

# 成团泛菌 MFC-3 的分离鉴定及其腐殖质/ $\text{Fe}(\text{III})$ 呼吸特性研究

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

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

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

**关键词** 成团泛菌;腐殖质;铁氧化物;腐殖质/ $\text{Fe}(\text{III})$ 呼吸;胞外呼吸

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

## Isolation and Characterization of a Facultative Anaerobe *Pantoea agglomerans* MFC-3 and Its Humic Substance-and $\text{Fe}(\text{III})$ -Respiring Activity

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

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

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

**Key words** *Pantoea agglomerans*; humic substance;  $\text{Fe}(\text{III})$  oxides; humic substance/ $\text{Fe}(\text{III})$  respiration; extracellular respiration

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

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

收稿日期 2009-02-17 修订日期 2009-04-13  
基金项目 国家自然科学基金项目(20777013, 40801119);广东省自然科学基金项目(8151065003000005)  
作者简介 武春媛(1981~),女,博士研究生,主要研究方向为厌氧微生物技术, E-mail: wuchunyuan1981@126.com  
\* 通讯联系人, E-mail: sgzhou@soil.gd.cn

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

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

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

## 1 材料与方法

### 1.1 培养基组成

基础厌氧培养基(BAS),每L含 $NaHCO_3$  2.5 g,  $NH_4Cl$  0.25 g,  $NaH_2PO_4$  0.6 g,  $KCl$  0.1 g, 酵母浸提物 0.2 g, 1% (体积分数) 维生素储备液及 1% (体积分数) 微量元素储备液。富集培养基,在已灭菌的BAS中添加灭过菌的 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  AQDS作为微生物厌氧呼吸的电子受体和 $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖作为电子供体。AQDS固体培养基,在富集培养基中添加1.8%琼脂粉,灭菌后分装于平板培养皿,备用。AQDS还原和铁氧化物还原实验所用培养基,在已灭菌的BAS培养基中添加 $5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甲酸、乙酸、丙酸、柠檬酸、乳酸、乙醇、丙三醇、葡萄糖或蔗糖作为电子供体, $25\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 水铁矿(ferrihydrite)、针铁矿( $\alpha\text{-FeOOH}$ )、纤铁矿( $\gamma\text{-FeOOH}$ )、赤铁矿( $\alpha\text{-Fe}_2\text{O}_3$ )

或 $0.5\text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  AQDS作为电子受体。

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

### 1.2 样品来源及富集分离

样品采自广东省四会地下古森林沉积物<sup>[14]</sup> C年龄为 $(3100 \pm 29)$  aB.P.],将富集培养基分装于100 mL西林瓶中(每瓶45 mL),接种5 mL沉积物样品,充 $N_2/CO_2$ (80/20,体积比)混合气30 min排氧,盖橡胶塞,并迅速压铝盖密封,静置于厌氧工作站 $30^\circ\text{C}$ 厌氧培养,观察体系颜色变化。当体系颜色逐渐变黄并趋于稳定时,以10%的接种量转接于另一新鲜的富集培养基中,如此转接3次。最后系列稀释后涂平板, $30^\circ\text{C}$ 培养5 d后培养基表面形成单菌落。根据菌落特征差异挑取单菌落于新鲜富集培养基中再次培养,以验证纯菌厌氧还原AQDS的能力,当体系颜色由无色变橙黄色表明菌株具有还原AQDS特性<sup>[16]</sup>。将纯化菌种斜面划线保存。

### 1.3 菌株的鉴定

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

### 1.4 腐殖质/ $Fe(III)$ 还原实验

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

## 2 结果与分析

经过定向富集、纯化,获得 1 株高效 AQDS 还原菌株(12 h 即可观察到 AQDS 溶液变色),命名为 MFC-3,作进一步鉴定和腐殖质/F<sub>0</sub>(Ⅲ)呼吸特性研究。

