

J. Lake Sci.(湖泊科学), 2025, 37(5):000-000

DOI 10.18307/2025.0527

©2025 by Journal of Lake Sciences

新疆奎屯河流域地下水中砷代谢相关微生物代谢特征及影响因素^{*}

孔祥志^{1,2}, 李巧^{1,2**}, 陈婷³, 陶洪飞^{1,2}, 马合木江·艾合麦提^{1,2}, 杨静茹^{1,2}

(1:新疆农业大学水利与土木工程学院, 乌鲁木齐 830052)

(2:新疆水利工程安全与水灾害防治重点实验室, 乌鲁木齐 830052)

(3:新疆兵团勘测设计院集团股份有限公司, 乌鲁木齐 830002)

摘要: 地下水中的砷浓度和形态受到微生物活动的显著影响和调控。奎屯河流域是典型的高砷区, 而对奎屯河流域地下水中的砷代谢相关微生物代谢特征的研究尚显匮乏。本研究在奎屯河流域采集了 11 组地下水样本进行宏基因组测序, 分析高砷和低砷地下水化学特征以及砷代谢相关微生物的群落结构和功能基因与环境因子之间的关联。结果表明, 本研究区地下水的优势门为 *Proteobacteria* (变形菌门)、*Actinobacteria* (放线菌门)、*Planctomycetota* (浮霉菌门)。在属水平上, 低砷组样品的微生物群落展现出显著的物种丰富度和多样性优势。*Nitrosomonas* (亚硝化单胞菌属)、*Thiobacillus* (硫杆菌属)、*Sulfuritalea* 的丰度与 As (总砷) 呈显著正相关。本研究共注释到砷甲基化功能基因、As(III) 氧化功能基因、As(V) 还原功能基因及 As 运输功能基因共 12 种。As 与 *arsC1* (砷酸盐还原基因) 和 *arsH* (有机砷氧化基因) 呈显著负相关, 与 *AS3MT* (亚砷酸甲基转移基因) 呈显著正相关。砷浓度会抑制砷代谢微生物群落和功能基因的丰度和多样性, 对微生物群落具有选择压力, 使具有砷抗性的微生物在高砷环境中富集。研究区地下水微生物存在多种砷代谢途径, 包括砷甲基化、砷氧化还原和砷外排, 其中, 砷甲基化是该流域高砷地下水中微生物砷代谢的主要途径。砷代谢微生物群落和功能基因与 As 之间的关系受到多种环境因素的调控和影响, 而不是受单因子调控。本研究通过筛选具有砷代谢能力的微生物种群及其关键功能基因, 不仅深化了我们对砷代谢机制的理解, 还为砷污染的生物修复技术提供了新策略。

关键词: 高砷地下水; 奎屯河流域; 砷代谢基因; 宏基因组学;

Metabolic Characteristics and Influencing Factors of Arsenic-Metabolizing Microorganisms in Groundwater of the Kuytun River Basin, Xinjiang^{*}

Kong Xiangzhi^{1,2}, Li Qiao^{1,2**}, Chen Ting³, Tao Hongfei^{1,2}, Mahemujiang Aihemaiti^{1,2} & Yang Jingru^{1,2}

(1: College of Water Resources and Civil Engineering, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

(2: Key Laboratory of Hydraulic Engineering Safety and Water Hazard Prevention and Control, Urumqi 830052, China)

(3: Xinjiang Corps Survey and Design Institute (Group) Co.,Ltd., Urumqi 830002, China)

Abstract: Microbial activities significantly influence and regulate the concentration and speciation of arsenic in groundwater. Despite being a typical arsenic-rich area, the Kuitun River Basin has seen limited research on the metabolic characteristics

* 2024-11-28 收稿; 2024-12-25 收修改稿。

新疆自治区高校基本科研业务费科研项目(XJEDU2022J008)、新疆维吾尔自治区自然科学基金青年科学基金项目(2022D01B86)、新疆维吾尔自治区重大专项(2023A02002-1)和国家自然科学基金项目(41762018)联合资助。

** 通讯联系人;E-mail:qiaoli_xjau@qq.com。

of arsenic-metabolizing microorganisms in its groundwater. This study collected 11 groundwater samples from the Kuitun River Basin for metagenomic sequencing. It analyzed the chemical characteristics of both high- and low-arsenic groundwater, as well as the associations between the community structure and functional genes of arsenic-metabolizing microorganisms and various environmental factors. The results revealed that the dominant bacterial phyla in the study area's groundwater were *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, and *Planctomycetota*. At the genus level, low-arsenic samples exhibited a notable advantage in species richness and diversity. Furthermore, the abundances of *Nitrosomonas*, *Thiobacillus*, and *Sulfuritalea* were found to be significantly positively correlated with total arsenic (As) concentrations. A total of 12 functional genes related to arsenic methylation, arsenite (As(III)) oxidation, arsenate (As(V)) reduction, and arsenic transport were annotated. Notably, As concentrations exhibited significant negative correlations with *arsC1* (arsenate reductase gene) and *arsH* (organic arsenic oxidase gene), but a significant positive correlation with *AS3MT* (arsenite methyltransferase gene). Arsenic concentration exerts inhibitory effects on the abundance and diversity of arsenic-metabolizing microbial communities and functional genes, thereby exerting selective pressure on the microbial community and enriching arsenic-resistant microorganisms in high-arsenic environments. Groundwater microorganisms in the study area exhibit multiple arsenic metabolic pathways, including arsenic methylation, arsenic redox reactions, and arsenic efflux. Among these, arsenic methylation stands as the primary pathway of microbial arsenic metabolism in high-arsenic groundwater within this basin. The relationship between arsenic-metabolizing microbial communities and functional genes, and As concentrations, is regulated and influenced by multiple environmental factors rather than a singular one. By screening microbial populations with arsenic metabolism capabilities and their key functional genes, this study has not only deepened our understanding of arsenic metabolism mechanisms but also provided novel strategies for bioremediation technologies aimed at addressing arsenic pollution.

Keywords: High-arsenic groundwater; Kuitun River basin; Arsenic metabolism genes; Metagenomics;

砷(As)作为一种极具毒性的类金属元素，常常潜藏于矿物之中。矿物中的砷经过水文及生物地球化学过程，释放到地下水巾，进而在某些地区形成了天然存在的高砷地下水问题^[1]。这些水体中的砷浓度远远超出了世界卫生组织(WHO)所设定的饮用水安全标准(10μg/L)^[2]。砷在地下水中的存在形态并非固定不变，而是受到一系列环境因素的调控，包括水体的温度、酸碱度(pH值)以及微生物的活跃程度等。这些因素相互作用，共同影响着砷在地下水中的溶解性、迁移性和生物可利用性，从而增加了其对环境和人类健康的潜在威胁。由于As进入人体是无法被察觉的，且无机砷在人体内不具有任何有益的代谢功能，因此，许多人在不自知的情况下长期接触砷，从而引起皮肤、血管、神经系统疾病，以及多种类型的癌症^[3-4]。原生高砷地下水的污染问题普遍存在，全球多个地区存在高砷地下水问题，这些地区主要集中在亚洲^[5]、南美洲^[6]和非洲^[7]的某些区域，如孟加拉国^[8]、越南^[9]、柬埔寨^[10]等，以及我国的大同盆地^[11]、河套平原和松嫩平原等^[12-14]。新疆奎屯垦区是中国内地第一个出现地方性砷中毒的地区^[15-17]。长期饮用高砷地下水会引起慢性砷中毒，严重危害了当地居民的身体健康。经水源改造后有一定成效，但高砷地下水仍被用于农田灌溉，砷元素通过农作物间接被人体吸收并在体内积累，导致当地居民体内砷含量水平偏高^[18]。因此，研究地下水中的砷代谢过程，对缓解当地居民砷中毒现象具有重大现实意义。

地下水巾砷的代谢途径主要包括甲基化、迁移和氧化还原转化。高砷地下水中的微生物对砷具有调控作用，它们能够通过各种生物地球化学过程影响砷的形态和迁移。研究表明砷酸盐异化还原菌(Dissimilatory Arsenate-Respiring Prokaryote, DARP)能够将高价态的砷还原为低价态的砷，从而影响砷的生物有效性和毒性^[19]。微生物还能够通过吸附(真菌 KR21-2)、甲基化(青霉 *Penicillium*)等过程影响砷在含水层中的释放和转化^[20]。微生物对高砷地下水的形成和分布有重要影响。研究表明，柠檬酸杆菌(*Citrobacter* sp.JH-1)、梭菌(*Clostridium* sp.JH-6)、微小杆菌(*Exiguobacterium* sp.JH-13)、类芽孢杆菌(*Paenibacillus* sp.JH-33)参与的铁氧化物矿物的还原性溶解是高砷地下水形成的关键过程之一^[21]。在强还原环境下，微生物活动可以促进地下水巾砷的释放^[22]。此外，一些微生物，如铁氧化菌(iron-

oxidizing bacteria, FeOB)、碳酸盐矿化菌(carbonate mineralization microorganism, CMM)和硫酸盐还原菌(sulfate reducing bacteria, SRB)能够通过诱导成矿的方式直接促进含砷矿物的形成或生成其他矿物间接吸附砷，从而减少水体及土壤中溶解性或可提取态砷浓度、减少砷的生物可利用性^[23]。这些微生物是砷循环中不可或缺的调节者，通过不断进化的砷代谢机制影响着砷的富集与迁移。而这些砷代谢过程与砷代谢基因之间存在着密切的联系。高砷环境中的微生物群落普遍携带有砷抗性基因，如 *arsC1*、*arsC2*（砷酸盐还原基因）、*arsH* 以及砷外排基因 *arsA*（亚砷酸盐/尾锚定蛋白转运基因）、*acr3*（亚砷酸盐转运基因）等^[24]。这些基因的存在使得微生物能够适应高砷环境，通过还原或氧化砷来减少其毒性。As(V)的还原过程，通常涉及到特定的砷还原酶，如 ArsC 型和 ArrAB 型还原酶^[25]。这些酶能够催化 As(V)与电子供体(如有机物或无机物)反应，生成 As(III)。例如，厌氧砷酸还原菌(*Pantoea* sp. IMH)在砷还原过程中表现出高效的砷还原能力，其 *arsH*、*arsC*、*arsB* (砷化物外排基因) 和 *arsR* (砷酸盐/亚砷酸盐转录调节基因) 等基因片段起到主要的调控作用^[26]。微生物通常在有氧条件下进行 As(III)的氧化过程，通过特定的氧化酶如 *aoxAB* (亚砷酸盐氧化基因) 基因编码的亚砷酸氧化酶来实现。亚砷酸氧化菌(*Sinorhizobium* sp. GW3)就是一种已知的能够氧化亚砷酸盐的细菌，其 *aoxAB* 基因参与了这一过程^[27]。

