



# 耐砷促生菌对超富集植物蜈蚣草砷吸收及根际微生物群落的调控作用

李旖曦<sup>1,2</sup>, 陈涵冰<sup>3</sup>, 王耀强<sup>1,2</sup>, 张虹<sup>1,2</sup>, 张勇<sup>1,2</sup>, 韩永和<sup>1,2,4\*</sup>

1 福建师范大学环境与资源学院, 福建 福州 350117

2 福建省污染控制与资源循环利用重点实验室, 福建 福州 350117

3 福建师范大学生命科学学院, 福建 福州 350117

4 福建技术师范学院 近海流域环境测控治理福建省高校重点实验室, 福建 福清 350300

李旖曦, 陈涵冰, 王耀强, 张虹, 张勇, 韩永和. 耐砷促生菌对超富集植物蜈蚣草砷吸收及根际微生物群落的调控作用[J]. 微生物学报, 2023, 63(6): 2401-2414.

LI Yixi, CHEN Hanbing, WANG Yaoqiang, ZHANG Hong, ZHANG Yong, HAN Yonghe. Effects of arsenic-tolerant growth-promoting bacteria on arsenic uptake and rhizosphere microbial community of hyperaccumulator *Pteris vittata*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(6): 2401-2414.

**摘要:**【目的】分析添加外源促植物生长微生物(plant growth-promoting bacteria, PGPB)对植物生长、砷富集和根际微生物的影响,为植物-微生物联合修复砷污染土壤提供参考。【方法】通过添加外源 PGPB,研究蜈蚣草生物量和砷富集量与外源微生物促植物生长特性的关系,采用高通量测序技术分析蜈蚣草根际微生物群落在外源 PGPB 干预下的变化规律。【结果】2株根际菌(假单胞菌 PG12、芽孢杆菌 R19)和1株内生菌(恶臭假单胞菌 S6)具备典型的促植物生长特性,对蜈蚣草的促生作用顺序为: PG12>S6>R19,与对照组相比,生物量分别提高了 234% ( $P<0.01$ )、136% ( $P<0.01$ )和 67%;添加外源 PGPB 后,蜈蚣草砷含量从对照的 18.50 mg 提高到了 31.25–46.95 mg,增幅高达 153% (PG12)和 139% (S6),对应的蜈蚣草砷浓度从 2 616.34 mg/kg 降至 1 348.04–2 156.23 mg/kg,呈现出典型的砷“稀释效应”; $\alpha$ 多样性指数 Sobs、Chao 和 Ace 显示,仅 R19 处理显著提高了根际微生物的群落多样性,而  $\beta$ 多样性指数 PCA、PCoA 和 PLS-DA 表明各处理组

资助项目: 国家自然科学基金(41807110); 福建省自然科学基金(2021J01196); 近海流域环境测控治理福建省高校重点实验室开放基金(S1-KF1802); 福建师范大学高层次引进人才启动经费(Y0720304X13); 福建师范大学“宝琛计划”青年英才

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (41807110), the Natural Science Foundation of Fujian Province (2021J01196), the Opening Fund of Fujian Provincial Key Laboratory of Coastal Basin Environment (S1-KF1802), the Research Start-up Fund of Fujian Normal University (Y0720304X13), and the “Bao-Chen Plan” for Young Talents of Fujian Normal University.

\*Corresponding author. E-mail: yghan@fjnu.edu.cn

Received: 2022-07-24; Accepted: 2022-08-18; Published online: 2022-08-29

之间均存在较明显的聚类差异；物种组成分析表明，外源 PGPB 影响了蜈蚣草根际微生物群落的分布，表现为 *Arthrobacter*、*Solirubrobacter* 等群落相对丰度的增加和 *Acidibacter*、*Dongia*、MND1 等群落相对丰度的减少，这些菌群可能与蜈蚣草生长和砷吸收有关。【结论】外源添加 PGPB 对蜈蚣草生长、砷吸收和根际微生物群落均有显著调节效应，此结果可为揭示微生物强化植物砷修复的机制并为促进植物-微生物联合修复砷污染土壤的相关研究提供参考。

关键词：促生菌；蜈蚣草；砷；根际微生物；土壤修复

## Effects of arsenic-tolerant growth-promoting bacteria on arsenic uptake and rhizosphere microbial community of hyperaccumulator *Pteris vittata*

LI Yixi<sup>1,2</sup>, CHEN Hanbing<sup>3</sup>, WANG Yaoqiang<sup>1,2</sup>, ZHANG Hong<sup>1,2</sup>, ZHANG Yong<sup>1,2</sup>, HAN Yonghe<sup>1,2,4\*</sup>

1 College of Environmental and Resource Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, Fujian, China

2 Fujian Key Laboratory of Pollution Control and Resource Reuse, Fuzhou 350117, Fujian, China

3 College of Life Science, Fujian Normal University, Fuzhou 350117, Fujian, China

4 Fujian Provincial Key Laboratory of Coastal Basin Environment, Fujian Polytechnic Normal University, Fuqing 350300, Fujian, China

**Abstract:** [Objective] To analyze the effects of the addition of exogenous plant growth-promoting bacteria (PGPB) on plant growth, arsenic (As) accumulation, and rhizosphere microorganisms, and provide references for plant-microbial remediation of As-contaminated soil. [Methods] By adding exogenous PGPB into the soil, the relationships between the plant biomass and As content of *Pteris vittata* and the plant growth-promoting characteristics of PGPB were investigated. The high-throughput sequencing was also used to analyze the change in the rhizosphere microbial community of *P. vittata* with the intervention of exogenous PGPB. [Results] Two rhizobacteria *Pseudomonas* sp. PG12 and *Bacillus* sp. R19, and one endophytic bacterium *P. putida* S6 had typical plant growth-promoting characteristics, and the order of the growth-promoting effects on *P. vittata* was PG12>S6>R19. As compared with the control group, PG12, S6, and R19 increased the plant biomass by 234% ( $P<0.01$ ), 136% ( $P<0.01$ ), and 67%, respectively. The addition of exogenous PGPB increased the As content of *P. vittata* from 18.50 mg to 31.25–46.95 mg, being an increased percentage of 153% in PG12 and 139% in S6, respectively. The corresponding concentration of As in *P. vittata* decreased from 2 616.34 mg/kg to 1 348.04–2 156.23 mg/kg, showing a typical As “dilution effect”. Moreover, the  $\alpha$  diversity indexes including Sobs, Chao, and Ace revealed that only R19 significantly improved the diversity of the rhizosphere microbial community, while the beta diversity analysis based on principal component analysis (PCA), principal co-ordinates analysis (PCoA), and partial least squares-discriminant analysis (PLS-DA) showed that there

were significant clustering differences among all treatments. Furthermore, species composition analysis showed that the exogenous PGPB affected the distribution of the rhizosphere microbial community with an increase in the relative abundance of *Arthrobacter* and *Solirubrobacter*, etc., and a decrease in the relative abundance of *Acidibacter*, *Dongia*, and MND1. These microbial communities were presumedly associated with the growth and As uptake of *P. vittata*. **[Conclusion]** Exogenous PGPB addition shows positive effects on the growth, As uptake, and rhizosphere microbial community of *P. vittata*. The results of this study provide important clues for revealing the mechanism of arsenic remediation enhanced by microorganisms in plants, thereby promoting the associated studies on the plant-microbial remediation of As-contaminated soil.

