



滇藏热泉 *arxA* 基因型厌氧砷氧化原核微生物多样性及其影响因素

闫广盛¹, 马力¹, 王露霞¹, 于志成¹, 杨渐¹, 普布多吉², 吴耿^{1*}, 蒋宏忱¹

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 西藏自治区高原生物研究所, 西藏 拉萨 850000

闫广盛, 马力, 王露霞, 于志成, 杨渐, 普布多吉, 吴耿, 蒋宏忱. 滇藏热泉 *arxA* 基因型厌氧砷氧化原核微生物多样性及其影响因素. 微生物学报, 2022, 62(6): 1986–2000.

Yan Guangsheng, Ma Li, Wang Luxia, Yu Zhicheng, Yang Jian, Dorji Phurbu, Wu Geng, Jiang Hongchen. Diversity of arsenic-oxidizing prokaryotes containing *arxA* gene in Yunnan-Tibet hot springs and the influencing factors. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(6): 1986–2000.

摘要: 【目的】探究滇藏地区热泉沉积物微生物及 *arxA* 基因的多样性及其影响因素。【方法】采用 Illumina MiSeq 高通量测序技术和统计学的分析方法, 针对 3 个滇藏地热区的 22 个样点, 进行地球化学分析及微生物多样性分析, 并分析其与环境因子之间的相关性。【结果】沉积物微生物群落主要门类及其丰度占比为 *Chloroflexi* (21.27%)、*Deinococcus-Thermus* (17.25%)、*Aquificae* (13.39%)、*Proteobacteria* (9.27%)、*Acetothermia* (8.3%)、*Bacteroidetes* (4.96%) 与 *Crenarchaeota* (4.57%); 具有 *arxA* 基因的微生物主要门类及其丰度占比分别为 *Proteobacteria* (64.87%)、*Bipolaricaulota* (9.55%)、*Deinococcus-Thermus* (6.42%) 与 *Crenarchaeota* (4.05%); 不同地热区优势种群有所差异, 主要受温度、pH 值、砷浓度、总溶解固体(TDS)及海拔等因素的影响, Mantel 检验呈显著相关性($P < 0.001$)。【结论】沉积物中具有 *arxA* 基因的微生物主要以 *Proteobacteria* 为主; 不同地热区受到不同环境因子及地理隔离因素的影响, 优势群落存在一定地理分布差异; 然而, 其中具有 *arxA* 基因的微生物与 pH 值无相关性, 主要受控于海拔、砷浓度、TDS 与空间因素等, 体现了此类微生物生理代谢特征的差异性与特殊性。

关键词: 滇藏地区; 热泉; 砷氧化; *arxA* 基因

基金项目: 国家自然科学基金(41877023, 41861134028)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (41877023, 41861134028)

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

Received: 2 May 2022; Revised: 24 May 2022; Published online: 31 May 2022

Diversity of arsenic-oxidizing prokaryotes containing *arsA* gene in Yunnan-Tibet hot springs and the influencing factors

YAN Guangsheng¹, MA Li¹, WANG Luxia¹, YU Zhicheng¹, YANG Jian¹, Dorji Phurbu², WU Geng^{1*}, JIANG Hongchen¹

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

² Tibet Plateau Institute of Biology, Lhasa 850000, Tibet, China

Abstract: [Objective] To study the diversity of microorganisms in sediments of hot springs in Yunnan and Tibet, the existence of *arsA* in them, and the influencing factors. [Methods] Illumina MiSeq and statistical analysis were employed for geochemical analysis and microbial diversity analysis of the 22 samples in 3 geothermal areas in Yunnan and Tibet and the relationship between the microorganisms and environmental factors was elucidated. [Results] The dominant phyla in the sediments were *Chloroflexi* (abundance: 21.27%), *Deinococcus-Thermus* (abundance: 17.25%), *Aquificae* (abundance: 13.39%), *Proteobacteria* (abundance: 9.27%), *Acetothermia* (abundance: 8.3%), *Bacteroidetes* (abundance: 4.96%), and *Crenarchaeota* (abundance: 4.57%). *arsA* gene-harboring phyla were *Proteobacteria* (abundance: 64.87%), *Bipolaricaulota* (abundance: 9.55%), *Deinococcus-Thermus* (abundance: 6.42%), and *Crenarchaeota* (abundance: 4.05%). The dominant populations were different among the geothermal areas, which was mainly caused by the temperature, pH, arsenic content, total dissolved solids (TDS), and altitude, as manifested by the significant correlation ($P < 0.001$) between the microorganisms and the environmental factors verified by Mantel test. [Conclusion] *arsA* gene-harboring microorganisms in the sediments of hot springs were dominated by *Proteobacteria* and were affected by environmental factors and geographical isolation. They exhibited geographical distribution pattern, as indicated by unique dominant microbial groups in different geothermal areas. In contrast, the *arsA* gene-containing microbial groups showed no correlation with pH, but were mainly influenced by altitude, arsenic content, TDS, and spatial variables. This suggests the unique physiological characteristics of them among the whole microbial communities.

Keywords: Yunnan and Tibet; hot springs; arsenic oxidation; *arsA* gene

砷(arsenic, As)是自然界中分布极为广泛的一种有毒类金属元素,广泛存在于金属矿区、地下水、农田以及热泉等自然环境中,参与地球上众多的生物地球化学循环过程^[1-2]。自然界中的砷形态众多,有价态 As^{3-} 、 As^0 、 As^{3+} 与 As^{5+} , 溶解态的砷主要存在价态为 As^{3+} 与 As^{5+} ^[3]。矿物是砷的主要赋存形式,通常砷会以吸附态的形式存在于矿物(比如水铁矿和氧化铝等)表面,自然界中的含砷矿物有 200 多种,比如砷黄铁

矿($FeAsS$)、雄黄(AsS)、雌黄(As_2S_3)、臭葱石($FeAsO_4 \cdot 2H_2O$)等,其中砷黄铁矿在自然界中的丰度最高^[4-5]。环境中砷的来源主要有自然和人为过程两部分^[6],自然过程有岩浆活动、含砷硫化物的氧化(如雄黄矿、富砷黄铁矿等)、微生物介导的砷转化、陆地或水中含砷矿物的风化等^[7-10]。人为来源包括含砷煤炭的燃烧、矿物的开采与冶炼、含砷工农业废水的排放、二甲胂酸等农药杀虫剂的使用等^[6,11-13]。砷的形态、

毒性和迁移性会受到水文、矿物学、化学形态及生物作用的共同影响,其中,微生物介导的砷转化是环境砷行为的主要影响因素^[14]。

微生物参与砷形态的转化的途径包括氧化还原、甲基化与脱甲基、巯基化与脱巯基等,多种功能基因参与了不同的砷代谢过程^[15-17]。其中,砷氧化是指微生物通过位于细胞周质空间的砷氧化酶(arsenite oxidase)将 As^{3+} 氧化成 As^{5+} 的过程^[18],这一类微生物被称为砷氧化微生物(arsenic oxidizing bacteria)。根据代谢机制的不同,砷氧化微生物又被分为异养型(heterotrophic arsenite oxidizers, HAOs)与化能无机自养型(chemolithoautotrophic arsenite oxidizers, CAOs)。其中 HAOs 必须借助外加有机碳源获取能量将 As^{3+} 氧化成 As^{5+} ,是微生物自身的氧化解毒过程^[19];而 CAOs 以 As^{3+} 作为电子供体, O_2 (好氧)或含氧酸根(厌氧,包括硝酸根等)作为电子受体,从而实现 As^{3+} 氧化并产生能量固定 CO_2 用于自身生长^[20]。目前研究最透彻的砷氧化酶是 AioA (又叫 AroA、AoxA 和 AsoA),编码基因是 *aioA* 基因。*aioA* 基因广泛存在于原核生物中,这些微生物不仅门类多样,而且功能也各有差异。例如异养型砷氧化微生物 *Thermus* HR13 既能氧化 As^{3+} ,又能在厌氧环境下还原 As^{5+} ^[21]。再如兼性微生物 *Rhizobium* NT-26^[22],该微生物能在好氧环境下氧化 As^{3+} ,又能在厌氧环境下利用硝酸根作为电子受体, As^{3+} 作为电子供体生长。在近些年的研究中,研究人员新发现了一种同样具备砷氧化功能的基因片段,该片段缺失了传统的 *aioA* 基因片段,且与 *arrA* 砷还原基因类似,研究人员将其命名为 *arxA* 基因,酶为 ArxA。目前对于 *arxA* 基因的研究较少,很多机制观点尚不明确。在几项关于具有 *arxA* 基因的化能自养型与光能自养型微生物的研究^[23-28]中,研究人员发现此类微生物仅可

