

奥奈达希瓦氏菌电活性生物被膜的研究进展

姜淼*, 李艳冉

天津大学化工学院 系统生物工程教育部重点实验室, 天津 300350

姜淼, 李艳冉. 奥奈达希瓦氏菌电活性生物被膜的研究进展[J]. 生物工程学报, 2023, 39(3): 881-897.

JIANG Miao, LI Yanran. Advances in electrochemically active biofilm of *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2023, 39(3): 881-897.

摘要: 面对日益严峻的能源紧缺与环境污染形势, 电活性微生物(electroactive microorganisms)的电催化过程为实现绿色生产提供了新的思路。奥奈达希瓦氏菌具有独特的呼吸方式和电子传递能力, 在微生物燃料电池、增值化学品的生物电合成、金属废物处理和环境修复系统等领域有着广泛的应用。奥奈达希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis* MR-1)电活性生物被膜是实现电活性微生物电子传递过程的优良载体, 其形成过程十分复杂且受到多种因素的影响和调控, 在增强细菌环境抗逆性、提高电子传递效率等多方面发挥着十分重要的作用。本文较为系统地综述了奥奈达希瓦氏菌生物被膜的形成过程、影响因素及其在生物能源、生物修复和生物传感中的相关应用, 为进一步实现其在更多领域的应用提供了理论基础。

关键词: 电活性微生物; 生物被膜; 奥奈达希瓦氏菌; 电子传递

Advances in electrochemically active biofilm of *Shewanella oneidensis* MR-1

JIANG Miao*, LI Yanran

Key Laboratory of Systems Bioengineering, Ministry of Education, College of Chemical Engineering, Tianjin University, Tianjin 300350, China

Abstract: Facing the increasingly severe energy shortage and environmental pollution, electrocatalytic processes using electroactive microorganisms provide a new alternative for achieving environmental-friendly production. Because of its unique respiratory mode and electron transfer ability, *Shewanella oneidensis* MR-1 has been widely used in the fields of microbial fuel cell, bioelectrosynthesis of value-added chemicals, metal waste treatment and

资助项目: 天津市自然科学基金(15JCZDJC41100)

This work was supported by the Tianjin Natural Science Foundation (15JCZDJC41100).

*Corresponding author. E-mail: Jmm4211@163.com

Received: 2022-06-14; Accepted: 2022-09-22

environmental remediation system. The electrochemically active biofilm of *S. oneidensis* MR-1 is an excellent carrier for transferring the electrons of the electroactive microorganisms. The formation of electrochemically active biofilm is a dynamic and complex process, which is affected by many factors, such as electrode materials, culture conditions, strains and their metabolism. The electrochemically active biofilm plays a very important role in enhancing bacterial environmental stress resistance, improving nutrient uptake and electron transfer efficiency. This paper reviewed the formation process, influencing factors and applications of *S. oneidensis* MR-1 biofilm in bio-energy, bioremediation and biosensing, with the aim to facilitate and expand its further application.

Keywords: electroactive microorganisms; biofilm; *Shewanella oneidensis* MR-1; electron transfer

近年来, 能源短缺与环境污染问题已经成为世界关注的两大焦点难题。作为一种新型的绿色能源生产方式, 电活性微生物的电催化过程是通过与外界环境进行双向电子传递和能量传递来实现的, 该方法为废水废物中的能量回收、污染物的降解转化和化学能源的有效转化提供了新的思路, 被广泛地应用于环境修复领域与能源领域^[1]。

电活性微生物通常黏附于接触表面形成生物群落以发挥功能。细菌将自身包裹于胞外基质中形成菌体聚集膜状物质^[2], 在细胞间相互交联形成导电细胞群体, 即电活性生物被膜^[3]。相较于微生物的浮游态, 生物被膜是细菌在生长过程中为适应恶劣环境而形成的一种利于生存的生长方式, 能够显著增强细菌对重金属、抗生素、紫外线的抗性和降解大分子物质的能力^[4]。

目前, 文献报道的电活性微生物以细菌为主, 主要分布于变形菌门、厚壁菌门、酸杆菌门和放线菌门^[5]。其中, 变形菌门 γ -变形菌纲希瓦氏菌属的奥奈达希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*) MR-1 为革兰氏阴性兼性厌氧菌。由于具有多样化的电子传递途径和产能代谢模式, 希瓦氏菌成为了研究微生物起源、进化和微生物电催化等方向的模式菌株^[6]。希瓦氏菌可以在阳极表面堆积形成多层致密的生物被膜, 从不同的

能源中获得能量以产生电能和较高的导电特性, 实现微生物燃料电池(microbial fuel cells, MFCs)的高效运行^[7], 被广泛应用于增值化学品的生物电合成、金属废物处理和环境修复等领域。

因此, 有关希瓦氏菌电活性生物被膜的研究对 MFCs 性能的优化及其多领域的应用具有重要的理论支撑作用和现实指导意义。本文对奥奈达希瓦氏菌生物被膜的形成过程、影响因素及应用等进行综合论述, 以期对希瓦氏菌生物被膜的深入研究提供参考。

1 电活性生物被膜的形成过程

从浮游状态到形成电活性生物被膜, 细菌要经历一个从无组织到有组织、从低密度到高密度的动态且复杂的变化, 主要分为图 1 所示的 4 个动态过程。

第一个阶段是微生物在电极表面的黏附。当细菌靠近电极表面时, 会首先感知到表面与液体环境不同的物理化学特性, 如离子强度、渗透压、pH 值和营养条件等^[9]。检测到环境信号的变化后, 鞭毛和菌毛等细胞附属物会感知到流体的流动或自身的运动, 促进第二信使分子的合成, 同时细菌克服与表面之间的排斥力开始附着^[10-12]。在 *Shewanella oneidensis* MR-1 附着过程中功能性鞭毛系统、甘露糖敏感

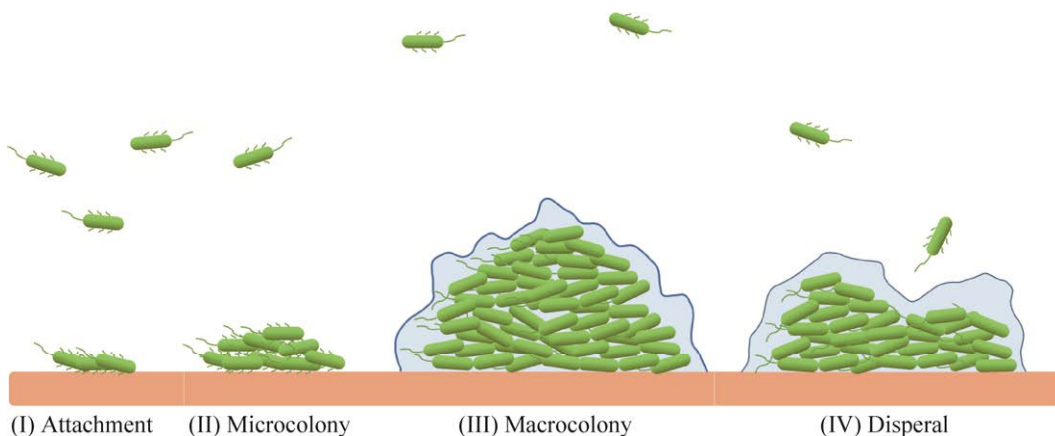


图 1 生物被膜的形成过程模型(改编自文献[8])

Figure 1 Model for the formation process of electrochemically active biofilm^[8].

血红素凝集(mannose-sensitive hemagglutination, MSHA)类 IV 型菌毛系统和细胞外 DNA (extracellular DNA, eDNA)发挥了重要作用^[13]。细胞的附着力增强,逐渐由可逆黏附转变为不可逆黏附^[14],这是生物被膜形成的开端。

在第二个阶段中,初始附着到电极表面的细胞迅速分裂增殖,通过附属物和胞外基质黏附在一起,形成离散细胞聚集体^[15],即微菌落。这一过程为生物被膜结构的早期发展阶段,也是细菌细胞从不可逆黏附形态转变为成熟生物被膜的过渡阶段。

在第三个阶段中,微菌落中的细菌细胞通过生长繁殖逐渐发育成为成熟的生物被膜。在这一阶段中,细菌通过表面运动在微菌落中重新分布,分裂的子细胞从附着表面向外和向上扩散以形成细胞簇^[16],同时细菌大量分泌胞外基质(胞外多糖、eDNA、表面蛋白 BpFA 等^[17])。在 *S. oneidensis* MR-1 生物被膜从单层状态到三维结构的发展过程中,基因簇 *mxdABCD* 编码的胞外多糖是促进表面黏附和生物被膜发育的关键基质^[18]。细菌细胞及胞外基质共同形成了具有通道和孔隙的复杂结构,该结构可满足生物被膜内细菌的氧气和其他营养物质的供应^[19],

细菌在其中发展出与浮游细胞不同的生长模式以及生理和代谢功能^[20],形成成熟的生物被膜。*S. oneidensis* MR-1 生物被膜的形状可通过调整电极的极化周期而发生改变,周期性极化下形成的生物被膜顶层呈现蘑菇状结构,而连续极化下形成的生物被膜则呈扁平状^[21]。

