*, 2021, 7(1): e05854.
- [6] ELKIN ER, SU AL, KILBURN BA, BAKULSKI KM, ARMANT DR, LOCH-CARUSO R. Toxicity assessments of selected trichloroethylene and perchloroethylene metabolites in three *in vitro* human placental models[J]. *Reproductive Toxicology*, 2022, 109: 109-120.
- [7] OÑA L, GIRI S, AVERMANN N, KREIENBAUM M, THORMANN KM, KOST C. Obligate cross-feeding expands the metabolic niche of bacteria[J]. *Nature Ecology & Evolution*, 2021, 5(9): 1224-1232.
- [8] PAYNE KAP, QUEZADA CP, FISHER K, DUNSTAN MS, COLLINS FA, SJUTS H, LEVY C, HAY S, RIGBY SEJ, LEYS D. Reductive dehalogenase structure suggests a mechanism for B12-dependent dehalogenation[J]. *Nature*, 2015, 517(7535): 513-516.
- [9] WEST KA, LEE PKH, JOHNSON DR, ZINDER SH, ALVAREZ-COHEN L. Global gene expression of *Dehalococcoides* within a robust dynamic TCE-dechlorinating community under conditions of periodic substrate supply[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2013, 110(5): 1333-1341.
- [10] WEN LL, ZHANG Y, CHEN JX, ZHANG ZX, YI YY, TANG YN, RITTMANN BE, ZHAO HP. The dechlorination of TCE by a perchlorate reducing consortium[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 313: 1215-1221.
- [11] 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[J]. *微生物学报*, 2022, 62(6): 2226-2248.
LI XC, LI XY, SONG YF, YAN J, YANG Y. Mechanisms of metabolic interactions in microbial communities harboring organohalide-respiring bacteria[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2226-2248 (in Chinese).
- [12] ADRIAN L, LÖFFLER FE. Organohalide-Respiring Bacteria: An Introduction[M]. *Organohalide-Respiring Bacteria*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2016: 3-6.
- [13] 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[J]. *Biotechnology Advances*, 2018, 36(4): 1194-1206.
- [14] MAPHOSA F, de VOS WM, SMIDT H. Exploiting the ecogenomics toolbox for environmental diagnostics of organohalide-respiring bacteria[J]. *Trends in Biotechnology*, 2010, 28(6): 308-316.
- [15] CHEN K, HUANG LL, XU CF, LIU XM, HE J, ZINDER SH, LI SP, Jiang JD. Molecular characterization of the enzymes involved in the degradation of a brominated aromatic herbicide[J]. *Molecular Microbiology*, 2013, 89(6): 1121-1139.
- [16] ASAI M, YOSHIDA N, KUSAKABE T, ISMAEIL M, NISHIUCHI T, KATAYAMA A. *Dehalococcoides mccartyi* NIT01, a novel isolate, dechlorinates high concentrations of chloroethenes by expressing at least six different reductive dehalogenases[J]. *Environmental Research*, 2022, 207: 112150.
- [17] PÉREZ-DE-MORA A, LACOURT A, MCMASTER ML, LIANG XM, DWORATZEK SM, EDWARDS EA. Chlorinated electron acceptor abundance drives selection of *Dehalococcoides mccartyi* (*D. mccartyi*) strains in dechlorinating enrichment cultures and groundwater environments[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 812.
- [18] PIMVIRIYAKUL P, WONGNATE T, TINIKUL R, CHAIYEN P. Microbial degradation of halogenated aromatics: molecular mechanisms and enzymatic reactions[J]. *Microbial Biotechnology*, 2020, 13(1): 67-86.
- [19] CHEN KZ, LIU ZF, WANG XM, YU CG, YE JX, YU CN, WANG FE, SHEN CF. Enhancement of perchloroethene dechlorination by a mixed dechlorinating culture via magnetic nanoparticle-mediated isolation method[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 786: 147421.
- [20] MAYMÓ-GATELL X, CHIEN Y, GOSSETT JM, ZINDER SH. Isolation of a bacterium that reductively dechlorinates tetrachloroethene to ethene[J]. *Science*, 1997, 276(5318): 1568-1571.
- [21] KUBE M, BECK A, ZINDER SH, KUHL H, REINHARDT R, ADRIAN L. Genome sequence of the chlorinated compound-respiring bacterium *Dehalococcoides* species strain CBDB1[J]. *Nature Biotechnology*, 2005, 23(10): 1269-1273.