以往的研究表明微生物对高砷地下水中的砷代谢过程影响显著，然而对奎屯河流域地下水中微生物的砷代谢过程所知甚少，尤其是 As 浓度是如何影响微生物群落和 As 代谢基因变化的。因此，本文采用宏基因组学的分析方法，探究砷浓度对砷代谢微生物群落和功能基因的影响，以及砷代谢相关微生物群落和砷代谢功能基因与环境因子之间的关联。研究高砷地下水中砷代谢微生物群落组成，对筛选出具有高效砷代谢能力的微生物菌株用于砷污染土壤、水体等环境的生物修复及保障人类饮用水安全具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区奎屯河流域，是一个典型的高砷区，位于新疆天山北坡中部，准噶尔盆地西南缘，乌鲁木齐以西 220km。流域的地理坐标在东经 83°30'至 85°08'，北纬 43°33'至 45°00'之间。该地区属于大陆性北温带干旱气候，是新疆北部光热量最丰富、无霜期最长的地区之一。该地区的气候特征显著，降水主要集中在 6 月至 8 月之间，年均降水量仅为 162.6mm，而年均蒸发量则高达 1208.3mm^[28]。

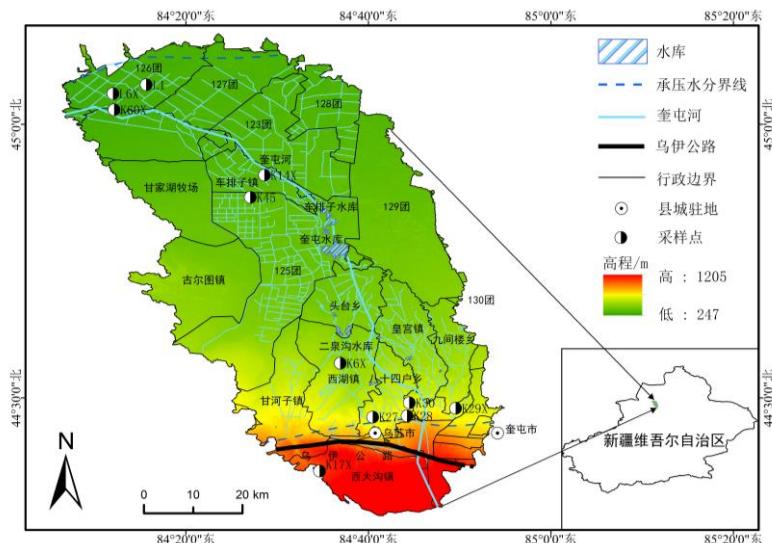


图 1 研究区流域位置图

Fig.1 Location map of the study area watersheds

在水文地质方面，奎屯河流域北部较低、南部较高，集水区面积较大。以奎屯河下游河段为分界线，可以将区域划分为南部和北部两大区域。奎屯河流域的平原地带位于南部和北部山区之间，呈漏斗形海拔变化，从南、北山山前向平原腹地逐渐降低。奎屯河流域平原区地下水属松散岩类孔隙型水，南、北山区山前地下水类型为单一结构孔隙潜水含水层，该区域的地下水流向自南向北，其主要含水层由细砂、卵砾石和砂砾混合而成，这种地质结构为地下水的储存和流动提供了有利条件^[29-30]。

1.2 样品采集与检测

根据前人的研究结果可知，奎屯河流域平原区自南向北砷浓度逐渐升高，研究区依据《地下水质量标准》(GB/T 14848—2017)以二泉沟水库为分界线，分为高砷区和低砷区^[31-32]。本研究于2023年5~7月期间在奎屯河流域平原区选取了11个具有代表性的地下水样品。高砷地下水水样5组(L1、L6X、K45、K14X、K60X位于高砷平原区)。低砷区采集地下水水样6组(K29X、K6X、K17X、K27、K28、K30位于低砷平原区)。

地下水样品采集严格依据《地下水质量标准(GB/T 14848-2017)》执行。采集地下水样本前，先抽水20min，待水质稳定后采集水样，采样瓶为酸洗的高密度聚乙烯瓶，水样装瓶前需先用地下水原液润洗采样瓶(取样前至少三次)。使用0.45 μm微孔滤膜进行过滤和分装，每个点位共取三份水样，其中一份加入HNO₃酸化至pH<2后装入采样瓶用于常规阳离子；一份用于常规阴离子分析；一份用于Fe、Mn和As微量元素分析。pH值、氧化还原电位(Eh)、溶解氧(DO)、温度(T)和电导率(EC)使用便携式多参数仪(HI8424、HI9146和HI98129，HANNA，Woonsocket，RI)进行现场测量。收集的样品贴标置于控温保温箱并尽快送至新疆第二水文地质大队实验室进行测定。检测遵循《GB/T5750.15750.13-2006生活饮用水标准检验法》标准，涵盖18项指标。

用于微生物学研究的水样收集在预先消毒的聚乙烯瓶中，使用0.22 μm无菌滤膜过滤5-10 L地下水。滤膜上需有明显可见覆盖物，将镊子用75%的酒精消毒后在火焰上灼烧冷却，使用消毒冷却后的镊子取出含有微生物的滤膜并保存在冻存管中，封口膜封闭管口并标记，每个样品取三个重复样。立即储存在液氮罐中送往上海美吉生物有限公司进行宏基因组测序，运输时全程用干冰冷冻保存样品。

1.3 DNA提取

利用FastDNA® Spin Kit for Soil试剂盒提取过滤后滤膜上的DNA，完成DNA提取后，检测DNA浓度和纯度，利用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA完整性。通过Covaris M220将DNA片段化，筛选约400bp的片段，用于构建PE文库。

1.4 宏基因组测序

首先使用NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq进行文库构建，然后利用Illumina NovaSeq平台进行宏基因组测序(上海美吉生物医药科技有限公司)，使用软件fastp^[33]对原始测序数据进行质控数据统计，对reads 3'端和5'端的adapter序列进行质量剪切，去除剪切后长度小于50bp、平均碱基质量值低于20以及含N碱基的reads，保留高质量的pair-end reads和single-end reads。最后使用软件MEGAHIT^[34]对优化序列进行拼接组装，筛选出≥300bp的contigs作为最终的组装结果。本研究每个样本组平均生成了约7.41Gb的高质量数据，所有样本组共产生81.56Gb的高质量数据。

1.5 分析方法

1.5.1 物种及功能注释：使用BLASTP将非冗余基因集与NR数据库进行比对，通过NR库关联的分类学信息数据库，获得了物种注释结果，功能基因根据比对结果使用KOBAS 2.0进行功能注释。使用KO和Pathway对应的基因丰度总和计算该功能类别的丰度。

1.5.2 物种与功能组成分析：根据KEGG注释结果筛选出具有砷代谢功能基因的KEGG Orthology (KO)，利用KO构建砷代谢功能基因集，对该基因集进行物种注释，筛选出具有砷代谢功能基因的微生物。结合堆叠柱形图和Heatmap图等分析方法，对各样本及分组中物种或功能组成进行解析，获得各样本及分组中优势物种或功能的组成及丰度变化等信息。使用R语言(version 3.3.1)vegan软件包(vsesion2.4.3)进行NMDS分析和作图，研究砷浓度对群落组成的影响。

1.5.3 物种与功能关联分析：使用Circos-0.67-7平台分析砷代谢微生物具有的生物学功能，利用KEGG

Orthology (KO) 对样品中存在的功能基因进行分类归纳，并结合已知的基因功能作为这个 KO 的功能进行跨物种注释，根据地下水样本中微生物的种类及基因的相对丰度，进行物种与功能相对丰度之间的关联分析。

1.5.4 环境因子关联分析： 使用 R (version 3.3.1) 软件包 “vegan(vsesion2.4.3)” 进行 VIF 方差膨胀因子分析（保留多重共线性较小的环境因子）和 db-RDA 分析，研究环境因子对砷代谢功能基因的影响。使用 R (version 3.3.1) 软件包 "pheatmap" 进行相关性 Heatmap 分析，通过计算 Spearman 秩相关系数，研究砷代谢物种/基因与环境因子之间的相关性。

2 结果与讨论

2.1 地下水地球化学特征

本研究区依据《地下水质量标准》(GB /T 14848—2017) 将地下水样品 (以 As 浓度 10 $\mu\text{g}/\text{L}$ 为限) 划分为高砷 (HA) 组和低砷 (LA) 组。地下水的理化性质见表 1。地下水样品的 pH 值偏弱碱性 (pH 值为 7.36~8.56)，HA 组包括 5 个样品，其特征是 Eh、DO、NH₃-N 含量相对较低，EC、TDS、As、Fe、Mn 及主要离子等含量相对较高。NH₃-N 含量平均值为 0.054mg/L，DO 含量平均值为 1.46mg/L，TDS 含量为 735~2000mg/L，平均值为 1495.20mg/L。As 浓度在 16.17~104.75 $\mu\text{g}/\text{L}$ 之间，平均值为 52.68 $\mu\text{g}/\text{L}$ ，超过了人体安全含量限值。LA 组包括 6 个样品，其特征与 HA 组相反，NH₃-N 含量平均值为 0.165mg/L，DO 含量平均值为 6.22mg/L，TDS 含量为 92~1629mg/L，平均值