**Keywords:** plant growth-promoting bacteria; *Pteris vittata*; arsenic; rhizosphere microorganisms; soil remediation

砷(arsenic, As)是广泛存在于自然界的有毒类金属之一,其按地壳丰度排序为第20位,在海洋中排序为第14位<sup>[1]</sup>。由于砷和磷具有相似的化学结构,因此前者会干扰生命活动中的氧化磷酸化和ATP合成等过程,进而影响人体健康<sup>[2-3]</sup>。长期低砷剂量或短期高砷剂量暴露均可能导致生物的消化系统、呼吸系统、内分泌系统等代谢紊乱,甚至引发癌症<sup>[4]</sup>。因此,降低环境中砷的浓度,阻控砷在食物的传递和富集,是降低其对人体健康危害的关键手段之一。

砷污染修复技术包括物理修复、化学修复和植物修复<sup>[5]</sup>。物理和化学修复技术成本较高,且易改变土壤性质并对土壤微生物群落产生负面影响,甚至可能导致二次污染<sup>[6]</sup>。植物修复技术是一种利用植物和根际微生物协同去除土壤污染物的可靠方法,该方法具备经济、环境友好等特点<sup>[7-8]</sup>。蜈蚣草(*Pteris vittata*)是实现土壤砷高效提取和体内砷吸收的典型超富集植物<sup>[9]</sup>。近年来,蜈蚣草砷富集机制及其在砷污染修复中的应用已被广泛报道<sup>[5,10]</sup>。不过,蜈蚣草生长缓慢、生物量较小,这在一定程度上降低了其砷修复效率<sup>[7,11]</sup>。为此,强化蜈蚣草生长以提高其在砷污染土壤中的修复效率具有重要的现实意义。

微生物强化技术是通过添加外源促植物生

长微生物(plant growth-promoting bacteria, PGPB)以促进植物生长并提高其修复效率的辅助手段<sup>[12]</sup>。微生物强化作用与PGPB分泌吲哚乙酸(indoleacetic acid, IAA)、铁载体和细胞分裂素等的能力及溶磷能力有直接关系<sup>[13]</sup>。例如,肠杆菌(*Enterobacter* sp.)可通过产生IAA、铁载体和溶解磷酸盐以促进水稻幼苗生长并提高其耐盐能力<sup>[14]</sup>。通过添加促生菌菌群, Eze等发现苜蓿(*Medicago sativa*)生物量提高了66%,且对4.59 mg/kg柴油碳氢化合物的降解率达91%<sup>[15]</sup>。添加PGPB对植物生长和重(类)金属的强化作用也得到了广泛报道<sup>[16-18]</sup>。Lampis等发现,添加产铁载体和砷酸盐(arsenate, As<sup>V</sup>)还原菌或产铁载体和产吲哚乙酸菌可使蜈蚣草生物量和砷吸收量分别提高了45%和21%;变性梯度凝胶电泳(denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)结果显示,添加外源微生物改变了蜈蚣草根际微生物群落的组成和多样性<sup>[16]</sup>。有趣的是,蜈蚣草根际土壤和组织中存在大量的可培养耐砷微生物,其中的部分菌株表现出了典型的促植物生长特性<sup>[19-20]</sup>。不过,这些耐砷的PGPB是否在蜈蚣草生长和砷吸收过程中发挥关键作用尚不清楚。

因此,本研究以耐砷促生菌和蜈蚣草为研究对象,探究:(1)2株蜈蚣草根际菌(PG12、R19)

和 1 株蜈蚣草内生菌(S6)的促植物生长特性;(2) 外源耐砷促生菌对蜈蚣草生长和砷富集的影响;(3) 添加外源促生菌后蜈蚣草根际微生物群落组成、结构和多样性的变化。研究结果可为理解蜈蚣草根际菌和内生菌对植物生长、砷吸收的影响及促进蜈蚣草-微生物联合修复砷污染土壤的相关研究提供理论指导。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 试验菌株

本研究所用菌株均为课题组前期筛选、保存。其中,假单胞菌(*Pseudomonas* sp. PG12)和芽孢杆菌(*Bacillus* sp. R19)筛选自蜈蚣草根际土壤,恶臭假单胞菌(*P. putida* S6)筛选自蜈蚣草茎。在前期研究中发现,菌株 PG12 可将 31%的 1 mmol/L 亚砷酸盐(arsenite,  $As^{III}$ )氧化为  $As^V$ <sup>[21]</sup>, R19 菌株在 10 mmol/L  $As^V$ 或 1 mmol/L  $As^{III}$ 的液体培养基中生长良好<sup>[20]</sup>,而 S6 菌株在含有 10 mmol/L  $As^{III}$ 或  $As^V$ 的培养基中生长良好且具有较强的砷氧化还原能力<sup>[19]</sup>。

#### 1.1.2 培养基

Luria-Bertani (LB)培养基: 10 g/L 胰蛋白胨, 5 g/L 酵母提取物, 10 g/L NaCl, 利用 0.1 mol/L NaOH 或 0.1 mol/L HCl 调节 pH 至 7.0±0.2。

National Botanical Research Institute's phosphate growth medium (NBRIP)培养基: 5 g/L 葡萄糖, 5 g/L  $MgCl_2 \cdot 6H_2O$ , 0.25 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ , 0.2 g/L KCl, 0.1 g/L  $(NH_4)_2SO_4$ , 5 g/L  $Ca_3(PO_4)_2$ , pH 7.0±0.2。

Sucrose minimal salts (SMS)培养基: 10 g/L 蔗糖, 2 g/L  $K_2HPO_4$ , 1 g/L  $(NH_4)_2SO_4$ , 0.5 g/L  $MgSO_4$ , 0.5 g/L 酵母粉, 0.5 g/L  $CaCO_3$ , 0.1 g/L NaCl, 0.5 g/L L-色氨酸, pH 7.0±0.2。

蔗糖-天门冬氨酸培养基: 20 g/L 蔗糖, 2 g/L 天门冬氨酸, 1 g/L  $K_2HPO_4$ , 0.5 g/L  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,

pH 7.0±0.2。

### 1.2 促生菌的促生长特性分析

将保存的菌株在 30 °C 和 200 r/min 条件下,经 LB 培养基预培养 12 h 后进行 IAA、铁载体、溶磷能力的测定。具体的测定方法和步骤如下:

IAA 的测定: 将 0.2 mL 稀释后  $OD_{600}=1.5$  的菌悬液接种于 20 mL SMS 培养基中,在 30 °C 和 200 r/min 条件下培养 4 d。经 8 000 r/min 离心 15 min,取 1 mL 上清液与 2 mL Salkowski 试剂(50 mL 35 %  $HClO_4$ +1 mL 0.5 mmol/L  $FeCl_3$ )混合,暗室反应 40 min 后在 530 nm 处测定吸光值<sup>[19]</sup>。

铁载体的测定: 将 0.2 mL 稀释后  $OD_{600}=1.5$  的菌悬液接种于修正的蔗糖-天门冬氨酸培养基中,在 30 °C 和 200 r/min 条件下培养 2 d。经 8 000 r/min 离心 15 min,取 1 mL 上清液与 1 mL 铬天青 S (chrome azurol S, CAS)试剂反应,以未接种的培养基上清为空白对照。在暗室、常温条件下反应 3 h,测定  $OD_{630}$ ,产铁载体能力以样品  $OD_{630}$ /对照  $OD_{630}$  ( $\lambda/\lambda_0$ )表示<sup>[22]</sup>。

溶磷能力的测定: 将 0.2 mL 稀释后  $OD_{600}=1.5$  的菌悬液接种于 20 mL NBRIP 培养基中,在 30 °C 和 200 r/min 条件下培养 8 d。在 8 000 r/min 条件下离心 15 min,利用修正的钼蓝法测定上清液中的溶解态磷浓度<sup>[23]</sup>。

### 1.3 蜈蚣草的栽培

采集稻田土壤,自然晾干后过 2 mm 筛,备用。将土壤与 50 mg/kg 砷( $Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$ , Sigma-Aldrich, ≥98%)混合,加入体积比为 25% 的石英砂和 50% 的有机质,在黑暗条件下老化 1 个月。为减少外源微生物对实验结果的干扰,实验采用无菌植物组织培养技术培育蜈蚣草幼苗。具体步骤包括:实验前,蜈蚣草孢子经 Milli-Q 水浸泡(2 h)、70%乙醇(30 s)和 10% NaClO (30 min)表面消毒、无菌 Milli-Q 水洗涤(3-5 次)后转移至 1/2 MS 培养基中培养。恒温恒湿培养

箱条件设置如下: 培养温度为 25 °C, 相对湿度为 75%, 光照周期为 12 h/12 h 明暗交替, 光照强度为 350 mmol/(m<sup>2</sup>·s)。待孢子萌发并出现配子体后(约 2 周), 将配子体转移至新鲜的 1/2 MS 培养基继续培养(3–5 次), 当配子体长至 3–5 片羽叶、约 10 cm 株高时可用于后续的土培实验<sup>[24]</sup>。

