



河套平原不同深度高砷地下水硫酸盐还原菌群落分布特征及环境意义

成语¹, 宋腾龙², 田雪歌¹, 王艳红^{1,3*}

1 中国地质大学(武汉)生物地质与环境地质国家重点实验室, 湖北 武汉 430074

2 中国地质大学(武汉)环境学院, 湖北 武汉 430074

3 中国地质大学(武汉)长江流域环境水科学湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430074

成语, 宋腾龙, 田雪歌, 王艳红. 河套平原不同深度高砷地下水硫酸盐还原菌群落分布特征及环境意义. 微生物学报, 2022, 62(6): 2372–2388.

Cheng Yu, Song Tenglong, Tian Xuege, Wang Yanhong. Distribution characteristics and environmental significance of sulfate-reducing bacterial community in high arsenic groundwater from different depth of Hetao Plain, China. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 2372–2388.

摘要:【目的】探究不同深度的高砷含水层中硫酸盐还原菌的丰度、群落组成和多样性的差异,并结合硫酸盐硫同位素等多种水化参数,揭示不同深度高砷地下水中硫酸盐还原菌群落分布特征及其环境意义。【方法】以我国典型高砷地下水分布区河套平原为研究区,采集不同深度含水层中的高砷地下水样品,测定水化参数,采用 qPCR 对样品 16S rRNA 基因和 *dsrB* 基因进行定量;通过 *dsrB* 基因高通量测序对硫酸盐还原菌群落进行分析,并将 *dsrB* 基因相对丰度、群落组成及多样性与水化因子结合,进行统计学分析。【结果】基于 *dsrB* 基因的定量结果表明,浅层地下水中 *dsrB* 基因相对丰度高于深层地下水。浅层地下水中, *dsrB* 基因相对丰度与 CH₄ 浓度呈显著正相关,且 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 与 CH₄ 浓度显著正相关。而深层高砷地下水中, *dsrB* 基因相对丰度与 SO₄²⁻ 浓度、DOC 浓度存在显著正相关性。高通量测序结果表明,深层地下水中硫酸盐还原菌的 α 多样性显著高于浅层地下水。研究区内硫酸盐还原菌可分为 264 个 OTUs,以 *Desulfobacterales*、*Nitrospirales*、*Rhodospirillales*、*Syntrophobacterales* 等 10 个目为主。不同种属硫酸盐还原菌在深、浅层地下水的丰度及影响丰度的环境因子存在一定差异,其中浅层地下水中

基金项目: 国家自然科学基金(42177066, 41702365)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (42177066, 41702365)

*Corresponding author. E-mail: wangyh@cug.edu.cn

Received: 30 March 2022; Revised: 9 May 2022; Published online: 18 May 2022

Nitrospirales 的相对丰度与 As_T 浓度和 $\delta^{34}S-SO_4^{2-}$ 呈正相关, 指示出硫酸盐还原菌中 *Nitrospirales* 类群在浅层地下水砷的迁移转化中的重要作用。RDA 结果表明, As_T 浓度、 CH_4 浓度和 Fe^{2+} 浓度是控制研究区地下水中硫酸盐还原菌群落分布的关键环境因子。【结论】深、浅层高砷地下水中, 硫酸盐还原菌多样性、种属构成与多样性存在显著差异, 且受到了不同水化参数影响。

关键词: 高砷地下水; 硫酸盐还原菌; *dsrB* 基因; 高通量测序; qPCR

Distribution characteristics and environmental significance of sulfate-reducing bacterial community in high arsenic groundwater from different depth of Hetao Plain, China

CHENG Yu¹, SONG Tenglong², TIAN Xuege¹, WANG Yanhong^{1,3*}

1 State Key Laboratory of Biogeology and Environmental Geology, China University of Geosciences, Wuhan 430074, Hubei, China

2 School of Environmental Studies, China University of Geosciences, Wuhan 430074, Hubei, China

3 Hubei Key Laboratory of Yangtze Catchment Environmental Aquatic Science, China University of Geosciences, Wuhan 430074, Hubei, China

Abstract: [Objective] To investigate the relative abundance, community composition and diversity of sulfate-reducing bacteria in high arsenic groundwater of different depths, and to reveal the main geochemical factors (e.g., $\delta^{34}S-SO_4^{2-}$) affecting the distribution characteristics of sulfate-reducing bacterial community in high arsenic groundwater and the environmental significance. **[Methods]** High arsenic groundwater samples from both shallow and deep aquifers were collected from Hetao Plain, a typical high arsenic groundwater-distributed area in China. Various geochemical parameters were measured and the relative abundance of 16S rRNA gene and *dsrB* gene of the samples was quantified by qPCR. High-throughput sequencing of *dsrB* gene was conducted to reveal the community composition of sulfate-reducing bacteria. Statistical analysis was further performed to analyze the correlations between geochemical variables and sulfate-reducing bacterial community characteristics. **[Results]** The relative abundance of *dsrB* gene in shallow samples was higher than that in deep samples. In shallow high arsenic groundwater, the relative abundance of *dsrB* gene and the $\delta^{34}S-SO_4^{2-}$ were both significantly positively correlated with the concentration of CH_4 . In contrast, the relative abundance of *dsrB* gene showed positive correlations with the concentrations of SO_4^{2-} and DOC in deep high arsenic groundwater. The high-throughput sequencing of *dsrB* gene displayed that the α -diversity of sulfate-reducing bacteria in deep groundwater was remarkably higher than that in shallow groundwater. Sulfate-reducing bacteria in the study area were divided into 264 operational taxonomic units (OTUs), including ten predominant orders such as *Desulfobacterales*, *Nitrospirales*, *Rhodospirillales* and *Syntrophobacterales*. The relative abundance of each order and the environmental factors affecting their abundance were different in shallow or deep groundwater. Specifically, the relative abundance of *Nitrospirales* in shallow groundwater was positively correlated with the concentrations of As_T and $\delta^{34}S-SO_4^{2-}$, indicating the key role of *Nitrospirales* in arsenic migration and

transformation in shallow groundwater. The redundancy analysis (RDA) found that As_T , CH_4 and Fe^{2+} were the key environmental factors controlling the distribution of sulfate-reducing bacterial community in groundwater of the study area. **[Conclusion]** The relative abundance, community composition and diversity of sulfate-reducing bacteria in deep and shallow high arsenic groundwater varied, and were affected by geochemical parameters.

Keywords: high arsenic groundwater; sulfate-reducing bacteria; *dsrB* gene; high-throughput sequencing; qPCR

砷(arsenic, As)是一种有毒的类金属元素,在水岩相互作用下,含水层中的砷会溶解进入地下水系统中,造成地下水砷污染^[1]。目前国际上将砷含量 $\geq 10 \mu\text{g/L}$ 的地下水定义为高砷地下水^[2],在我国,高砷地下水主要分布在内蒙古河套平原、山西大同盆地、湖北江汉平原、台湾等地,受影响人数将近 2 000 万^[3]。近年来,随着对高砷地下水砷形成与转化机制的持续探索,越来越多的研究发现,微生物参与的生物地球化学过程对砷在地下水中的迁移转化起着重要作用。其中,硫酸盐还原菌是参与含水层中砷迁移转化的关键微生物类群之一^[4-6]。

硫酸盐还原菌在自然界分布广泛。它是一类能通过异化作用,以有机物作为电子供体,以硫酸盐作为电子受体进行硫酸盐还原的厌氧菌。其还原硫酸盐产生的 S^{2-} ,能还原 Fe(III) ,导致吸附在铁氧化矿物上的砷释放到地下水中; S^{2-} 也能与砷结合生成砷硫矿物,固定地下水中的砷,或与 Fe(II) 结合产生硫化亚铁(FeS_x)等能再次吸附砷的次生矿物,从而影响砷在地下水中的迁移^[7]。近年来,有学者基于硫酸盐还原菌所共有的 *dsrB* 基因(编码异化型亚硫酸盐还原酶亚基),对高砷环境中的硫酸盐还原菌群落特征开展了研究。前人对高砷酸性矿山废水中硫酸盐还原菌群落特征进行了探究,结果表明硫酸盐还原菌群落的动态变化受 pH、铁和砷形态的季节性波动影响较小,以厚壁菌门(*Firmicutes*)和变形菌门(*Proteobacteria*)为优势

群落^[8];对高砷酸性矿井排水中的微生物多样性的分析结果表明,变形菌门与兼性厚壁菌门是该环境中硫酸盐还原菌主要的类群^[9]。前人对地热源高砷水体中微生物群落的组成和功能进行了探究,表明硫酸盐还原是该环境下可培养部分微生物的主要代谢特征之一,其中硫酸盐还原菌主要种属为脱硫杆菌(*Desulfobacterales*)和脱硫肠状菌(*Desulfotomaculum*),且这 2 个种属均表现出高度耐砷性^[10]。对河套平原高砷地下水的研究表明,活性微生物中包括硫酸盐还原菌,以脱硫球菌科(*Desulfobulbaceae*)和脱硫孢子菌(*Desulfosporosinus*)等为主,且硫酸盐还原菌的丰度在山前区较高,而在平原区较低^[11]。有学者对河套平原浅层高砷地下水中硫酸盐还原菌的主要种类和丰度进行了初步探究,发现硫酸盐还原菌属于梭菌纲和变形菌纲,且 *dsrB* 基因相对丰度与总砷浓度呈正相关,暗示细菌硫酸盐过程可能导致砷释放到地下水中^[12]。