第四个阶段为生物被膜的消解和分离,当环境中的营养成分无法满足细菌的进一步生长分裂时,*S. oneidensis* MR-1 生物被膜会整体松动,胞外物质降解,单个细胞及细胞簇会同时被释放到周围环境中^[22]并恢复到浮游状态,留下贝壳状的中空且无运动性的细菌壁结构^[23],完成生物被膜发育的完整周期,而浮游细胞也会继续生长分裂以开始下一个生物被膜周期。

2 *S. oneidensis* MR-1 生物被膜形成的影响因素

S. oneidensis MR-1 生物被膜的形成受到电极材料、代谢作用、环境信号等多种因素的影响。如何促进电活性生物被膜的形成、提高 MFCs 的电子传递效率逐渐成为人们关注的热点。

2.1 电极材料

S. oneidensis MR-1 与电极的电子传递过程如图 2A 所示。微生物与电极间的这种细胞外电子传递构成了微生物电化学技术的基础。因此电极材料的理化特性差异直接影响着微生物的黏附和电子传递的整体效率,对电活性生物被膜的形成和 MFCs 的性能有着显著的影响。

碳点是一种零维碳纳米材料,电极进行碳点涂层后能够提高 *S. oneidensis* MR-1 的胞外电子传递(extracellular electron transfer, EET)

效率和代谢速率,促进细胞黏附和生物被膜的形成^[28]。在生物电系统中,其最大电流值增加了 7.34 倍,功率输出增加了 6.46 倍。此外,石墨烯和碳纳米管(carbon nanotube, CNT)因具有出色的导电性能和优异的机械强度也被广泛应用于 MFCs 电极的开发。*S. oneidensis* MR-1 可在石墨烯-CNT 混合电极上形成更厚更牢固的多层交联生物被膜网络,并产生连续稳定的电流,电流密度高达 1.2 A/m^2 ,约为碳毡阳极上的 6 倍^[29]。贵金属纳米粒子能有效改善电化

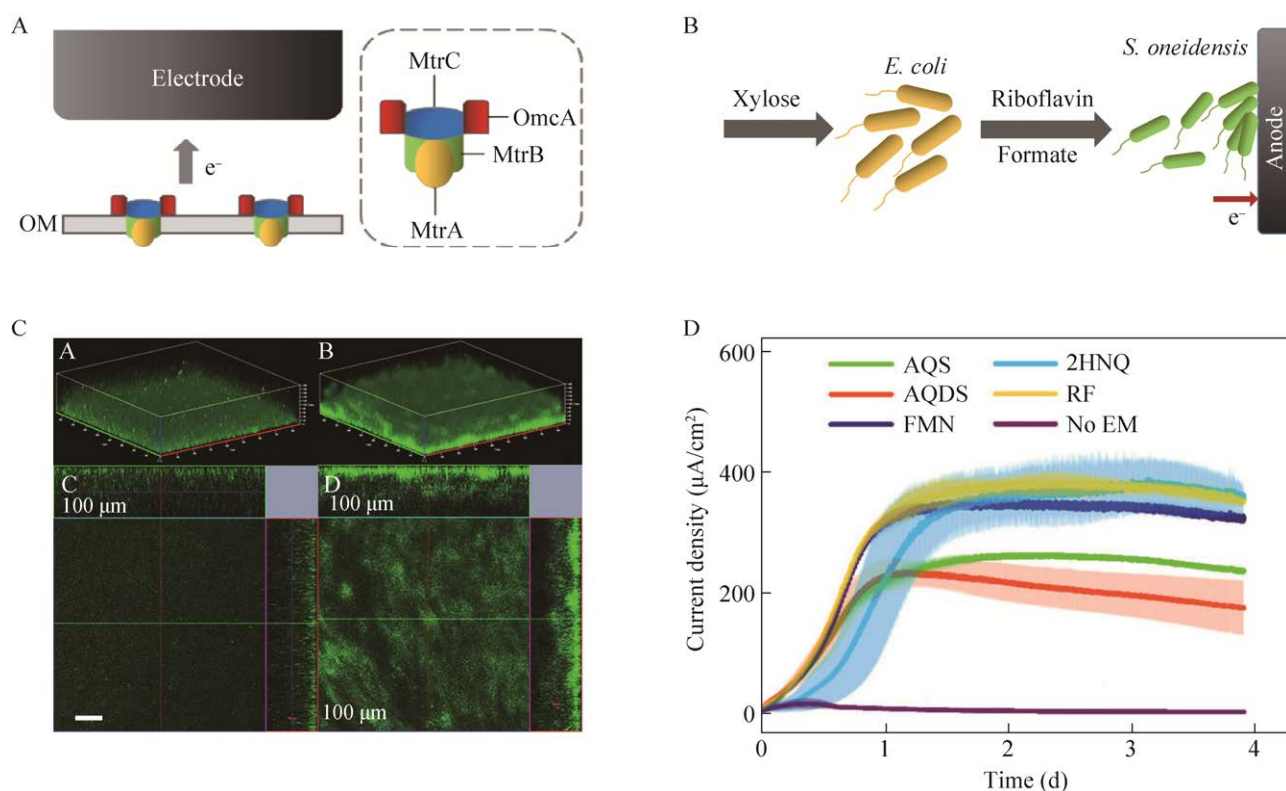


图 2 生物被膜形成的影响因素^[24-27] A: *S. oneidensis* MR-1 与电极间的电子传递过程示意图^[24]. B: 微生物群落促进 *S. oneidensis* MR-1 附着示意图^[25]. C: *S. oneidensis* MR-1 WT 和高 c-di-GMP 菌株的代表性共聚焦激光扫描显微 3D 图像^[26]. D: 具有各种外源电子介质(exogenous electronic media, EMs)的生物电化学系统(bioelectrochemical system, BES)中的电流密度示意图^[27]

Figure 2 Factors affecting biofilm formation^[24-27]. A: Schematic diagram of electron transfer process between *S. oneidensis* MR-1 and electrode. B: Schematic diagram of microbial community promoting the attachment of *S. oneidensis* MR-1. C: Representative confocal laser scanning microscopic 3D images of *S. oneidensis* MR-1 WT and high c-di-GMP strains. D: Schematic diagram of current density in BES with various exogenous electron mediators (EMs)^[27].

系统的催化性能, 然而依靠贵金属来开发生物阳极材料成本较高, 且生物相容性较差, 因此将贵金属与其他材料复合可有效地降低成本并提高电极材料的生物相容性。例如, 相较于玻璃金线微阵列电极及相同表面积的矩形板金电极的 MFCs, 沉积金线微阵列的聚甲基丙烯酸甲酯阳极能够促进细菌快速附着在表面并形成生物被膜, 表现出启动时间快、稳定性高和重现性好等优势^[30]。

复合材料可用于形状适应性电极的设计, 具有生物相容性高、易于组装、可在水介质中导电等优点。利用 *S. oneidensis* MR-1 在碳布阳极上生物合成 FeS 纳米颗粒能够有效提高细菌富集度, 同时促进细菌增殖黏附并形成更厚的生物被膜, 形成的蛋白质生物量约为碳布阳极的 2.5 倍^[31]。将 *S. oneidensis* MR-1 嵌入三维聚(3,4-乙二氧基噻吩)-聚(苯乙烯磺酸盐)基质并聚合在碳毡基材上, 可形成多层导电细菌复合膜, 厚度可达到 80 μm , 产生的稳态电流是未改性碳毡上天然生物被膜的 20 倍^[32]。将该基质与聚(2-羟乙基丙烯酸酯)进一步交联后所形成的新型导电聚合物涂层, 使 *S. oneidensis* MR-1 活细胞密度提升了 2.6 倍, 电流密度增加了 178 倍^[33]。

相较于碳纸或裸金阳极, 在碳纸基体上均匀溅射金膜所形成的新型复合阳极材料具有更为优异的电化学性能, 产生的总电荷比碳纸阳极 MFCs 高 47%, 且 *S. oneidensis* MR-1 能够更快附着在电极上并形成生物被膜^[34]。复合材料缩短了微生物与末端电子受体之间的电子通信距离, 促进了微生物与电极界面之间的能量传递。

多项研究证明, 先进的纳米结构材料及生物复合材料能有效地促进生物被膜的形成^[35], 显著提升 MFCs 的 EET 效率和电合成能力, 成

为了扩展 MFCs 实际应用的有力工具。

2.2 混菌体系

S. oneidensis MR-1 能够使用的碳源范围较为局限, 主要以乳酸为主, 严重限制了其在 MFCs 中的应用, 因此需要开发一些新的策略来扩展可用碳源的范围。一些混菌体系的设计具有高度的可扩展性, 使细菌能够利用的碳源种类更为广泛, 如核苷酸、氨基酸、单体和多糖等^[36], 且体系内微生物的代谢相互作用对生物电化学系统(bioelectrochemical system, BES)的性能及生物被膜的生长也具有显著的影响。

