

As 和 Ni 超标矿山土壤对不同桑树品种生长及根际微生物多样性的影响

吴春标^{1,2}, 谢云会^{2,3}, 耿涛², 武华周², 娄德钊², 王树昌^{2*}, 卢芙萍^{2*}

1. 海南大学, 海南海口 570228; 2. 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所/农业农村部热带作物病虫害综合治理重点实验室/海南省热带农业有害生物监测与控制重点实验室, 海南海口 571101; 3. 贵州大学, 贵州贵阳 550025

摘要: 闭库尾矿库土壤生态修复及土地再生利用, 不仅避免了随意排放风险, 还能增加土地使用面积。桑树根系旺盛, 抗逆性强, 生物量大, 用途广泛, 在矿山重金属超标土壤修复和再利用中具有巨大潜力。本研究采用原土盆栽法比较 3 个桑树品种 (Y120、G12 和 G62) 一年生幼苗在矿区砷 (As) 和镍 (Ni) 复合污染土壤中种植 60 d 后的生长情况, 以及桑树不同部位对 As 和 Ni 的富集差异, 同时采用宏基因组分析桑树根际土壤微生物的差异, 初步阐明不同桑树品种对 As 和 Ni 复合污染矿山土壤的适应能力及与其根际土壤微生物多样性间的关系。结果表明: 种植 60 d 后, 3 个桑树品种根际土壤 Ni 的污染指数均从种植前的中度降为轻度, G62 根际土壤 As 的污染指数则从重度污染降为中度污染。3 个桑树品种的地上部分和根系生长部分均受到抑制, 但 G62 的生长总体优于 Y120 和 G12, G12 生长较差。3 个桑树品种对 As 的转运系数和富集系数均小于 Ni, 对 As 的富集能力为根>叶>茎, 根部积累 As 的量占植株总量的 47.33%~50.52%, 品种间差异较小, 但对 Ni 的富集能力则在不同品种间存在差异, G12、G62、Y120 根部 Ni 积累量占植株总量依次为 25.67%、38.46%和 47.14%, 品种间差异较大。生长较好的 G62 根际土壤中 *Nocardioides*、*Thiomonas* 和 *Rhizobium* 3 个属的丰富度显著高于 G12 和 Y120, 其中 *Thiomonas* sp. 在 G62 中丰富度最高, 结合 G62 根际土壤 As 的污染指数下降较多的事实, 说明这些属和种可能更多地参与桑树根际对 As 的阻隔吸收或解毒。*Sphingopyxis* sp. 在 G12 中丰富度最高, 该品种在体内转移和富集的 As 和 Ni 均最低, 可能与其更多地参与桑树对 As 和 Ni 复合污染的解毒有关。研究结果为筛选出适宜矿区生长的抗复合重金属的桑树品种及可促进桑树在 As 和 Ni 复合污染矿山土壤生长的菌株筛选和利用奠定基础。

关键词: 桑树; As; Ni; 复合污染; 富集; 生长; 根际土壤微生物; 品种筛选

中图分类号: S888; X53 **文献标志码:** A

Impact of Mine Soil Containing Excessive Arsenic and Nickel on the Growth and Rhizosphere Microbial Diversity of Different Mulberry Varieties

WU Chunbiao^{1,2}, XIE Yunhui^{2,3}, GENG Tao², WU Huazhou², LOU Dezhao², WANG Shuchang^{2*}, LU Fuping^{2*}

1. Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. Institute of Environment and Plant Protection, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences / Key Laboratory of Integrated Tropical Crop Pest Management, Ministry of Agriculture and Rural Affairs / Hainan Key Laboratory of Tropical Agricultural Pest Monitoring and Control, Haikou, Hainan 571101, China; 3. Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China

Abstract: The soil ecological restoration and land recycling of the closed tailings reservoir not only avoid the risk of random discharge, but also increase the land use area. Mulberry has strong root system, strong stress resistance, large biomass and wide application. It has great potential in the remediation and reuse of heavy metals in mines. In this study,

收稿日期 2024-03-14; **修回日期** 2024-04-17

基金项目 海南省重点研发计划项目 (No. ZDYF2022SHFZ319); 现代农业产业技术体系专项资金项目 (No. CARS-18-SYZ17)。

作者简介 吴春标 (1997—), 男, 硕士研究生, 研究方向: 桑蚕资源高效利用。*通信作者 (Corresponding author): 王树昌 (WANG Shuchang), E-mail: wangshuchang2001@163.com; 卢芙萍 (LU Fuping), E-mail: fuping_36@163.com。

the growth of one-year-old seedlings of three mulberry varieties (Y120, G12 and G62) after 60 days of planting in arsenic and nickel combined pollution soil in the mining area and the enrichment of arsenic and nickel in different parts were compared by the original soil pot method. At the same time, the difference of rhizosphere soil microorganisms was analyzed by metagenomics to preliminarily elucidate the adaptability of different mulberry varieties to arsenic and nickel combined pollution mine soil and its relationship with rhizosphere soil microbial diversity. The results showed that after 60 days of planting, the pollution index of nickel in the rhizosphere soil of the three varieties decreased from moderate to mild before planting, and the pollution index of arsenic in the rhizosphere soil of G62 decreased from severe pollution to moderate pollution. The shoot and root growth of the three mulberry varieties were inhibited, but the growth of G62 was better than that of Y120 and G12, and the growth of G12 was worse. The transport coefficient and enrichment coefficient of arsenic in the three mulberry varieties were less than that of nickel. The enrichment ability of arsenic was root>leaf>stem. The accumulation of arsenic in roots accounted for 47.33%–50.52% of the total plant, and the difference between varieties was not significant. However, the enrichment ability of nickel was different among different varieties. The accumulation of nickel in roots accounted for 25.67% (G12), 38.46% (G62) and 47.14% (Y120) of the total plant, and the difference between varieties was significant. The richness of *Nocardioide*s, *Thiomonas* and *Rhizobium* in the rhizosphere soil of G62 with better growth was significantly higher than that of G12 and Y120, and the richness of *Thiomonas* sp. in G62 was the highest. Combined with the fact that the arsenic pollution index of G62 rhizosphere soil decreased more, these genera and species may be more involved in the barrier absorption or detoxification of arsenic in mulberry rhizosphere. The richness of *Sphingopyxis* sp. was the highest in G12, and the variety had the lowest arsenic and nickel transferred and enriched in the body, which may be related to its more participation in the detoxification of arsenic and nickel combined pollution in mulberry. The results of this study will lay a foundation for the screening of mulberry varieties resistant to compound heavy metals that are suitable for the growth of mining areas and the screening and utilization of strains that can promote the growth of mulberry in the soil of arsenic and nickel combined pollution mines.