表 1 奎屯河流域地下水理化性质¹⁾

Table 1 Physicochemical properties of groundwater in the Kuitun River Basin

参数	HA (High Arsenic)			LA (Low Arsenic)		
	最小值	最大值	平均值	最小值	最大值	平均值
pH (酸碱值)	7.42	8.56	7.90	7.36	8.47	7.79
DO (溶解氧)	0.00	2.30	1.46	4.43	8.36	6.22
Eh (氧化还原电位)	-83.70	-42.30	-63.60	-72.30	-23.40	-45.40
EC (电导率)	1206.00	4000.00	2931.80	183.00	2335.00	660.00
TDS (总溶解固体)	735.00	2000.00	1495.20	92.00	1629.00	435.50
As (总砷)	16.17	104.75	52.68	1.42	7.89	4.81
Fe (总铁)	0.02	1.97	0.60	0.02	0.23	0.06
Mn (总锰)	0.04	0.90	0.30	0.01	0.04	0.02
Na ⁺ (钠离子)	185.37	1219.35	504.39	3.31	226.32	51.72
K ⁺ (钾离子)	0.41	2.19	1.14	1.39	6.25	2.68
Ca ²⁺ (钙离子)	36.91	188.45	125.26	24.10	244.73	76.03
Mg ²⁺ (镁离子)	12.16	121.60	56.67	1.95	41.37	10.62
SO ₄ ²⁻ (硫酸根)	193.89	1129.83	551.60	9.00	621.97	147.11
HCO ₃ ⁻ (碳酸氢根)	96.57	207.80	129.32	102.68	162.57	122.47
PO ₄ ³⁻ (磷酸根)	0.07	0.17	0.13	0.07	0.52	0.15
Cl ⁻ (氯离子)	184.41	1434.53	621.40	9.22	425.57	87.82
NH ₃ -N (氨氮)	0.03	0.08	0.054	0.03	0.67	0.165
Deep (井深)	80.00	200.00	148.00	150.00	282.00	208.00

1) Deep 参数单位 m, As 参数单位 $\mu\text{g}/\text{L}$, EC 参数单位 S/m, Eh 参数单位 mv, 其它离子参数单位 mg/L。

2.2 地下水中 As 代谢微生物群落组成

在门水平上对 11 个地下水样品中的具有 As 代谢功能基因的微生物群落组成进行分析，将物种相对丰度低于 1% 的合并归为其余物种 (others)。在门水平下，共检测出 62 种地下水 As 代谢微生物。图 2 (a) 为门水平微生物群落柱形图，结果显示，*Proteobacteria* (变形菌门)、*Actinobacteria* (放线菌门)、*Planctomycetota* (浮霉菌门)、*Bacteroidota* (拟杆菌门)、*Chloroflexi* (绿弯菌门)、*Nitrospirae* (硝化螺旋菌门)、*Ignavibacteriaiae* 是相对丰度最高的七个门，占整个微生物群落的大部分。其中 LA 组中优势菌门为 *Proteobacteria*、*Actinobacteria*，最大相对丰度分别为 98.1%、17.8%，HA 组中的优势菌门为 *Proteobacteria*、*Planctomycetota*，最大相对丰度为 87.7%、18.1%，与 As 污染环境中的优势菌门相似^[35-37]，说明微生物具有一定的区域相似性。*Proteobacteria* 在每个样品中都是占比最高的门，但在 LA 组中的占比高于 HA 组，这与在河套盆地的研究结果一致，说明该菌属是地下水环境中的优势菌属，但其丰度会受到 As 浓度的抑制^[38]。*Actinobacteria* 在 LA 组的相对丰度均值高于 HA 组，且在 LA 组样品 K29X 中占比最高，这可能与该采样点的水系密度及海拔高度等因素更利于砷迁移有关。研究发现，在土壤中，随着 As 污染程度的增加，*Actinobacteria* 的相对丰度呈现减小的趋势^[39]，而 *Proteobacteria* 与之相比具有更强的耐砷性^[40]。*Planctomycetota* 主要分布于 HA 组样品中，在 HA 组样品 L6X 中占比最大，其在 LA 组样品 K29X、K17X、K27、K28 中没有检测出，研究发现，在砷污染环境中，*Planctomycetota* 的相对丰度有所增加^[41]，这表明该菌门在应对砷污染方面具有一定的适应性或优势。所有样品中，在属水平上共注释到 732 种具有 As 代谢功能基因的微生物，将相对丰度排名前 20 的物种按属水平进行注释，将其他物种合并为其余物种 (others)。从图 2 (b) 属水平微生物群落柱形图中可知，相对丰度较高菌属为 *Hydrogenophaga* (氢噬胞菌属)、*Acinetobacter* (不动杆菌属)、*Thiothrix* (发硫菌属)、*Stutzerimonas* (施氏假单胞菌)、*Massilia* (马赛菌属)、*Sphingobium* (鞘氨醇菌属)、*Pseudomonas* (假单胞菌属)。其中 LA 组中优势菌属为 *Hydrogenophaga*、*Stutzerimonas*、*Massilia*，最大相对丰度分别为 38.6%、52.1%、36.7%，HA 组中的优势菌门为 *Thiothrix*，最大相对丰度为 49.5%。综上低砷环境中具有多种优势菌群且相对丰度较高，除了优势菌群外，低砷环境中还存在大量稀有菌群。相比之下，低砷环境下的微生物群落组成更加丰富。

研究表明，在 As 污染环境中 *Hydrogenophaga* 具有较高的丰度^[42-43]，*Hydrogenophaga* 能够氧化 As 酸盐 (As(III)) 为 As 酸盐 (As(V))，从而减少其毒性^[44]。此外，*Hydrogenophaga* 还参与了 N (氮) 和 As 的联合去除，这在地下水修复中具有重要意义^[45]。研究表明，*Acinetobacter* 的一些菌株 (*Acinetobacter lwoffii*^[46]、*Acinetobacter* sp. TMKU^[47]、*Acinetobacter calcoaceticus*^[48] 等) 具有极高的 As 抗性，能够在高浓度的 As 环境中生存，并且能够通过多种机制减轻 As 的危害，包括 As 的吸收、转化和解毒等过程。*Thiothrix* 在 HA 组样本中相对丰度较高。研究表明，在高砷、高硫化物环境中，*Thiothrix* 通过氧化硫化物调控 As 的形态与迁移^[49]。

为进一步分析总 As 浓度对 As 代谢微生物群落分布的影响，在门水平和属水平分别进行非度量多维尺度分析(NMDS)，结果如图 3 所示。HA 组和 LA 组的微生物群落分别各自聚类，HA 组和 LA 组微生物群落之间存在差异，这说明 As 浓度影响了 As 代谢微生物群落组成。

综上所述，在低砷环境中，*Hydrogenophaga*、*Stutzerimonas* 和 *Sphingobium* 等属可能通过其 As 代谢能力获得竞争优势；而在高砷环境中，*Acinetobacter*、*Thiothrix* 等属则通过其 As 抗性和对硫化物的氧化能力来适应高砷环境。这些结果表明，高砷环境对微生物群落产生了一定的选择压力。

2.3 微生物 As 代谢功能基因特征

地下水中微生物 As 代谢途径主要包括甲基化、运输和氧化还原转化。由 KEGG 注释结果，得到与 As 代谢相关的功能基因主要有 12 种，分别是 As 甲基化功能基因 *AS3MT* (亚砷酸甲基转移酶基因)、*gapgh* (甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因)，As(III) 氧化功能基因 *aoxB*、*aoxA* 和 *arsH*，As(V) 还原功能基因 *arsC1* 和 *arsC2*，As 运输功能基因 *arsA*、*acr3*、*arsJ* (1-砷-3-磷酸甘油酸外排基因) 和 *arsB*，以及转录调控因子 *arsR*。