在化能自养条件下与硝酸盐的还原建立关系,除此之外,由于 ArxA、ArrA 与 AioA 均属于 DMSO 还原酶家族,研究人员推测不同砷代谢酶的进化关系可能为 $\text{ArsC} \rightarrow \text{ArrA} \rightarrow \text{ArxA} \rightarrow \text{AioA}$, ArxA 与 ArrA 有更大的同源性。迄今为止,所有报道具有 *arxA* 基因的砷氧化功能微生物仅在美国莫诺湖及其附近热泉和热水溪河床^[2,23,25-26,29]、美国黄石公园热泉^[26]、我国云南腾冲热泉^[30]以及蒙古库苏古尔湖^[31]等地的沉积物中被发现,且都是厌氧的碱性环境。因此,对 *arxA* 基因的研究有助于在如今研究尚浅的大背景下,加深我们对这一类新型砷氧化微生物的了解。

热泉是地球环境中重要的砷排放来源之一,参与砷的地球化学循环,在岩浆流体的影响下,往往具有较高浓度的砷富集^[32]。因此,热泉是研究微生物介导的砷生物地球化学循环的理想地质体。我国的滇藏地热带是世界上最活跃的地热区之一,该地区地热资源异常丰富,以藏南、川西、滇西地区为最多^[33]。其中,西藏阿里地区多果曲热泉是目前已报道的极端环境中自然砷含量(40 mg/L)最高的地区(西藏温泉志);而西藏日喀则市的搭格架地热区的高温间歇泉在我国境内十分罕见,含有丰富的铯等元素^[34-35];云南腾冲因其独特的地理位置,水热活动范围大、强度高、类型齐全,有着极为丰富的地热及地质微生物资源^[36]。以上地热区地球化学特征鲜明,高温高砷环境为极端嗜热微生物提供了一个良好的生存环境,如此环境下极有可能孕育出代谢特征明显的砷氧化类微生物。因此,对滇藏地区热泉微生物进行多样性及功能基因分析能够帮助我们了解其中的微生物群落结构,丰富我们对砷氧化微生物在地区分布上的认识。本研究以滇藏地区 3 个不同砷浓度的典型地热区代表性热泉为研究对象,通过地球化学分析、高通量分析及统计

学分析对 22 个热泉沉积物样点进行了微生物群落多样性研究以及与环境因子和空间因子的响应研究,旨在加深我们对热泉生境中砷氧化微生物群落多样性的认知,并为后续相关热泉生境砷氧化微生物的研究提供数据基础及参考。

1 材料与方法

1.1 采样点分布

本研究涉及沉积物样点共 22 个,其中:西藏阿里地区多果曲地热区(DGQ) 9 个样点,采集时间 2020 年 10 月,地理坐标集中于北纬 30°42'19",东经 82°6'20",平均海拔 4 860 m;西藏日喀则市搭格架地热区(DGJ) 7 个样点,采集时间 2019 年 8 月,地理坐标集中于北纬 29°35'54"–29°35'56",东经 85°45'0"–85°45'16",平均海拔 5 086 m;云南省腾冲市(TC) 6 个样点,采集时间 2020 年 7 月与 2021 年 12 月,地理坐标集中于北纬 24°57'12"–24°95'10",东经 98°23'24"–98°43'61",海拔在 1 300–1 500 m。

1.2 样品采集与测试

每个样点均采集 2 份表层沉积物(0–5 cm)与热泉水混合物装于 50 mL 离心管(无菌)中约 2/3 体积,用封口膜密闭,野外储存于干冰箱中,实验室内储存于–80 °C 超低温冰箱用于微生物 DNA 的提取;采集 3 管热泉水经 0.22 μm 滤膜过滤后装于 15 mL 离心管中,其中一管用于检测阴离子,一管添加浓 HNO₃ 酸化至 pH<1 用于检测阳离子,一管添加 15% 浓 H₂O₂ 和 25% 浓 HNO₃ 用于检测砷等微量元素。

采样过程中涉及的现场指标测试如下:地理坐标信息使用便携式 GPS 仪器(eTrex H, 美国)测定;使用温度/pH 探针原位测量水温 and pH 值(LaMotte);水化学参数,如总溶解固体(TDS)等,使用便携式水质分析仪(Thermo Scientific

ORION STAR A329)现场测量;湖泊溶解氧、碱度、硫化物和二价铁浓度等水化学指标使用哈希试剂盒(HACH),采用分光光度法测定;碱度采用滴定法现场测定。

室内检测指标测试方法如下: NO₃⁻、NO₂⁻ 等主要阴离子待测样品采用离子色谱 IC (Dionex ICS-900, IonPac AS18 4×250 mm; Thermo Fisher) 检测, K⁺、Na⁺、Ca²⁺、Mg²⁺ 等主要阳离子待测样品采用离子色谱 IC (Dionex ICS-900, IonPac CS12A 4×250 mm; Thermo Fisher Scientific Inc.) 测定;砷等微量元素待测样品采用电感耦合等离子体 ICP-MS (ICAP RQ, Thermo Fisher, Carlsbad)测试,其中 O₂ (AsO⁺, *m/z* 91)作为动态反应池气体, Rh (Rh⁺, *m/z* 103)作为内标。

1.3 DNA 的提取及 PCR 扩增

所有采集的样点均进行了 DNA 的提取,每个样点设置 3 个平行样,方法采用 FastDNA SPIN Kit for soil 试剂盒(MP Biomedical)提取。采用 515F 及带有 barcode 的 806R 引物与根据前人研究改进后的 *arxA* 功能基因引物^[26] 分别进行 16S rRNA 与 *arxA* 基因扩增,序列信息如下: 16S rRNA 基因, 515F (5'-GTGYCAGC MGCCGCGGTAA-3')与 806R (5'-GGACTACN VGGGTWTCTAAT-3'); *arxA* 基因, *arxA*_Deg_F_B (5'-CCATCWSCTGGRACG AGGCCYTSG-3')与 *arxA*_Deg_R_B (5'-GTWGTTGTAGGGGCGGA AS-3')。PCR 扩增程序为: 16S rRNA 基因, 预变性 95 °C 5 min, 变性 95 °C 45 s, 退火 53 °C 45 s, 延伸 72 °C 1 min, 重复变性至延伸三步 39 个循环,末次延伸 72 °C 10 min,最后 12 °C 保温; *arxA* 基因, 预变性 95 °C 10 min, 变性 95 °C 1 min, 退火 60 °C 30 s, 延伸 72 °C 1 min, 重复变性至延伸三步 39 个循环,末次延伸 72 °C 10 min, 最后 12 °C 保温。扩增产物采用 1.5% 琼脂糖凝胶进行电泳检测,用 EC3 Imaging

System 凝胶成像系统(UVP)进行观察,选择阳性样品切胶装于 2 mL 已灭菌离心管中用于纯化回收,纯化采用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒(Axygen),DNA 的浓度检测采用 Nanodrop ND-1000 分光光度计(Nanodrop Technology),浓度达标的 DNA 样品送至 Illumina MiSeq 平台进行高通量测序(2×250 bp/2×300 bp 双端测序)。

1.4 高通量数据分析

测试下机的原始基因序列首先通过 FLASH (fast length adjustment of short reads)的默认设置拼接完成之后,删除前后引物序列,然后使用 QIIME v1.9.0 程序的推荐步骤进行序列的解析和高质量序列的筛选,同时去除低质量(质量分数 $Q < 20$)的序列。采用 USEARCH 程序的 UCHIME 模块进行嵌合体检查^[37]。针对 16S rRNA 基因序列,样品间基因的数量使用扩增序列变异体(amplicon sequence variants, ASVs)作为标记基因统计数值。对于 *arxA* 基因序列,采用 98%的核酸序列相似性划分分类操作单元(operational taxonomic units, OTUs)并统计样品间基因的数量^[38]。所有 16S rRNA 和 *arxA* 基因的代表性序列均需通过 USEARCH 软件的 usearch-sinax 功能分别搜索 16S rRNA 基因数据库(SILVA v138)和 NCBI 基因数据库(Refseq)鉴定序列的分类学信息。