目前已有的研究中,对高砷地下水硫酸盐还原菌的分子生态学研究较少,且多是基于 16S rRNA 基因,并集中在砷浓度较高的浅层地下水,缺乏对同样存在砷污染且水化性质存在差异的深层地下水的认识。因此,本研究拟在前人研究工作的基础上,以我国典型原生高砷地下水分布区—内蒙古河套平原的杭锦后旗作为研究区,选择取自不同深度、具有不同水化特征的地下水样品,通过基于硫酸盐还原功能基因——*dsrB* 基因的高通量测序与定量,分析不

同深度地下水中硫酸盐还原菌的群落组成、丰度和多样性。结合水化因子,探究影响硫酸盐还原菌在原位高砷地下水中分布特征的关键环境控制因子。本研究成果揭示了不同深度与水化性质的高砷地下水中硫酸盐还原菌分布特征与差异,为进一步研究微生物对砷迁移转化的作用提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究区概况与样品采集

内蒙古自治区是我国地下水砷污染范围最大、暴露人口最多的地区之一^[13]。其中,位于内蒙古西部的河套平原就是一个典型的高砷地下水分布区,属于典型的干旱半干旱地区,含水层以承压水和半承压水为主,地下水流向为自西向东^[14],受地质条件影响,用泵抽水和垂向蒸发是地下水排泄的主要方式,地下水中砷最大浓度高达 1 000 $\mu\text{g/L}$ 以上^[15-16]。河套盆地砷中毒区域涉及巴彦淖尔市临河区、杭锦后旗、五原县等 11 个旗县,影响约 30 万居民^[17]。本研究区位于地下水砷污染最严重的杭锦后旗。

基于前期研究结果^[4,18-19],本研究沿地下水流向,采集了杭锦后旗及其周边地区的 23 个水化性质不同的地下水样品,包括 13 个浅层地下水和 10 个深层地下水。具体采样点如图 1 所示。浅层样点为压把井,深度介于 15–30 m;深层样点为机井,深度介于 80–150 m。采用过滤法收集新鲜地下水微生物样品,使用过滤器抽滤约 10 L 地下水,将微生物收集到醋酸纤维滤膜(0.22 $\mu\text{m}\times 142\text{ mm}$)上,置于 50 mL 的无菌离心管后放入低温干冰箱保存,用于后续的基因组提取。过滤后的水样分装于聚乙烯瓶或玻璃瓶中,用于阴阳离子、形态砷、Fe(II)、Fe_T、DOC、CH₄、硫酸盐的硫氧同位素等水化参数的测定。采集的地下水水化样品与微生物膜样品迅速运

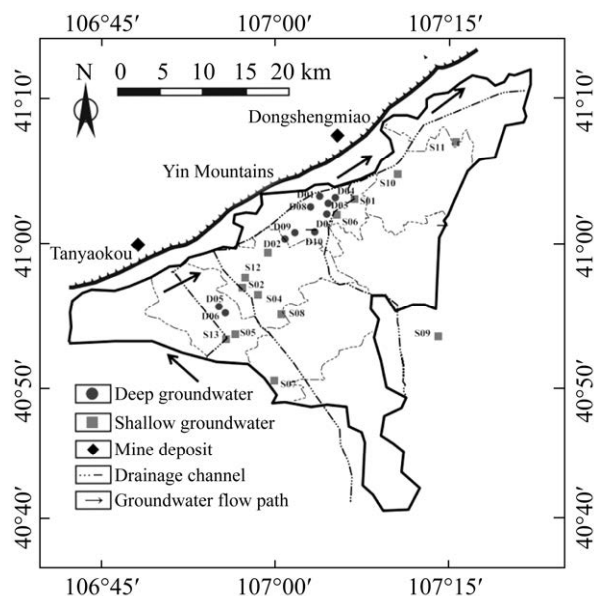


图 1 采样点图

Figure 1 Sampling sites of groundwater samples.

回实验室-20 °C 低温保存,并尽快完成水化参数的测试及相关分子生物学实验。

1.2 地下水样品地球化学参数测试

水样地球化学参数指标如温度、pH、ORP、DO 等用 Horiba 水质分析仪原位测定。Fe(II)、Fe_T、NO₃⁻、NH₄⁺等氧化还原敏感离子采用便携式 Hach DR850 分光光度计现场测定。SO₄²⁻、NO₃⁻、Cl⁻、PO₄³⁻等阴离子用离子色谱(DIX-120, Dionex)进行测定。硫酸盐的硫、氧同位素在生物地质与环境地质国家重点实验室采用稳定同位素质谱仪(Thermo DELTA V plus, Thermo)完成。CH₄ 测试样品于国家海洋局第三海洋研究所使用气相色谱(Thermo Trace Ultra, Thermo)进行测定。DOC 浓度采用 TOC 分析仪(Vario MICRO cube, Elementar)进行测定。形态砷采用液相色谱-原子荧光联用仪(LC-AFS)测定。

1.3 细菌 16S rRNA 基因与硫酸盐还原 *dsrB* 基因 qPCR

将 1.1 中采集的微生物样品解冻,使用 FastDNA[®] SPIN Kit for Soil (MP BIO Company)

试剂盒提取总 DNA, 其提取过程参照试剂盒提供的操作步骤。

使用引物对 515F (5'-GTGCCAGCMGCCG CGGTAA-3')和 806R (5'-GGACTACHVGGGTW TCTAAT-3')扩增细菌 16S rRNA 基因 V4 区^[20]; 使用引物对 DSR-p2060F (5'-CAACATCGTYCA YACCCAGGG-3')和 DSR-4R (5'-GTGTAGCAG TTACCGCA-3')扩增硫酸盐还原菌功能基因 *dsrB* 基因^[12]。细菌 16S rRNA 基因的 PCR 条件为: 94 °C 5 min; 94 °C 30 s, 55 °C 45 s, 72 °C 30 s, 30 个循环; 72 °C 5 min。*dsrB* 基因的 PCR 条件为 94 °C 10 min; 94 °C 30 s, 60 °C 40 s, 72 °C 1 min, 35 个循环; 72 °C 5 min。分别回收 PCR 产物后, 通过连接转化, 构建标准质粒, 作为细菌 16S rRNA 基因与 *dsrB* 基因的定量标准。构建的含细菌 16S rRNA 基因片段与 *dsrB* 基因片段的质粒, 将其进行等梯度稀释, 用于绘制环境样品 qPCR 使用的标准曲线。

16S rRNA 基因与硫酸盐还原 *dsrB* 基因的 qPCR 在 ABI 7500 PCR 仪中进行。每个样点 qPCR 体系设置 3 个平行, 每个 qPCR 反应设置一组 3 个空白对照。利用 ABI PRISM 7500 SDS 软件进行数据结果分析。

1.4 *dsrB* 基因高通量测序

使用 1.3 中提取的环境样品 DNA, 对 *dsrB* 基因进行扩增, 以 *dsrB* 基因引物 DSR-p2060F 与 DSR-4R 为基础, 合成正向引物带有不同 barcode 序列, 反向引物与正常 PCR 引物相同的专用于高通量测序的引物对, 用于区分不同样点 *dsrB* 基因 PCR 扩增产物。PCR 扩增体系及程序与 1.3 中相同。使用 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 片段完整性, 检测条带无拖尾、弥散现象, 未见杂带。采用 NanoDrop 2000 微量紫外分光光度计测定 PCR 产物质量浓度, 按比例稀释后混合均匀, 送往公司进行高通量测序。

本研究中高通量测序使用 Illumina HiSeq 2500 平台(Illumina)进行建库测序, 得到长度为 380 bp 的双端序列。测序工作由艾康健基因技术有限公司(武汉)完成。

1.5 高通量测序数据处理

原始测序数据采用中国科学院生态环境科学研究中心邓晔实验室开发的 Galaxy 平台进行处理(<http://mem.rcees.ac.cn:8080>)。使用该平台, 根据 *dsrB* 基因的 barcode 序列将测序所得原始数据拆分, 将与 barcode 序列完全匹配的测序序列分配到各个样品。去除引物及 barcode 序列后, 对 *dsrB* 基因的双端序列进行拼接, 并优化、过滤低质量序列。使用 Dotur 软件, 在 97% 相似度下对 *dsrB* 基因序列进行 OTU 聚类, 并选取每个 OTU 的代表序列, 在 NCBI 数据库上进行比对, 确定各个 OTU 所属种属。高通量测序所得原始 *dsrB* 基因序列已上传至 NCBI Sequenece Read Archive (SRA)数据库, 登录号为 PRJNA781428。

1.6 统计与分析方法

使用 OmicStudio 云平台(<https://www.omicstudio.cn/tool>)对研究区内深、浅层硫酸盐还原功能微生物群落组成进行 α 多样性分析, 包括 Shannon、Chao1、ACE 和 Richness 指数等。通过冗余分析(RDA), 即约束化的主成分分析, 探究研究区深、浅层地下水地球化学参数和目水平硫酸盐还原功能微生物群落之间的相关性。使用 IBM SPSS Statistics 软件(Ver. 28.0.0.0)进行相关性分析。

2 结果与分析

2.1 高砷地下水水化特征

将现场测试指标与实验室测试指标整合后, 研究区主要水化参数测定汇总结果见表 1。浅层地下水样品共 13 个, 除一个样品形态砷浓

表 1 内蒙古河套平原深、浅层地下水主要水化参数

Table 1 Main geochemical parameters of deep and shallow groundwater in Hetao Plain, Inner Mongolia

