

希瓦氏菌对污染物的去除机理及其潜在应用价值

李 宝^{1,2}, 黄 强^{1,2}, 刘晓玲¹, 倪建梅¹, 郭 圆¹, 郝立凯^{1,3,*}

(1. 中国科学院地球化学研究所 环境地球化学国家重点实验室, 贵阳 550081; 2. 中国科学院大学, 北京 100049;
3. 中国科学院第四纪科学与全球变化卓越创新中心, 西安 710061)

摘 要: 快速的城市化和工业化进程导致了严重的环境污染, 尽管物理化学处理方法能够有效实现污染物的去除, 但通常需要较高的成本和复杂的操作过程, 且往往会带来二次污染, 因此环境友好、经济高效且可持续的微生物修复策略引起了广泛关注。希瓦氏菌拥有细胞色素及电子穿梭体组成的独特电子传递系统, 不仅能直接利用胞内外有机或无机污染物作为电子供体或受体实现污染物的去除, 还可以通过驱动芬顿反应、合成纳米材料和构建生物电化学系统等途径实现污染物处理和资源化。本文综述了希瓦氏菌的胞外电子传递途径及其在污染物治理领域的研究现状, 以为希瓦氏菌在污染物治理及环境修复领域的研究与应用提供参考。

关键词: 希瓦氏菌; 电子传递; 有机污染物; 重金属; 无机非金属离子

中图分类号: X50 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-9250(2023)06-0667-14 **doi:** 10.14050/j.cnki.1672-9250.2023.51.009

随着人类工业化不断发展, 各种污染物进入并积累在环境中, 威胁生态环境安全与人体健康^[1]。虽然这些污染物能够通过吸附、膜分离和传统芬顿法等物理化学手段得到处理, 但通常过程复杂、成本较高, 并伴随二次污染物的产生^[2-3]。环境中广泛存在的微生物能利用污染物作为电子供体或受体, 将污染物转化为易于生物降解或毒性更低的状态, 且相较于物理化学手段, 将微生物应用于污染物处理还具有成本低、环境友好等优势, 因此, 基于微生物代谢过程的污染物处理方法得到了广泛研究^[4]。希瓦氏菌 (*Shewanella species*) 存在于各类环境中, 拥有丰富的呼吸策略, 具有多种污染物转换能力和抗性机制^[5], 能够在受污染环境生存, 并利用胞内外电子传递过程实现污染物的去除, 在污染物治理和生物技术应用中具有巨大潜力^[6]。

本文从希瓦氏菌的电子传递机制出发, 总结了希瓦氏菌在特定污染物治理中的研究进展, 阐明了其在污染物处理过程中的治理机制和影响因素, 并展望了其在未来环境修复过程中的应用潜力。

1 希瓦氏菌及其电子传递机制

迄今为止, 希瓦氏菌属 (*Shewanella genus*) 已发现约 80 个种 (<http://www.bacterio.net/shewanella.html>), 广泛分布于湖泊、海洋、沉积物等各类环境^[7-8]。希瓦氏菌通常拥有细胞色素及电子穿梭体构建的电子传递网络, 能够耦合胞内电子供体的氧化与胞外末端电子受体的还原^[9], 进而利用多种电子受体维持自身的生长, 是目前已知呼吸策略最丰富的微生物^[10]。

胞外电子传递 (Extracellular electron transfer, EET) 指的是细胞质膜上醌池 (Quinol Pool) 与胞外物质间的电子交换^[11], 是希瓦氏菌电子传递网络的重要组成部分, 包括直接电子传递 (Direct electron transfer, DET) 和间接电子传递 (Mediated electron transfer, MET) 两类 EET 机制^[12]。DET 指细胞利用外膜多血红素 *c* 型细胞色素 (Multiheme *c*-Cyts) 直接接触胞外电子受体或供体进而实现电子转移。MET 指利用各类电子穿梭体作为细胞与末端电子受体或供体之间的电子传递体, 从而实现电子的交

收稿日期: 2023-02-03; 改回日期: 2023-03-29

基金项目: 贵州省科学技术厅课题 (E2DF028); 国家自然科学基金面上项目 (41877400); 国家重点研发计划课题 (2018YFC1802601); 中国科学院科研启动经费 (2017-020); 中国科学院 B 类战略性先导专项课题 (XDB40020300)。

第一作者简介: 李 宝 (1997-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为环境微生物地球化学。E-mail: libao20@mails.ucas.ac.cn.

* 通讯作者: 郝立凯 (1980-), 男, 博士, 研究员, 研究方向为微生物铁循环微观机制与环境适应策略, 重金属微生物地球化学。E-mail: haolikai@mail.gyig.ac.cn.

换^[13]。两类 EET 途径相互协同,既能通过 OEET (Outward EET, OEET)将电子传递至胞外,实现胞外污染物还原降解,还能利用 IEET (Inward EET, IEET)将电子由胞外传递至胞内,实现增值化学品的生物转化^[14]。目前对于 OEET 研究最为广泛,本文以模式菌株 *S. oneidensis* MR-1 的 OEET 为例(图 1),对其进行详细介绍。

DET 途径中,金属还原(Metal reducing, Mtr)途径是 *S. oneidensis* MR-1 最具代表性的电子传递途径,主要由 CymA、CctA、Fcc₃(FccA)、MtrCAB、OmcA 组成^[15]。其中 CymA 是锚定在细胞内膜上的四血红素 c 型细胞色素,其从醌池接收电子并通过周质中的电子载体(CctA、Fcc₃)传递至 MtrA^[16-17],多血红素细胞色素 MtrC、MtrA 与外膜孔蛋白 MtrB 在外膜上能够形成蛋白质复合物 MtrCAB^[18],该复合物将电子传递至细胞表面,并通过 MtrC 与 OmcA 将电子转移至胞外各类电子穿梭体及电子受体^[11,19]。MtrC 与 OmcA 还具有黄素结合位点,能够利用黄素作为辅助因子加强 DET 途径^[20-21]。除了 MtrCAB 复合物外,*S. oneidensis* MR-1 中还存在其同源物 MtrFDE^[9],其中 MtrF 与 MtrC 表现出相似的电子传递效率^[22],但该同源物性质及其在 EET 过程中的具体作用还没有得到充分研究。此外,*S. oneidensis*

MR-1 还通过外膜和周质的延伸,形成纳米线(Nanowires),MtrC 和 OmcA 存在于向外延伸的外膜上,通过电子跃迁机制介导长距离电子转移^[23-26]。

MET 依赖于胞外的各类氧化还原物质,包括内源性黄素(黄素单核苷酸(Flavin mononucleotide, FMN)与核黄素(Riboflavin, RF))、脂溶性醌(Liposoluble quinone)、细胞色素等,它们能够作为电子穿梭体,在细胞与胞外电子受体之间,以氧化态和还原态形式反复穿梭,实现远距离电子交换^[19,27-30],其中内源性黄素还能够诱导固相表面生物膜的形成^[31]。有研究表明,基于黄素和细胞色素的 MET 在 EET 过程中发挥重要作用^[28,32]。希瓦氏菌复杂的电子传递网络,使其具备特殊的跨膜电子传递能力和丰富的呼吸策略,被广泛应用于污染治理和生物技术研究^[33-35]。

2 希瓦氏菌降解有机污染物的研究进展

有机污染物随人类活动分布于各类环境中,尤其是偶氮染料、硝基芳烃化合物等人为合成的难降解有机污染物,因其生物毒性和稳定性,通常对生物体造成严重的健康威胁^[36]。希瓦氏菌不仅能够直接降解有机污染物,还可以通过驱动芬顿反应

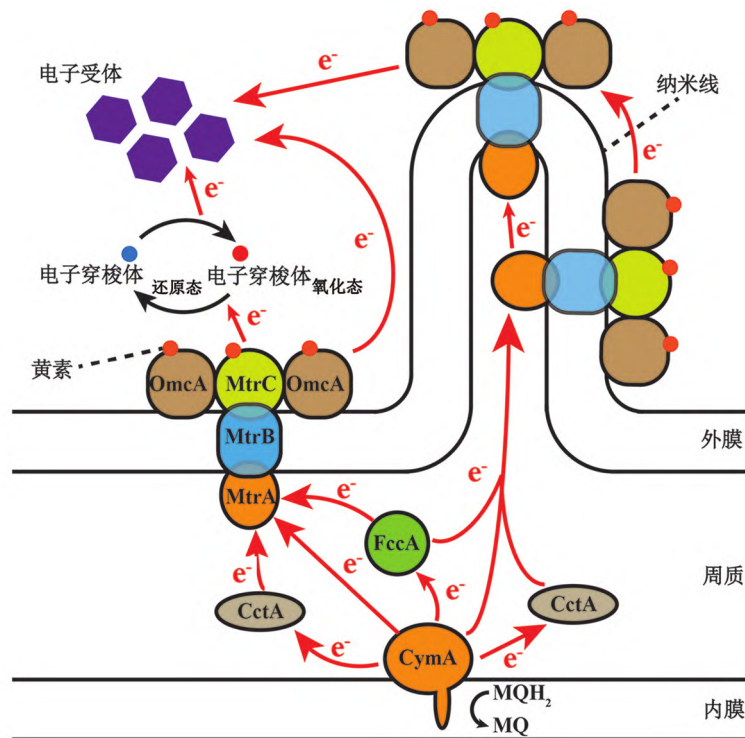


图 1 *S. oneidensis* MR-1 向外胞外电子传递示意图

Fig. 1 Conceptual model of the outward EET pathways of *S. oneidensis* MR-1

(Fenton reaction)、合成纳米催化材料或构建微生物燃料电池等途径实现有机物污染降解或资源化利用。

2.1 基于单一希瓦氏菌的有机污染物降解

希瓦氏菌能够利用邻二甲苯、吡啶等有机污染物作为电子供体实现有机污染物的降解^[37-38],但具体降解过程及关键功能性酶尚不清楚,目前对于希瓦氏菌利用偶氮染料(Azo dye)、硝基芳烃化合物(NACs)等有机污染物作为电子受体,实现有机污染物降解的研究更为充分(图2)^[15,39],该过程不仅依赖于细胞表面的 MtrC、OmcA 以及胞内的 CymA、NfnB 等氧化还原酶^[40-42],还依赖于内源性黄素、脂溶性醌以及细胞色素等胞外电子穿梭体^[43]。