Keywords: mulberry; As; Ni; combined pollution; enrichment; growth; rhizosphere soil microorganisms; screening varieties

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.09.022

矿山资源的开采, 形成众多废弃尾矿库^[1]。从矿石中提取 1 t 金属会产生 2~12 t 尾矿^[2], 废弃的尾矿中存在大量重金属, 这些重金属有时在尾矿中比未开采的土壤高 10~20 倍^[3-4]。重金属会随地表径流、雨水淋滤等自然作用向周边土壤、地下水迁移, 渗入土壤^[5], 对周边生态环境造成严重威胁^[6]。我国污染耕地约有 10^8 hm², 中、重度污染耕地高达 3.33×10^6 hm²^[7]。重金属有富集作用, 最终会通过食物链对人体健康产生极大危害^[8-9], 摄入过量的重金属会对人体肝脏、肾脏、消化系统和神经系统等造成不可逆的损害^[10]。闭库尾矿库重金属土壤生态修复及土地再生利用^[11], 不仅避免了随意排放风险, 还能增加土地使用面积, 为人类活动提供更大空间, 极大缓解当前人口、土地和资源矛盾, 使尾矿库产生更高的经济和社会价值^[12]。

桑树根系旺盛, 抗逆性强, 生物量大^[13-14], 品种资源丰富, 不同品种对于重金属的耐受性和积累性存在差异^[15]。桑树对土壤复合重金属具有一定的耐受和富集能力^[16], 且大多数重金属主要

富集于根部^[17-18], 而种桑养蚕模式可消除土壤中重金属通过食物链进入人体造成累积毒害危险^[19], 同时可获得较好的经济和社会效益^[20], 是矿山污染土地治理并实现作物种植结构调整的一种理想树种^[21]。桑树通常在其地上和地下部分与各种微生物相互作用^[22], 在生物圈中, 桑树与不同微生物的相互作用使它们能够获得广泛的共生优势^[23], 从而增强桑树的生长发育以及对重金属的胁迫耐受性^[24]。桑树根部会通过激素代谢、胁迫响应、次生代谢以及信号传导、蛋白质代谢、转运和细胞壁代谢参与重金属胁迫响应^[25], 改变根际微环境, 影响根部土壤微生物群落结构、功能和多样性。根际微生物可直接影响重金属形态的迁移和转化, 因此, 桑树对重金属的耐性和转移具有重要作用^[26]。

近年来因海南某矿区部分开采结束, 产生废弃尾矿库, As 和 Ni 超标。不同桑树品种对 As 和 Ni 复合污染的积累特性和土壤微生物的相关研究尚无报道, 本研究比较 3 个不同品种桑树对矿区 As 和 Ni 复合污染土壤种植 60 d 后不同部位

对 As 和 Ni 的富集差异,同时采用宏基因组分析根际微生物组的差异,以明确不同桑树品种对 As 和 Ni 复合污染土壤的适应能力以及与桑树根际微生物多样性间的关系,为筛选适宜矿区生长且耐 As 和 Ni 复合污染的桑树品种,以及为可促进桑树在 As 和 Ni 复合污染矿山土壤生长的菌株筛选和利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 土壤采集

土样采集地为海南省某铁矿尾矿库,尾矿库土壤总体营养物质含量较低,无植被覆盖,尾矿库已闭库。尾矿库土壤营养参数:含水量为 1.98%, pH 为 7.80,总氮含量为 0.01%,全磷含量为 377.75 mg/kg,有效磷含量为 0.85 mg/kg,有机碳含量为 7.48 g/kg,微生物碳含量为 139.69 mg/kg,微生物氮含量为 49.57 mg/kg,溶解性有机碳含量为 67.14 mg/kg。重金属含量检测为 As 和 Ni 超标,其中 As 含量为 88.19 mg/kg,达重度污染, Ni 含量为 393.39 mg/kg,为中度污染。

于 2022 年 4 月 9 日每个点按 100 m×200 m 布设土壤采样点位,共布设 3 个土壤样品采集点位,每个采样点位采 10 个分样点的土样并进行混合,采样深度为 0~20 cm,去除小石块和其他非土壤成分。所取每个点位混合土壤均按照四分法各取 1 kg 进行 pH、重金属含量及主要营养元素测定。之后在矿区土壤中补充主要营养元素(N、P、K)至与周边正常土壤一致,装入花盆中种植桑苗,种植后不再施肥。

1.2 桑苗种植及取样

供试 3 个桑树品种分别为 Y120、G62 和 G12,均为同水平种植的一年生种子苗,属于热带亚热带栽培品种,产量高,抗逆性强。于 2022 年 4 月 10 日种植,随机选取长势一致的 3 个品种各 30 株,并统一修剪至 15 cm 高度,单株种植于装有 10 kg 尾矿库土壤的花盆(直径 33 cm,高 22 cm)。每个花盆之间的间距约为 10 cm,每天早上 8:00 浇水,保持土壤相对湿度为 60%~70%。以正常土壤种植为对照。60 d 后对植株和土壤分别进行采样。

于 2022 年 6 月 11 日对 3 个桑树品种随机各选取 9 株,并平均分成 3 组,每组 3 株,将每组土壤和桑树分离,每组土壤混匀后取 1000 g,研磨后过 100 目筛,用于重金属含量测定;每组桑

树分别用灭菌毛笔刷取根际土壤,土壤混匀后用液氮速冻后保存于-80℃冰箱,用于宏基因组测序,分析不同桑树品种根际土壤微生物的种属变化;每组桑树洗去根部附着土壤,用超纯水冲洗,吸干水分后称量植株鲜质量,并将根、茎和叶分开,70℃烘干至恒重,研磨并过 100 目筛,用于重金属含量测定。

1.3 土壤 pH 及重金属含量测定

取(10.0±0.1)g 土壤加入 25 mL 水,密封、搅拌 5 min,静置 2 h 后,参照 NY/T 1377—2007 测定土壤 pH;参照 HJ 680—2013 采用原子荧光法测定土壤 As 含量;采用 ICP-MS 法测定土壤 Cd、Cr 和 Pb 含量;参照 HJ 491—2019 采用火焰原子吸收分光光度法测定土壤 Ni 含量。

1.4 桑树组织内重金属含量测定

称取植物样品 0.50 g,加入 5 mL 68%硝酸(HNO₃)浸泡过夜。再加入 10 mL HNO₃、5 mL HClO₄ 加热消煮蒸发至透明,继续蒸发至溶液冒浓厚白烟,冷却,用 1% HNO₃ 冲洗过滤于 25 mL 比色管中,用蒸馏水定容至 25 mL,采用原子分光光度计测定桑树各部位重金属含量。

1.5 桑树根际土壤微生物分析

采用 DNA 提取试剂盒提取所有样品的总 DNA。完成基因组 DNA 提取后,使用琼脂糖凝胶电泳(AGE)分析 DNA 的纯度和完整性,使用 NanoDrop 检测 DNA 的纯度(OD₂₆₀/OD₂₈₀),使用 Qubit 对 DNA 浓度进行精确定量以完成对提取 DNA 的检测。

检测合格的 DNA 样品用超声波破碎仪随机打断成长度为所需片段,然后进行末端修复,3'端加 A,连接测序接头,进行 PCR 扩增与纯化后,构建测序文库。文库构建完成后,先使用 Qubit 2.0 进行初步定量,稀释文库至 1 ng/μL,随后使用 Agilent 2100 对文库的 insert size 进行检测,insert size 符合预期后,使用 Q-PCR 方法对文库的有效浓度进行准确定量(文库有效浓度>2 nmol/L),以保证文库质量。库检合格后,把不同文库按照有效浓度及目标下机数据量的需求 pooling 后进行 PE125/150/250,使用 Illumina HiSeq 2500 进行测序。

测序结束后对结果进行宏基因组信息分析,利用基因组比对软件 BWA,将过滤后的 clean reads 与宿主参考序列进行比对,将比对到宿主的序列去除后,剩余的 clean reads 与细菌(或病毒)

参考序列进行比对。采用 Illumina 二代测序的短序列拼接软件 SOAPdenovo, Velvet 和 SPAdes 短序列组装软件均基于 de-Bruijn 算法进行构图,对测序序列进行简化、纠错;reads 取 K-mer 后基于 overlap 形成 contig; contig 基于 reads 的双末端关系组成 scaffold;最后 scaffold 延伸得到组装序列。采用 MetaGeneMark 软件对组装序列进行基因预测,将预测出来的基因与 Swiss-Prot 数据库中的序列进行比对,得到注释信息。

