

# 海底热液区希瓦氏菌(*Shewanella* sp.) FeAMO 介导的铜生物还原与矿化产物特性

徐菲<sup>1,2#</sup>, 官亚东<sup>1,3,4#</sup>, 魏士平<sup>3</sup>, 曾湘<sup>1\*</sup>

1 自然资源部第三海洋研究所, 海洋生物遗传资源重点实验室, 福建 厦门

2 北京师范大学 环境学院, 区域环境安全全国重点实验室, 北京

3 中国地质大学(北京) 海洋学院, 北京

4 华北有色工程勘察院有限公司, 河北 石家庄

徐菲, 官亚东, 魏士平, 曾湘. 海底热液区希瓦氏菌(*Shewanella* sp.) FeAMO 介导的铜生物还原与矿化产物特性[J]. 微生物学报, 2026, 66(6): 3041-3051.

XU Fei, GONG Yadong, WEI Shiping, ZENG Xiang. Product characteristics of copper bioreduction and mineralization mediated by *Shewanella* sp. FeAMO from a deep-sea hydrothermal field[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(6): 3041-3051.

**摘要:**【目的】从海底热液区沉积物中筛选高效铜耐受和铜还原菌株, 并系统解析其介导的 Cu(II) 生物还原过程及矿化产物特性, 以填补海底热液环境微生物参与铜循环研究的空白。【方法】通过厌氧富集培养获得希瓦氏菌(*Shewanella* sp.) FeAMO, 以乳酸钠为电子供体、Cu(II)为末端电子受体, 结合电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)、扫描电镜-能谱(scanning electron microscopy-energy dispersive spectroscopy, SEM-EDS)、X 射线衍射(X-ray diffraction, XRD)及 X 射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)等技术分析菌株生长、铜还原的动力学特征及产物理化性质。【结果】菌株 FeAMO 对 400  $\mu\text{mol/L}$  Cu(II)具有高耐受性, 在厌氧条件下 72 h 内对 Cu(II)的去除率达 96.8%。矿化产物为粒径 5–10  $\mu\text{m}$  的球形微团, 体相以结晶硫化亚铜( $\text{Cu}_2\text{S}$ )为主, 表面嵌合金属铜( $\text{Cu}^0$ )的颗粒, 形成核壳式异质结构。【结论】*Shewanella* sp. FeAMO 可耐受高浓度铜离子, 通过铜离子转运蛋白外排铜离子, 并耦合铜还原与硫酸盐还原生成  $\text{Cu}_2\text{S-Cu}^0$  复合矿物, 以维持自身生长。该研究不仅阐明了热液环境微生物驱动铜硫元素循环的机制, 也为重金属污染生物固定与资源化回收提供了潜在策略。

**关键词:** *Shewanella* sp. FeAMO; Cu(II)生物还原; 硫化亚铜( $\text{Cu}_2\text{S}$ ); 金属铜( $\text{Cu}^0$ ); 生物矿化

资助项目: 国家重点研发项目(2021YFF0501304); 国家自然科学基金(42576120)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2021YFF0501304) and the National Natural Science Foundation of China (42576120).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author. E-mail: zengxiang@tio.org.cn

Received: 2026-03-02; Accepted: 2026-03-31; Published online: 2026-04-17

# Product characteristics of copper bioreduction and mineralization mediated by *Shewanella* sp. FeAMO from a deep-sea hydrothermal field

XU Fei<sup>1,2#</sup>, GONG Yadong<sup>1,3,4#</sup>, WEI Shiping<sup>3</sup>, ZENG Xiang<sup>1\*</sup>

1 Key Laboratory of Marine Genetic Resources, Third Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Xiamen, Fujian, China

2 National Key Laboratory of Regional Environment Safety, School of Environment, Beijing Normal University, Beijing, China

3 School of Marine Sciences, China University of Geosciences (Beijing), Beijing, China

4 North China Engineering Investigation Institute Co., Ltd., Shijiazhuang, Hebei, China

**Abstract:** [Objectives] To screen copper-resistant and copper-reducing bacteria from deep-sea hydrothermal sediments and systematically analyze Cu(II) bioreduction process mediated by the bacteria, and mineralization product characteristics, thus filling the knowledge gap regarding microbial participation in copper cycling in deep-sea hydrothermal environments. [Methods] A strain, *Shewanella* sp. FeAMO, was obtained through anaerobic enrichment culture. With sodium lactate as the electron donor and Cu(II) as the terminal electron acceptor, inductively coupled plasma mass spectrometry, scanning electron microscopy-energy dispersive spectroscopy, X-ray diffraction, and X-ray photoelectron spectroscopy were employed to analyze bacterial growth, copper reduction kinetics, and physicochemical properties of the products. [Results] Strain FeAMO exhibited high tolerance to 400  $\mu\text{mol/L}$  Cu(II), achieving a Cu(II) removal rate of 96.8% within 72 h. The mineralization products were spherical microspheres with diameters ranging from 5 to 10  $\mu\text{m}$ . The bulk phase was predominant crystalline cuprous sulfide ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ), while the surface was stably enriched with metallic copper ( $\text{Cu}^0$ ) nanoparticles, forming a core-shell heterostructure. [Conclusion] *Shewanella* sp. FeAMO can tolerate Cu(II) with copper transporters and generate  $\text{Cu}_2\text{S-Cu}^0$  composite minerals by coupling copper reduction and sulfur reduction pathways. This study not only elucidates the mechanism of microbial-driven copper and sulfur cycling in hydrothermal environments but also provides a potential strategy for heavy metal immobilization and resource recovery.

**Keywords:** *Shewanella* sp. FeAMO; Cu(II) bioreduction; copper sulfide ( $\text{Cu}_2\text{S}$ ); elemental copper ( $\text{Cu}^0$ ); biomineralization

铜元素含量在地球上排第 26 位，占地壳总量的 0.006 8% 左右<sup>[1]</sup>，其主要赋存状态为硫化铜矿、氧化铜矿和含铜沉积物<sup>[2]</sup>。在采矿冶炼、工业废水排放及农药施用等工业与农业活动中存在大量的铜污染<sup>[3]</sup>。高浓度 Cu(II)可改变细胞

膜通透性<sup>[4]</sup>、干扰酶活性<sup>[5]</sup>，并诱导活性氧积累<sup>[6]</sup>，进而影响细胞代谢稳态和生理功能，对生态环境构成重大威胁。

微生物介导的金属氧化还原过程在生物冶金<sup>[7]</sup>、环境修复<sup>[8]</sup>、污水处理<sup>[9]</sup>及资源回收<sup>[10]</sup>等