Sample	DO	DOC	ORP	SO ₄ ²⁻	δ ³⁴ S-SO ₄ ²⁻	CH ₄	SO ₄ ²⁻ /Cl ⁻	As _T	As(III)	As(V)	As ^{III}	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	d ¹⁸ O/ ¹⁶ O	Fe ²⁺	Fe _T
S01	1.0	8.04	-210	369.64	23.20	0.80	0.15	124.78	109.14	15.65	0.87	5.8	1.84	11.91	2.86	3.60
S02	1.1	3.40	-182	589.92	8.54	0.34	0.37	383.63	349.89	33.74	0.91	0.4	12.50	6.94	0.49	1.86
S03	0.6	1.15	-220	153.59	9.76	1.66	0.52	243.83	225.12	18.71	0.92	1.4	5.14	8.61	0.54	0.65
S04	0.8	1.97	26	331.85	10.69	2.64	0.46	3.48	2.63	0.86	0.75	0.4	1.05	10.29	0.23	0.24
S05	0.0	4.10	5	222.59	20.50	4.75	0.14	626.74	419.18	207.56	0.67	5.7	0.20	11.84	0.10	0.20
S06	0.9	23.76	-217	53.00	13.18	4.75	0.12	703.75	589.86	113.89	0.84	9.0	1.73	11.61	1.42	2.67
S07	1.0	1.81	24	375.89	18.49	10.57	0.50	0.76	0.00	0.76	0.00	1.8	1.21	12.82	0.08	0.18
S08	0.9	7.18	-204	130.31	24.42	35.52	0.05	96.11	84.87	11.25	0.88	5.8	1.12	11.82	0.89	1.20
S09	0.9	2.24	-26	374.59	12.30	1.18	0.41	9.18	7.51	1.67	0.82	2.4	1.13	12.18	0.44	0.64
S10	0.8	28.82	-190	82.22	28.36	3.46	0.07	310.23	230.79	79.44	0.74	3.7	1.07	12.85	0.05	1.17
S11	0.5	7.78	-68	13.13	55.82	58.46	0.01	573.56	426.69	146.87	0.74	3.6	1.08	12.19	0.09	1.15
S12	1.0	6.10	-38	527.78	10.76	24.80	0.49	543.43	351.56	191.87	0.65	1.8	11.00	12.03	0.08	0.18
S13	0.4	4.13	118	1 573.02	8.12	0.99	0.33	BD	BD	BD	-	1.6	3.72	10.01	0.02	0.14
D01	0.7	7.32	-163	728.81	16.29	1.97	0.29	220.81	206.50	14.31	0.94	3.3	1.84	12.32	0.89	2.50
D02	0.8	0.37	-214	492.93	6.08	2.36	1.11	32.92	7.79	25.13	0.24	0.7	2.03	9.17	0.04	0.08
D03	0.9	1.13	-194	120.78	23.35	3.05	0.39	216.20	178.72	37.48	0.83	1.7	0.36	13.05	0.94	1.07
D04	0.8	1.53	-160	8.86	31.32	25.09	0.02	483.18	434.22	48.96	0.90	2.2	0.36	9.28	0.08	0.88
D05	0.4	18.07	-180	1 303.37	14.28	0.62	0.36	85.32	60.41	24.91	0.71	4.6	1.95	11.13	0.29	1.48
D06	0.5	5.71	-190	726.16	9.80	2.45	0.29	95.00	86.41	8.59	0.91	4.9	2.16	8.14	1.10	1.87
D07	0.5	1.46	-227	327.32	8.74	1.87	0.75	115.58	105.94	9.64	0.92	1.0	0.76	10.65	1.12	1.63
D08	0.5	1.45	-17	40.66	31.28	0.09	0.06	23.01	11.68	11.33	0.51	1.2	0.45	12.27	0.05	0.15
D09	0.6	1.76	-220	262.35	6.74	4.45	1.57	173.00	162.00	10.00	0.94	0.6	0.77	11.07	0.67	1.23
D10	0.8	1.84	-170	92.63	15.51	3.63	0.32	119.45	103.29	16.16	0.86	0.1	0.39	12.79	1.03	2.82

BD: not detected. Units for CH₄, As_T, As(III) and As(V) are μg/L, while units for SO₄²⁻, Fe_T, Fe²⁺, DOC, NH₄⁺, NO₃⁻ and DO are mg/L.

度低于检出限外, 其余样品中 As_T 浓度在 0.76–703.75 $\mu\text{g/L}$, 平均值为 278.42 $\mu\text{g/L}$ 。 $As(III)$ 浓度在 0–589.89 $\mu\text{g/L}$, 平均浓度为 215.17 $\mu\text{g/L}$, 占 As_T 浓度的 65%–92%, 说明研究区浅层样点地下水中, 砷主要以亚砷酸盐的形式存在。深层地下水样品共 10 个, As_T 浓度在 23.01–483.18 $\mu\text{g/L}$, 平均值为 156.45 $\mu\text{g/L}$, 低于浅层地下水中总砷浓度。研究区深层样点地下水中砷同样以亚砷酸盐为主, $As(III)$ 浓度在 7.79–434.22 $\mu\text{g/L}$, 平均浓度为 135.67 $\mu\text{g/L}$ 。

前人研究中发现, 由于细菌优先使用 $^{32}\text{S-SO}_4^{2-}$, 随着硫酸盐的消耗, 剩余的硫酸盐富集在 ^{34}S 中, 稳定同位素比值的变化幅度一般在千分之几到百分之几的范围内, 这种变化通常以相对于标准物质的千分偏差(δ), 表示其相对变化, 因此,

$\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 可作为衡量地下水中微生物硫酸盐还原作用强弱的指标, 该参数越大, 生物硫酸盐还原作用越强烈^[21]。本研究中, 对硫同位素与其他水化参数结合进行相关性分析, 以探究生物硫酸盐还原强度与水化参数之间的关系。结果如图 2 所示, 深层高砷地下水中, $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 与 As_T 浓度呈显著正相关($R=0.857$, $P\leq 0.01$), 图 2B 中展示了浅层地下水中砷浓度与 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 的相关性, 可以看出, 在浅层 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 与 As_T 浓度同样具有一定相关性, 但趋势较为离散, 相关性不如深层显著。如图 2C 所示, 在浅层样点, $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 与 CH_4 浓度呈显著正相关($R=0.773$, $P\leq 0.01$)。同时, 由图 2D 可以看出, 在深、浅层地下水中, $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 均与 SO_4^{2-}/Cl^- 呈显著负相关(深层 $R=0.750$, $P\leq 0.05$; 浅层 $R=0.701$, $P\leq 0.01$)。

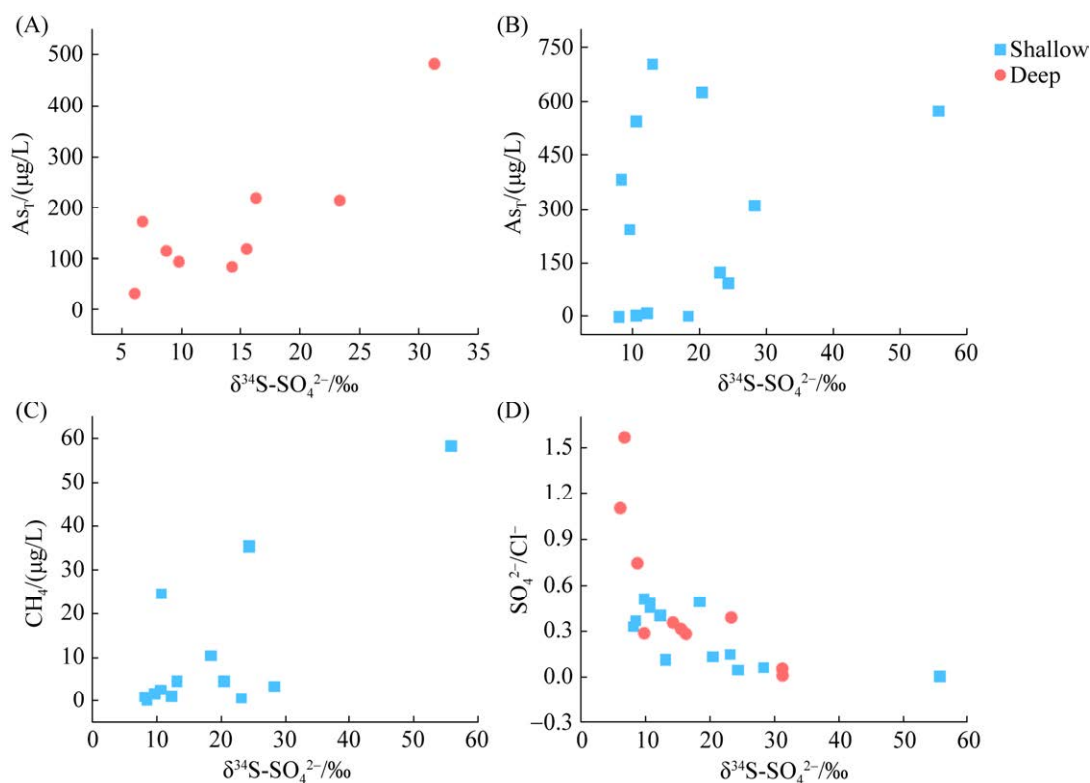


图 2 地下水硫酸盐硫同位素与水化参数关系

Figure 2 Correlations between $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ and As_T in deep groundwater (A), As_T in shallow groundwater (B), CH_4 in shallow groundwater (C), and SO_4^{2-}/Cl^- in all groundwater samples (D).