计算不同取样深度下 Observed species、Chao1、Simpson 和 Shannon Index 4 种 Alpha 多样性指标值,绘制实际观测到的物种稀释曲线图、推测出物种指数稀释曲线图、物种均一性稀释曲线图、综合稀释曲线图,分析样品间物种的类别丰富度以及物种数目的均匀度。对样品进行 Beta 多样性分析,使用 Unifrac 算法计算不同样品之间的 Unifrac 距离,以 Unifrac 距离绘制 Heatmap,分析不同样品之间微生物群落结构的相似性或差异性。绘制不同桑树品种根际土壤微生物属水平上的物种丰度热图,分析不同桑树品种微生物群落菌属组成的相似性和差异性。

1.6 数据处理

重金属单因子污染指数 (P_i) = 土壤中污染元素的实测含量/土壤污染元素的评价标准。 $P_i \leq 1$ 表示无污染, $1.0 < P_i \leq 2.0$ 表示轻度污染, $2.0 < P_i \leq 3.0$ 表示中度污染, $P_i > 3.0$ 表示重度污染。

转运系数 (TF) = 植物地上部重金属元素含量/植物地下部重金属元素含量。

富集系数 (BCF) = 植物体内重金属元素含量/土壤中对应该重金属元素含量。

采用 Microsoft Excel 2013 软件计算不同桑树

品种根际土壤重金属污染指数、不同桑树品种对重金属的富集系数以及在桑树中的迁移系数等。采用 IBM SPSS Statistic 25 软件邓肯氏新复极差检验法进行差异显著分析。

2 结果与分析

2.1 As 和 Ni 超标矿山土壤对不同桑树品种生长的影响

种植 60 d 后,与正常土壤种植 (CK) 相比,3 个桑树品种的生长均受到不同程度的影响,其中, G62 的影响程度最小,而且长势最好,其次为 Y120, G12 影响程度最大,长势最弱。3 个桑树品种的株高均显著下降,但是叶片数与株高不同,种植在尾矿库土壤后, G62 的叶片数量增加,而 G12 和 Y120 的叶片数却显著减少(图 1,图 2)。表明桑树品种 G62 的耐胁迫能力最强,能在尾矿库土壤中较好生长。

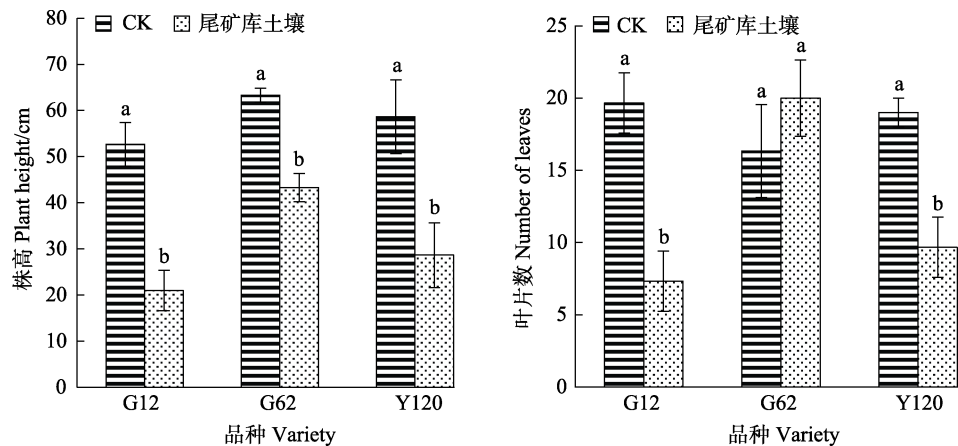
2.2 种植不同桑树品种后土壤 As 和 Ni 含量的变化

3 个桑树品种种植 60 d 后,土壤 pH 为 7.6, As 和 Ni 含量均较种植前下降。其中,种植 G62 后土壤 As 含量从 88.19 mg/kg 降至 69.25 mg/kg,降低了 21.47%,土壤污染指数从种植前的 3.53 降至 2.77,从重度污染降为中度污染;种植 G12 后土壤 As 含量降至 75.08 mg/kg,降低了 14.86%,土壤污染指数降至 3.00,但仍为重度污染;种植 Y120 后土壤 As 含量降至 80.79 mg/kg,降低了 8.39%,土壤污染指数降至 3.23,也仍为重度污染。种植 G62 后土壤 Ni 含量从 393.39 mg/kg 降至 302.72 mg/kg,降低了 23.05%,土壤污染指数从种植前的 2.07 降至 1.59,从中度污染降为轻度污



图 1 不同桑树品种种植于尾矿库土壤 60 d 后的生长情况

Fig. 1 Growth of different mulberry varieties planted in tailings reservoir soil after 60 days



不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

图 2 不同桑树品种种植于尾矿库土壤 60 d 后的株高和叶片数

Fig. 2 Plant height and leaf numbers of different mulberry varieties planted in tailings reservoir soil after 60 days

染；种植 G12 后土壤 Ni 含量降至 246.93 mg/kg，降低了 37.23%，土壤污染指数降至 1.30，从中度污染降为轻度污染；种植 Y120 后土壤 Ni 含量降为 307.32 mg/kg，降低了 21.88%，土壤污染指数降为 1.62，从中度污染降为轻度污染（表 1）。

2.3 不同桑树品种对 As 和 Ni 的富集转移能力

种植 60 d 后，3 个桑树品种 As 和 Ni 含量及

对 As 和 Ni 的转移系数及富集系数见表 2。种植 60 d 后，3 个桑树品种植株内的 As 和 Ni 含量存在一定差异，其中，Y120 植株内的 As 含量最高，为 10.59 mg/kg，其次为 G62（6.25 mg/kg），最低为 G12（5.68 g/kg）。G62 的 Ni 含量最高，为 78.38 mg/kg，其次为 Y120（71.7 mg/kg），G12 最低（70.21 mg/kg）。

表 1 不同桑树品种种植前后尾矿库土壤 As 和 Ni 含量变化

Tab. 1 Content changes of As and Ni in tailings reservoir soil after planting different mulberry varieties

元素 Element	品种 Variety	元素质量分数 Element mass fraction/(mg·kg ⁻¹)		污染指数 Pollution index		污染程度 Pollution level	
		种植前 Before planting	种植后 After planting	种植前 Before planting	种植后 After planting	种植前 Before planting	种植后 After planting
As	G12	88.19±2.59 ^a	75.08±1.59 ^b	3.53±0.10 ^a	3.00±0.06 ^b	重度污染	重度污染
	G62	88.19±2.59 ^a	69.25±4.60 ^b	3.53±0.10 ^a	2.77±0.18 ^b	重度污染	中度污染
	Y120	88.19±2.59 ^a	80.79±4.43 ^a	3.53±0.10 ^a	3.23±0.18 ^a	重度污染	重度污染
Ni	G12	393.39±6.07 ^a	246.93±6.44 ^b	2.07±0.03 ^a	1.30±0.33 ^b	中度污染	轻度污染
	G62	393.39±6.07 ^a	302.72±15.25 ^b	2.07±0.03 ^a	1.59±0.23 ^a	中度污染	轻度污染
	Y120	393.39±6.07 ^a	307.32±16.76 ^b	2.07±0.03 ^a	1.62±0.09 ^a	中度污染	轻度污染

注：同行数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters after the same row of data indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

表 2 不同桑树品种对 As 和 Ni 的富集转移能力

Tab. 2 Enrichment and transfer ability of As and Ni in different mulberry varieties