领域展现出巨大潜力。尽管微生物对铁、锰等金属的还原过程与机制已有较为深入的研究,但对于微生物介导的Cu(II)还原过程及其生物矿化产物和调控机制的认知仍相对有限。近年来,部分研究揭示了微生物还原铜的路径。Kimber 等<sup>[11]</sup>发现,硫还原地杆菌(*Geobacter sulfurreducens*)还原Cu(II)后在细胞表面生物矿化形成粒径均一的硫化亚铜(Cu<sub>2</sub>S)纳米颗粒。Gracioso 等<sup>[12]</sup>从铜矿中分离获得芽孢杆菌(*Bacillus* sp.) 105,该菌可将有毒的铜离子在胞内转化为稳定的单原子铜(Cu<sup>0</sup>),并推测了潜在的铜转运分子机制。由发酵地线菌(*Geothrix fermentans*)、限食固氮螺形菌(*Azospira restricta*)和寡养纤维单胞菌(*Cellulomonas oligotrophica*)为主的铜矿富集培养菌群也被证实能够还原Cu(II)并形成单质铜纳米颗粒<sup>[13]</sup>。希瓦氏菌属(*Shewanella* sp.)具有显著的代谢多样性,可利用Fe(III)、Mn(III, IV)、U(VI)、Cr(VI)、Pu(IV)及Pd(II)等多种金属作为末端电子受体,在多种关键金属的地球化学循环中发挥重要作用<sup>[14-15]</sup>。奥奈达湖希瓦氏菌(*Shewanella oneidensis*)被报道具有还原Cu(II)合成单质铜纳米颗粒和Fe-S颗粒的能力,但该过程不依赖于Mtr铁还原酶系<sup>[16-17]</sup>。Luong 等<sup>[18]</sup>利用*Shewanella* sp. HN-41在生物电化学装置中将铜离子还原为铜氢氧氯盐矿物[Cu<sub>2</sub>Cl(OH)<sub>3</sub>]等微米级球形颗粒。

海底热液系统富含金属硫化物,是海洋中重要的金属富集环境<sup>[19]</sup>。在地壳岩石中,铜含量随岩性差异较大,通常在2-105 mg/kg之间(平均63 mg/kg),其中碳酸盐岩中铜含量较低,而页岩等沉积岩中则相对富集<sup>[20]</sup>。相比之下,海底热液沉积物中的铜含量显著升高,可达141.15-551.58 mg/kg<sup>[21]</sup>,而热液硫化物中的铜含量甚至高达9.6-228.0 g/kg<sup>[22]</sup>。Yu 等<sup>[23]</sup>分离了多株来源于海底热液区的属于γ-变形菌纲的高耐铜微生物,这些微生物通过分泌胞外聚合物吸附铜,并利用铜离子转运的相关蛋

白外排铜。然而,海底热液区微生物参与金属铜还原过程的研究仍较为缺乏。基于此,本研究以从西北印度洋热液沉积物中分离的铁还原菌*Shewanella* sp. FeAMO为研究对象,结合电感耦合等离子体质谱(inductively coupled plasma mass spectrometry, ICP-MS)、扫描电镜-能谱(scanning electron microscopy-energy dispersive spectroscopy, SEM-EDS)、X射线衍射(X-ray diffraction, XRD)及X射线光电子能谱(X-ray photoelectron spectroscopy, XPS)等多种表征手段,分析该菌株以Cu(II)为末端电子受体形成Cu-S矿物的生物还原过程,以及矿物的晶体结构、元素组成、化学价态和形貌结构等特性,并初步推测FeAMO矿化的产物形成机制。本研究有助于深化对希瓦氏菌属参与深海热液区铜生物地球化学循环的认识,以期为基于微生物的铜污染修复与资源回收提供菌种资源和科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 微生物分离与鉴定

实验所用菌株FeAMO(MCCC M27737)分离自西北印度洋卧蚕热液区(6°22'S, 60°32'E)2995 m深处的热液沉积物样品。该样品由“向阳红09”船实施的中国大洋38航次中“蛟龙”号利用pushcore采样器于2017年3月14日采集。该菌株分离自铁还原FRPFO培养基<sup>[24]</sup>,为兼性厌氧、具铁还原能力的革兰氏阴性细菌,目前已保藏于中国海洋微生物保藏管理中心(MCCC, <https://www.mccc.org.cn/>)。

### 1.2 培养与生长测定

所有铜还原微生物培养实验均在严格定义的CuRL液体厌氧培养基中进行,其基础组分(g/L): NaCl 25.0, MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 4.2, KCl 0.5, NH<sub>4</sub>Cl 0.25, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0.7, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0.14, MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 3.4, PIPES 6.05。以40 mmol/L乳

酸钠作为碳源与电子供体,并添加刃天青(1 g/L)作为厌氧指示剂。将 20 mL 培养基分装于 50 mL 厌氧血清瓶中,用 N<sub>2</sub>:CO<sub>2</sub> (80:20, 体积比)混合气体吹扫 20 min 以去除氧气,随后用丁基橡胶塞密封,并于 121 °C 灭菌 20 min。灭菌冷却后,向每瓶培养基中补加过滤除菌的下列组分: NaHCO<sub>3</sub> 2.5 g/L, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O 0.1 g/L (400 μmol/L) (作为末端电子受体), L-半胱氨酸 0.3 g/L, 以及微量元素溶液 10 mL/L 和维生素溶液 1 mL/L。

使用处于对数生长期的预培养物进行接种,使初始 OD<sub>600</sub> 为 0.1。接种后,所有培养物置于 28 °C 恒温条件下静置培养 7 d。为监测动态过程,分别于培养后的第 1–7 天,使用无菌注射器取样 1 mL,用于后续菌体生长与产物分析。

采用 LIVE/DEAD<sup>®</sup> BacLight<sup>™</sup> 细菌活力试剂盒(ThermoFisher Scientific 公司)进行活菌计数。取 9 μL 菌液样品,与 1 μL 按说明书配制的染色工作液充分混合,于室温避光孵育 20–30 min。孵育结束后,取 10 μL 染色菌液于荧光显微镜(Nikon 公司)下,使用血细胞计数板进行直接镜检计数。所有生长与计数实验均设 3 个独立的生物学重复。

### 1.3 铜浓度定量分析

取不同时间点培养液,10 000 r/min 离心 5 min 去除菌体。上清液经 0.22 μm 滤膜过滤后,采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS, ThermoFisher Scientific 公司)测定溶解态总铜浓度。仪器工作条件:RF 功率 1 400 W,雾化气流量 1.08 L/min,碰撞反应池模式(kinetic energy discrimination, KED),以 Rh 作为内标进行定量校正。每个样品测定 3 次。