#### 1.4 植物生物量和砷含量测定

随机选取植株大小相近的蜈蚣草配子体幼苗, 移栽至塑料盆中, 每盆 3 株, 每组 4 个平行。移栽稳定 1 周后, 开展外源 PGPB 添加实验。首先, 将在 LB 培养基中预培养 12 h 的菌悬液以 8 000 r/min 离心 5 min, 弃上清, 采用磷酸缓冲盐溶液(PBS, pH 7.4)洗涤菌体 3 次; 随后, 利用无菌 Milli-Q 水重悬菌体, 使得重悬菌液的 OD<sub>600</sub> 与离心前为同一浓度水平; 最后, 分别于 1 周、2 周、1 个月和 2 个月时取 200 mL 稀释菌悬液(1.2×10<sup>7</sup> CFU/mL)接种于蜈蚣草根(对照组添加等体积无菌 Milli-Q 水), 温室培养条件同 1.3。培养 4 个月后, 采集蜈蚣草样品, 样品经液氮速冻后迅速转至-80 °C 冻存 12 h。取出冻存的植物样品, 经冷冻干燥后, 称重, 备用。采用 USEPA 3050B 方法消解植物样品, 随后采用电感耦合等离子体质谱(ICP-MS)测定植物砷浓度<sup>[20,24]</sup>。

#### 1.5 蜈蚣草根际微生物群落的高通量分析

实验结束后, 将蜈蚣草根际土壤轻轻抖落, 快速收集土壤并储存于-80 °C 冰箱, 备用。称取约 100 mg 土壤, 根据 MP 试剂盒(MP Biomedicals)的说明提取土壤总 DNA 并对其进行浓度测定和质量分析(NanoDrop<sup>®</sup> ND-1000, NanoDrop technologies)。经 1%琼脂糖凝胶电泳检测合格后, 对根际土壤微生物进行 16S rRNA 扩增子的高通量测序分析(Illumina PE300, 上海美吉生物医药科技有限公司)。土壤微生物的 16S rRNA 扩增子测序选用 V3–V4 区, 引物序列为 338F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3' 和

806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'<sup>[25]</sup>。原始数据经拼接、质控处理后, 利用 QIIME (Version 1.8)、Uclust (Version 1.2.22)、Usearch (Version 8.1.1861)、Mothur、R 语言包(vegan、q-value 等)和 ggplot2 等对操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)进行聚类分析并对其进行  $\alpha$  多样性分析、 $\beta$  多样性分析和微生物物种组成分析<sup>[26]</sup>。

#### 1.6 统计学分析

实验进行 4 个平行处理, 结果以均值±方差表示。利用 GraphPad Prism 6.0 对不同处理间的数据进行单因素、Tukey's 多重比较分析, 设置显著性差异基准值为  $P=0.05$ 。

## 2 结果与讨论

### 2.1 菌株存在典型的促植物生长特性

PGPB 可通过影响氮循环、产植物激素、分泌抗生素等方式抑制病虫害或调控植物生理代谢过程, 进而促进植物生长<sup>[27]</sup>。其中, 植物激素 IAA 的促植物生长效应与其介导的植物根细胞分裂和刺激维管束形成等方式有关<sup>[28]</sup>。与此不同的是, PGPB 的产铁载体能力和溶磷能力可影响土壤中铁、磷的生物地球化学循环过程, 进而通过影响营养物质的吸收间接调控植物生长<sup>[29-30]</sup>。

为探讨不同促植物生长特性对蜈蚣草生长和砷吸收的影响, 分别筛选出 3 株产 IAA、产铁载体或溶磷能力较强的菌株。由表 1 可知, PG12 是产铁载体的代表性菌株且具备一定的产 IAA 能力和溶磷能力, 但与已有研究相比, 其产 IAA 能力和溶磷能力不突出<sup>[17-18]</sup>。与此不同的是, 根际菌 R19 产 IAA 能力较强但产铁载体能力和溶磷能力较弱, 而内生菌 S6 溶磷能力较强但产 IAA 和铁载体能力较弱(表 1)。近年来, PGPB 的促植物生长特性及其环境应用已得到广泛报道<sup>[31-32]</sup>, 但针对耐砷 PGPB 在植物-微生物联合修复砷污染土壤中的应用鲜见报道。

表 1 实验菌株的促植物生长特性

Table 1 Plant growth-promoting characteristics of the bacterial strains used in the present study

Strains	IAA (mg/L)	Siderophore production ability ( $\lambda/\lambda_0$ )	Phosphate solubilizing activity (mg/L)	Bacterial source
PG12	17.6±0.4a	0.5±0.02	29.2±0.3a	[21]
R19	28.7±1.9b	Not detected	5.2±0.9b	[20]
S6	5.1±0.04c	Not detected	187.2±16.0c	[19]

$\lambda/\lambda_0$ : 0.8–1.0: Very weak; 0.6–0.8: Weak; 0.4–0.6: Moderate; 0.2–0.4: Strong; 0–0.2: Very strong. Different lower-case letters indicate a significant difference between treatments ( $P<0.05$ ).

## 2.2 促生菌具备强化蜈蚣草生长和砷吸收的能力

作为砷超富集植物的“模式”物种，蜈蚣草对砷具有较强的吸收、转运和富集能力<sup>[9]</sup>。不过，蜈蚣草生物量较小、生长较慢是限制其在砷污染土壤修复中规模化应用的因素之一<sup>[7]</sup>。鉴于 PGRB 可促进植物生长并提高植物对重(类)金属的耐受性<sup>[33–34]</sup>，通过添加外源 PGRB 强化蜈蚣草生长和砷吸收具有重要的现实意义。

由图 1 和图 2A 可知，与对照组相比，添加 PGPB 后蜈蚣草生物量有了显著的提高，植物鲜重从 19.52 g 提高至 31.58–63.23 g。其中，接种根际菌 PG12 和内生菌 S6 后蜈蚣草生物量分别提高了 234% ( $P<0.01$ )和 136% ( $P<0.01$ )，但接种 R19 未显著提高蜈蚣草的生物量(67%) (图 2A)。该结果与 Lampis 等<sup>[16]</sup>的报道一致，即接种产 IAA、产铁载体和  $As^V$  还原能力的假单胞菌 P1III2、代尔夫特菌(*Delftia* sp.) P2III5、芽孢杆菌 MPV12、贪食菌属细菌(*Variovorax* sp.) P4III4 和假黄色单胞菌属细菌(*Pseudoxanthomonas* sp.) P4V6 显著促进了蜈蚣草的生长和砷吸收，其生物量和砷吸收量增幅达 45%和 22%<sup>[16]</sup>。前期研究表明，蜈蚣草根际和不同组织中存在大量的共生细菌，这些细菌表现出了典型的砷耐受能力和促植物生长特性<sup>[19–20]</sup>。本研究所用菌株具备类似的砷耐受和促植物生长的特点，说明其与蜈蚣草的环境适应能力和生长代谢有着密切关系。此外，蜈蚣草生物量的增加与产铁载体能力或产 IAA 能力的关系较大，而微生物溶磷可能对蜈蚣草生长的促进作用有限(表 1 和图 1–2)。

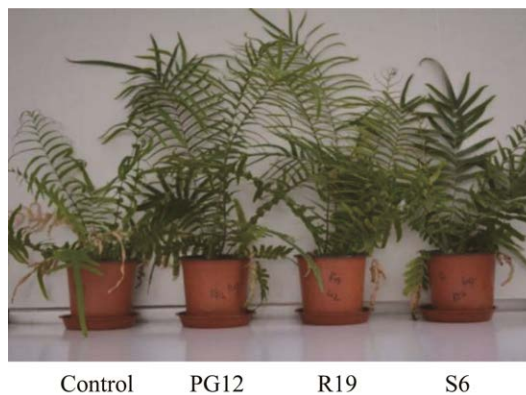


图 1 添加外源 PGPB 对蜈蚣草生长的影响

Figure 1 Effects of exogenous addition of PGPB on the plant growth of *Pteris vittata*.