### 2.1 菌株 MFC-3 的鉴定结果

#### 2.1.1 菌体形态

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

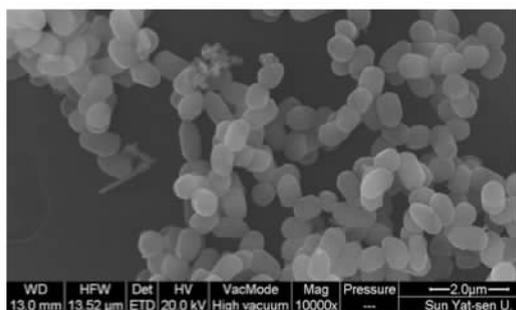


图 1 *P. agglomerans* MFC-3 的扫描电镜照片

Fig.1 SEM of the strain MFC-3

#### 2.1.2 生理生化特征

MFC-3 能在 5~40℃ 下生长,最适生长温度为 30℃。生长 pH 范围为 5.5~8.0。其它生理生化特征

列于表 1。根据形态和生理生化特征,初步鉴定该菌属于肠杆菌科泛菌属。

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

Table 1 Phenotypic characteristics of the strain MFC-3

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

1) + 表示呈阳性; - 表示呈阴性

#### 2.1.3 系统发育学分析

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

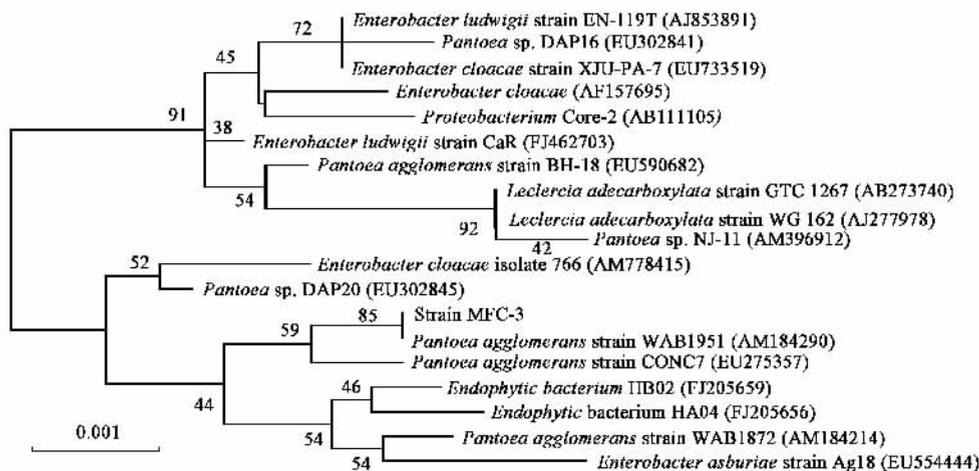


图 2 *P. agglomerans* MFC-3 的 16S rDNA 序列系统发育树

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

## 2.2 腐殖质呼吸特性

### 2.2.1 电子供体利用谱

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

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

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

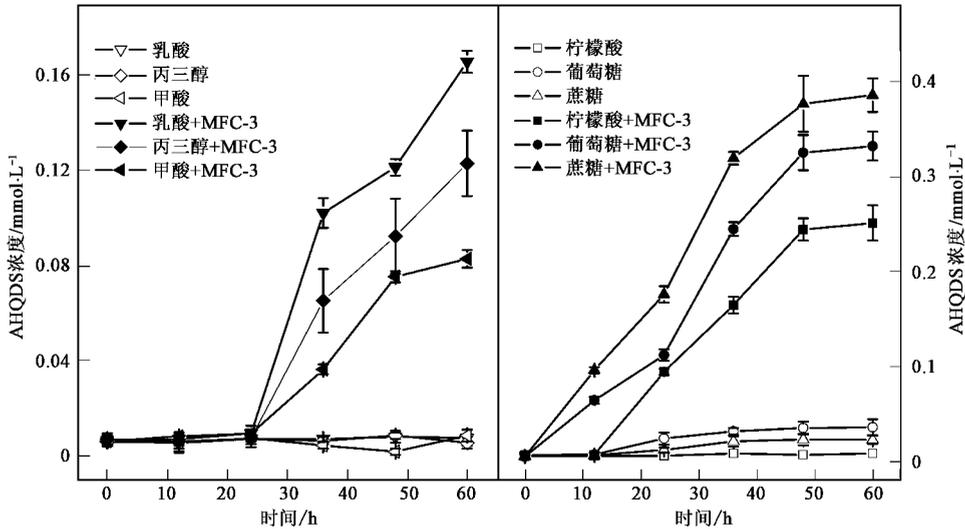


图 3 不同电子供体下 MFC-3 对 AQDS 的还原动态

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

### 2.2.2 以 AQDS 为唯一电子受体的菌株生长

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

### 2.3 铁氧化物还原活性

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

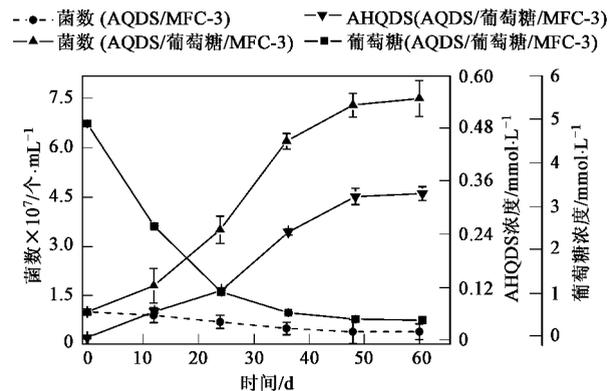


图 4 以葡萄糖作为电子供体, AQDS 作为电子受体时, 菌株 MFC-3 的生长曲线

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

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

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

$\alpha$ - $FeOOH$ 和  $\gamma$ - $FeOOH$  的比表面积相近,还原速率也相近; $\alpha$ - $Fe_2O_3$  比表面积最小( $29.4 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ ),相应最难被还原.