### 1.4 菌体形态与表面元素分析

为观察菌体在 Cu(II)胁迫下的形态变化及胞外矿化产物,分别对培养至第 2 天与第 7 天的产物透析 3 次后收集,真空冷冻干燥,取少量

溶解于无水乙醇中。将上述样品滴至硅片,临界点干燥后喷镀铂金,利用 SEM 观察矿物形态及元素分布,观察电压为 5–15 kV。

### 1.5 产物的晶型与价态表征

为明确生物合成产物的矿物相与化学状态,分别进行 XRD 和 XPS 分析。与 SEM 制样相类似,对不同培养时间的产物透析 3 次后,真空冷冻干燥。XRD 分析时,将真空冷冻干燥后的样品采用 X 射线衍射仪(Rigaku 公司)进行分析,采用单色 Cu 靶 Kα 辐射,所加电流 80 mA,电压 40 kV,采集范围 3°–70°,精度 1.2 (°)/min,时间为 6 s。XPS 分析时,干燥样品采用 X 射线光电子能谱仪(Kratos 公司)进行分析,激发源为单色化 Al Kα (1 486.6 eV),结合能以 C 1s (284.8 eV)校准。XPS 作为一种表面敏感的表面技术,其信息深度约为 3–10 nm。对 Cu 2p、O 1s、C 1s 等核心能级进行高分辨扫描,并通过分峰拟合分析铜的化学价态。

### 1.6 基因组测序和注释

菌株 FeAMO 全基因组测序由上海美吉生物医药科技有限公司完成,采用 Illumina NovaSeq 6000 平台开展双端 150 bp 测序(测序深度≥100×)。采用 Fastp (v0.20.0)和 SOPAdenovo (v2.04)软件进行序列质控和测序数据组装,使用 QUAST (v5.0.2)评估组装质量。基因组注释采用 Prokka (v1.13)自动化流程,使用 Prodigal (v2.6)进行编码序列(coding sequence, CDS)预测,通过 BLASTp (v2.7)将推断出的蛋白质序列与 UniProtKB/Swiss-Prot 细菌参考数据库进行比对,预测的目标蛋白质序列进一步在 KEGG 数据库进行 BLASTp 比对以获取代谢通路信息。基因组序列存储于 GenBank 数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) [序列号 JBSJYJ010000002 (Chromosome), JBSJYJ010000001 (Plasmid A)]<sup>[25]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 *Shewanella* sp. FeAMO 的 Cu(II) 还原过程

以乳酸钠为电子供体和碳源, 采用 250 mg/L (400  $\mu\text{mol/L}$ )  $\text{CuSO}_4$  作为唯一末端电子受体的培养体系中, FeAMO 展现出显著的 Cu(II) 还原能力(图 1)。培养 2 d 后, 培养基颜色由微蓝色逐渐变为橙红色, 至第 7 天时变为深棕黑色; 而无菌对照组在相同条件下未见颜色变化(图 1A), 说明颜色转变与细菌介导的铜还原及产物沉淀密切相关。利用 ICP-MS 对上清液中溶解态 Cu 离子浓度进行监测, 结果显示, 在培养前 3 d 内, 溶解态铜浓度由初始的 250 mg/L (400  $\mu\text{mol/L}$ ) 迅速降至 8 mg/L (32  $\mu\text{mol/L}$ ), 去除率达 96.8% (图 1B), 表明菌株具有高效还原 Cu(II) 的能力。溶解态 Cu(II) 浓度显著降低后, 菌株 FeAMO 的细胞数于第 4 天达到峰值 ( $1.03 \times 10^7$  cells/mL), 随后进入稳定期(图 1B)。

### 2.2 *Shewanella* sp. FeAMO 铜还原产物的形貌变化与元素组成

采用 SEM-EDS 对培养第 2 天与第 7 天的菌

体及其周围沉淀进行了形貌与元素分析(图 2)。SEM 图像显示(图 2A、2D), 菌体胞外区域附着有大量粒径不均、表面光滑的球形颗粒。粒径统计表明(图 2B、2E), 这些颗粒的直径主要分布在 5–10  $\mu\text{m}$  之间。进一步的 EDS 面扫描分析结果(图 2C、2F)显示, 铜(Cu)与硫(S)元素的特征 X 射线信号在颗粒区域高度重叠且连续分布, 初步表明其为铜-硫化物。为进行准确定量, 对多个代表性颗粒进行了点分析(定量标准: Cu 标样为纯 Cu, S 标样为  $\text{FeS}_2$ )。结果显示, 培养第 2 天产物的 Cu、S 含量(以质量百分比计)分别在 45.23%–74.88% 与 12.06%–25.12% 之间; 至第 7 天, 其含量范围趋于稳定, 分别为 46.71%–56.48% (Cu) 与 17.16%–22.81% (S)。

### 2.3 *Shewanella* sp. FeAMO 铜还原产物的矿物相分析

采用 XRD 对不同反应阶段产物的体相晶体结构进行了分析(图 3)。与  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  的 XRD 谱图(图 3A)相比, 还原 2 d 后的产物谱图(图 3B)在  $27.4^\circ$ 、 $31.7^\circ$ 、 $45.5^\circ$  和  $53.9^\circ$  处的衍射峰与  $\text{Cu}_2\text{S}$  (PDF#84-1770) 的 (111)、(200)、(220) 及 (311) 晶面相符; 同时, 在  $24.71^\circ$ 、 $26.59^\circ$ 、

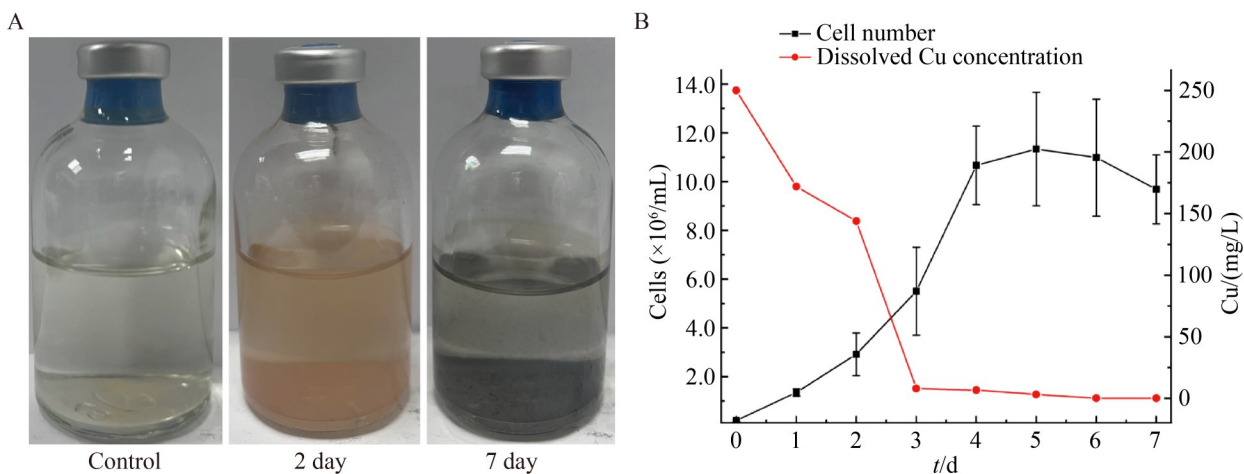


图1 菌株FeAMO在250 mg/L Cu(II)胁迫下的生长与还原过程

Figure 1 Growth and Cu(II) reduction of strain FeAMO under 250 mg/L Cu(II) stress. A: Time-dependent changes in medium coloration; B: Growth curves of the strain (cell abundance) and temporal variations in dissolved Cu(II) concentration in the medium.