1.5 统计学分析

统计学分析主要通过 R 语言(R4.1.1)软件完成。利用“vegan”软件包进行 α 多样性指数计算;利用“vegan”软件包进行 mantel 分析,以检验单一环境因子对微生物群落的相关性;利用“reshape2”和“ggplot2”软件包构建相对丰度柱状图,评估不同地区样品的种群丰度差异;利用“Hmisc”软件包计算环境变量与种群相对丰

度之间的 Pearson 相关系数;利用“vegan”、“grid”和“ggplot2”软件包,采用典型对应分析(CCA)评价环境因子和空间变量对微生物群落结构的影响;采用主邻域矩阵(PCNM)的空间分解方法对样品的地理坐标进行分析,将样本地理坐标分为多个空间向量,选择具有显著相关性($P < 0.05$)的空间变量与环境因子利用“vegan”软件包进行方差分解分析(variance partitioning analysis, VPA)以确定环境因子与空间因子对微生物群落结构影响的相对贡献率。

1.6 登录序列号

本研究所得序列已提交至 NODE 数据库,序列号为 OEP003361。

2 结果与分析

2.1 水体理化性质

DGQ 所采集的热泉沉积物样品 pH 比较接近,为 7.5–8.0,呈弱碱性,温度为 46–78 °C,热泉水 TDS 为 2 400 mg/L 左右,其中主要离子成分为 HCO_3^- 、 Na^+ 、 Cl^- 、 K^+ 和 SO_4^{2-} ; DGJ 热泉样品 pH 为 8.5–9.0,偏碱性,温度为 32–58 °C,溶解氧(DO)数据不全,已检测数据有近八成小于 1 mg/L,表明样品环境接近缺氧或厌氧,TDS 为 900 mg/L 左右,主要离子成分为 HCO_3^- 、 Na^+ 、 Cl^- 和 SO_4^{2-} 。TC 热泉样品 pH 为 6.0–9.6,大部分为弱碱性—碱性水,仅有 WGQ 一个样点为酸性水,温度为 38–95 °C,TDS 为 500–1 800 mg/L,泉水中主要离子成分为 HCO_3^- 、 Na^+ 、 Cl^- 、 K^+ 、 Ca^{2+} 和 SO_4^{2-} ,整体来讲差异较大特征较为显著。统观以上三者,TC 各样点之间各参数之间的差异性较大,这与 TC 各样点分布分散环境差异较大有关;而三地 TDS 的差异也表明 DGQ 泉眼可溶性物质的含量也较高。除此之外的其他重要数据可见表 1。

表 1 采样点信息及主要理化参数

Table 1 Information of sampling points and main physical and chemical parameters

Location	Sample ID	GPS (E/N)	pH	T/°C	Altitude/m	TDS/(mg/L)	NO ₃ ⁻ /(mg/L)	NO ₂ ⁻ /(mg/L)
DGQ	DGQ-1	82°6'20"/30°42'19"	7.5	69	4 861	2 390.0	1.2	18.6
	DGQ-2	82°6'20"/30°42'19"	7.7	70	4 861	2 316.0	1.1	19.2
	DGQ-3	82°6'20"/30°42'19"	7.5	78	4 861	2 385.0	1.3	19.0
	DGQ-4	82°6'20"/30°42'19"	8.0	66	4 861	2 386.0	1.3	29.7
	DGQ-5	82°6'20"/30°42'19"	7.5	46	4 861	2 339.0	1.2	19.6
	DGQ-6	82°6'20"/30°42'19"	8.0	63	4 861	2 426.0	1.1	21.4
	DGQ-7	82°6'20"/30°42'19"	8.0	65	4 861	2 390.0	1.0	19.9
	DGQ-9	82°6'20"/30°42'19"	8.0	56	4 861	2 393.0	1.0	26.6
	DGQ-10	82°6'20"/30°42'19"	7.7	72	4 861	2 385.0	1.1	18.7
	DGJ	DGJ1-2	85°45'5"/29°35'54"	8.6	58	5 055	900.7	1.7
DGJ1-3		85°45'5"/29°35'54"	8.7	49	5 054	899.3	1.0	16.2
DGJ1-4		85°45'5"/29°35'54"	8.5	40	5 054	909.6	1.0	15.7
DGJ2-2		85°45'3"/29°35'56"	8.9	54	5 051	903.1	1.1	13.4
DGJ2-3		85°45'3"/29°35'56"	8.8	46	5 050	909.8	1.2	15.8
DGJ2-4		85°45'3"/29°35'56"	8.8	32	5 048	905.5	1.0	0.9
DGJ13		85°44'57"/29°36'6"	8.5	49	5 070	932.6	1.8	14.1
TC	DGG-R	98°26'17"/24°17'12"	7.9	75	1 414	832.8	1.9	7.4
	GMQ	98°43'61"/24°95'10"	9.6	94	1 352	1764.0	0.0	11.6
	QQ	98°26'16"/24°57'2"	7.2	71	1 337	729.3	0.2	0.3
	HMZ3	98°26'17"/24°57'0"	9.1	92	1 350	918.9	1.8	13.0
	LL03	98°40'5"/24°39'18"	9.1	88	1 369	527.1	0.0	0.0
	LP-Mix2	98°23'24"/24°54'31"	8.0	56	1 137	1 360.0	4.9	0.0

Locations are the areas of samples collection, DGQ means Duo Guo Qu, DGJ means Da Ge Jia, TC means Teng Chong.

另值得一提的是，三地样点总砷含量呈现出一个明显的高、中、低的梯度变化(图 1): DGQ 样品中总砷浓度在 40 mg/L 左右，为最高，其次 DGJ 样品中总砷浓度为 7–8 mg/L，而 TC 样品中总砷浓度为 0.005–1.000 mg/L，为最低。

2.2 微生物群落多样性特征

通过对 22 个沉积物样点 16S rRNA 基因高通量数据进行处理，共得到 1 004 241 条序列，这些序列分属于 65 个门，140 个纲，292 个目，416 个科，562 个属。其中，门级别平均丰度靠前的分别为：*Chloroflexi* (21.27%)、*Deinococcus-Thermus* (17.25%)、*Aquificae* (13.39%)、*Proteobacteria* (9.27%)、*Acetothermia* (8.3%)、*Bacteroidetes*

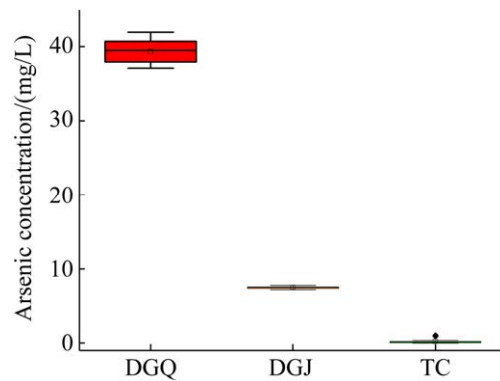


图 1 不同地热区总砷浓度箱图

Figure 1 Box plots of total arsenic concentrations in different geothermal areas. DGQ means Duo Guo Qu Geothermal Zone, DGJ means Da Ge Jia Geothermal Zone, TC means Teng Chong Geothermal Zone.

(4.96%)与 *Crenarchaeota* (4.57%); 纲级别靠前的分别为: *Chloroflexia* (16.73%)、*Deinococci* (16.63%)、*Aquificae* (12.93%)、*Acetothermia* (8.28%)、*Gammaproteobacteria* (4.36%)与 *Alphaproteobacteria* (3.85%)。而通过对 *arxA* 基因高通量结果进行分析处理, 共得到 915 394 条序列, 分属于 26 个门, 40 个纲, 57 个目, 78 个科, 87 个属。其中, 门级别平均丰度靠前的分别为: *Proteobacteria* (64.87%)、*Bipolaricaulota* (9.55%)、*Deinococcus-Thermus* (6.42%)、*Crenarchaeota* (4.05%)、*Planctomycetes* (1.75%)、*Verrucomicrobia* (1.09%), 纲级别靠前的分别为: *Betaproteobacteria* (47.9%)、*Alphaproteobacteria* (14.15%)、*Deinococci* (6.42%)、*Thermoprotei* (4.05%)与 *Gammaproteobacteria* (2.55%), 除此之外, *arxA* 基因所得序列的 Shannon-Wiener 指数范围为 0.91–4.93, Simpson 指数范围为 0.27–0.98, 而观察到的 ASV 数量则是 DGJ 地区要明显高于 DGQ 与 TC。详细信息见表 2。