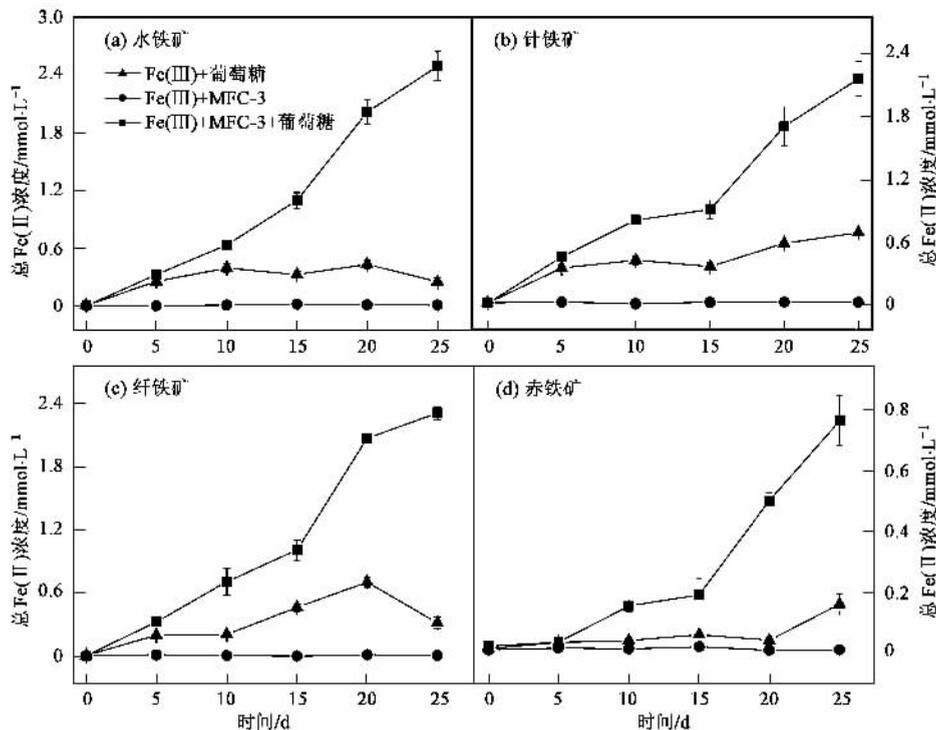


图 5 以葡萄糖为电子供体时,菌株 MFC-3 对 4 种铁氧化物的还原动态

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

### 3 讨论

腐殖质/ $Fe(III)$ 呼吸作为新的呼吸代谢模式,是厌氧环境中一种重要的电子转移途径,具有重要的环境学意义与应用价值<sup>[23]</sup>.腐殖质/ $Fe(III)$ 还原(呼吸)条件下的污染物原位生物修复已成为国际热门领域<sup>[2,40,45]</sup>.腐殖质/ $Fe(III)$ 还原菌驱动的有机物矿化与污染物降解过程为<sup>[2,3,9]</sup>:还原菌在腐殖质/ $Fe(III)$ 呼吸作用中氧化电子供体(即有机物矿化),

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

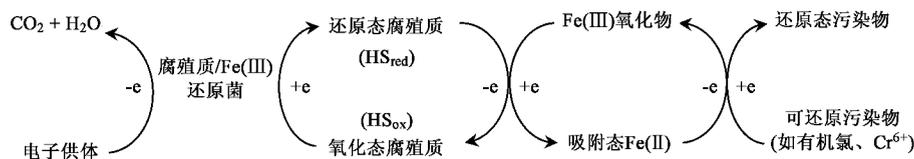


图 6 腐殖质/ $Fe(III)$ 还原菌驱动的污染物原位生物修复

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

物矿化与作为末端电子受体的污染物降解.