与植物生物量的变化规律相似，添加外源 PGPB 也对蜈蚣草砷吸收产生了显著的强化作用。如图 2B 所示，栽培 4 个月后，对照组中蜈蚣草砷含量(砷总量)为(18.50±0.71) mg，而接种 PGPB 后其含量分别提高至(46.95±4.10) mg、(31.25±1.89) mg 和(44.37±5.69) mg，增幅分别为 153% (PG12,  $P<0.05$ )、69% (R19)和 139% (S6,  $P<0.05$ ) (图 2B)。由此可见，PGPB 可以强化蜈蚣草对砷吸收的能力，这对于砷污染土壤的植物-微生物联合修复有重要的借鉴意义。

为判断 PGPB 强化砷吸收是否是蜈蚣草生物量增加的直接结果，我们进一步分析了单位质量中的砷含量(砷浓度)。由图 2C 可知，与对照组相比，添加外源 PGPB 对蜈蚣草中砷浓度产生显著影响，砷浓度呈现下降趋势。其中，接种 PG12、R19 和 S6 菌株后蜈蚣草砷浓度由 2 616.34 mg/kg 降至 1 348.04–2 156.23 mg/kg，降幅分别为 23.66%

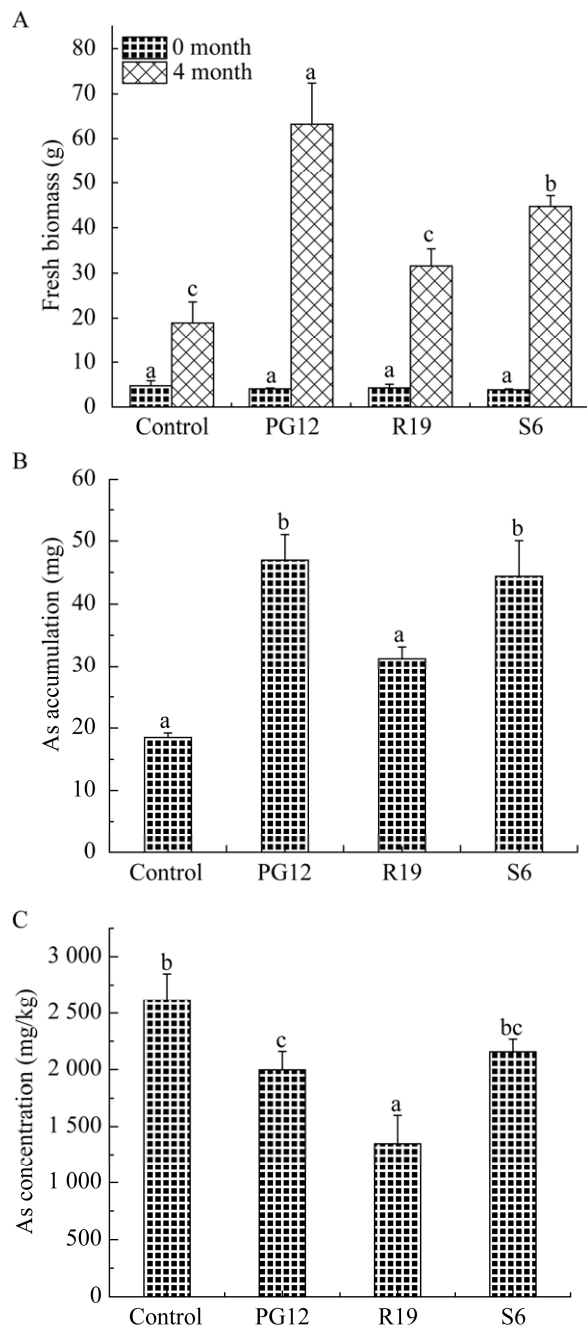


图 2 添加外源 PGPB 对蜈蚣草生物量(A)、砷含量(B)和砷浓度(C)的影响

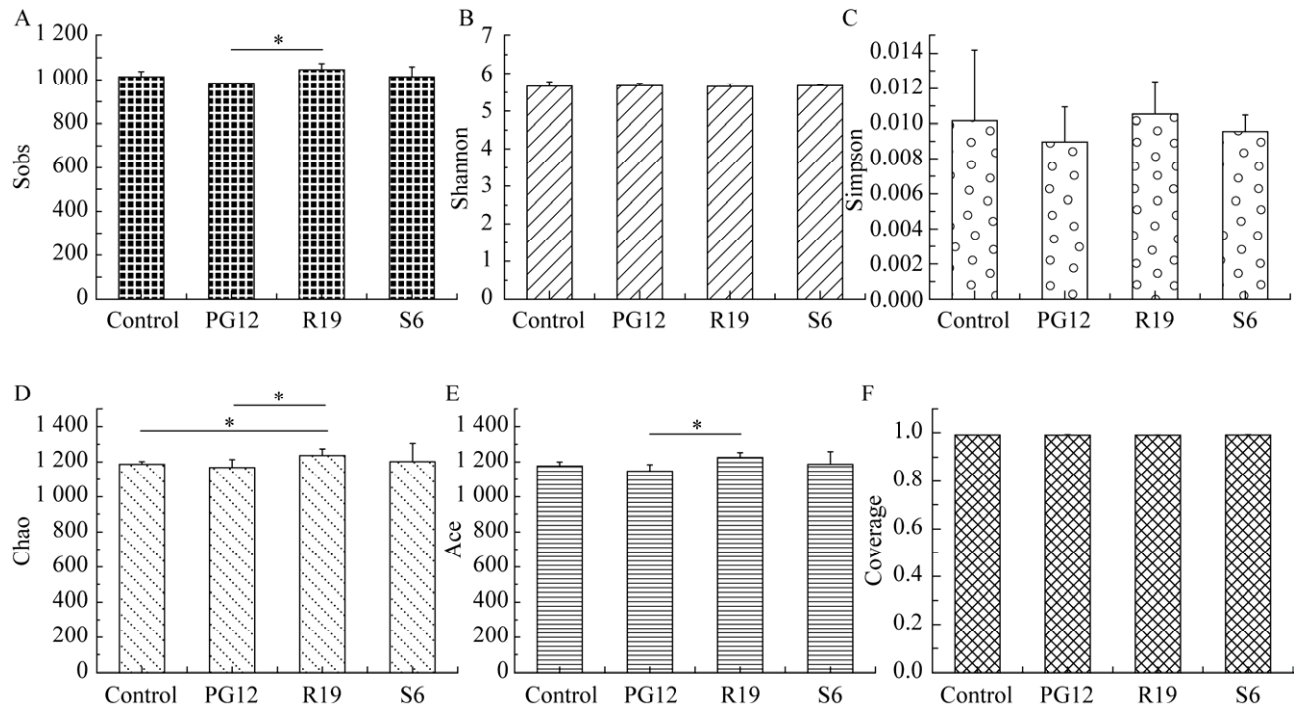
Figure 2 Effects of exogenous addition of PGPB on the plant biomass (A), As accumulation (B) and As concentration (C) in *P. vittata*. Different lowercase letters indicate the significant difference between treatments ( $P < 0.05$ ).

(PG12,  $P < 0.05$ )、48.48% (R19,  $P < 0.05$ )和 17.59% (S6)。由于接种外源 PGPB 后各处理组中砷含量趋势与蜈蚣草生物量和砷含量一致,说明 PGPB 强化蜈蚣草生长伴随着砷“稀释效应”的进行。Tu 等的早期研究发现,蜈蚣草生物量的增加会通过“稀释效应”提高砷富集量,但尚缺乏直接证据<sup>[35]</sup>。本研究结果揭示,“稀释效应”的确是蜈蚣草应对砷胁迫时采取的一种高效砷富集策略,该过程背后的机制可能与蜈蚣草根际丰富的耐砷 PGPB 的参与有关<sup>[16]</sup>。尽管多项研究表明根际微生物在蜈蚣草砷吸收、植物生长和健康中扮演着重要角色<sup>[36-37]</sup>,但哪些微生物群落在此过程中发挥着积极作用尚不清楚。为此,本研究进一步通过 16S rRNA 扩增子的高通量测序分析了外源 PGPB 干预下蜈蚣草根际微生物群落的组成及其变化规律。