2.2 16S rRNA 基因与 *dsrB* 基因 qPCR 结果

选取全部 23 个地下水样品进行 qPCR, 其中 23 个地下水样品成功扩增出了 16S rRNA 基因, 22 个地下水样品成功扩增出了 *dsrB* 基因。16S rRNA、*dsrB* 基因拷贝数及 *dsrB* 基因相对丰度如表 2 所示。

在河套平原浅层高砷地下水中, 16S rRNA 基因拷贝数范围为 6.84×10^5 – 2.15×10^9 copies/L, *dsrB* 基因拷贝数范围为 3.22×10^4 – 3.20×10^6 copies/L, *dsrB* 基因相对丰度范围在 0.02%–8.72% 之间, 与此前针对河套平原浅层高砷地下水的研究^[12]

表 2 不同深度地下水中 *dsrB* 基因相对丰度
Table 2 Relative abundances of *dsrB* gene in groundwater with different depth

Sample	16S rRNA gene/ (copies/L)	<i>dsrB</i> gene/ (copies/L)	Relative abundance of <i>dsrB</i> gene/%
S01	2.15E+09	3.20E+06	0.15
S02	2.92E+07	7.04E+04	0.24
S03	1.24E+06	4.17E+04	3.37
S04	2.14E+06	3.22E+04	1.50
S05	3.70E+08	7.00E+04	0.02
S06	1.20E+07	4.54E+04	0.38
S07	6.90E+06	1.67E+05	2.42
S08	5.23E+06	4.56E+05	8.72
S09	9.00E+07	8.91E+04	0.10
S10	6.12E+07	1.51E+05	0.25
S11	3.48E+07	2.67E+06	7.68
S12	6.84E+05	3.75E+04	5.48
S13	2.26E+08	4.28E+05	0.19
D01	2.15E+08	2.14E+06	0.99
D02	5.27E+09	BD	BD
D03	3.52E+08	2.69E+06	0.76
D04	3.40E+08	2.89E+05	0.08
D05	1.77E+08	3.40E+06	1.92
D06	6.72E+08	6.28E+06	0.93
D07	4.48E+06	2.80E+04	0.62
D08	6.36E+08	2.03E+06	0.32
D09	6.96E+07	9.96E+05	1.43
D10	4.19E+08	4.44E+06	1.06

BD: not detected.

相比, 16S rRNA 基因拷贝数持平, 而 *dsrB* 基因拷贝数和相对丰度稍高。在深层高砷地下水中, 16S rRNA 基因拷贝数范围为 4.48×10^5 – 2.15×10^8 copies/L, *dsrB* 基因拷贝数范围为 2.80×10^4 – 6.28×10^6 copies/L, *dsrB* 基因相对丰度范围为 0.08%–1.92%。

深层地下水中的 16S rRNA 和 *dsrB* 基因拷贝数均高于浅层地下水。深层样点 16S rRNA 基因平均拷贝数为 8.16×10^8 copies/L, 浅层地下水中平均拷贝数为 2.30×10^8 copies/L; 深层样点 *dsrB* 基因平均拷贝数为 2.47×10^6 copies/L, 浅层地下水中平均拷贝数为 5.74×10^5 copies/L。

2.3 *dsrB* 基因相对丰度与水化参数相关性

对 *dsrB* 基因相对丰度与水化参数结合进行相关性分析。如图 3 所示, 深层地下水中, *dsrB* 基因相对丰度差别较小(0–1.92%), 平均相对丰度 0.90%; 而在浅层地下水中, *dsrB* 基因相对丰度较为离散(0.02%–8.72%), 平均相对丰度高于深层样点, 为 2.34%。浅层样点中 *dsrB* 基因相对丰度最高可达 8.72%, 深层样点 *dsrB* 基因最大相对丰度为 1.92%, 这 2 个样点的砷浓度都相对较低($As_T \leq 100 \mu\text{g/L}$), 同时 ORP 较低, 均 $\leq -180 \text{ mV}$, 为强还原环境。

深层高砷地下水中, *dsrB* 基因相对丰度与 SO_4^{2-} 、DOC 浓度存在显著正相关性($R=0.742$, $P \leq 0.05$; $R=0.722$, $P \leq 0.05$)。在浅层高砷地下水中, *dsrB* 基因相对丰度与 CH_4 浓度呈显著正相关($R=0.892$, $P \leq 0.01$)。

2.4 硫酸盐还原菌群落多样性

使用硫酸盐还原功能基因引物 DSR-4R/DSR-p2060F, 扩增 23 个样点 DNA 的 *dsrB* 基因, 并将产物送公司进行高通量测序, 分析其硫酸盐还原功能群落组成。本次测序共获得 15.2 万条序列, 所有环境样品中, 具有硫酸盐还原基因 *dsrB* 的微生物共划分为 264 个可操

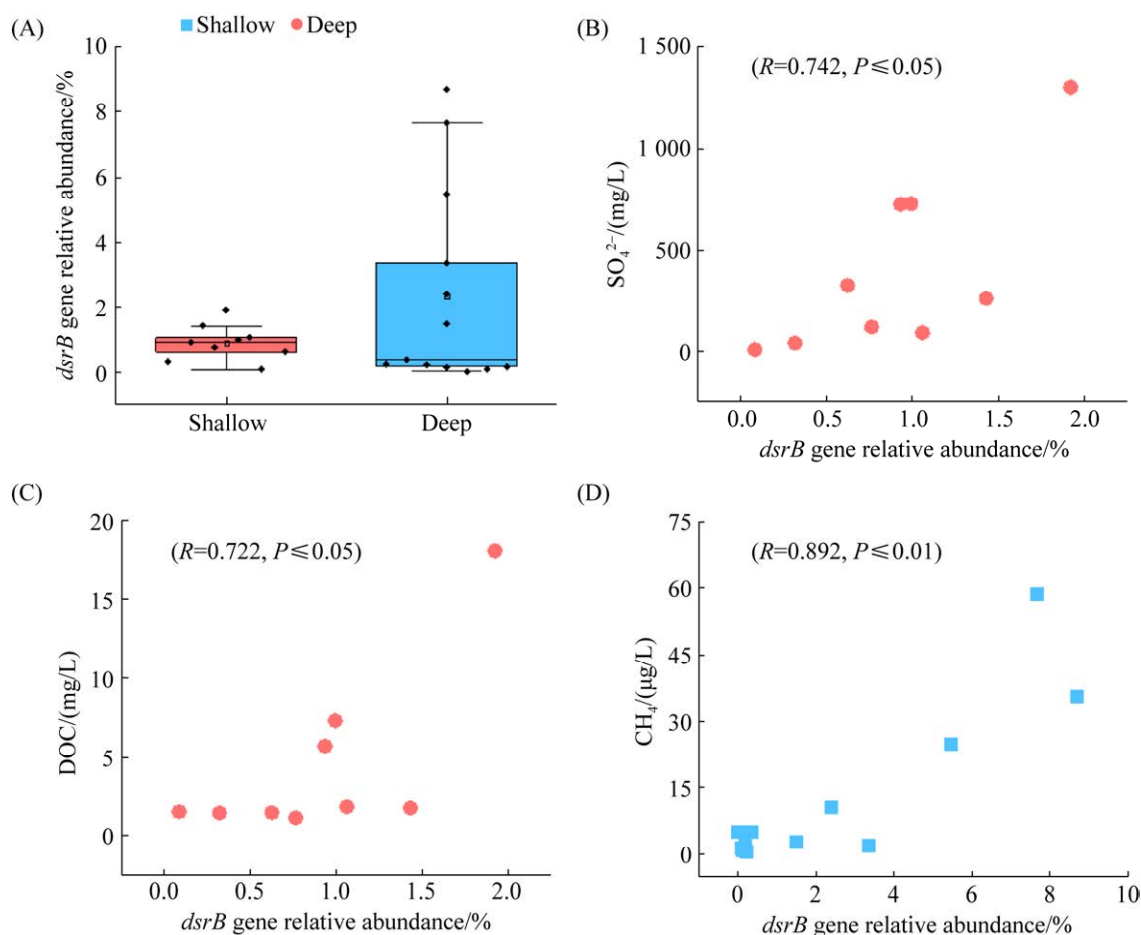


图3 高砷地下水中 *dsrB* 基因丰度及与水化相关性

Figure 3 The relative abundance of *dsrB* gene (A) in deep and shallow groundwater, respectively, and its correlations with (B) SO_4^{2-} concentrations in deep groundwater, (C) DOC concentrations in deep groundwater and (D) CH_4 concentrations in shallow groundwater.

