

DOI: 10.11766/trxb202301180025

徐勇峰, 滕应, 骆永明. 氢气代谢及其环境生物修复功能研究进展[J]. 土壤学报, 2024, 61(4): 916–928.

XU Yongfeng, TENG Ying, LUO Yongming. Recent Advances in Hydrogen Metabolism and Its Environmental Bioremediation Function[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61(4): 916–928.

氢气代谢及其环境生物修复功能研究进展*

徐勇峰, 滕应[†], 骆永明

(中国科学院土壤环境与污染修复重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

摘要: 分子氢是多种微生物代谢之间相互作用的关键中介物, 环境中产氢微生物和耗氢微生物的活动决定了全球氢气循环, 对其他重要元素生物地球化学循环具有潜在的驱动作用。环境功能微生物在维持环境生态系统平衡、消除次生环境污染等领域中扮演着不容忽视的重要作用。因此, 理解环境中氢气代谢(氢气的产生和消耗)微生物对生态环境的影响及其在环境生物修复中的作用与功能, 对认识氢气的生态环境效应并将该生物能源应用于生物修复具有重要的科学意义和实践价值。系统分析了氢气代谢过程及氢化酶的分类和功能, 总结了微生物产生和消耗氢气的多种途径及其对土壤生态环境效应和生物修复作用的影响, 指出了目前氢气代谢过程及氢化酶应用于环境生物修复领域存在的关键科学技术问题, 提出了未来的研究思路与重点方向, 以推动氢气这种生物能源成就一种有前景的环境污染修复策略。

关键词: 氢气; 氢化酶; 土壤; 生物修复; 微生物

中图分类号: X53 文献标志码: A

Recent Advances in Hydrogen Metabolism and Its Environmental Bioremediation Function

XU Yongfeng, TENG Ying[†], LUO Yongming

(Key Laboratory of Soil Environment and Pollution Remediation, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: Molecular hydrogen is a key intermediary in the metabolic interactions of a wide variety of microorganisms. The activities of hydrogen-producing and hydrogen-consuming microorganisms in the environment determine the global hydrogen cycle, which has a potential driving effect on the biogeochemical cycle of other important elements. Environmental functional microorganisms play an important role in maintaining the balance of ecosystems and eliminating secondary pollution. Therefore, understanding the impact of hydrogen metabolizing (production and consumption of hydrogen) microorganisms on the ecological environment and its role and function in environmental bioremediation has vital significance and practical value for understanding the ecological and environmental effects of hydrogen and its application to bioremediation. This paper

* 国家自然科学基金项目(42130718, 42207030)和国家“WR”科技创新领军人才项目(SQ2022RA24910167)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (Nos. 42130718 and 42207030) and the National Science and Technology Innovation Leading Talents Program (No. SQ2022RA24910167)

[†] 通讯作者 Corresponding author, E-mail; yteng@issas.ac.cn

作者简介: 徐勇峰(1991—), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事土壤污染与生物修复研究。E-mail; yfxu@issas.ac.cn

收稿日期: 2023-01-18; 收到修改稿日期: 2023-06-01; 网络首发日期(www.cnki.net): 2023-08-15

systematically analyzed the hydrogen metabolism process and the classification and function of hydrogenase, summarized the various ways of hydrogen production and consumption by microorganisms and their effects on soil ecological environment and bioremediation. The scientific and technical challenges existing in current hydrogen metabolism processes and the application of hydrogenase in environmental bioremediation were summarized. Besides, it was also proposed research ideas and key directions in this field to promote hydrogen as a bioenergy since it has become a promising strategy for environmental pollution remediation.

Key words: Hydrogen; Hydrogenase; Soil; Bioremediation; Microorganism

氢气 (Hydrogen, H_2) 具有分子量小、密度小、可燃性高、良好的还原性和导热性等特点, 常作为一种高能量密度的零碳燃料被广泛应用于新能源、航天、化工、电子、轻工业等领域。近年来, 随着 H_2 应用的相关研究在生物学领域的开展, 微生物 H_2 代谢过程逐渐引起了科学界的广泛关注。最近在 *Nature* 及 *Nature Microbiology* 等期刊的研究表明, H_2 在大气痕量水平或高浓度水平下能被微生物利用, 同时在有氧或无氧呼吸利用 H_2 时能产生较高的能量, 而且利用 H_2 所需的细胞资源最小^[1-4]。由此可见, H_2 也是一种高度可靠的微生物生存所需的能量来源。 H_2 的主要来源是生物地球化学过程和人类活动, 而土壤生态系统是主要 H_2 汇, 土壤中的 H_2 氧化微生物进化出高亲合力氢化酶, 每年合计消耗大气损失 H_2 总量的 75% (60 Tg), 使得全球大气中 H_2 平均浓度维持在痕量水平(约 0.53×10^{-6} (v : v))^[5-6]。环境中诸多微生物过程依赖于 H_2 的产生和消耗, 因此, H_2 作为微生物生存的重要能源对其他重要元素生物地球化学循环具有潜在的驱动作用^[7-8]。

产氢微生物和耗氢微生物的发现是近代微生物学的一大重要进展。产氢微生物会在缺氧或好氧条件下通过不同途径产生 H_2 , 而这种可扩散气体作为多种微生物代谢之间相互作用的关键中介物, 可为耗氢微生物提供维持其活力与活性的能源^[4, 8-9]。在生态系统水平上, 产氢和耗氢微生物对环境中微生物群落的稳定性和功能起着至关重要的作用, 比如热液喷口和缺氧沉积物中的固碳微生物以及有机卤化物污染的地下水和土壤环境中的光合微生物和还原脱卤微生物^[6-9]。目前, H_2 代谢相关的热点研究主要围绕环境中微生物氢化酶的多样性、结构、分类、进化关系与功能等方面, 其中氢化酶在生物产氢和生物修复方面的作用是关注的焦点^[6, 8]。已有研究表明, H_2 可被厌氧脱卤微生物用作还原脱卤的电子供体, 其中氢化酶在脱卤过程中起到协助作用^[10-12]。

此外, 微生物氢化酶已用于修复含金属的工业废物, 以减少潜在的有毒金属^[13]。在氢化酶的影响下, 微生物代谢活动可影响地下矿物和有机质的循环, 并在有机和无机污染物的生物修复过程中发挥积极作用^[8, 14-15]。因此, 利用氢化酶催化的 H_2 代谢过程修复污染环境可能是一种很有前景的修复策略。本文系统总结和综合评述国内外微生物产生和消耗 H_2 的多种途径及其对生态环境效应和生物修复作用影响的研究现状与进展, 旨在为 H_2 这种生物能源应用于生物修复提供重要科学依据。

1 氢气代谢及氢化酶分类和功能

生物 H_2 代谢过程是指生物产氢和耗氢的过程, 主要由氢化酶催化; 许多微生物具有表达多种不同生理作用氢化酶的基因组能力, 因此增加了其在环境中的代谢灵活性^[16]。

根据氢化酶活性位点和氨基酸序列之间的差异, 将其分为[Fe]-氢化酶、[FeFe]-氢化酶和[NiFe]-氢化酶三大类。[Fe]-氢化酶是由两个 38 kDa 亚单位组成的同型二聚体, 其催化中心仅有一个铁原子, 并且不含 Fe-S 簇^[8]; 这类[Fe]-氢化酶主要存在于一些产甲烷古菌(如 *Methanothermobacter marburgensis* 等)中, 其催化氢气异裂产生负氢离子转移至底物次甲基四氢甲基喋呤 ($CH-H4MPT^+$) 生成亚甲基四氢甲烷喋呤 (methylene-H4MPT), 并将 CO_2 还原为甲烷^[17]。[FeFe]-氢化酶是含有两个 Fe 原子活性中心(称为 H-簇或 Fe-S 簇)的单聚、二聚、三聚或四聚酶^[8]。[FeFe]-氢化酶主要作用是在严格厌氧条件下催化产 H_2 , 这类氢化酶主要存在于一些厌氧的厚壁菌、硫酸盐还原菌以及单细胞绿藻莱茵衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 中^[8, 18-19]。[NiFe]-氢化酶是分布最广泛的氢化酶类, 这类酶至少包含一个核心异二聚体成分, 该成分由一个大的 α -亚基