- [22] HE JZ, SUNG Y, KRAJMALNIK-BROWN R, RITALAHTI KM, LÖFFLER FE. Isolation and characterization of *Dehalococcoides* sp. strain FL2, a trichloroethene (TCE)- and 1,2-dichloroethene-respiring anaerobe[J]. *Environmental Microbiology*, 2005, 7(9): 1442-1450.
- [23] SUNG Y, RITALAHTI KM, APKARIAN RP, LÖFFLER FE. Quantitative PCR confirms purity of strain GT, a novel trichloroethene-to-ethene-respiring *Dehalococcoides* isolate[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(3): 1980-1987.
- [24] MÜLLER JA, ROSNER BM, von ABENDROTH G, MESHULAM-SIMON G, MCCARTY PL, SPORMANN AM. Molecular identification of the catabolic vinyl chloride reductase from *Dehalococcoides* sp. strain VS and its environmental distribution[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(8): 4880-4888.
- [25] WANG SQ, CHNG KR, WILM A, ZHAO SY, YANG KL, NAGARAJAN N, HE JZ. Genomic characterization of three unique *Dehalococcoides* that respire on persistent polychlorinated biphenyls[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(33): 12103-12108.
- [26] CHEN C, HE JZ. Strategy for the rapid dechlorination of polychlorinated biphenyls (PCBs) by *Dehalococcoides mccartyi* strains[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(23): 13854-13862.
- [27] ZHAO SY, DING C, HE JZ. Genomic characterization of *Dehalococcoides mccartyi* strain 11a5 reveals a circular extrachromosomal genetic element and a new tetrachloroethene reductive dehalogenase gene[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017, 93(4): fiw235.
- [28] DING C, ROGERS MJ, HE JZ. *Dehalococcoides mccartyi* strain GEO12 has a natural tolerance to chloroform inhibition[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(14): 8750-8759.
- [29] YAN J, RITALAHTI KM, WAGNER DD, LÖFFLER FE. Unexpected specificity of interspecies cobamide transfer from *Geobacter* spp. to organohalide-respiring *Dehalococcoides mccartyi* strains[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78(18): 6630-6636.
- [30] KRUSE S, TÜRKOWSKY D, BIRKIGT J, MATTURRO B, FRANKE S, JEHLICH N, von BERGEN M, WESTERMANN M, ROSSETTI S, NIJENHUIS I, ADRIAN L, DIEKERT G, GORIS T. Interspecies metabolite transfer and aggregate formation in a co-culture of *dehalococcoides* and *sulfurospirillum* dehalogenating tetrachloroethene to ethene[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15: 1794-1809.
- [31] YAN J, RASH BA, RAINEY FA, MOE WM. Isolation of novel bacteria within the chloroflexi capable of reductive dechlorination of 1,2,3-trichloropropane[J].

- Environmental Microbiology, 2009, 11(4): 833-843.
- [32] 杨毅, 张耀之, 李秀颖, 曾祥峰, 宋玉芳, 严俊. 脱卤球菌纲(*Dehalococcidia* Class)在有机卤化物生物地球化学循环中的作用[J]. 环境科学学报, 2019, 39(10): 3207-3214.
- YANG Y, ZHANG YZ, LI XY, ZENG XF, SONG YF, YAN J. Roles of *Dehalococcidia* Class in the biogeochemical cycle of organohalides[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2019, 39(10): 3207-3214 (in Chinese).
- [33] KEY TA, BOWMAN KS, LEE I, CHUN J, ALBUQUERQUE L, da COSTA MS, RAINEY FA, MOE WM. *Dehalogenimonas formicexedens* sp. nov., a chlorinated alkane-respiring bacterium isolated from contaminated groundwater[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(5): 1366-1373.
- [34] 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[J]. 微生物学报, 2021, 61(4): 1016-1029.
- LÜ Y, LI XY, WANG JJ, JIN HJ, CUI YR, YANG Y, YAN J. Isolation and basic characterization of a novel organohaliderespiring bacterium within the genus *Dehalogenimonas*[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(4): 1016-1029 (in Chinese).
- [35] 王歆鑫. 复合功能菌剂制备及其原位修复阿特拉津污染农田的应用[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2020.
- WANG XX. Preparation of compound functional bacterial agent and its application in repairing atrazine contaminated farmland *in situ*[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2020 (in Chinese).
