

分类号_____

密级_____

U D C _____

编号_____

中国科学院地球化学研究所

博士后研究工作报告

水稻根部内生菌的群落结构及其对稻田土壤汞吸收和转运的影响

报告人： 王宝林

合作导师： 冯新斌 研究员

工作起止日期： 2021年9月-2023年8月

报告提交日期： 2023年8月

中国科学院地球化学研究所

2023年8月

水稻根部内生菌的群落结构及其对稻田土壤汞吸收和转运的影响
Community structure of rice (*Oryza sativa*) root endophytes and its
influence on the uptake and translocation of mercury from paddy soil

博士后姓名： 王宝林
合作导师： 冯新斌 研究员
流动站（一级学科）名称：环境科学与工程
专业（二级学科）名称： 环境科学

研究工作起始时间：2021年9月1日
研究工作期满时间：2023年8月7日

中国科学院地球化学研究所
环境地球化学国家重点实验室

原创性声明

本人声明所呈交的博士后研究报告是在合作导师的指导下独立完成的。报告中取得的研究成果除加以标注的地方外，不包含其他人已经发表的研究成果，也不包含本人为获得其他学位而使用过的成果。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中进行了说明并表示谢意。本声明的法律后果由本人承担。

本人签字：王宝村

2023年8月7日

中国科学院博士后研究工作报告著作权使用声明

本人完全了解中国科学院地球化学研究所有关保留和使用博士后研究工作报告的规定。中国科学院地球化学研究所有权保留并向国家主管部门或其指定机构送交该报告的纸质版和电子版，有权将该报告用于非盈利目的的少量复制并允许该报告进入本所图书部被查阅，有权将该报告的内容编入有关数据库进行检索，有权将博士后研究工作报告的标题和摘要汇编出版。保密的博士后研究工作报告在解密后适用本规定。

本研究报告适用于： 保密（ ） 非保密（）

纸质版在 五 年解密后适用于本授权书

电子版在 五 年解密后适用于本授权书

（请在以上相应括号内打“√”）

作者签名：王宝坤 日期：2023 年 8 月 7 日

导师签名： 日期：2023 年 8 月 7 日

摘 要

甲基汞是毒性最强的汞化合物,可以在自然条件下通过食物链的生物富集和生物放大作用,进入人体造成危害。水稻是迄今发现的唯一甲基汞超富集作物,土壤中产生的甲基汞经水稻根部吸收、茎转运和叶赋存,最后富集于稻米。微生物在汞的生物地球化学循环中具有非常重要的作用,几乎参与环境中所有汞转化过程(氧化、还原、甲基化、去甲基化、吸附固定等)。然而,水稻内生菌与汞互作影响水稻富集甲基汞方面的研究却鲜有报道。本研究选择我国典型汞矿区(贵州铜仁万山汞矿区)中具有不同程度汞污染的水稻田以及对照区(贵阳花溪)水稻田作为研究对象,通过传统地球化学、微生物学和分子生物学等多学科交叉的研究手段,针对这三个不同汞污染区域稻田生态系统中汞的生物地球化学循环过程进行系统研究。随着水稻的生长,汞污染区域种植的水稻根和叶中的THg均逐渐升高,而茎中的THg均无显著变化;而所有区域种植的水稻其根、茎和叶中的MeHg均逐渐降低,并在成熟期富集于稻米。这三个区域水稻根部内生细菌和内生真菌的群落结构和组成均存在一定的差异,尤其在水稻的四个生长阶段存在较显著的差异。通过随机森林分析发现有较多的水稻根部内生菌可能参与汞迁移和形态转化,主要包括无机汞还原、甲基汞去甲基化和无机汞固定化,甚至汞的甲基化。本研究有助于加深对稻田生态系统中汞的生物地球化学循环的认识,为有效防控稻米汞污染保障食安全提供理论依据和科学指导。

