



## 专论与综述

## 铁氧化菌耐砷机制及其砷污染修复应用的研究进展

陈淋霞<sup>1</sup> 张萌<sup>1</sup> 石佳佳<sup>1</sup> 张笛<sup>1</sup> 郭永<sup>3</sup> 包智华<sup>\*1,2</sup><sup>1</sup> 内蒙古大学生态与环境学院 微生物生态与资源实验室 内蒙古 呼和浩特 010021<sup>2</sup> 内蒙古环境污染控制与废物资源化重点实验室 内蒙古 呼和浩特 010021<sup>3</sup> Laboratory of Microbial Ecology, College of Agriculture, Ibaraki University, Ibaraki 300-0393, Japan

**摘要:** 砷污染作为全球性环境问题已经引起了人们的高度重视。无机砷化合物可与铁氢氧化物络合通过共沉淀作用去除。因此,利用具有砷耐性的铁氧化菌氧化环境中的铁元素去除砷化合物具有潜在的应用前景。目前已有利用铁氧化菌去除环境中砷污染物的报道。用于砷污染修复的铁氧化菌必须有一定的砷耐性才能在含砷环境中行使功能。微生物是否具有砷耐性往往取决于基因,并且不同的菌株具有不同的生理特征,适宜不同砷污染环境的修复。本文通过对8株代表性的铁氧化菌砷耐性基因的总结,阐述其耐砷机制、研究概况及应用前景,以期为铁氧化菌用于除砷新技术的开发提供参考。

**关键词:** 铁氧化菌, 砷污染, 砷耐性基因, 共沉淀, 细胞质砷还原, *ars* 基因

## Advances in arsenic-resistant mechanism of Fe(II)-oxidizing bacteria and its arsenic pollution remediation applications

CHEN Lin-Xia<sup>1</sup> ZHANG Meng<sup>1</sup> SHI Jia-Jia<sup>1</sup> ZHANG Di<sup>1</sup> GUO Yong<sup>3</sup>  
BAO Zhi-Hua<sup>\*1,2</sup><sup>1</sup> Laboratory of Microbial Ecology and Resources, School of Ecology and Environment, Inner Mongolia University, Hohhot, Inner Mongolia 010021, China<sup>2</sup> Inner Mongolia Key Laboratory of Environmental Pollution Control and Waste Resource Reuse, Hohhot, Inner Mongolia 010021, China<sup>3</sup> Laboratory of Microbial Ecology, College of Agriculture, Ibaraki University, Ibaraki 300-0393, Japan

**Abstract:** As a global environmental issue, arsenic pollution has attracted great attentions. Inorganic arsenic compounds can be removed from soil and aqueous system through the co-precipitation by complexing with iron hydroxide. Therefore, Fe(II)-oxidizing bacteria have been expected to depollute the arsenic compounds from environment coupling with the microbial iron oxidation. To date, an increasing number of studies have reported that Fe(II)-oxidizing bacteria were used in the bioremediation of

**Foundation items:** Science and Technology Major Project on Lakes of Inner Mongolia (ZDZX2018054); National Natural Science Foundation of China (41963008, 41563009); Inner Mongolia Science and Technology Plan (JH20180633)

**\*Corresponding author:** E-mail: bao1016@163.com

**Received:** 01-12-2019; **Accepted:** 09-07-2020; **Published online:** 23-07-2020

**基金项目:** 内蒙古“一湖两海”科技重大专项(ZDZX2018054); 国家自然科学基金(41963008, 41563009); 内蒙古科技计划(JH20180633)

**\*通信作者:** E-mail: bao1016@163.com

**收稿日期:** 2019-12-01; **接受日期:** 2020-07-09; **网络首发日期:** 2020-07-23

environmental arsenic pollution. The Fe(II)-oxidizing bacteria used for the arsenic removal must have an arsenic tolerance in order to function in the arsenic-containing environment. Whether the microorganisms have arsenic tolerance always depends on its genetic basis. Besides, different bacterial strains have different physiological characteristics and are suitable for remediation of different arsenic-contaminated environments. By summarizing the arsenic tolerance genes of eight representative Fe(II)-oxidizing bacteria, this paper represents their arsenic tolerance mechanism, research overview and application prospect, in an attempt to provide a reference for the technological innovation of applying Fe(II)-oxidizing bacteria to arsenic removal.

**Keywords:** Fe(II)-oxidizing bacteria, Arsenic pollution, Arsenic tolerance gene, Co-precipitation, Cytoplasmic arsenic reduction, *ars* gene

砷是一种高毒性的类金属元素, 已知能致癌、致畸、致突变<sup>[1]</sup>。全球有 1 亿多的人口暴露在砷污染的环境中<sup>[2]</sup>。砷常见的两种形式为亚砷酸盐( $\text{AsO}_3^{3-}$ )和砷酸盐( $\text{AsO}_4^{3-}$ ), 也可表示为 As(III)和 As(V)<sup>[3]</sup>。环境中砷主要来源于含砷矿物、火山灰等固相, 经过风化、淋溶等自然条件进入液相环境产生水污染问题<sup>[3]</sup>。人为活动也是砷污染物来源的一部分, 如采矿活动、化石燃料的燃烧、使用砷农药、除草剂和农作物干燥剂, 以及在牲畜饲料中使用砷添加剂等<sup>[3]</sup>。根据人类常见病数据, 国际癌症研究机构(International Agency for Research on Cancer, IARC)将无机砷列为第 1 类致癌物<sup>[1]</sup>。

环境中的微生物在进化过程中产生了耐砷机制, 这些机制的产生往往由其遗传学基础所决定<sup>[4]</sup>。微生物进化出多种砷解毒机制, 如三价砷的氧化、五价砷的还原外排、三价砷的甲基化外排、通过抗性蛋白扣押砷离子等<sup>[5]</sup>。其中最常见的五价砷还原机制由 *ars* 操纵子控制实现。*ars* 操纵子基因一般分布在染色质或质粒上, 主要以 *arsRDABC* 和 *arsRBC* 两种形式存在<sup>[5-6]</sup>, 主要包括构成 *ars* 操纵子模式的 *arsA*、*arsB*、*arsC*、*arsD*、*arsH* 和 *arsR* 基因。这些砷抗性机制赋予了细菌对砷的高耐受性, 了解这些机制有助于我们建立高效、低成本的生物修复方法<sup>[7]</sup>。

传统的砷去除技术主要基于氧化、共沉淀、吸附、过滤和离子交换原理<sup>[8]</sup>。有研究表明, 利用三价铁(氢)氧化物絮凝沉淀除砷是一种易于操作、成

本低廉的方法, 已被用于水处理工艺<sup>[9]</sup>。铁元素是地壳中第四大元素, 广泛存在于天然环境中。铁氧化菌形成的三价铁矿物可以与砷絮凝共沉淀去除砷, 是治理含砷土壤或废水的理想方式之一<sup>[8-9]</sup>。但是砷对微生物具有高毒性, 铁氧化菌能否在砷污染环境中存活仍不清楚, 尤其是特定的 Fe(II)氧化细菌是否具有必要的解毒机制来应对高毒性砷, 并且在砷存在的情况下具有较高活性<sup>[10]</sup>。