元素 Element	品种 Variety	元素质量分数 Element mass fraction/(mg·kg ⁻¹)				转运系数 TF	富集系数 BCF
		土壤 Soil	根 Root	茎 Stem	叶 Leaf		
As	G12	75.08±1.59 ^a	2.87±0.76 ^b	0.89±0.53 ^a	1.92±0.38 ^b	1.04±0.35 ^a	0.08±0.00 ^a
	G62	69.25±4.60 ^a	3.09±0.37 ^b	0.96±0.09 ^a	2.20±0.32 ^b	1.02±0.02 ^a	0.09±0.01 ^a
	Y120	80.79±4.43 ^a	5.01±1.02 ^a	1.14±0.23 ^a	4.44±1.02 ^a	1.11±0.03 ^a	0.14±0.04 ^a
Ni	G12	246.93±6.44 ^b	18.02±1.54 ^b	26.18±1.35 ^a	26.01±1.29 ^b	3.16±0.40 ^a	0.33±0.05 ^a
	G62	302.72±15.25 ^a	30.14±1.24 ^a	17.21±1.39 ^b	31.03±2.79 ^a	1.74±0.23 ^b	0.25±0.01 ^a
	Y120	307.32±16.76 ^a	33.80±2.17 ^a	13.77±1.34 ^c	24.13±0.89 ^b	1.19±0.21 ^b	0.24±0.03 ^a

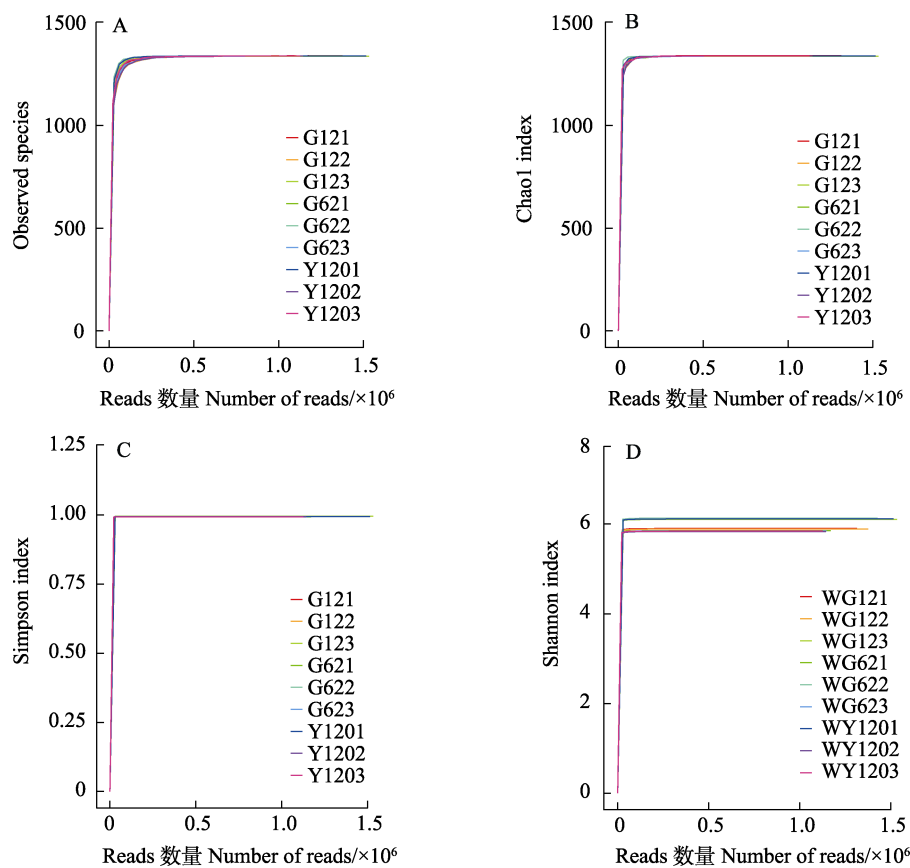
注：同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference among treatments ($P<0.05$).

3 个桑树品种地上部分对 As 和 Ni 的转运系数均大于 1 (表 2), 但对 As 的转移能力均低于 Ni, 对 Ni 的转移系数最高可达 3.16 (G12), 最低为 1.19 (Y120), G62 居中, 为 1.74。3 个品种对 As 和 Ni 的富集系数均较低, 在 As 和 Ni 重度或中度污染环境可生长, 可能存在避性而使其能够在较高质量浓度的 As 和 Ni 复合污染土壤中生长, 因此可作为 As 和 Ni 复合污染矿山土壤修复的先锋植物。

2.4 不同桑树品种根际土壤微生物 Alpha 多样性和 Beta 多样性分析

Observed species 和 Chao1 分别反映了 G12、

G62 和 Y120 根际土壤样本中实际检测到的微生物物种数量和外推微生物物种数量, 可直观比较不同桑树品种根际微生物群落的物种丰富度。随着取样加深, 曲线均趋向平坦, G12、G62 和 Y120 实际检测到的物种和外推物种丰富度相近 (图 3A, 图 3B)。Simpson index 可衡量每个样本中物种分布的均匀程度, Shannon index 是综合考虑样本中物种丰富度与均匀度的一个多样性指数。由图 3C、图 3D 可知, 3 个桑树品种种植于尾矿库土壤后, 根际土壤微生物群落不仅在物种分布均匀度上相似, 而且在物种丰富度及其相对丰度的组合方面也无显著差异。



A: 实际观测到的物种稀释曲线; B: 推测出的物种指数稀释曲线; C: 物种均一性稀释曲线; D: 综合稀释曲线。
A : Actual observed species dilution curve; B: Speculated species index dilution curve; C: Homogeneous dilution curve of species; D: Comprehensive dilution curve diagram.

图 3 不同桑树品种种植于尾矿库土壤后根际土壤微生物 Alpha 多样性

Fig. 3 Alpha diversity of rhizosphere soil microorganisms of different mulberry varieties after planting in tailings reservoir soil

Unifrac 分析基于物种组成和物种丰度数据, 通过计算每个群落中物种的相对丰度来评估群落的相似性和差异性。Unifrac 分析可视化结果能够直观展示样本间微生物组成的相似性和差异性。每个小方格的颜色代表 2 个样本间的 Unifrac 值, 颜色越深表示差异越大, 颜色越浅

则表示相似度越高。不同桑树品种种植于尾矿库土壤 60 d 后, G12 和 G62 之间的颜色较浅, 表明它们之间相似度较高, 微生物群落组成具有较大相似性; Y120 与 G12、G62 之间的颜色较深, 表明它们之间相似度较低, 微生物群落组成具有较大的差异 (图 4)。