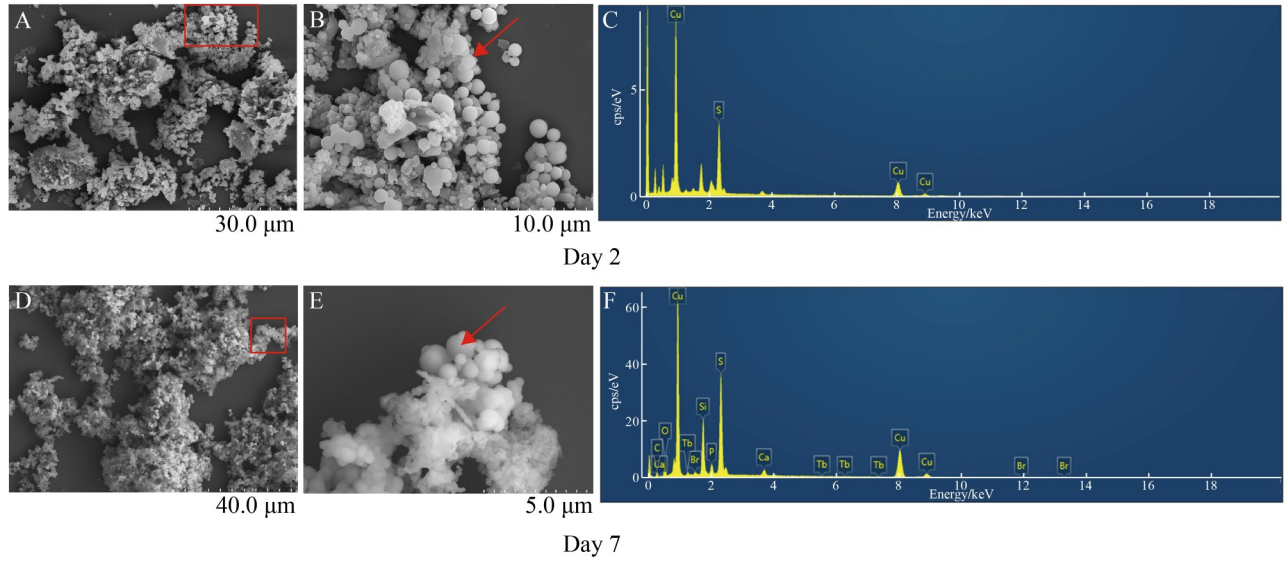


图2 菌株FeAMO生物合成产物的形貌与元素组成随培养时间的演化

Figure 2 Temporal evolution of morphology and elemental composition of the biogenic products synthesized by strain FeAMO. A, B: SEM images of the products collected after 2 days of incubation; C: Corresponding EDS elemental mapping overlay; D, E: SEM images of the products collected after 7 days of incubation; F: Corresponding EDS elemental mapping overlay.

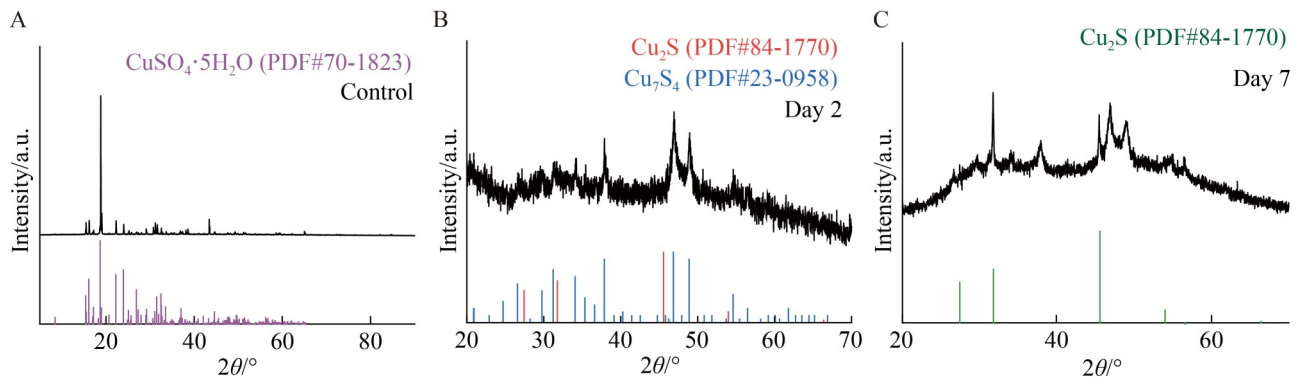


图3 菌株FeAMO生物还原过程中产物的晶相演化

Figure 3 Evolution of crystalline phases of the biogenic products during Cu(II) reduction by strain FeAMO. A: XRD pattern of the initial precursor  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ; B: XRD pattern of the products collected after 2 days of incubation; C: XRD pattern of the products collected after 7 days of incubation.

29.76°、31.20°、34.06°、35.35°、36.62°、46.84°、48.90°及54.62°等处还观察到一系列衍射峰，与  $\text{Cu}_7\text{S}_4$  (PDF#23-0958)的特征峰基本吻合。上述结果表明，反应2 d后的产物为  $\text{Cu}_2\text{S}$  与  $\text{Cu}_7\text{S}_4$ 的混合相。

当还原时间延长至7 d时，产物的XRD谱图(图3C)中仅保留  $\text{Cu}_2\text{S}$  对应的特征衍射峰(27.4°、31.7°、45.5°、53.9°)，而  $\text{Cu}_7\text{S}_4$ 的衍射峰完全消失。这表明随着反应时间的增加，中间相  $\text{Cu}_7\text{S}_4$ 被完全消耗，最终产物的主要体相晶