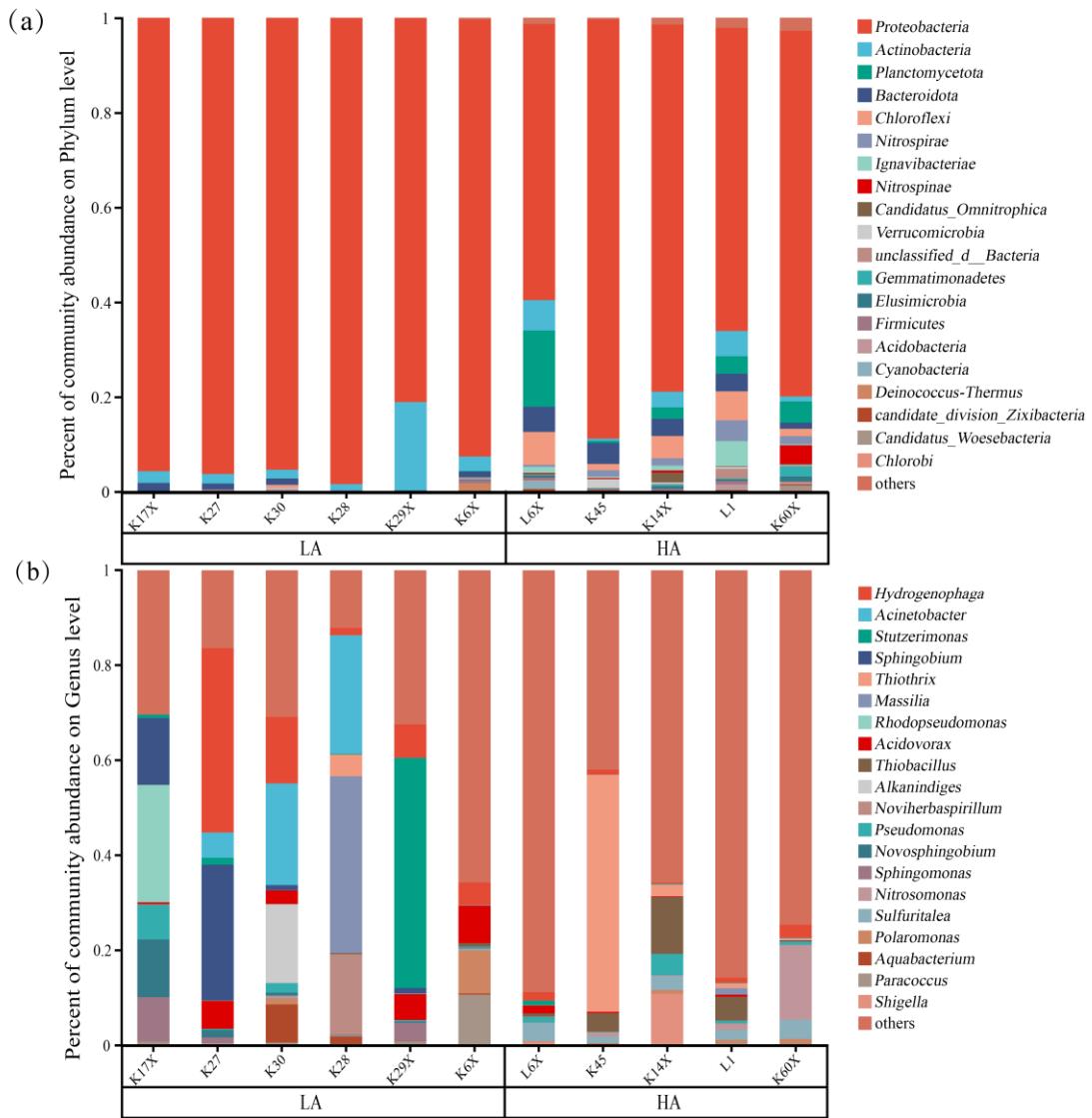


图 2 地下水样品中 As 代谢微生物群落组成(相对丰度小于 1% 合并为 others);

图 (a) 门水平; 图 (b) 属水平。

Fig. 2 Composition of arsenic-metabolizing microbial communities in groundwater samples (abundance less than 1% merged into others). Figure (a) phylum-level; Figure (b) genus-level.

图 4 为不同 As 浓度下的 As 代谢基因的占比, 图中左侧沿逆时针方向样品点 As 浓度逐渐降低, 右侧沿顺时针方向基因丰度逐渐变小。结果显示, 转录调控因子 *arsR* 和 As 运输功能基因 *acr3* 丰度较高, 其次为 As 还原功能基因 *arsC* 和 As 甲基化功能基因 *AS3MT*. *arsR* 基因具备自我调节的特性, 它通常是构成操纵子的一部分, 而这个操纵子还包含了其他与砷解毒功能相关的 *ars* 基因^[50]。As 运输功能基因 *arsA*、*acr3* 和 *arsJ* 在 HA 组样本中更为丰富, 而 *arsB* 在 LA 组样本 (2%-47%) 占比更高。研究表明, 在许多高砷地下水环境中, As 运输功能基因 (如 *arsABCDHJ* 和 *acr3*) 是最丰富的 As 代谢基因^[51-52]。这说明高砷地下水环境促进了 As 运输功能基因的进化与多样化。As(III)是厌氧环境中主要的 As 形态, 细胞为抵抗其毒性进化出 Acr3 和 ArsB 蛋白来外排 As(III)。在氧化环境中, As(III)易被氧化为 As(V), 因此, 生物体进化出 ArsC 蛋白将 As(V)还原为 As(III)并排出。在高砷环境下, ArsB 和 ArsAB 复合物进化出能量耦合模式, 利用细胞内的能量增

强外排效率^[53], 这说明 As(III)外排是高砷地下水中的有效的解毒途径。*arsC1* 在 LA 样品中占比较高, 而 *arsC2* 在 HA 样品中占比较高, 而在热泉环境下, *arsC* 的丰度分布与本研究相反^[49], 这是因为在热泉环境中, 除了 As 浓度外, 还有其他因子 (如温度、pH 值、氧化还原电位等) 对微生物的基因表达产生影响。这些因子的综合作用可导致微生物在 As 代谢方面表现出更加复杂的适应性, 以适应极端环境。

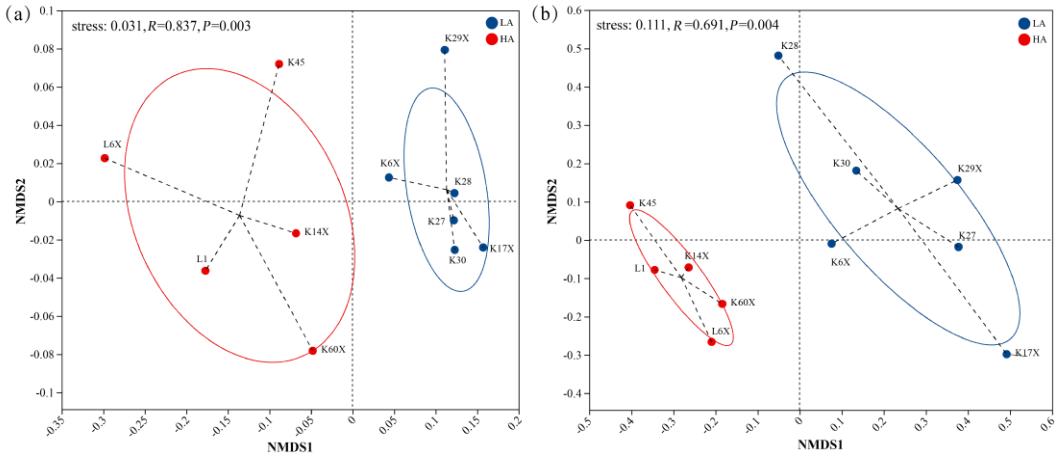


图 3 不同 As 浓度 As 代谢微生物群落的非度量多维尺度分析(NMDS); 图 (a) 门水平; 图 (b) 属水平。

Fig. 3 Non-metric Multidimensional Scaling (NMDS) analysis of arsenic-metabolizing microbial communities under different arsenic concentrations; Figure (a) phylum-level; Figure (b) genus-level.

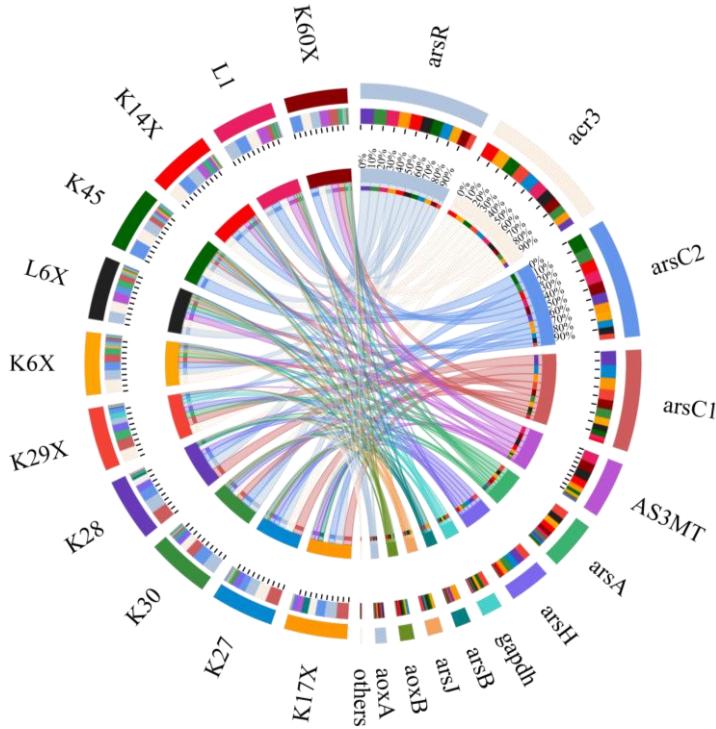


图 4 As 功能基因在 KO 水平上的 Circos 图

Fig. 4 Circos plot of As functional genes at the KO level

AS3MT 在 HA 样本 (6%-20%) 中占比显著高于 LA 样本 (1%-10%)，目前对 *AS3MT* 的研究多为论述其在人体内降低 As 毒性和外排 As。研究发现，*AS3MT* 是人体和其他真核生物中主要负责将无机砷 (As (III)) 转化为毒性较低的甲基化代谢物 (如 MMA (一甲基胂酸) 和 DMA (二甲基胂酸)) 的酶 [54-55]。这一过程对于减少 As 的毒性至关重要，因为这些甲基化代谢物比无机 As 更易于排出体外 [56]。长期的 As 暴露会改变 *AS3MT* 基因的表达水平。研究发现，长期饮用高砷水的人群中，*AS3MT* 的表达水平较高 [57]。Coryell 等人 [58] 的研究表明，肠道菌群中的 *AS3MT* 和特定的微生物群在保护小鼠免受急性 As 中毒中起关键作用。这说明，在高 As 环境中，微生物可通过提高 *AS3MT* 的丰度来降低 As 的毒性。As(III) 氧化功能基因 *aoxAB* 是由两个亚基 *aioA* 和 *aioB* 组成的异二聚体，负责将 As(III) 氧化为 As(V) [59]，*aoxAB* 的相对丰度较低且主要分布在 HA 组中 (16%-33%)，这与意大利北部高砷地下水 [60] 和河套盆地高砷地下水 [52] 中得到的结论相似。As(III) 氧化功能基因 *arsH* 的丰度相对较高，且在 LA 组样本 (1%-20%) 中的占比更高。说明 *arsH* 在 As(III) 的氧化过程中起着关键作用，研究表明，*arsH* 基因的表达有助于在低砷环境中稳定 As(V)，防止其转化为毒性更强的 As(III) [61]。*arsJ* 和 *gapdh* 分别编码的 ArsJ 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 蛋白，它们构成了一个 As(V) 外排系统 [62]。GAPDH 催化无机 As 向五价有机 As (1As3PGA) 的转化，ArsJ 是一种外排渗透酶，可将 1As3PGA 从细胞中挤出 [63]，从而形成一种有效抗 As 酸盐途径。