- [36] MCMURDIE PJ, BEHRENS SF, MÜLLER JA, GÖKE 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*[J]. *PLoS Genetics*, 2009, 5(11): e1000714.
- [37] HARTWIG S, DRAGOMIROVA N, KUBLIK A, TÜRKOWSKY D, von BERGEN M, LECHNER U, ADRIAN L, SAWERS RG. A H₂-oxidizing, 1,2,3-trichlorobenzene-reducing multienzyme complex isolated from the obligately organohalide-respiring bacterium *Dehalococcoides mccartyi* strain CBDB1[J]. *Environmental Microbiology Reports*, 2017, 9(5): 618-625.
- [38] LI YR, ZHAO HP, ZHU LZ. Iron sulfide enhanced the dechlorination of trichloroethene by *Dehalococcoides mccartyi* strain 195[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 665281.
- [39] AULENTA F, MAIO VD, FERRI T, MAJONE M. The humic acid analogue anthraquinone-2,6-disulfonate (AQDS) serves as an electron shuttle in the electricity-driven microbial dechlorination of trichloroethene to *cis*-dichloroethene[J]. *Bioresource Technology*, 2010, 101(24): 9728-9733.
- [40] KUBLIK A, DEOBALD D, HARTWIG S, SCHIFFMANN CL, ANDRADES A, von BERGEN M, SAWERS RG, Adrian L. Identification of a multi-protein reductive dehalogenase complex in *Dehalococcoides mccartyi* strain CBDB1 suggests a protein-dependent respiratory electron transport chain obviating quinone involvement[J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18(9): 3044-3056.
- [41] DOLINOVÁ I, ŠTROJSOVÁ M, ČERNÍK M, NĚMEČEK J, MACHÁČKOVÁ J, ŠEVČŮ A. Microbial degradation of chloroethenes: a review[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2017, 24(15): 13262-13283.
- [42] YAN J, WANG JJ, VILLALOBOS SOLIS MI, JIN HJ, CHOUREY K, LI XY, YANG Y, YIN YC, HETTICH RL, LÖFFLER FE. Respiratory vinyl chloride reductive dechlorination to ethene in TceA-expressing *Dehalococcoides mccartyi*[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(8): 4831-4841.
- [43] ANG TF, MAIANGWA J, SALLEH AB, NORMI YM, LEOW TC. Dehalogenases: from improved performance to potential microbial dehalogenation applications[J]. *Molecules*: Basel, Switzerland, 2018, 23(5): 1100.
- [44] WEN LL, LI YR, ZHU LZ, ZHAO HP. Influence of non-dechlorinating microbes on trichloroethene reduction based on vitamin B₁₂ synthesis in anaerobic cultures[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 259: 113947.
- [45] MEN YJ, LEE PKH, HARDING KC, ALVAREZ-COHEN L. Characterization of four TCE-dechlorinating microbial enrichments grown with different cobalamin stress and methanogenic conditions[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97(14): 6439-6450.
- [46] 李海军. 三氯乙烯污染地下水厌氧生物修复研究[D]. 长春: 吉林大学博士学位论文, 2016.
- LI HJ. Study on bioremediation of trichloroethylene-contaminated groundwater by an anaerobic enrichment culture[D]. Changchun: Doctoral Dissertation of Jilin University, 2016 (in Chinese).
- [47] LI YR, WEN LL, ZHAO HP, ZHU LZ. Addition of *Shewanella oneidensis* MR-1 to the *Dehalococcoides*-containing culture enhances the trichloroethene

- dechlorination[J]. *Environment International*, 2019, 133: 105245.
- [48] LO KH, LU CW, LIN WH, CHIEN CC, CHEN SC, KAO CM. Enhanced reductive dechlorination of trichloroethene with immobilized *Clostridium butyricum* in silica gel[J]. *Chemosphere*, 2020, 238: 124596.
- [49] 中国工程院全球工程前沿项目组. 全球工程前沿 2020[M]. 北京: 高等教育出版社, 2020.
- Global Engineering Frontier Project Group of Chinese Academy of Engineering. *Global Engineering Frontier 2020*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2020 (in Chinese).
- [50] LU CW, KAO CM, LE NN, LIN CC, CHEN SC. Long-term dechlorination of *cis*-DCE to ethene with co-immobilized *Dehalococcoides mccartyi* BAV1 and *Clostridium butyricum* in silica gel system[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 430: 128355.