体结构为纯相  $\text{Cu}_2\text{S}$ 。

## 2.4 *Shewanella* sp. FeAMO 铜还原产物的元素价态分析

采用 XPS 分析了还原产物表面的铜的化学价态(图 4)。通过对 Cu 2p 谱图进行分峰拟合, 定量分析了不同价态铜的相对含量。对于培养 2 d 的产物表面(图 4B), 其 Cu 2p 谱图在结合能为 931.9 eV 和 951.8 eV 处出现特征峰, 分别归属为金属铜( $\text{Cu}^0$ )的  $2p_{3/2}$  和  $2p_{1/2}$  能级; 同时在 932.9 eV 和 952.7 eV 处观察到归属于一价铜 [Cu(I)] 的对应信号。拟合计算表明,  $\text{Cu}^0$  与 Cu(I) 的表观原子含量比例为 76.27%:23.73%。为确证这一价态分布, 进一步分析了样品的 Cu LMM 俄歇谱(图 4E)。该图谱在动能约 918.3 eV 和

914.0 eV 处分别出现  $\text{Cu}^0$  和 Cu(I) 的特征信号, 进一步支持产物表面中铜以零价与一价共存。培养 7 d 后的产物表面表现出相似的价态特征(图 4C、4F)。其 Cu 2p 谱图中,  $\text{Cu}^0$  (结合能: 932.3、952.1 eV) 与 Cu(I) (结合能: 933.1、953.2 eV) 的信号清晰可见, 两者比例约为 76.77%:23.23%。其对应的 Cu LMM 俄歇谱(图 4F)中  $\text{Cu}^0$  的特征峰位(918.6 eV)与 2 d 样品表面(918.3 eV)基本一致, 而 Cu(I) 的峰位则从 914.0 eV 略微移至 917.5 eV, 这可能反映了局部化学环境的细微变化。更重要的是, 对 LMM 俄歇谱进行分峰面积积分发现, 与第 2 天样品相比, 第 7 天样品其矿物表面中  $\text{Cu}^0$  组分的相对比例略有下降, 而 Cu(I) 的比例相应增加。

综合 Cu 2p 与 Cu LMM 谱的分析结果可知,

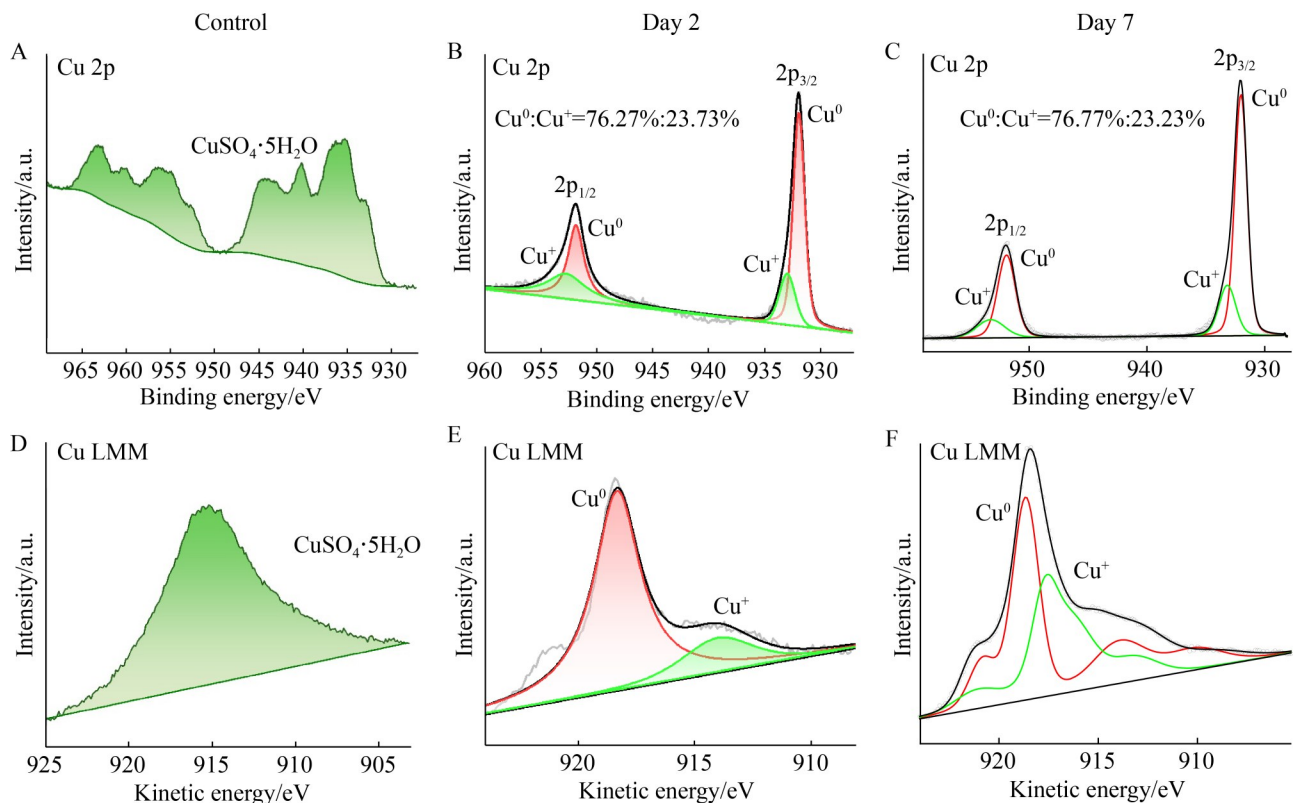


图4 菌株FeAMO生物还原产物表面(3–10 nm)铜的化学价态分析

Figure 4 Chemical state analysis of surface Cu (3–10 nm) in the biogenic products produced by strain FeAMO. A–C: High-resolution Cu 2p spectra of the precursor  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  and the products collected after 2 and 7 days of incubation, respectively; D–F: Corresponding Cu LMM Auger spectra of the same samples.

在培养过程中, 由菌株 FeAMO 还原  $\text{CuSO}_4$  形成的固体沉淀表明始终以  $\text{Cu}^0$  与  $\text{Cu(I)}$  共存为特征且以金属态为主导, 与一价态铜稳定共存。

## 2.5 *Shewanella* sp. FeAMO 基因组功能注释

基因组注释结果显示[已上传 ScienceDB 数据库(<https://www.scidb.cn/c/j00231>), CSTR 编号为 31253.11.sciencedb.j00231.00057], FeAMO 基因组中携带多个与重金属抗性、铁还原及硫酸盐代谢相关的功能基因。其中, 耐铜相关基因包括 *copA*、*copR* 及 *cus* 操纵子(*cusA*、*cusB*、*cusR*、*cusS*); 耐钴/锌/镉基因包括 *cusA*、*cusB*、*cusC*、*cusD*; 铁还原相关基因主要涉及 *mtr* 操纵子(*mtrA*、*mtrB*、*mtrC*、*mtrD*、*mtrE*、*mtrF*、*mtrH*)、*omcA*、*cymA* 及 *doxD*; 此外, 还注释到同化硫酸盐还原相关基因 *cysC*、*cysD*、*cysN*、*cysQ*、*cysH*、*cysJ*、*cysI* 及 *sirA*。