Lin 等^[37]将编码孔蛋白的 *oprF* 基因整合到 *S. oneidensis* MR-1 的外膜中, 与重组酿酒酵母构成混菌体系。利用重组酿酒酵母的代谢产物乳酸, *S. oneidensis* MR-1 能够产生恒定的生物电, 且孔蛋白基因增加了其外膜的疏水性和渗透性, 促进了细菌在阳极上的黏附并提高功率输出。共培养后的最大功率密度为野生型的 1.7 倍, 阳极生物被膜中计数到的活细胞数为野生型的 2.3 倍, 总蛋白质水平为野生型的 2.4 倍。如图 2B 所示, 将合成核黄素途径引入大肠杆菌使其过量生产黄素并与 *S. oneidensis* MR-1 共培养形成混菌体系后能够有效地从木糖中获取能量, 促进 *S. oneidensis* MR-1 的 EET。强疏水作用以及黄素的过量分泌促进了细菌与阳极表面的结合, 结合比例从 48.2% 增加到 98.2%, 电活性生物被膜产生的最大功率密度是野生型的 6.8 倍^[25]。混菌体系证明了共培养过程中细菌的种间代谢合作有利于 BES 性能的提高, 而种间底物竞争也被证明能够增强 BES 的性能。Xiao 等^[38]通过监测 *S. oneidensis* MR-1 与弗氏柠檬酸杆菌 *C. freundii* An1 的 EET 过程发现, 混菌体系生物被膜中细菌的数量及蛋白质含量均高于 *S. oneidensis* MR-1 单一菌株, 最高电流密度为单一菌株的 6 倍,

且与乳酸代谢、生物被膜形成相关的蛋白质的表达在 *S. oneidensis* MR-1 中显著上调。结果表明, 种间竞争增强了 *S. oneidensis* MR-1 在电极上的代谢和 EET 能力, 促进了生物被膜的形成。合理构建混菌体系并优化共培养条件, 能有效提升 *S. oneidensis* MR-1 的 EET 过程及生物被膜的形成效率, 同时增强其 MFCs 系统的应用扩展性。

2.3 c-di-GMP

环二鸟苷酸(cyclic diguanylate, c-di-GMP) 由 2 分子 GTP 经二鸟苷酸环化酶催化缩合而形成, 是细菌中广泛存在的第二信使, 参与调控细菌生长中的多个生物学过程。Thormann 等^[18] 构建了能够改变细胞内 c-di-GMP 浓度的菌株, 并通过观察发现, 较低的 c-di-GMP 水平会显著干扰 *S. oneidensis* MR-1 在玻璃基质上的黏附维持效果, 而提高 c-di-GMP 浓度会形成较厚的生物被膜, 说明 c-di-GMP 浓度与生物被膜的附着存在较强的相关性。该研究为通过合成生物学手段改造生物被膜提供了新的思路, 即可以通过调控 c-di-GMP 相关的合成基因的表达来调节 c-di-GMP 的水平, 进而促进 *S. oneidensis* MR-1 生物被膜的形成。*ydeH* 基因能够编码二鸟苷酸环化酶, 催化第二信使 c-di-GMP 的生物合成^[39]。在 *S. oneidensis* MR-1 中异源过表达 *ydeH* 能够显著促进生物被膜形成并提高生物发电能力。接种工程菌的 MFCs 的最大功率密度及稳定电流密度分别为野生型的 2.8 倍和 3.4 倍, 阳极表面生物被膜生物量为野生型的 7.9 倍^[40]。此外, Ng 等^[26] 通过组成型表达 c-di-GMP 合成酶构建了高 c-di-GMP 水平菌株, 功能数据比较及单细胞拉曼显微光谱法结果(图 2C)证明, 与 *S. oneidensis* MR-1 野生型相比, c-di-GMP 浓度的增加使得细菌生物被膜生长能力增强, 编码参与金属还原途径蛋白质的基因表达和 *c* 型细

胞色素数量显著增加, 促进了细菌的 EET 过程。除自身的浓度水平对于生物被膜的形成具有调节作用外, c-di-GMP 也可作为细胞内调控因子与多糖生物合成酶相互作用来激活胞外多糖的生物合成, 进而调控生物被膜的形成扩散过程及增强其稳定性^[41]。对于 c-di-GMP 的研究表明, 通过多种方式调控其浓度是改善 *S. oneidensis* MR-1 电活性生物被膜的有效手段。

2.4 外源电子介质(exogenous electron mediators, EMs)

EMs 能够通过增强生物被膜与电极间的耦合, 提高电子在生物被膜与电极间的传递效率, 促进细菌生物被膜的形成和高密度电流的产生。Wu 等^[27] 研究了核黄素、黄素单核苷酸等 5 种 EMs 对 *S. oneidensis* MR-1 的 EET 过程和生物被膜形成的影响, 结果表明 5 种 EMs 均能显著提高电流密度(图 2D), 促进胞外聚合物和 eDNA 的产生, 有利于生物被膜的形成。其中, 黄素分子可以通过充当电子传递过程的辅因子介导细胞表面的呼吸酶与不溶性底物之间的连接, 在 EET 过程中发挥着重要的作用。然而在 BES 连续运行时, 可溶性黄素化合物会被不断冲出而流失, 因此在实际应用中需要克服这一缺点才能更好地提高效率。Arinda 等^[42] 利用核黄素偶联磁珠磁分离回收核黄素, 有效避免了因培养基的恒定流动导致的黄素化合物的流失, 持续增强细胞在阳极表面的黏附, 使阳极细菌数量增加 6.3 倍, 同时平均电流密度增加 2.4 倍。EMs 提供了一种十分简便地促进生物被膜形成和促进生物被膜与电极之间电子传递的方法, 在促进 *S. oneidensis* MR-1 在电极表面黏附和增强细菌代谢方面发挥重要的作用。

2.5 环境信号

环境信号的变化也被认为是影响微生物的生物工艺应用的重要因素, 在调控微生物黏附

及生物被膜形成过程中起到重要作用,如营养条件、外部环境因素(温度、pH、氧气含量)等。

Lin 等^[43]在具有相同电子供体的 2 种典型培养基中,研究了培养条件对 *S. oneidensis* MR-1 生物被膜形成的影响,发现在含有磷酸盐缓冲盐(phosphate-buffered saline, PBS)的培养基中,细菌生物被膜总蛋白含量为含有哌嗪-1,4-双乙烷磺酸(PIPES)培养基中的 1.5 倍,加入不同比例 PBS 的实验组所产生的最大电流密度也均高于 PIPES 培养基。通过对结构的观察发现, PBS 培养基中细胞通过伸长和蜷缩增加了生物被膜的表面积,形成了更为蓬松的结构,有利于生物被膜内部的传质。实验说明培养基可以通过改变生物被膜结构和生物量影响 EET 性能,调节生物被膜形成,提高生物发电能力。除改变缓冲液成分外,加入电极的竞争性电子受体也可以增加生物质的累积进而促进阳极上 *S. oneidensis* MR-1 生物被膜的形成。加入富马酸盐的 *S. oneidensis* MR-1 阳极系统中,蛋白质终浓度约为对照阳极的 2 倍,功率密度也提高了 2.41 倍,这一结果说明细菌以富马酸盐作为电子受体可以形成更高呼吸速率的电子传递链,提高细胞在阳极上的附着比例,加快细胞的增殖,促进 *S. oneidensis* MR-1 生物被膜的形成^[44]。

此外, Fe(III)可以提高 MFCs 的功率输出,缩短 MFCs 的启动时间,对于 *S. oneidensis* MR-1 生物被膜的形成和黄素的分泌具有关键的调控作用。Fe(III)初始浓度为 6 mmol/L 时, MFCs 的最大功率密度为未添加 Fe(III)时的 2.12 倍^[45]。微量 Cu^{2+} 和 Cd^{2+} (0.1 $\mu\text{g/L}$ –1 mg/L) 的存在也能够有效地提高核黄素的生成,促进细菌在电极表面的黏附,所得的最大输出功率为对照组的 1.3–1.6 倍^[46]。由此可见,添加适当浓度的金属离子是调控生物被膜形成、增强

MFCs 功率和 EET 效率的有效策略。

温度变化能够改变阳极反应的动力学和热力学,间接影响生物被膜的生长^[47]。大多数电活性细菌在 15–40 °C 具有最优生长活性和电催化活性^[48]。在研究温度对生物电化学系统影响的过程中发现,随着温度从 22 °C 升高到 34 °C,电极上 *S. oneidensis* MR-1 的总生物被膜蛋白量逐渐增加,但温度进一步升高时反而急剧下降,电流强度也保持同样的变化,证明 *S. oneidensis* MR-1 的生化过程和代谢过程均受到温度的影响^[49]。