2.3 微生物多样性与环境因子和空间因子的响应

2.3.1 微生物群落与环境因子的相关性

通过单一环境因子与微生物群落之间的相关性分析(Mantel 检验), 结果表明主要环境因子(pH、温度、海拔、砷浓度、TDS 和 NO_3^-)与沉积物微生物种群及 *arxA* 功能基因微生物均具有显著的相关性($P < 0.001$) (表 3)。

为进一步了解主要微生物与主要环境因子的相关性, 选取丰度前 14 的沉积物微生物纲级别与丰度 >1% 的 *arxA* 功能基因微生物纲级别进行了 Pearson 相关性分析(图 2), 结果表明沉积物中 *Gammaproteobacteria* 与 *Alphaproteobacteria* 对环境因子最为敏感, 其中 *Gammaproteobacteria* 与 TDS 和砷浓度呈显著正相关($P < 0.001$), 与海拔呈正相关($P < 0.05$); 而 *Alphaproteobacteria* 与

表 2 沉积物样品 *arxA* 基因 α 多样性指数

Table 2 Alpha diversity index of *arxA* genes in sediment samples

Sample ID	Total reads	Observed ASVs	Shannon-Wiener	Simpson	Equitability
DGQ-1	55 691	192	2.0	0.6	0.4
DGQ-2	46 039	280	1.6	0.4	0.3
DGQ-3	41 353	188	2.4	0.8	0.5
DGQ-4	43 846	265	1.3	0.4	0.2
DGQ-5	35 304	344	3.6	0.9	0.6
DGQ-6	53 124	161	1.1	0.4	0.2
DGQ-7	50 511	161	0.9	0.3	0.2
DGQ-9	54 802	214	1.3	0.4	0.2
DGQ-10	51 277	223	1.8	0.6	0.3
DGJ1-2	46 682	450	3.8	0.9	0.6
DGJ1-3	50 176	617	4.4	1.0	0.7
DGJ1-4	33 474	568	4.3	1.0	0.7
DGJ2-2	44 641	414	2.8	0.8	0.5
DGJ2-3	38 680	488	4.3	1.0	0.7
DGJ2-4	30 898	606	4.9	1.0	0.8
DGJ13	37 057	441	4.1	0.9	0.7
LP-Mix2	25 553	267	3.9	1.0	0.7
LL03	50 076	187	3.4	0.9	0.7
HMZ3	41 554	145	2.6	0.9	0.5
QQ	6 973	199	4.4	1.0	0.8
GMQ	47 751	153	1.9	0.5	0.4
DGG-R	29 932	177	2.9	0.9	0.6

Locations are the areas of samples collection, DGQ means Duo Guo Qu, DGJ means Da Ge Jia, TC means Teng Chong.

表 3 单一环境因子与微生物群落结构的 Mantel 检验

Table 3 Mantel test of single environmental factor and microbial communities

Environmental factor	R		P	
	16S rRNA	<i>arxA</i>	16S rRNA	<i>arxA</i>
pH	0.43	0.38	<0.001	<0.001
Temperature	0.36	0.29	<0.001	<0.001
Altitude	0.46	0.36	<0.001	<0.001
As	0.47	0.42	<0.001	<0.001
TDS	0.51	0.36	<0.001	<0.001
NO_3^-	0.37	0.35	<0.001	<0.001

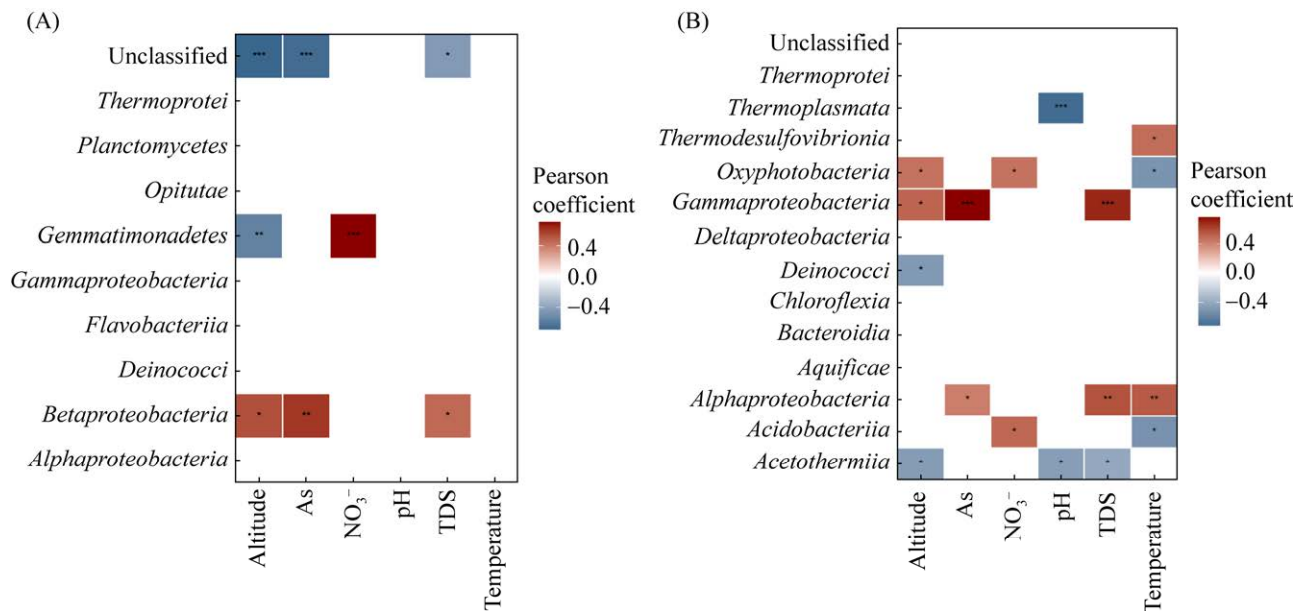


图 2 热泉沉积物(A)以及包含 *arxA* 基因(B)主要丰度微生物(纲级别)与主要环境因子 Pearson 相关性分析
 Figure 2 Pearson correlations between dominant classes of microbial [microbial in hot springs sediments (A) and microbial with *arxA* genes (B)] and main environmental factors (***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$).

温度和 TDS 呈显著正相关($P < 0.01$), 与砷浓度呈正相关($P < 0.05$)。除此之外, 温度的影响较为广泛, 除了与 *Alphaproteobacteria* 相关之外, 还与 *Thermodesulfovibrionia* 呈正相关($P < 0.05$), 与 *Oxyphotobacteria* ($P < 0.05$)和 *Acidobacteriia* ($P < 0.05$)呈负相关。包含 *arxA* 基因微生物中, 占主要丰度的 *Betaproteobacteria* 与海拔和 TDS 呈正相关($P < 0.05$), 与砷浓度呈显著正相关($P < 0.01$); *Gemmatimonadetes* 与海拔呈显著负相关($P < 0.01$), 与 NO_3^- 呈显著正相关($P < 0.001$); 除此之外, 纲级别中未鉴定纲也与海拔、砷浓度与 TDS 存在一定负相关性, 这为 *arxA* 基因的多样性提供了更多的可能, 值得进一步探究。

为了解主要环境因子与微生物群落 α 多样性指数的相关性, 进行了 Pearson 相关性分析(图 3), 结果表明, 对于沉积物微生物群落的 α 多样性指数, NO_3^- 的相关性最大, 与 ASV 数呈显著正相关($P < 0.001$), 其余环境因子分别与不

同指数呈现出一定的相关性, pH 值无相关性。而对于 *arxA* 基因微生物的 α 多样性指数, 砷浓度、TDS 与温度呈现出的相关性非常显著, TDS 更是与所有指数均具有相关性。

2.3.2 环境与空间因子对微生物群落结构的影响

主坐标分析(PCoA)结果表明, DGQ、DGJ 与 TC 三个地区的样点聚类明显, 彼此之间存在着明显的地理差异, 故地理因素对样点的影响也不可忽视。在利用 R 语言软件对高通量数据进行空间向量分析(PCNM)后, 产生了 4 个分解向量, 对这 4 个分解向量进行筛选, 最终得到了 PCNM1、PCNM3 和 PCNM4 这 3 个显著相关($P < 0.05$)的空间因子。综合环境因子与这 3 个空间因子分别对沉积物微生物种群与 *arxA* 基因微生物进行 CCA 分析(图 4), 结果表明, 二者的 CCA 分析中影响较大的是 PCNM1、海拔、砷浓度与 TDS, 要强于 pH 与温度, 其中 PCNM1 对群落的影响最大, 且相关性最高,