希瓦氏菌对有机污染物的还原途径和降解效率受污染物分子量、疏水性以及分子极性的影响^[41,44-45]。分子量较大、亲水并具有较高极性的有机污染物(如甲基橙、三硝基苯磺酸等)很难进入到细胞中,只能通过外膜细胞色素与胞外电子穿梭体进行降解^[40,46],相反,分子量较小、疏水且具有较低极性的有机污染物(如甲基红、硝基苯等)既能在胞外降解,又能进入到细胞中实现胞内降解。有机污染物降解效率还受到取代基种类和数目的影响^[47],

例如,NACs 的降解效率会受到烷基和硝基数目的影响,烷基越少或硝基越多则会增强 NACs 中氮原子的电负性使其具有更高的还原效率^[45]。此外,在有机污染物的降解过程中,希瓦氏菌还通过调整代谢和细胞状态,适应环境并促进污染物降解。例如,*S. oneidensis* MR-1 在甲基橙存在条件下表现出增强的糖酵解和 TCA 循环代谢水平^[4],同时降低细胞膜的稳定性,以增加膜的渗透性从而提高内源性黄素的跨膜运输,提高 EET 效率,促进偶氮染料的降解^[48]。*S. decolorationis* S12 在降解酸性红(Amaranth)的过程中,会发生细胞形态的变化,由杆状转变为长达 18 μm 的长线状,并增强 *c* 型细胞色素的表达以提高降解效率^[49]。

希瓦氏菌对有机污染物的降解效率和还原途径还受到环境因素的影响。以偶氮染料降解为例,电子供体、氧气水平、温度及 pH 等环境因素均会影响希瓦氏菌对偶氮染料的降解。Hong 等^[50]及 Xu 等^[36]分别探究了厌氧和微耗氧环境下不同电子供体(乳酸盐、甲酸盐、丙酮酸等)对 *S. decolorationis* S12 降解偶氮染料的影响,发现两种环境下,以乳酸盐作为电子供体时,*S. decolorationis* S12 表现出最佳的脱色能力。Xiao 等^[51]和 Silva 等^[52]探究了环

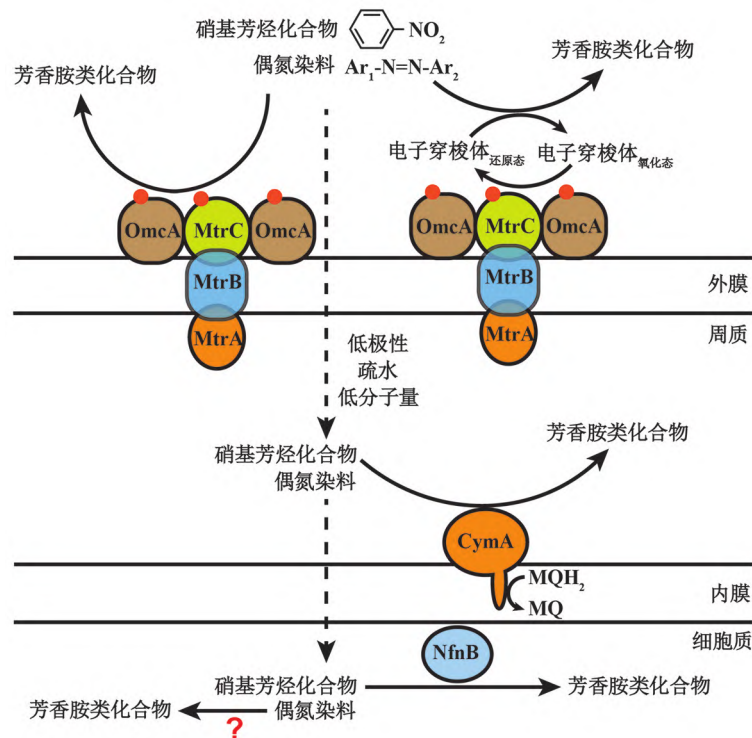


图2 厌氧条件下希瓦氏菌对偶氮染料和硝基苯化合物还原途径

Figure. 2 Azo dyes and NACs reduction mechanisms by *Shewanella* under anaerobic conditions

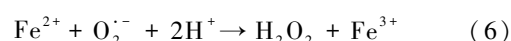
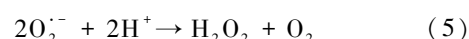
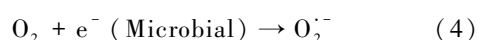
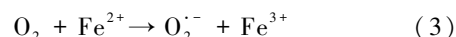
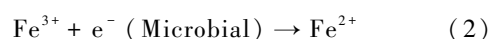
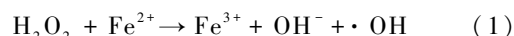
境温度对希瓦氏菌降解偶氮染料的影响,发现最佳降解温度都在 30 °C ~ 40 °C 之间,但某些菌株在较高温度下对偶氮染料仍具有较高的降解效果,例如, Pearce 等^[53]发现 *Shewanella* strain J18 143 在 47 °C 时对活性黑 5 (Remazol Black B) 染料具有最佳脱色效率。Li 等^[42]发现 pH 变化会影响 *S. oneidensis* MR-1 降解染料阳离子红 X-GRL (Cationic red X-GRL) 的途径, pH 升高会引起膜渗透性的变化,从而导致 X-GRL 胞外降解比例逐渐降低。Min 等^[43]发现 *S. putrefaciens* CN-32 在厌氧环境下降解甲基橙的主要产物为芳香胺类化合物,尽管希瓦氏菌在厌氧环境下对偶氮染料具有较高的脱色效率,但其还原产物芳香胺类化合物却难以被生物利用,且具有较强的生物毒性,这些还原产物通常在有氧环境下才能够被彻底降解^[54]。Xu 等^[36]发现微耗氧环境中, *S. decolorationis* S12 能够通过单加氧酶对这些还原产物进一步降解,并彻底矿化。这些发现表明通过控制环境条件不仅能提高希瓦氏菌对有机污染物的降解效率,还能够提高其对有机污染物的降解程度。

除了调节环境因素以实现希瓦氏菌对有机污染物的最佳降解效果,利用希瓦氏菌驱动芬顿反应、合成纳米颗粒或构建生物电化学系统提高有机污染物降解效率或实现有机污染物资源化的相关研究也多有报道。

2.2 基于希瓦氏菌驱动芬顿反应的有机污染物降解

芬顿反应是指芬顿试剂(由 $\text{H}_2\text{O}_2/\text{Fe(II)}$ 组成)所参与的反应(反应式 1),作为一种高级氧化工艺,被广泛应用于有机污染物降解领域^[55]。化学法驱动的芬顿反应需要持续加入 Fe(II) 和 H_2O_2 ,通常需要较高成本^[56]。希瓦氏菌能够在厌氧和微耗氧环境下分别以 Fe(III) 和 O_2 作为电子受体,产生 Fe(II) 和 H_2O_2 以驱动芬顿反应发生,产生活性氧 (ROS) 尤其是羟基自由基 ($\cdot\text{OH}$) (反应式 1 ~ 7)^[57],实现微塑料、二恶烷、三氯乙烯、四氯乙烯等多种有机污染物的降解^[34,58-59]。在希瓦氏菌驱动芬顿反应的过程中,有机污染物的降解效率受到 $\cdot\text{OH}$ 浓度和污染物性质的影响^[60],较高浓度的 $\cdot\text{OH}$ 能够显著提高污染物的降解效率。而 $\cdot\text{OH}$ 产生效率受到体系中铁源类型的影响,其中水铁矿和针铁矿具有比柠檬酸铁更高的 $\cdot\text{OH}$ 产生速率^[60-61]。另外,不同污染物因结构差异对 $\cdot\text{OH}$ 具有不同的敏感度,研究发现多溴联苯醚 (Polybrominated diphenyl

ethers, PBDEs) 的降解受到其溴代数目的影响,溴代数目的增加使得 PBDEs 具有更高的疏水性,影响了 $\cdot\text{OH}$ 对 PBDEs 中碳原子的加成作用,进而在体系中更难以被降解^[60]。此外, Yang 等^[59]发现 *S. putrefaciens* 200 驱动芬顿反应产生的 $\cdot\text{OH}$ 能够有效促进聚苯乙烯微塑料中链的断裂,导致微塑料表面氧化程度的增加,产生的空穴能够加速微生物定殖,使微塑料得到进一步降解。