此外, pH 值能够通过影响代谢途径调节阳极微生物电活性生物被膜的形成、维持氧化还原反应的平衡以及调控最大电流密度及功率密度^[50]。中性 pH 是微生物正常工作的最佳条件,微生物酶在中性 pH 条件下能很好地发挥作用^[51]。然而,对 *S. oneidensis* MR-1 的研究显示,在 pH 值为 6.0–10.0 的范围内, MFCs 均能产生明显的电力输出,输出功率在 pH 9.0 时达到最大值,为 pH 7.0 时的 1.5 倍。碱性条件下 *S. oneidensis* MR-1 核黄素的合成也有明显增加,促进了细菌生物被膜的形成^[52]。维持细菌生长的最佳 pH 值可提高生物被膜的稳定性和寿命,大多数研究都已阐述了 pH 值在生物被膜形成过程中的作用^[53],并通过添加合适的缓冲液或使用阴离子交换膜来维持 pH 值,但仍需要进一步研究以了解其对微生物群落结构及其相互作用的影响。

S. oneidensis MR-1 为兼性厌氧菌,氧气可作为替代可溶性电子受体参与细菌呼吸^[54]。因此,溶解氧含量直接影响着细菌的代谢途径和生物被膜的形成。对不同氧气含量环境的电极电位水平监测发现,在不同电位水平下微好氧环境中所形成的生物被膜均明显厚于厌氧环境,表明溶解氧可以加速 *S. oneidensis* MR-1 的增殖,从而形成更厚的生物被膜^[55]。McClean 等^[56]

发现,在富氧环境中 *S. oneidensis* MR-1 的细胞聚集性更好,且通过全局转录组分析确定了 *S. oneidensis* MR-1 具有编码细胞间和细胞表面黏附因子的基因,该基因的转录随着溶解氧含量的增加而增加。Lu 等^[57]利用 BES 进一步研究了氧气对 *S. oneidensis* MR-1 电子传递速率的影响。结果表明,氧气加快了电极上生物质的积累,增加了电化学活性细胞的数量,并促进了生物被膜的形成,但同时也降低了单个细胞的 EET 效率。因此可以在生物被膜形成的早期阶段通过曝气来促进其发展,并在后期降低氧浓度以提高单个细胞的 EET 速率来实现更高的电流产量。

通过研究表明, *S. oneidensis* MR-1 拥有发达的环境传感和信号转导系统,对于环境条件的变化具有较高的适应性^[58]。然而,仍然需要开发更为先进的生物技术平台,用于更为精确地调控 *S. oneidensis* MR-1 及其他电活性微生物生物被膜的形成、与电极之间的电化学相互作用、细菌运动行为及其他的生理过程。近年来,本实验室运用细菌显微追踪技术在单细胞水平上对希瓦氏菌、铜绿假单胞菌^[59]、黄色黏球菌^[60]及霍乱弧菌^[61]在不同环境中的运动行为及信号传导等因素对细菌的生长及生物被膜的形成影响进行了研究。通过对 *S. oneidensis* MR-1 的观察探究发现,该菌在不同环境条件下细菌的运动行为及生物被膜的形成具有较大差异,在介质表面的生物量的积累能力与营养条件、氧气条件及介质表面的性质均有显著相关性(待发表)。

3 *S. oneidensis* MR-1 生物被膜的应用

S. oneidensis MR-1 广泛存在于土壤、地下水、含水层、活性污泥、海洋和河口沉积物等多种缺氧和还原环境中^[62]。通过生物被膜中丰

富的 *c* 型细胞色素及 Mtr 途径, *S. oneidensis* MR-1 可以与细胞外物质连接并进行双向电子传递^[63],在微生物电化学技术、环境污染生物修复、生物能源生产和生态经济可持续性等方面具有广泛的应用。其主要应用如表 1 所示。

3.1 生物能源应用

应用 *Shewanella* 构建的 MFCs 及微生物电解池(microbial electrolysis cells, MECs)系统不仅能够生产电力、氢等能源,构建相关的纳米材料,还可以生产高附加值化工产品^[80],为可持续能源发展提供了更多的研究方向。

S. oneidensis MR-1 可以通过电活性生物被膜中的多种细胞色素及纳米线结构与电极进行电子传递并产生能量^[81]。在浅层地下,缺氧区微生物能够产生导电“纳米线”以取代金属导体,在生物被膜与环境间的氧化还原界面进行电子传递,形成“生物地球电池”。例如,在含有乳酸盐的环境中, *S. oneidensis* MR-1 纳米线在生物被膜与矿物表面能够构建可进行氧化还原过程的导电交联网络区域,该区域能够检测到明显的电位变化。因此,可利用 *S. oneidensis* MR-1 在海底的有机污染物沉积区域形成天然生物地球电池,与地球物理方法相结合以实现对于偏远和极端环境中电子传输机制以及微生物参与地质物质和能量循环方式的研究^[82]。

微生物电合成过程中也会将二氧化碳或其他有机物转化为高附加值化合物^[83]。*S. oneidensis* MR-1 可以利用阴极产生的电子生成琥珀酸盐^[80]或将 CO₂ 转化为甲酸等产品^[84]。与自发光合作用不同, *S. oneidensis* MR-1 的 EET 能力使其可以在黑暗和缺氧环境中固定二氧化碳,并回收能量以用于乙醇、甲酸和甘油的生产^[85]。对 *S. oneidensis* MR-1 进行基因工程改造,酮异戊酸脱羧酶基因(*kivD*)和乙醇脱氢酶基因(*adh*)的成功导入并表达可进一步促进细菌与电极间的

表 1 *Shewanella oneidensis* MR-1 的应用
Table 1 Application of *Shewanella oneidensis* MR-1

Application area	Main application	Main principle
Bioenergy	Bioethanol ^[64]	Genetic engineering
	Organic acids (succinic acid, lactic acid, acetic acid, formic acid) ^[65]	MFCs
	Biohydrogen ^[66]	Formate dehydrogenase
	Hydrogen peroxide ^[67]	Fenton reaction
Bioremediation of toxic metals	Remediation of uranium U(VI) pollutants ^[68]	OmcA
	Reduction of mineral metals ^[69]	OmcA
	Reduction of Cr(VI) ^[70]	MtrC and OmcA
	Reduction of Hg(II) ^[71]	
Nanomaterial manufacturing	Formation of Pd(0) nanomaterials ^[72]	Biological reduction and medium adsorption
	Biosynthesis of Te(0) nanorods ^[73]	Anaerobic respiration
	Arsenic sulfide nanocomposites ^[74]	Anaerobic respiration
	Synthesis of Ag nanoparticles ^[75]	Anaerobic respiration
Reduction of organic matter	Degradation of organic pollutants ^[67,76]	Fenton reaction
	Degradation of triphenylmethane dyes ^[77]	Anaerobic respiration
	Degradation of metal complex dyes ^[78]	Anaerobic respiration
	Degradation of azo dyes ^[79]	CymA

电子传递, 有效提高异丁醇的产量^[86]。而作为 MFCs 的衍生技术, MECs 可通过 *S. oneidensis* MR-1 与阳极间的电子传递产生电力并在阴极进行生物制氢工艺^[87], 与普通暗发酵相比, 该工艺可持续性更高、成本更低, 且底物可选择范围更为广泛^[88]。且通过 *S. oneidensis* MR-1 的生物电化学还原直接在阴极电极上生成钯纳米颗粒能够进一步提高 MECs 产氢量^[89]。

除了产生直接能源外, *Shewanella* 也被用于制备独特的细胞外铁、锰和硫系纳米材料, 这些材料可以广泛地应用于电子和光电器件, 特别是作为锂离子电池的储能材料^[90]。利用 *S. oneidensis* MR-1 的氧化还原过程合成的纳米材料也可以作为廉价、无毒的电子设备原料, 在降低成本的同时帮助解决生态问题^[91]。而纳米线结构也可以直接作为可再生的导电生物材料, 用于构建生物电子器件^[92]。*S. oneidensis* MR-1 不仅能还原 Te(IV)并合成 Te(0)纳米棒以

应用作为锂离子电池的能量转换存储材料^[73], 还具有将 As(V)还原为 As(III)及 $S_2O_3^{2-}$ 还原为 S^{2-} 并制成胞外硫化砷纳米复合材料的潜力, 该材料是一种高效的锂存储材料及半导体材料^[74]。

3.2 生物修复应用

S. oneidensis MR-1 可通过微生物降解过程被应用于以污染物为电子供体或受体的生物修复中, 实现有机化合物、危险染料、重金属的还原转化, 是一种极有前途的生物修复剂^[93]。

与传统燃料电池相比, MFCs 可利用废弃生物质作为基质产生电能, 无需持续的外部燃料供应^[94]。因此, MFCs 与废水处理的耦合在经济上具有非常大的前景。尽管目前该技术在实际应用中的有效性较为有限, 但 MFCs 有望在进一步开发后用于大规模废水处理工艺。