目前已有多篇铁氧化菌用于除砷的研究<sup>[11-19]</sup>。Liu 等<sup>[11]</sup>从自来水和生锈的铁丝中分离出一株属于假单胞菌属(*Pseudomonas*)的铁氧化细菌, 通过驯化使其适应高砷环境, 该菌产胞外酶使铁氧化沉淀产生结晶性差的铁氢矿物, 通过吸附-共沉淀作用可以有效去除砷。Yan 等<sup>[8]</sup>发现 *Acidithiobacillus ferrooxidans* BY-3 具有从水溶液中去除砷的潜力, 尤其是砷浓度低于 100 mg/L 时。我们课题组正在从事重金属耐性菌的相关研究, 尤其是对 Bao 等<sup>[20-22]</sup>分离的重金属耐性菌 *Alsobacter metallidurans* SK200a-9 砷耐性的研究。

这篇综述总结了目前细菌的砷解毒及转化机制, 并进一步叙述了铁氧化菌对于砷去除的优势。通过对 8 株代表性的铁氧化菌砷耐性基因的总结, 阐述其耐砷机制、研究概况及应用前景, 以为铁氧化菌用于除砷新技术的开发提供参考。

## 1 我国砷污染现状

砷污染已成为全球性环境问题, 美国、中国、孟加拉、阿根廷、印度、越南、柬埔寨、泰

国等地都受到不同程度的砷污染<sup>[1,9]</sup>。中国也是砷污染严重的国家之一,据 Sun<sup>[23]</sup>调查发现,国内有15个省(自治区)砷污染问题严峻,分别为山西、青海、四川、内蒙古、吉林、新疆、甘肃、安徽、江苏、宁夏、河南、黑龙江、云南、山东和湖南。

我国表层土壤中砷含量呈现西南向东北递减趋势<sup>[24]</sup>。其中,西南地区包括广西、湖南、云南、贵州等地含砷矿藏丰富,矿产开采、冶炼活动密集<sup>[1]</sup>。全球探明的砷储量有70%来自中国,中国95%的砷提取物来自广西、湖南、云南<sup>[1]</sup>。湖南土壤中砷含量在8.8–22.8  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,平均值为16.1  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,明显高于我国砷含量背景值,主要是由于采矿和冶炼活动在一定区域内增加了异常砷进入土壤,并在重金属矿床附近造成了水土污染<sup>[25]</sup>。含砷饮用水、地下水、砷污染土壤种植的作物是造成人体健康风险的重要来源。砷从土壤进入蔬菜和粮食,通过食物链在人体内积累,导致地方性砷中毒事件时有发生<sup>[24]</sup>。2014年湖南石门县鹤山村河水砷含量超标1 000多倍,有近一半的人都是砷中毒患者<sup>[24-25]</sup>。

地下水砷超标是直接威胁人类健康的重要因素。地下水中砷主要来自地下含砷矿石,自然条件的改变导致岩石中的砷迁移进入含水层;旱、半干旱气候使得基岩风化速率加快,影响砷的迁移富集,盆地中心和三角洲是地下水砷污染多发区<sup>[26]</sup>。由于自然成因造成地下水砷浓度超标主要发生在山西、新疆、内蒙古河套平原等地区。1980年,中国新疆的奎屯市发生了第一个大规模砷中毒事件,当地居民饮用水从浅井水改为深井水,砷含量高达50  $\mu\text{g}/\text{L}$ <sup>[9]</sup>。我国河套地区地下水砷污染事件导致7个城市18万人受到不同程度的影响<sup>[5]</sup>。1994年,山西发现大面积砷饮用水中毒事件,包括10个县129个村庄,主要分布在大同和太原盆地<sup>[25]</sup>。

## 2 细菌砷抗性机制

砷是长久且普遍存在于环境中的有毒类金

属,微生物在适应环境的过程中进化出各种形式的生物转化机制。例如砷的呼吸型氧化(respiratory arsenite oxidation)、呼吸型还原(respiratory arsenate reduction)、甲基化以及细胞质砷还原机制等<sup>[4-7]</sup>。砷耐性相关基因主要包括呼吸型砷氧化 *aio/arx* 基因、呼吸型砷还原 *arr* 基因、砷的甲基化 *arsM* 基因和细胞质砷还原 *ars* 基因<sup>[27]</sup>。前两者是 As(III)与 As(V)之间呼吸型生物转化产能的过程,后者是无机砷和有机砷的解毒机制<sup>[28]</sup>。

### 2.1 厌氧呼吸型砷还原

在细胞早期,地球上还没有氧气时,细胞主要进行砷酸盐、硝酸盐、铁离子等作为终端电子受体的厌氧呼吸<sup>[4]</sup>。有些厌氧菌将 As(V)作为末端电子受体(在厌氧呼吸过程中代替氧气)。 *Chrysiogenes arsenatis* 是最早发现进行呼吸型砷酸盐还原的分离株;呼吸型砷还原酶(Arr)是一种周质或膜相关的蛋白(异二聚体),由较大的[4Fe-4S]钼蝶呤亚基(ArrA)和一个较小的以[Fe-S]为中心的小亚基(ArrB)组成<sup>[28]</sup>。

### 2.2 呼吸型砷氧化

*aioAB* 操纵子广泛分布于细菌中,其最初在 *Alcaligenes faecalis* 中被鉴定<sup>[29]</sup>。*aioAB* 编码的砷氧化酶具有钼中心和[3Fe-4S]簇的大亚基以及一个包含 Rieske 型[2Fe-2S]结构的小亚基<sup>[28]</sup>。某些细菌具有转录调节系统,如 AioS、AioR、AioX、RpoN、DnaJ 等<sup>[30]</sup>。最近在 *Alkalilimnicola ehrlichii* strain MLHE-1 中鉴定出一种新型 As(III)氧化酶 ArrA<sup>[31]</sup>。ArrA 不同于先前发现的 ArrA 和 AioA,其代表了二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide, DMSO)还原酶家族不同的系统发育进化支<sup>[28]</sup>。对菌株 MLHE-1 的基因组进行更深入的分析发现, *arrA* 是名为 *arrB'ABCDE* 的 *arr* 操纵子的一部分<sup>[31]</sup>。

### 2.3 As(III)的甲基化

砷解毒的一种途径是 As(III)的甲基化以及甲基化产物的解毒过程。As(III)的甲基化通过 *arsM* 编码的 As(III)-腺苷甲硫氨酸甲基转移酶(ArsM)催化<sup>[5]</sup>。该酶催化 S-腺苷甲硫氨酸