(60 kDa) 和一个小的 β 亚单位 (30 kDa) 组成^[8]。[NiFe]-氢化酶代表一个异构的氢化酶组, 根据其系统发育分为 5 个亚组^[5]: 1 组、2 组、3 组、4 组和 5 组 [NiFe]-氢化酶; 这 5 个亚组的 [NiFe]-氢化酶的分类、功能、常见基因名及代表物种的总结见表 1。

尽管取得以上一系列研究进展, 但有关氢化酶

的结构和催化机理方面的相关研究仍需进一步探索。迄今为止, 仍未成功分离纯化出能够氧化痕量 H_2 浓度的高亲和力氢化酶^[3]。此外, 有必要区分高亲和力和低亲和力氢化酶在组成和分子结构方面的差异, 以更清晰的视角了解氢化酶释放的电子如何用于有氧呼吸和固碳过程。

表 1 [NiFe]-氢化酶的分类、功能、常见基因名及代表物种

Table 1 Classification, function, common used gene names and representative species of [NiFe]-hydrogenase

分类 Classification	氢化酶描述 Hydrogenase description	功能描述 Function description	常见基因名 Common gene names	代表物种 Representative species	文献 Reference
1 组 Group 1	细胞质膜 (周质侧) 结合吸氢酶	细胞色素 b 向醌池提供电子与电子传递链紧密相连, 从而通过化学渗透过程产生 ATP	<i>hoxKG</i> 、 <i>hupABSL</i> 、 <i>hyaAB</i> 、 <i>hybOC</i> 、 <i>hydAB</i> 、 <i>hynSL</i> 、 <i>hysAB</i> 、 <i>mbhSL</i> 、 <i>vhtGA</i> 、 <i>vhoGA</i>	<i>Azotobacter vinelandii</i> 、 <i>Bradyrhizobium</i> sp.、 <i>Chlorobium phaeobacteroides</i> 、 <i>Enterobacter cloacae</i> 、 <i>Escherichia coli</i> 、 <i>Magnetospirillum magneticum</i> 、 <i>Mycobacterium</i> sp.等	[5, 8, 20]
2a 组 Group 2a	可溶性的吸氢酶 (细胞质酶)	固氮过程或烟酰胺腺嘌呤二核苷酸/烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (NADH/NADPH) 氧化过程氧化内源性 H_2 , 并将电子导入电子传输链向细胞提供能量	<i>hupSL</i> 、 <i>mbhSL</i>	<i>Anabaena</i> sp.、 <i>Aquifex aeolicus</i> 、 <i>Bradyrhizobium</i> sp.、 <i>Cloesthece</i> sp.、 <i>Dechloromonas aromatica</i> 、 <i>Mycobacterium</i> sp.、 <i>Ralstonia eutropha</i> 、 <i>Thiocapsa roseopersicina</i> 等	[5, 7-8]
2b 组 Group 2b	H_2 感应调节氢化酶 (细胞质酶)	诱导 Knallgas 细菌中 1 组和 3 组吸氢酶的转录	<i>hoxBC</i> 、 <i>hupUV</i>	<i>Azorhizobium caulinodans</i> 、 <i>Bradyrhizobium</i> sp.、 <i>Burkholderia cenocepacia</i> 、 <i>Oceanospirillum</i> sp.等	[8, 21]
3a 组 Group 3a	双向异源三聚体氢化酶	辅因子 F420 的还原	<i>frcAG</i> 、 <i>frhAG</i> 、 <i>fruAG</i>	<i>Methanothermobacter marburgensis</i> 、 <i>Methanosarcina mazei</i> 等	[8, 22]
3b 组 Group 3b	双向异源四聚体氢化酶	将 S_0 还原为 H_2S 或氧化 NAD (P) H 并产生 H_2 以分散通过发酵产生的还原当量、或者通过使用 H_2 生成 NADPH	<i>cytc3DA</i> 、 <i>hydDA</i> 、 <i>hyhSL</i> 、 <i>hyjSL</i> 、 <i>shyDA</i>	<i>Azotobacter vinelandii</i> 、 <i>Chlorobium phaeobacteroides</i> 、 <i>Frankia</i> sp.、 <i>Geobacter uraniumreducens</i> 、 <i>Oceanospirillum</i> sp.、 <i>Prosthecochloris aestuarii</i> 、 <i>Thiobacillus denitrificans</i> 、 <i>Mycobacterium</i> sp.等	[7-8]
3c 组 Group 3c	异二硫还原酶相关的氢化酶	催化甲基紫精和辅酶 M-二硫键辅酶 B (CoM-S-S-CoB) 等化合物的还原	<i>mvhGA</i> 、 <i>mvhSL</i> 、 <i>vhcGA</i> 、 <i>vhuGA</i>	<i>Acidothermus cellulolyticus</i> 、 <i>Dehalococcoides</i> sp.、 <i>Desulfotalea psychrophila</i> 、 <i>Geobacter metallireducens</i> 等	[8, 23]

续表

分类 Classification	氢化酶描述 Hydrogenase description	功能描述 Function description	常见基因名 Common gene names	代表物种 Representative species	文献 Reference
3d 组 Group 3d	异聚氢化酶和 结合 NAD(P) H 的 NADH 脱 氢酶组成	使用 H ₂ 还原 NAD ⁺ 来 平衡 NAD ⁺ /NADH 池	<i>hoxYH</i>	<i>Acetomicrobium flavidum</i> 、 <i>Hahella chejuensis</i> 、 <i>Lyngbya majuscula</i> 、 <i>Magnetospirillum magneticum</i> 、 <i>Nitrosospira multiformis</i> 、 <i>Thiocapsa roseopersicina</i> 、 <i>Synechocytis sp.</i> 等	[8]
4 组 Group 4	对 O ₂ 敏感的 多聚体酶，膜 相关能量转换 氢化酶	将质子的还原与甲酸 盐或 CO 等 C1 化合物 的厌氧氧化耦合，分散 发酵过程产生的还原 当量	<i>coolH</i> 、 <i>echFE</i> 、 <i>ehaNO</i> 、 <i>ehbMN</i> 、 <i>hycGE</i> 、 <i>hyfIG</i>	<i>Escherichia coli</i> 、 <i>Photobacterium sp.</i> 、 <i>Rhodopseudomonas palustris</i> 、 <i>Rhodospirillum cryptum</i> 、 <i>Salmonella typhi</i> 、 <i>Shigella dysenteriae</i> 、 <i>Thermococcus onnurineus</i> 、 <i>Vibro angustum</i> 等	[8, 24]
5 组 Group 5	耐氧型的吸 氢酶	氧化大气中痕量 H ₂ (0.53×10 ⁻⁶ (v: v)), 维持寡营养环境中微 生物生存	<i>hhySL</i>	<i>Streptomyces sp.</i>	[25]

2 微生物产氢过程及其生态环境效应

在厌氧或有氧生态系统中的微生物能通过氢化酶催化 H₂ 的产生。目前，微生物产生 H₂ 的过程主要包括：厌氧发酵产氢、厌氧一氧化碳 (CO) 氧化产氢、固氮过程以及亚磷酸盐氧化过程产氢 (图 1)。这些 H₂ 会以痕量浓度在大气中存在或者在局部区域以高浓度存在，形成 H₂ 热点，从而对局部生态环境产生一定的影响。