作分类单元(operational taxonomic units, OTUs), 大多数样点覆盖率高于 95%, 结果较可靠。

对深、浅层样点硫酸盐还原菌群落组成 α 多样性进行了分析, 包括 Richness 指数、Chao1 指数、Ace 指数和 Shannon 指数。深层样点 Richness 指数范围在 36.0–135.0, 平均值为 93.3; Chao1 指数范围在 45.0–141.2, 平均值为 104.8; Ace 指数范围在 43.5–144.7, 平均值为 106.0; Shannon 指数范围在 1.6–3.7, 平均值为 3.0。浅层样点 Richness 指数范围在 10.0–95.0, 平均值为 38.9; Chao1 指数范围在 11.2–111.2, 平均值为 50.4;

Ace 指数范围在 11.9–118.4, 平均值为 52.1; Shannon 指数范围在 2.0–3.6, 平均值为 2.5。深、浅层样点 α 多样性的差异性分析中 P 值均 ≤ 0.05 , 说明深、浅层地下水中的 α 多样性存在显著差异, 深层地下水硫酸盐还原菌的 α 多样性显著高于浅层地下水。

对深、浅层高砷地下水中, 影响硫酸盐还原菌群落组成 α 多样性的水化参数进行了探究。结果如图 4 所示, 在深、浅层样点中, 影响硫酸盐还原菌 α 多样性的环境因子存在差异。在深层高砷地下水中, 硫酸盐还原菌的 α 多样性

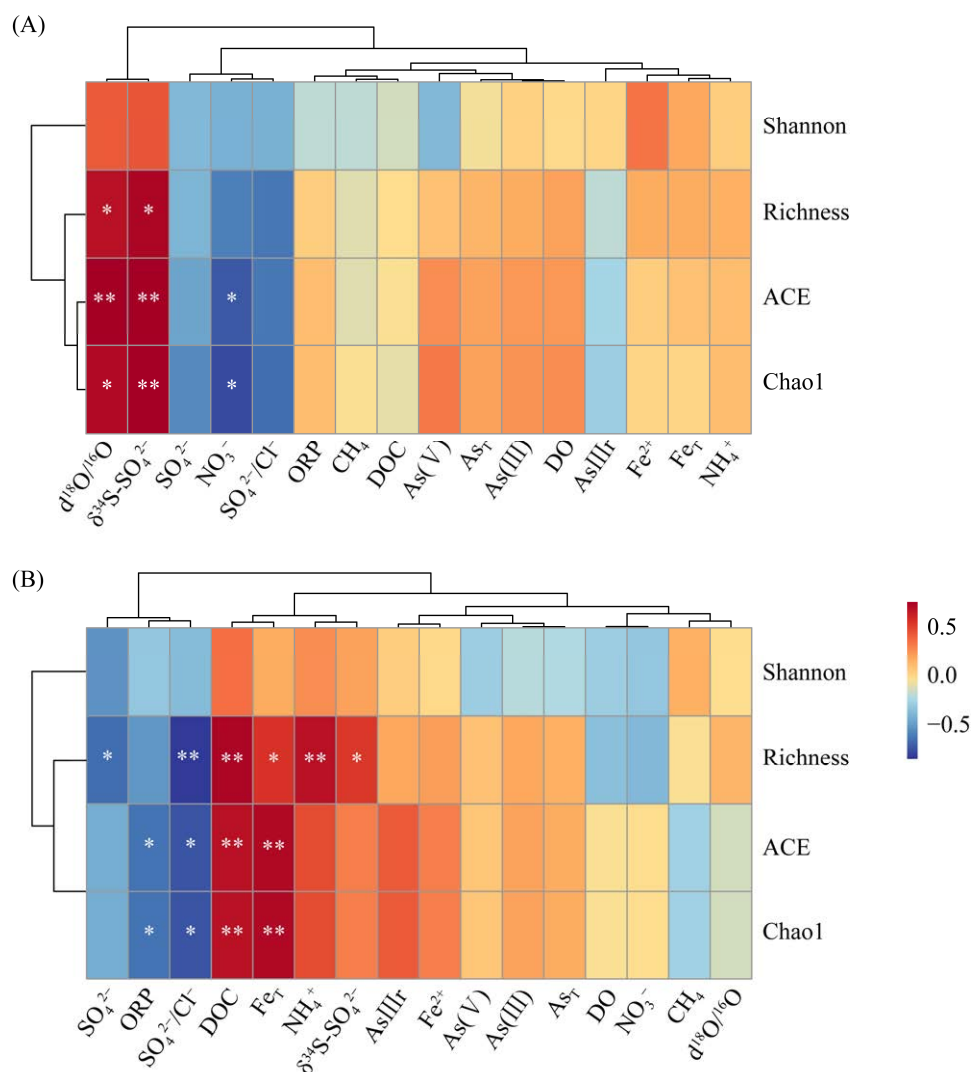


图 4 深层(A)、浅层(B)地下水中硫酸盐还原菌群落组成多样性与水化参数相关性

Figure 4 Correlation between α -diversity of sulfate-reducing bacterial community and geochemical parameters. A: deep groundwater; B: shallow groundwater. *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$.

指数与硫酸盐的 S、O 同位素呈显著正相关。在浅层高砷地下水中，硫酸盐还原菌 α 多样性与 SO_4^{2-} 浓度、ORP、 SO_4^{2-}/Cl^- 等参数呈显著负相关，与 DOC 浓度、 Fe_T 浓度、 NH_4^+ 浓度等参数呈显著正相关。

2.5 硫酸盐还原菌群落组成

对高通量测序获得的序列进行注释，按目 (order) 划分能注释 81.1% 的 OTUs，如图 5A 所

示，包括厌氧绳菌目 (*Anaerolineales*)、苔藓菌目 (*Bryobacteriales*)、脱硫杆菌目 (*Desulfobacteriales*)、脱硫弧菌目 (*Desulfovibrionales*)、真细菌目 (*Eubacteriales*)、甲烷八叠球菌目 (*Methanosarcinales*)、硝化螺旋菌目 (*Nitrospirales*)、红螺菌目 (*Rhodospirillales*)、互营杆菌目 (*Syntrophobacteriales*)、热脱硫菌目 (*Thermodesulfovibrionales*) 等 10 个目。

对深、浅层样点不同种属的平均丰度差异

进行对比。如图 5B、C 所示，发现深、浅层地下水中，硫酸盐还原菌不同种属的丰度存在一定差异。浅层地下水中 *Anaerolineales*、*Bryobacteriales*、*Desulfobacteriales*、*Eubacteriales*、*Methanosarcinales*、

Thermodesulfovibrionales 的平均丰度高于深层地下水，而 *Rhodospirillales* 在深层地下水中平均丰度较高。*Nitrospirales*、*Desulfovibrionales*、*Syntrophobacteriales* 这 3 个目在深、浅层平均丰

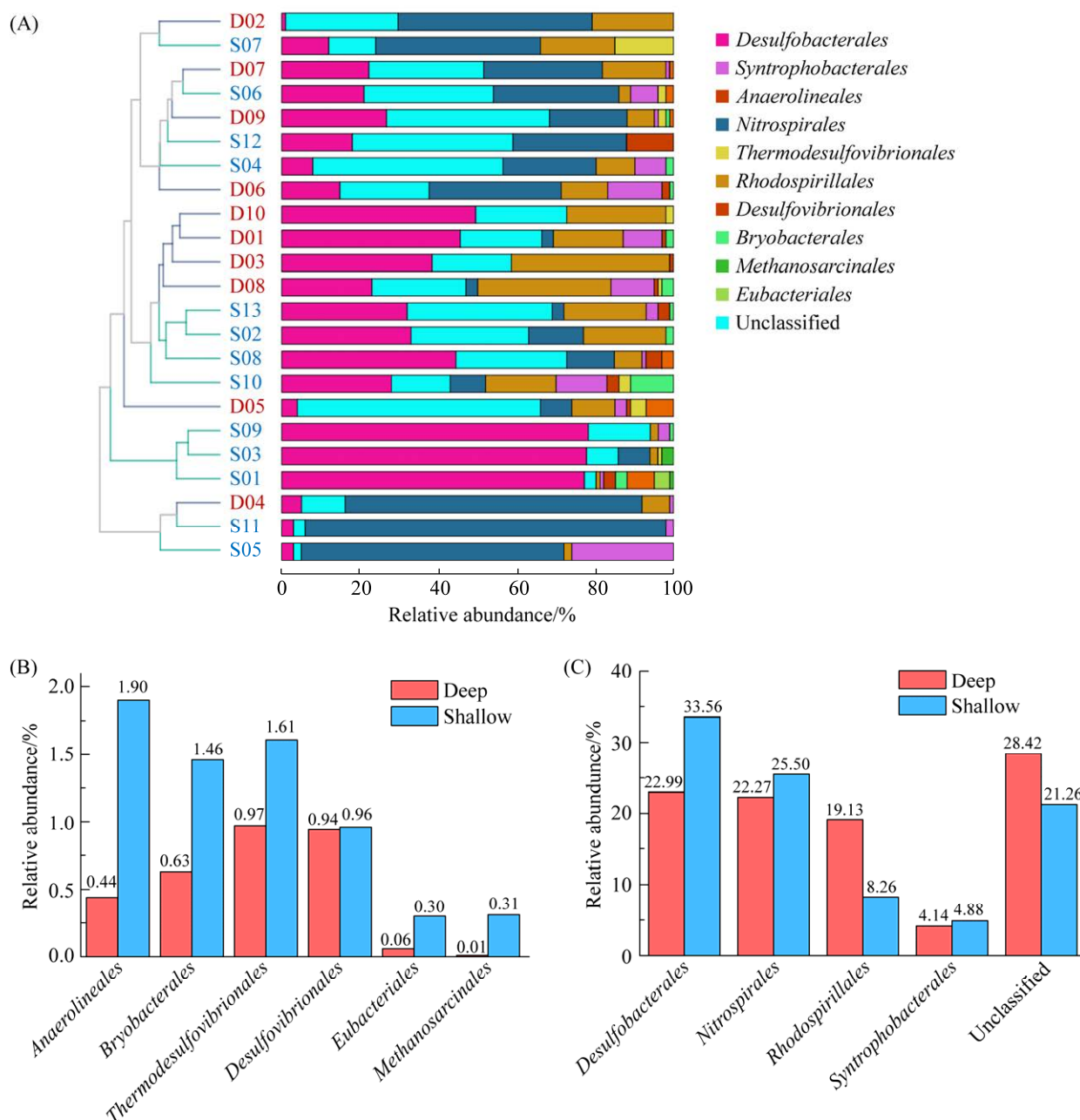


图 5 河套平原高砷地下水中硫酸盐还原菌群落组成

Figure 5 Community composition of sulfate-reducing bacteria in high As groundwater of Hetao Plain. A: UPGMA cluster tree and microbial composition at the order level; B, C: the average abundances of each order in deep and shallow groundwater samples.