希瓦氏菌与铁矿物广泛存在于环境中的氧化还原界面,这使得基于希瓦氏菌的芬顿反应在实际原位修复中具有应用的可能^[60]。自然环境中潮间带具有交替的厌氧和好氧条件,同时水流可以连续提供有机碳源,能够形成天然的芬顿反应体系,促进环境中的有机污染物降解^[62]。此外,将希瓦氏菌应用于电芬顿体系中能够显著提高 Fe(II) 转化效率,促进有机污染物降解并减少二次污染物(铁污泥)的产生^[63]。尽管基于希瓦氏菌的芬顿反应体系能够实现对有机污染物的降解,但目前对于体系内中间产物和终产物的组成和毒性还没有充分的研究,需要进一步优化反应条件,提高降解效率并实现有机污染物的完全矿化。

2.3 基于希瓦氏菌合成纳米颗粒的有机污染物降解

纳米颗粒(直径 1 ~ 100 nm)由于尺度小、比表面积大以及表面缺陷 (Defect sites) 丰富等优点,被广泛应用于环境污染治理^[64-65]。物化法是纳米颗粒最常用的合成方法,但通常需要较高的生产成本和严苛的生产条件,且合成过程中有毒溶剂的使用限制了纳米颗粒在环境修复中的实际应用^[66]。希瓦氏菌与纳米材料具有较好的生物相容性,能在较为温和的环境下,利用表面 *c* 型细胞色素以及各种官能团作为成核位点^[67-68],合成纳米颗粒,分泌的蛋白质和其他生物分子还能够作为封端剂 (Capping agent) 防止纳米颗粒聚集,提高纳米颗粒的稳定性^[69-70]。因此,生物法合成的纳米颗粒不仅具有纯度高、成本低以及环境友好等优点,而且相较于物化法合成的纳米颗粒具有相当甚至更优异的物化

性能^[64]。

希瓦氏菌能够还原钯(Pd)、银(Ag)等金属形成纳米颗粒,并应用于NACs等有机污染物降解过程,例如,Kong等^[71]利用*S. oneidensis* MR-1还原Pd(II)合成Pd(0)纳米颗粒,与*S. oneidensis* MR-1组成协同催化系统,有效催化多种氯代硝基芳烃(Chlorinated nitroaromatic compounds, CNAs)还原降解,生成终产物苯胺。此外,利用希瓦氏菌在氧化石墨烯(rGO)、多壁碳纳米管等碳基材料表面原位形成分散良好的纳米颗粒,能够进一步提高体系中有机污染物的降解效率^[72-73]。Song等^[73]利用*S. oneidensis* MR-1在多壁碳纳米管表面形成均匀分散的银纳米颗粒,该过程中,银纳米颗粒接收来自*S. oneidensis* MR-1和硼氢化钠的电子,并在多壁碳纳米管上形成电子富集区,利用多壁碳纳米管优良的吸附能力和丰富的氧化还原位点促进体系中4-硝基苯酚的降解。除了单金属纳米颗粒外,希瓦氏菌还能够合成双金属复合纳米颗粒,基于组分的协同作用,金属复合纳米颗粒表现出比单金属纳米颗粒更优秀的催化性能^[74],例如,Xu等^[70]基于*S. oneidensis* MR-1合成了Pd-Pt合金纳米颗粒,该纳米颗粒对4-硝基苯酚和甲基红偶氮染料的催化效率较Pd单金属纳米颗粒分别提高了2.55倍和1.67倍。此外,*S. oneidensis* MR-1合成的纳米颗粒CdS还具有光催化性质,能够在可见光或紫外光照射下产生光生电子与光生空穴,细胞呼吸产生的电子能够起到空穴清除剂的作用,进而维持纳米颗粒的光激发过程,持续产生光生电子降解有机污染物^[75],且光生电子还能够通过与O₂、H₂O反应生成O₂⁻与·OH,促进有机污染物的降解^[76]。

希瓦氏菌合成纳米颗粒的效率和性质与pH、温度、压力、底物浓度、碳源种类及菌株种类等多种因素密切相关,研究这些影响因素不仅有助于提高纳米颗粒的产量,还有助于合成具有固定性质的纳米颗粒。此外,纳米颗粒的提取、纯化、储存等步骤同样重要,不同处理方法对纳米颗粒稳定性、分散性和催化活性的影响值得进一步研究。

2.4 基于希瓦氏菌构建微生物燃料电池的有机污染物降解

微生物燃料电池(Microbial fuel cell, MFC)作为一类广泛研究的生物电化学系统,能够基于微生物代谢过程将有机污染物的化学能转化成电能,进而实现能量回收和废水处理^[77-78]。希瓦氏菌具有

OEET途径,能够利用电极作为电子受体,且完整的基因组序列和成熟的遗传操纵系统使得其通常作为模式生物应用于MFC研究。

希瓦氏菌不仅能够在阳极室利用天然有机污染物作为底物^[77],还能以共底物或阴极辅助还原的方式实现偶氮染料、三苯甲烷燃料等人工合成有机污染物的降解^[79-80]。此外,包含有乳酸、乙酸、葡萄糖、半胱氨酸等多种有机物的乳制品废水、竹子制氢废水等工业废水也能够作为阳极室的反应底物,实现废水处理的同时回收废水中有机污染物的化学能^[81-82]。

希瓦氏菌较差的EET效率和电极上较低的生物负载是限制其在MFC中应用的主要瓶颈,外源性电子穿梭体、碳基材料、纳米材料以及不同材料相互组合使用能够有效改善这一问题^[80,83-84]。例如,Cao等^[85]通过在阳极材料中使用还原氧化石墨烯-银纳米颗粒复合物(rGO-Ag),不仅显著提高*S. oneidensis* MR-1在电极上的负载量,还能促进细胞与电极间的电子转移效率从而获得更强的电流输出。基因工程也被用于调节希瓦氏菌的电子传递系统以提高EET效率从而获得更优异的产电性能,例如,Yang等^[79]通过在*S. carassii*中异源表达*Bacillus subtilis*的*ribADEHC*基因簇,将核黄素产量提高了3.74倍,使得体系最大输出功率密度提高了83%。Sun等^[17]通过基因工程手段优化了*S. oneidensis* MR-1周质的电子传递网络,即敲除*napB*、*fccA*、*tsdB*,并诱导CctA过表达,将MFC的最大输出功率密度提高2.62倍,且该体系性能还能通过添加外源性核黄素进一步提高。希瓦氏菌有限的可利用底物,限制了其在MFC中的应用,其代谢图谱也可以通过基因工程拓宽。Li等^[86]通过基因工程在*S. oneidensis* MR-1异源表达木糖转移蛋白基因*Gxf1*与木糖氧化还原途径相关基因*XYL1*、*XYL*、*XKS1*,使其能够在阳极室以木糖作为碳源和电子供体产生电力。Nakagawa等^[87]在*S. oneidensis* MR-1中引入葡萄糖转运蛋白基因*galP*和葡萄糖激酶基因*glk*,使其能够利用葡萄糖作为反应底物产生电流。但基因工程构建的工程菌还具有许多不足,例如生长速率较低、生物膜形成缓慢等问题^[17],还需要其他方式相互补充,并推动其在实际应用的可能。

相较于单一希瓦氏菌构建的MFC系统,将希瓦氏菌加入到混合培养物中,能够改善混合培养物的生物电化学活性进而提高MFC的最大输出功率密

度。You 等^[37]将 *S. oneidensis* MR-1 加入到混合培养物后,阳极生物膜活性及生物多样性显著提高,其产生的纳米线能够加强胞间联系与电子转移,将邻二甲苯的去除效率提高了 35%~76%,显著降低 MFC 外电阻的同时将最大输出功率密度提高了 1.78 倍。因此构建希瓦氏菌等电活性微生物参与的混合菌群,是未来提高 MFC 污染物转化效率和产电性能的重要方向。

除了 MFC 外,基于希瓦氏菌 IEET 的微生物电合成(Microbial electrosynthesis, MES)也是一类具有较大应用潜力的生物电化学系统,能够处理污染物的同时生成增值化学品。例如,Le 等^[88]利用 *S. oneidensis* MR-1 IEET 接收来自电极的电子,并转移至周质中的 FDH(甲酸脱氢酶),将 CO₂ 转化为甲酸,实现 CO₂ 封存的同时产生增值化学品。但目前该技术还处在起步阶段,未来还需要确定 IEET 的电子传递路径、最佳反应条件与相关活性酶的动力学参数,这将推动该技术在现实中的实际应用。

3 希瓦氏菌在重金属铬污染治理中的研究进展

Cr(VI)、U(VI)、Co(III) 等高价重金属离子具有较强的迁移能力和生物毒性,希瓦氏菌能够利用其 EET 还原该类重金属离子,并转化为易于沉淀或毒性较低的形态,捕获在沉淀物和生物膜中,实现该类重金属的去除。铬广泛应用于制革、电镀、木材防腐等工业生产^[89],并随生产过程产生的废物进入到环境,对生态环境和人体健康造成威胁,作为典型的重金属污染物,Cr(VI)具有比 Cr(III)更强的生物毒性和环境迁移风险,因此基于希瓦氏菌异化金属还原能力的 Cr(VI)污染治理手段得到了广泛研究^[90]。本文以 Cr(VI)为例,阐述了希瓦氏菌对 Cr(VI)的还原机制、影响因素及抗性机制(图 3)。