根据物种与功能贡献度分析 (图 5) 发现，在属水平上，同一 As 代谢基因的菌属贡献度存在差异，地下水样品中检测到的 As 功能基因在 *Hydrogenophaga* (氢噬菌属)、*Pseudomonas* (假单胞菌属)、*Thiobacillus* (发硫菌属)、*Stutzerimonas* (施氏假单胞菌) 以及 *Acidovorax* (食酸菌属) 中的功能种类最丰富。其中，*Hydrogenophaga* 是 *aoxB* 和 *aoxA* 基因的主要贡献者，并且它和 *Acidovorax* 在 LA 样本中的贡献度更高，在河套平原碱性 As 污染土壤中，这两种菌属能够进行依赖硝酸盐的 As(III) 氧化反应，而 *aoxB* 基因能够促进三价 As (As(III)) 向五价 As (As(V)) 的氧化过程，并与硝酸盐还原过程形成紧密的耦合关系 [64]。这种氧化过程对于降低 As 的毒性和提高其在水体中的稳定性具有重要意义。*Pseudomonas* 中含有的功能种类最多，在 LA 组样品中的 *Pseudomonas* 主要含有 *acr3*、*AS3MT*、*arsBCHJR* 和 *aoxA*，在 HA 组样品中的 *Pseudomonas* 主要含有 *arsH*、*arsJ*、*arsR*、*aoxB* 和 *gapdh*。LA 组中 *acr3*、*arsA*、*arsC1* 和 *arsH* 主要来自 *Hydrogenophaga* 和 *Stutzerimonas*。*arsB* 主要分布于 *Rhodopseudomonas* 和 *Massilia*。HA 组中 *arsR*、*acr3*、*arsC* 和 *arsJ* 主要来自 *Thiobacillus* 和 *Hydrogenophaga*，LA 组中含有 As 功能基因的微生物种类多于 HA 组，这一发现与 Cai 等 [65] 发现的现象一致。综上所述，这些结果说明，As 污染构成了一种进化驱动力，可以视为一种自然筛选机制，促进了耐受恶劣条件的微生物种群增长，并进化出具有 As 代谢潜能的微生物。这些微生物通过氧化还原、代谢转化等机制应对 As 毒性，在高砷环境中占据优势 [24]。

2.4 环境因子对微生物 As 代谢的影响

通过 VIF 方差膨胀因子分析，从表 1 中筛选出 VIF 值小于 10 的环境因子为：pH、Deep、As、SO₄²⁻、Fe 和 PO₄³⁻。再通过 db-RDA 分析不同环境因子对 As 代谢基因的相对影响大小，如图 6 所示，在这些环境因子中，PO₄³⁻ 是与 As 代谢基因相对影响最大的因子，其次是 As、SO₄²⁻、井深、pH、Fe。研究发现，磷酸盐水平的变化可以直接影响 As 在细胞内的吸收、转运和代谢，提高培养液中的磷酸盐浓度可以降低细胞对砷酸盐 (As (V)) 的吸收，并减少其在细胞内的积累 [66]。且 AsO₄³⁻ (砷酸根离子) 与 PO₄³⁻ 具有相似的化学结构和电荷状态，这使得微生物的代谢途径难以区分这两种离子。这种相似性导致了 AsO₄³⁻ 可以通过 PO₄³⁻ 的转运蛋白进入细胞，从而被误吸收到细胞内 [67]。研究表明，PO₄³⁻ 转运蛋白不仅负责磷酸盐的吸收，还可以运输 AsO₄³⁻ [68]。研究发现，增加 PO₄³⁻ 的浓度可以减少 As 的毒性，因为 PO₄³⁻ 可以与砷竞争相同的转运蛋白，从而降低 As 的吸收 [69]。这些结果表明磷酸盐水平在调控砷代谢方面确实具有一定作用。

从图 6 中可知，As 与 Deep 和磷酸盐呈负相关，地下水的 As 浓度受还原条件的影响显著。在较深的地下水层中，由于与氧气的隔离时间较长，可能形成厌氧环境，这种环境有利于硫酸盐 (SO₄²⁻) 等氧化物的还原。硫酸盐的还原会固定 As，形成砷硫沉淀，从而降低地下水中 As 的浓度。硫酸盐与井深

呈负相关也说明了这一点。李晓红等人^[70]在河南省杞县也得到了同样的结论。而 As 与 PO_4^{3-} 呈负相关，是因为磷酸盐的存在可以通过离子交换作用置换土壤或水体中的砷酸盐，从而降低 As 的浓度^[71]。As 与 pH、Fe、 SO_4^{2-} 呈正相关，且 HA 组样本到这四个环境因子的投影点到原点的距离均大于 LA 组样本，说明这四个环境因子对 HA 组样本的 As 代谢基因影响更大。

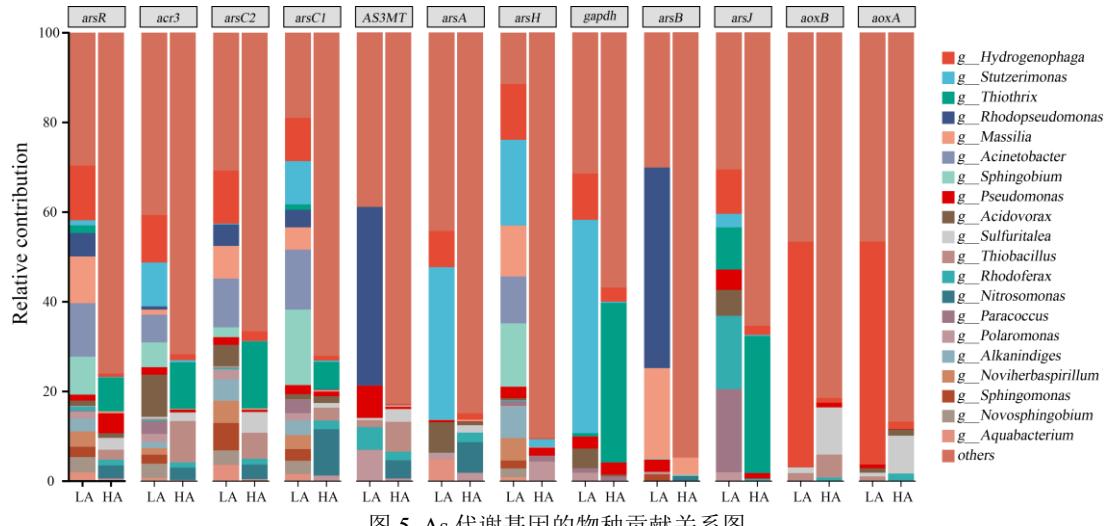


图 5 As 代谢基因的物种贡献关系图

Fig.5 Species contribution relationships for As metabolism genes

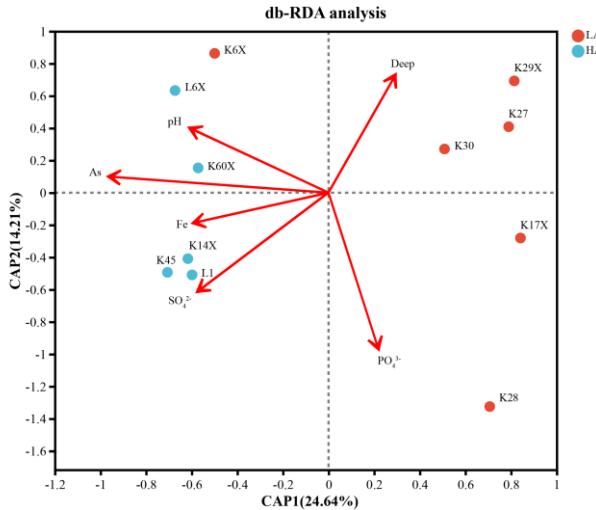


图 6 基于 KEGG 水平下的 db-RDA 分析；蓝色圆圈表示 HA 组样品，红色圆圈表示 LA 组样品，红色箭头表示环境因子；箭头长短反映环境因子对样本数据的影响力，长则影响大；箭头夹角显示因子间相关性，锐角正相关，钝角负相关，直角则无显著线性相关。

Fig.6 db-RDA analysis based on KEGG levels; blue circles indicate samples in the high arsenic group, red circles indicate samples in the low arsenic group, and red arrows indicate environmental factors; the length of the arrows reflects the influence of the environmental factors on the sample data, and a long arrow has a large influence; the angle of the arrows shows the correlation between the factors, with a positive correlation at an acute angle, a negative correlation at an obtuse angle, and no significant linear correlation at a right angle.