随着硝基芳香族化合物 (nitro-aromatic compounds, NACs) 相关产业的发展, 其向环境中的排放量也在逐年增加, 已造成土壤和地下

水的广泛污染,对人体具有诱变和致癌等健康危害^[95]。*S. oneidensis* MR-1 生物还原作用被认为是减少 NACs 污染的一种有效且简单的方法。洛克沙肿用于预防家禽寄生虫感染,在动物体内几乎不分解,易进入地表水或地下水和土壤中,通过物理、化学和生物相互作用产生多种砷化合物^[96]。通过麦秆生物炭在细菌和洛克沙肿间介导电子传递,*S. oneidensis* MR-1 对洛克沙肿的降解率从 51% 提升至 75%^[97]。对于 2,6-二硝基甲苯的厌氧还原也可通过生物被膜的 EET 过程和内部硝基还原酶 2 种途径实现^[98]。在 *S. oneidensis* MR-1 对硝基苯进行生物还原时,电活性生物被膜的周质空间中的细胞色素 CymA 在电子传递链中起着关键作用,使 *S. oneidensis* MR-1 可以在 24 h 内将硝基苯 (1.6 mmol/L) 完全还原为苯胺^[99]。而另一项研究改变了 *S. oneidensis* MR-1 的电子传递路径,将细胞内硝基苯还原过程转化为细胞外过程,提高了 MR-1 的硝基苯还原效率^[100]。*S. oneidensis* MR-1 对其他芳香族化合物也具有降解能力。双酚 A 被广泛用于聚合物生产,具有致癌性、免疫毒性和胚胎毒性,工程化的 *S. oneidensis* MR-1 生物被膜具有比大肠杆菌更高的双酚 A 降解效率^[101]。加入 *S. oneidensis* MR-1 的 MFCs 对邻二甲苯去除效率也较原 MFCs 提高了 35%–76%,最大功率密度增加了 77%^[102]。

染色工业中所排放的含有未固定染料的工业废水会对周围环境造成极大的环境污染和严重的健康风险。*S. oneidensis* MR-1 生物处理方法已被证明在偶氮染料的脱色和毒性降解方面是有效的,且运行和维护成本较低^[77]。在 46 h 内接种了 *S. oneidensis* MR-1 的生物阴极对偶氮染料酸性橙 7 的还原效率有明显提升,较非生物阴极提高了 23%^[103]。通过对机制的研究发现,*S. oneidensis* MR-1 可通过细胞内和细胞外

联合还原对偶氮染料 X-GRL 进行厌氧脱色,且随着环境 pH 值的升高,细胞外脱色的比例降低,而细胞内脱色的比例增加^[104]。*Shewanella* 对于三苯基甲烷染料的厌氧脱色过程也被广泛研究,*S. oneidensis* MR-1 可以通过细胞外 Mtr 途径对苯胺蓝(一种磺化三苯基甲烷染料)进行有效脱色和降解^[77]。此外,*S. oneidensis* MR-1 还能以金属络合物染料萘酚绿 B (一种金属络合染料)作为厌氧呼吸电子受体对其进行降解,对 1 000 mg/L 萘酚绿 B 的脱色率可达到 95.2%^[105]。通过基因组学和蛋白质组学的生物技术的发展,细菌的染料脱色效率有望进一步提高,实现在中试和大规模上的尝试,以更好地应用于实际废水处理中。

Shewanella 还可以有效地转化一系列重金属。*S. oneidensis* MR-1 能够依靠 MtrC 和 OmcA 作为末端还原酶通过生物被膜将剧毒的 Cr(VI) 还原为无毒的 Cr(III)^[70]。除此之外,在电子传递过程中,可加入腐殖酸以充当微生物和 Hg(II) 之间的电子传递介质,加快 *S. oneidensis* MR-1 将 Hg(II) 还原为 Hg(0) 的速率^[71]。在运用电芬顿法处理废水时,Fe(III) 的缓慢还原过程限制了污染物的去除效率,并容易导致含铁污泥的产生。采用 *Shewanella* 生物被膜与 Fe₂O₃ 涂层电极耦合驱动电芬顿反应,可以有效加快铁的还原速度,且铁的总损失不超过 10%,对苯酚的去除率也接近 100%,为提高电芬顿反应效率、解决铁损失和含铁污泥的生成等问题提供了有效的策略^[106]。

3.3 生物传感器

BES 构成的生物传感器可利用电活性生物被膜作为信号识别和传感元件来检测待分析物的浓度,有助于污染物及有毒化合物释放的早期检测,在环境监测、废水处理和饮用水处理中起着至关重要的作用^[107]。

对 *S. oneidensis* MR-1 $\Delta mtrB$ 突变株进行基因工程改造,使其携带由砷诱导启动子驱动的编码 *mtrb* 基因片段的质粒,将改造后的菌株接种到 BES 中后该系统会感应砷浓度变化而改变电流的大小,将生物传感器的检测限增加至 40 $\mu\text{mol/L}$ 亚砷酸盐,线性范围高达 100 $\mu\text{mol/L}$ 亚砷酸盐^[108]。使用海藻酸钠作为固定剂制备 *S. oneidensis* MR-1 人工电极,能够改善电活性生物被膜自然生长过程复杂且耗时的缺点,在短时间内制备出可用于设计高灵敏度生物传感器的电活性生物被膜,产生清晰且固定的电信号,以监测水环境中的有毒物质^[109]。以 *S. oneidensis* MR-1 为生物电催化剂构建的超灵敏生物电化学传感器能使绿脓菌素从氧化状态再生为还原型,并被电极重复记录,使绿脓菌素的电化学反应被放大了约 405 倍。且该生物传感系统对人体体液或细菌污染的干扰具有出色的抵抗力,不仅提供了一种更为灵敏可靠的绿脓菌素检测工具,还为生物传感中的电化学信号放大开辟了一个新的领域^[110]。此外, *S. oneidensis* MR-1 还能通过与电极间的氧化还原系统再生核黄素,所开发出的核黄素生物传感器具有较高的灵敏度、良好的选择性和稳定性,还可以对食品和药品等样品进行准确分析^[111]。

4 总结与展望

综上所述,希瓦氏菌生物被膜在细菌细胞的电子传递和物质交换中扮演着重要角色,希瓦氏菌电活性生物被膜的相关研究对于环境修复及能源生产方向的发展具有十分重要的现实意义。利用 *S. oneidensis* MR-1 构建规模化 MFCs 在理论上和经济上是可行的,但在工程应用中仍然存在一定的局限性。电活性生物被膜的形成过程及组分构成十分复杂,受到多种因素的影响和调控,且目前的研究手段以及研

究模型仍然存在着局限性,在分子水平上对于电活性生物被膜形成的机制及微生物群落与电极间的 EET 机制仍然缺乏全面的了解。在实际应用中如何增加生物被膜的覆盖,同时降低物质阻力并加速电子的传输仍然是一个挑战。因此,需要对电极表面微生物的生长及代谢进行更多的研究,以构建出活性更高、导电性能更好且渗透性更强的电活性生物被膜。未来可以从以下几个方面作出更多的思考:(1) 选择和开发更多性价比高且能够提高细菌黏附性的电极材料及其他表面材料,在降低成本的同时提高整体效率;(2) 改善环境条件及培养条件,优化 *S. oneidensis* MR-1 细菌细胞的活性,促进生物被膜的形成;(3) 建立灵敏高效的能源储存管理系统,及时收集电能和生物氢等能源。

随着以高通量测序为基础的蛋白组学、代谢组学、宏基因组学和功能基因组等现代生物技术的不断发展,单细胞显微追踪、无损荧光标记等研究手段的不断更新,对电活性生物被膜的研究也会更加全面和深入。通过电化学、蛋白质基因组学和地球物理技术的结合, *S. oneidensis* MR-1 有望实现在微生物电化学技术、污染生物修复、生物能源生产等领域更为广泛的应用。

REFERENCES

- [1] LOGAN BE. Exoelectrogenic bacteria that power microbial fuel cells[J]. Nature Reviews Microbiology, 2009, 7(5): 375-381.
- [2] MANN EE, WOZNIAK DJ. *Pseudomonas* biofilm matrix composition and niche biology[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2012, 36(4): 893-916.
- [3] FLEMMING HC, WINGENDER J. The biofilm matrix[J]. Nature Reviews Microbiology, 2010, 8(9): 623-633.
- [4] O'TOOLE G, KAPLAN HB, KOLTER R. Biofilm formation as microbial development[J]. Annual Review of Microbiology, 2000, 54: 49-79.