(S-adenosylmethionine)上的甲基转移至  $\text{As(III)}$ <sup>[28]</sup>。 $\text{As(III)}$ 可以进行连续 3 次甲基化, 分别得到甲基亚砷酸盐[MAs(III)]、二甲基亚砷酸盐[DMAs(III)]和终产物三甲基亚砷酸盐[TMAs(III)]。虽然甲基砷的毒性比  $\text{As(III)}$ 更高, 但不会在细胞内积累<sup>[4]</sup>。TMAs(III)可以通过蒸发排出, MAs(III)可以通过甲基砷转运蛋白 *ArsP* 排出, 并且 *ArsP* 还赋予细胞其他三价有机砷的抗性, 如 *Rox(III)*、*PhAs(III)*<sup>[28]</sup>。

## 2.4 细胞质砷还原

*ars* 操纵子基因广泛分布于细菌和古菌的质粒和染色体上<sup>[32]</sup>。迄今为止, 几乎每个测序的原核生物都具有 *ars* 操纵子, 其中 *arsRBC* 最常见, 而 *arsRDABC* 是由 *arsRBC* 进化而来<sup>[33]</sup>。细胞质砷还原机制(图 1)指  $\text{As(V)}$ 进入细胞质后被胞质中的砷还原酶还原为  $\text{As(III)}$ 再排出细胞外的过程, 该过程涉及多种 *ars* 基因编码的酶参与(表 1)。

砷有两种重要的生物存在形式  $\text{As(III)}$ 和  $\text{As(V)}$ , 即  $\text{H}_3\text{AsO}_4$  ( $\text{pK}_a$  为 7.0)和  $\text{As(OH)}_3$ 。砷酸

盐与磷酸盐基团结构相似, 磷酸转运蛋白 *Pit* 和 *Pst* 是  $\text{As(V)}$ 进入细胞的途径<sup>[35]</sup>。*Pst* 是由磷酸盐饥饿引起的高亲和力低容量的系统, 而 *Pit* 是低亲和力高容量的系统<sup>[36]</sup>。*Pit* 和 *Pst* 都能催化砷的吸收, *Pit* 系统似乎是  $\text{As(V)}$ 吸收的主要系统<sup>[4-5]</sup>。*GlpF* 是  $\text{As(III)}$ 进出细胞的双向通道, *GlpF* 是水甘油糖蛋白(aquaglyceroporins), 是运输中性有机溶质如甘油、尿素的多功能通道<sup>[37]</sup>。在中性 pH 下, 亚砷酸盐( $\text{pK}_a$  为 9.2)以中性  $\text{As(OH)}_3$  的形式存在, 类似于甘油等有机分子<sup>[32]</sup>。而且, 大多数中性类金属(metalloids)都能被 *GlpF* 识别为与甘油类似的多元醇形式而被吸收。AQPs 可以按功能分为两类, 即传统 AQPs 和水甘油糖蛋白(aquaglyceroporins), 传统的 AQPs 是水特异性通道, 水甘油糖蛋白可以运输水、甘油和其他不带电荷的小溶质<sup>[38]</sup>。2005 年, Yang 等<sup>[39]</sup>在 *Sinorhizobium meliloti* (*Rhizobiaceae*, 根瘤菌科)中发现 *GlpF* 的同源蛋白 *AqpS* 也具有排

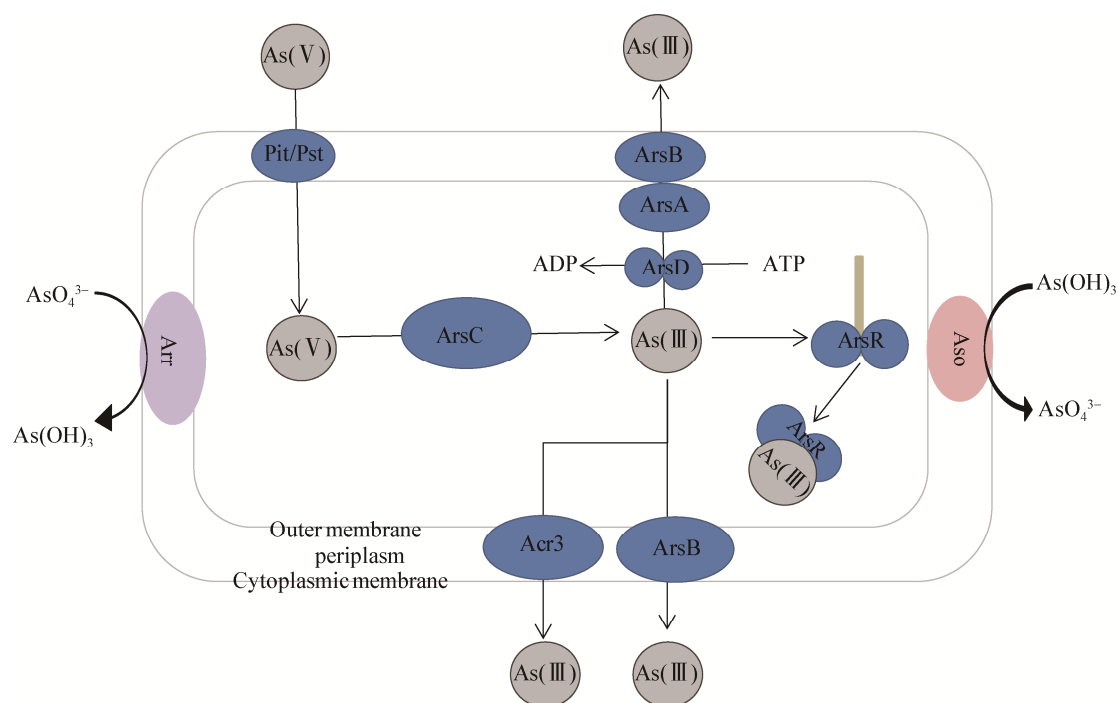


图 1 细菌砷代谢途径<sup>[34]</sup>

Figure 1 Bacterial arsenic metabolic pathway<sup>[34]</sup>

表 1 *ars* 抗砷基因及其功能注释Table 1 *ars* anti-arsenic gene and its functional annotation

基因名称	基因编码蛋白
Gene name	Gene-encoded protein
<i>arsA</i>	亚砷酸盐-激活 ATP 酶
	Arsenical pump-driving ATPase
<i>arsB</i>	泵砷膜蛋白
	Arsenic efflux pump protein
<i>arsC</i>	砷酸盐还原酶
	Arsenate reductase
<i>arsD</i>	砷抗性操纵子抑制因子
	Arsenical resistance operon transacting repressor
<i>arsH</i>	砷抗性蛋白
	Arsenical resistance protein
<i>arsR</i>	转录阻遏物
	Transcriptional repressor
<i>acr3</i>	砷外排转运蛋白
	Arsenite efflux transporter

出 As(III)的能力。AQPs 既能吸收也能外排 As(III)，但吸收还是外排取决于砷的浓度梯度方向<sup>[5,38]</sup>。虽然三价砷毒性高于五价砷，但大多细菌都存在三价砷外排系统，而没有五价砷外排系统。在没有氧气前，砷以 As(III)存在，因此首先进化出 As(III)外排转运蛋白<sup>[38]</sup>。在地球上出现氧气后，大多数 As(III)被氧化为 As(V)，所以进化出了砷还原酶。如今，砷还原酶成为了砷解毒机制基础<sup>[40]</sup>。