## 2.3 添加外源 PGPB 可提高蜈蚣草根际微生物群落的多样性

### 2.3.1 $\alpha$ 多样性分析

$\alpha$  多样性被定义为群落内的物种多样性,主要反映物种丰富度和均匀度<sup>[38]</sup>。本文采用 Sobs、Shannon、Simpson、Chao、Ace 和 Coverage 指数分析接种 PGPB 对蜈蚣草根际微生物群落变化的影响。结果显示, Sobs、Chao 和 Ace 指数在部分处理组间存在显著差异,但 Shannon、Simpson 和 Coverage 指数的组间差异不显著(图 3)。与对照组相比,接种 R19 显著提高了蜈蚣草根际微生物的 Chao 指数( $1\ 238 \pm 36$  vs.  $1\ 187 \pm 15$ ,  $P < 0.05$ , 图 3D),且 R19 处理组的 Sobs 指数( $1\ 047 \pm 27$  vs.  $985 \pm 27$ ,  $P < 0.05$ , 图 3A)、Chao 指数( $1\ 238 \pm 36$  vs.  $1\ 167 \pm 47$ ,  $P < 0.05$ , 图 3D)和 Ace 指数( $1\ 226 \pm 27$  vs.  $1\ 147 \pm 38$ ,  $P < 0.05$ , 图 3E)与 PG12 处理组有显著差异。不过, R19 处理组与 S6 处理组之间及 PG12、S6 处理组与对照组之间无显著差异(图 3A、3D、3E),表明不同 PGPB



**图 3** 基于 OTU 水平解析外源促植物生长微生物添加对蜈蚣草根际土壤微生物群落的  $\alpha$  多样性的影响  
**Figure 3** Effects of exogenous addition of PGPB on alpha diversity of rhizosphere microbial community of *Pteris vittata* based on OTU level analysis. A, B, C and D present the alpha diversity Sobs, Shannon, Simpson, Chao, Ace and Coverage, respectively. \*: Significant difference between treatments according to  $P < 0.05$ .

对根际微生物群落的多样性和丰度有不同的影响<sup>[39]</sup>。研究发现,外源促生菌干预对植物根际微生物群落结构有显著的调控作用<sup>[16,40]</sup>,这可能与 PGPB 的特征分泌物如肌肽(carnosine)、泛酰硫氢乙胺-4-磷酸(pantetheine 4-phosphate)等有关<sup>[41]</sup>。

### 2.3.2 $\beta$ 多样性分析

$\beta$  多样性是群落内的种群组成的变化,可反映微生物群落之间的分化程度<sup>[38]</sup>。本研究采用主成分分析(principal component analysis, PCA)、主坐标轴分析(principal co-ordinates analysis, PCoA)和偏最小二乘-判别分析(partial least squares-discriminant analysis, PLS-DA)对添加 PGPB 后蜈蚣草根际微生物群落进行  $\beta$  多样性分析。由图 4A 可知,PCA 第一主成分和第二主成分的分差贡献率分别为 10.78% 和 9.61%,累

积方差贡献率为 20.39%。结果显示,对照组样本较分散,表明其根际微生物群落存在一定的差异。与此相反,R19、PG12、S6 实验组样品聚类较集中,表明实验的平行性较好(图 4A)。总体看,实验组与对照组分离效果明显,说明添加外源 PGPB 对蜈蚣草根际微生物群落结构影响较大,但接种 PG12 和 S6 的样本存在部分重叠且与对照组和 R19 样本分离效果较好,表明二者特征微生物菌群结构更为相似(图 4A)。PCoA 和 PLS-DA 结果与 PCA 相似(图 4B、4C),说明 3 种  $\beta$  多样性分析方法均可客观描述添加 PGPB 对蜈蚣草根际微生物群落结构变化的影响。结合  $\alpha$  多样性和  $\beta$  多样性分析说明,接种 3 种 PGPB 均促进了蜈蚣草根际微生物群落产生明显的分化,但仅 R19 对微生物的丰富度和均匀度有显著影响。



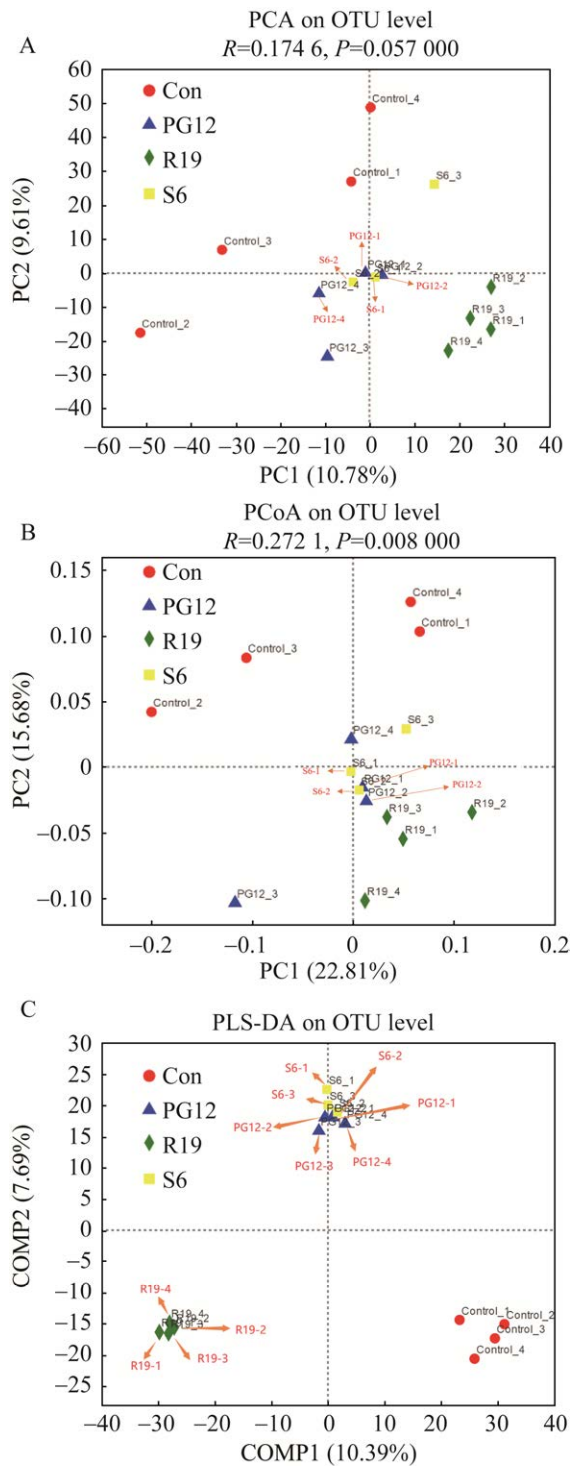


图 4 基于 OTU 水平的样本 PCA (A)、PCoA (B) 和 PLS-DA (C) 分析结果

Figure 4 The PCA (A), PCoA (B) and PLS-DA (C) analyses of all samples based on OTU level.

### 2.3.3 基于微生物分类学的物种组成分析

蜈蚣草根际微生物在蜈蚣草生长和砷吸收过程中扮演着重要角色<sup>[37]</sup>, 但介导该过程的关键菌群鲜见报道。鉴于外源 PGPB 对植物生长、砷吸收和根际微生物多样性有显著影响, 进一步探讨蜈蚣草根际微生物组成, 进而鉴别出与蜈蚣草生长和砷吸收调控相关的关键微生物及其调控机制有重要意义。

本研究系统分析了各分类学水平的微生物组成, 并重点阐述外源 PGPB 干预下蜈蚣草根际微生物群落在门和属水平的变化规律。总体看, 添加 PGPB 后部分的蜈蚣草根际微生物群落出现了显著变化, 但不同处理的差异略有不同(图 5A)。在对照组中, 变形菌门(*Proteobacteria*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、绿弯菌门(*Chloroflexi*)和酸杆菌门(*Acidobacteria*)是蜈蚣草根际的主要菌群(图 5A)。当接种外源 PGPB 时, 蜈蚣草根际变形菌门细菌呈现下降趋势, 其中 R19 处理组变化最大(图 5A)。结果显示, 酸杆菌门呈现了类似的变化趋势, 但接种 PGPB 后放线菌门和绿弯菌门丰度均显著提高(图 5A)。有趣的是, 上述微生物群落在多种受重(类)金属胁迫的植物根际土壤中被广泛检出。例如, 在铅超富集植物东南景天(*Sedum alfredii*)的根际土壤中, 变形菌门、放线菌门和酸杆菌门均是优势微生物<sup>[42]</sup>。不过, Sheik 等发现, 尽管变形菌门在铬和砷污染土壤中相对丰度较高, 但放线菌门和酸杆菌门与此相反。由此可见, 植物根际优势微生物菌群可能与多种生物或非生物因素如不同金属类型和外源 PGPB 等均有关联, 而上述优势菌群可能是蜈蚣草生长和砷吸收的重要调节因子<sup>[43]</sup>。在外源 PGPB 干预下, 变形菌门和酸杆菌门丰度的降低及放线菌门和绿弯菌门丰度的增加共同决定了蜈蚣草生长和砷吸收的生物强化效应。