## 3 讨论

$\text{Cu(II)}$  作为高毒性重金属离子, 在较低浓度时即可对多数微生物产生抑制与氧化应激效应<sup>[26]</sup>。本研究表明, 菌株 FeAMO 对高浓度  $\text{Cu(II)}$  表现出显著的耐受性与还原能力。该菌株能够在初始  $\text{Cu(II)}$  浓度高达  $400 \mu\text{mol/L}$  的条件下生长, 其耐受阈值高于已报道的 *G. sulfurreducens* ( $<100 \mu\text{mol/L}$ )<sup>[11]</sup> 和多种希瓦氏菌株<sup>[27]</sup> (*S. oneidensis* MR-1 以及 *Shewanella* sp. MB4、FB18、FS8 等)。其中菌株 FB18 和 FS8 在  $\text{Cu(II)}$  浓度为  $150 \mu\text{mol/L}$  时即停止生长 ( $OD_{600} \approx 0$ ), 菌株 MR-1 和 MB4 在  $\text{Cu(II)}$  浓度为  $400 \mu\text{mol/L}$  条件下  $OD_{600}$  降至 0<sup>[27]</sup>。这表明菌株 FeAMO 可能通过高效的胞外排铜机制(如 *Cus* 系统)<sup>[28]</sup>、强大的细胞膜修复能力<sup>[29]</sup> 或抗氧化防御系统<sup>[30]</sup>, 使其能够在高毒性环境中生存。

从还原过程来看, 菌株 FeAMO 的生长与  $\text{Cu(II)}$  还原趋势高度同步(图 1B), 表明该还原过程是与能量代谢相耦联的活跃生理活动, 而非

被动吸附。菌株 FeAMO 在  $400 \mu\text{mol/L}$   $\text{Cu(II)}$  条件下 72 h 内去除率达到 96.8%, 其还原效率显著高于多数已报道的微生物金属生物还原过程。例如, *G. sulfurreducens* 在  $5 \mu\text{mol/L}$  与  $50 \mu\text{mol/L}$   $\text{Cu(II)}$  条件下最大去除率分别为 80% 和 63%<sup>[11]</sup>; 即使是还原能力较强的模式菌株 *S. oneidensis* MR-1, 在  $50 \mu\text{mol/L}$   $\text{Cu(II)}$  条件下也需要 24 h 和 96 h 才分别达到 91% 和 100% 的去除率<sup>[16]</sup>。XRD 与 SEM-EDS 结果表明, 菌株 FeAMO 的铜还原矿物由  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  经  $\text{Cu}_2\text{S}$  与  $\text{Cu}_7\text{S}_4$  的混合相转化为结晶度良好的单一  $\text{Cu}_2\text{S}$  相(辉铜矿)(图 2-3)。然而, 产物表层( $\sim 3\text{-}10 \text{ nm}$ )的 XPS 结果显示, 在主要体相矿物  $\text{Cu}_2\text{S}$  表层存在明显的金属铜( $\text{Cu}^0$ )信号和一价铜 [ $\text{Cu(I)}$ ]信号(图 4)。推测产物是一种“核壳”或“镶嵌”式复合结构, 其体相核心为结晶  $\text{Cu}_2\text{S}$ , 而表面镶嵌着纳米尺度金属铜( $\text{Cu}^0$ )颗粒。该结构与已有结果类似, 部分微生物可以生成富铜中间相  $\text{Cu}_7\text{S}_4$ <sup>[31]</sup>, 而希瓦氏菌(*Shewanella* sp.)可生成铜纳米颗粒以及  $\text{Cu-S}$  固相沉积物<sup>[16-17]</sup>。此外, 磁鞭毛菌 *Magnetospirillum magneticum* 在特定培养条件下可合成  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  或  $\text{Fe}_3\text{S}_4$  核被  $\text{Sm}_2\text{O}_3$  壳包裹的核壳纳米颗粒<sup>[32]</sup>, 说明微生物矿化过程中能够形成不同矿物相共存的复合结构。

另外, 菌株 FeAMO 介导的  $\text{Cu(II)}$  生物矿化过程可能存在铜还原过程和硫还原过程(图 5)。基于对菌株 FeAMO 的基因组(GenBank 登录号为 JBSJYJ010000002)分析(CSTR 编号为 31253.11.sciencedb.j00231.00057), 结果发现该菌株编码了 CopA P-type ATPase 及 RND 外排泵家族复合物, 包括铜外排泵操作子 *CusCBA* 和 *CusRS*, 以及钴-锌-镉( $\text{Co-Zn-Cd}$ )外排泵操纵子 *CzcCBA* 及其调控因子 *CzcD*, 可将过量的铜离子主动排出至胞外或周质空间。同时, 内膜醌池(quinol pool)中的电子经由内膜醌氧化还原酶(quinone oxidoreductase)传递至周质蛋白 MtrA, 并进一步通过 Mtr 途径(MtrA-MtrB-MtrC/OmcA 复合物)跨越外膜传递至细胞表面。结合文献所