从图 7 (b) 可知, As 与 *arsC1* 和 *arsH* 呈显著负相关, 这两种基因在 LA 组组中的贡献更高 (图 5)。这种负相关可能是因为其在低砷环境中主要贡献菌属 (*Hydrogenophaga*、*Stutzerimonas*), 在高砷环境中的丰度显著下降, 从而导致基因表达下降。As 与 *AS3MT* 呈显著正相关, 说明该流域高高砷环境下的微生物主要是通过 As 甲基化途径来降低 As 毒性和代谢 As 的。综上所述, As 代谢物种和基因还与多个环境因子有显著相关性, 说明 As 代谢微生物群落组成和功能基因通常是受到多重环境因子影响的, 而不是只受 As 浓度的调控。

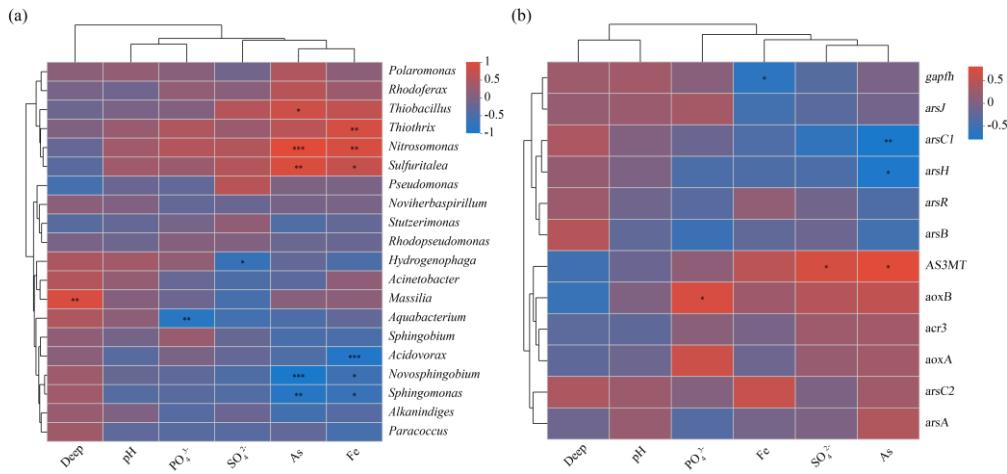


图 7 (a) 地下水样品环境因子和属水平主要微生物的相关性热图。选取丰度前 20 的属做分析。(b) 地下水样品环境因子和主要的 As 代谢基因的相关性热图。左侧和上侧分别是物种和环境因子的聚类树。计算得到的 R 值以不同颜色表示蓝色负相关, 红色正相关。(注: * $0.01 < P \leq 0.05$, ** $0.001 < P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$.)

Fig. 7 (a) Correlation heat map of major microorganisms at the environmental factor and genus level for groundwater samples.

The top 20 genera in abundance were selected for analysis. (b) Correlation heat map of environmental factors and major As metabolism genes in groundwater samples. Clustering trees for species and environmental factors are shown on the left and top, respectively. The calculated R-values are color-coded to indicate negative correlation in blue and positive correlation in red.

(Note: * $0.01 < P \leq 0.05$, ** $0.001 < P \leq 0.01$, *** $P \leq 0.001$.)

为探究环境因子与 As 代谢物种和 As 代谢基因之间的相关性, 进一步采用相关性 Heatmap 图, 结果如图 7 所示。*Nitrosomonas* (亚硝化单胞菌属)、*Thiobacillus* (硫杆菌属)、*Sulfuritalea* 的丰度与 As 呈显著正相关, *Novosphingobium*、*Sphingomonas* 的丰度与 As 呈负相关。*Thiobacillus* 是一类能氧化无机硫化物的细菌, 包括多种能氧化硫、硫化物或硫代硫酸盐的菌种。从图 2 (b) 中可知, 该菌在 HA 组样本中丰度较高, 从图 5 可知该菌属的 *acr3*、*arsR*、*arsC*、*aoxB* 在 HA 组中贡献度较高, 它可以通过 *ars* 操纵子 (Arsenic-resistance operon) 来编码抗砷相关的蛋白质, *ArsC* 可以将砷酸盐还原为毒性较低的亚砷酸盐, *Acr3* 则可以将 As (III) 外排, 这有助于它们适应复杂的含砷极端环境。

研究表明, *Sulfuritalea* 可以通过砷酸盐呼吸来生长, 使用砷酸盐 (As(V)) 作为电子受体来进行能量代谢, 同时生成了几乎等量的砷化物 (As(III)) [72]。研究发现, *Thiobacillus* 在 As 污染环境中具有参与 As 氧化依赖生物固氮的代谢潜力[73], 这说明该菌属在 As 代谢中具有一定潜在作用。*Thiobacillus* 参与氮循环, 当参与氮循环的微生物与其他能够进行 As 代谢的微生物共存时, 它们之间的相互作用会影响各自的代谢活动, 这是因为氮循环和 As 循环在某些条件下可能共享相同的底物或电子受体, 从而导致竞争或协同效应[74]。研究发现, 某些能够进行生物固氮 (biological nitrogen fixation, BNF) 的细菌依赖于 As 的存在或对其具有耐受性[75-76]。这说明, 微生物在固氮时, 可能同时参与到 As 的代谢过程中,

从而改变环境中 As 的价态和浓度。*Novosphingobium*、*Sphingomonas* 的 As 代谢功能基因只在 LA 组中存在，说明这两种菌属均不是耐 As 物种。

3 结论

(1) 研究区地下水的优势菌门为 *Proteobacteria*、*Actinobacteria*、*Planctomycetota*。在属水平上，LA 组样品的砷代谢微生物群落组成展现出显著的物种丰富度优势。*Nitrosomonas*、*Thiobacillus*、*Sulfuritalea* 与 As 呈显著正相关。*Novosphingobium*、*Sphingomonas* 与 As 呈负相关。这说明 As 具有选择压力，可以改变微生物群落组成，使具有 As 抗性的微生物在高砷环境中富集。

(2) 本研究共注释到 As 代谢相关的功能基因主要有 12 种，分别是 As 甲基化功能基因 *AS3MT*、*gapgh*，As(III) 氧化功能基因 *aoxB*、*aoxA* 和 *arsH*，As(V) 还原功能基因 *arsC*，As 运输功能基因 *arsA*、*acr3*、*arsJ* 和 *arsB*，以及转录调控因子 *arsR*。As 与 *arsC1* 和 *arsH* 呈显著负相关，As 与 *AS3MT* 呈显著正相关，说明该流域高砷环境下微生物主要以砷甲基化途径来代谢 As。

(3) PO₄³⁻ 和 As 与砷代谢基因的相关性较强。As、pH、Fe 和 SO₄²⁻ 对 HA 组样本的 As 代谢基因影响更大。As 代谢微生物群落和功能基因与 As 之间的关系受到多种环境因素的调控和影响，而不是受单因子调控。

本研究提供了奎屯河流域主要砷代谢微生物群落和功能基因的概况。从基因视角上，理解砷在生物体内的转化机制。本文基于宏基因组学角度，对地下水样品中的砷代谢微生物群落及功能基因进行了分析研究，然而，仅依靠宏基因组学方法无法全面揭示基因的表达。后续研究还需要进一步通过其他“组学”方法，如宏转录组学、宏蛋白质组学等，来全面探究功能基因的表达情况。

4 参考文献

- [1] Guo HM, Yang SZ, Shen ZL. Advances in Research on Arsenic-Rich Groundwater. *Advances in Earth Science*, 2007, (1109-1117): 1109-1117 [郭华明, 杨素珍, 沈照理. 富砷地下水研究进展. 地球科学进展, 2007, (1109-1117): 1109-1117.]
- [2] Gorchev HG, Ozolins G et al. WHO guidelines for drinking-water quality[J]. *Who Chronicle*, 1984, 38(3): 104-108.
- [3] Podgorski J, Berg M. Global threat of arsenic in groundwater. *Science*, 2020, 368(6493): 845-850. DOI: 10.1126/science.aba1510.
- [4] Glodowska M, Stopelli E, Straub D et al. Arsenic behavior in groundwater in Hanoi (Vietnam) influenced by a complex biogeochemical network of iron, methane, and sulfur cycling. *Journal of hazardous materials*, 2021, 407: 124398. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2020.124398.
- [5] Li ZP, Van Halem D, Verberk J. Review of high arsenic groundwater in China. 2010 4th International Conference on Bioinformatics and Biomedical Engineering. IEEE, 2010: 1-4. DOI: 10.1109/iebbe.2010.5517266.
- [6] Podgorski J, Berg M. Global threat of arsenic in groundwater. *Science*, 2020, 368(6493): 845-850. DOI: 10.1126/science.aba1510.
- [7] Kaledje P S K, Noupayou J R N, Djomga P N D et al. The Catchment Area of Kadey in East-Cameroon: Assessment of Arsenic Contamination in Deep Groundwater Resources. *J Geol Geophys*, 2016, 5(250): 2. DOI: 10.4172/2381-8719.1000250.
- [8] Harvey C F, Swartz C H, Badruzzaman A B M et al. Arsenic mobility and groundwater extraction in Bangladesh. *Science*, 2002, 298(5598): 1602-1606. DOI: 10.1126/science.1076978.
- [9] Berg M, Tran H C, Nguyen T C et al. Arsenic contamination of groundwater and drinking water in Vietnam: a human health threat. *Environmental science & technology*, 2001, 35(13): 2621-2626. DOI: 10.1021/es010027y. DOI: 10.1021/es010027y.
- [10] Connolly C T, Stahl M O, DeYoung B A et al. Surface flooding as a key driver of groundwater arsenic contamination in Southeast Asia. *Environmental science & technology*, 2021, 56(2): 928-937. DOI: 10.1021/acs.est.1c05955.
- [11] Wang YX, Su CL, Xie XJ et al. Study on Arsenic Abnormality in Groundwater and Its Genesis in Datong Basin. *Geology in China*, 2010, 37(03): 771-780. [王焰新, 苏春利, 谢先军等. 大同盆地地下水砷异常及其成因研究. 中国地质, 2010, 37(03): 771-780.]
- [12] Deng Y, Wang Y, Ma T et al. Speciation and enrichment of arsenic in strongly reducing shallow aquifers at western Hetao Plain,