2.1 微生物产氢过程

厌氧发酵产氢微生物在厌氧条件下利用富含碳水化合物底物的底物通过持续还原质子产生 H₂ (图 1a, 图 1b)。比如，梭菌属 (*Clostridium spp.*)、瘤胃菌群 (Rumen flora)、肠杆菌属 (*Enterobacter spp.*) 等发酵微生物在 [FeFe]-氢化酶的作用下，可通过不同的丙酮酸代谢途径有效地产生 H₂ (图 1a) [5, 7-8]。此外，铁氧还蛋白依赖的 [NiFe]-氢化酶和还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (NADH) 依赖的 [Fe]-氢化酶可催化嗜热菌 (*Thermoanaerobacter tengcongensis*) 中 NADH 的再氧化从而产生 H₂ (图 1b) [26]。

厌氧 CO 氧化产氢微生物在黑暗条件下厌氧生长，能够以 CO 作为电子供体，把水中的 H⁺ 还原为 H₂，同时氧化 CO 为 CO₂ (图 1c)。Uffen [27] 发现，

深红红螺菌 (*Rhodospirillum rubrum*) 可在 CO 不敏感 [NiFe]-氢化酶和 CO 脱氢酶组成的复合酶催化作用下氧化 CO 并还原质子产生 H₂。最近, Kochetkova 等 [28] 首次分离出在严格厌氧条件下可使用 CO 作为能量源产生 H₂ 的丝状古菌菌株 (*Thermofilum sp. strain 1505*)，并在其基因组上发现了一个包含厌氧 CO 脱氢酶基因和能量转换氢化酶基因的基因簇。

在生物固氮过程中，H₂ 是固氮酶与 N₂ 反应的一种专性副产物 (图 1d)，其产生 H₂ 的能量约占流经固氮酶能量流的 30%~50% [6]。在部分固氮微生物中含有氧化 H₂ 的吸氢酶，不仅有利于持续的 N₂ 固定，也可能作为固氮酶和其他代谢过程的额外电子源 [29]。许多根瘤菌能在豆科植物根瘤中共生固定 N₂，同时产生 H₂，其中研究较多的共生固氮微生物主要包括慢生型大豆根瘤菌 (*Bradyrhizobium japonicum*)、苜蓿中华根瘤菌 (*Sinorhizobium meliloti*) 和豌豆根瘤菌 (*Rhizobium leguminosarum*) 等 [30]。一些自生固氮菌和蓝藻也能通过固氮过程产生 H₂，比如棕色固氮菌 (*Azotobacter vinelandii*)、鱼腥蓝细菌 (*Anabaena cylindrica*) 和藓类念珠藻 (*Nostoc muscorum*) 等 [31]。此外，厚壁菌门的一些梭菌属 (*Clostridium spp.*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*

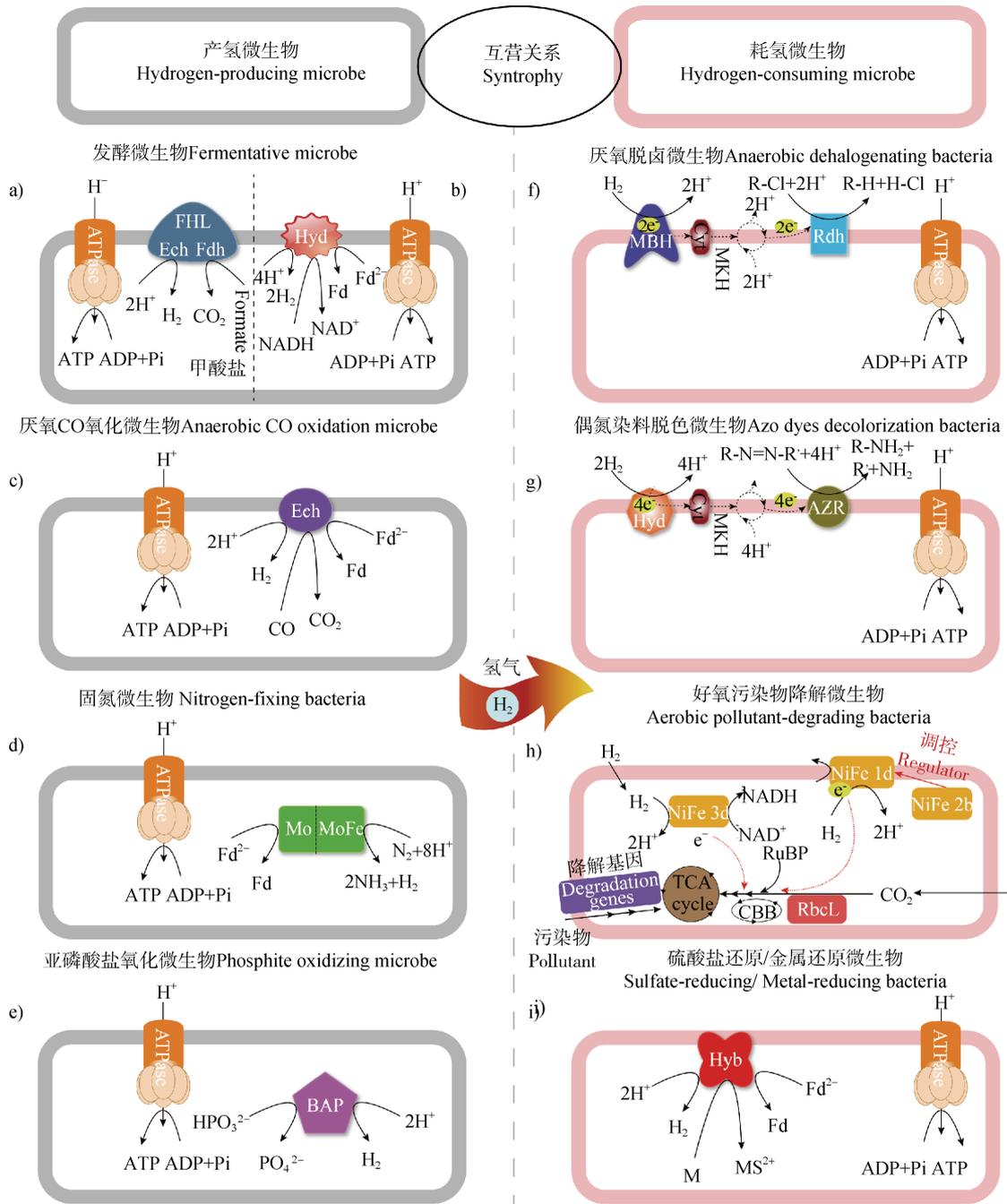


图 1 产氢微生物与耗氢微生物在污染物降解中的互营作用

Fig. 1 Syntrophic interactions between hydrogen-producing and hydrogen-consuming microbes in pollutant degradation

spp.) 以及产甲烷古菌也能在微氧或者厌氧条件下固定 N_2 产生 H_2 ^[5]。值得注意的是, 光营养细菌也可通过固氮酶催化质子还原的光合反应释放大量 H_2 , 这类微生物主要包括: 深红螺菌 (*Rhodospirillum rubrum*)、荚膜红杆菌 (*Rhodobacter capsulatus*)、桃红荚硫菌 (*Thiocapsa roseopersicina*) 和嗜盐菌 (*Halobacterium halobium*) 等^[32]。

亚磷酸盐氧化过程产氢主要是通过来自亚磷酸盐的氢负离子 (H^-) 作为离去基团与质子反应形成 H_2 (图 1e)。亚磷酸盐氧化过程产氢目前仅在大肠杆菌 (*Escherichia coli*) 中发现, 其主要是由 *phoA* 基因编码的周质蛋白-细菌碱性磷酸酶 (Bacterial Alkaline Phosphatase, BAP) 催化完成的; 迄今为止, 该酶是唯一显示具有产氢活性的微生物磷酸酶^[33]。