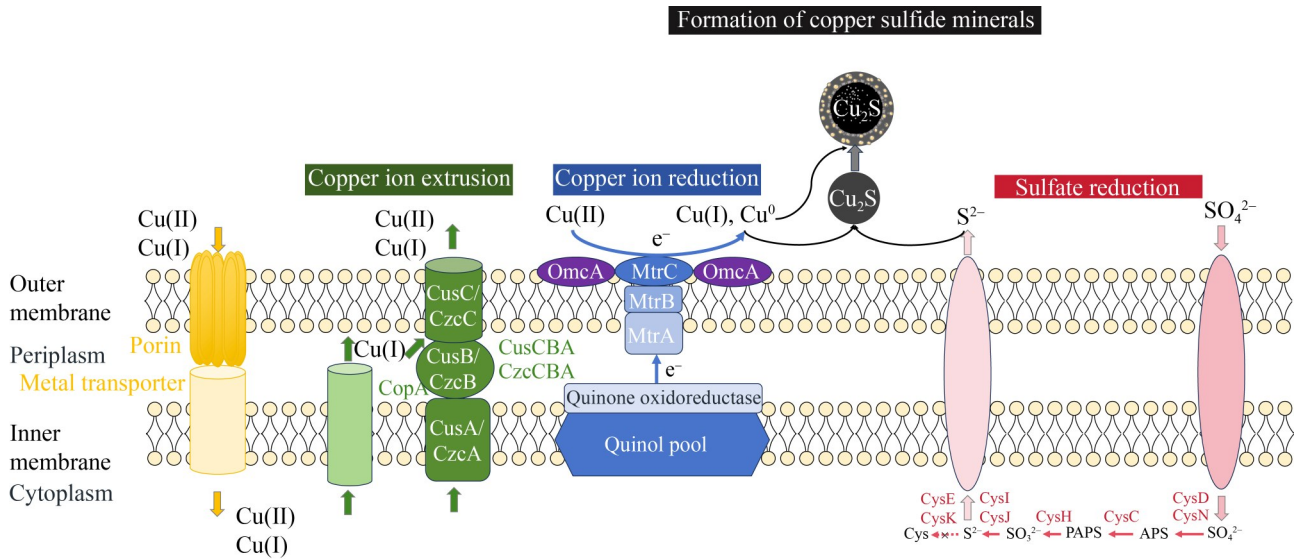


图5 菌株FeAMO介导的铜硫代谢与生物矿化过程示意图

Figure 5 Schematic diagram of copper/sulfur metabolism and biomineralization mediated by strain FeAMO.

示希瓦氏菌外膜电子传递系统(如 MtrCAB 体系)在金属还原中的作用<sup>[33-35]</sup>, 推测在胞外, Cu(II)接受电子被还原为 Cu(I)或 Cu<sup>0</sup>。另一方面, 在菌株 FeAMO 的基因组中未发现编码异化硫酸盐还原途径, 但注释到编码完整同化硫酸盐还原途径(*cysCDNQHJ* 基因簇和 *sir* 基因), 具备将 SO<sub>4</sub><sup>2-</sup>还原为 H<sub>2</sub>S 的遗传基础, 其缺乏 *cysK* 和 *cysE* 基因, 减少了胞内半胱氨酸合成, 大部分 S<sup>2-</sup>被转运或扩散作用至胞外, 极易与溶液中的 Cu(I)反应, 这为形成 Cu-S 矿物提供了直接的硫源。菌株 FeAMO 来源于热液区沉积物, 该环境富含金属与硫化物, 该过程可能模拟了深海热液系统中 Cu-S 矿物沉积的微生物学路径, 具有潜在地质指示意义<sup>[36]</sup>。

## 4 结论

本研究表明, 菌株 FeAMO 能够耐受高浓度铜离子, 并以 Cu(II)作为唯一末端电子受体实现高效生物还原。在乳酸钠作为电子供体和碳源的情况下, 该菌株可在 72 h 内去除 96.8% 的 Cu(II)并生成固相沉积物, 显示出较强的铜胁迫适应能力与金属转化效率。多尺度表征结果显

示, 还原产物呈球形微团状沉积, 是一种以结晶 Cu<sub>2</sub>S 为体相、表面镶嵌金属铜(Cu<sup>0</sup>)颗粒的“核壳”复合结构。该过程对于解析微生物参与海底热液区的铜/硫元素循环, 为揭示金属硫化矿物的微生物介导沉积机制提供了新的研究线索, 同时对铜污染环境的原位固化、废铜资源生物回收及生物冶金构建具有潜在应用价值。

## 作者贡献声明

徐菲: 数据分析、结果可视化、论文撰写与修订; 宫亚东: 方法设计、数据分析、结果可视化、论文修改; 魏世平: 提供资源、课题指导; 曾湘: 研究概念生成、方法设计、论文撰写与修订、课题监管与指导。

## 作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

## 参考文献

- [1] Williamson MA. Copper[M]//Geochemistry. Dordrecht: Springer, 1998: 101-102.
- [2] Ohta A, Kubota R. Copper speciation in a collection of geochemical reference materials using sequential