- [5] KOCH C, HARNISCH F. Is there a specific ecological niche for electroactive microorganisms?[J]. ChemElectroChem, 2016, 3(9): 1282-1295.
- [6] VENKATESWARAN K, MOSER DP, DOLLHOPF ME, LIES DP, SAFFARINI DA, MACGREGOR BJ, RINGELBERG DB, WHITE DC, NISHIJIMA M, SANO H, BURGHARDT J, STACKEBRANDT E, NEALSON KH. Polyphasic taxonomy of the genus *Shewanella* and description of *Shewanella oneidensis* sp. nov.[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1999, 49: 705-724.
- [7] LEUNG DHL, LIM YS, UMA K, PAN GT, LIN JH, CHONG SW, YANG TCK. Engineering *S. oneidensis* for performance improvement of microbial fuel cell-a mini review[J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2021, 193 (4): 1170-1186.
- [8] YIN W, WANG YT, LIU L, HE J. Biofilms: the microbial “protective clothing” in extreme environments[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2019, 20(14): 3423.
- [9] BERNE C, ELLISON CK, DUCRET A, BRUN YV. Bacterial adhesion at the single-cell level[J]. Nature Reviews Microbiology, 2018, 16(10): 616-627.
- [10] BELAS R. Biofilms, flagella, and mechanosensing of surfaces by bacteria[J]. Trends in Microbiology, 2014, 22(9): 517-527.
- [11] HUG I, DESHPANDE S, SPRECHER KS, PFOHL T, JENAL U. Second messenger-mediated tactile response by a bacterial rotary motor[J]. Science, 2017, 358(6362): 531-534.
- [12] PERSAT A, INCLAN YF, ENGEL JN, STONE HA, GITAI Z. Type IV pili mechanochemically regulate virulence factors in *Pseudomonas aeruginosa*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2015, 112(24): 7563-7568.
- [13] GÖDEKE J, BINNENKADE L, THORMANN KM. Transcriptome analysis of early surface-associated growth of *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. PLoS One, 2012, 7(7): e42160.
- [14] KIMKES TEP, HEINEMANN M. How bacteria recognise and respond to surface contact[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2020, 44(1): 106-122.
- [15] YANG L, HU YF, LIU Y, ZHANG JD, ULSTRUP J, MOLIN S. Distinct roles of extracellular polymeric substances in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development[J]. Environmental Microbiology, 2011, 13(7): 1705-1717.
- [16] HEYDORN A, NIELSEN AT, HENTZER M, STERNBERG C, GIVSKOV M, ERSBØLL BK, MOLIN S. Quantification of biofilm structures by the novel computer program COMSTAT[J]. Microbiology: Reading, England, 2000, 146(Pt 10): 2395-2407.
- [17] ZHOU GQ, YUAN J, GAO HC. Regulation of biofilm formation by BpfA, BpfD, and BpfG in *Shewanella oneidensis*[J]. Frontiers in Microbiology, 2015, 6: 790.
- [18] THORMANN KM, DUTTLER S, SAVILLE RM, HYODO M, SHUKLA S, HAYAKAWA Y, SPORMANN AM. Control of formation and cellular detachment from *Shewanella oneidensis* MR-1 biofilms by cyclic di-GMP[J]. Journal of Bacteriology, 2006, 188(7): 2681-2691.
- [19] de BEER D, STOODLEY P, ROE F, LEWANDOWSKI Z. Effects of biofilm structures on oxygen distribution and mass transport[J]. Biotechnology and Bioengineering, 1994, 43(11): 1131-1138.
- [20] van HOUTDT R, MICHIELS CW. Role of bacterial cell surface structures in *Escherichia coli* biofilm formation[J]. Research in Microbiology, 2005, 156(5/6): 626-633.
- [21] ZHANG X, PRÉVOTEAU A, LOURO RO, PAQUETE CM, RABAHEY K. Periodic polarization of electroactive biofilms increases current density and charge carriers concentration while modifying biofilm structure[J]. Biosensors & Bioelectronics, 2018, 121: 183-191.
- [22] THORMANN KM, SAVILLE RM, SHUKLA S, SPORMANN AM. Induction of rapid detachment in *Shewanella oneidensis* MR-1 biofilms[J]. Journal of Bacteriology, 2005, 187(3): 1014-1021.
- [23] SAUER K, CAMPER AK, EHRLICH GD, COSTERTON JW, DAVIES DG. *Pseudomonas aeruginosa* displays multiple phenotypes during development as a biofilm[J]. Journal of Bacteriology, 2002, 184(4): 1140-1154.
- [24] ORAM J, JEUKEN LJC. A re-evaluation of electron-transfer mechanisms in microbial electrochemistry: *Shewanella* releases iron that mediates extracellular electron transfer[J]. ChemElectroChem, 2016, 3(5): 829-835.
- [25] YANG Y, WU YC, HU YD, CAO YX, POH CL, CAO B, SONG H. Engineering electrode-attached microbial consortia for high-performance xylose-fed microbial fuel cell[J]. ACS Catalysis, 2015, 5(11): 6937-6945.

- [26] NG CK, XU JB, CAI Z, YANG L, THOMPSON IP, HUANG WE, CAO B. Elevated intracellular cyclic-di-GMP level in *Shewanella oneidensis* increases expression of c-type cytochromes[J]. *Microbial Biotechnology*, 2020, 13(6): 1904-1916.
- [27] WU YD, LUO XB, QIN BL, LI FB, HÄGGBLUM MM, LIU TX. Enhanced current production by exogenous electron mediators via synergy of promoting biofilm formation and the electron shuttling process[J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, 54(12): 7217-7225.
- [28] YANG CH, ASLAN H, ZHANG P, ZHU SJ, XIAO Y, CHEN LX, KHAN N, BOESEN T, WANG YL, LIU Y, WANG L, SUN Y, FENG YJ, BESENBACHER F, ZHAO F, YU M. Carbon dots-fed *Shewanella oneidensis* MR-1 for bioelectricity enhancement[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 1379.
- [29] ZHAO CE, WU JS, DING YZ, WANG V, ZHANG YD, KJELLEBERG S, LOO J, CAO B, ZHANG QC. Hybrid conducting biofilm with built-in bacteria for high-performance microbial fuel cells[J]. *ChemElectroChem*, 2015, 2 (5): 654-658.
- [30] CHEN SY, CHEN XY, HOU SY, XIONG PH, XIONG Y, ZHANG F, YU HQ, LIU G, TIAN YC. A gold microarray electrode on a poly(methylmethacrylate) substrate to improve the performance of microbial fuel cells by modifying biofilm formation[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(115): 114937-114943.
- [31] LI Z, ZHANG P, QIU Y, ZHANG ZH, WANG X, YU YL, FENG YJ. Biosynthetic FeS/BC hybrid particles enhanced the electroactive bacteria enrichment in microbial electrochemical systems[J]. *Science of the Total Environment*, 2021, 762: 143142.
- [32] ZAJDEL TJ, BARUCH M, MÉHES G, STAVRINIDOU E, BERGGREN M, MAHARBIZ MM, SIMON DT, AJO-FRANKLIN CM. PEDOT: PSS-based multilayer bacterial- composite films for bioelectronics[J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 15293.
- [33] TSENG CP, LIU FX, ZHANG X, HUANG PC, CAMPBELL I, LI YL, ATKINSON JT, TERLIER T, AJO-FRANKLIN CM, SILBERG JJ, VERDUZCO R. Solution- deposited and patternable conductive polymer thin-film electrodes for microbial bioelectronics[J]. *Advanced Materials: Deerfield Beach, Fla*, 2022, 34(13): e2109442.
- [34] SUN M, ZHANG F, TONG ZH, SHENG GP, CHEN YZ, ZHAO Y, CHEN YP, ZHOU SY, LIU G, TIAN YC, YU HQ. A gold-sputtered carbon paper as an anode for improved electricity generation from a microbial fuel cell inoculated with *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2010, 26(2): 338-343.
- [35] KALATHIL S, PANT D. Nanotechnology to rescue bacterial bidirectional extracellular electron transfer in bioelectrochemical systems[J]. *RSC Advances*, 2016, 6(36): 30582-30597.
- [36] RODIONOV DA, YANG C, LI XQ, RODIONOVA IA, WANG YB, OBRAZTSOVA AY, ZAGNITKO OP, OVERBEEK R, ROMINE MF, REED S, FREDRICKSON JK, NEALSON KH, OSTERMAN AL. Genomic encyclopedia of sugar utilization pathways in the *Shewanella* genus[J]. *BMC Genomics*, 2010, 11: 494.
- [37] LIN T, BAI X, YANG Y, WANG JY, HU YD, LI BZ, YUAN YJ, SONG H. Synthetic *Saccharomyces cerevisiae*-*Shewanella oneidensis* consortium enables glucose-fed high-performance microbial fuel cell[J]. *AICHe Journal*, 2017, 63 (6): 1830-1838.
- [38] XIAO Y, CHEN G, CHEN Z, BAI R, ZHAO BY, TIAN XC, WU YC, ZHOU X, ZHAO F. Interspecific competition by non-exoelectrogenic *Citrobacter freundii* An1 boosts bioelectricity generation of exoelectrogenic *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Biosensors and Bioelectronics*, 2021, 194: 113614.
- [39] HENGGE R. Principles of c-di-GMP signalling in bacteria[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2009, 7(4): 263-273.
- [40] LIU T, YU YY, DENG XP, NG CK, CAO B, WANG JY, RICE SA, KJELLEBERG S, SONG H. Enhanced *Shewanella* biofilm promotes bioelectricity generation[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2015, 112(10): 2051-2059.
- [41] GAMBARI C, BOYELDIEU A, ARMITANO J, MÉJEAN V, JOURLIN-CASTELLI C. Control of pellicle biogenesis involves the diguanylate cyclases PdgA and PdgB, the c-di-GMP binding protein MxdA and the chemotaxis response regulator CheY3 in *Shewanella oneidensis*[J]. *Environmental Microbiology*, 2019, 21(1): 81-97.
- [42] ARINDA T, PHILIPP LA, REHNLUND D, EDEL M, CHODORSKI J, STÖCKL M, HOLTMANN D, ULBER R, GESCHER J, STURM-RICHTER K. Addition of riboflavin-coupled magnetic beads increases current production in bioelectrochemical systems via the increased formation of anode-