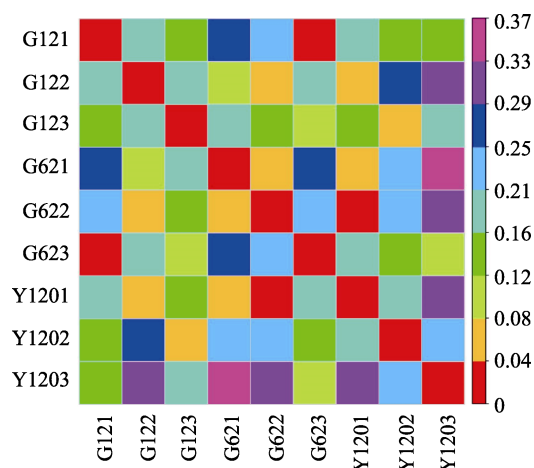


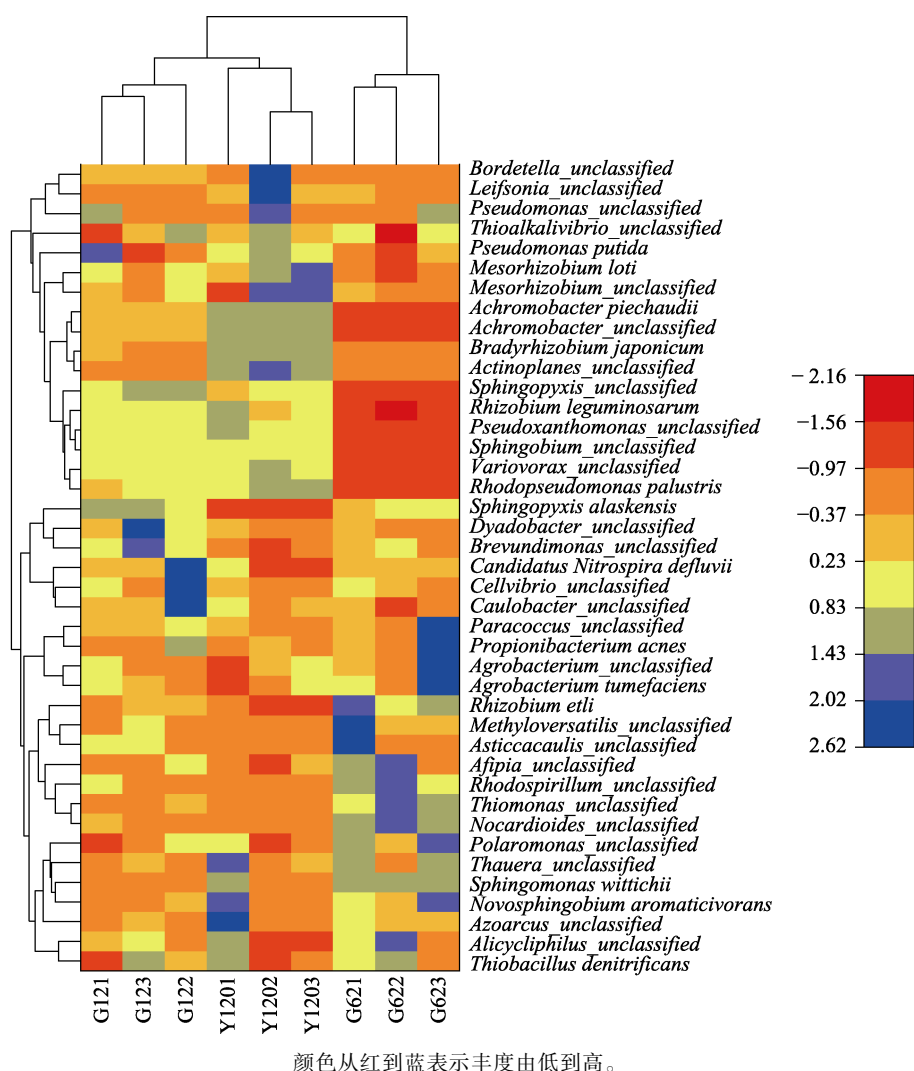
图 4 不同桑树品种种植于尾矿库土壤后根际土壤微生物 Unifrac 分析热力图

Fig. 4 Unifrac analysis heat map of rhizosphere soil microorganisms of different mulberry varieties after planting in tailings reservoir soil

2.5 不同桑树品种根际土壤微生物多样性分析

种植于 As 和 Ni 超标矿山土壤 60 d 后, 不同桑树品种根际土壤微生物属和种水平丰度均存在显著差异, 其中 G12 和 G62 的物种丰富度水平相近, 分别检测到 62 个和 61 个类群, Y120 仅检测到 50 个类群 (图 5)。

不同桑树品种根际土壤微生物属组成分析表明, G12 和 G62 的根际土壤微生物属组成较为相似, 而与 Y120 组成具有显著差异 (图 6)。Nocardioides、Thiomonas 和 Rhizobium 3 个属在 G62 根际土壤中丰富度较高, 分别达 5.22、3.15 和 2.43, 显著高于 G12 (1.45、0.93 和 1.28) 和 Y120 (0.48、0.15 和 1.16), 结合 G62 根际土壤 As 的污染指数下降较多, 而生长情况优于 G12 和 Y120 的现象, 说明这些属可能更多地参与桑



颜色从红到蓝表示丰度由低到高。

Color from red to blue indicates abundance from low to high.

图 5 不同桑树品种种植于尾矿库土壤后土壤微生物属水平物种相关性热图

Fig. 5 Unifrac analysis heat map of rhizosphere soil samples of different mulberry varieties after planting in tailings reservoir soil

树根际对 As 的阻隔吸收或解毒,降低了其对桑树生长的影响。*Actinoplanes*、*Rhodopseudomonas*、*Pseudoxanthomonas*、*Variovorax*、*Achromobacte* 和 *Bradyrhizobium* 6 个属在 Y120 根际土壤中的丰富度较高,分别为 7.66、5.34、5.05、3.65、2.27 和 1.23,显著高于 G12 (2.69、3.63、3.48、2.62、1.10 和 0.65) 和 G62 (1.45、3.76、0.65、2.32、0.33 和 0.55),结合 Y120 对 As 的转运和富集系数均高于 G62 和 G12,这些属可能与桑树对 As 的转运和富集有关。相比其他 2 个品种, G12 生长最差,其根际微生物中 *Sphaerobacter* 和 *Brevundimonas* 2 个

属的丰富度显著高于 G62 和 Y120, *Sphingopyxis* 和 *Sphingobium* 2 个属显著高于 G62。

不同桑树品种根际土壤微生物种的组成分析表明(图 7), *Sphingopyxis* sp.、*Rhodopseudomonas palustris* 和 *Variovorax* sp.在 3 个桑树品种根际土壤中的丰富度均超过 2.00,其中 *Sphingopyxis* sp.在 G12 中丰富度最高,达 6.01,而该品种植株内转移和富集的 As 和 Ni 均最低,说明 *Sphingopyxis* sp.可能与桑树对 As 和 Ni 复合污染的解毒有关。*Sphingobium* sp.、*Actinoplanes* sp.和 *Thiomonas* sp.均超过 1.00。*Sphingopyxis* sp.、*Rhodopseudomonas*

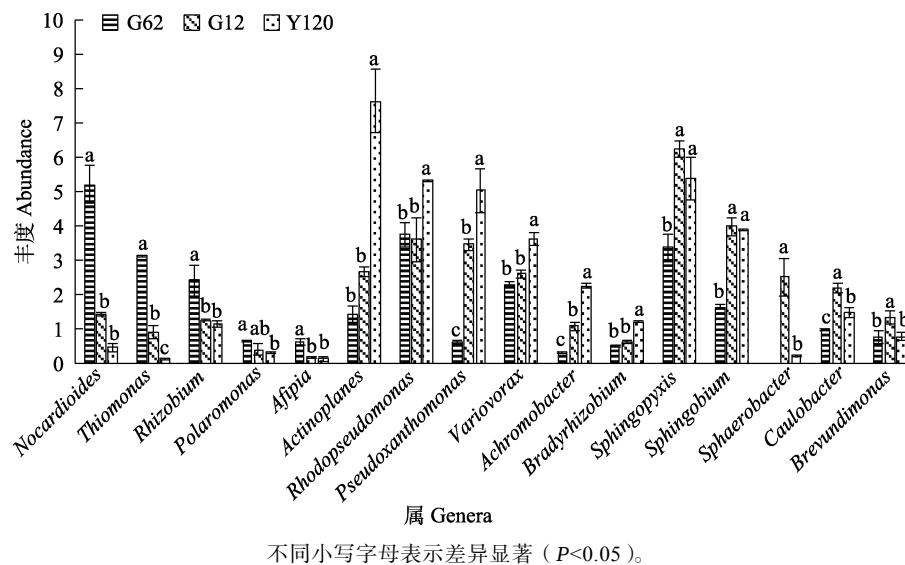


图 6 不同桑树品种种植于尾矿库土壤后根际土壤微生物属水平丰富度

Fig. 6 Abundance of microbial genera in rhizosphere soil of different mulberry varieties after planting in tailings reservoir soil