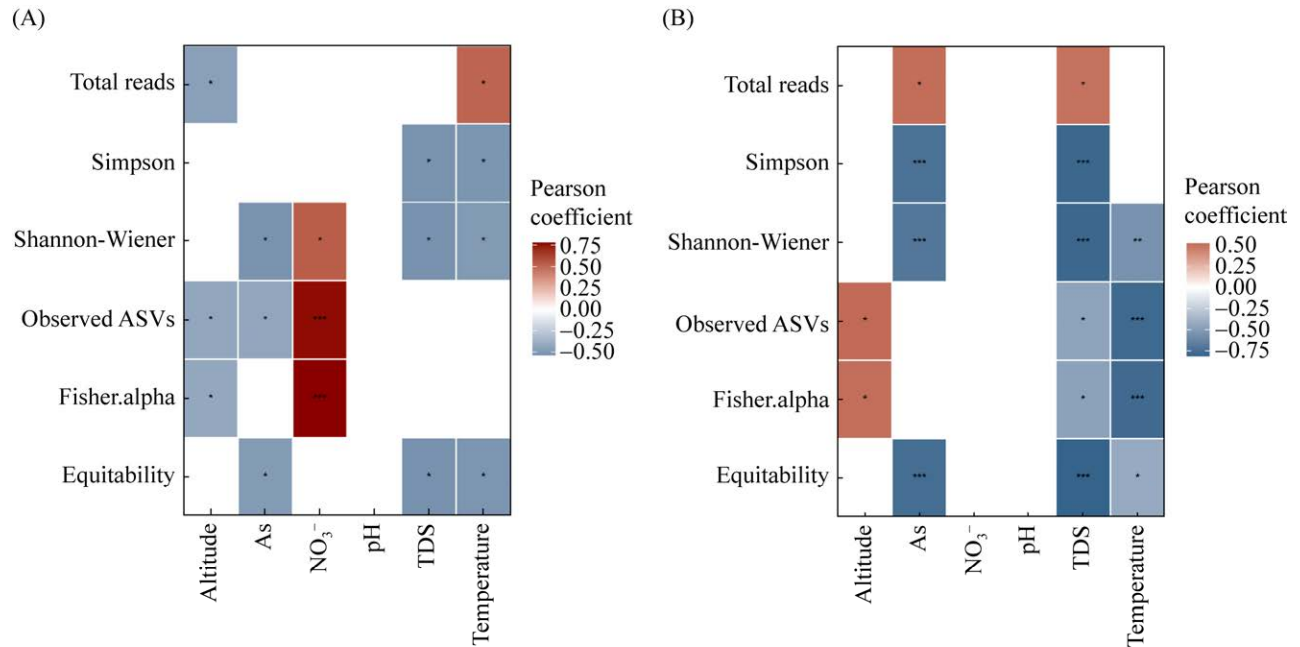


图 3 热泉沉积物(A)以及包含 *arxA* 基因(B) α 多样性指数与主要环境因子 Pearson 相关性分析
 Figure 3 Pearson correlations between alpha diversity index [microbial in hot springs sediments (A) and microbial with *arxA* genes (B)] and main environmental factors (***: $P < 0.001$; **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$).

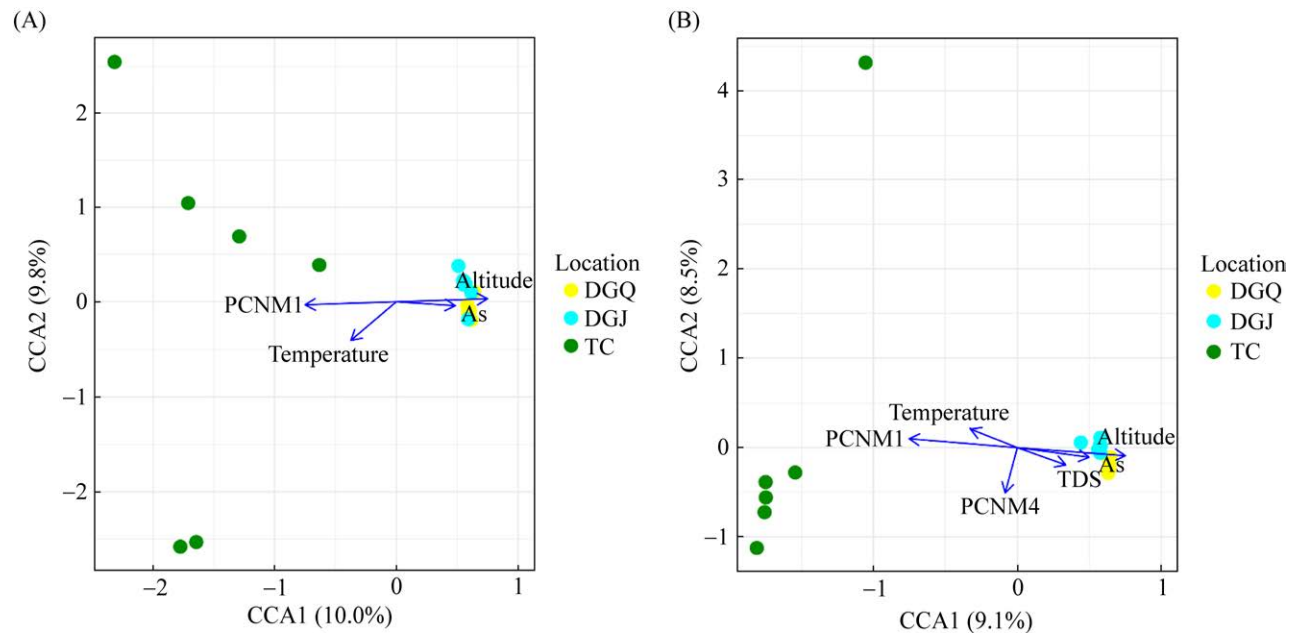


图 4 不同环境因子与空间因子对沉积物(A)以及包含 *arxA* 基因(B)微生物群落典范对应(CCA)分析
 Figure 4 Canonical correspondence analysis (CCA) between microbial communities [microbial in hot springs sediments (A) and microbial with *arxA* genes (B)] and different environmental or spatial factors. (DG: Duo Guo Qu, DGJ: Da Ge Jia, TC: Teng Chong).

分别与 TC 样品正相关, 与 DGQ 与 DGJ 负相关。通过方差分解分析绘制了环境因子与空间因子对微生物群落结构变化的解释比例 VPA 图 (图 5), 可看出对于沉积物微生物, 环境因子(包括 pH、温度、海拔、砷浓度、TDS 和 NO₃⁻)的解释量为 43%, 空间因子(包括 PCNM1、PCNM2、PCNM3 和 PCNM4)的解释量为 35%, 二者共同的解释量为 28%, 二者总体解释量为 50%, 未解释量为 50%; 对于 *arxA* 基因微生物, 环境因子的解释量为 32%, 空间因子的解释量为 27%, 二者共同的解释量为 22%, 二者总体解释量为 37%, 未解释量为 63%。

3 讨论

3.1 微生物多样性特征分析

迄今为止, 关于世界各地热泉微生物的报道主要集中于美国黄石公园^[39]、马来西亚^[40]、俄罗斯堪察加半岛^[41]以及中国云南与西藏等

地区^[42-44]。细菌域优势种群较为相似, 主要集中于 *Aquificae*、*Proteobacteria*、*Firmicutes*、*Deinococcus-Thermus*、*Chloroflexi*、*Bacteroidetes* 等门, 本研究结果与之相符。但由于不同样点之间环境特征的差异, 不同样点之间的优势菌群也存在着差异, 其中 DGQ 地区优势菌门为 *Deinococcus-Thermus*、*Aquificae* 与 *Chloroflexi*; DGJ 地区为 *Chloroflexi*、*Proteobacteria* 与 *Bacteroidetes*; 而 TC 地区样点之间存在较大差异性, 优势菌门各不相同, 为 *Chloroflexi*、*Aquificae*、*Proteobacteria*、*Acetothermia* 或古菌门 *Crenarchaeota*。

目前, 对于 *arxA* 基因微生物的研究屈指可数, 大多都分离自 *Proteobacteria* 中的 *Gammaproteobacteria*^[2,23,25,27,31,45-46]。例如, Oremland 等^[2]从美国加利福尼亚州 Mono 湖分离出的一株兼性化能自养微生物 MLHE-1, 发现该微生物既能在以无机电子供体(As³⁺、H₂、S²⁻)与 NO₃⁻