2.2 产氢过程的生态环境效应

痕量 H_2 在维持生态系统中微生物生存和生长以及元素生物地球化学循环等方面发挥了重要作用。 H_2 产生于江河湖海的底泥、土壤、沼泽、枯叶、粪便、污水污泥等自然环境，通常在含水层中 H_2 的含量在 $20\sim 100\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间，而在土壤或者底泥等生境中有机物发酵时产生的 H_2 浓度很少超过 $10\text{ nmol}\cdot\text{L}^{-1}$ ^[34]。然而，几乎所有产生的 H_2 均会被土壤中 H_2 氧化微生物吸收利用，不会被释放至大气中。最近的研究表明， H_2 氧化微生物是土壤微生物群落中广泛存在和活跃的成员，这对 H_2 代谢仅限于高 H_2 和低 O_2 环境的传统观点提出了挑战^[2, 7, 35]。由于 H_2 气体具有通过细胞膜扩散和低活化能的特点，微生物只需消耗很少的资源来吸收这些来源于大气和土壤中且广泛存在于所有土壤中的 H_2 气体，并且可利用 H_2 氧化过程释放的大量自由能来合成腺嘌呤核苷三磷酸 (ATP) 和固定 CO_2 ^[1]。已有的全基因组和宏基因组调查研究表明，至少有 17 个不同门的土壤微生物可编码以消耗 H_2 作为能源的 [NiFe]-氢化酶^[1, 7, 15]。 H_2 氧化微生物通过氧化 H_2 作为普遍的生长和维持生存能源的活动，为促进生物地球化学循环提供重要的服务功能^[5]。除了微生物过程产生 H_2 外，大气 H_2 主要来源于人为活动以及大气甲烷 (CH_4) 和非甲烷碳氢化合物的氧化。这些 H_2 也会参与 H_2O 、温室气体以及各种污染物的大气化学循环过程^[36]。可见，痕量 H_2 氧化的功能是高度多样化的，一方面能满足长期生存以及生长过程所需的能量，另一方面也可进行碳固定；然而，在生态系统层面上，这些高度多样化的痕量 H_2 氧化功能可能对生态系统功能的发挥至关重要。

高浓度 H_2 通过影响局部区域环境中微生物群落组成从而影响物质循环过程。已有研究表明，豆科植物-根瘤菌共生体系或自由生活的固氮微生物在固氮过程中会产生大量的 H_2 作为副产品^[37]。据估计，固氮豆科植物根瘤内的 H_2 浓度范围为 $9\ 000\sim 27\ 000\times 10^{-6}$ (v: v)，其在植物生长季节的扩散损失可能达到 $240\ 000\text{ L}$ ^[30]。然而，这些 H_2 能否被释放至土壤中主要是由共生的根瘤菌中是否含有吸收 H_2 的 [NiFe]-氢化酶所决定^[38]。在含有 H_2 氧化吸氢酶 (Hup⁺型) 的豆科植物根际， H_2 的能量可通过 [NiFe]-氢化酶回收，而在不含 H_2 氧化吸氢酶 (Hup⁻

型) 豆科植物根际的 H_2 则会被释放至周围土壤中。有趣的是，Wang 等^[39]最近的研究发现，紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 接种根瘤菌 (*Sinorhizobium meliloti* strain NM) 后能通过固氮过程产生 H_2 。在根瘤内为四氯联苯的脱氯提供一个还原环境，但这种生物 H_2 对污染物转化有何影响尚需进一步探究。越来越多的证据表明，从根瘤释放至周围土壤中的 H_2 通过富集土壤中好氧 H_2 氧化细菌或植物根际促生细菌，从而在增加植物生物量方面起着关键作用^[30, 40]。多种 H_2 氧化微生物可水解溶解性有机物，也可参与颗粒有机物的分解，包括纤维素、半纤维素、木质素、腐殖物质和多环芳香族化合物^[41]，还可催化 CO 、 CO_2 和 CH_4 的氧化还原。 H_2 氧化微生物能够在不同的营养模式之间进行转换，包括碳源和能量来源，这使它们在接受各种碳输入时具有强大的代谢多样性^[5]。此外，在富含 H_2 的微域环境中，例如豆科植物根际和白蚁肠道等， H_2 氧化微生物释放的代谢物也可能导致土壤有机物的分解和转化^[42]。最近的研究结果表明，在自然生态系统中发现的不同 H_2 混合比例能导致土壤微生物群落结构的变化和群落功能的协调反馈，并揭示 H_2 氧化微生物通过环境相关 H_2 浓度与土壤中 H_2 、 CH_4 和 CO 的生物汇之间的剂量-反应关系，支持 H_2 为微生物提供各种生态系统服务的代谢和能量灵活性^[42-43]。因此，可以预期 H_2 氧化微生物执行的其他碳循环过程，如分解、腐殖化和水解，也会在富含 H_2 的生态系统中增加^[5]。尽管目前研究已揭示局部区域的高浓度 H_2 可通过影响 H_2 氧化微生物对植物起到促生作用，影响土壤碳循环等过程，但未来研究亦需针对 H_2 如何调控植物与微生物之间的交互作用等方面开展，从而为发展氢农业提供重要的科学依据。

3 耗氢微生物的环境修复功能

环境 H_2 代谢微生物除了在维持环境生态系统平衡中发挥重要作用外，在消除次生环境污染等过程中也扮演着不容忽视的重要作用。生物和非生物产生的 H_2 可被释放并用于支持氢营养原核生物的生长和代谢^[3, 5]。目前认为，许多微生物类群可利用 H_2 作为电子供体，催化有机卤化物、偶氮化合物和潜在有毒元素等污染物的还原过程^[44]。

3.1 有机污染物降解

目前已从受污染的土壤、淤泥、沉积物、含水层、淡水和海洋栖息地中分离出多种有机卤化物呼吸的微生物^[45],它们在厌氧条件下利用 H₂ 作为电子供体对卤化有机物进行脱卤(图 1f),比如脱硫菌属(*Desulfomonile*)、脱卤球菌属(*Dehalococcoides*)、脱卤杆菌属(*Dehalobacter*)、脱硫杆菌属(*Desulfitobacterium*)、脱硫单胞菌属(*Desulfuromonas*)和硫螺菌属(*Sulfurospirillum*)等^[46-48]。上述有机卤化物呼吸微生物将还原脱卤和能量代谢(ATP合成)耦合在一起,利用还原性脱卤酶(RDase)将氢原子取代卤素取代基,从而降解顽固性有机污染物并降低其毒性;其中膜结合氢化酶是吸收分子 H₂ 释放电子的初始氧化剂,参与 H₂ 作为电子供体的电子转移过程,在有机卤化物呼吸过程中发挥至关重要的作用^[44, 46, 49]。有机卤化物呼吸的微生物中常见

氢化酶总结见表 2。最近, Schubert 等^[50]和 Türkowsky 等^[51]在 *Dehalococcoides mccartyi* CBDB1 中鉴定出一种独特的结合了吸氢酶、复合铁硫钼酶和还原性脱卤酶的多酶呼吸复合物;尽管其结构已经被解析但涉及其中的电子传递路径与化学渗透进行耦合的机制仍不明晰,这对这些“神秘”微生物的能量守恒模式提出了新的科学问题。因此,有机卤化物呼吸细菌在脱卤过程中介导电子传递的各种膜相关氢化酶以及呼吸复合物的电子转移与质子易位的耦合位点值得进一步探讨^[44, 50]。在未来的研究中,了解不同的有机卤化物呼吸微生物中氢化酶基因的编码及多样性有助于阐明 H₂ 代谢的动力学特征,优化有机卤化物呼吸微生物的生长,并在不同 H₂ 浓度可能刺激或抑制有机卤化物呼吸微生物生长的污染环境中调节其脱卤速率,以达到强化生物修复的目的。