度类似。此外，深层种属划分为 unclassified 的硫酸盐还原菌比例较高，说明深层地下水中可能存在较多尚未被培养或分类的硫酸盐还原菌。

2.6 深、浅层硫酸盐还原菌群落结构与水化参数相关性

将硫酸盐还原菌各种属相对丰度与研究区水化参数结合进行相关性分析,结果如图 6 所示。

硫酸盐还原功能种属分布与特定水化因子具有相关性，且在深、浅层具有不同特征。深层样点中，*Desulfobacterales* 的相对丰度与 Fe_T 、 Fe(II) 浓度呈显著正相关性，*Nitrospirales* 相对丰度与 CH_4 浓度呈显著正相关。*Anaerolineales* 的相对丰度与 NH_4^+ 呈显著正相关性。*Desulfovibrionales* 的相对丰度与 DOC 、 SO_4^{2-} 呈显著正相关性。在浅层样点，*Nitrospirales* 的相对丰度与 CH_4 、 As_T 、

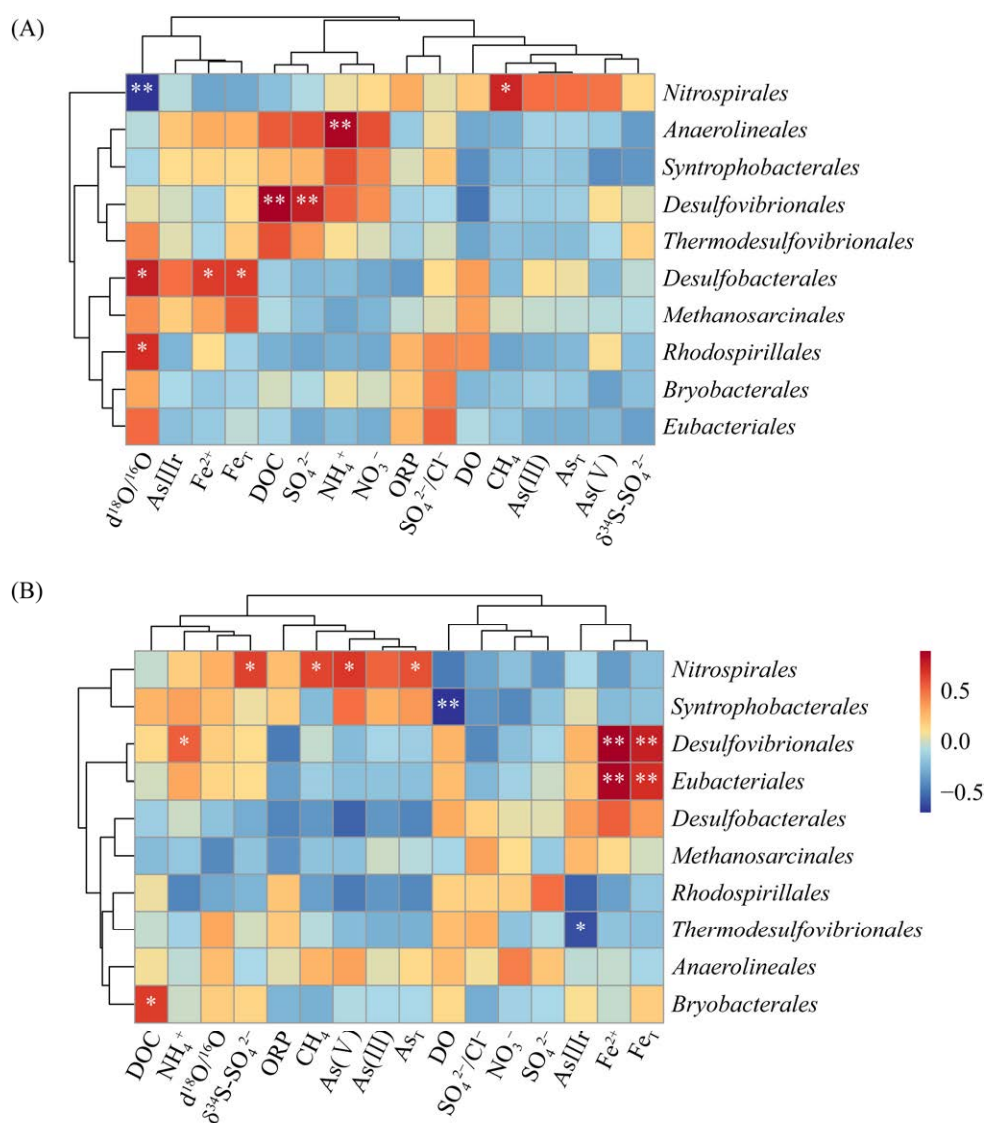


图 6 深层(A)、浅层(B)地下水中硫酸盐还原菌组成丰度与水化参数相关性

Figure 6 Correlation between the relative abundances of sulfate-reducing bacterial community and geochemical parameters. A: deep groundwater; B: shallow groundwater. *: $P \leq 0.05$, **: $P \leq 0.01$.

As(V)、 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 呈正相关, *Syntrophobacterales* 相对丰度与 DO 呈显著负相关, *Desulfovibrionales*、*Eubacteriales* 的相对丰度均与 Fe_T 、 Fe(II) 呈显著正相关。

RDA 分析可以显示不同水化因子与硫酸盐还原菌群落组成之间的关系。经筛选后, 如图 7 所示, 环境因子箭头长短表示其对于微生物群落的影响程度, 环境因子箭头间的夹角代表正、负相关性, 夹角呈锐角, 为正相关, 呈钝角, 为负相关。物种到环境因子的垂直距离越小, 影响越大。第 1 排序轴与第 2 排序轴解释度分别为 74.62% 和 14.95%。可见 As_T 浓度、 CH_4 浓度和 Fe^{2+} 浓度是控制研究区地下水中硫酸盐还原菌群落分布的关键环境因子, 同时 As_T 浓度与 CH_4 浓度呈现正相关。 As_T 浓度与 CH_4 浓度对 *Nitrospirales* 的分布具有重要影响, 而 Fe^{2+} 浓度对 *Desulfobacterales* 的分布具有重要影响。

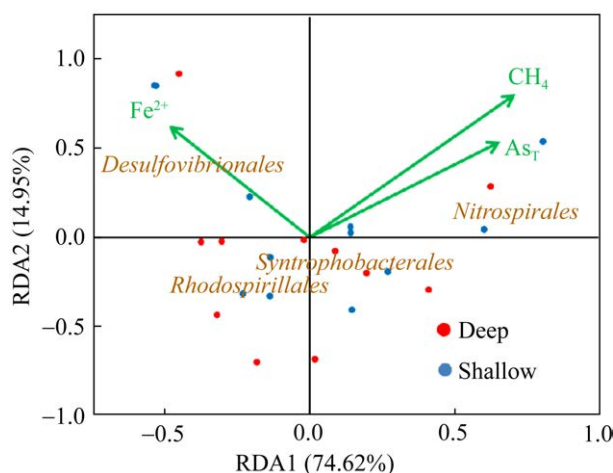


图 7 目水平硫酸盐还原菌的 RDA 分析(平均丰度 $\geq 2\%$ 的目在图中显示)

Figure 7 RDA of sulfate-reducing bacteria at order level. Orders with an average abundance $\geq 2\%$ are shown in the figure.

3 讨论

3.1 研究区不同深度高砷地下水水化特征

由于研究区高砷地下水 ORP 较低, 为还原型地下水, 砷主要以亚砷酸盐的形式存在。深层地下水 As_T 浓度低于浅层地下水中 As_T 浓度, 这可能是由于浅层地下水受水岩相互作用和人为影响更为强烈, 产生的砷污染更为严重^[3]。前人对于大同盆地高砷地下水的研究表明, 该地区地下水中较高的 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 值是由广泛的生物硫酸盐还原导致的, 地下水中 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 随砷浓度上升而升高^[21-22]。对于河套高砷地下水的也研究指出, 沿地下水流动路径, 地下水中 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 上升, 平原区地下水中砷浓度与 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 呈正相关, 细菌硫酸盐还原是导致这种趋势的主要原因^[23]。本研究中, 深层高砷地下水中 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 与 As_T 浓度呈显著正相关, 说明在深层样点中, 微生物硫酸盐还原过程可能伴随着砷的释放。在浅层 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 与 As_T 浓度同样具有一定相关性, 但趋势较为离散, 表明本研究区浅层高砷地下水中砷的释放与生物硫酸盐过程相关, 但同时受到多种生物地球化学作用的影响。浅层样点, $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 与 CH_4 浓度呈显著正相关, 暗示在浅层高砷地下水中, 生物硫酸盐还原过程可能与产甲烷过程同时发生, 这可能是导致浅层 CH_4 浓度较高的原因。同时, 在深、浅层地下水中, $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 均与 $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ 呈显著负相关, 与前人研究结果相似^[23], 说明生物硫酸盐还原作用较强的地下水中, 硫酸盐浓度较低。

3.2 硫酸盐还原菌相对丰度及其指示意义

深层高砷地下水中, *dsrB* 基因相对丰度与 SO_4^{2-} 、DOC 浓度存在显著正相关性, 说明在深层高砷含水层中, 硫酸盐还原菌可能主要以 DOC 作为碳源和电子供体还原 SO_4^{2-} 。以往的

研究中, 水体 SO_4^{2-} 浓度并不一定是影响硫酸盐还原菌相对丰度的关键因子^[12,24-25], 但本研究区深层高砷地下水中, 硫酸盐浓度高的样点硫酸盐还原菌相对丰度更高, 说明较高浓度的硫酸盐可能有利于硫酸盐还原菌的生长繁殖^[26]。