- northern China. *Environmental Geology*, 2009, 56: 1467-1477. DOI: 10.1007/s00254-008-1243-y.
- [13] Deng YD, Ye XY, Wu YM et al. Enrichment Mechanisms and Dynamic Characteristics of Fluoride and Arsenic in Groundwater in the Western Songnen Plain. *China Environmental Science*, 2023, 43(10): 5277-5290. DOI: 10.19674/j.cnki.issn1000-6923.20230609.003. [邓远东,叶雪艳,吴亚敏等. 松嫩平原西部地下水氟和砷的富集机理与动态变化特征. *中国环境科学*, 2023, 43(10): 5277-5290.]
- [14] Wallis I, Prommer H, Berg M et al. The river-groundwater interface as a hotspot for arsenic release. *Nature Geoscience*, 2020, 13(4): 288-295. DOI: 10.1038/s41561-020-0557-6.
- [15] Wang LF, Liu HD, Xu XF et al. Survey Report on Chronic Endemic Arsenicism in Kuitun Reclamation Area of Xinjiang. *Chinese Journal of Epidemiology*, 1983, (71): 71. [王连方,刘鸿德,徐训风等. 新疆奎屯垦区慢性地方性砷中毒调查报告. *中国地方病学杂志*, 1983, (71): 71.]
- [16] Luo YL, Li J, Jiang PA et al. Hydrochemical Characteristics and Genesis Analysis of Groundwater in High-Arsenic Areas of Xinjiang. *Journal of Arid Land Resources and Environment*, 2017, 31(116-121): 116-121. DOI: 10.13448/j.cnki.jalre.2017.256. [罗艳丽,李晶,蒋平安等. 新疆高砷地区地下水水化学特征及其成因分析. *干旱区资源与环境*, 2017, 31(116-121): 116-121.]
- [17] Li J, Luo YL, Yu YH. Preliminary Study on Arsenic-Fluoride Combined Pollution and Its Genesis in Groundwater of Kuitun Reclamation Area in Xinjiang. *Environmental Protection Science*, 2016, 42(02): 124-128. DOI: 10.16803/j.cnki.issn.1004-6216.2016.02.025. [李晶,罗艳丽,余艳华. 新疆奎屯垦区地下水砷-氟复合污染及成因初探. *环境保护科学*, 2016, 42(02): 124-128.]
- [18] Yuan XH, Su YH. Study on Arsenic Content in Hair and Nails of Residents in the Irrigation Area with High-Arsenic Groundwater in Kuitun. *Journal of Safety and Environment*, 2017, 17(04): 1519-1523. DOI: 10.13637/j.issn.1009-6094.2017.04.060. [袁雪花,苏玉红. 奎屯高砷地下水灌溉区居民头发和指甲中砷含量研究. *安全与环境学报*, 2017, 17(04): 1519-1523.]
- [19] Hong B. The Influence of Microorganisms on the Geochemical Behavior of Arsenic: Recent Advances in the Mechanism of Arsenic Pollution in Groundwater. *Advances in Earth Science*, 2006, (01): 77-82. [洪斌. 微生物对砷的地球化学行为的影响——暨地下水砷污染机制的最新研究进展. *地球科学进展*, 2006, (01): 77-82.]
- [20] Su SM, Zeng XB, Bai LY et al. Mechanism of Microbial Action on Arsenic and Feasibility of Using Fungi for Remediating Arsenic-Contaminated Soil. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(12): 3266-3272. DOI: 10.13287/j.1001-9332.2010.0441. [苏世鸣,曾希柏,白玲玉等. 微生物对砷的作用机理及利用真菌修复砷污染土壤的可行性. *应用生态学报*, 2010, 21(12): 3266-3272.]
- [21] Gao J, Zheng TL, Deng YM et al. Iron Reduction by In-situ Microorganisms in High-Arsenic Groundwater and Its Impact on Arsenic Release in the Jianghan Plain. *Earth Science*, 2017, 42(05): 716-726. [高杰,郑天亮,邓娅敏等. 江汉平原高砷地下水原位微生物的铁还原及其对砷释放的影响. *地球科学*, 2017, 42(05): 716-726.]
- [22] Zhang JW, Ma T, Feng L et al. Conceptual Model of Redox Zoning in High-Arsenic Groundwater Systems Mediated by Microorganisms. *Geological Science and Technology Information*, 2015, 34(05): 153-159. [张俊文,马腾,冯亮等. 微生物介导下高砷地下水系统的氧化还原分带性概念模型. *地质科技情报*, 2015, 34(05): 153-159.]
- [23] Ye WL, Zhou YJ, Yan SW et al. Research progress on the application of microbial mineralization technology in environmental arsenic pollution remediation. *Acta Pedologica Sinica*, 2021, 58(04): 862-875. [叶文玲,周于杰,晏士玮等. 微生物成矿技术在环境砷污染治理中的应用研究进展. *土壤学报*, 2021, 58(04): 862-875.]
- [24] 张淼. 银川高砷含水层沉积物和深层地下水中微生物群落结构和功能的宏基因组学研究[学位论文]. 哈尔滨工业大学, 2020.
- [25] Lu X, Wang YY, Qu CY et al. Exploration of the detoxification mechanism of arsenic in the aquatic nitrification system. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, (06): 2212-2225. DOI: 10.13343/j.cnki.wsxb.20220217. [卢璇,王云燕,瞿才燕等. 水体硝化体系中砷的解毒机制探讨. *微生物学报*, 2022, (06): 2212-2225.]
- [26] Liu Y, Zhang JF, Du JJ. Study on the in-situ reduction process of arsenic by aerobic strains based on surface-enhanced Raman spectroscopy. *Environmental Chemistry*, 2015, 34(07): 1275-1280. [刘颖,张建峰,杜晶晶. 基于表面增强拉曼研究好氧菌株对砷的

- 原位还原过程.环境化学,2015,34(07):1275-1280.]
- [27] 汪耀,涂书新,王革娇.亚砷酸氧化菌 *Sinorhizobium* sp. GW3 的鉴定与亚砷酸氧化酶基因的分离.湖北农业科学,2010,49(01):5-9.
- [28] Zhang H, Li ZQ, Mu JX et al. Glacier changes in the Kuitun River basin of the Tianshan Mountains, Xinjiang, over the past 50 years and their impact on water resources. *Scientia Geographica Sinica*, 2017, 37(11): 1771-1777. DOI: 10.13249/j.cnki.sgs.2017.11.020. [张慧,李忠勤,牟建新等.近 50 年新疆天山奎屯河流域冰川变化及其对水资源的影响.地理科学,2017, 37(11): 1771-1777.]
- [29] Zhang FC, Wu B, Gao F et al. Hydrochemical characteristics and genesis analysis of groundwater in the plain area of the Kuitun River basin . *Environmental Science Research*, 2021, 34(07): 1663-1671. DOI: 10.13198/j.issn.1001-6929.2020.12.17. [张福初,吴彬,高凡等.奎屯河流域平原区地下水水化学特征及成因分析.环境科学研究,2021, 34(07): 1663-1671.]
- [30] Li Q, Zhou JL, Zeng YY. The influence of nitrogen on the migration and enrichment of arsenic in groundwater in the plain areas of the Kuitun River and Manas River basins . *Environmental Chemistry*, 2017, 36(10): 2227-2234. [李巧,周金龙,曾妍妍.奎屯河及玛纳斯河流域平原区地下水中氮素对砷迁移富集的影响.环境化学,2017, 36(10): 2227-2234.]
- [31] Yang JR, Lv SP, Li Q et al. The impact of geogenic arsenic on microbial diversity and community structure . *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2024, 30(02): 309-316. DOI: 10.19675/j.cnki.1006-687x.2023.03046 .[杨静茹,吕树萍,李巧等.地源砷对微生物多样性及群落结构的影响.应用与环境生物学报,2024,30(02):309-316.]
- [32] Li Q, Liu YN, Tao HF et al. Spatial distribution and genesis of arsenic and fluoride in groundwater in the Kuitun River basin . *Journal of Xinjiang Agricultural University*, 2021, 44(05): 337-346. [李巧,刘亚楠,陶洪飞等.奎屯河流域地下水砷、氟空间分布及成因.新疆农业大学学报,2021, 44(05): 337-346.]
- [33] Chen S, Zhou Y, Chen Y et al. Fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor[J]. *Bioinformatics*, 2018, 34(17): i884-i890.
- [34] Li DH, Liu CM, Luo RB et al. MEGAHIT: an ultra-fast single-node solution for large and complex metagenomics assembly via succinct de Bruijn graph. *Bioinformatics*, 2015, 31(10): 1674-1676. DOI: 10.1093/bioinformatics/btv033.
- [35] Xiu W, Lloyd J, Guo HM et al. Linking microbial community composition to hydrogeochemistry in the western Hetao Basin: potential importance of ammonium as an electron donor during arsenic mobilization. *Environment international*, 2020, 136: 105489. DOI: 10.1016/j.envint.2020.105489.
- [36] Debnath T, Deb S, Das S K. Influence of geochemistry in the tropical hot springs on microbial community structure and function. *Current Microbiology*, 2023, 80(1): 4. DOI: 10.1007/s00284-022-03118-7.
- [37] Gong YW, Yang SW, Chen SY et al. Soil microbial responses to simultaneous contamination of antimony and arsenic in the surrounding area of an abandoned antimony smelter in Southwest China. *Environment International*, 2023, 174: 107897. DOI: 10.1016/j.envint.2023.107897.
- [38] 柯添添.高砷地下水系统微生物群落结构和砷转化功能微生物多样性学位论文].中国地质大学(北京),2019.
- [39] Zhang C, Xiao X, Zhao Y et al. Patterns of microbial arsenic detoxification genes in low-arsenic continental paddy soils. *Environmental Research*, 2021, 201: 111584. DOI: 10.1016/j.envres.2021.111584.
- [40] 史晓凯,马茹茹,颜道浩等.外源砷胁迫对土壤细菌群落结构的影响.江苏农业科学,2018, 46(14): 242-246, 252.
- [41] Ito K, Kuramata M, Tanikawa H et al. Diversity and transcription of genes involved in respiratory As (V) reduction and As (III) methylation in Japanese paddy soils. *BMC microbiology*, 2024, 24(1): 396. DOI: 10.1186/s12866-024-03562-4.
- [42] Cui JL, Du JJ, Tian HX et al. Rethinking anaerobic As (III) oxidation in filters: Effect of indigenous nitrate respirers. *Chemosphere*, 2018, 196: 223-230. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2017.12.158.
- [43] Zhang MM, Xiong YQ, Sun HC et al. Selective pressure of arsenic and antimony co-contamination on microbial community in alkaline sediments. *Journal of Hazardous Materials*, 2024, 464: 132948. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2023.132948.
- [44] Fan X, Nie L, Chen ZJ et al. Simultaneous removal of nitrogen and arsenite by heterotrophic nitrification and aerobic denitrification bacterium *Hydrogenophaga* sp. H7. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 13: 1103913. DOI: 10.3389/fmicb.2022.1103913.
- [45] Sun ZY, Li Y, Zhang S et al. Performance and mechanism of concurrent nitrogen elimination and arsenite oxidation/detoxification in a membrane aerated biofilm reactor system. *Journal of Water Process Engineering*, 2024, 62: 105402.