表 2 有机卤化物呼吸微生物中常见氢化酶总结

Table 2 Summary of common hydrogenase in organohalide-respiring bacteria

有机卤化物呼吸微生物	目标污染物	氢化酶	文献
Organohalide-respiring bacteria	Target pollutant	Hydrogenase	Reference
<i>Dehalococcoides mccartyi</i> CBDB1	三氯苯(1, 2, 3-三氯苯)	膜结合周质 Hup 型吸氢酶和 Hox 型[NiFe]-氢化酶(分别为 1 组和 3 组)	[52]
<i>Desulfitobacterium</i> spp.	五氯酚(PCP)、四氯乙烯(PCE)和三氯乙烯(TCE)	周质 Hyd 型[NiFe]-氢化酶(1 组)	[53]
<i>Dehalobacter restrictus</i> PER-K23	四氯乙烯(PCE)和三氯乙烯(TCE)	膜结合周质 Hup 型吸氢酶和膜结合 Ech 型和 Hyc 型[NiFe]-氢化酶(分别为 1 组、4 组和 4 组)	[54]
<i>Dehalococcoides ethenogenes</i> 195	四氯乙烯(PCE)和三氯乙烯(TCE)	膜结合周质 Hup 型吸氢酶、细胞质 Vhu 型、膜结合 Ech 型和 Hyc 型[NiFe]-氢化酶(分别为 1 组、3 组、4 组和 4 组)以及[Fe]-氢化酶	[55-56]
<i>Anaeromyxobacter dehalogenans</i> 2CP-C	四氯乙烯(PCE)	细胞质 Vhu 型和 Frh 型[NiFe]-氢化酶(均为 3 组)	[57]

在厌氧条件下,一些微生物能够利用偶氮化合物作为碳源,通过氢化酶氧化 H₂ 维持其生长,从而达到偶氮还原及脱色的目的,比如脱色希瓦氏菌(*Shewanella decolorationis*)和硫酸盐还原微生物等^[58]。偶氮化合物的细胞外还原主要是由多组分电子转移链参与,细胞质/外膜、周质、c 型细胞色素和甲醌等, Hya 型[NiFe]-氢化酶或 Hyd 型[Fe]-氢化酶

作为介导 H₂ 氧化的关键枢纽,为氮还原代谢提供电子,将 H₂ 的氧化与偶氮化合物的还原结合起来,以维持微生物生长(图 1g)^[58-59]。Watrous 等^[60]研究表明,在严格厌氧菌乙酰肉毒梭菌(*Clostridium acetobutylicum*)中,[Fe]-氢化酶负责在产酸环境中将 2, 4, 6-三硝基甲苯(2, 4, 6-trinitrotoluene, TNT)的硝基取代基还原为相应的羟胺。据报道,

奥奈达希瓦氏菌 (*Shewanella oneidensis* MR-1) 中的周质 HyaB 型[NiFe]氢化酶和周质 HyaA 型[FeFe]氢化酶作为吸氢酶能参与多种偶氮染料的脱色过程^[61]。

尽管目前 H₂ 氧化微生物的环境修复潜能已逐渐受到重视, 但目前开展的研究主要集中于厌氧条件下探讨不同微生物如何利用 H₂ 作为电子供体催化还原有机卤化物和偶氮化合物等污染物^[44], 而有关好氧 H₂ 氧化微生物通过 H₂ 氧化过程对污染物降解的影响机制关注较少。最近, Xu 等^[15, 62]在好氧高浓度 H₂ (约 50 000×10⁻⁶ (v : v)) 条件下系统研究了外源 H₂ 对两种不同土壤类型中四氯联苯 PCB77 降解的影响发现, 外源 H₂ 对不同类型土壤中 PCB77 消减的影响不同; 其作用的机制主要为: H₂ 能显著刺激具有 PCB 降解功能的 H₂ 氧化微生物的富集, 从而促进 PCB 污染土壤的生物修复(图 1h)。其中的宏基因分析结果表明, 1d 组、2b 组和 3d 组的[NiFe]-氢化酶在降解过程中发挥了关键的协助作用^[15](图 1h)。此外, 最近有研究表明, 应用外源和内源 H₂ 均可通过刺激油菜素甾醇来增强杀菌剂百菌清在植物中的降解^[63], 但在该条件下, 植物根际 H₂ 氧化微生物对土壤中杀菌剂降解的影响仍不明晰。尽管取得以上研究进展, 但在好氧条件下 H₂ 氧化微生物对其他有机污染物的降解效应及其机制以及如何影响受污染土壤的群落结构和生物地球化学循环(如碳、氮、磷和硫代谢过程), 目前尚不清楚, 值得进一步深入探究。

3.2 潜在毒性元素的还原

硫酸盐还原菌(Sulfate-Reducing Bacteria, SRB)或金属还原菌(Metal-Reducing Bacteria)通过利用 H₂或其他有机化合物作为末端电子供体还原潜在毒性元素来实现其修复功能(图 1i)。Tebo 和 Obratzsova^[64]从潜在毒性元素污染沉积物中分离出第一株硫酸盐还原菌 *Desulfotomaculum reducens* sp.nov. MI-1, 该菌株可利用 H₂ 作为电子供体, 金属(如 Cr(VI)、Mn(IV)、Fe(III)和 U(VI))作为末端电子受体, 将 H₂ 氧化偶联催化金属还原来进行生长。迄今为止, 已鉴定出 40 多种硫酸盐还原菌, 主要包括脱硫菌属(*Desulfobacter*)、脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)、脱硫弯杆菌属(*Desulfotomaculum*)和脱硫微菌属(*Desulfomicrobium*)等^[13, 65]。Deplanche 等^[66]研究表明, Hyd 型[NiFe]-氢化酶参与利用大肠杆菌(*Escherichia coli*)生物还原 Pd(II)形成高催化 Pd

(0)纳米颗粒。对金属还原菌(*Shewanella oneidensis*)的基因组序列进行了全面分析, 发现[Fe]-氢化酶和细胞色素参与电子传递和金属还原过程^[67]。此外, Zadvorny 等^[68]从光合细菌桃红荚硫菌(*Thiocapsa roseopersicina*)和嗜中盐闪杆菌(*Lamprobacter modestohalophilus*)中分离纯化的氢化酶在 H₂ 气氛下能将 Ni(II)、Pt(IV)、Pd(II)或 Ru(III)还原为金属。由此可见, 氢化酶可作为一种新型的参与金属氧化还原过程的酶, 在潜在毒性元素的生物修复中具有重要的理论意义和潜在的应用前景。

4 氢气代谢微生物互营耦合污染物降解

产氢微生物与耗氢微生物之间可通过直接方式或间接方式传递电子形成互营生长关系; 这种发生种间分子氢转移的过程能够为微生物物种提供多样性代谢以适应复杂的生态环境。在复杂的环境中, 产氢微生物和耗氢微生物之间的互营关系对于污染物降解和全球碳循环至关重要^[55, 69]。Odom 和 Peck^[70]首次记录了硫酸盐还原菌在硫酸盐限制条件下, 其通过底物发酵产生的多余 H₂ 转移至其他耗氢细菌的过程。随后, Stams 和 Plugge^[71]发现了产甲烷菌和古细菌互营过程中的种间 H₂ 转移还涉及长链脂肪酸转化过程。Lee 等^[72]在复杂的微生物群落中发现, 在互营的微生物维持较低的 H₂ 分压时, 三氯甲烷脱氯过程中存在物种间 H₂ 转移。Men 等^[73]研究发现, 产乙烯脱卤拟球菌(*Dehalococcoides ethenogenes* strain 195)可与普通脱硫弧菌(*Desulfovibrio vulgaris* Hildenborough)和氢营养甲烷菌(*Methanobacterium congolense*)互营生长; 与单培养产乙烯脱卤拟球菌(*Dehalococcoides ethenogenes* strain 195)降解三氯乙烯体系相比, 其互营体系中的三氯乙烯的脱氯活性提高了 3 倍。这也表明, 互营体系中微生物的相互作用可更有效地转移 H₂, 有助于微生物更快速地生长和污染物更快地降解。

图 1 总结了污染物降解过程中产氢微生物和耗氢微生物之间可能存在的互营相互作用过程。产氢微生物和耗氢微生物通过感知细胞内氧化还原条件, 相互影响互营群落中的代谢过程^[74]。基于对产氢和耗氢的能量平衡分析, 产氢和有机卤化物降解之间的能量转换反应可能涉及同营养的产氢和耗氢微生物^[74]。脱卤微生物(如 *Dehalococcoides* sp.