As(V)进入细胞质后被砷还原酶还原为 As(III)。已知有 3 个独立进化的砷还原酶家族，第 1 个砷还原酶序列发现于 *Escherichia coli* 的 R773 质粒上的 *ars* 操纵子中。第 2 个发现于 *Staphylococcus aureus* 的 p1258 质粒上，该基因编码的砷还原酶与第一个家族无关，但也被称作 *arsC*<sup>[40]</sup>。第 3 个发现于酵母 *Saccharomyces cerevisiae*，命名为 Acr2p，与 R773 *ArsC* 类似，Acr2p 具有单个活性位点的半胱氨酸残基，并使用戊二醛和谷胱甘肽 (glutaredoxin and glutathione) 作为还原剂<sup>[27]</sup>。细菌的砷还原酶主要为前两种，以 Glutaredoxin 为还原反应的电子供体，以 *E. coli* R773 质粒上的 *ArsC<sub>ec</sub>* 家族 (glutaredoxin-coupled *ArsCs*) 为代表；以 Thioredoxin 为还原反应的电子供体以 *S. aureus*

p1258 质粒上的 *ArsC<sub>sa</sub>* 家族 (thioredoxin-coupled *ArsCs*) 为代表<sup>[28,40]</sup>。

As(III)的外排过程利用细胞膜电位差，大多通过位于内膜的 *ArsB* 蛋白单向泵出。*ArsB* 是由 429 个残基组成的膜蛋白，在大多数 *ars* 操纵子中都存在该基因<sup>[27]</sup>。具有 3 个基因 *arsRBC* 操纵子的细菌通过 *ArsB* 单独排出 As(III)<sup>[4]</sup>。增加的 2 个基因 *arsD* 和 *arsA* 最初在 *E. coli* 中 R773 质粒 *ars* 操纵子中发现<sup>[28]</sup>。而且，一般表达 *arsRDABC* 五基因的细胞比只表达 *arsRBC* 的细胞对于砷的抗性更强<sup>[37]</sup>。*ArsA* 位于细胞周质，由 583 个残基组成，是 ATPase 家族的一员，由 A1 和 A2 两部分组成，中间由 25 个残基的连接子连接<sup>[28]</sup>。*ArsA* 通过将 As(III)与其 3 个半胱氨酸残基活性位点结合而被变构激活<sup>[41]</sup>。*ArsA* 和 *ArsB* 可以形成 *ArsA/ArsB* 复合物，该通道酶会转换为更有效的 ATP 驱动的亚砷酸盐泵，从而大大增强 As(III)外排能力<sup>[33]</sup>。在细菌和古菌的砷抗性基因簇中，*ArsD* 和 *ArsA* 经常同时出现。细胞质蛋白 *ArsD* (120 个残基组成，可以二聚体化)是调节 *ars* 操纵子的弱阻遏物，同时作为 As(III)伴侣蛋白，将 As(III)传递给 *ArsA* 并增强它们的亲和力和 *ArsA* 的催化活性<sup>[42]</sup>。*ArsD* 与类金属砷有高亲和力，与 As(III)结合后再传递给 *ArsAB* 将其外排<sup>[40]</sup>。

另一个与 *ArsB* 无关的 As(III)转运蛋白(称为 *Acr3*) 在细菌、古菌、真菌中都有发现<sup>[5]</sup>。而且，几乎每个原核生物都有 *arsB* 或 *acr3* 基因，并分别编码 *ArsB* 和 *Acr3* 蛋白，它们在环境微生物中的占比大致相等<sup>[28]</sup>。*Acr3* 通透酶是 BART (bile/arsenite/riboflavin transporter) 超家族的一员<sup>[5]</sup>。根据系统发育差异，*Acr3* 可以分为两个亚家族：*Acr3*(1) 和 *Acr3*(2)<sup>[35]</sup>。最近还发现新的 As(V)外排新途径：*Pseudomonas aeruginosa* DK2 染色体的 *ars* 操纵子上的 *arsJ* 和 *gapdh* 基因，当两个基因同时表达时具有 As(V)抗性，并减少了 As(V)在细胞内的积累<sup>[43]</sup>。*arsJ* 和 *gapdh* 基因编码的膜蛋白 *ArsJ* 和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)分别催化无机 As(V)转化为有

机 As(V)和有机 As(V)的外排<sup>[43-44]</sup>。

ArsR 是与启动子区域结合并调节 *ars* 操纵子的反式阻遏物, 可感知环境中的无机砷, 并反向调节 *ars* 操纵子其他基因的转录表达<sup>[33]</sup>。As(III)与 ArsR 的结合会引起 ArsR 的结合位点发生构象变化, 将其与靶基因的启动子解离, 从而允许其他 *ars* 操纵子基因转录<sup>[44]</sup>。ArsD 具有弱的 As(III)反式转录阻遏物功能, 其与 ArsR 没有序列相似性, 但以较小的亲和力与 *ars* 启动子区域上的相同位点结合。ArsR 和 ArsD 被认为分别负责控制 *ars* 操纵子的基础表达和最大表达水平<sup>[28]</sup>。

3 铁氧化细菌砷污染修复应用

微生物修复是利用微生物机制去消除、遏制并将有毒化合物转化为环境中毒性较小或无毒物质的过程<sup>[3]</sup>。生物修复是生物、化学和物理过程的复杂相互作用。铁氧化菌可以氧化 Fe(II)为 Fe(III), 而含铁的物质是砷的高效吸附剂<sup>[8]</sup>。铁(氢)氧化物因具有较高的比表面积和化学反应活性、较强的吸附性等特点, 通过对介质中砷的吸附、氧化以及共沉淀等作用可以有效地达到降低砷毒性以及阻碍其迁移的目的<sup>[45-46]</sup>。具有砷耐性的铁氧化菌可以利用环境中存在的铁吸附共沉淀环境中的砷, 尤其适用于难以去除的低浓度砷污染<sup>[11]</sup>。生物采矿(biomining)和生物修复(bioremediation)代表了

生物技术的一个新分支。目前已有多例耐砷铁氧化菌用于生物冶金和环境中砷污染修复(表 2)。

3.1 嗜酸性铁氧化菌用于生物浸出含砷矿

目前, 嗜酸铁氧化菌多用于微生物冶金, 因为生物浸矿是放热产酸的反应。微生物冶金作为一种现代资源开采技术具有低能耗、低污染、高效率的优势。国内外都有微生物冶金产业化工程, 目前微生物冶金主要集中在铜、砷、镍、金、铀等金属的浸提上。