在浅层高砷地下水中, *dsrB* 基因相对丰度与 CH_4 浓度呈显著正相关, 结合本研究水化分析部分, 浅层样点的 $\delta^{34}\text{S}\text{-SO}_4^{2-}$ 与 CH_4 浓度呈显著正相关, 暗示浅层高砷地下水中生物硫酸盐还原过程可能与产甲烷过程同时发生。硫酸盐还原菌和产甲烷菌均可以利用乙酸和 H_2 作为基质, 所以以往的研究认为它们在一定程度上存在竞争关系。但近年来有研究指出, 在氧化还原过渡带水环境中, 一些硫酸盐还原菌可以改变代谢途径产生 H_2 并与产甲烷菌扮演互营菌的角色^[27-28], 地下水环境中硫酸盐还原菌与产甲烷菌的共生现象也曾被报道过^[29]。前人对厌氧发酵影响的研究结果表明, 硫酸盐的添加促进了反应器中硫酸盐还原菌降解丙酸的速率, 进而减少了丙酸对产甲烷菌的抑制作用, 从而促进了产甲烷过程^[30]。对越南浅层高砷含水层的研究也指出, 在浅层氧化还原过渡带地下水中, 发酵产甲烷、 SO_4^{2-} 还原与硫氧化过程可能同时发生, 从而导致浅层高砷地下水中 CH_4 浓度更高而 SO_4^{2-} 浓度更低^[31-32]。以上结果说明在本研究区的浅层高砷地下水中, 硫酸盐还原菌可能与产甲烷菌存在一定的共生关系。 CH_4 浓度影响硫酸盐还原过程的原因与具体机制还有待进一步探究。

3.3 研究区硫酸盐还原菌群落结构分析

影响深、浅层高砷地下水中硫酸盐还原菌群落 α 多样性的水化参数存在显著差异, 且深层样点硫酸盐还原菌的 α 多样性显著高于浅层样点, 说明深层地下水中硫酸盐还原菌的种属构成更丰富。水化分析结果表明, 浅层地下水

中 As_T 浓度显著高于深层地下水, 与前人研究中砷浓度较低的地下水中, 微生物多样性高于高砷地下水的结论相符^[19,33]。在深层高砷地下水中, 硫酸盐还原菌的 α 多样性指数与硫酸盐的 S、O 同位素呈显著正相关, 说明在生物硫酸盐还原过程更强的样点中, 硫酸盐还原菌的 α 多样性更高, 种属构成更丰富。在浅层高砷地下水中, 硫酸盐还原菌 α 多样性与 SO_4^{2-} 浓度、ORP、 $\text{SO}_4^{2-}/\text{Cl}^-$ 呈显著负相关, 与 DOC 浓度、 Fe_T 浓度、 NH_4^+ 浓度等呈显著正相关, 表明在高硫酸盐含量的浅层样点中, 硫酸盐还原菌种属构成更单一, 而有机质含量较高的浅层样点, 硫酸盐还原菌种属构成更丰富。

研究区高砷地下水中的硫酸盐还原菌包括 *Desulfobacterales*、*Nitrospirales*、*Rhodospirillales*、*Syntrophobacterales* 等 9 个目, 其中 *Desulfobacterales* 与 *Nitrospirales* 相对占比最高, 说明研究区地下水中的硫酸盐还原菌以这 2 个目为主。*Desulfobacterales* 是典型的脱硫菌属, 在海洋、湖泊、地下水等水体中广泛存在, 是被用于砷污染生物修复的主要种属之一^[7]。*Nitrospirales* 属于硝化细菌, 能通过硝化作用将氨转化为亚硝酸盐, 再进一步转化为硝酸盐。已有研究表明部分种属的 *Nitrospirales* 具有硫酸盐还原功能^[34-35], 且具有一定的耐砷功能, 是砷污染尾矿废水中的优势种属之一^[36], 河套平原高砷地下水也曾报道过硝化螺旋菌的存在^[37-38]。不同目的硫酸盐还原菌在深浅、层的相对丰度存在一定差异。

硫酸盐还原功能种属分布与特定水化因子具有相关性, 且在深、浅层具有不同特征。深层样点中, *Anaerolineales* 的相对丰度与 NH_4^+ 呈显著正相关性, 与前人研究结果类似^[39-40], 在深层地下水中, *Anaerolineales* 可能在进行硫酸盐还原的同时进行氨氧化。*Desulfovibrionales* 的相对丰

度与 DOC、 SO_4^{2-} 呈显著正相关性。在浅层样点, *Nitrospirales* 的相对丰度与 CH_4 、 As_T 、 As(V) 、 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 呈正相关, *Syntrophobacterales* 相对丰度与 DO 呈显著负相关, *Desulfovibrionales*、*Eubacteriales* 的相对丰度均与 Fe_T 、 Fe(II) 呈显著正相关。以上结果说明, 在砷浓度更高的浅层地下水中, 硫酸盐还原菌中的 *Nitrospirales* 类群在砷的迁移转化中可能起到关键作用, 并且这种作用可能与甲烷代谢相关。

RDA 分析结果显示 As_T 浓度、 CH_4 浓度和 Fe^{2+} 浓度是控制研究区硫酸盐还原菌群落分布的关键环境因子, 同时 As_T 浓度与 CH_4 浓度呈现正相关, 这与前人的研究中产甲烷作用可能加速河套平原地下水中砷的释放的结论一致^[6]。

4 结论

不同含水层高砷地下水中硫酸盐还原菌的丰度、 α 多样性和群落结构均不同。浅层高砷地下水中 *dsrB* 基因相对丰度高于深层地下水, 丰度与 CH_4 浓度呈显著正相关; 而深层高砷地下水中 *dsrB* 基因相对丰度与 SO_4^{2-} 、DOC 浓度存在显著正相关性。深层地下水中硫酸盐还原菌的 α 多样性显著高于浅层, 多样性与 DOC 浓度、 NH_4^+ 浓度、 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 等理化因子呈正相关。研究区中硫酸盐还原菌以 *Desulfobacterales*、*Nitrospirales*、*Rhodospirillales*、*Syntrophobacterales* 这 4 个平均相对丰度 $\geq 2\%$ 的目为主。其中浅层样点中 *Nitrospirales* 的相对丰度与 CH_4 浓度、 As_T 浓度、 As(V) 浓度、 $\delta^{34}\text{S-SO}_4^{2-}$ 正相关, 指示出硫酸盐还原菌中 *Nitrospirales* 类群在砷的迁移转化中可能起到关键作用。总体来说, As_T 浓度、 CH_4 浓度和 Fe^{2+} 浓度是控制研究区地下水中硫酸盐还原菌群落分布的关键环境因子。

参考文献

- [1] Bhattacharya P, Naidu R, Polya DA, Mukherjee A, Bundschuh J, Charlet L. Arsenic in hydrological processes-sources, speciation, bioavailability and management. *Journal of Hydrology*, 2014, 518: 279–283.
- [2] Wang YX, Li JX, Ma T, Xie XJ, Deng YM, Gan YQ. Genesis of geogenic contaminated groundwater: As, F and I. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 2021, 51(24): 2895–2933.
- [3] Guo HM, Wen DG, Liu ZY, Jia YF, Guo Q. A review of high arsenic groundwater in Mainland and Taiwan, China: distribution, characteristics and geochemical processes. *Applied Geochemistry*, 2014, 41: 196–217.
- [4] Li P, Jiang Z, Wang YH, Deng Y, van Nostrand JD, Yuan T, Liu H, Wei DZ, Zhou JZ. Analysis of the functional gene structure and metabolic potential of microbial community in high arsenic groundwater. *Water Research*, 2017, 123: 268–276.
- [5] Chen C, Li L Y, Huang K, Zhang J, Xie WY, Lu YH, Dong XZ, Zhao FJ. Sulfate-reducing bacteria and methanogens are involved in arsenic methylation and demethylation in paddy soils. *The ISME Journal*, 2019, 13(10): 2523–2535.
- [6] Wang YH, Li P, Dai XY, Zhang R, Jiang Z, Jiang DW, Wang YX. Abundance and diversity of methanogens: potential role in high arsenic groundwater in Hetao Plain of Inner Mongolia, China. *Science of the Total Environment*, 2015, 515/516: 153–161.
- [7] Alam R, McPhedran K. Applications of biological sulfate reduction for remediation of arsenic—a review. *Chemosphere*, 2019, 222: 932–944.
- [8] Giloteaux L, Duran R, Casiot C, Bruneel O, Elbaz-Poulichet F, Goñi-Urriza M. Three-year survey of sulfate-reducing bacteria community structure in Carnoulès acid mine drainage (France), highly contaminated by arsenic. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 83(3): 724–737.
- [9] Enoch A. Diversity and performance of sulphate-reducing bacteria in acid mine drainage remediation systems: frontiers in Water-Energy-Nexus. Italy: Technology & Innovation, 2020: 2522–8714.
- [10] Crognale S, Zecchin S, Amalfitano S, Fazi S, Casentini B, Corsini A, Cavalca L, Rossetti S. Phylogenetic structure and metabolic properties of microbial communities in arsenic-rich waters of geothermal origin. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 2468.