3.1 希瓦氏菌对 Cr(VI)的处理机制及影响因素

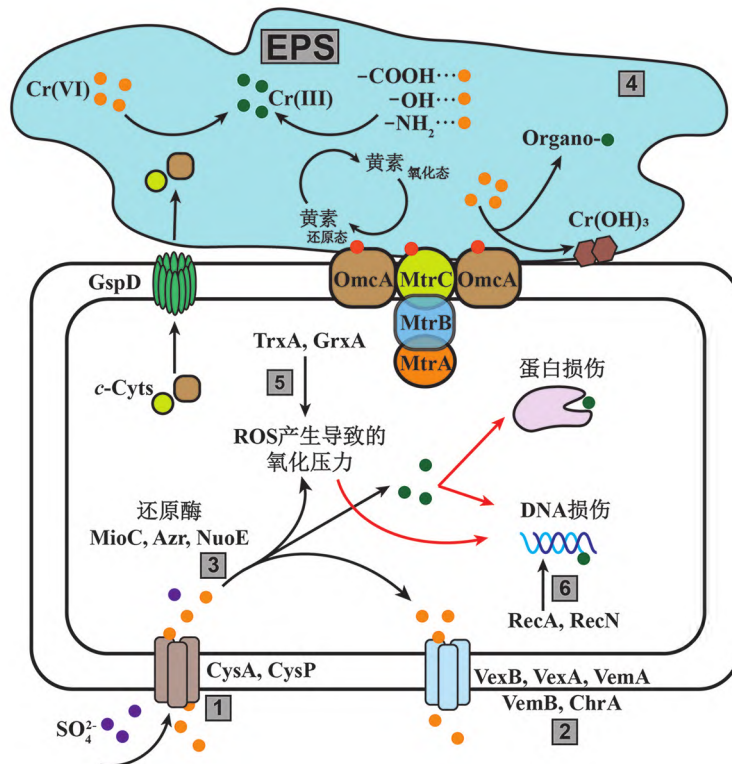
Cr(VI)通常以阴离子 CrO₄²⁻ 或 Cr₂O₇²⁻ 的可溶态存在于工业废物和环境中,迁移能力和生物毒性较强,具有较大的环境及健康风险^[91],由于 CrO₄²⁻ 与 SO₄²⁻ 相似的性质,Cr(VI)能通过 SO₄²⁻ 通道进入到细胞中^[92],被胞内的各类还原酶(黄素蛋白、血红蛋白等)还原^[93],但胞内 Cr(VI)还原过程形成的中间物 Cr(V)会造成胞内氧化应激,进一步还原生成的 Cr(III)还能够与蛋白质、DNA 等功能分子形成加合物,造成生物毒性并损害细胞功能^[94]。希瓦

氏菌能够利用细胞表面及胞外的 *c*-Cyts、黄素等氧化还原物质实现 Cr(VI)的胞外还原^[95-96],减少胞内还原 Cr(VI)对细胞组分造成的损伤。Liu 等^[28]研究发现,*S. oneidensis* MR-1 主要通过 MET 途径实现 Cr(VI)的胞外还原,该过程中,Cr(VI)能够与 EPS(Extracellular polymeric substances)中蛋白质和多糖上的羟基、羧基、氨基等官能团结合^[97],进而被 *c*-Cyts、黄素以及含氧官能团还原^[95],形成的 Cr(III)能够与生物膜中的含氧官能团(如羧基、羟基等)络合或形成 Cr(OH)₃ 和 Cr₂O₃ 颗粒固定在细胞表面^[96,98-99]。

希瓦氏菌对 Cr(VI)的还原受到多种环境因素的影响,调节体系中的环境因子能够有效提高菌株对 Cr(VI)的处理效率。Han 等^[100]探究了电子供体、pH、温度及 Cr(VI)浓度对 *S. oneidensis* MR-1 还原 Cr(VI)速率的影响,发现厌氧以乳酸盐作为电子供体、30 °C 且 pH=7 的培养条件下,*S. oneidensis* MR-1 表现出最佳的 Cr(VI)还原速率,且由于 Cr(VI)与 Cr(III)对细胞造成的毒害作用,随着 Cr(VI)与 Cr(III)浓度升高,*S. oneidensis* MR-1 对 Cr(VI)的还原能力逐渐降低,其对 Cr(VI)与 Cr(III)的耐受极限分别在 600 μmol/L 与 900 μmol/L 左右。有研究表明,维持处理体系内 Cr(VI)处于合适的浓度(<100 μmol/L)^[96,101],不仅能够有效保证 *S. oneidensis* MR-1 对 Cr(VI)的还原效率,还能保持细胞活性,使体系正常运行。此外,希瓦氏菌对 Cr(VI)的还原途径受到铬酸盐性质的影响,例如,*S. oneidensis* MR-1 使用 K₂Cr₂O₇ 作为电子受体时,Cr(VI)还原效率不受到 MtrC 和 OmcA 缺失的影响^[100],相反,使用 K₂CrO₄ 作为电子受体时,MtrC 与 OmcA 缺失会显著损害其对 Cr(VI)的还原能力^[96,102],未来需要进一步确认希瓦氏菌还原不同赋存形态 Cr(VI)的 EET 途径。

3.2 希瓦氏菌的 Cr(VI)抗性机制

希瓦氏菌能够在 Cr(VI)胁迫下调节基因的表达,通过增强胞外吸附、启动抗氧化系统、减少胞内积累等途径,减少 Cr(VI)对细胞造成的损伤。Gang 等^[103]研究了 *S. oneidensis* MR-1 在长期(120 天)Cr(VI)暴露下的蛋白质组变化,揭示了 *S. oneidensis* MR-1 对于 Cr(VI)胁迫的适应策略,其不仅能增强鞭毛合成用于移动、生物膜形成以及营养获取,还通过下调硫酸盐运输相关蛋白(CysA、CysP)表达减少 Cr(VI)摄入,上调外排蛋白 ChrA 和 RND 型外排



(1)减少硫酸盐转运蛋白表达;(2)外排Cr(VI);(3)胞内还原Cr(VI);(4)Cr(VI)的胞外吸附、络合与还原;
(5)降低胞内氧化还原应激;(6)修复受损DNA

图3 希瓦氏菌的铬抗性及其还原机制示意图

Figure 3 Conceptual model of chromate resistance and reduction mechanisms in *Shewanella*

泵相关蛋白 (VexB、VexA、VemA、VemB) 表达促进 Cr(VI) 外排^[104], 减少 Cr(VI) 的胞内积累。胞内还原 Cr(VI) 的过程中, 通常因不稳定中间物 Cr(V) 的产生, 诱导发生氧化应激, *S. oneidensis* MR-1 能够通过调动抗氧化系统 (TrxA、GrxA 等) 消除该过程产生的活性氧 (ROS)^[105], 此外, 胞内还原 Cr(VI) 生成的 Cr(III) 能够与 DNA 形成加合物, 对 DNA 造成损伤, 因此, 其还通过上调 RecA、RecN 表达参与受损 DNA 的重组修复。除了胞内的一系列抗性机制外, An 等^[97] 发现 Cr(VI) 会刺激 *S. putrefaciens* CN32 产生更多的 EPS, 促进 Cr(VI) 的胞外还原与固定。目前对于希瓦氏菌的 Cr(VI) 抗性机制已经有了较为深刻的认识, 但对于其他重金属还原过程中希瓦氏菌的系统适应策略没有得到充分的研究, 了解这些抗性机制将有助于希瓦氏菌在该类重金属污染治理过程中的应用。

3.3 希瓦氏菌还原 Cr(VI) 的增强措施

提高 EET 效率对于促进希瓦氏菌还原 Cr(VI) 极为关键, 已报道的方法包括加入外源电子穿梭体或纳米颗粒、基因工程改良等手段。核黄素、AQDS

等外源电子穿梭体能够通过增强 MET 促进希瓦氏菌对 Cr(VI) 的还原^[95,106], 且当电子穿梭体和 Fe(III) 同时加入时, 希瓦氏菌能够通过还原 Fe(III) 产生 Fe(II), 间接参与 Cr(VI) 的还原, 使体系表现出更高 Cr(VI) 还原效率^[106-107]。纳米颗粒能够作为优异的催化剂或还原剂促进希瓦氏菌还原 Cr(VI), Zhang 等^[108] 利用 *S. oneidensis* MR-1 在细胞表面形成 Pb 纳米颗粒, 该体系中 Pb 纳米颗粒能够有效催化甲酸分解产生活性氢还原 Cr(VI), 还原生成的 Cr(III) 被吸附在细胞表面, 有效促进了 Cr(VI) 的还原与去除。另外, 纳米零价铁 (Nanoscale zero-valent iron, nZVI) 常作为强还原剂应用于环境修复领域, 但 nZVI 因氧化造成的表面钝化限制了其实际应用, Ma 等^[98] 发现 *S. oneidensis* MR-1 的 EPS 能够有效溶解 nZVI 表面钝化层, 从而使得 nZVI 能够持续还原 Cr(VI)。利用基因工程增强 EET 途径也是促进希瓦氏菌还原 Cr(VI) 的重要手段, Cheng 等^[109] 在 *S. oneidensis* MR-1 中导入腺苷酸环化酶外源基因以提高环状腺苷酸及其受体蛋白复合物 (cAMP-CRP) 的水平, 该复合物能够增强 c-Cyts 与