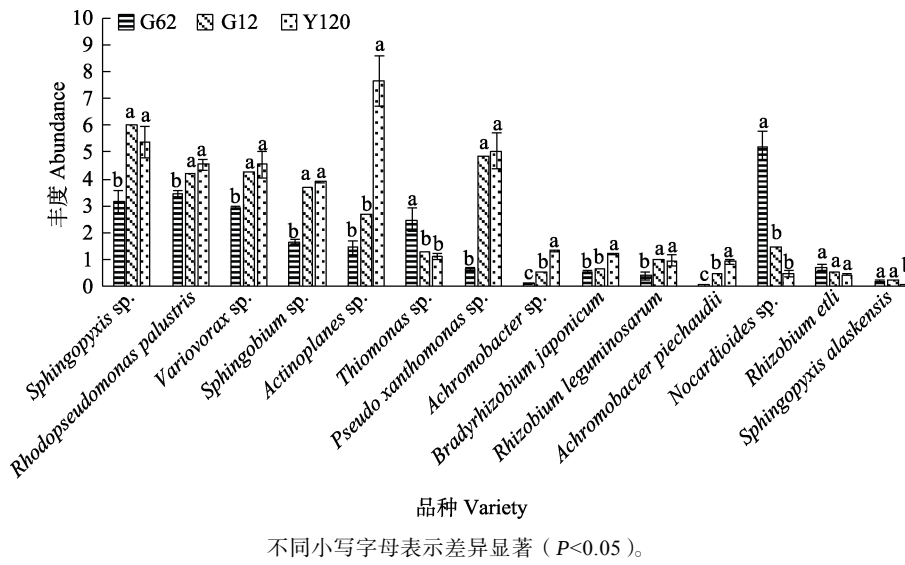


图 7 不同桑树品种种植于尾矿库土壤后根际土壤微生物种水平丰富度

Fig. 7 Horizontal richness of rhizosphere soil microbial species of different mulberry varieties after planting in tailings reservoir soil

palustris、*Variovorax* sp.、*Sphingobium* sp. 和 *Actinoplanes* sp. 5 种菌在 Y120 和 G12 两个品种根际土壤中的丰富度均显著高于 G62, 可能与其更多参与桑树对 As 和 Ni 复合污染的解毒有关; 而 *Thiomonas* sp. 在 G62 中可能与其更多参与桑树对 As 的解毒有关。

3 讨论

目前, 关于重金属污染土壤对桑树影响的研究主要集中在单一重金属污染上, 特别是镉污染^[27-29], 但是在实际的重金属污染土壤中, 土壤污染多以多种重金属污染共存的状态存在^[30-31], 因此, 研究复合重金属污染土壤对桑树生长的影响具有重要的理论和实践意义。本研究开展 As 和 Ni 复合污染矿山土壤中不同桑树品种的生长特性和耐受性及其与根际土壤微生物多样性的关系研究, 为利用适宜当地气候环境的桑树品种修复和再利用矿山土壤提供有效途径。

研究发现, 在 As 和 Ni 重、中度污染矿区土壤中种植 60 d 后, 3 个桑树品种地上部分的生长受到不同程度的抑制。As 可以通过磷吸收系统和质膜进入植物, 与磷竞争结合位点^[32-34], 还可以与生物大分子结合, 导致结构变化和功能破坏, 影响酶活性和细胞功能, 并诱导氧化应激和其他对植物生长产生负面影响的生理反应^[35-36]。然而, 郑鹏飞等^[37]的研究中, As 和 Cd 的污染指数远高于本研究的矿山土壤, 而供试桑树品种湘 7920 生长完好, 无胁迫症状。可能与不同桑树品种对 As 的耐受程度存在较大差异有关, 也可能是 As 和 Ni 复合污染对桑树的生长发育影响较 As 和 Cd 复合污染更大, 后续有待进一步研究证实。重金属在植物根际细胞壁中的固定或螯合是植物生长的一个重要解毒过程^[38], 在本研究中, 观察到与叶和茎相比, 3 个桑树品种在根部表现出更高的 As 富集能力, 能够积累近一半的总 As 含量, 表明桑树的根部可能具有固定 As 的能力, 从而降低 As 对地上部分的毒性, 而本研究 3 个桑树品种对 As 的富集和转运系数均较低, 但对 Ni 的富集和转运系数却均较高, 同时也发现, 不同桑树品种的不同部位对 Ni 的富集能力与 As 不同, 尤其是根部, 3 个品种差异较大, G12 地上部分转移 Ni 的能力最强, 显著强于 G62 和 Y120, 其生长所受抑制也最强, 表现出较少的分枝和叶片, 这可能是由于 Ni 胁迫引起的。研究表明, 土壤中 Ni

含量的增加会抑制植物发芽、叶片斑点和黄化、减少根和芽的生长等, 同时也会影响植物的 Fe 吸收, 最终导致作物产量的损失^[39]。另一方面, G62 中 Ni 转移到叶片的能力较强, 可能与其生理机制的发展, 如将重金属储存在液泡和叶脉中的主动转运, 从而降低它们的毒性并确保植物的正常生长有关^[40]。研究发现桑树对重金属的富集能力 $Cd > Ni > Cr > As$ ^[41], 本研究的 3 个桑树品种对 Ni 的富集能力强于 As, 且可将 Ni 的污染指数从中度污染降为轻度, 其中 G12 使土壤 Ni 含量降了 37.23%, 可进一步研究利用 G12 作为 Ni 修复的潜力和机制。

本研究中 G62 在 As 和 Ni 污染矿山土壤中生长较好, 分枝和叶片数量增多, 可能与其根际土壤中的 *Thiomonas*、*Rhizobium* 和 *Nocardioides* 丰度较高有关。土壤微生物的大量繁殖会进一步提高土壤的生物肥力和物理肥力, 从而提高土壤中 N、P、K 等矿质营养元素的利用率, 形成良性循环, 有利于植物的生长并可增强植株抗逆性^[42]。*Thiomonas* 可以利用 As 作为能源自养, 提高植物的固碳能, 还可以使用 As (III) 作为唯一的能量来源进行自养生长, 诱导其固碳特异性酶的表达, 从而提高其固碳能^[43], G62 根际土壤中的 *Thiomonas* sp. 丰度较高, 可能促进了 G62 对碳的固定能力, 从而部分补偿了土壤中碳的不足, 使 G62 可较好生长, 发出更多的分枝, 长出更多的叶片。*Rhizobium* 对 As 表现出高度的耐受性, 并且可提高宿主根瘤数, 增加宿主植株的地上部分氮含量, 为植物提供可利用的氮^[44-45]。G62 根际土壤中的 *Rhizobium etli* 丰度较高, 可能为其他根际微生物和桑树植株提供生物可利用的氮, 在 As 和 Ni 超标土壤修复中发挥积极作用。*Nocardioides* 在多种 As 污染的根际土壤中富集, 与 As 含量呈正相关^[46]。本研究中 *Nocardioides* sp. 在生长良好的 G62 根际土壤中丰富度较高, 可能该品种在 As 的抗性和转化中发挥着重要作用。*Rhodopseudomonas* 和 *Bradyrhizobium* 均具有氧化 As 的能力, 能把高毒性的三价 As 氧化为低毒的五价 As, 不利于植物吸收, 且 *Rhodopseudomonas* 有多种解毒机制, 可有效去除环境中 As 的污染^[47-48]。Y120 根际土壤中的 *Rhodopseudomonas palustris* 和 *Bradyrhizobium japonicum* 在 3 个桑树品种根际土壤中的丰度均较高, 可能主要参与桑树对 As 的解毒过程。