- biofilms[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 126.
- [43] LIN ZX, LONG ML, LIU W, LIU TX, LI FB, WU YD. Distinct biofilm formation regulated by different culture media: implications to electricity generation[J]. *Bioelectrochemistry: Amsterdam, Netherlands*, 2021, 140: 107826.
- [44] ZHANG P, LIU J, QU YP, FENG YJ. Enhanced *Shewanella oneidensis* MR-1 anode performance by adding fumarate in microbial fuel cell[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2017, 328: 697-702.
- [45] WU D, XING DF, LU L, WEI M, LIU BF, REN NQ. Ferric iron enhances electricity generation by *Shewanella oneidensis* MR-1 in MFCs[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 135: 630-634.
- [46] XU YS, ZHENG T, YONG XY, ZHAI DD, SI RW, LI B, YU YY, YONG YC. Trace heavy metal ions promoted extracellular electron transfer and power generation by *Shewanella* in microbial fuel cells[J]. *Bioresource Technology*, 2016, 211: 542-547.
- [47] LARROSA-GUERRERO A, SCOTT K, HEAD IM, MATEO F, GINESTA A, GODINEZ C. Effect of temperature on the performance of microbial fuel cells[J]. *Fuel*, 2010, 89(12): 3985-3994.
- [48] GADKARI S, FONTMORIN JM, YU E, SADHUKHAN J. Influence of temperature and other system parameters on microbial fuel cell performance: numerical and experimental investigation[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2020, 388: 124176.
- [49] LIU W, WU YD, LIU TX, LI FB, DONG H, JING MQ. Influence of incubation temperature on 9,10-anthraquinone-2-sulfonate (AQS)-mediated extracellular electron transfer[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 464.
- [50] BUTTI SK, VELVIZHI G, SULONEN MLK, HAAVISTO JM, OGUZ KOROGU EO, CETINKAYA AY, SINGH S, ARYA D, MODESTRA JA, KRISHNA KV. Microbial electrochemical technologies with the perspective of harnessing bioenergy: maneuvering towards upscaling[J]. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 2015, 53: 462-476.
- [51] SARATALE GD, SARATALE RG, SHAHID MK, ZHEN GY, KUMAR G, SHIN HS, CHOI YG, KIM SH. A comprehensive overview on electro-active biofilms, role of exo-electrogens and their microbial niches in microbial fuel cells (MFCs)[J]. *Chemosphere*, 2017, 178: 534-547.
- [52] YONG YC, CAI Z, YU YY, CHEN P, JIANG RR, CAO B, SUN JZ, WANG JY, SONG H. Increase of riboflavin biosynthesis underlies enhancement of extracellular electron transfer of *Shewanella* in alkaline microbial fuel cells[J]. *Bioresource Technology*, 2013, 130: 763-768.
- [53] MAHMOUD RH, GOMAA OM, HASSAN RYA. Bio-electrochemical frameworks governing microbial fuel cell performance: technical bottlenecks and proposed solutions[J]. *RSC Advances*, 2022, 12(10): 5749-5764.
- [54] PINCHUK GE, GEYDEBREKHT OV, HILL EA, REED JL, KONOPKA AE, BELIAEV AS, FREDRICKSON JK. Pyruvate and lactate metabolism by *Shewanella oneidensis* MR-1 under fermentation, oxygen limitation, and fumarate respiration conditions[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2011, 77(23): 8234-8240.
- [55] BAO H, ZHENG ZW, YANG B, LIU D, LI FF, ZHANG XW, LI ZJ, LEI LC. *In situ* monitoring of *Shewanella oneidensis* MR-1 biofilm growth on gold electrodes by using a Pt microelectrode[J]. *Bioelectrochemistry*, 2016, 109: 95-100.
- [56] MCLEAN JS, PINCHUK GE, GEYDEBREKHT OV, BILSKIS CL, ZAKRAJSEK BA, HILL EA, SAFFARINI DA, ROMINE MF, GORBY YA, FREDRICKSON JK, BELIAEV AS. Oxygen-dependent autoaggregation in *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Environmental Microbiology*, 2008, 10(7): 1861-1876.
- [57] LU MQ, CHAN S, BABANOVA S, BRETSCHEGER O. Effect of oxygen on the per-cell extracellular electron transfer rate of *Shewanella oneidensis* MR-1 explored in bioelectrochemical systems[J]. *Biotechnology and Bioengineering*, 2017, 114(1): 96-105.
- [58] KOUZUMA A. Molecular mechanisms regulating the catabolic and electrochemical activities of *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 2021, 85(7): 1572-1581.
- [59] ZHANG JC, HE J, ZHAI CH, MA LZ, GU LC, ZHAO K. Effects of PslG on the surface movement of *Pseudomonas aeruginosa*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(13): e00219-e00218.
- [60] ZHANG WC, WANG Y, LU HN, LIU Q, WANG CD, HU W, ZHAO K. Dynamics of solitary predation by *Myxococcus xanthus* on *Escherichia coli* observed at the single-cell level[J]. *Applied and Environmental*

- Microbiology, 2020, 86(3): e02286-e02219.
- [61] ZHANG WC, LUO M, FENG CY, LIU HQ, ZHANG H, BENNETT RR, UTADA AS, LIU Z, ZHAO K. Crash landing of *Vibrio cholerae* by MSHA pili-assisted braking and anchoring in a viscoelastic environment[J]. eLife, 2021, 10: e60655.
- [62] FREDRICKSON JK, ROMINE MF, BELIAEV AS, AUCHTUNG JM, DRISCOLL ME, GARDNER TS, NEALSON KH, OSTERMAN AL, PINCHUK G, REED JL, RODIONOV DA, ROFRIGUES JLM, SAFFARINI DA, SERRES MH, SPORMANN AM, ZHULIN IB, TIEDJE JM. Towards environmental systems biology of *Shewanella*[J]. Nature Reviews Microbiology, 2008, 6(8): 592-603.
- [63] SHI L, RICHARDSON DJ, WANG ZM, KERISIT SN, ROSSO KM, ZACHARA JM, FREDRICKSON JK. The roles of outer membrane cytochromes of *Shewanella* and *Geobacter* in extracellular electron transfer[J]. Environmental Microbiology Reports, 2009, 1(4): 220-227.
- [64] FLYNN JM, ROSS DE, HUNT KA, BOND DR, GRALNICK JA. Enabling unbalanced fermentations by using engineered electrode-interfaced bacteria[J]. mBio, 2010, 1(5): e00190-e00110.
- [65] LI SW, ZENG RJ, SHENG GP. 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.
- [66] XIONG JJ, CHAN DD, GUO XX, CHANG FY, CHEN MM, WANG QH, SONG X, WU C. Hydrogen production driven by formate oxidation in *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(12): 5579-5591.
- [67] PENG ZF, SHI MM, XIA KM, DONG YR, SHI L. 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.
- [68] MARSHALL MJ, BELIAEV AS, DOHNALKOVA AC, KENNEDY DW, SHI L, WANG ZM, BOYANOV MI, LAI B, KEMNER KM, MCLEAN JS, REED SB, CULLEY DE, BAILEY VL, SIMONSON CJ, SAFFARINI DA, ROMINE MF, ZACHARA JM, FREDRICKSON JK. C-type cytochrome-dependent formation of U(IV) nanoparticles by *Shewanella oneidensis*[J]. PLoS Biology, 2006, 4(9): e268.
- [69] XIONG YJ, SHI L, CHEN BW, MAYER M, LOWER B, LONDER Y, BOSE S, HOHELLA M, FREDRICKSON J, SQUIER T. High-affinity binding and direct electron transfer to solid metals by the *Shewanella oneidensis* MR-1 outer membrane c-type cytochrome OmcA[J]. Journal of the American Chemical Society, 2006, 128(43): 13978-13979.
- [70] HAN JC, CHEN GJ, QIN LP, MU Y. Metal respiratory pathway-independent Cr isotope fractionation during Cr(VI) reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Environmental Science & Technology Letters, 2017, 4(11): 500-504.
- [71] LEE SY, KIM DH, KIM KW. The enhancement and inhibition of mercury reduction by natural organic matter in the presence of *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Chemosphere, 2018, 194: 515-522.
- [72] de WINDT W, AELTERMAN P, VERSTRAETE W. Bioreductive deposition of palladium (0) nanoparticles on *Shewanella oneidensis* with catalytic activity towards reductive dechlorination of polychlorinated biphenyls[J]. Environmental Microbiology, 2005, 7(3): 314-325.
- [73] KIM MG, KIM DH, KIM T, PARK S, KWON G, KIM MS, SHIN TJ, AHN H, HUR HG. Unusual Li-ion storage through anionic redox processes of bacteria-driven tellurium nanorods[J]. Journal of Materials Chemistry A, 2015, 3(33): 16978-16987.
- [74] MCFARLANE IR, LAZZARI-DEAN JR, EL-NAGGAR MY. Field effect transistors based on semiconductive microbially synthesized chalcogenide nanofibers[J]. Acta Biomaterialia, 2015, 13: 364-373.
- [75] SONG XJ, YANG F, WANG XF, ZHANG KH. *Shewanella oneidensis* MR-1 *in situ* biosynthesis of Ag nanoparticles on TiO₂ nanotubes with enhanced photocatalytic performance[J]. Micro & Nano Letters, 2020, 15(14): 1007-1011.
- [76] SEKAR R, DICHRISTINA TJ. Microbially driven Fenton reaction for degradation of the widespread environmental contaminant 1,4-dioxane[J]. Environmental Science & Technology, 2014, 48(21): 12858-12867.
- [77] WU YM, XIAO X, XU CC, CAO DM, DU DL. Decolorization and detoxification of a sulfonated triphenylmethane dye aniline blue by *Shewanella oneidensis* MR-1 under anaerobic conditions[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2013, 97(16): 7439-7446.