关键词: 微生物地球化学; 微生物作用; 汞; 稻米富集甲基汞; 水稻内生菌

ABSTRACT

Methylmercury (MeHg) is the most toxic Hg species, because of its tendency to bioaccumulate and biomagnify in aquatic and terrestrial food webs in combination with its high toxicity to humans. Rice plant (*Oryza sativa* L.) has so far been found to be the only crop that can bioaccumulate MeHg that is predominantly produced in rice paddy. Once MeHg is uptaken into rice plant through roots, it can then be transferred to stalk and leaves, and eventually bioaccumulate in white rice during ripening stage. microorganisms play important roles in mercury (Hg) geochemical cycles, including Hg oxidation, reduction, methylation and demethylation and adsorption. Linkage between rice endophytes and these Hg transformation processes remain unclear. The rice paddies, including a typical Hg mining site and an artisanal Hg mining site in Wanshan Hg mining area, as well as a control site in Huaxi, were selected for this study. Traditional geochemical methods, together with microbiology and molecular biology, were employed to systematically characterize Hg biogeochemical cycles in the three rice paddies. During the growth of rice plant, THg in rice roots and leaves within the Hg-contaminated areas showed to increase gradually, with no significant difference in THg of stalk. MeHg in rice roots, stalk and leaves appeared to decrease in all these three paddies as the rice plant grew, and was eventually transferred to white rice during ripening stage. There were significant differences in the microbial community composition of endophytes of rice roots between the three paddies and between the four growth stages of rice. Random Forest analyses have showed that there were many root endophytes that may potentially be involved in Hg translocation and transformation processes, such as Hg reduction, demethylation, adsorption, and even methylation. Our findings shed new light on Hg biogeochemical cycles within rice paddy ecosystems, which is critical for providing for devising effective management strategies of food safety and Hg remediation.

Keywords: microgeochemistry; microbial effect; mercury; methylmercury accumulation by rice; endophytes of rice

目录

摘 要	I
ABSTRACT	II
第一章 引言	1
1.1 研究背景及选题依据	1
1.2 研究现状分析	2
第二章 材料与amp;方法	4
2.1 研究内容	4
2.2 研究目标	4
2.3 关键科学问题	4
2.4 技术路线	5
2.5 研究区域选择和样品采集	5
2.6 分析方法	6
2.6.1 理化参数和汞含量分析测定	6
2.6.2 内生菌 DNA 提取和高通量测序	6
2.6.3 水稻根部内生菌的群落结构研究	7
第三章 稻田生态系统中汞的生物地球化学	8
3.1 稻田上覆水的理化特征	8
3.2 稻田土壤汞的分布特征	9
3.3 水稻植株组织中汞的分布特征	10
3.4 水稻对汞的富集和转运	13
第四章 水稻根部内生菌的群落结构及其对水稻根转运汞的影响	15
4.1 水稻根部内生细菌的群落结构及其对水稻根部吸收转运汞的影响	15
第五章 结论与展望	21
5.1 主要结论	21
5.2 问题与展望	22
致 谢	23
参考文献:	27

第一章 引言

1.1 研究背景及选题依据

汞 (Hg) 是一种毒性很强, 且唯一以气态存在并参与大气循环的全球性重金属污染物, 已被我国和联合国环境规划署、世界卫生组织、欧盟及美国环境保护署等多个国家 (机构) 列为优先控制污染物。汞的毒性与其化学形态密切相关, 其中甲基汞 (MeHg) 是毒性最强的汞化合物, 因为在自然条件下它能够通过食物链的生物富集和生物放大作用, 进入人体造成危害 (Diez, 2009; Mergler et al., 2007)。人类活动向大气排放的汞经长距离迁移沉降至水生生态系统, 造成偏远地区湖泊鱼体甲基汞超出世界卫生组织建议食用水产品。鉴于全球汞污染的严峻形势, 联合国环境规划署通过了一项具有法律约束力的国际汞公约《水俣公约》, 旨在控制和消减汞排放和含汞产品使用, 以减少汞对环境的污染和降低人体汞暴露健康风险, 该公约已于 2017 年 8 月正式生效。我国是《水俣公约》的缔约国, 面临履约和环境汞污染治理的双重压力。