黄素的合成路径,进而显著提高 EET 能力,使 Cr(VI) 的还原效率提高了 60%。除了以上措施,添加生物炭以及构建生物光电反应体系等方法也被尝试用于提高希瓦氏菌对 Cr(VI) 的还原和去除效率^[15],这些手段的开发和研究促进了希瓦氏菌在实际重金属污染治理中的进一步应用。

4 希瓦氏菌在无机非金属污染治理中的研究进展

硝酸盐、亚硝酸盐、亚硫酸盐、硫代硫酸盐是环境和废水中常见的无机非金属离子,希瓦氏菌能够利用氧化还原酶还原这些典型的无机非金属离子,驱动地球化学循环或实现废水的净化。

4.1 希瓦氏菌对含氮无机污染物的还原途径

环境与废水中主要的含氮无机污染物包括硝酸盐(NO_3^-)和亚硝酸盐(NO_2^-),希瓦氏菌能够在细胞周质内将 NO_3^- 和 NO_2^- 还原为氨(NH_4^+),即硝酸盐异化还原成氨(Dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA)。DNRA 过程中, NO_3^- 首先被还原为 NO_2^- ,该过程依赖于两种同工型细胞周质硝酸盐还原系统(Periplasmic nitrate reductions system, NAP),分别为 NAP- α (*napEDABC*)与 NAP- β (*napDAGHB*)^[110],两种 NAP 的主要区别在于是否存在 *napC*,绝大多数的希瓦氏菌都含有 NAP- α 与 NAP- β ,少数希瓦氏菌只含其中一个,例如 *S. oneidensis* MR-1 只具有 NAP- β ^[111],*S. denitrificans* OS217 仅含有 NAP- α ^[112],除了 NAP 外,少数希瓦氏菌还可以利用膜结合硝酸盐还原系统(Membrane-bound nitrate reductase system, NAR)还原 NO_3^- ^[112],但 NAR 只有在硝酸盐浓度过高时才发挥作用,目前对 NAP

的了解和认识更加全面。NAP 中(图 4),内膜结合蛋白 CymA 和 NapC 将电子依次传递至 NapB 和 NapA^[113-114],将 NO_3^- 还原成 NO_2^- ,其中, NapC 能特异性的向 NapB 转移电子^[115],对于仅具有 NAP- β 的希瓦氏菌, CymA 能够替代 NapC 将电子传递至 NapB^[114]。 NO_2^- 的还原由亚硝酸盐还原系统(Nitrite reduction system, NRF)完成, NRF 系统中, NrfA 从 CymA 接收电子,将 NO_2^- 还原为 NH_4^+ ^[115],除了 NRF 系统,周质内的小四血红素细胞色素(Small tetraheme cytochrome, STC)可以将电子由 CymA 传递至周质硝酸盐还原酶 OTR,并将 NO_2^- 还原为 NH_4^+ ^[116-117]。除了 DNRA 外,极少数希瓦氏菌还具有反硝化能力(图 4),如 *S. loihica* 和 *S. denitrificans*,反硝化过程中, NO_2^- 首先被 NirK 还原为 NO, NO 随后被 NorBC 还原为 N_2O , N_2O 在周质被 NosZ 还原为 N_2 (图 4)^[118-119]。尽管大多数的希瓦氏菌不具备反硝化能力,但 Jiang 等^[120]发现在 *S. oneidensis* MR-1 与反硝化菌 *Paracoccus denitrificans* 的共培养体系中,两株菌能够形成纳米管促进向 NO_x 还原酶的电子传递,提高了 *P. denitrificans* 反硝化酶活性,进而有效提高了系统的反硝化性能。DNRA 过程还能够与氨氧化细菌和厌氧氨氧化细菌协同作用实现废水的脱氮^[121]。因此,构建具有特殊功能且高效脱氮的微生物群落,将有助于希瓦氏菌在含氮无机污染物处理过程中的应用。

希瓦氏菌对硝酸盐的还原受到温度、C/N 比等因素的影响,Chen 等^[115]研究了低温对 *S. piezotolerans* WP3 NAP 系统的影响,发现相较于 20 °C, 4 °C 条件时,该菌具有更高的 NAP- α 表达量。此外,*S. loihica* PV-4 的硝酸盐还原途径受到 C/N 比的影

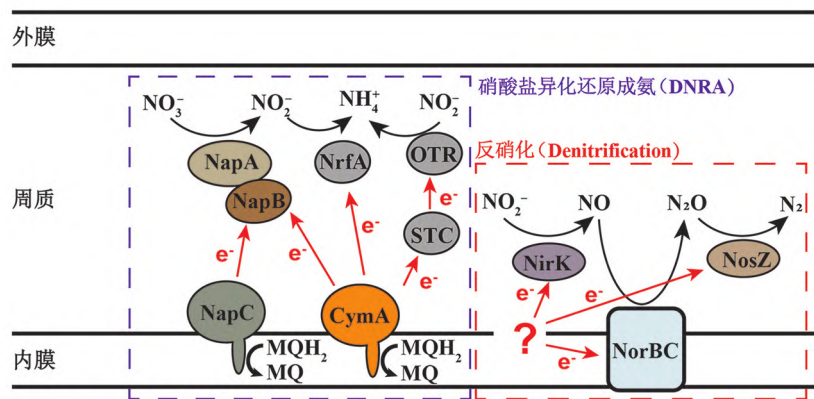


图 4 希瓦氏菌中 DNRA 与反硝化机制示意图

Figure. 4 Conceptual model of the DNRA and denitrification processes in *Shewanella*

响,C/N比通过诱导不同cAMP-CRP复合物的产生,进而调控不同的硝酸盐还原途径,高C/N比下, DNRA占优势,而低C/N比下,反硝化脱氮占优势^[118]。了解环境参数对含氮无机污染物还原途径的影响,将有助于减少处理过程中二次污染物的产生,提高污染物的处理效率与处理程度。

4.2 希瓦氏菌对含硫无机污染物的还原途径

除了还原 NO_3^- 和 NO_2^- 外,希瓦氏菌还具有还原亚硫酸盐(SO_3^{2-})和硫代硫酸盐($\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$)的能力,该过程主要依赖复合物SirACD和PsrABC^[122]。复合物PsrABC中,PsrC从醌池获得电子,经PsrB传递至PsrA,将 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 还原为 SO_3^{2-} , SO_3^{2-} 被复合物SirACD进一步还原,其中SirC将电子由SirD传递至SirA,将 SO_3^{2-} 还原为 H_2S ^[123]。希瓦氏菌硫代谢过程产生的 H_2S 能够回收废水中的重金属离子,形成硫化物纳米材料,实现污染物的资源化利用,例如, Lee等^[124]利用*Shewanella* sp. HN-41以As(V)、 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 为底物合成了具有光电导特性的As-S纳米管,该纳米管有望成为构建纳米级光电材料的基础材料。Xiao等^[75]利用*S. oneidensis* MR-1以Cd(II)和 $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ 为底物合成了CdS纳米颗粒,构建的生物光电还原系统在光激发下对台盼蓝染料的降解效率提高了3.58倍。利用希瓦氏菌硫代谢过程合成金属硫纳

米材料,不仅能实现废水中重金属的去除,还能实现污染物的资源化利用。但合成的纳米材料在尺寸和组成上还不稳定,需要进一步优化合成条件,以期合成具有特定性质的稳定金属硫纳米材料。

5 展望

希瓦氏菌在污染物去除和转化机制研究方面取得了一系列令人兴奋的进展,具有很好的应用前景。但单一希瓦氏菌通常具有较差的环境适应能力和较低的污染物转化效率,这限制了希瓦氏菌在多种污染物治理过程中的实际应用。目前有多种方法能够改善这一问题,一方面可以通过基因工程构建工程菌株、培养希瓦氏菌参与的微生物群落提高EET效率和环境适应能力,另一方面可以基于希瓦氏菌合成纳米材料、构建生物芬顿反应体系与生物电化学系统实现污染物高效去除与资源化利用。但这些途径仍存在一定的局限,例如构建的基因工程菌生长速率较低、合成的纳米材料性质不稳定、芬顿反应无法完全矿化有机污染物、MFC产电效率低等。因此,进一步探究希瓦氏菌在不同处理体系下的代谢调节机制、EET途径变化、关键酶活性和最佳降解条件将有助于解决这一问题,并推动希瓦氏菌在实际污染物治理中的应用。