BAV1 和 *Dehalococcoides ethenogenes* 195) 在分离培养时可利用乙酸作为碳源, H_2 作为电子供体, 表现出有限的脱氯活性和较低的生长速率^[74-75]。因此, 可通过增强脱卤微生物的生长和脱氯活性来开发和改进污染物的生物修复策略^[73]。然而, 许多种间 H_2 转移的相互作用是互营的, 因此仅存在于复杂的微生物群落中, 而不存在于纯培养物中。在复杂的微生物群落中, H_2 间接介导电子供体和受体之间的电子穿梭。氢营养菌可从其互营的产氢微生物产生的 H_2 中获利, 从而转化污染物。因此, 产氢微生物和耗氢微生物对其自身的生长至关重要, 也可能促进污染物的降解^[44, 72]。

5 展 望

分子 H_2 通过大气、生物、地球化学和人为来源在大多数生态系统中以微量或局部“热点”的形式存在, 是微生物生存的普遍可用性能能源, 对生物地球化学循环具有潜在的驱动作用。产氢微生物和耗氢微生物之间的互营作用可用于去除有毒化合物。然而, 针对 H_2 代谢过程及氢化酶在环境生物修复领域应用潜力的相关研究还十分不足。因此, 建议今后重点在以下几个方面开展研究:

(1) 揭示 H_2 代谢菌与污染物降解菌互营的作用机制。微生物互营的核心是微生物种间的电子传递机制, 而在自然环境中, 很多微生物可利用 H_2 作为电子供体还原污染物, 从而降低污染物的毒性^[74]。利用宏基因组测序、单基因荧光原位杂交、功能基因阵列、原位质谱技术、稳定性同位素核酸探针及纳米二次离子质谱等技术追踪参与 H_2 代谢的污染物降解菌的动态, 并解析污染物降解菌和 H_2 代谢菌在降解过程中的相互作用及微生物间电子传递策略, 拓宽对微生物电子传递方式多样性的认识, 有助于设计利用微生物修复环境污染物的策略。

(2) 阐明土壤条件对耗氢微生物降解污染物的影响机制。土壤是一个复杂的动态生命系统, 从土壤到微生物, 污染物的生物有效性涉及微生物吸附和解吸、运输和吸收的全过程, 微生物也会受土壤条件的影响, 如土壤有机质、土壤矿物、土壤水分、土壤温度和土壤团聚体等^[76-77]。因此, 土壤条件对耗氢微生物降解污染物的影响及其机制亟需进一步探索。

(3) 解析生物修复过程中的氢化酶或其他协同酶的结构特征。质子 ATP 酶或其他膜结合二级转运体会影响氢化酶活性, 从而影响 H_2 代谢过程^[78]。因此, 参与环境生物修复过程的氢化酶或其他协同酶(如 ATP 酶和脱卤酶 Rdase) 的结构研究对于指导蛋白质工程至关重要。例如, 通过识别与活性位点的蛋白质环境相关的因素, 使这些酶具有活性, 以提高污染物的降解效率。氢化酶和其他协同酶已被证明在污染物降解中起着重要作用, 因此, 对这些酶在环境生物修复过程中的基因组、转录组和蛋白组数据的分析可能会为氢化酶参与污染物降解的机制提供重要见解。

(4) 研发用于生物修复的 H_2 或产氢功能材料与材料。运用 H_2 或产氢材料, 在生物修复领域中探索并实践富氢水及其他相关应用方式具有重要的研究价值, 值得进一步深入探讨。富氢水在缓解植物对潜在毒性元素毒害方面具有显著效果^[79], 但大规模田间试验以及相关的推广与示范工作尚未落实。氢气纳米气泡水作为一种新的生物体氢气输送技术^[80], 其应用对植物及土壤微生物的影响及其对污染物的生物修复作用仍然未知。此外, 新型固态储氢材料作为氢能产业化发展的关键材料^[81], 其在生物修复领域中的应用尚未开展; 值得注意的是, 新型固态储氢材料作为生物修复材料的同时也应注意材料本身对生态环境的影响。

通过上述重点方向研究, 有望揭示复杂环境中产氢微生物和耗氢微生物的互营关系及其耦合有毒化合物去除的作用机制, 构建高效协助污染物降解的氢化酶及基于 H_2 的高效修复材料, 为未来提供一种低投入、生态友好的生物修复策略。

参考文献 (References)

- [1] Ji M K, Greening C, Vanwonderghem I, et al. Atmospheric trace gases support primary production in Antarctic desert surface soil[J]. *Nature*, 2017, 552 (7685): 400—403.
- [2] Bay S K, Dong X Y, Bradley J A, et al. Trace gas oxidizers are widespread and active members of soil microbial communities[J]. *Nature Microbiology*, 2021, 6 (2): 246—256.
- [3] Greening C, Grinter R. Microbial oxidation of atmospheric trace gases[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2022, 20 (9): 513—528.
- [4] Greening C, Islam Z F, Bay S K. Hydrogen is a major lifeline for aerobic bacteria[J]. *Trends in Microbiology*,