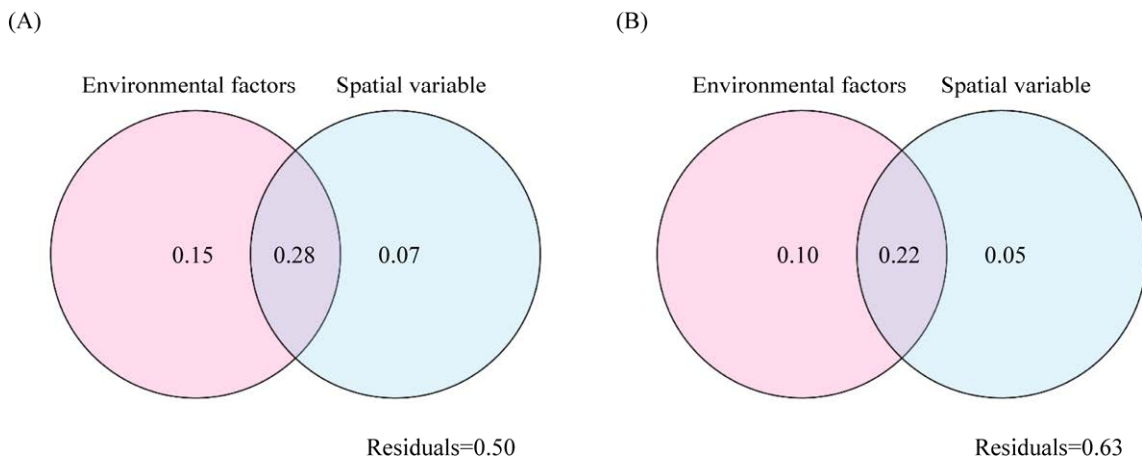


图 5 环境因子与空间因子对沉积物(A)以及包含 *arxA* 基因(B)微生物群落组成贡献 VPA 图(环境因子: 包括 pH 值、温度、海拔、砷浓度、TDS 和 NO₃⁻; 空间因子: 包括 PCNM1、PCNM2、PCNM3 和 PCNM4)
Figure 5 Variance partitioning analysis (VPA) between microbial communities [microbial in hot springs sediments (A) and microbial with *arxA* genes (B)] and different environmental or spatial factors (environmental factors: including temperature, pH, altitude, arsenic content, TDS and nitrate; spatial variable: including PCNM1, PCNM2, PCNM3 and PCNM4).

的厌氧培养基中生长，也能在以醋酸盐为电子受体的培养基上异养生长，这是最早分离出的厌氧自养砷氧化微生物，系统发育分析其属于 *Gammaproteobacteria*，与 *Alkalispirillum mobile* (98.5%)和 *Alcalilimnicola halodurans* (98.6%)最为相似。另外，Wu 等^[30]在我国云南省腾冲市热海景区大滚锅热泉中成功分得了 *Desulfotomaculum* 属的一株微生物 TC-1，其基因成功扩增出了 *arxA* 基因，且能够参与硫砷酸盐的形成，这有助于加深我们对 *arxA* 基因微生物多样性的了解。本研究中 *arxA* 基因微生物门级别丰度占优的门类为 *Proteobacteria*，平均占比达到了 64.87%，证明 *arxA* 基因主要属于 *Proteobacteria* 微生物，这与前人的研究结果相符。在纲级别，DGQ 样点中占主导的是 *Betaproteobacteria*，DGJ 中则是 *Betaproteobacteria* 与 *Alphaproteobacteria* 各占一定丰度，而 TC 样点中则存在较多的未鉴定纲，*Gammaproteobacteria* 虽在大部分样点中也具有一定占比但比重较小，最高在 DGQ-3 样点中占比 13.63%，平均 2.55%，*Gammaproteobacteria* 的弱势加上 TC 样点未鉴定纲的存在，表明研究地区有极大潜力分离出与前人研究不同的微生物，存在一定新颖性。

3.2 环境因素与空间因素对微生物群落的影响

3.2.1 环境因素对微生物群落的影响

环境因子对微生物群落的影响非常大，光强、温度、pH 值、DOC 和硫化物等都会影响热泉中的微生物群落结构。温度是其中的关键因子，温度低于微生物的生长下限，菌株的生长会受到抑制，高于上限则会导致菌株的死亡或休眠^[42,44,47-49]。从图 3 中可以看到，温度对 *arxA* 微生物的 ASV 数就表现出了显著负相关性($P<0.001$)。除此之外，由于 TC 各样点之间温度差异较大，这或许可以解释该地区优势种

群的差异；同时，*Chloroflexi* 作为热泉环境中比较典型的一类菌，在 LL03、GMQ 与 DGQ-3 中丰度较低，Wang 等^[48]在研究中发现，*Chloroflexi* 在热泉中的耐受温度在 72–75 °C，以上三者环境温度均高出了这个界限，*Chloroflexi* 相对丰度较高的样点，比如 DGJ1-2、DGJ13 等，大多位于低温度(43–55 °C)，这也是温度对丰度的又一典型影响。从图 2 中可以看出，沉积物微生物中对温度表现出较强相关性的 *Acidobacteriia*、*Acetothermiia*、*Oxyphotobacteria* 与 *Thermodesulfovibrionia* 等纲，在 *arxA* 基因微生物中都鲜有丰度，而以 *Betaproteobacteria* 为主的 *arxA* 微生物则并未对温度表现出明显的相关性。

pH 往往对微生物群落的影响巨大，可以通过影响微生物的细胞凋亡^[50]、环境中离子浓度^[51]以及细胞膜的完整性^[52]等来影响微生物群落组成。从图 2 与图 3 中可以看出，不管是主要丰度微生物还是微生物的 α 多样性指数，都鲜有内容与 pH 具有相关性，推测其原因可能是所研究的 22 个样点 pH 大多位于 7.5–9.0 之间，pH 的差异相对较小，故微生物与之响应较弱。除此之外，pH 并不是直接影响微生物群落结构，而是一个综合指标，由所溶解离子成分等指标共同决定^[53]，可以看出，*Proteobacteria* 门下微生物不论是在对沉积物微生物的 Pearson 分析中还是对 *arxA* 基因微生物的分析中都对 pH 不具有相关性。在前人的研究中，近中性 ($7.2<pH<9.4$)的环境条件下，*Crenarchaeota* 与 *Aquificae* 的丰度会增加^[54]，在本研究中 pH 值范围与之相符，*Aquificae* 得到了印证，有 6 个样点占比超过 25%，平均占比 13.39%，为优势菌群之一；*Crenarchaeota* 虽在 GMQ (22.3%)与 LL03 (61.4%)样点中存在较高丰度，但在其他样点丰度相对较低，故 pH 虽对本实验中微生物相关性较

弱,但一定程度上决定着优势菌群。值得一提的是,在前人对腾冲热泉的研究中^[43],*Crenarchaeota*对于温度的响应是在中温(59–77 °C)条件下丰度最高,这与本研究结果也有出入,此上种种,表明温度或 pH 值均并非唯一决定微生物多样性特征的环境因素。

除却温度与 pH 值的影响外,从图 3 *arxA* 功能基因微生物 α 多样性指数的 Pearson 相关性分析结果中可以看出 TDS 对其的影响非常巨大,与所有指标均具有相关性;同时图 2 表明 TDS 对沉积物与 *arxA* 基因主要丰度微生物的相关性也非常显著。TDS 为水中总溶解性固体,反映了可溶性化学组分的浓度,离子浓度直接影响了微生物的生长,故对微生物群落的影响较大。最后,从 *arxA* 基因 α 多样性指标数据中可以看出, DGJ 地区微生物种群 ASV 数明显高于 DGQ 与 TC,结合三地砷浓度梯度变化的特点,可以推测出,砷浓度会影响微生物的多样性特征,砷浓度过高或过低均会一定程度上降低 *arxA* 基因微生物的多样性。

3.2.2 空间因素对微生物群落的影响

空间因素对微生物群落的影响也不可忽视,诸多学者已验证空间因素对微生物群落影响的重要性^[55–56]。作为一种综合因子,其与微生物种群多样性的响应是多种因素共同作用的结果。本研究中, DGQ 与 DGJ 样点地理位置上多为集群分布,空间因素差异小, TC 样点相对分散,差异大,这一点也在 CCA 分析中得到了印证,可以看出, TC 样点分布较为分散,另外二者非常集中。从表 1 中可以看出,三地海拔存在着明显的差异,3 个采样点之间距离相距较远,存在着地理隔离。不同隔离地区微生物群落多样性会存在一定差异,例如,目级别以下, TC 地区微生物未鉴定种群丰度明显增多,其次 TC 地区样点 *Proteobacteria* 的丰度也