嗜酸氧化亚铁硫杆菌(*Acidithiobacillus ferrooxidans*)是第一个从酸性尾矿废水中发现的能氧化含硫矿物的菌株, 也是目前研究最多的浸矿细菌<sup>[8]</sup>。其是一种代谢复杂的浸矿细菌, 有氧条件下通过氧化亚铁、还原性硫化物、H<sub>2</sub> 获得能量用于自身生长<sup>[14]</sup>。由于在 pH<4.0 时, Fe(II)在有氧条件下被氧化的速度非常缓慢, 在嗜酸铁氧化菌存在条件下, 铁氧化速率能大大提升<sup>[12]</sup>。为提高 *A. ferrooxidans* 浸出砷金精矿过程中的氧化活性和耐砷能力, 方芳等<sup>[12]</sup>采用连续转接驯化法对分离纯化得到的 *A. ferrooxidans* 菌株 NSJ209 进行耐砷驯化, 对 As(III)的耐受性从驯化前的 4 g/L 提高到 6 g/L, 对 As(V)的耐受性从驯化前的 8 g/L 提高到 12 g/L。另一株嗜酸铁氧化菌 *A. ferrivorans* 是化学自养的革兰氏阴性细菌, 因其具有从矿砂中提取

表 2 8 株铁氧化菌的分类及特点

Table 2 Classification and characteristics of eight strains of iron-oxide bacteria

铁氧化菌类别	菌株	所属类群	除砷应用	参考文献
Classification	Strain	Phylum/Class	Arsenic removal application	References
Anaerobic and nitrate-dependent	<i>Pseudogulbenkiania</i> sp. 2002	<i>Betaproteobacteria</i>	As-nitrate cocontaminated groundwater	[16]
	<i>Acidovorax</i> sp. BoFeN1	<i>Betaproteobacteria</i>	Arsenic-contaminated rice paddy soil	[47]
Anaerobic phototrophic	<i>Rhodomicrobium vannielii</i> ATCC 17100	<i>Alphaproteobacteria</i>	Presence in high arsenic groundwater from Hetao Plain of Inner Mongolia	[48]
	<i>Rhodobacter</i> sp. SW2	<i>Alphaproteobacteria</i>	As-nitrate cocontaminated groundwater	[47]
Acidophilic	<i>Acidithiobacillus ferrooxidans</i> KCTC 4515	<i>Acidithiobacillia</i>	Highly concentrated arsenic mine tailings	[14]
	<i>Acidithiobacillus ferrivorans</i> SS3	<i>Acidithiobacillia</i>	Pyrite colonization and leaching	[49]
	<i>Leptospirillum ferrooxidans</i> C2-3	<i>Nitrospirae</i>	Bioremediation of arsenopyrite (FeAsS) and enargite (Cu <sub>3</sub> AsS <sub>4</sub> )	[19]
	<i>Sideroxydans lithotrophicus</i> ES-1	<i>Betaproteobacteria</i>	Presence in Bangladesh Arsenic Aquifers	[50]
Microaerobic neutrophilic				

金属(例如铜、铀、钴和金)并从受污染的工业废水、液体废物、污水土壤中去除硫化化合物的能力而闻名<sup>[47]</sup>。具有砷耐性的嗜酸铁氧化菌可用于处理含砷矿物,目前, *Leptospirillum ferriphilum* 和 *A. ferrooxidans* 已在工程上应用<sup>[19,46]</sup>。

### 3.2 厌氧型铁氧化菌用于砷污染修复

在厌氧条件下, Fe(II)只能被锰的氧化物、一些结晶铁氧化物和亚硝酸盐氧化。因此,在厌氧条件下,铁氧化菌是形成三价铁矿物的重要催化微生物<sup>[47]</sup>。厌氧光合铁氧化菌可利用光能催化 Fe(II)的厌氧氧化,将 CO<sub>2</sub> 固定在生物质中<sup>[40]</sup>。厌氧硝酸盐依赖铁氧化菌能耦合硝酸盐还原和 Fe(II)氧化<sup>[15]</sup>。

厌氧光合铁氧化菌 *Rhodobacter* sp. SW2、*Rhodomicrobium vannielii* 等具有显著影响砷的环境行为的潜力,特别是在含水层和稻田等缺氧条件下<sup>[51]</sup>。*Rhodobacter* sp. SW2 被证明在砷酸盐浓度低于 500 μmol/L (37.5 mg/L)时,不会明显影响厌氧硝酸盐和光养性 Fe(II)氧化细菌的代谢<sup>[52]</sup>。该细菌形成的高度结晶的 Fe(III)矿物很难被 Fe(III)还原细菌还原,因此通过 Fe(II)氧化细菌进行砷固定有望用于水处理系统,甚至可以用于环境修复<sup>[49]</sup>。*Pseudogulbenkiania* sp. 2002、*Acidovorax* sp. BoFeN1 作为厌氧硝酸盐依赖铁氧化菌,为同时去除可溶性砷和硝酸盐提供了一种原位修复硝酸和砷共污染地下水的可行方法。Xiu 等<sup>[18]</sup>的研究表明, Fe(II)可被 *Pseudogulbenkiania* sp. 2002 有效氧化,主要形成纤铁矿,其固定的 As(III)比 As(V)更多且不改变砷的氧化还原状态。厌氧硝酸盐依赖型铁氧化菌在水稻田中分布广泛,添加硝酸盐有助于其氧化 Fe(II),固定水稻田中超标的砷,减少水稻对砷的吸收<sup>[15]</sup>。

## 4 *ars* 基因在铁氧化菌中分布

铁氧化菌用于含砷环境污染修复的研究已有多例,本文选择已有关于砷污染报道的铁氧化菌株,这些菌株有望或已得到实际应用。但大部

分研究都集中于其砷耐性活性、铁氧化成矿及吸附沉淀效果上,很少有从基因出发对其砷耐性机制进行研究。作者从基因层面研究其砷耐性机理,为发掘对于砷污染更经济高效的生物修复技术奠定基础。我们选择来自不同类型的 8 株铁氧化菌(厌氧硝酸盐依赖型、厌氧光合型、嗜酸型和微氧中性型),其中 5 株 *Pseudogulbenkiania* sp. 2002、*Acidovorax* sp. BoFeN1、*Rhodobacter* sp. SW2、*A. ferrooxidans* 和 *L. ferrooxidans* 已证实具有砷污染去除作用,其余 3 株也在砷污染环境中被发现,可能具有一定砷抗性能力(表 2)。与 *R. vannielii* 高度相似的细菌在内蒙古河套平原高砷地下水中被发现,其具有 *arsM* 基因<sup>[48]</sup>。*S. lithotrophicus* ES-1 在孟加拉国含砷地下水深层发现<sup>[50]</sup>。

砷解毒机制 *ars* 操纵子在革兰氏阴性菌和阳性菌中都有分布,并且有多种不同的基因编排方式,最常见的是 *arsRDABC* 和 *arsRBC*<sup>[45]</sup>。*A. ferrooxidans*、*L. ferrooxidans*、*Acidovorax* sp. BoFeN1、*A. ferrivorans* SS3、*Pseudogulbenkiania* sp. 2002、*R. vannielii*、*Rhodobacter* sp. SW2、*S. lithotrophicus* ES-1 中耐砷基因簇有所差异,相关基因分别为 11、8、5、9、5、10、8、4 个。8 株铁氧化代表菌株耐砷基因簇的比较如图 2 所示。*A. ferrooxidans*、*L. ferrooxidans*、*A. ferrivorans* SS3、*Rhodobacter* sp. SW2 菌株抗砷功能基因和抗砷转录调控基因数量较多,暗示了这几株菌具有较好的砷适应能力<sup>[53]</sup>。这 8 株菌中都具有 *arsC* 基因,可见这 8 株铁氧化菌砷抗性机制都为细胞质砷还原。