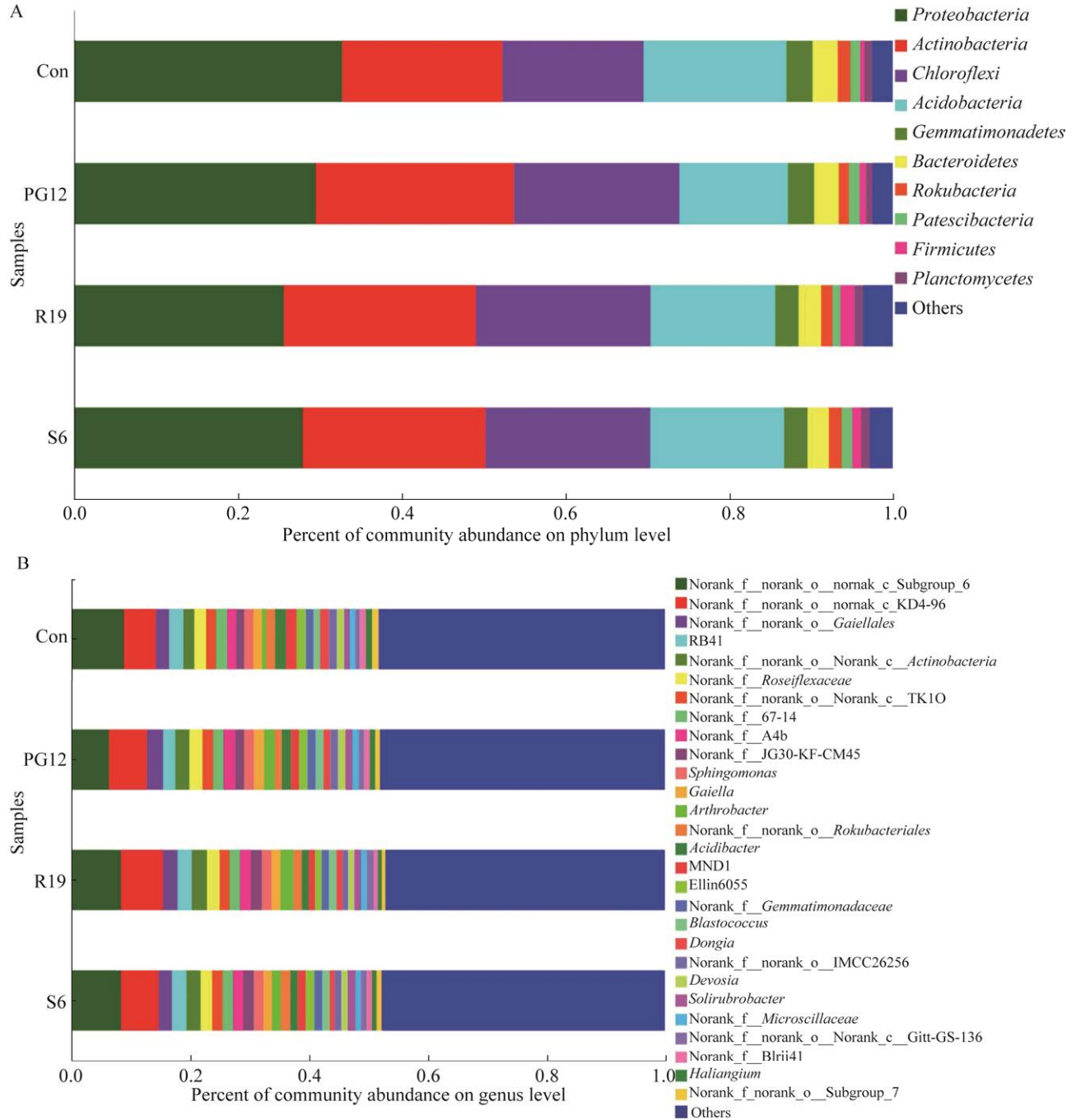


图 5 基于门(A)和属(B)水平解析外源促植物生长微生物添加对蜈蚣草根际微生物群落组成的影响  
Figure 5 Effects of exogenous PGPB addition on the rhizosphere microbial community of *Pteris vittata* based on the analysis at phylum (A) and genus (B) levels.

基于属水平的注释结果显示,各处理组中相对丰度较高的优势菌包括变形菌门的 *Acidibacter* 属、MND1 群落、*Dongia* 属和 *Haliangium* 属,放

线菌门的 *Arthrobacter* 属、*Solirubrobacter* 属、*Gaiellales* 目未知属及酸杆菌门的未知科的 Subgroup\_6 和 Subgroup\_7 群落等(图 5B)。绿弯

菌门中未注释到明确的菌属。具体而言,与对照组相比,接种菌株 PG12 后蜈蚣草根际变形菌门的 *Acidibacter* 属丰度有所下降(图 5B),这与 PG12 诱导蜈蚣草生物量增加的趋势相反(图 2A)。该结果与 *Acidibacter* 属的嗜酸性和蜈蚣草的嗜碱性特征相吻合<sup>[7,44-45]</sup>。类似地,变形菌门的 *Dongia* 属在接种菌株 PG12 后同样呈现出与蜈蚣草生物量和砷吸收量变化相反的趋势(图 2A、2B 和 5B)。尽管鲜有报道 *Dongia* 属与植物砷代谢之间的关系,研究证实其丰度与超积累植物伴矿景天(*S. plumbizincicola*)对镉和锌的吸收量呈负相关关系<sup>[46]</sup>。此外, *Haliangium* 属已在重金属污染土壤中被广泛检出<sup>[47-48]</sup>,但其与土壤重金属行为的关系尚待进一步研究。作为酸杆菌门中未可培养微生物的典型代表, Subgroup\_6 群落与土壤重金属如铬、铅、锌等的行为有关<sup>[49-50]</sup>,而 Subgroup\_7 群落主要在生态学研究中得到广泛报道<sup>[51]</sup>。在添加 R19 或 S6 的处理组中,蜈蚣草根际微生物群落变化规律与 PG12 处理组大致相同。

与上述菌属相对丰度变化趋势不同的是,接种外源 PGPB 均显著提升了放线菌门 *Arthrobacter* 属和 *Solirubrobacter* 属的相对丰度(图 5B)。研究指出, *Arthrobacter* 属在印度芥菜根际土壤中大量存在,可能是重金属钒生物可利用性相对较高的关键因素<sup>[52]</sup>。Wu 等也证实, *Solirubrobacter* 属有助于提高景天属植物对镉和锌的富集效率<sup>[53]</sup>。尽管放线菌门在强化植物生长和重金属吸收中的应用已被广泛报道,其与蜈蚣草砷吸收的关系研究仅有一例<sup>[54]</sup>。作者发现,放线菌门的链霉菌属(*Streptomyces*)具备较强的  $As^V$  还原能力,同时可强化蜈蚣草生长并使其砷富集量提高了 96%<sup>[54]</sup>。本研究结果与上述证据均表明,放线菌门(尤其是 *Arthrobacter* 属和 *Solirubrobacter* 属)可能是调控蜈蚣草生长和砷吸收的关键根际微

生物菌群,后续研究值得进一步探讨其背后的微观机制。

综上,接种外源 PGPB 显著改变了蜈蚣草根际变形菌门、酸杆菌门和放线菌门中 *Acidibacter*、*Arthrobacter*、*Solirubrobacter* 等的菌群结构组成,它们可能是影响蜈蚣草生长和砷吸收的关键调控因子。因此,上述微生物菌群是后续开展植物-微生物联合修复工作中值得关注的对象,有望进一步开发其应用价值。