要低于另外二者。VPA 结果表明,环境因子对微生物群落组成的解释量要大于空间因子,但二者共有解释量要明显大于二者单独解释量,可以推测出,空间因子的变化,造成了环境因子的变化,进而二者共同影响微生物种群多样性。最后,从 CCA 分析结果中可以看出,不同因子对沉积物微生物与 *arxA* 基因微生物种群多样性的影响较为相似,且以 *Proteobacteria* 为主的 *arxA* 基因微生物在总的沉积物微生物中占了不小的比例,故砷氧化过程很有可能是研究区热泉环境的重要生物地球化学过程之一。

4 结论

(1) 不同砷含量的滇藏地区典型热泉沉积物中微生物主要由 *Chloroflexi*、*Deinococcus-Thermus*、*Aquificae*、*Proteobacteria*、*Acetothermia* 等门类组成,且不同采样点优势菌门有所差异, TC 样点彼此之间差异也较大,沉积物微生物中所含 *arxA* 基因微生物主要由 *Proteobacteria* 组成;

(2) 不同砷含量的滇藏地区典型热泉微生物群落分布特征受环境与空间因子共同作用影响,环境因子影响要大于空间因子,影响微生物群落分布的主要环境因子为海拔、温度、pH 值、TDS 与砷浓度等,但其中 *arxA* 基因微生物对 pH 值无明显相关性。

参考文献

- [1] Mandal BK, Suzuki KT. Arsenic round the world: a review. *Talanta*, 2002, 58(1): 201–235.
- [2] Oremland RS, Hoefl SE, Santini JM, Bano N, Hollibaugh RA, Hollibaugh JT. Anaerobic oxidation of arsenite in Mono Lake water and by a facultative, arsenite-oxidizing chemoautotroph, strain MLHE-1. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68(10):4795–4802.
- [3] 杨焯. 极端环境砷氧化微生物多样性、活性特征及

- 其对砷释放的影响. 中国地质大学博士学位论文, 2017.
- [4] Smedley PL, Kinniburgh DG. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 2002, 17(5): 517–568.
- [5] Smith AH, Goycolea M, Haque R, Biggs ML. Marked increase in bladder and lung cancer mortality in a region of northern Chile due to arsenic in drinking water. *American Journal of Epidemiology*, 1998, 147(7): 660–669.
- [6] Bowell RJ, Alpers CN, Jamieson HE, Nordstrom DK, Majzlan J. The environmental geochemistry of arsenic—an overview. *Reviews in Mineralogy and Geochemistry*, 2014, 79(1): 1–16.
- [7] Blanes PS, Buchhamer EE, Giménez MC. Natural contamination with arsenic and other trace elements in groundwater of the Central-West region of Chaco, Argentina. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2011, 46(11): 1197–1206.
- [8] Lièvre D, Bertin PN, Lett MC. Arsenic in contaminated waters: biogeochemical cycle, microbial metabolism and biotreatment processes. *Biochimie*, 2009, 91(10): 1229–1237.
- [9] Wu Y, Zhou XY, Lei M, Yang J, Ma J, Qiao P, Chen TB. Migration and transformation of arsenic: contamination control and remediation in realgar mining areas. *Applied Geochemistry*, 2017, 77: 44–51.
- [10] Xie ZL, Sun ZG, Zhang H, Zhai J. Contamination assessment of arsenic and heavy metals in a typical abandoned estuary wetland—a case study of the Yellow River Delta Natural Reserve. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2014, 186(11): 7211–7232.
- [11] Köhler M, Hofmann K, Völsger F, Thurow K, Koch A. Bacterial release of arsenic ions and organoarsenic compounds from soil contaminated by chemical warfare agents. *Chemosphere*, 2001, 42(4): 425–429.
- [12] Shi GL, Lou LQ, Zhang S, Xia XW, Cai QS. Arsenic, copper, and zinc contamination in soil and wheat during coal mining, with assessment of health risks for the inhabitants of Huaibei, China. *Environmental Science and Pollution Research*, 2013, 20(12): 8435–8445.
- [13] Zhu YG, Yoshinaga M, Zhao FJ. Earth abides arsenic biotransformation. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 2014, 42(1): 443–467.
- [14] 韩永和, 王珊珊. 微生物耐砷机理及其在砷地球化学循环中的作用. *微生物学报*, 2016, 56(6): 901–910.
- Han YH, Wang SS. Arsenic resistance mechanisms in microbes and their roles in arsenic geochemical cycling—a review. *Acta Microbiologica Sinica*, 2016, 56(6): 901–910. (in Chinese)
- [15] Oremland RS, Stolz JF. The ecology of arsenic. *Science*, 2003, 300(5621): 939–944.
- [16] Sforza MC, Philippot P, Somogyi A, Zuilen M, Medjoubi K, Schoeppcothenet B, Nitschke W, Visscher PT. Evidence for arsenic metabolism and cycling by microorganisms 2.7 billion years ago. *Nature Geoscience*, 2014, 7(11): 811–815.
- [17] Slyemi D, Bonnefoy V. How prokaryotes deal with arsenic. *Environmental Microbiology Reports*, 2011, 4(6): 571–586.
- [18] Silver S, Phung LT. Genes and enzymes involved in bacterial oxidation and reduction of inorganic arsenic. *Applied and Environmental Microbiology*, 2005, 71(2): 599–608.
- [19] Stolz JF, Basu P, Oremland RS. Microbial arsenic metabolism: new twists on an old poison. *Microbe*, 2011, 5(2): 53–59.
- [20] Yamamura S, Amachi S. Microbiology of inorganic arsenic: from metabolism to bioremediation. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2014, 118(1): 1–9.
- [21] Gihring TM, Banfield JF. Arsenite oxidation and arsenate respiration by a new *Thermus* isolate. *FEMS Microbiology Letters*, 2001, 204(2): 335–340.
- [22] Santini JM, Vanden Hoven RN. Molybdenum-containing arsenite oxidase of the chemolithoautotrophic arsenite oxidizer NT-26. *Journal of Bacteriology*, 2004, 186(6): 1614–1619.
- [23] Hoeft SE. *Alkalilimnicola ehrlichii* sp. nov., a novel, arsenite-oxidizing haloalkaliphilic gammaproteobacterium capable of chemoautotrophic or heterotrophic growth with nitrate or oxygen as the electron acceptor. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2007, 57(3): 504–512.
- [24] Richey C, Chovanec P, Hoeft SE, Oremland RS, Basu P, Stolz JF. Respiratory arsenate reductase as a bidirectional enzyme. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 382(2): 298–302.
- [25] Zargar K, Hoeft S, Oremland R, Saltikov CW. Identification of a novel arsenite oxidase gene, *arxA*, in the haloalkaliphilic, arsenite-oxidizing bacterium *Alkalilimnicola ehrlichii* strain MLHE-1. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(14): 3755–3762.
- [26] Zargar K, Conrad A, Bernick DL, Lowe TM, Stolz V, Hoeft S, Oremland RS, Stolz J, Saltikov CW. ArxA, a