桑树作为我国广泛分布的多年生木本植物,

对土壤和环境的适应性强, 生长速度快, 根系发达, 生物量大, 耐剪伐, 对重金属具有一定的富集和耐受能力, 在修复土壤重金属污染方面的应用价值日益突出^[47-48]。本研究, 在 As 和 Ni 复合污染的尾矿库土壤中种植桑树 60 d 后, G62 的分枝数和叶片数增加, 生长较好, 且能使根际土壤的 As 和 Ni 含量分别降低 21.47% 和 23.05%, 污染指数均下降, 结合其根际 *Rhodopseudomonas palustris*、*Bradyrhizobium japonicum*、*Thiomonas* sp.、*Rhizobium etli* 和 *Nocardioideis* sp. 丰度较高的现象, 推荐可将 G62 作为铁矿尾矿库修复和再利用的优良桑树品种, 并通过进一步验证微生物的促生作用, 选择添加合适的菌株, 以更好发挥 G62 对 As 和 Ni 复合污染土壤中的修复和利用价值, 不仅可通过根部吸收转运和固定 As 和 Ni, 桑叶用于养蚕, 部分 As 和 Ni 又可转移至蚕沙被无害化处理, 实现尾矿生态修复和蚕桑高效安全利用模式。

参考文献

- [1] TANG L, LIU X, WANG X, LIU S, DENG H. Statistical analysis of tailings ponds in China[J]. Journal of Geochemical Exploration, 2020, 216: 106579.
- [2] MOHANTY M, DHAL N K, PATRA P, DAS B, REDDY P S R. Phytoremediation: a novel approach for utilization of iron-ore wastes[J]. Reviews of Environmental Contamination and Toxicology, 2010, 206: 29-47.
- [3] GARCÍA-GIMÉNEZ R, JIMÉNEZ-BALLESTA R. Mine tailings influencing soil contamination by potentially toxic elements[J]. Environmental Earth Sciences, 2017, 76: 1-12.
- [4] GUO Y, BAO Z, DENG Y, MA Z, YAN S. Environmental geochemistry of abandoned flotation tailing reservoir from the Tonglvshan Fe-Cu sulfide mine in Daye, central China[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2011, 87: 91-95.
- [5] KOSSOFF D, DUBBIN W, ALFREDSSON M, EDWARDS S, MACKLIN M, HUDSON-EDWARDS K A. Mine tailings dams: characteristics, failure, environmental impacts, and remediation[J]. Applied Geochemistry, 2014, 51: 229-245.
- [6] LIU R, LIU J, ZHANG Z, BORTHWICK A, ZHANG K. Accidental water pollution risk analysis of mine tailings ponds in Guanting reservoir watershed, Zhangjiakou city, China[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2015, 12(12): 15269-15284.
- [7] 周健民. 浅谈我国土壤质量变化与耕地资源可持续利用[J]. 中国科学院院刊, 2015, 30(4): 459-467.
- [8] ZHOU J M. Changes in soil quality and sustainable utilization of cultivated land resources in China[J]. Journal of Chinese Academy of Sciences, 2015, 30(4): 459-467. (in Chinese)
- [8] CHANDRA K, PROSHAD R, ISLAM M, IDRIS A M. An integrated overview of metals contamination, source-specific risks investigation in coal mining vicinity soils[J]. Environmental Geochemistry and Health, 2023, 45(11): 7425-7458.
- [9] AZIZ K H H, MUSTAFA F S, OMER K M, HAMA S, HAMARAWF R F, RAHMAN K O. Heavy metal pollution in the aquatic environment: efficient and low-cost removal approaches to eliminate their toxicity: a review[J]. RSC Advances, 2023, 13(26): 17595-17610.
- [10] HE B, YUN Z, SHI J, JIANG G. Research progress of heavy metal pollution in China: sources, analytical methods, status, and toxicity[J]. Chinese Science Bulletin, 2013, 58: 134-140.
- [11] YU H, ZAHIDI I, FAI C M. Reclaiming abandoned mine tailings ponds for agricultural use: opportunities and challenges[J]. Environmental Research, 2023, 232: 116336.
- [12] XU D M, ZHAN C L, LIU H X, LIN H Z. A critical review on environmental implications, recycling strategies, and ecological remediation for mine tailings[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2019, 26: 35657-35669.
- [13] JIANG Y, JIANG S, HUANG R, WANG M, CAO H, LI Z. Phytoremediation potential of forage mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) for cadmium contaminated paddy soils[J]. International Journal of Phytoremediation, 2022, 24(5): 518-524.
- [14] GAN T, LIN Z, BAO L, HUI T, CUI X, HUANG Y, WANG H, SU C, JIAO F, ZHANG M. Comparative proteomic analysis of tolerant and sensitive varieties reveals that phenylpropanoid biosynthesis contributes to salt tolerance in mulberry[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(17): 9402.
- [15] JIANG Y, JIANG S, HUANG R, WANG M, CAO H, LI Z. Accumulation of Cd by three forage mulberry (*Morus atropurpurea* Roxb.) cultivars in heavy metal-polluted farmland: a field experiment[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2021, 28(3): 3354-3360.
- [16] JIANG Y, JIANG S, LI Z, YAN X, QIN Z, HUANG R. Field scale remediation of Cd and Pb contaminated paddy soil using three mulberry (*Morus alba* L.) cultivars[J]. Ecological Engineering, 2019, 129: 38-44.
- [17] WANG L, JI G. Glutathione and calcium biomineralization of mulberry (*Morus alba* L.) involved in the heavy metal detoxification of lead-contaminated soil[J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2021, 21: 1182-1190.
- [18] LEI M, PAN Y, CHEN C, DU H, TIE B, YAN X, HUANG R. Application of economic plant for remediation of cad-