一般 *arsRDABC* 和 *arsRBC* 都只有一个起始位点,朝一个方向转录; *A. ferrooxidans* 具有特殊的基因型,其 *ars* 基因由转录方向相反的两个操纵子 *arsRC* 和 *arsBH* 组成<sup>[46]</sup>。*ArsB*、*Acr3* 是砷外排相关蛋白,两者分别由 *arsB* 和 *acr3* 基因编码,而 *ArsA* (编码基因 *arsA*) 和 *ArsB* (编码基因 *arsB*) 复合物可大大加强外排效率<sup>[4]</sup>。除 *Pseudogulbenkiania* sp. 2002 外的 7 株菌都具有砷外排相关蛋白。其中 *Rhodobacter* sp. SW2、*R. vannielii*、*S. lithotrophicus* 砷外排蛋白



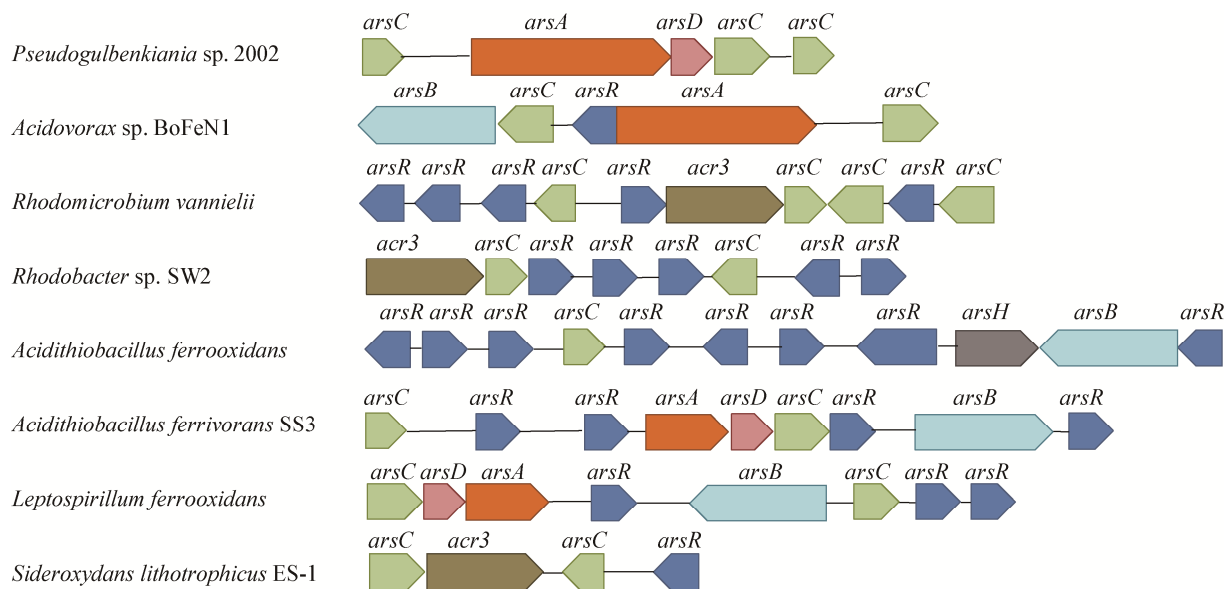


图 2 8 种铁氧化菌的耐砷基因簇对比分析

Figure 2 Arsenic tolerance gene cluster comparison analysis of eight iron-oxidizing bacteria

注: 菌株 (GenBank 注册号): *Pseudogulbenkiania* sp. 2002 (NZ\_ACIS01000000); *Acidovorax* sp. BoFeN1 (QOZT01000000); *Rhodocrobium vannielii* (NC\_014664); *Rhodobacter* sp. SW2 (ACYY01000000); *Acidithiobacillus ferrooxidans* (NC\_011761); *Acidithiobacillus ferrivorans* SS3 (NC\_015942); *Leptospirillum ferrooxidans* (NC\_017094); *Sideroxydans lithotrophicus* ES-1 (NC\_013959).  
 Note: Strain (GenBank accession number): *Pseudogulbenkiania* sp. 2002 (NZ\_ACIS01000000); *Acidovorax* sp. BoFeN1 (QOZT01000000); *Rhodocrobium vannielii* (NC\_014664); *Rhodobacter* sp. SW2 (ACYY01000000); *Acidithiobacillus ferrooxidans* (NC\_011761); *Acidithiobacillus ferrivorans* SS3 (NC\_015942); *Leptospirillum ferrooxidans* (NC\_017094); *Sideroxydans lithotrophicus* ES-1 (NC\_013959).

为 Acr3。有研究表明, Acr3 分布与 ArsB 相当, 甚至比 ArsB 更多<sup>[54]</sup>。ArsR 作为调控子广泛存在, 8 株铁氧化菌中除 *Pseudogulbenkiania* sp. 2002 外都具有 ArsR 蛋白。ArsD 具有两种功能, *L. ferrooxidans*、*A. ferrivorans* SS3、*Pseudogulbenkiania* sp. 2002 中 ArsD 都与 ArsA 相伴, 推测其能将 As(III) 传递给 ArsA 并增强它们的亲和力和 ArsA 的催化活性(图 2)。

已知 *Pseudogulbenkiania* sp. 2002、*Acidovorax* sp. BoFeN1、*Rhodobacter* sp. SW2 都适用于低浓度水体中砷的吸附沉淀。从他们的基因中也可以看出三者都不具备完整的 *arsRDABC* 基因。*L. ferrooxidans* 和 *A. ferrooxidans* 都分离自矿物环境, 已用于含砷矿物的生物浸出。从基因可以看出, *L. ferrooxidans* 具有一套完整的 *arsRDABC* 操纵子, 已知其能够耐受高达几百 mg/L 的 As(III) 或 As(V)<sup>[19,55]</sup>。对于 *A. ferrivorans* SS3, 虽然砷相关

研究数据很少, 但从其基因分析推测砷耐性很高, 有望用于含砷矿物浸出或砷污染环境修复。按照铁氧化类型大致可以得出如下基因特征: 厌氧硝酸盐依赖型的菌共有 *arsA* 和 *arsC* 基因; 厌氧光合型的菌共有 *acr3*、*arsC* 和 *arsR*; 多数嗜酸型菌具有 *arsRDABC* 基因簇; 微氧中性型 *acr3*、*arsC* 和 *arsR*。但 *Acidithiobacillus* 属的两株菌的基因也出现了较大差异。说明菌株水平的耐性基因存在差异。

## 5 展望

我国砷污染问题刻不容缓, 这使高效砷污染处理技术的开发显得尤为重要。Fe(II)氧化菌产生 Fe(III)矿物对砷有强吸附性, 可以有效地达到降低砷毒性以及阻碍其迁移的目的, 是治理含砷土壤或废水的理想方法之一。目前国内对外微生物耐砷机制的研究取得了很大进展, 在实际工程技术