- [51] LI YR, ZHAO HP, ZHU LZ. Remediation of soil contaminated with organic compounds by nanoscale zero-valent iron: a review[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 760: 143413.
- [52] 黄慧. 四氢呋喃降解菌群的富集与重建及降解菌 ZM07 与非降解菌互作机制研究[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2021.
- HUANG H. Enrichment and reconstruction of tetrahydrofuran-degrading microbial culture and interactions between degrading bacterium ZM07 and non-degrading bacteria[D]. Hangzhou: Doctoral Dissertation of Zhejiang University, 2021 (in Chinese).
- [53] HUBALEK V, BUCK M, TAN B, FOGHT J, WENDEBERG A, BERRY D, BERTILSSON S, EILER A. Vitamin and amino acid auxotrophy in anaerobic consortia operating under methanogenic conditions[J]. *mSystems*, 2017, 2(5): e00038-e00017.
- [54] ZHANG LJ, WANG X, JIAO YY, CHEN X, ZHOU LY, GUO K, GE F, WU J. Biodegradation of 4-chloronitrobenzene by biochemical cooperation between *Sphingomonas* sp. strain CNB3 and *Burkholderia* sp. strain CAN6 isolated from activated sludge[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(9): 1243-1249.
- [55] LI HJ, WEI SM, LIU N, DU YL, DING GT. Interspecies transfer of biosynthetic cobalamin for complete dechlorination of trichloroethene by *Dehalococcoides mccartyi*[J]. *Water Science and Technology*, 2022, 85(5): 1335-1350.
- [56] 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[J]. *Biodegradation*, 2014, 25(5): 757-776.
- [57] LU QH, ZOU XQ, LIU JT, LIANG ZW, SHIM H, QIU RL, WANG SQ. Inhibitory effects of metal ions on reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls and perchloroethene in distinct organohalide-respiring bacteria[J]. *Environment International*, 2020, 135: 105373.
- [58] SHEN R, ZHANG SW, LIANG ZW, MAI BX, WANG SQ. Mechanistic insight into co-metabolic dechlorination of hexachloro-1,3-butadiene in *Dehalococcoides*[J]. *Water Research*, 2022, 220: 118725.
- [59] 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[J]. *ISME Communications*, 2021, 1: 23.
- [60] WEN LL, CHEN JX, FANG JY, LI A, ZHAO HP. Effects of 1,1,1-trichloroethane and triclocarban on reductive dechlorination of trichloroethene in a TCE-reducing culture[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1439.
- [61] HELLAL J, JOULIAN C, URIEN C, FERREIRA S, DENONFOUX J, HERMON L, VUILLEUMIER S, IMFELD G. Chlorinated ethene biodegradation and associated bacterial taxa in multi-polluted groundwater: insights from biomolecular markers and stable isotope analysis[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 763: 142950.
- [62] 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[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 410-421.
- [63] 温丽莲. 三氯乙烯厌氧生物还原及与高氯酸盐同步脱氯机制研究[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2018.
- WEN LL. Studies on the anaerobic dechlorination of trichloroethene and the simultaneous reduction of perchlorate and trichloroethene[D]. Hangzhou: Doctoral Dissertation of Zhejiang University, 2018 (in Chinese).
- [64] WEN LL, ZHANG Y, PAN YW, WU WQ, MENG SH, ZHOU C, TANG YN, ZHENG P, ZHAO HP. The roles of methanogens and acetogens in dechlorination of trichloroethene using different electron donors[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2015,

- 22(23): 19039-19047.
- [65] MEN YJ, SETH EC, YI S, CROFTS TS, ALLEN RH, TAGA ME, ALVAREZ-COHEN L. Identification of specific corrinoids reveals corrinoid modification in dechlorinating microbial communities[J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(12): 4873-4884.
- [66] MAO XW, OREMLAND RS, LIU T, GUSHGARI S, LANDERS AA, BAESMAN SM, ALVAREZ-COHEN L. Acetylene fuels TCE reductive dechlorination by defined *Dehalococcoides/Pelobacter* consortia[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, 51(4): 2366-2372.
- [67] 李亚如. 铁基材料和希瓦氏菌对脱卤拟球菌还原三氯乙烯的强化作用及机制[D]. 杭州: 浙江大学博士学位论文, 2021.
- LI YR. Reinforcement and mechanism of Iron-based materials and *Shewanella* for the trichloroethene reduction by *Dehalococcoides*[D]. Hangzhou: Doctoral Dissertation of Zhejiang University, 2021 (in Chinese).