在欧美食用被汞污染的鱼类等水产品被认为是人体甲基汞暴露的主要途径。即使在欧美偏远地区, 半数以上的湖泊鱼体汞含量超出世界卫生组织建议的食用水产品标准 (Bellanger et al., 2013)。与欧美不同的是, 我国内陆南方居民甲基汞暴露的主要途径是食用甲基汞污染的大米 (Feng et al., 2008; Zhang et al., 2010)。发现引起了国际社会的广泛关注, 因为水稻是世界上最重要的粮食作物之一, 全球近三分之二的人口以稻米为食。随着经济的发展, 我国已是世界上最大的汞生产、使用和排放国。大量研究发现, 我国贵州、陕西、湖南、重庆等省市主要汞矿区产出的稻米中均发现了较高的甲基汞含量 (Li et al., 2008; Li et al., 2011; Meng et al., 2014a; Meng et al., 2010; Qiu et al., 2012; Qiu et al., 2006)。在我国其他工业汞污染源区域 (如燃煤电厂、节能灯厂、城市工业园区以及电子垃圾回收区等) 水稻田中产出的稻米其甲基汞含量也均较高 (Cheng et al., 2013; Fu et al., 2008; Horvat et al., 2003; Liang et al., 2015), 甚至在汞污染较少的东北区域产出的稻米中也检测出一定量的甲基汞 (Liu et al., 2019)。由此可见, 稻米富集甲基汞是一个普遍现象, 稻米甲基汞暴露风险问题已不容忽视!

1.2 研究现状分析

自水稻富集甲基汞发现以来,国际上围绕稻田汞生物地球化学循环开展了大量研究工作,取得了一系列创新性研究成果。主要包括:(1)稻田土壤中甲基汞的含量取决于汞的甲基化和去甲基化过程的共同作用(Zhao et al., 2016),微生物在这两个过程中的作用至关重要(Liu et al., 2018; Parks et al., 2013; Vishnivetskaya et al., 2018; Wu et al., 2020);(2)水稻富集和转运无机汞和甲基汞的机制不同。稻米甲基汞主要来源于稻田土壤,土壤中产生的甲基汞经水稻根部吸收、茎转运和叶赋存,最后富集于稻米(Meng et al., 2010; Meng et al., 2011a);无机汞通过根、茎、叶吸收进入水稻植株内,其中茎和叶从大气吸收气态单质汞并转化成二价汞,固定于水稻植株的相应部位(Meng et al., 2012; Xu et al., 2016),而根可从土壤中吸收二价汞并保留其大部分,只有少量二价汞转运至稻米(Liu et al., 2021);(3)无机汞和甲基汞在稻米中的分布不同。无机汞主要储存在米壳和米糠中,而甲基汞主要存在于精米中(Meng et al., 2014b)。然而,这些研究大多围绕汞在稻田土壤中如何被甲基化、汞如何进入水稻植株、以及汞在植株内的最终存储部位等展开,对于汞进入水稻植株后如何迁移转化以及汞进入水稻植株的过程中微生物是否起作用等方面研究较少。