方面也有了一定的成果。但由于砷污染成因复杂,多具有伴生性和综合性,加之利用单一物种的铁氧化微生物在实际应用中具有一定的难度,今后还需要在以下方面深入探究:

(1) 微生物修复极易受环境因子(pH、Eh、土壤矿物、有机质等)的影响,单独采用一种铁氧化菌修复的效率往往不高。基于微生物的代谢机制及基因组信息,选择具有不同耐性机制的多种类型复合菌群,研究其对砷污染的去除效果及机制。

(2) 自然界中绝对意义上的单一污染是不存在的,可能同时存在多种重金属(如 Cd、Cu、Pb、Zn、Sb、Hg、Au)的污染。铁氧化菌除具有耐砷基因外是否存在多种金属耐性基因和耐性能力以及相互之间有何关联。

(3) 环境中多数微生物处于不可培养状态,是否有新的耐砷基因及耐砷机制存在。最近从 *Alkalilimnicola ehrlichii* MLHE-1 中鉴定出新的耐砷基因,还有我们团队分离的 *Alsobacter metallidurans* SK200a-9 是重金属负荷条件下获得的科水平新菌,具有多种重金属耐性,而且表现出较高的砷耐性。因此,自然界中的耐砷基因及耐砷微生物值得开发和利用。

## REFERENCES

- [1] Zhang LK, Qin XQ, Tang JS, et al. Review of arsenic geochemical characteristics and its significance on arsenic pollution studies in karst groundwater, Southwest China[J]. Applied Geochemistry, 2017, 77: 80-88
- [2] Sher S, Rehman A. Use of heavy metals resistant bacteria—a strategy for arsenic bioremediation[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2019, 103(15): 6007-6021
- [3] Prasad KS, Ramanathan AL, Paul J, et al. Biosorption of arsenite ( $As^{+3}$ ) and arsenate ( $As^{+5}$ ) from aqueous solution by *Arthrobacter* sp. biomass[J]. Environmental Technology, 2013, 34(19): 2701-2708
- [4] Yang HC, Rosen BP. New mechanisms of bacterial arsenic resistance[J]. Biomedical Journal, 2016, 39(1): 5-13
- [5] Yang HC, Fu HL, Lin YF, et al. Pathways of arsenic uptake and efflux[J]. Current Topics in Membranes, 2012, 69: 325-358
- [6] Nakajima T, Hayashi K, Nagatomi R, et al. Molecular identification of an arsenic four-gene operon in *Campylobacter lari*[J]. Folia Microbiologica, 2013, 58(3): 253-260
- [7] Silver S, Phung LT. Genes and enzymes involved in bacterial oxidation and reduction of inorganic arsenic[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2005, 71(2): 599-608
- [8] Yan L, Yin HH, Zhang S, et al. Biosorption of inorganic and organic arsenic from aqueous solution by *Acidithiobacillus ferrooxidans* BY-3[J]. Journal of Hazardous Materials, 2010, 178(1/3): 209-217
- [9] Jiang JQ, Ashekuzzaman SM, Jiang AL, et al. Arsenic contaminated groundwater and its treatment options in Bangladesh[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2013, 10(1): 18-46
- [10] Mohan D, Pittman CU. Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents—a critical review[J]. Journal of Hazardous Materials, 2007, 142(1/2): 1-53
- [11] Liu Q, Guo HM, Li Y, et al. Acclimation of arsenic-resistant Fe(II)-oxidizing bacteria in aqueous environment[J]. International Biodeterioration & Biodegradation, 2013, 76: 86-91
- [12] Fang F, Zhong H, Jiang FM, et al. Domestication for arsenic-tolerant ability and bioleaching of *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. Journal of Central South University (Science and Technology), 2013, 44(10): 3977-3983 (in Chinese)  
方芳, 钟宏, 江放明, 等. 嗜酸氧化亚铁硫杆菌的耐砷驯化与浸矿能力[J]. 中南大学学报: 自然科学版, 2013, 44(10): 3977-3983
- [13] Schrenk MO, Edwards KJ, Goodman RM, et al. Distribution of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*: implications for generation of acid mine drainage[J]. Science, 1998, 279(5356): 1519-1522
- [14] Park J, Han Y, Lee E, et al. Bioleaching of highly concentrated arsenic mine tailings by *Acidithiobacillus ferrooxidans*[J]. Separation and Purification Technology, 2014, 133: 291-296
- [15] Li BH, Deng CN, Zhang DY, et al. Bioremediation of nitrate- and arsenic-contaminated groundwater using nitrate-dependent Fe(II) oxidizing *Clostridium* sp. strain pxl2[J]. Geomicrobiology Journal, 2016, 33(3/4): 185-193
- [16] Xiu W, Guo HM, Shen JX, et al. Stimulation of Fe(II) oxidation, biogenic lepidocrocite formation, and arsenic immobilization by *Pseudogulbenkiania* sp. strain 2002[J]. Environmental Science & Technology, 2016, 50(12): 6449-6458
- [17] Li BH, Pan XL, Zhang DY, et al. Anaerobic nitrate reduction with oxidation of Fe(II) by *Citrobacter Freundii* strain PXL1 – a potential candidate for simultaneous removal of As and nitrate from groundwater[J]. Ecological Engineering, 2015, 77: 196-201
- [18] Xiu W, Guo HM, Liu Q, et al. Arsenic removal and transformation by *Pseudomonas* sp. strain GE-1-induced