- [11] 沈甲星. 高砷地下水中土著微生物多样性及控制因素——以内蒙古河套盆地为例. 中国地质大学(北京)硕士学位论文, 2017.
- [12] Li P, Li B, Webster G, Wang YH, Jiang DW, Dai XY, Jiang Z, Dong HL, Wang YX. Abundance and diversity of sulfate-reducing bacteria in high arsenic shallow aquifers. *Geomicrobiology Journal*, 2014, 31(9): 802–812.
- [13] Zhang Z, Guo HM, Zhao WG, Liu S, Cao YS, Jia YF. Influences of groundwater extraction on flow dynamics and arsenic levels in the western Hetao Basin, Inner Mongolia, China. *Hydrogeology Journal*, 2018, 26(5): 1499–1512.
- [14] 高存荣, 刘文波, 冯翠娥, 陈有鑑, 张国, 宋建新. 干旱、半干旱地区高砷地下水形成机理研究: 以中国内蒙古河套平原为例. 地学前缘, 2014, 21(4): 13–29.
- [15] Gao CR, Liu WB, Feng CE, Chen YJ, Zhang G, Song JX. Research on the formation mechanism of high arsenic groundwater in arid and semi-arid regions: a case study of Hetao Plain in Inner Mongolia, China. *Earth Science Frontiers*, 2014, 21(4): 13–29. (in Chinese)
- [16] Guo HM, Zhang B, Wang GC, Shen ZL. Geochemical controls on arsenic and rare earth elements approximately along a groundwater flow path in the shallow aquifer of the Hetao Basin, Inner Mongolia. *Chemical Geology*, 2010, 270(1/4): 117–125.
- [17] Guo HM, Yang SZ, Tang XH, Li Y, Shen ZL. Groundwater geochemistry and its implications for arsenic mobilization in shallow aquifers of the Hetao Basin, Inner Mongolia. *Science of The Total Environment*, 2008, 393(1): 131–144.
- [18] Zhang YL, Cao WG, Wang WZ, Dong QY. Distribution of groundwater arsenic and hydraulic gradient along the shallow groundwater flow-path in Hetao Plain, northern China. *Journal of Geochemical Exploration*, 2013, 135: 31–39.
- [19] Wang YH, Li P, Jiang Z, Liu H, Wei DZ, Wang HL, Wang YX. Diversity and abundance of arsenic methylating microorganisms in high arsenic groundwater from Hetao Plain of Inner Mongolia, China. *Ecotoxicology*, 2018, 27(8): 1047–1057.
- [20] Wang YH, Li P, Jiang Z, Sinkkonen A, Wang S, Tu J, Wei DZ, Dong HL, Wang YX. Microbial community of high arsenic groundwater in agricultural irrigation area of Hetao Plain, Inner Mongolia. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1917.
- [21] Wang Q, Alowaifeer A, Kerner P, Balasubramanian N, Patterson A, Christian W, Tarver A, Dore JE, Hatzenpichler R, Bothner B, McDermott TR. Aerobic bacterial methane synthesis. *PNAS*, 2021, 118(27): e2019229118.
- [22] Xie XJ, Wang YX, Ellis A, Li JX, Su CL, Duan MY. Multiple isotope (O, S and C) approach elucidates the enrichment of arsenic in the groundwater from the Datong Basin, northern China. *Journal of Hydrology*, 2013, 498: 103–112.
- [23] Wang YX, Xie XJ, Johnson TM, Lundstrom CC, Ellis A, Wang XL, Duan MY, Li JX. Coupled iron, sulfur and carbon isotope evidences for arsenic enrichment in groundwater. *Journal of Hydrology*, 2014, 519(PA): 414–422.
- [24] Guo HM, Zhou YZ, Jia YF, Tang XH, Li XF, Shen MM, Lu H, Han SB, Wei C, Norra S, Zhang FC. Sulfur cycling-related biogeochemical processes of arsenic mobilization in the western Hetao Basin, China: evidence from multiple isotope approaches. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(23): 12650–12659.
- [25] Hausmann B, Knorr KH, Schreck K, Tringe SG, Glavina del Rio T, Loy A, Pester M. Consortia of low-abundance bacteria drive sulfate reduction-dependent degradation of fermentation products in peat soil microcosms. *The ISME Journal*, 2016, 10(10): 2365–2375.
- [26] Niu ZS, Pan H, Guo XP, Lu DP, Feng JN, Chen YR, Tou FY, Liu M, Yang Y. Sulphate-reducing bacteria (SRB) in the Yangtze Estuary sediments: abundance, distribution and implications for the bioavailability of metals. *The Science of the Total Environment*, 2018, 634: 296–304.
- [27] 陈默, 张雅庆, 焦一滢, 陈俊辰, 包雲舟, 赵丽娅, 宋慧婷, 李兆华. 菹草残体厌氧分解过程中上覆水的硫酸盐还原特征. 环境科学学报, 2020, 40(1): 197–204.
- [28] Chen M, Zhang YQ, Jiao YY, Chen JC, Bao YZ, Zhao LY, Song HT, Li ZH. Sulfate reduction in the water column during anaerobic decomposition of *Potamogeton crispus* L. residue. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2020, 40(1): 197–204. (in Chinese)
- [29] 张小元, 李香真, 李家宝. 微生物互营产甲烷研究进展. 应用与环境生物学报, 2016, 22(1): 156–166.
- [30] Zhang XY, Li XZ, Li JB. Microbial syntrophic methanogenesis: a review. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2016, 22(1): 156–166. (in Chinese)
- [31] Liu Y, Zhang Y, Ni BJ. Zero valent iron simultaneously

- enhances methane production and sulfate reduction in anaerobic granular sludge reactors. *Water Research*, 2015, 75: 292–300.
- [29] 汤浩. 煤系地下水硫酸盐还原菌和产甲烷菌的共生性研究. 合肥工业大学硕士学位论文, 2014.
- [30] 夏涛. 硫酸盐还原菌对厌氧消化促进作用的研究. 南京农业大学硕士学位论文, 2008.
- [31] Glodowska M, Stopelli E, Straub D, Vu Thi D, Trang PTK, Viet PH, Members AT, Berg M, Kappler A, Kleindienst S. 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.
- [32] Glodowska M, Schneider M, Eiche E, Kontny A, Neumann T, Straub D, Berg M, Prommer H, Bostick BC, Nghiem AA, Kleindienst S, Kappler A. Fermentation, methanotrophy and methanogenesis influence sedimentary Fe and As dynamics in As-affected aquifers in Vietnam. *The Science of the Total Environment*, 2021, 779: 146501.
- [33] Jiang Z, Li P, Wang YH, Liu H, Wei DZ, Yuan CG, Wang HL. Arsenic mobilization in a high arsenic groundwater revealed by metagenomic and Geochip analyses. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 12972.
- [34] Umezawa K, Kojima H, Kato Y, Fukui M. Disproportionation of inorganic sulfur compounds by a novel autotrophic bacterium belonging to Nitrospirota. *Systematic and Applied Microbiology*, 2020, 43(5): 126110.
- [35] Sun W, Xiao E, Pu Z, Krumins V, Dong Y, Li B, Hu M. Paddy soil microbial communities driven by environment- and microbe-microbe interactions: a case study of elevation-resolved microbial communities in a rice terrace. *Science of the Total Environment*, 2018, 612: 884–893.
- [36] 张堃, 徐颖, 周媛, 黄华枝, 廖俊杰, 李林, 朱永闯, 廖斌, 梁洁良, 李金天. 砷尾矿污染土壤的细菌群落结构多样性及其相关环境影响因子分析. *生态环境学报*, 2021, 30(2): 391–399.
- Zhang K, Xu Y, Zhou Y, Huang HZ, Liao JJ, Li L, Zhu YC, Liao B, Liang JL, Li JT. Analysis of microbial community structure and environmental impact factors of arsenic mine tailings. *Ecology and Environmental Sciences*, 2021, 30(2): 391–399. (in Chinese)
- [37] Li P, Jiang DW, Li B, Dai XY, Wang YH, Jiang Z, Wang YX. Comparative survey of bacterial and archaeal communities in high arsenic shallow aquifers using 454 pyrosequencing and traditional methods. *Ecotoxicology*, 2014, 23(10): 1878–1889.
- [38] Wang YH, Li P, Jiang DW, Li B, Dai XY, Jiang Z, Wang YX. Vertical distribution of bacterial communities in high arsenic sediments of Hetao Plain, Inner Mongolia. *Ecotoxicology*, 2014, 23(10): 1890–1899.
- [39] Zhu P, Wang YP, Shi TT, Zhang XL, Huang GQ, Gong J. Intertidal zonation affects diversity and functional potentials of bacteria in surface sediments: a case study of the Golden Bay mangrove, China. *Applied Soil Ecology*, 2018, 130: 159–168.
- [40] 王怡静, 夏晶晶, 于景丽, 希尼尼根, 李传虹, 李新, 芦燕. 水分驱动半干旱区河流沉积物/土壤厌氧细菌群落的空间异质性. *微生物学通报*, 2020, 47(9): 2807–2821.
- Wang YJ, Xia JJ, Yu JL, Xininigen, Li CH, Li X, Lu Y. Moisture determined spatial heterogeneity of river sediment/soil *Anaerolineaceae* communities in semiarid region. *Microbiology China*, 2020, 47(9): 2807–2821. (in Chinese)



王艳红, 中国地质大学(武汉)生物地质与环境地质国家重点实验室副研究员。从事微生物介导的元素地球化学循环研究, 尤其关注地下水系统中与砷、碳、铁、硫等循环相关的微生物地球化学过程和机理研究。先后主持国家自然科学基金面上项目、国家自然科学基金青年基金项目, 并参与多项国家自然科学基金项目。已在 *Journal of Hazardous Materials*、*Science of the Total Environment*、*Frontiers in Microbiology*、*Journal of Environmental Sciences*、*Geomicrobiology Journal* 等专业刊物上发表学术论文 20 余篇。