DOI: 10.1016/j.jwpe.2024.105402.

- [46] Das J, Sarkar P. Remediation of arsenic in mung bean (*Vigna radiata*) with growth enhancement by unique arsenic-resistant bacterium *Acinetobacter lwoffii*. *Science of the total environment*, 2018, 624: 1106-1118. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2017.12.157.
- [47] Basu S, Dutta A, Mukherjee S K et al. Isolation and characterization of an As (III) oxidizing bacterium, *Acinetobacter* sp. TMKU4 from paddy field for possible arsenic decontamination. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 2023, 10: 100289. <https://doi.org/10.1016/j.hazadv.2023.100289>.
- [48] Laha A, Sarkar S, Sengupta S et al. Unraveling the potential of *Acinetobacter calcoaceticus* for arsenic resistance and plant growth promotion in contaminated lentil field. *South African Journal of Botany*, 2024, 168: 61-70. DOI: 10.1016/j.sajb.2024.03.005.
- [49] 卿纯.西藏东北部高砷热泉中微生物参与砷-硫的转化过程及其环境适应机制研究[学位论文].中国地质大学, 2023.
- [50] Chen J, Nadar V S, Rosen B P. A novel MAs (III) - selective ArsR transcriptional repressor. *Molecular microbiology*, 2017, 106(3): 469-478. DOI: 10.1111/mmi.13826.
- [51] Cavalca L, Zecchin S, Zacheo P et al. Exploring biodiversity and arsenic metabolism of microbiota inhabiting arsenic-rich groundwaters in Northern Italy. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1480. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01480.
- [52] Ke TT, Zhang D, Guo HM et al. Geogenic arsenic and arsenotrophic microbiome in groundwater from the Hetao Basin. *Science of the Total Environment*, 2022, 852: 158549. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2022.158549.
- [53] Li P, Jiang Z, Wang YH et al. Analysis of the functional gene structure and metabolic potential of microbial community in high arsenic groundwater. *Water research*, 2017, 123: 268-276. DOI: 10.1016/j.watres.2017.06.053.
- [54] 陈栩燊.N6AMT1多态性、叶酸对砷代谢影响及砷致DNA甲基化改变的研究[学位论文].中山大学, 2017.
- [55] Torbøl Pedersen J, De Loma J, Levi M et al. Predicted AS3MT proteins methylate arsenic and support two major phylogenetic AS3MT groups. *Chemical Research in Toxicology*, 2020, 33(12): 3041-3047. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.0c00375.
- [56] Vahter M, Concha G. Role of metabolism in arsenic toxicity. *Pharmacology & Toxicology: MiniReview*, 2001, 89(1): 1-5. DOI: 10.1034/j.1600-0773.2001.d01-128.x.
- [57] 孙明军.无机砷上调AS3MT表达对人肺细胞增殖和凋亡的影响[学位论文].大理大学, 2021.
- [58] Coryell M, McAlpine M, Pinkham N V et al. The gut microbiome is required for full protection against acute arsenic toxicity in mouse models. *Nature communications*, 2018, 9(1): 5424. DOI: 10.1038/s41467-018-07803-9.
- [59] Chen X, Yu T, Zeng XC. Functional features of a novel Sb (III)-and As (III)-oxidizing bacterium: Implications for the interactions between bacterial Sb (III) and As (III) oxidation pathways. *Chemosphere*, 2024, 352: 141385. DOI: 10.1016/j.chemosphere.2024.141385.
- [60] Cavalca L, Zecchin S, Zacheo P et al. Exploring biodiversity and arsenic metabolism of microbiota inhabiting arsenic-rich groundwaters in Northern Italy. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1480. DOI: 10.3389/fmicb.2019.01480.
- [61] Vorontsov I I, Minasov G, Brunzelle J S et al. Crystal structure of an apo form of *Shigella flexneri* ArsH protein with an NADPH - dependent FMN reductase activity. *Protein science*, 2007, 16(11): 2483-2490. DOI: 10.1110/ps.073029607.
- [62] Wu S, Wang L, Gan R et al. Signature arsenic detoxification pathways in *Halomonas* sp. strain GFAJ-1. *MBio*, 2018, 9(3): 10.1128/mbio.00515-18. DOI: 10.1128/mbio.00515-18.
- [63] Chen J, Yoshinaga M, Garbinski L D et al. Synergistic interaction of glyceraldehydes - 3 - phosphate dehydrogenase and ArsJ, a novel organoarsenical efflux permease, confers arsenate resistance. *Molecular microbiology*, 2016, 100(6): 945-953. DOI: 10.1111/mmi.13371.
- [64] Zhang MM, Lu GM, Xiao TF et al. Characterization of arsenic-metabolizing bacteria in an alkaline soil. *Environmental Pollution*, 2022, 312: 120040. DOI: 10.1016/j.envpol.2022.120040.
- [65] Cai L, Yu K, Yang Y et al. Metagenomic exploration reveals high levels of microbial arsenic metabolism genes in activated sludge and coastal sediments. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, 97: 9579-9588. DOI: 10.1007/s00253-012-4678-8.
- [66] 王淑.不同磷浓度对螺旋藻砷吸附、吸收及转化的影响研究[学位论文].南京农业大学, 2015.
- [67] Groden S. Arsenic-Eating Bacteria?. *Microreviews in Cell and Molecular Biology*, 2012, 1(1).
- [68] Singh P, Gupta N, Deoghare P M et al. Arsenic-Induced Phytotoxicity in Rice Plants. *Arsenic in Rice*. Apple Academic Press,

2024: 95-117.

- [69] Zvobgo G, Hu H, Shang S et al. The effects of phosphate on arsenic uptake and toxicity alleviation in tobacco genotypes with differing arsenic tolerances. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2015, 34(1): 45-52. DOI: 10.1002/etc.2776.
- [70] 李晓红, 候国强, 原春生等. 杞县饮水型地方性氟中毒病区饮水氟砷含量与井深关系的探讨. *河南预防医学杂志*, 2010, 21(02): 133-134.
- [71] Chen C, Chen XF, Li XM et al. Study on phosphate leaching remediation technology for arsenic-contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences*, 2015, 35(08): 2582-2588. DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2015.0121.[陈灿, 陈寻峰, 李小明等. 砷污染土壤磷酸盐淋洗修复技术研究. *环境科学学报*, 2015, 35(08): 2582-2588.]
- [72] Watanabe T, Miura A, Iwata T et al. Dominance of *Sulfuritalea* species in nitrate - depleted water of a stratified freshwater lake and arsenate respiration ability within the genus. *Environmental Microbiology Reports*, 2017, 9(5): 522-527. DOI: 10.1111/1758-2229.12557.
- [73] Li YB, Guo LF, Yang R et al. *Thiobacillus* spp. and *Anaeromyxobacter* spp. mediate arsenite oxidation-dependent biological nitrogen fixation in two contrasting types of arsenic-contaminated soils. *Journal of hazardous materials*, 2023, 443: 130220. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.130220.
- [74] Wang ZS, Wang XJ, Chen XP et al. The impact of microbial iron oxidation on the migration and transformation of arsenic. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, 31(02): 328-333. DOI: 10.13671/j.hjkxxb.2011.02.016.[王兆苏, 王新军, 陈学萍, 等. 微生物铁氧化作用对砷迁移转化的影响. *环境科学学报*, 2011, 31(02): 328-333.]
- [75] Li YB, Guo LF, Yang R et al. *Thiobacillus* spp. and *Anaeromyxobacter* spp. mediate arsenite oxidation-dependent biological nitrogen fixation in two contrasting types of arsenic-contaminated soils. *Journal of hazardous materials*, 2023, 443: 130220. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2022.130220.
- [76] Zhou M, Liu Z, Zhang B et al. Interaction between arsenic metabolism genes and arsenic leads to a lose-lose situation. *Environmental Pollution*, 2022, 312: 119971. DOI: 10.1016/j.envpol.2022.119971.