参 考 文 献

- [1] Tchounwou P B, Yedjou C G, Patlolla A K, et al. Heavy metal toxicity and the environment[J]. *Experientia Supplementum*, 2012, 101: 133-164.
- [2] Jeevanandam J, Kiew S F, Boakye-Ansah S, et al. Green approaches for the synthesis of metal and metal oxide nanoparticles using microbial and plant extracts[J]. *Nanoscale*, 2022, 14(7): 2534-2571.
- [3] Manivasagan P, Joe A, Han H W, et al. Recent advances in multifunctional nanomaterials for photothermal-enhanced Fenton-based chemodynamic tumor therapy[J]. *Materials Today Bio*, 2022, 13: 100197.
- [4] Cao X H, Qi Y L, Xu C, et al. Transcriptome and metabolome responses of *Shewanella oneidensis* MR-1 to methyl orange under microaerophilic and aerobic conditions[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(8): 3463-3472.
- [5] Gralnick J A, Vali H, Lies D P, et al. Extracellular respiration of dimethyl sulfoxide by *Shewanella oneidensis* strain MR-1[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(12): 4669-4674.
- [6] Jiang Z, Shi M M, Shi L. Degradation of organic contaminants and steel corrosion by the dissimilatory metal-reducing microorganisms *Shewanella* and *Geobacter* spp[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2020, 147: 104842.
- [7] Lemaire O N, Méjean V, Iobbi-Nivol C. The *Shewanella* genus: Ubiquitous organisms sustaining and preserving aquatic ecosystems[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2020, 44(2): 155-170.
- [8] Venkateswaran K, Moser D P, Dollhopf M E, et al. Polyphasic taxonomy of the genus *Shewanella* and description of *Shewanella oneidensis* sp. nov[J]. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 1999, 49(Pt 2): 705-724.
- [9] Barrozo A, El-Naggar M Y, Krylov A I. Distinct electron conductance regimes in bacterial decaheme cytochromes[J]. *Angewandte Chemie-International Edition in English*, 2018, 57(23): 6805-6809.
- [10] Yang Y G, Xu M Y, Guo J, et al. Bacterial extracellular electron transfer in bioelectrochemical systems[J]. *Process Biochemistry*, 2012, 47(12): 1707-1714.
- [11] Jiang Y G, Shi M M, Shi L. Molecular underpinnings for microbial extracellular electron transfer during biogeochemical cycling of earth elements

- [J]. *Science China Life Sciences*, 2019, 62(10): 1275–1286.
- [12] Xie Q Q, Lu Y, Tang L, et al. The mechanism and application of bidirectional extracellular electron transport in the field of energy and environment[J]. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2021, 51(17): 1924–1969.
- [13] Zou L, Huang Y H, Long Z E, et al. On-going applications of *Shewanella* species in microbial electrochemical system for bioenergy, bioremediation and biosensing[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2019, 35(1): 9.
- [14] Tremblay P L, Angenent L T, Zhang T. Extracellular electron uptake: Among autotrophs and mediated by surfaces[J]. *Trends in Biotechnology*, 2017, 35(4): 360–371.
- [15] Yin Y, Liu C, Zhao G H, et al. Versatile mechanisms and enhanced strategies of pollutants removal mediated by *Shewanella oneidensis*: A review[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, 440: 129703.
- [16] Marritt S J, Lowe T G, Bye J, et al. A functional description of CymA, an electron-transfer hub supporting anaerobic respiratory flexibility in *Shewanella*[J]. *The Biochemical Journal*, 2012, 444(3): 465–474.
- [17] Sun W N, Lin Z F, Yu Q Z, et al. Promoting extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis* MR-1 by optimizing the periplasmic cytochrome *c* network[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 727709.
- [18] Beblawy S, Bursac T, Paquette C, et al. Extracellular reduction of solid electron acceptors by *Shewanella oneidensis*[J]. *Molecular Microbiology*, 2018, 109(5): 571–583.
- [19] Coursolle D, Baron D B, Bond D R, et al. The Mtr respiratory pathway is essential for reducing flavins and electrodes in *Shewanella oneidensis* [J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(2): 467–474.
- [20] Xu S, Jangir Y, El-Naggar M Y. Disentangling the roles of free and cytochrome-bound flavins in extracellular electron transport from *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Electrochimica Acta*, 2016, 198: 49–55.
- [21] Babanova S, Matanovic I, Cornejo J, et al. Outer membrane cytochromes/flavin interactions in *Shewanella* spp. –A molecular perspective[J]. *Biointerphases*, 2017, 12(2): 021004.
- [22] Jiang X Y, Burger B, Gajdos F, et al. Kinetics of trifurcated electron flow in the decaheme bacterial proteins MtrC and MtrF[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116(9): 3425–3430.
- [23] Pirbadian S, Barchinger S E, Leung K M, et al. *Shewanella oneidensis* MR-1 nanowires are outer membrane and periplasmic extensions of the extracellular electron transport components[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(35): 12883–12888.
- [24] Pirbadian S, El-Naggar M Y. Multistep hopping and extracellular charge transfer in microbial redox chains[J]. *Physical Chemistry Chemical Physics: PCCP*, 2012, 14(40): 13802–13808.
- [25] Subramanian P, Pirbadian S, El-Naggar M Y, et al. Ultrastructure of *Shewanella oneidensis* MR-1 nanowires revealed by electron cryotomography[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2018, 115(14): E3246–E3255.
- [26] Gorby Y A, Yanina S, McLean J S, et al. Electrically conductive bacterial nanowires produced by *Shewanella oneidensis* strain MR-1 and other microorganisms[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(30): 11358–11363.
- [27] Wu X, Zou L, Huang Y H, et al. *Shewanella putrefaciens* CN32 outer membrane cytochromes MtrC and UndA reduce electron shuttles to produce electricity in microbial fuel cells[J]. *Enzyme and Microbial Technology*, 2018, 115: 23–28.
- [28] Liu T X, Luo X B, Wu Y D, et al. Extracellular electron shuttling mediated by soluble *c*-type cytochromes produced by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(17): 10577–10587.
- [29] Lin X H, Yang F, You L X, et al. Liposoluble quinone promotes the reduction of hydrophobic mineral and extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *The Innovation*, 2021, 2(2): 100104.
- [30] Coursolle D, Gralnick J A. Modularity of the Mtr respiratory pathway of *Shewanella oneidensis* strain MR-1[J]. *Molecular Microbiology*, 2010, 77(4): 995–1008.
- [31] Edel M, Sturm G, Sturm-Richter K, et al. Extracellular riboflavin induces anaerobic biofilm formation in *Shewanella oneidensis*[J]. *Biotechnology for Biofuels*, 2021, 14(1): 130.
- [32] Kotloski N J, Gralnick J A. Flavin electron shuttles dominate extracellular electron transfer by *Shewanella oneidensis*[J]. *mBio*, 2013, 4(1): e00553–e00512.
- [33] Borch T, Kretzschmar R, Kappler A, et al. Biogeochemical redox processes and their impact on contaminant dynamics[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(1): 15–23.
- [34] Sekar R, DiChristina T J. Microbially driven Fenton reaction for degradation of the widespread environmental contaminant 1, 4-dioxane[J]. *Environmental Science & Technology*, 2014, 48(21): 12858–12867.
- [35] Zhang K, Li N, Liao P, et al. Conductive property of secondary minerals triggered Cr(VI) bioreduction by dissimilatory iron reducing bacteria[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 286: 117227.
- [36] Xu M Y, Guo J, Sun G P. Biodegradation of textile azo dye by *Shewanella decolorationis* S12 under microaerophilic conditions[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 76(3): 719–726.