### 3 结论

本研究结果表明,2 株促植物生长根际菌(PG12 和 R19)和 1 株促植物生长内生菌(S6)均表现出较强的生物强化作用,使蜈蚣草生物量提高了 67%–234%、砷富集量提高了 69%–153%,砷浓度降低了 17.59%–48.48%。接种外源 PGPB 显著改变了蜈蚣草根际微生物群落的相对丰度、均匀度和结构组成。变形菌门、放线菌门、绿弯菌门和酸杆菌门对外源 PGPB 的响应较显著,其中,放线菌门的 *Acidibacter* 属和 *Dongia* 属丰度的降低及放线菌门 *Arthrobacter* 属和 *Solirubrobacter* 属丰度的增加可能是蜈蚣草生长和砷吸收的共强化因子。上述菌群可为砷污染修复的生物强化方案的制定提供新思路,同时为进一步阐明蜈蚣草-微生物协同修复砷污染土壤的根际微界面机制提供理论参考。

### 参考文献

- [1] MANDAL BK, SUZUKI KT. Arsenic round the world: a review[J]. *Talanta*, 2002, 58(1): 201-235.
- [2] CHAKRABORTI D, RAHMAN MM, MUKHERJEE A, ALAUDDIN M, HASSAN M, DUTTA RN, PATI S, MUKHERJEE SC, ROY S, QUAMRUZZMAN Q, RAHMAN M, MORSHED S, ISLAM T, SORIF S, SELIM M, ISLAM MR, HOSSAIN MM. Groundwater arsenic contamination in Bangladesh—21 Years of research[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2015, 31: 237-248.

- [3] TRIPATHI RD, SRIVASTAVA S, MISHRA S, SINGH N, TULI R, GUPTA DK, MAATHUIS FJM. Arsenic hazards: Strategies for tolerance and remediation by plants[J]. *Trends in Biotechnology*, 2007, 25(4): 158-165.
- [4] MAHARJAN M, WATANABE C, AHMAD SA, OHTSUKA R. Arsenic contamination in drinking water and skin manifestations in lowland Nepal: the first community-based survey[J]. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2005, 73(2): 477-479.
- [5] SINGH R, SINGH S, PARIHAR P, SINGH VP, PRASAD SM. Arsenic contamination, consequences and remediation techniques: a review[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2015, 112: 247-270.
- [6] ALI H, KHAN E, SAJAD MA. Phytoremediation of heavy metals—concepts and applications[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(7): 869-881.
- [7] HAN YH, LIU X, RATHINASABAPATHI B, LI HB, CHEN YS, MA LQ. Mechanisms of efficient As solubilization in soils and As accumulation by As-hyperaccumulator *Pteris vittata*[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 227: 569-577.
- [8] WEI ZH, van LE Q, PENG WX, YANG YF, YANG H, GU HP, LAM SS, SONNE C. A review on phytoremediation of contaminants in air, water and soil[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 403: 123658.
- [9] MA LQ, KOMAR KM, TU C, ZHANG WH, CAI Y, KENNELLEY ED. A fern that hyperaccumulates arsenic[J]. *Nature*, 2001, 409(6820): 579.
- [10] VANDANA UK, GULZAR ABM, SINGHA LP, BHATTACHARJEE A, MAZUMDER PB, PANDEY P. Hyperaccumulation of arsenic by *Pteris vittata*, a potential strategy for phytoremediation of arsenic-contaminated soil[J]. *Environmental Sustainability*, 2020, 3(2): 169-178.
- [11] LEBEAU T, BRAUD A, JÉZÉQUEL K. Performance of bioaugmentation-assisted phytoextraction applied to metal contaminated soils: a review[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 153(3): 497-522.
- [12] HOANG SA, LAMB D, SESHADRI B, SARKAR B, CHOPPALA G, KIRKHAM MB, BOLAN NS. Rhizoremediation as a green technology for the remediation of petroleum hydrocarbon-contaminated soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 401: 123282.
- [13] KUMAR A, VERMA JP. Does plant-microbe interaction confer stress tolerance in plants: a review[J]. *Microbiological Research*, 2018, 207: 41-52.
- [14] SARKAR A, GHOSH PK, PRAMANIK K, MITRA S, SOREN T, PANDEY S, MONDAL MH, MAITI TK. A halotolerant *Enterobacter* sp. displaying ACC deaminase activity promotes rice seedling growth under salt stress[J]. *Research in Microbiology*, 2018, 169(1): 20-32.
- [15] EZE MO, THIEL V, HOSE GC, GEORGE SC, DANIEL R. Enhancing rhizoremediation of petroleum hydrocarbons through bioaugmentation with a plant growth-promoting bacterial consortium[J]. *Chemosphere*, 2022, 289: 133143.
- [16] LAMPIS S, SANTI C, CIURLI A, ANDREOLLI M, VALLINI G. Promotion of arsenic phytoextraction efficiency in the fern *Pteris vittata* by the inoculation of As-resistant bacteria: a soil bioremediation perspective[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6: 80.
- [17] SHENG XF, XIA JJ, JIANG CY, HE LY, QIAN M. Characterization of heavy metal-resistant endophytic bacteria from rape (*Brassica napus*) roots and their potential in promoting the growth and lead accumulation of rape[J]. *Environmental Pollution*, 2008, 156(3): 1164-1170.
- [18] ZHANG WH, HE LY, WANG Q, SHENG XF. Inoculation with endophytic *Bacillus megaterium* 1Y31 increases Mn accumulation and induces the growth and energy metabolism-related differentially-expressed proteome in Mn hyperaccumulator hybrid pennisetum[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2015, 300: 513-521.
- [19] XU JY, HAN YH, CHEN YS, ZHU LJ, MA LQ. Arsenic transformation and plant growth promotion characteristics of As-resistant endophytic bacteria from As-hyperaccumulator *Pteris vittata*[J]. *Chemosphere*, 2016, 144: 1233-1240.
- [20] ZHU LJ, GUAN DX, LUO J, RATHINASABAPATHI B, MA LQ. Characterization of arsenic-resistant endophytic bacteria from hyperaccumulators *Pteris vittata* and *Pteris multifida*[J]. *Chemosphere*, 2014, 113: 9-16.
- [21] GHOSH P, RATHINASABAPATHI B, MA LQ. Arsenic-resistant bacteria solubilized arsenic in the growth media and increased growth of arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L.[J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(19): 8756-8761.
- [22] CHEN L, LUO SL, XIAO X, GUO HJ, CHEN JL, WAN Y, LI B, XU TY, XI Q, RAO C, LIU CB, ZENG GM. Application of plant growth-promoting endophytes (PGPE) isolated from *Solanum nigrum* L. for phytoextraction of Cd-polluted soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 46(3): 383-389.