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

分为兼性厌氧和严格厌氧,常用的电子供体类型有:

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

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

#### 4 结论

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

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

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

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

#### 参考文献:

- [1] Lovley D R. Organic matter mineralization with the reduction of ferric iron: A review [J]. *Geomicrobiol J*, 1987, **5**(3-4): 375-399.
- [2] Weber K A, Achenbach L A, Coates J D. Microorganisms pumping iron: anaerobic microbial iron oxidation and reduction [J]. *Nat Rev Micro*, 2006, **4**(10): 752-764.
- [3] Lovley D R, Coates J D, Blunt-harris E L, et al. Humic substances as electron acceptors for microbial respiration [J]. *Nature*, 1996, **382**: 445-448.
- [4] Lovley D R, Holmes D E, Nevin K P. Dissimilatory  $\text{Fe}(\text{III})$  and  $\text{Mn}(\text{IV})$  reduction [J]. *Adv Microb Physiol*, 2004, **49**: 219-286.
- [5] Lovley D R, Phillips E J P, Gorby Y A, et al. Microbial reduction of uranium [J]. *Nature*, 1991, **350**: 413-416.
- [6] Galnick J A, Newman D K. Extracellular respiration [J]. *Molecular Microbiology*, 2007, **65**(1): 1-11.
- [7] Coates J D, Cole K A, Chakraborty R, et al. Diversity and ubiquity of bacteria capable of utilizing humic substances as electron donors for anaerobic respiration [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2002, **68**(5): 2445-2452.
- [8] Jiang J, Kappler R. Kinetics of microbial and chemical reduction of humic substances: Implications for electron shuttling [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**(10): 3563-3569.
- [9] Van Trump J I, Sun Y, Coates J D. Microbial interactions with humic substances [J]. *Adv Appl Microbiol*, 2006, **60**: 55-96.
- [10] Fredrickson J K, Gorby Y A. Environmental processes mediated by iron-reducing bacteria [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 1996, **7**(3): 287-294.
- [11] Benz M, Schink B, Brune A. Humic acid reduction by *Propionibacterium freudenreichii* and other fermenting bacteria [J]. *Appl Environ Microbiol*, 1998, **64**(11): 4507-4512.
- [12] Luijten M L, Weelink S A, Godschalk B, et al. Anaerobic reduction and oxidation of quinone moieties and the reduction of oxidized metals by halorespiring and related organisms [J]. *FEMS Microbiol Eco*, 2004, **49**(1): 145-150.
- [13] O'Loughlin E J. Effects of electron transfer mediators on the bioreduction of lepidocrocite by *Shewanella putrefaciens* CN32 [J]. *Environ Sci Technol*, 2008, **42**(18): 6876-6882.
- [14] Wrighton K C, Agbo P, Warnecke F, et al. A novel ecological role of the Firmicutes identified in thermophilic microbial fuel cells [J]. *ISME J*, 2008, **2**(11): 1146-1156.
- [15] Li X M, Zhou S G, Li F B, et al.  $\text{Fe}(\text{III})$  oxide reduction and carbon tetrachloride dechlorination by a newly isolated *Klebsiella pneumoniae* strain L17 [J]. *J Appl Microbiol*, 2009, **106**(1): 130-139.
- [16] Wang Y B, Wu C Y, Wang X J, et al. The role of humic substances in the anaerobic reductive dechlorination of 2,4-D by *Comamonas koreensis* strain CY01 [J]. *J Hazard Mater*, 2009, **164**(2-3): 941-947.
- [17] Li F B, Li X Z, Li X M, et al. Heterogeneous photodegradation of bisphenol A with iron oxides and oxalate in aqueous solution [J]. *J Colloid Interface Sci*, 2007, **311**(2): 481-490.
- [18] Chang Y H, Han J I, Chun J, et al. *Comamonas koreensis* sp. nov., a non-motile species from wetland in Woopo, Korea [J]. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2002, **52**(2): 377-381.
- [19] Hong Y G, Guo J, Xu Z C, et al. Humic substances act as electron acceptor and redox mediator for microbial dissimilatory azoreduction by *Shewanella decolorationis* S12 [J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2007, **17**(3): 428-437.
- [20] Zachara J M, Fredrickson J K, Li S M, et al. Bacterial reduction of crystalline  $\text{Fe}^{3+}$  oxides in single phase suspensions and subsurface materials [J]. *Am Mineral*, 1998, **83**(11-12): 1426-1443.
- [21] Liu C, Kota S, Zachara J M, et al. Kinetic analysis of the bacterial reduction of goethite [J]. *Environ Sci Technol*, 2001, **35**(12): 2482-2490.
- [22] Roden E E.  $\text{Fe}(\text{III})$  oxide reactivity toward biological versus chemical reduction [J]. *Environ Sci Technol*, 2003, **37**(7): 1319-1324.
- [23] 武春媛, 李芳柏, 周顺桂. 腐殖质呼吸作用及其生态学意义 [J]. *生态学报*, 2009, **29**(3): 1535-1542.
- [24] 李芳柏, 周顺桂, 李晓敏, 等. 一种可加速有机氯降解的铁还原菌——矿物复合菌剂及其制备方法 [P]. 中国发明专利, CN 101096646A 2008-01-02.
- [25] 周顺桂, 武春媛, 王跃强, 等. 一株成团泛菌及其应用 [P]. 中国发明专利, 申请号 200810198452, 2008-09-08.