- 2022, 30 (4); 330—337.
- [5] Pich é -Choquette S, Constant P. Molecular hydrogen, a neglected key driver of soil biogeochemical processes[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2019, 85 (6); e02418-18.
- [6] Greening C, Constant P, Hards K, et al. Atmospheric hydrogen scavenging; from enzymes to ecosystems[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(4); 1190—1199.
- [7] Greening C, Biswas A, Carere C R, et al. Genomic and metagenomic surveys of hydrogenase distribution indicate H₂ is a widely utilised energy source for microbial growth and survival[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10 (3); 761—777.
- [8] Vignais P M, Billoud B. Occurrence, classification, and biological function of hydrogenases; An overview[J]. *Chemical Reviews*, 2007, 107 (10); 4206—4272.
- [9] Marshall I P G, Berggren D R V, Azizian M F, et al. The hydrogenase chip; A tiling oligonucleotide DNA microarray technique for characterizing hydrogen-producing and-consuming microbes in microbial communities[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6 (4); 814—826.
- [10] Seshadri R, Adrian L, Fouts D E, et al. Genome sequence of the PCE-dechlorinating bacterium *Dehalococcoides ethenogenes*[J]. *Science*, 2005, 307 (5706); 105—108.
- [11] Rahm B G, Morris R M, Richardson R E. Temporal expression of respiratory genes in an enrichment culture containing *Dehalococcoides ethenogenes*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72(8); 5486—5491.
- [12] Kublik A, Deobald D, Hartwig S, et al. Identification of a multi - protein reductive dehalogenase complex in *Dehalococcoides mccartyi* strain CBDB 1 suggests a protein - dependent respiratory electron transport chain obviating quinone involvement[J]. *Environmental Microbiology*, 2016, 18 (9); 3044—3056.
- [13] Li X, Lan S, Zhu Z, et al. The bioenergetics mechanisms and applications of sulfate-reducing bacteria in remediation of pollutants in drainage; A review[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 158; 162—170.
- [14] Lovley D R. The microbe electric; conversion of organic matter to electricity[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2008, 19 (6); 564—571.
- [15] Xu Y, Teng Y, Dong X, et al. Genome-resolved metagenomics reveals how soil bacterial communities respond to elevated H₂ availability[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 163; 108464.
- [16] Berney M, Greening C, Hards K, et al. Three different [NiFe] hydrogenases confer metabolic flexibility in the obligate aerobe *Mycobacterium smegmatis*[J]. *Environmental Microbiology*, 2014, 16 (1); 318—330.
- [17] Huang G, Wagner T, Ermler U, et al. Methanogenesis involves direct hydride transfer from H₂ to an organic substrate[J]. *Nature Reviews Chemistry*, 2020, 4 (4); 213—221.
- [18] Li Q S, Wang R, Ma Z Y, et al. Dietary selection of metabolically distinct microorganisms drives hydrogen metabolism in ruminants[J]. *The ISME Journal*, 2022, 16 (11); 2535—2546.
- [19] Engelbrecht V, Liedtke K, Rutz A, et al. One isoform for one task? The second hydrogenase of *Chlamydomonas reinhardtii* prefers hydrogen uptake[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2021, 46(10); 7165—7175.
- [20] Pandelia M E, Lubitz W, Nitschke W. Evolution and diversification of Group 1 [NiFe] hydrogenases. Is there a phylogenetic marker for O₂-tolerance?[J]. *BBA-Bioenergetics*, 2012, 1817 (9); 1565—1575.
- [21] Fan X, Zhang X, Zhao G, et al. Aerobic hydrogen-oxidizing bacteria in soil; From cells to ecosystems[J]. *Reviews in Environmental Science and Bio-Technology*, 2022, 21; 1—28.
- [22] Ney B, Ahmed F H, Carere C R, et al. The methanogenic redox cofactor F420 is widely synthesized by aerobic soil bacteria[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(1); 125—137.
- [23] Thauer R K, Kaster A K, Goenrich M, et al. Hydrogenases from methanogenic archaea, nickel, a novel cofactor, and H₂ storage[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 2010, 79 (1); 507—536.
- [24] Schut G J, Nixon W J, Lipscomb G L, et al. Mutational analyses of the enzymes involved in the metabolism of hydrogen by the hyperthermophilic archaeon *Pyrococcus furiosus*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2012, 3; 163.
- [25] Constant P, Chowdhury S P, Hesse L, et al. Genome data mining and soil survey for the novel group 5 [NiFe]-hydrogenase to explore the diversity and ecological importance of presumptive high-affinity H₂-oxidizing bacteria[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77 (17); 6027—6035.
- [26] Losey N A, Poudel S, Boyd E S, et al. The beta subunit of non-bifurcating NADH-dependent [FeFe]-hydrogenases differs from those of multimeric electron-bifurcating [FeFe]-hydrogenases[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11; 1109.
- [27] Uffen R L. Anaerobic growth of a *Rhodospseudomonas* species in the dark with carbon monoxide as sole carbon and energy substrate[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1976, 73 (9); 3298—3302.
- [28] Kochetkova T V, Mardanov A V, Sokolova T G, et al. The first

- crenarchaeon capable of growth by anaerobic carbon monoxide oxidation coupled with H₂ production[J]. *Systematic and Applied Microbiology*, 2020, 43 (2); 126064.
- [29] Kosourov S, Leino H, Murukesan G, et al. Hydrogen photoproduction by immobilized N₂-fixing cyanobacteria; understanding the role of uptake hydrogenase in the long-term process[J]. *Applied Environmental Microbiology*, 2014, 80 (18); 5807—5817.
- [30] Dong Z, Wu L, Kettlewell B, et al. Hydrogen fertilization of soils—Is this a benefit of legumes in rotation?[J] *Plant Cell and Environment*, 2003, 26 (11); 1875—1879.
- [31] Barney B M. Aerobic nitrogen-fixing bacteria for hydrogen and ammonium production; Current state and perspectives[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2020, 104 (4); 1383—1399.
- [32] Das D, Veziroglu T N. Hydrogen production by biological processes ; A survey of literature[J]. *International Journal of Hydrogen Energy*, 2001, 26(1), 13—28.
- [33] Yang K C, Metcalf W W. A new activity for an old enzyme; *Escherichia coli* bacterial alkaline phosphatase is a phosphite-dependent hydrogenase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101 (21); 7919—7924.
- [34] Nandi R, Sengupta S. Microbial production of hydrogen; An overview[J]. *Critical Reviews in Microbiology*, 1998, 24 (1); 61—84.
- [35] Bay S K, Waite D W, Dong X Y, et al. Chemosynthetic and photosynthetic bacteria contribute differentially to primary production across a steep desert aridity gradient[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15 (11); 3339—3356.
- [36] Tabak H H, Lens P, van Hullebusch E D, et al. Developments in bioremediation of soils and sediments polluted with metals and radionuclides-1. Microbial processes and mechanisms affecting bioremediation of metal contamination and influencing metal toxicity and transport[J]. *Reviews in Environmental Science Bio-technology*, 2005, 4 (3); 115—156.
- [37] Mus F, Crook M B, Garcia K, et al. Symbiotic nitrogen fixation and the challenges to its extension to nonlegumes[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82 (13); 3698—3710.
- [38] Annan H, Golding A L, Zhao, Y, et al. Choice of hydrogen uptake (Hup) status in legume-rhizobia symbioses[J]. *Ecology and Evolution*, 2012, 2 (9); 2285—2290.
- [39] Wang X M, Teng Y, Tu C, et al. Coupling between nitrogen fixation and tetrachlorobiphenyl dechlorination in a rhizobium-legume symbiosis[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52 (4); 2217—2224.
- [40] Maimaiti J, Zhang Y, Yang J, et al. Isolation and characterization of hydrogen-oxidizing bacteria induced following exposure of soil to hydrogen gas and their impact on plant growth[J]. *Environmental Microbiology*, 2007, 9 (2); 435—444.
- [41] Martinez C M, Alvarez L H, Celis L B, et al. Humus-reducing microorganisms and their valuable contribution in environmental processes[J]. *Applied Microbiology And Biotechnology*, 2013, 97 (24); 10293—10308.
- [42] Khdhiri M, Piché-Choquette S, Tremblay J, et al. The tale of a neglected energy source ; Elevated hydrogen exposure affects both microbial diversity and function in soil[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83 (11); e00275-17.
- [43] Piché-Choquette S, Khdhiri M, Constant P. Dose-response relationships between environmentally-relevant H₂ concentrations and the biological sinks of H₂, CH₄ and CO in soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2018, 123; 190—199.
- [44] Teng Y, Xu Y F, Wang X M, et al. Function of biohydrogen metabolism and related microbial communities in environmental bioremediation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10; 106.
- [45] Zanaroli G, Negroni A, Häggblom M M, et al. Microbial dehalogenation of organohalides in marine and estuarine environments[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2015, 33; 287—295.
- [46] Jugder B E, Ertan H, Lee M, et al. Reductive dehalogenases come of age in biological destruction of organohalides[J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33 (10); 595—610.
- [47] Agarwal V, Miles Z D, Winter J M, et al. Enzymatic halogenation and dehalogenation reactions; Pervasive and mechanistically diverse[J]. *Chemical Reviews*, 2017, 117 (8); 5619—5674.
- [48] Brahusi F, Kengara F O, Song Y, et al. Fate processes of chlorobenzenes in soil and potential remediation strategies; A review[J]. *Pedosphere*, 2017, 27 (3); 407—420.
- [49] Jugder B E, Ertan H, Bohl S, et al. Organohalide respiring bacteria and reductive dehalogenases ; Key tools in organohalide bioremediation[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7; 249.
- [50] Schubert T, Adrian L, Sawers R G, et al. Organohalide respiratory chains; Composition, topology and key enzymes[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, 94(4); fiy035.