- [23] LUO SL, CHEN L, CHEN JL, XIAO X, XU TY, WAN Y, RAO C, LIU CB, LIU YT, LAI C, ZENG GM. Analysis and characterization of cultivable heavy metal-resistant bacterial endophytes isolated from Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their potential use for phytoremediation[J]. *Chemosphere*, 2011, 85(7): 1130-1138.
- [24] MANZOOR M, ABID R, RATHINASABAPATHI B, de OLIVEIRA LM, da SILVA E, DENG FL, RENSING C, ARSHAD M, GUL I, XIANG P, MA LQ. Metal tolerance of arsenic-resistant bacteria and their ability to promote plant growth of *Pteris vittata* in Pb-contaminated soil[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 660: 18-24.
- [25] XU N, TAN GC, WANG HY, GAI XP. Effect of biochar additions to soil on nitrogen leaching, microbial biomass and bacterial community structure[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2016, 74: 1-8.
- [26] WANG SS, WANG SJ, WANG XN, XU YT, ZHANG X, HAN YD, YAN H, LIU LL, WANG LL, YE HZ, LI XH. Effects of icariin on modulating gut microbiota and regulating metabolite alterations to prevent bone loss in ovariectomized rat model[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2022, 13: 874849.
- [27] ULLAH A, HENG S, MUNIS MFH, FAHAD S, YANG XY. Phytoremediation of heavy metals assisted by plant growth promoting (PGP) bacteria: a review[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2015, 117: 28-40.
- [28] MANOJ SR, KARTHIK C, KADIRVELU K, ARULSEVI PI, SHANMUGASUNDARAM T, BRUNO B, RAJKUMAR M. Understanding the molecular mechanisms for the enhanced phytoremediation of heavy metals through plant growth promoting rhizobacteria: a review[J]. *Journal of Environmental Management*, 2020, 254: 109779.
- [29] CHEN YP, REKHA PD, ARUN AB, SHEN FT, LAI W, YOUNG CC. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilizing abilities[J]. *Applied Soil Ecology*, 2006, 34(1): 33-41.
- [30] RAJKUMAR M, AE N, PRASAD MNV, FREITAS H. Potential of siderophore-producing bacteria for improving heavy metal phytoextraction[J]. *Trends in Biotechnology*, 2010, 28(3): 142-149.
- [31] VISHNUPRADEEP R, BRUNO LB, TAJ Z, KARTHIK C, CHALLABATHULA D, TRIPTI, KUMAR A, FREITAS H, RAJKUMAR M. Plant growth promoting bacteria improve growth and phytostabilization potential of *Zea mays* under chromium and drought stress by altering photosynthetic and antioxidant responses[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2022, 25: 102154.
- [32] WANG XY, CAI DB, JI MF, CHEN ZJ, YAO LG, HAN H. Isolation of heavy metal-immobilizing and plant growth-promoting bacteria and their potential in reducing Cd and Pb uptake in water spinach[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 819: 153242.
- [33] ALKA S, SHAHIR S, IBRAHIM N, CHAI TT, MOHD BAHARI Z, ABD MANAN F. The role of plant growth promoting bacteria on arsenic removal: a review of existing perspectives[J]. *Environmental Technology & Innovation*, 2020, 17: 100602.
- [34] HAN YH, JIA MR, WANG SS, DENG JC, SHI XX, CHEN DL, CHEN YS, MA LQ. Arsenic accumulation and distribution in *Pteris vittata* fronds of different maturity: impacts of soil As concentrations[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 715: 135298.
- [35] TU S, MA LQ. Interactive effects of pH, arsenic and phosphorus on uptake of As and P and growth of the arsenic hyperaccumulator *Pteris vittata* L. under hydroponic conditions[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2003, 50(3): 243-251.
- [36] HAN YH, FU JW, XIANG P, CAO Y, RATHINASABAPATHI B, CHEN YS, MA LQ. Arsenic and phosphate rock impacted the abundance and diversity of bacterial arsenic oxidase and reductase genes in rhizosphere of As-hyperaccumulator *Pteris vittata*[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2017, 321: 146-153.
- [37] XIAO EZ, CUI JL, SUN WM, JIANG SM, HUANG MY, KONG DG, WU QH, XIAO TF, SUN XX, NING ZP. Root microbiome assembly of As-hyperaccumulator *Pteris vittata* and its efficacy in arsenic requisition[J]. *Environmental Microbiology*, 2021, 23(4): 1959-1971.
- [38] LALIBERTÉ E, SCHWEIGER AK, LEGENDRE P. Partitioning plant spectral diversity into alpha and beta components[J]. *Ecology Letters*, 2020, 23(2): 370-380.
- [39] SHANG JY, WU Y, HUO B, CHEN L, WANG ET, SUI Y, CHEN WF, TIAN CF, CHEN WX, SUI XH. Potential of bradyrhizobia inoculation to promote peanut growth and beneficial *Rhizobacteria* abundance[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2021, 131(5): 2500-2515.
- [40] MARWA N, MISHRA N, SINGH N, MISHRA A, SAXENA G, PANDEY V, SINGH N. Effect of rhizospheric inoculation of isolated arsenic (As)

- tolerant strains on growth, As-uptake and bacterial communities in association with *Adiantum capillus-veneris*[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 196: 110498.
- [41] QIAN ZY, WU C, PAN WS, XIONG XR, XIA LB, LI W. Arsenic transformation in soil-rice system affected by iron-oxidizing strain (*Ochrobactrum* sp.) and related soil metabolomics analysis[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 794950.
- [42] WANG RZ, HOU DD, CHEN JZ, LI JH, FU YY, WANG S, ZHENG W, LU LL, TIAN SK. Distinct rhizobacterial functional assemblies assist two *Sedum alfredii* ecotypes to adopt different survival strategies under lead stress[J]. *Environment International*, 2020, 143: 105912.
- [43] SHEIK CS, MITCHELL TW, RIZVI FZ, REHMAN Y, FAISAL M, HASNAIN S, MCINERNEY MJ, KRUMHOLZ LR. Exposure of soil microbial communities to chromium and arsenic alters their diversity and structure[J]. *PLoS One*, 2012, 7(6): e40059.
- [44] FALAGÁN C, JOHNSON DB. *Acidibacter ferrireducens* gen. nov., sp. nov.: an acidophilic ferric iron-reducing gamma proteobacterium[J]. *Extremophiles: Life Under Extreme Conditions*, 2014, 18(6): 1067-1073.
- [45] HONEKER LK, GULLO CF, NEILSON JW, CHOROVER J, MAIER RM. Effect of re-acidification on buffalo grass rhizosphere and bulk microbial communities during phytostabilization of metalliferous mine tailings[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1209.
- [46] HOU JY, LIU WX, WU LH, HU PJ, MA TT, LUO YM, CHRISTIE P. Modulation of the efficiency of trace metal phytoremediation by *Sedum plumbizincicola* by microbial community structure and function[J]. *Plant and Soil*, 2017, 421(1): 285-299.
- [47] 王宁, 姚晨, 贾瑞, 李本银, 马诗毓, 马闯, 张世敏, 李焯楨. 镉胁迫对苗期小麦镉吸收及其根际细菌群落的影响[J]. *河南农业大学学报*, 2021, 55(3): 414-421.  
WANG N, YAO C, JIA R, LI BY, MA SY, MA C, ZHANG SM, LI XZ. Effects of Cd stress on Cd uptake and rhizosphere bacterial community in seedling wheat[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2021, 55(3): 414-421 (in Chinese).
- [48] 陈兆进, 林立安, 李英军, 陈彦, 张浩, 韩辉, 吴乃成, NICOLA Fohrer, 李玉英, 任学敏. 镉胁迫对芒草根际细菌群落结构、共发生网络和功能的影响[J]. *环境科学*, 2021, 42(8): 3997-4004.  
CHEN ZJ, LIN L, LI YJ, CHEN Y, ZHANG H, HAN H, WU NC, FOHRER N, LI YY, REN XM. Shifts in rhizosphere bacterial community structure, co-occurrence network, and function of *Miscanthus* following cadmium exposure[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(8): 3997-4004 (in Chinese).
- [49] HUANG HY, CHEN JS, LIU SB, PU SY. Impact of ZnO nanoparticles on soil lead bioavailability and microbial properties[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 806: 150299.
- [50] ZHANG XP, BIAN FY, ZHONG ZK, GAI X, YANG CB. Deciphering the rhizosphere microbiome of a bamboo plant in response to different chromium contamination levels[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 399: 123107.
- [51] YAO Q, LIU JJ, YU ZH, LI YS, JIN J, LIU XB, WANG GH. Changes of bacterial community compositions after three years of biochar application in a black soil of Northeast China[J]. *Applied Soil Ecology*, 2017, 113: 11-21.
- [52] WANG L, LIN H, DONG YB, LI B, HE YH. Effects of endophytes inoculation on rhizosphere and endosphere microecology of Indian mustard (*Brassica juncea*) grown in vanadium-contaminated soil and its enhancement on phytoremediation[J]. *Chemosphere*, 2020, 240: 124891.
- [53] WU YJ, SANTOS SS, VESTERGÅRD M, MARTÍN GONZÁLEZ AM, MA LY, FENG Y, YANG XE. A field study reveals links between hyperaccumulating *Sedum* plants-associated bacterial communities and Cd/Zn uptake and translocation[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 805: 150400.
- [54] 文一, 廖晓勇, 阎秀兰. 链霉菌的抗砷特性及其对蜈蚣草富集砷的作用[J]. *生态毒理学报*, 2013, 8(2): 186-193.  
WEN Y, LIAO XY, YAN XL. Arsenic-resistance of *Streptomyces* sp. and its effects on arsenic enrichment of *Pteris vittata* L.[J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2013, 8(2): 186-193 (in Chinese).