- [37] You J P, Deng Y Y, Chen H, et al. Enhancement of gaseous o-xylene degradation in a microbial fuel cell by adding *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Chemosphere*, 2020, 252: 126571.
- [38] Mathur A K, Majumder C B, Chatterjee S, et al. Biodegradation of pyridine by the new bacterial isolates *S. putrefaciens* and *B. sphaericus*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2008, 157(2/3): 335-343.
- [39] Luan F B, Burgos W D, Xie L, et al. Bioreduction of nitrobenzene, natural organic matter, and hematite by *Shewanella putrefaciens* CN₃₂[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(1): 184-190.
- [40] Zhao G, Li E Z, Li J J, et al. Goethite hinders azo dye bioreduction by blocking terminal reductive sites on the outer membrane of *Shewanella decolorationis* S12[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1452.
- [41] Liu D F, Min D, Cheng L, et al. Anaerobic reduction of 2, 6-dinitrotoluene by *Shewanella oneidensis* MR-1: Roles of Mtr respiratory pathway and NfnB[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2017, 114(4): 761-768.
- [42] Li Q, Feng X L, Lu X R, et al. Combined intra- and extracellular reduction involved in the anaerobic biodecolorization of cationic azo dye by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Chemosphere*, 2018, 211: 701-708.
- [43] Min D, Cheng L, Liu D F, et al. Electron transfer via the non-Mtr respiratory pathway from *Shewanella putrefaciens* CN-32 for methyl orange bioreduction[J]. *Process Biochemistry*, 2020, 95: 108-114.
- [44] Chen X J, Xu M Y, Wei J B, et al. Two different electron transfer pathways may involve in azoreduction in *Shewanella decolorationis* S12[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 86(2): 743-751.
- [45] Wang H F, Zhao H P, Zhu L Z. Structures of nitroaromatic compounds induce *Shewanella oneidensis* MR-1 to adopt different electron transport pathways to reduce the contaminants[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 384: 121495.
- [46] Liu F, Xu M Y, Chen X J, et al. Novel strategy for tracking the microbial degradation of azo dyes with different polarities in living cells[J]. *Environmental Science & Technology*, 2015, 49(19): 11356-11362.
- [47] Popli S, Patel U D. Destruction of azo dyes by anaerobic-aerobic sequential biological treatment: A review[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2015, 12(1): 405-420.
- [48] Xiao X, Ma X L, Wang L G, et al. Anaerobic reduction of high-polarity nitroaromatic compounds by electrochemically active bacteria: Roles of Mtr respiratory pathway, molecular polarity, mediator and membrane permeability[J]. *Environmental Pollution*, 2021, 268: 115943.
- [49] Fang Y, Liu J, Kong G N, et al. Adaptive responses of *Shewanella decolorationis* to toxic organic extracellular electron acceptor azo dyes in anaerobic respiration[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2019, 85(16): e00550-e00519.
- [50] Hong Y G, Chen X J, Guo J, et al. Effects of electron donors and acceptors on anaerobic reduction of azo dyes by *Shewanella decolorationis* S12[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2007, 74(1): 230-238.
- [51] Xiao X, Xu C C, Wu Y M, et al. Biodecolorization of Naphthol Green B dye by *Shewanella oneidensis* MR-1 under anaerobic conditions[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 110: 86-90.
- [52] Silva E R, Dall'Oglio E L, Vasconcelos L G, et al. Decolorization of the benzidine-based azo dye Congo red by the new strain *Shewanella xiameensis* G5-03[J]. *Brazilian Journal of Biology*, 2022, 82:e237386.
- [53] Pearce C I, Christie R, Boothman C, et al. Reactive azo dye reduction by *Shewanella* strain J18 143[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2006, 95(4): 692-703.
- [54] Stolz A. Basic and applied aspects in the microbial degradation of azo dyes[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2001, 56(1): 69-80.
- [55] Neyens E, Baeyens J. A review of classic Fenton's peroxidation as an advanced oxidation technique[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2003, 98(1/2/3): 33-50.
- [56] Jho E H, Singhal N, Turner S. Fenton degradation of tetrachloroethene and hexachloroethane in Fe(II) catalyzed systems[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2010, 184(1/2/3): 234-240.
- [57] Han R X, Lv J T, Huang Z Q, et al. Pathway for the production of hydroxyl radicals during the microbially mediated redox transformation of iron (oxyhydr)oxides[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(2): 902-910.
- [58] Sekar R, Taillefert M, DiChristina T. Simultaneous transformation of commingled trichloroethylene, tetrachloroethylene, and 1, 4-dioxane by a microbially driven Fenton reaction in batch liquid cultures[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2016, 82(21): 6335-6343.
- [59] Yang Y T, Chen J, Chen Z, et al. Mechanisms of polystyrene microplastic degradation by the microbially driven Fenton reaction[J]. *Water Research*, 2022, 223: 118979.
- [60] Shi M M, Xia K M, Peng Z F, et al. Differential degradation of BDE-3 and BDE-209 by the *Shewanella oneidensis* MR-1-mediated Fenton reaction[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2021, 158: 105165.
- [61] Peng Z F, Shi M M, Xia K M, et al. Degradation of 2, 2', 4, 4'-Tetrabrominated diphenyl ether (BDE-47) via the Fenton reaction driven by the dissimilatory metal-reducing bacterium *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 266: 115413.
- [62] Chen S S, Yang Y T, Jing X Y, et al. Enhanced aging of polystyrene microplastics in sediments under alternating anoxic-oxic conditions[J]. *Water Research*, 2021, 207: 117782.
- [63] Zhao M Y, Cui Z C, Fu L, et al. *Shewanella* drive Fe(III) reduction to promote electro-Fenton reactions and enhance Fe inner-cycle[J]. *ACS*

- ES&T Water, 2021, 1(3): 613–620.
- [64] Rajput V D, Minkina T, Kimber R L, et al. Insights into the biosynthesis of nanoparticles by the genus *Shewanella*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2021, 87(22): e0139021.
- [65] Guerra F D, Attia M F, Whitehead D C, et al. Nanotechnology for environmental remediation: Materials and applications[J]. Molecules, 2018, 23(7): 1760.
- [66] Narayanan K B, Sakthivel N. Biological synthesis of metal nanoparticles by microbes[J]. Advances in Colloid and Interface Science, 2010, 156(1/2): 1–13.
- [67] Liu J W, Zheng Y, Hong Z L, et al. Microbial synthesis of highly dispersed PdAu alloy for enhanced electrocatalysis[J]. Science Advances, 2016, 2(9): e1600858.
- [68] Egan-Morriss C, Kimber R L, Powell N A, et al. Biotechnological synthesis of Pd-based nanoparticle catalysts[J]. Nanoscale Advances, 2021, 4(3): 654–679.
- [69] Mondal A H, Yadav D, Mitra S, et al. Biosynthesis of silver nanoparticles using culture supernatant of *Shewanella* sp. ARY1 and their antibacterial activity[J]. International Journal of Nanomedicine, 2020, 15: 8295–8310.
- [70] Xu H, Xiao Y, Xu M Y, et al. Microbial synthesis of Pd-Pt alloy nanoparticles using *Shewanella oneidensis* MR-1 with enhanced catalytic activity for nitrophenol and azo dyes reduction[J]. Nanotechnology, 2019, 30(6): 065607.
- [71] Kong W Q, Lin J Y, He X, et al. Reduction pathway and mechanism of chloronitrobenzenes synergistically catalyzed by bioPd and *Shewanella oneidensis* MR-1 assisted by calculation[J]. Chemosphere, 2017, 187: 62–69.
- [72] Han R S, Song X, Wang Q H, et al. Microbial synthesis of graphene-supported highly-dispersed Pd-Ag bimetallic nanoparticles and its catalytic activity [J]. Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 2019, 94(10): 3375–3383.
- [73] Song X J, Shi X Y. Bioreductive deposition of highly dispersed Ag nanoparticles on carbon nanotubes with enhanced catalytic degradation for 4-nitrophenol assisted by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2017, 24(3): 3038–3044.
- [74] Zhang H, Jin M S, Xia Y N. Enhancing the catalytic and electrocatalytic properties of Pt-based catalysts by forming bimetallic nanocrystals with Pd[J]. Chemical Society Reviews, 2012, 41(24): 8035–8049.
- [75] Xiao X, Han X, Wang L G, et al. Anaerobically photoreductive degradation by CdS nanocrystal: Biofabrication process and bioelectron-driven reaction coupled with *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Biochemical Engineering Journal, 2020, 154: 107466.
- [76] Yang M, Shi X Y. Biosynthesis of Ag₂S/TiO₂ nanotubes nanocomposites by *Shewanella oneidensis* MR-1 for the catalytic degradation of 4-nitrophenol[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26(12): 12237–12246.
- [77] Li S W, Zeng R J, Sheng G P. An excellent anaerobic respiration mode for chitin degradation by *Shewanella oneidensis* MR-1 in microbial fuel cells[J]. Biochemical Engineering Journal, 2017, 118: 20–24.
- [78] Xin X D, Ma Y Q, Liu Y. Electric energy production from food waste: Microbial fuel cells versus anaerobic digestion[J]. Bioresource Technology, 2018, 255: 281–287.
- [79] Yang C, Zhang J Q, Zhang B C, et al. Engineering *Shewanella carassii*, a newly isolated exoelectrogen from activated sludge, to enhance methyl orange degradation and bioelectricity harvest[J]. Synthetic and Systems Biotechnology, 2022, 7(3): 918–927.
- [80] Goma O M, Fapetu S, Kyazze G, et al. The role of riboflavin in decolourisation of Congo red and bioelectricity production using *Shewanella oneidensis*-MR1 under MFC and non-MFC conditions[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2017, 33(3): 56.
- [81] Dai N, Nguyen T A, My P, et al. Power generation of *Shewanella oneidensis* MR-1 microbial fuel cells in bamboo fermentation effluent[J]. International Journal of Hydrogen Energy, 2021, 46(31): 16612–16621.
- [82] Marassi R J, Queiroz L G, Silva D C V R, et al. Long-term performance and acute toxicity assessment of scaled-up air-cathode microbial fuel cell fed by dairy wastewater[J]. Bioprocess and Biosystems Engineering, 2020, 43(9): 1561–1571.
- [83] Chen C Y, Wang G H, Tsai T H, et al. Continuous bioelectricity generation through treatment of Victoria blue R: A novel microbial fuel cell operation[J]. Journal of Environmental Science and Health Part A, Toxic/Hazardous Substances & Environmental Engineering, 2017, 52(9): 916–920.
- [84] Zhao S L, Li Y C, Yin H J, et al. Three-dimensional graphene/Pt nanoparticle composites as freestanding anode for enhancing performance of microbial fuel cells[J]. Science Advances, 2015, 1(10): e1500372.
- [85] Cao B C, Zhao Z P, Peng L L, et al. Silver nanoparticles boost charge-extraction efficiency in *Shewanella* microbial fuel cells[J]. Science, 2021, 373(6561): 1336–1340.
- [86] Li F, Li Y X, Sun L M, et al. Engineering *Shewanella oneidensis* enables xylose-fed microbial fuel cell[J]. Biotechnology for Biofuels, 2017, 10: 196.
- [87] Nakagawa G, Kouzuma A, Hirose A, et al. Metabolic characteristics of a glucose-utilizing *Shewanella oneidensis* strain grown under electrode-respiring conditions[J]. PLoS One, 2015, 10(9): e0138813.
- [88] Le Q A T, Kim H G, Kim Y H. Electrochemical synthesis of formic acid from CO₂ catalyzed by *Shewanella oneidensis* MR-1 whole-cell biocatalyst[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2018, 116: 1–5.