- [68] DUHAMEL M, EDWARDS EA. Growth and yields of dechlorinators, acetogens, and methanogens during reductive dechlorination of chlorinated ethenes and dihaloelimination of 1,2-dichloroethane[J]. *Environmental Science & Technology*, 2007, 41(7): 2303-2310.
- [69] 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[J]. *Water Research*, 2002, 36(17): 4193-4202.
- [70] ATASHGAHI S, SÁNCHEZ-ANDREA I, HEIPIEPER HJ, van der MEER JR, STAMS AJM, SMIDT H. Prospects for harnessing biocide resistance for bioremediation and detoxification[J]. *Science*, 2018, 360(6390): 743-746.
- [71] WANG MH, LIU Y, WANG SQ, WANG K, ZHANG Y. Development of a compound microbial agent beneficial to the composting of Chinese medicinal herbal residues[J]. *Bioresource Technology*, 2021, 330: 124948.
- [72] WEN LL, YANG Q, ZHANG ZX, YI YY, TANG YN, ZHAO HP. Interaction of perchlorate and trichloroethene bioreductions in mixed anaerobic culture[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 571: 11-17.
- [73] QIAN YL, LAN F, VENTURELLI OS. Towards a deeper understanding of microbial communities: integrating experimental data with dynamic models[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2021, 62: 84-92.
- [74] PONOMAROVA O, PATIL KR. Metabolic interactions in microbial communities: untangling the Gordian knot[J]. *Current Opinion in Microbiology*, 2015, 27: 37-44.
- [75] WIDDER S, ALLEN RJ, PFEIFFER T, CURTIS TP, WIUF C, SLOAN WT, CORDERO OX, BROWN SP, MOMENI B, SHOU WY, KETTLE H, FLINT HJ, HAAS AF, LAROCHE B, KREFT JU, RAINEY PB, FREILICH S, SCHUSTER S, MILFERSTEDT K, van der MEER JR, et al. Challenges in microbial ecology: building predictive understanding of community function and dynamics[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(11): 2557-2568.
- [76] LAWSON CE, HARCUMBE WR, HATZENPICHLER R, LINDEMANN SR, LÖFFLER FE, O'MALLEY MA, GARCÍA MARTÍN H, PFLEGER BF, RASKIN L, VENTURELLI OS, WEISSBRODT DG, NOGUERA DR, MCMAHON KD. Common principles and best practices for engineering microbiomes[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(12): 725-741.
- [77] 徐昭勇, 胡海洋, 许平, 唐鸿志. 人工合成微生物组的构建与应用[J]. *合成生物学*, 2021, 2(2): 181-193.
- XU ZY, HU HY, XU P, TANG HZ. Development and application of synthetic microbiome[J]. *Synthetic Biology Journal*, 2021, 2(02): 181-193 (in Chinese).
- [78] KIM BC, MOON C, JEON BS, ANGENENT LT, CHOI Y, NAM K. Shaping a reactor microbiome generating stable *n*-caproate productivity through design-build-test-learn approach[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2021, 425: 131587.
- [79] SHAHAB RL, BRETHAUER S, DAVEY MP, SMITH AG, VIGNOLINI S, LUTERBACHER JS, STUDER MH. A heterogeneous microbial consortium producing short-chain fatty acids from lignocellulose[J]. *Science*, 2020, 369(6507): eabb1214.
- [80] 邓婷, 关晓彤, 吴波, 贺志理. 数学模型在合成微生物群落构建中的应用[J]. *应用与环境生物学报*, 2020, 26(4): 809-819.
- DENG T, GUAN XT, WU B, HE ZL. Applying mathematical models in the construction of synthetic microbial communities[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2020, 26(04): 809-819 (in Chinese).
- [81] KETTLE H, LOUIS P, HOLTROP G, DUNCAN SH, FLINT HJ. Modelling the emergent dynamics and major metabolites of the human colonic microbiota[J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(5): 1615-1630.
- [82] 曲泽鹏, 陈沫先, 曹朝辉, 左文龙, 陈业, 戴磊. 合成微生物群落研究进展[J]. *合成生物学*, 2020, 1(6): 621-634.
- QU ZP, CHEN MX, CAO ZH, ZUO WL, CHEN Y, DAI L. Research advances in synthetic microbial communities[J]. *Synthetic Biology Journal*, 2020, 1(6): 621-634 (in Chinese).