- extraction and evaluation of the validity using XANES spectroscopy[J]. *Geostandards and Geoanalytical Research*, 2016, 40(1): 117-134.
- [3] Zhen YK, Ge L, Chen QQ, Xu J, Duan ZY, Looor JJ, Wang MZ. Latent benefits and toxicity risks transmission chain of high dietary copper along the livestock-environment-plant-human health axis and microbial homeostasis: a review[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2022, 70(23): 6943-6962.
- [4] Selvaraj S, Saha KC, Chakraborty A, Bhattacharyya SN, Saha A. Toxicity of free and various aminocarboxylic ligands sequestered copper(II) ions to *Escherichia coli*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2009, 166(2/3): 1403-1409.
- [5] Sailer J, Nagel J, Akdogan B, Jauch AT, Engler J, Knolle PA, Zischka H. Deadly excess copper[J]. *Redox Biology*, 2024, 75: 103256.
- [6] Letelier ME, Lepe AM, Faúndez M, Salazar J, Marín R, Aracena P, Speisky H. Possible mechanisms underlying copper-induced damage in biological membranes leading to cellular toxicity[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2005, 151(2): 71-82.
- [7] Tonietti L, Esposito M, Cascone M, Barosa B, Fiscale S, Muscari Tomajoli MT, Scaffi T, Santomartino R, Covone G, Cordone A, Rotundi A, Giovannelli D. Unveiling the bioleaching versatility of *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. *Microorganisms*, 2024, 12(12): 2407.
- [8] Ding CL, Ding ZH, Liu QC, Liu WZ, Chai LY. Advances in mechanism for the microbial transformation of heavy metals: implications for bioremediation strategies[J]. *Chemical Communications*, 2024, 60(85): 12315-12332.
- [9] Xia Q, Qiu QZ, Cheng J, Huang WL, Yi XS, Yang F, Huang WW. Microbially mediated iron redox processes for carbon and nitrogen removal from wastewater: recent advances[J]. *Bioresource Technology*, 2025, 419: 132041.
- [10] Dash J, Ojha R, Pradhan D. Progress in bioleaching and its mechanism: a short review[J]. *Discover Environment*, 2025, 3: 238.
- [11] Kimber RL, Bagshaw H, Smith K, Buchanan DM, Coker VS, Cavet JS, Lloyd JR. Biomineralization of Cu<sub>2</sub>S nanoparticles by *Geobacter sulfurreducens*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2020, 86(18): e00967-20.
- [12] Gracioso LH, Peña-Bahamonde J, Karolski B, Borrego BB, Perpetuo EA, do Nascimento CAO, Hashiguchi H, Juliano MA, Robles Hernandez FC, Rodrigues DF. Copper mining bacteria: converting toxic copper ions into a stable single-atom copper[J]. *Science Advances*, 2021, 7(17): eabd9210.
- [13] Kimber RL, Elizondo G, Jedyka K, Boothman C, Cai RS, Bagshaw H, Haigh SJ, Coker VS, Lloyd JR. Copper bioreduction and nanoparticle synthesis by an enrichment culture from a former copper mine[J]. *Environmental Microbiology*, 2023, 25(12): 3139-3150.
- [14] Hau HH, Gralnick JA. Ecology and biotechnology of the genus *Shewanella*[J]. *Annual Review of Microbiology*, 2007, 61: 237-258.
- [15] Rajput VD, Minkina T, Kimber RL, Singh VK, Shende S, Behal A, Sushkova S, Mandzhieva S, Lloyd JR. Insights into the biosynthesis of nanoparticles by the genus *Shewanella*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(22): e01390-21.
- [16] Kimber RL, Lewis EA, Parmeggiani F, Smith K, Bagshaw H, Starborg T, Joshi N, Figueroa AI, van der Laan G, Cibir G, Gianolio D, Haigh SJ, Patrick RAD, Turner NJ, Lloyd JR. Biosynthesis and characterization of copper nanoparticles using *Shewanella oneidensis*: application for click chemistry[J]. *Small*, 2018, 14(10): 1703145.
- [17] Xiao X, Liu QY, Lu XR, Li TT, Feng XL, Li Q, Liu ZY, Feng YJ. Self-assembly of complex hollow CuS nano/micro shell by an electrochemically active bacterium *Shewanella oneidensis* MR-1[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2017, 116: 10-16.
- [18] Luong HT, Nguyen CX, Lam TT, Nguyen TH, Dang QL, Lee JH, Hur HG, Nguyen HT, Ho CT. Antibacterial effect of copper nanoparticles produced in a *Shewanella*-supported non-external circuit bioelectrical system on bacterial plant pathogens[J]. *RSC Advances*, 2022, 12(7): 4428-4436.
- [19] Yang P, Li CS, Dang Y, Fan L, Yang BJ, Guan YL, Zhao QK, Du DW. Geochemical characteristics of seabed sediments in the Xunmei hydrothermal field (26°S), mid-Atlantic ridge: implications for hydrothermal activity[J]. *Minerals*, 2024, 14(1): 107.
- [20] Turekian KK, Wedepohl KH. Distribution of the elements in some major units of the Earth's crust[J]. *Geological Society of America Bulletin*, 1961, 72(2): 175.
- [21] 朱启宽, 周怀阳. 海底热液成因含金属沉积物的研究现状及展望[J]. *海洋科学*, 2021, 45(8): 69-80.
- Zhu QK, Zhou HY. Reviews and prospects of submarine metalliferous sediments of hydrothermal origin[J]. *Marine Sciences*, 2021, 45(8): 69-80 (in Chinese).
- [22] Liao SL, Tao CH, Li HM, Barriga FJAS, Liang J, Yang WF, Yu JY, Zhu CW. Bulk geochemistry, sulfur isotope characteristics of the Yuhuang-1 hydrothermal field on the ultraslow-spreading Southwest Indian Ridge[J]. *Ore Geology Reviews*, 2018, 96: 13-27.
- [23] Yu T, Qin M, Shao ZZ, Zhao YM, Zeng X. Isolation of highly copper-resistant bacteria from deep-sea hydrothermal fields and description of a novel species *Marinobacter metalliresistant* sp. nov.[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1390451.
- [24] Zeng X, Zhang Z, Li X, Zhang X, Cao J, Jebbar M, Alain K, Shao Z. *Anoxybacter fermentans* gen. nov., sp. nov., a piezophilic, thermophilic, anaerobic, fermentative bacterium isolated from a deep-sea hydrothermal vent[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2015, 65(Pt 2): 710-715.
- [25] Qu QN, Zeng X, Gong YD, Wei YL. Complete genome sequences of two strains of *Shewanella* sp. FeAMO and *Shewanella* sp. JL219SE-S6 isolated from deep-sea hydrothermal sediments[J]. *Marine Genomics*, 2026, 86: 101246.
- [26] Ochoa-Herrera V, León G, Banihani Q, Field JA, Sierra-Alvarez R. Toxicity of copper(II) ions to microorganisms in biological wastewater treatment systems[J]. *Science of the Total Environment*, 2011, 412/413: 380-385.

- [27] Toes AM, Geelhoed JS, Kuenen JG, Muyzer G. Characterization of heavy metal resistance of metal-reducing *Shewanella* isolates from marine sediments[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2008, 25(6): 304-314.
- [28] Franke S, Grass G, Rensing C, Nies DH. Molecular analysis of the copper-transporting efflux system CusCFBA of *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2003, 185(13): 3804-3812.
- [29] Giachino A, Waldron KJ. Copper tolerance in bacteria requires the activation of multiple accessory pathways[J]. *Molecular Microbiology*, 2020, 114(3): 377-390.
- [30] Svenningsen NB, Damgaard M, Rasmussen M, Pérez-Pantoja D, Nybroe O, Nicolaisen MH. *Cupriavidus pinatubonensis* AEO106 deals with copper-induced oxidative stress before engaging in biodegradation of the herbicide 4-chloro-2-methylphenoxyacetic acid[J]. *BMC Microbiology*, 2017, 17: 211.
- [31] Li CX, Huang RT, Shi XY. Microbial synthesis of Cu<sub>7</sub>S<sub>4</sub>/rGO nanocomposites with efficient photocatalytic activity for the degradation of methyl green[J]. *CrystEngComm*, 2021, 23(6): 1472-1481.
- [32] Shimoshige H, Nakajima Y, Kobayashi H, Yanagisawa K, Nagaoka Y, Shimamura S, Mizuki T, Inoue A, Maekawa T. Formation of core-shell nanoparticles composed of magnetite and samarium oxide in *Magnetospirillum magneticum* strain RSS-1[J]. *PLoS One*, 2017, 12(1): e0170932.
- [33] White GF, Shi Z, Shi L, Wang ZM, Dohnalkova AC, Marshall MJ, Fredrickson JK, Zachara JM, Butt JN, Richardson DJ, Clarke TA. Rapid electron exchange between surface-exposed bacterial cytochromes and Fe(III) minerals[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(16): 6346-6351.
- [34] Shi L, Dong HL, Reguera G, Beyenal H, Lu AH, Liu J, Yu HQ, Fredrickson JK. Extracellular electron transfer mechanisms between microorganisms and minerals[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2016, 14(10): 651-662.
- [35] Edwards MJ, White GF, Butt JN, Richardson DJ, Clarke TA. The crystal structure of a biological insulated transmembrane molecular wire[J]. *Cell*, 2020, 181(3): 665-673.e10.
- [36] 曾湘, 邵宗泽. 深海热液区微生物矿化过程的功能群和分子机制[J]. *微生物学通报*, 2017, 44(4): 890-901.  
Zeng X, Shao ZZ. Microbial functional groups and molecular mechanisms for biomineralization in hydrothermal vents[J]. *Microbiology China*, 2017, 44(4): 890-901 (in Chinese).