- [89] Cheng H G, Zhou T, Li Q, et al. Anthropogenic chromium emissions in China from 1990 to 2009[J]. PLoS One, 2014, 9(2): e87753.
- [90] Bianco Prevot A, Ginepro M, Peracaciolo E, et al. Chemical vs bio-mediated reduction of hexavalent chromium. An *in-vitro* study for soil and deep waters remediation[J]. Geoderma, 2018, 312: 17-23.
- [91] Tumolo M, Ancona V, De Paola D, et al. Chromium pollution in European water, sources, health risk, and remediation strategies: An overview [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2020, 17(15): 5438.
- [92] Standeven A, Wetterhahn K. Chromium(VI) toxicity: Uptake, reduction, and DNA damage[J]. International Journal of Toxicology, 1989, 8(7): 1275-1283.
- [93] Chen J, Tian Y Q. Hexavalent chromium reducing bacteria: Mechanism of reduction and characteristics[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2021, 28(17): 20981-20997.
- [94] Viti C, Marchi E, Decorosi F, et al. Molecular mechanisms of Cr(VI) resistance in bacteria and fungi[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2014, 38(4): 633-659.
- [95] Zhang F, Xu W Q, Zhang L W, et al. Riboflavin as a non-quinone redox mediator for enhanced Cr(VI) removal by *Shewanella putrefaciens* [J]. Journal of Molecular Liquids, 2022, 351: 118622.
- [96] Belchik S M, Kennedy D W, Dohnalkova A C, et al. Extracellular reduction of hexavalent chromium by cytochromes MtrC and OmcA of *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(12): 4035-4041.
- [97] An H, Tian T, Wang Z T, et al. Role of extracellular polymeric substances in the immobilization of hexavalent chromium by *Shewanella putrefaciens* CN32 unsaturated biofilms[J]. Science of the Total Environment, 2022, 810: 151184.
- [98] Ma L Y, Du Y G, Chen S H, et al. Nanoscale zero-valent iron coupling with *Shewanella oneidensis* MR-1 for enhanced reduction/removal of aqueous Cr(VI)[J]. Separation and Purification Technology, 2021, 277: 119488.
- [99] Pushkar B, Sevak P, Parab S, et al. Chromium pollution and its bioremediation mechanisms in bacteria: A review[J]. Journal of Environmental Management, 2021, 287: 112279.
- [100] Han R, Li F B, Liu T X, et al. Effects of incubation conditions on Cr(VI) reduction by c-type cytochromes in intact *Shewanella oneidensis* MR-1 cells[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 746.
- [101] Daulton T L, Little B J, Lowe K, et al. Electron energy loss spectroscopy techniques for the study of microbial chromium(VI) reduction[J]. Journal of Microbiological Methods, 2002, 50(1): 39-54.
- [102] Wang C, Chen J, Hu W J, et al. Comparative proteomics reveal the impact of OmcA/MtrC deletion on *Shewanella oneidensis* MR-1 in response to hexavalent chromium exposure[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2014, 98(23): 9735-9747.
- [103] Gang H Y, Xiao C Y, Xiao Y, et al. Proteomic analysis of the reduction and resistance mechanisms of *Shewanella oneidensis* MR-1 under long-term hexavalent chromium stress[J]. Environment International, 2019, 127: 94-102.
- [104] Baaziz H, Gambari C, Boyeldieu A, et al. ChrASO, the chromate efflux pump of *Shewanella oneidensis*, improves chromate survival and reduction[J]. PLoS One, 2017, 12(11): e0188516.
- [105] Cervantes C, Campos-García J, Devars S, et al. Interactions of chromium with microorganisms and plants[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2001, 25(3): 335-347.
- [106] Liu X H, Chu G, Du Y Y, et al. The role of electron shuttle enhances Fe(III)-mediated reduction of Cr(VI) by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2019, 35(4): 64.
- [107] Zheng Y Q, Li H B, Yang Y, et al. Goethite and riboflavin synergistically enhance Cr(VI) reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Biodegradation, 2023, 34(2): 155-167.
- [108] Zhang Y F, Zhao Q, Chen B L. Reduction and removal of Cr(VI) in water using biosynthesized palladium nanoparticles loaded *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Science of the Total Environment, 2022, 805: 150336.
- [109] Cheng Z H, Xiong J R, Min D, et al. Promoting bidirectional extracellular electron transfer of *Shewanella oneidensis* MR-1 for hexavalent chromium reduction via elevating intracellular cAMP level[J]. Biotechnology and Bioengineering, 2020, 117(5): 1294-1303.
- [110] Li X G, Zhang W J, Xiao X, et al. Pressure-regulated gene expression and enzymatic activity of the two periplasmic nitrate reductases in the deep-sea bacterium *Shewanella piezotolerans* WP3[J]. Frontiers in Microbiology, 2018, 9: 3173.
- [111] Simpson P J L, Richardson D J, Codd R. The periplasmic nitrate reductase in *Shewanella*: The resolution, distribution and functional implications of two NAP isoforms, NapEDABC and NapDAGHB[J]. Microbiology: Reading, England, 2010, 156(Pt 2): 302-312.
- [112] Chen Y, Wang F P. Insights on nitrate respiration by *Shewanella*[J]. Frontiers in Marine Science, 2015, 2: 80.
- [113] Wei H H, Dai J C, Xia M, et al. Functional roles of CymA and NapC in reduction of nitrate and nitrite by *Shewanella putrefaciens* W3-18-1 [J]. Microbiology: Reading, England, 2016, 162(6): 930-941.
- [114] Gao H C, Yang Z K, Barua S, et al. Reduction of nitrate in *Shewanella oneidensis* depends on atypical NAP and NRF systems with NapB as a preferred electron transport protein from CymA to NapA[J]. The ISME Journal, 2009, 3(8): 966-976.
- [115] Chen Y, Wang F P, Xu J, et al. Physiological and evolutionary studies of NAP systems in *Shewanella piezotolerans* WP3[J]. The ISME Journal, 2011, 5(5): 843-855.

- [116] Alves M N, Neto S E, Alves A S, et al. Characterization of the periplasmic redox network that sustains the versatile anaerobic metabolism of *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 665.
- [117] Atkinson S J, Mowat C G, Reid G A, et al. An octaheme *c*-type cytochrome from *Shewanella oneidensis* can reduce nitrite and hydroxylamine [J]. *FEBS Letters*, 2007, 581(20): 3805-3808.
- [118] Liu S Y, Dai J C, Wei H H, et al. DNRA and denitrification pathways are leveraged by cyclic AMP receptor protein (CRP) paralogs based on electron donor/acceptor limitation in *Shewanella loihica* PV-4[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(2): e01964-20.
- [119] Brettar I, Christen R, Höfle M G. *Shewanella denitrificans* sp. nov., a vigorously denitrifying bacterium isolated from the oxic-anoxic interface of the Gotland Deep in the central Baltic Sea[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2002, 52(Pt 6): 2211-2217.
- [120] Jiang M, Zheng X, Chen Y G. Enhancement of denitrification performance with reduction of nitrite accumulation and N₂O emission by *Shewanella oneidensis* MR-1 in microbial denitrifying process[J]. *Water Research*, 2020, 169: 115242.
- [121] Wang Y M, Lin Z Y, He L, et al. Simultaneous partial nitrification, anammox and denitrification (SNAD) process for nitrogen and refractory organic compounds removal from mature landfill leachate: Performance and metagenome-based microbial ecology[J]. *Bioresource Technology*, 2019, 294: 122166.
- [122] Wu G F, Li N, Mao Y T, et al. Endogenous generation of hydrogen sulfide and its regulation in *Shewanella oneidensis*[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 374.
- [123] Shirodkar S, Reed S, Romine M, et al. The octaheme SirA catalyses dissimilatory sulfite reduction in *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Environmental Microbiology*, 2011, 13(1): 108-115.
- [124] Lee J H, Kim M G, Yoo B, et al. Biogenic formation of photoactive arsenic-sulfide nanotubes by *Shewanella* sp. strain HN-41[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(51): 20410-20415.

Mechanisms of *Shewanella* Genus for Pollutant Removal and Its Potential Applications: A Review

LI Bao^{1,2}, HUANG Qiang^{1,2}, LIU Xiaoling¹, NI Jianmei¹, GUO Yuan¹, HAO Likai^{1,3}

(1. State Key Laboratory of Environmental Geochemistry, Institute of Geochemistry, CAS, Guiyang 550081, China; 2. University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China; 3. CAS Center for Excellence in Quaternary Science and Global Change, Xi'an 710061, China)

Abstract: The continuing processes of rapid urbanization and industrialization have led to serious environmental pollution. Although physico-chemical treatment methods can be effective at removing pollutants, they are typically expensive and complex to implement. Therefore, environmentally friendly, cost-effective and sustainable microbial remediation strategies have attracted a lot of attention. *Shewanella* species have an electron transport system composed of cytochromes and electron shuttles, allowing them to not only use organic or inorganic pollutants as electron donors or receptors for pollutant removal directly, but also drive Fenton reaction, synthesize nanoparticles, and construct bioelectrochemical systems to degrade and utilize pollutants indirectly. Thus *Shewanella* species are widely used in environmental remediation research. This review thoroughly summarizes the status quo of the application of *Shewanella* species in bioremediation of environmentally hazardous contaminants, as well as a synoptical discussion of their extracellular electron transfer mechanism, in order to provide a reference for the application of *Shewanella* in the field of environmental remediation.

Key words: *Shewanella* genus; electron transfer; organic pollutants; heavy metals; inorganic nonmetallic ions