- ferrihydrite: co-precipitation versus adsorption[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2015, 226(6): 167
- [19] Corkhill CL, Wincott PL, Lloyd JR, et al. The oxidative dissolution of arsenopyrite (FeAsS) and enargite (Cu<sub>3</sub>AsS<sub>4</sub>) by *Leptospirillum ferrooxidans*[J]. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 2008, 72(23): 5616-5633
- [20] Bao ZH, Sato Y, Fujimura R, et al. *Alsobacter metallidurans* gen. nov., sp. nov., a thallium-tolerant soil bacterium in the order Rhizobiales[J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2014, 64(Pt3): 775-780
- [21] Bao ZH, Sato Y, Kubota M, et al. Isolation and characterization of thallium-tolerant bacteria from heavy metal-polluted river sediment and non-polluted soils[J]. *Microbes and Environments*, 2006, 21(4): 251-260
- [22] Liu JJ, Liu JM, Zhang D, et al. Relationship between the accumulations of heavy metal thallium and potassium ions in *Alsobacter metallidurans* SK200a-9[J]. *Journal of Microbiology*, 2019, 39(5): 57-63 (in Chinese)  
刘姣姣, 刘菊梅, 张笛, 等. 林杆菌SK200a-9的重金属铊积累与钾离子的关系[J]. *微生物学杂志*, 2019, 39(5): 57-63
- [23] Sun GF. Arsenic contamination and arsenicosis in China[J]. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2004, 198(3): 268-271
- [24] Weng HX, Zhang XY, Zou LJ, et al. Natural existence of arsenic in soil of China and its cause of formation[J]. *Journal of Zhejiang University (Engineering Science)*, 2000, 34(1): 88-92 (in Chinese)  
翁焕新, 张霄宇, 邹乐君, 等. 中国土壤中砷的自然存在状况及其成因分析[J]. *浙江大学学报: 工学版*, 2000, 34(1): 88-92
- [25] Guo XJ, Fujino Y, Kaneko S, et al. Arsenic contamination of groundwater and prevalence of arsenical dermatosis in the Hetao plain area, Inner Mongolia, China[J]. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 2001, 222(1): 137-140
- [26] Rodríguez-Lado L, Sun GF, Berg M, et al. Groundwater arsenic contamination throughout China[J]. *Science*, 2013, 341(6148): 866-868
- [27] Rosen BP. Biochemistry of arsenic detoxification[J]. *FEBS Letters*, 2002, 529(1): 86-92
- [28] Yan G, Chen XX, Du SM, et al. Genetic mechanisms of arsenic detoxification and metabolism in bacteria[J]. *Current Genetics*, 2019, 65(2): 329-338
- [29] Ellis PJ, Conrads T, Hille R, et al. Crystal structure of the 100 kDa arsenite oxidase from *Alcaligenes faecalis* in two crystal forms at 1.64 Å and 2.03 Å[J]. *Structure*, 2001, 9(2): 125-132
- [30] Kumari N, Jagadevan S. Genetic identification of arsenate reductase and arsenite oxidase in redox transformations carried out by arsenic metabolising prokaryotes—A comprehensive review[J]. *Chemosphere*, 2016, 163: 400-412
- [31] Zargar K, Hoeft S, Oremland R, et al. Identification of a novel arsenite oxidase gene, *arxA*, in the haloalkaliphilic, arsenite-oxidizing bacterium *Alkalilimnicola ehrlichii* strain MLHE-1[J]. *Journal of Bacteriology*, 2010, 192(14): 3755-3762
- [32] Garbinski LD, Rosen BP, Chen J. Pathways of arsenic uptake and efflux[J]. *Environment International*, 2019, 126: 585-597
- [33] Achour AR, Bauda P, Billard P. Diversity of arsenite transporter genes from arsenic-resistant soil bacteria[J]. *Research in Microbiology*, 2007, 158(2): 128-137
- [34] Cai L, Wang GJ. Advance on studies of arsenic-resistant microorganisms and molecular mechanisms[J]. *Microbiology China*, 2009, 36(8): 1253-1259 (in Chinese)  
蔡林, 王革娇. 抗砷性微生物及其抗砷分子机制研究进展[J]. *微生物学通报*, 2009, 36(8): 1253-1259
- [35] Cai L, Liu GH, Rensing C, et al. Genes involved in arsenic transformation and resistance associated with different levels of arsenic-contaminated soils[J]. *BMC Microbiology*, 2009, 9(1): 4
- [36] Rosenberg H, Gerdes RG, Chegwidden K. Two systems for the uptake of phosphate in *Escherichia coli*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1977, 131(2): 505-511
- [37] Meng YL, Liu ZJ, Rosen BP. As(III) and Sb(III) uptake by GlpF and efflux by ArsB in *Escherichia coli*[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 2004, 279(18): 18334-18341
- [38] Jahn TP, Bienert GP. MIPs and Their Role in the Exchange of Metalloids[M]. New York: Springer, 2010: 47-55
- [39] Yang HC, Cheng JJ, Finan TM, et al. Novel pathway for arsenic detoxification in the legume symbiont *Sinorhizobium meliloti*[J]. *Journal of Bacteriology*, 2005, 187(20): 6991-6997
- [40] Rosen BP. Families of arsenic transporters[J]. *Trends in Microbiology*, 1999, 7(5): 207-212
- [41] Bhattacharjee H, Rosen BP. Spatial proximity of Cys<sup>113</sup>, Cys<sup>172</sup>, and Cys<sup>422</sup> in the metalloactivation domain of the ArsA ATPase[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271: 24465-24470
- [42] Lin YF, Walmsley AR, Rosen BP. An arsenic metallochaperone for an arsenic detoxification pump[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(42): 15617-15622
- [43] Chen J, Yoshinaga M, Garbinski LD, et al. Synergistic interaction of glyceraldehydes-3-phosphate dehydrogenase and ArsJ, a novel organoarsenical efflux permease, confers arsenate resistance[J]. *Molecular Microbiology*, 2016, 100(6): 945-953
- [44] Wu SJ, Wang BL, Gan AR, et al. Signature arsenic detoxification pathways in *Halomonas* sp. strain GFAJ-1[J]. *mBio*, 2018, 9(3): e00515-18
- [45] Melton ED, Swanner ED, Behrens S, et al. The interplay of

- microbially mediated and abiotic reactions in the biogeochemical Fe cycle[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2014, 12(12): 797-808
- [46] Butcher BG, Deane SM, Rawlings DE. The chromosomal arsenic resistance genes of *Thiobacillus ferrooxidans* have an unusual arrangement and confer increased arsenic and antimony resistance to *Escherichia coli*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(5): 1826-1833
- [47] Hohmann C, Winkler E, Morin G, et al. Anaerobic Fe(II)-oxidizing bacteria show as resistance and immobilize as during Fe(III) mineral precipitation[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(1): 94-101
- [48] Wang YH, Li P, Jiang Z, et al. Diversity and abundance of arsenic methylating microorganisms in high arsenic groundwater from Hetao Plain of Inner Mongolia, China[J]. *Ecotoxicology*, 2018, 27(8): 1047-1057
- [49] Bellenberg S, Barthen R, Boretska M, et al. Manipulation of pyrite colonization and leaching by iron-oxidizing *Acidithiobacillus* species[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2015, 99(3): 1435-1449
- [50] Sultana M, Härtig C, Planer-Friedrich B, et al. Bacterial communities in Bangladesh aquifers differing in aqueous arsenic concentration[J]. *Geomicrobiology Journal*, 2011, 28(3): 198-211
- [51] Weber KA, Hedrick DB, Peacock AD, et al. Physiological and taxonomic description of the novel autotrophic, metal oxidizing bacterium, *Pseudogulbenkiania* sp. strain 2002[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 83(3): 555-565
- [52] Zappa S, Bauer CE. Iron homeostasis in the *Rhodobacter* genus[J]. *Advances in Botanical Research*, 2013, 66: 289-326
- [53] Chang JS, Lee JH, Kim KW. DNA sequence homology analysis of *ars* genes in arsenic-resistant bacteria[J]. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 2007, 12(4): 380-389
- [54] Jebelli MA, Maleki A, Amoozegar MA, et al. Isolation and identification of the native population bacteria for bioremediation of high levels of arsenic from water resources[J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 212: 39-45
- [55] Fujimura R, Sato Y, Nishizawa T, et al. Complete genome sequence of *Leptospirillum ferrooxidans* strain C2-3, isolated from a fresh volcanic ash deposit on the island of Miyake, Japan[J]. *Journal of Bacteriology*, 2012, 194(15): 4122-4123