- [78] ASAD S, AMOOZEGAR MA, POURBABAE AA, SARBOLOUKI MN, DASTGHEIB SMM. Decolorization of textile azo dyes by newly isolated halophilic and halotolerant bacteria[J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(11): 2082-2088.
- [79] HONG YG, GU JD. Physiology and biochemistry of reduction of azo compounds by *Shewanella* strains relevant to electron transport chain[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2010, 88(3): 637-643.
- [80] XIE QQ, LU Y, TANG L, ZENG GM, YANG ZH, FAN CZ, WANG JJ, Atashgahi S. 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.
- [81] HARTSHORNE RS, REARDON CL, ROSS D, NUESTER J, CLARKE TA, GATES AJ, MILLS PC, FREDRICKSON JK, ZACHARA JM, SHI L, BELIAEV AS, MARSHALL MJ, TIEN M, BRANTLEY S, BUTT JN, RICHARDSON DJ. Characterization of an electron conduit between bacteria and the extracellular environment[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(52): 22169-22174.
- [82] NTARLAGIANNIS D, ATEKWANA EA, HILL EA, GORBY Y. Microbial nanowires: is the subsurface “hardwired”?[J]. *Geophysical Research Letters*, 2007, 34(17): L17305.
- [83] TREMBLAY PL, ZHANG T. Electrifying microbes for the production of chemicals[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 201.
- [84] ROSS DE, FLYNN JM, BARON DB, GRALNICK JA, BOND DR. Towards electrosynthesis in shewanella: energetics of reversing the mtr pathway for reductive metabolism[J]. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16649.
- [85] LE QAT, KIM HG, KIM YH. 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.
- [86] LA JA, JEON JM, SANG BI, YANG YH, CHO EC. A hierarchically modified graphite cathode with Au nanoislands, cysteamine, and Au nanocolloids for increased electricity-assisted production of isobutanol by engineered *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 2017, 9(50): 43563-43574.
- [87] LOGAN BE, CALL D, CHENG SA, HAMELERS HVM, SLEUTELS THJA, JEREMIASSE AW, ROZENDAL RA. Microbial electrolysis cells for high yield hydrogen gas production from organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(23): 8630-8640.
- [88] LOGAN BE, ROSSI R, RAGAB A, SAIKALY PE. Electroactive microorganisms in bioelectrochemical systems[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2019, 17(5): 307-319.
- [89] WANG W, ZHANG BG, HE Z. Bioelectrochemical deposition of palladium nanoparticles as catalysts by *Shewanella oneidensis* MR-1 towards enhanced hydrogen production in microbial electrolysis cells[J]. *Electrochimica Acta*, 2019, 318: 794-800.
- [90] JIANG SH, KIM MG, KIM IY, HWANG SJ, HUR HG. Biological synthesis of free-standing uniformed goethite nanowires by *Shewanella* sp. HN-41[J]. *Journal of Materials Chemistry A*, 2013, 1(5): 1646-1650.
- [91] LOVLEY DR. E-biologies: Fabrication of sustainable electronics with “green” biological materials[J]. *mBio*, 2017, 8(3): e00695-e00617.
- [92] SUN YL, TANG HY, RIBBE A, DUZHKO V, WOODARD TL, WARD JE, BAI Y, NEVIN KP, NONNENMANN SS, RUSSELL T, EMRICK T, LOVLEY DR. Conductive composite materials fabricated from microbially produced protein nanowires[J]. *Small: Weinheim an Der Bergstrasse, Germany*, 2018, 14(44): e1802624.
- [93] LOVLEY DR. Live wires: direct extracellular electron exchange for bioenergy and the bioremediation of energy-related contamination[J]. *Energy & Environmental Science*, 2011, 4(12): 4896.
- [94] ZHANG YP, LI GQ, WEN J, XU YG, SUN J, NING XN, LU XW, WANG YJ, YANG ZY, YUAN Y. Electrochemical and microbial community responses of electrochemically active biofilms to copper ions in bioelectrochemical systems[J]. *Chemosphere*, 2018, 196: 377-385.
- [95] BRETSCHGER O, OBRAZTSOVA A, STURM CA, CHANG IS, GORBY YA, REED SB, CULLEY DE, REARDON CL, BARUA S, ROMINE MF, ZHOU JZ, BELIAEV AS, BOUHENNI R, SAFFARINI D, MANSFELD F, KIM BH, FREDRICKSON JK, NEALSON KH. Current production and metal oxide

- reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 wild type and mutants[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73(21): 7003-7012.
- [96] OYEWUMI O, SCHREIBER ME. Using column experiments to examine transport of As and other trace elements released from poultry litter: implications for trace element mobility in agricultural watersheds[J]. Environmental Pollution: Barking, Essex: 1987, 2017, 227: 223-233.
- [97] LI WG, CHEN F, ZHONG R, CHEN CH. Biochar-mediated degradation of roxarsone by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Frontiers in Microbiology, 2022, 13: 846228.
- [98] LIU DF, MIN D, CHENG L, ZHANG F, LI DB, XIAO X, SHENG GP, YU HQ. 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.
- [99] CAI PJ, XIAO X, HE YR, LI WW, YU L, LAM MHW, YU HQ. Involvement of c-type cytochrome CymA in the electron transfer of anaerobic nitrobenzene reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Biochemical Engineering Journal, 2012, 68: 227-230.
- [100] YAN FF, HE YR, WU C, CHENG YY, LI WW, YU HQ. Carbon nanotubes alter the electron flow route and enhance nitrobenzene reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Environmental Science & Technology Letters, 2014, 1(1): 128-132.
- [101] ZHOU JC, HONG SH. Establishing efficient bisphenol A degradation by engineering *Shewanella oneidensis*[J]. Industrial & Engineering Chemistry Research, 2021, 60(47): 16864-16873.
- [102] YOU JP, DENG YY, CHEN H, YE JX, ZHANG SH, ZHAO JK. Enhancement of gaseous o-xylene degradation in a microbial fuel cell by adding *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. Chemosphere, 2020, 252: 126571.
- [103] GAO SH, PENG L, LIU YW, ZHOU X, NI BJ, BOND PL, LIANG B, WANG AJ. Bioelectrochemical reduction of an azo dye by a *Shewanella oneidensis* MR-1 formed biocathode[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2016, 115: 250-256.
- [104] LI Q, FENG XL, LU XR, LI TT, HAN X, XIAO X, WU XY, LIU ZY, YANG MF, FENG YJ. 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.
- [105] XIAO X, XU CC, WU YM, CAI PJ, LI WW, DU DL, YU HQ. Biodecolorization of naphthol green B dye by *Shewanella oneidensis* MR-1 under anaerobic conditions[J]. Bioresource Technology, 2012, 110: 86-90.
- [106] ZHAO MY, CUI ZC, FU L, NDAYISENGA F, ZHOU DD. *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.
- [107] ZANG YX, ZHAO T, XIE BZ, FENG Y, YI Y, LIU H. A bio-electrochemical sensor based on suspended *Shewanella oneidensis* MR-1 for the sensitive assessment of water biotoxicity[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2021, 341: 130004.
- [108] WEBSTER DP, TERAVEST MA, DOUD DFR, CHAKRAVORTY A, HOLMES EC, RADENS CM, SUREKA S, GRALNICK JA, ANGENENT LT. An arsenic-specific biosensor with genetically engineered *Shewanella oneidensis* in a bioelectrochemical system[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2014, 62: 320-324.
- [109] QI X, WANG SY, JIANG Y, LIU PP, LI QC, HAO W, HAN JB, ZHOU YX, HUANG X, LIANG P. Artificial electrochemically active biofilm for improved sensing performance and quickly devising of water quality early warning biosensors[J]. Water Research, 2021, 198: 117164.
- [110] YANG Y, YU YY, WANG YZ, ZHANG CL, WANG JX, FANG Z, LV HY, ZHONG JJ, YONG YC. Amplification of electrochemical signal by a whole-cell redox reactivation module for ultrasensitive detection of pyocyanin[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2017, 98: 338-344.
- [111] YU YY, WANG JX, SI RW, YANG Y, ZHANG CL, YONG YC. Sensitive amperometric detection of riboflavin with a whole-cell electrochemical sensor[J]. Analytica Chimica Acta, 2017, 985: 148-154.

(本文责编 郝丽芳)