- mium contaminated soils: three mulberry (*Morus alba* L.) varieties cultivated in two polluted fields[J]. Chemosphere, 2019, 236: 124379.
- [19] ZHOU L, ZHAO Y, WANG S. Cadmium transfer and detoxification mechanisms in a soil-mulberry-silkworm system: phytoremediation potential[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2015, 22: 18031-18039.
- [20] WAN X, LEI M, CHEN T, TAN Y, YANG J. Safe utilization of heavy-metal-contaminated farmland by mulberry tree cultivation and silk production[J]. Science of the Total Environment, 2017, 599: 1867-1873.
- [21] SI L, ZHANG J, HUSSAIN A, QIAO Y, ZHOU J, WANG X. Accumulation and translocation of food chain in soil-mulberry (*Morus alba* L.)-silkworm (*Bombyx mori*) under single and combined stress of lead and cadmium[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 208: 111582.
- [22] XIE J, XU W, ZHANG M, QIU C, LIU J, WISNIEWSKI M, OU T, ZHOU Z, XIANG Z. The impact of the endophytic bacterial community on mulberry tree growth in the Three Gorges Reservoir Ecosystem, China[J]. Environmental Microbiology, 2021, 23(4): 1858-1875.
- [23] OZTURK M, KAMILI A N, ALTAY V, ROHELA G K. Mulberry: mycorrhizal interactions and development related to other organisms[M]. Botany to Phytochemistry. Springer, 2023: 57-68.
- [24] HU G, CAO H, YE C, WANG F. Effect of cadmium stress on the bacterial community in the rhizosphere of mulberry (*Morus alba* L.)[J]. Brazilian Journal of Microbiology, 2023, 54(3): 2297-2305.
- [25] GUO Z, ZENG P, XIAO X, PENG C. Physiological, anatomical, and transcriptional responses of mulberry (*Morus alba* L.) to Cd stress in contaminated soil[J]. Environmental Pollution, 2021, 284: 117387.
- [26] ZENG P, GUO Z, XIAO X, PENG C, LIAO B, ZHOU H, GU J. Facilitation of *Morus alba* L. intercropped with *Sedum alfredii* H. and *Arundo donax* L. on soil contaminated with potentially toxic metals[J]. Chemosphere, 2022, 290: 133107.
- [27] 陈露, 张芳, 罗泽虎, 孙运鹏, 韩世玉, 吴康云, 王晓红. 不同桑树品种幼苗对镉的耐受性[J]. 贵州农业科学, 2021, 49(1): 10-16.
- CHEN L, ZHANG F, LUO Z H, SUN Y P, HAN S Y, WU K Y, WANG X H. Cadmium tolerance of seedlings of different mulberry varieties[J]. Guizhou Agricultural Sciences, 2021, 49(1): 10-16. (in Chinese)
- [28] 王晓红, 韩世玉, 孙运鹏, 张芳, 罗泽虎, 陈彪. 镉胁迫下桑树幼苗的转录组分析[J]. 中国农学通报, 2023, 39(13): 25-34.
- WANG X H, HAN S Y, SUN Y P, ZHANG F, LUO Z H, CHEN B. Transcriptome analysis of mulberry seedlings under cadmium stress[J]. China Agricultural Bulletin, 2023, 39(13): 25-34. (in Chinese)
- [29] 陈蓉萍, 唐璐琦, 范志强, 赵越, 彩智慧. Cd²⁺胁迫和 Pb²⁺胁迫对 4 种桑树品种种子萌发及幼苗生长的影响[J]. 云南师范大学学报(自然科学版), 2023, 43(5): 67-73.
- CHEN R P, TANG L Q, FAN Z Q, ZHAO Y, CAI Z H. Effects of Cd²⁺ and Pb²⁺ stress on seed germination and seedling growth of four mulberry varieties[J]. Journal of Yunnan Normal University (Natural Science Edition), 2023, 43(5): 67-73. (in Chinese)
- [30] 董中凯, 阿丽亚·拜都热拉, 宋敏, 蔡凯旭, 杨公新, 孙桂丽. 桑树对土壤重金属污染修复潜力研究[J]. 防护林科技, 2023(1): 58-64.
- DONG Z K, ALIA B D R L, SONG M, CAI K X, YANG G X, SUN G L. Study on the remediation potential of mulberry trees for soil heavy metal pollution[J]. Shelterbelt Technology, 2023(1): 58-64. (in Chinese)
- [31] 李祥. 攀枝花市盐边县农田土壤重金属分布特征及铅同位素示踪[D]. 成都: 成都理工大学, 2021.
- LI X. Distribution characteristics of heavy metals and lead isotope tracing in farmland soil of Yanbian county, Panzhihua city[D]. Chengdu: Chengdu University of Technology, 2021. (in Chinese)
- [32] COX M, KOVAR J. Soil arsenic effects on canola seedling growth and ion uptake[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2001, 32(1/2): 107-117.
- [33] MA J F, YAMAJI N, MITANI N, XU X Y, SU Y H, MCGRATH S P, ZHAO F J. Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2008, 105(29): 9931-9935.
- [34] STEFFENS J. The heavy metal-binding peptides of plants[J]. Annual Review of Plant Biology, 1990, 41(1): 553-575.
- [35] POYNTON C Y, HUANG J W, BLAYLOCK M J, KOCHIAN L V, ELLESS M P. Mechanisms of arsenic hyperaccumulation in *Pteris* species: root as influx and translocation[J]. Planta, 2004, 219: 1080-1088.
- [36] ABBAS G, MURTAZA B, BIBI I, SHAHID M, NIAZI N K, KHAN M I, AMJAD M, HUSSAIN M, NATASHA. Arsenic uptake, toxicity, detoxification, and speciation in plants: physiological, biochemical, and molecular aspects[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2018, 15(1): 59.
- [37] 郑鹏飞, 江涛, 米茂生, 戴济斌, 周鑫, 唐仕明. 不同生长期桑树对矿区土壤中重金属的富集行为[J]. 国土资源

- 导刊, 2023, 20(2): 119-126, 131.
- ZHENG P F, JIANG T, MI M S, DAI J B, ZHOU X, TANG S M. Enrichment behavior of heavy metals in soil of mining area by mulberry in different growth periods[J]. Land and Resources Guide, 2023, 20(2): 119-126, 131. (in Chinese)
- [38] DAI F, LUO G, LI Z, WEI X, WANG Z, LIN S, TANG C. Physiological and transcriptomic analyses of mulberry (*Morus atropurpurea*) response to cadmium stress[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 205: 111298.
- [39] PISHCHIK V, MIRSKAYA G, CHIZHEVSKAYA E, CHEBOTAR V, CHAKRABARTY D. Nickel stress-tolerance in plant-bacterial associations[J]. PeerJ, 2021, 9: e12230.
- [40] SALT D E, BLAYLOCK M, KUMAR N P, DUSHENKOV V, ENSLEY B D, CHET I, RASKIN I. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants[J]. Biotechnology, 1995, 13(5): 468-474.
- [41] ZENG P, HUANG F, GUO Z, XIAO X, PENG C. Physiological responses of *Morus alba* L. in heavy metal (loid)-contaminated soil and its associated improvement of the microbial diversity[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2020, 27: 4294-308.
- [42] AHMAD M, KIBRET M. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective[J]. Journal of King Saud University Science, 2014, 26(1): 1-20.
- [43] BRYAN C G, MARCHAL M, BATTAGLIA-BRUNET F, KUGLER V, LEMAITRE-GUILLIER C, LIÈVREMONT D, BERTIN P N, ARSÈNE-PLOETZE F. Carbon and arsenic metabolism in *Thiomonas* strains: differences revealed diverse adaptation processes[J]. BMC Microbiology, 2009, 9(1): 1-12.
- [44] ROJAS-SOLIS D, LARSEN J, LINDIG-CISNEROS R. Arsenic and mercury tolerant rhizobacteria that can improve phytoremediation of heavy metal contaminated soils[J]. PeerJ, 2023, 11: e14697.
- [45] EDULAMUDI P, ANTONY MASILAMANI A J, VANGA U R, DIVI VENKATA RAMANA S G, KONADA V M. Biosorption and symbiotic potential of horse gram rhizobia in soils contaminated with cobalt[J]. Current Microbiology, 2023, 80(5): 174.
- [46] LI Y, ZHANG M, XU R, LIN H, SUN X, XU F, GAO P, KONG T, XIAO E, YANG N. Arsenic and antimony co-contamination influences on soil microbial community composition and functions: relevance to arsenic resistance and carbon, nitrogen, and sulfur cycling[J]. Environment International, 2021, 153: 106522.
- [47] SULTANA M, VOGLER S, ZARGAR K, SCHMIDT A C, SALTIKOV C, SEIFERT J, SCHLÖMANN M. New clusters of arsenite oxidase and unusual bacterial groups in enrichments from arsenic-contaminated soil[J]. Archives of Microbiology, 2012, 194: 623-635.
- [48] DHAR K, VENKATESWARLU K, MEGHARAJ M. Anoxygenic phototrophic purple non-sulfur bacteria: tool for bioremediation of hazardous environmental pollutants[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2023, 39(10): 283.