- [51] Türkowsky D, Jehmlich N, Diekert G, et al. An integrative overview of genomic, transcriptomic and proteomic analyses in organohalide respiration research[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2018, 94 (3); fiy013.
- [52] Hartwig S, Dragomirova N, Kublik A, et al. A H₂ - oxidizing, 1, 2, 3 - trichlorobenzene - reducing multienzyme complex isolated from the obligately organohalide - respiring bacterium *Dehalococcoides mccartyi* strain CBDB1[J]. Environmental Microbiology Report, 2017, 9 (5); 618—625.
- [53] Villemur R, Lanthier M, Beaudet R, et al. The *Desulfitobacterium* genus[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2006, 30 (5); 706—733.
- [54] Rupakula A, Kruse T, Boeren S, et al. The restricted metabolism of the obligate organohalide respiring bacterium *Dehalobacter restrictus*; lessons from tiered functional genomics[J]. Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Science, 2013, 368 (1616); 20120325.
- [55] Morris B E L, Henneberger R, Huber H, et al. Microbial syntrophy; Interaction for the common good[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2013, 37 (3); 384—406.
- [56] Vignais P M, Billoud B, Meyer J. Classification and phylogeny of hydrogenases[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2001, 25 (4); 455—501.
- [57] Thomas S H, Wagner R D, Arakaki A K, et al. The mosaic genome of *Anaeromyxobacter dehalogenans* strain 2CP-C suggests an aerobic common ancestor to the delta-proteobacteria[J]. PLoS One, 2008, 3 (5); e2103.
- [58] Hong Y, Guo J, Sun G. Identification of an uptake hydrogenase for hydrogen-dependent dissimilatory azoreduction by *Shewanella decolorationis* S12[J]. Applied Microbiology Biotechnology, 2008, 80 ; 517—524.
- [59] Brigé A, Motte B, Borloo J, et al. Bacterial decolorization of textile dyes is an extracellular process requiring a multicomponent electron transfer pathway[J]. Microbial Biotechnology, 2008, 1 (1); 40—52.
- [60] Watrous M M, Clark S, Kutty R, et al. 2, 4, 6-Trinitrotoluene reduction by an Fe-only hydrogenase in *Clostridium acetobutylicum*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69 (3); 1542—1547.
- [61] Le Laz S, Kpebe A, Lorquin J, et al. H₂-dependent azoreduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 ; Involvement of secreted flavins and both [Ni-Fe] and [Fe-Fe] hydrogenases[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98 ; 2699—2707.
- [62] Xu Y, Teng Y, Wang X, et al. Exploring bacterial community structure and function associated with polychlorinated biphenyl biodegradation in two hydrogen-amended soils[J]. Science of the Total Environment, 2020, 745 ; 140839.
- [63] Wang Y, Zhang T, Wang J, et al. Regulation of chlorothalonil degradation by molecular hydrogen[J]. Journal of Hazardous Materials, 2022, 424 ; 127291.
- [64] Tebo B M, Obraztsova A Y. Sulfate-reducing bacterium grows with Cr (VI), U (VI), Mn (IV), and Fe (III) as electron acceptors[J]. FEMS Microbiology Letters, 1998, 162 (1); 193—199.
- [65] Hussain A, Hasan A L, Javid A, et al. Exploited application of sulfate-reducing bacteria for concomitant treatment of metallic and non-metallic wastes; A mini review[J]. 3 Biotech, 2016, 6 (2); 119.
- [66] Deplanche K, Caldelari I, Mikheenko I P, et al. Involvement of hydrogenases in the formation of highly catalytic Pd (0) nanoparticles by bioreduction of Pd (II) using *Escherichia coli* mutant strains[J]. BMC Microbiology, 2010, 156 (9); 2630—2640.
- [67] Heidelberg J F, Paulsen I T, Nelson K E, et al. Genome sequence of the dissimilatory metal ion-reducing bacterium *Shewanella oneidensis*[J]. Nature Biotechnology, 2002, 20 (11); 1118—1123.
- [68] Zadovny O A, Zorin N A, Gogotov I N. Transformation of metals and metal ions by hydrogenases from phototrophic bacteria[J]. Archives of Microbiology, 2006, 184 (5); 279—285.
- [69] Huang L Y, Liu X, Zhou S G. Direct interspecies electron transfer of microbes; Mechanism and application[J]. Acta Pedologica Sinica, 2018, 55 (6); 1313-1324. [黄玲艳, 刘星, 周顺桂. 微生物直接种间电子传递: 机制及应用 [J]. 土壤学报, 2018, 55 (6); 1313—1324.]
- [70] Odom J, Peck H Jr. Hydrogen cycling as a general mechanism for energy coupling in the sulfate-reducing bacteria, *Desulfovibrio* sp.[J]. FEMS Microbiology Letters, 1981, 12 (1); 47—50.
- [71] Stams A J M, Plugge C M. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea[J]. Nature Reviews Microbiology, 2009, 7 (8); 568—577.
- [72] Lee M, Low A, Zemb O, et al. Complete chloroform dechlorination by organochlorine respiration and fermentation[J]. Environmental Microbiology, 2012, 14 (4), 883—894.
- [73] Men Y J, Feil H, VerBerkmoes N C, et al. 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.
- [74] He J Z, Ritalahti K M, Aiello M R, et al. Complete detoxification of vinyl chloride by an anaerobic enrichment

- culture and identification of the reductively dechlorinating population as a *Dehalococcoides* species[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(2); 996—1003.
- [75] He J Z, Ritalahti K M, Yang K L, et al. Detoxification of vinyl chloride to ethene coupled to growth of an anaerobic bacterium[J]. Nature, 2003, 424 (6944); 62—65.
- [76] Ren X Y, Zeng G M, Tang L, et al. Sorption, transport and biodegradation-an insight into bioavailability of persistent organic pollutants in soil. Science of the Total Environment, 2018, 610; 1154—1163.
- [77] Teng Y, Chen W. Soil microbiomes-a promising strategy for contaminated soil remediation ; A review[J]. Pedosphere, 2019, 29 (3); 283—297
- [78] Trchounian K, Pinske C, Sawers R G, et al. Dependence on the F0F1-ATP synthase for the activities of the hydrogen-oxidizing hydrogenases 1 and 2 during glucose and glycerol fermentation at high and low pH in *Escherichia coli*[J]. Journal of Bioenergetics and Biomembranes, 2011, 43 (6); 645—650.
- [79] Cui W T, Gao C Y, Fang P, et al. Alleviation of cadmium toxicity in *Medicago sativa* by hydrogen-rich water[J]. Journal of Hazardous Materials, 2013, 260; 715—724.
- [80] Liu S, Li J Y, Oshita S, et al. Formation of a hydrogen radical in hydrogen nanobubble water and its effect on copper toxicity in *Chlorella*[J]. ACS Sustainable Chemistry & Engineering, 2021, 9(33); 11100—11109.
- [81] Zhang Q Y, Du S C, Ma Z W, et al. Recent advances in Mg-based hydrogen storage materials[J]. Chinese Science Bulletin, 2022, 67 (19); 2158-2171. [张秋雨, 杜四川, 马哲文, 等. 镁基储氢材料的研究进展[J]. 科学通报, 2022, 67 (19); 2158-2171.]

(责任编辑: 陈荣府)