- new clade of arsenite oxidase within the DMSO reductase family of molybdenum oxidoreductases. *Environmental Microbiology*, 2012, 14(7): 1635–1645.
- [27] Jaime HM, Benjamin SS, Brendon S, Alison B, Laurence M, Shelley M, Michael R, Oremland Ronald S. The genetic basis of anoxygenic photosynthetic arsenite oxidation. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(1): 130–141.
- [28] Budinoff CR, Hollibaugh JT. Arsenite-dependent photoautotrophy by an *Ectothiorhodospira*-dominated consortium. *The ISME Journal*, 2008, 2(3): 340–343.
- [29] Fisher JC, Hollibaugh JT. Selenate-dependent anaerobic arsenite oxidation by a bacterium from Mono Lake, California. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(9): 2588–2594.
- [30] Wu G, Huang LQ, Jiang HC, Peng YE, Guo W, Chen ZY, She WY, Guo QH, Dong HL. Thioarsenate formation coupled with anaerobic arsenite oxidation by a sulfate-reducing bacterium isolated from a hot spring. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 1336.
- [31] Hamamura N, Itai T, Liu Y, Reysenbach Ao, Inskeep WP. Identification of anaerobic arsenite-oxidizing and arsenate-reducing bacteria associated with an alkaline saline lake in Khovsgol, Mongolia. *Environmental Microbiology Reports*, 2015, 6(5): 476–482.
- [32] 严克涛, 郭清海, 罗黎. 腾冲热泉中砷的甲基化和巯基化过程. 地球科学, 2022, 47(2): 622–632.
Yan KT, Guo QH, Luo L. Methylation and thiolation of arsenic in Tengchong hot springs. *Earth Science*, 2022, 47(2): 622–632. (in Chinese)
- [33] 马瑞, 陈成, 李海峰, 祝雪禧, 宋可馨, 袁梦, 肖文, 杨晓燕, 王开玲. 中国温泉微生物物种多样性及其酶活性研究进展. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2959–2973.
Ma R, Chen C, Li HF, Zhu XX, Song KX, Yuan M, Xiao W, Yang XY, Wang KL. Species diversity and enzymatic activity of microorganisms in Chinese hot springs: a review. *Microbiology China*, 2020, 47(9): 2959–2973. (in Chinese)
- [34] 严克涛, 郭清海, 刘明亮. 西藏搭格架高温热泉中砷的地球化学异常及其存在形态. 吉林大学学报: 地球科学版, 2019, 49(2): 548–558.
Yan KT, Guo QH, Liu ML. Geochemical anomalies of arsenic and its speciation in Daggyai geothermal springs, Tibet. *Journal of Jilin University: Earth Science Edition*, 2019, 49(2): 548–558. (in Chinese)
- [35] 赵元艺, 聂凤军, 侯增谦, 李振清, 赵希涛, 马志邦. 西藏搭格架热泉型铍矿床地球化学. 矿床地质, 2007, 26(2): 163–174.
Zhao YY, Nie FJ, Hou ZQ, Li ZQ, Zhao XT, Ma ZB. Geochemistry of Targejia hot spring type cesium deposit in Tibet. *Mineral Deposits*, 2007, 26(2): 163–174. (in Chinese)
- [36] 郭清海, 刘明亮, 李洁祥. 腾冲热海地热田高温热泉中的硫代砷化物及其地球化学成因. 地球科学, 2017, 42(2): 286–297.
Guo QH, Liu ML, Li JX. Thioarsenic species in the high-temperature hot springs from the rehai geothermal field (Tengchong) and their geochemical geneses. *Earth Science*, 2017, 42(2): 286–297. (in Chinese)
- [37] Magoč T, Salzberg SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957–2963.
- [38] Edgar RC, Haas BJ, Clemente JC, Quince C, Knight R. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection. *Bioinformatics*, 2011, 27(16): 2194–2200.
- [39] Meyer-Dombard DR, Shock EL, Amend JP. Archaeal and bacterial communities in geochemically diverse hot springs of Yellowstone National Park, USA. *Geobiology*, 2010, 3(3): 211–227.
- [40] Chan CS, Chan KG, Tay YL, Chua YH, Goh KM. Diversity of thermophiles in a Malaysian hot spring determined using 16S rRNA and shotgun metagenome sequencing. *Frontiers in Microbiology*, 2015, 6: 177.
- [41] Kublanov IV, Perevalova AA, Slobodkina GB, Lebedinsky AV, Bidzhieva SK, Kolganova TV, Kaliberda EN, Rumsh LD, Haertlé T, Bonch-Osmolovskaya EA. Biodiversity of thermophilic prokaryotes with hydrolytic activities in hot springs of Uzon Caldera, Kamchatka (Russia). *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(1): 286–291.
- [42] Hou WG, Wang S, Dong HL, Jiang HC, Briggs BR, Peacock JP, Huang QY, Huang LQ, Wu G, Zhi XY. A comprehensive census of microbial diversity in hot springs of Tengchong, Yunnan Province China using 16S rRNA gene pyrosequencing. *PLoS One*, 2013, 8(1): 1–15.
- [43] Song ZQ, Chen JQ, Jiang HC, Zhou EM, Tang SK, Zhi XY, Zhang LX, Zhang CLL, Li WJ. Diversity of *Crenarchaeota* in terrestrial hot springs in Tengchong, China. *Extremophiles*, 2010, 14(3): 287–296.
- [44] Song ZQ, Wang FP, Zhi XY, Chen JQ, Zhou EM, Feng L, Xiang X, Tang SK, Jiang HC, Zhang CL, Dong HL, Li WJ. Bacterial and archaeal diversities in Yunnan and Tibetan hot springs, China. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(4): 1160–1175.

- [45] Challacombe JF, Majid S, Deole R, Brettin TS, Bruce D, Delano SF, Detter JC, Gleasner CD, Han CS, Misra M. Complete genome sequence of *Halorhodospira halophila* SL1. *Standards in Genomic Sciences*, 2013, 8(2): 206–214.
- [46] Kulp TR, Hoefft SE, Asao M, Madigan MT, Hollibaugh JT, Fisher JC, Stolz JF, Culbertson CW, Miller LG, Oremland RS. Arsenic(III) fuels anoxygenic photosynthesis in hot spring biofilms from Mono Lake, California. *Science*, 2008, 321(5891): 967–970.
- [47] Saxena R, Dhakan DB, Mittal P, Waiker P, Chowdhury A, Ghatak A, Sharma VK. Metagenomic analysis of hot springs in central India reveals hydrocarbon degrading thermophiles and pathways essential for survival in extreme environments. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 2123.
- [48] Wang SM, Hou WG, Dong HL, Jiang HC, Huang LQ. Control of temperature on microbial community structure in hot springs of the Tibetan plateau. *PLoS One*, 2013, 8(5): 1–13.
- [49] De Boer MK, Koolmees EM, Vrieling EG, Breeman AM, Van Rijssel M. Temperature responses of three *Fibrocapsa Japonica* strains (*Raphidophyceae*) from different climate regions. *Journal of Plankton Research*, 2005, 27(1): 47–60.
- [50] Lagadic-Gossmann D, Huc L, Lecureur V. Alterations of intracellular pH homeostasis in apoptosis: origins and roles. *Cell Death and Differentiation*, 2004, 11(9): 953–961.
- [51] Suzuki I, Lee D, Mackay B, Harahuc L, Oh JK. Effect of various ions, pH, and osmotic pressure on oxidation of elemental sulfur by *Thiobacillus thiooxidans*. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(11): 5163–5168.
- [52] Chen RJ, Yue ZL, Eccleston ME, Williams S, Slater NKH. Modulation of cell membrane disruption by pH-responsive pseudo-peptides through grafting with hydrophilic side chains. *Journal of Controlled Release*, 2005, 108(1): 63–72.
- [53] Lauber CL, Hamady M, Knight R, Fierer N. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, 75(15): 5111–5120.
- [54] 张艳敏. 西藏热泉微生物种群构成与功能及高温铁循环微生物作用研究. 中国地质大学博士学位论文, 2018.
- [55] Zhang YM, Wu G, Jiang HC, Yang J, She WY, Khan I, Li WJ. Abundant and rare microbial biospheres respond differently to environmental and spatial factors in Tibetan hot springs. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 2096.
- [56] Zhang CL, Ye Q, Huang ZY, Li WJ, Chen JQ, Song ZQ, Zhao WD, Bagwell C, Inskeep WP, Ross C, Gao L, Wiegel J, Romanek CS, Shock EL, Hedlund BP. Global occurrence of archaeal *AmoA* genes in terrestrial hot springs. *Applied and Environmental Microbiology*, 2008, 74(20): 6417–6426.



吴耿, 博士, 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, 主要从事极端环境地质微生物学研究。以热泉及相关环境为地质载体, 研究热泉环境中的地质微生物介导的 C/S/Fe/As 等元素的生物地球化学循环过程; 在“将今论古”的思想的指导下, 利用热泉环境模拟早期地球环境条件下微生物-矿物相互作用及矿物驱动的微生物群落演化。主持国家自然科学基金 3 项、承担国家自然科学基金“水圈微生物”重大研究计划重点项目和中德国际合作项目子任务; 以第一、通讯作者或合作作者在 *mBio*、*Frontiers in Microbiology*、*Microorganisms*、*Geomicrobiology Journal*、*Plant and Soil*、*PloS ONE*、*International Biodeterioration & Biodegradation*、*ISME Journal*、*Environmental Microbiology* 等重要国际 SCI 期刊上发表论文 30 余篇; 担任国际 SCI 期刊 *Frontiers in Microbiology* 评审编委; 担任 *Frontiers in Microbiology*、*Science of Total Environment*、*Geomicrobiology Journal* 等杂志的审稿人。