植物内生菌(包括内生细菌、内生真菌、内生放线菌和内生藻类)是一类生活在健康植物组织内部且不引起植物组织明显症状改变的微生物。植物内生菌非常普遍,数量庞大,种类多样,到目前为止,尚未发现无内生菌的植物。把从铜、镉和铅的超富集植物中分离到抗性内生菌定殖回植物(内生菌回接到宿主植物)后发现,接种内生菌不仅能促进植物生长,还能显著提高植物对重金属的富集能力(Li et al., 2012; Luo et al., 2011; Sun et al., 2010)。因为内生菌不仅可以通过分泌代谢产物来活化重金属,还可以通过促进植物生长、形成菌根共生体、介导氧化还原和生物吸附等过程来提高对重金属的吸收和富集能力(Strobel and Daisy, 2003; 罗继鹏 et al., 2018)。“内生菌-汞”方面的研究也有相关报道,从铁线草(*Cynodon dactylon*)、牛筋草(*Eleusine indica*)、含羞草(*Aeschynomene fluminensis*)和一种蓼科植物(*Polygonum acuminatum*)等植株中分离出大量内生细菌和真菌,这些内生菌不仅可以显著提高植物对汞的富集和抗汞性能,同时也促进了植物生长(de Siqueira et al., 2021; Durand et al., 2018; Mello et al., 2019; Mello et al., 2020;

Pietro-Souza et al., 2017; Ustiatik et al., 2021)。大量研究显示，水稻内生菌群落丰富多样，主要包括变形菌门 (*Proteobacteria*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*) 和放线菌门 (*Actinobacteria*) 等 (Ahmed, 2020; 胡桂萍, 2010; 沙月霞, 2018)，其内生菌群落结构功能随镉、砷、硒、镍等重金属污染程度的不同表现出巨大差异 (Idris et al., 2004; Luo et al., 2017; Schlaeppli et al., 2014)。水稻可以通过其根部吸收汞并转运至其地上部分，是迄今发现的唯一甲基汞超富集作物，然而“水稻内生菌-汞”互作影响水稻富集甲基汞方面的研究却鲜有报道。汞胁迫下水稻内生菌（尤其是根部内生菌）群落结构和生态功能有哪些？到底有那些关键内生菌能影响水稻对土壤中汞的吸收和转运？其作用机理是什么？水稻内生菌参与了哪些汞的形态转化？这些问题都还尚待解决。

基于以上研究背景和待解决的问题，本研究选择我国典型汞矿区（贵州铜仁万山汞矿区）中具有不同程度汞污染的水稻田以及对照区（贵阳花溪）水稻田作为研究对象，通过微生物学、分子生物学和地球化学等多学科交叉的研究手段，针对不同汞污染区域稻田生态系统中汞的生物地球化学循环过程进行系统研究，明确土壤和水稻植株中汞的形态分布特征，弄清水稻生长过程中不同汞胁迫对水稻根部细菌和真菌的群落结构、组成、多样性和功能的影响，构建微生物生态互作网络找出对水稻吸收和转运土壤汞的关键水稻根部内生菌，最终弄清其与水稻吸收和转运土壤汞的联系。上述过程的厘清对于深入认识稻田生态系统中汞的生物地球化学循环具有重要意义。

第二章 材料与方法

2.1 研究内容

稻田土壤中的汞主要是通过水稻根部进行吸收，经茎转运和叶赋存，最后富集于稻米。针对汞胁迫对水稻根部内生菌的群落结构和生态功能的影响、水稻根部内生菌对土壤汞的迁移转化及对稻米富集甲基汞的影响等关键科学问题，本项目采用微生物学、分子生物学和地球化学等多学科交叉的研究手段，围绕水稻“根部内生菌-汞”相互作用，主要开展了以下两个方面的研究：

(1) 稻田土壤和植株内汞的分布特征

测定不同汞污染类型的稻田生态系统中土壤的温度、上覆水的 pH、DO 和电导率等相关理化参数，并测定稻田土壤和水稻各组织（根、茎、叶、种子）汞的含量和形态等理化参数，探究稻田土壤和植株内汞的分布特征，明确水稻对汞的富集和转运特征。

(2) 水稻根部内生菌的群落结构和组成及其对土壤汞的吸收和转运的影响

以种植在不同程度和不同来源汞污染区域的水稻为研究对象，提取水稻根部内生菌的总 DNA，通过宏基因组学的分析方法，弄清水稻生长过程中其根部细菌和真菌的群落结构、组成、多样性和功能的变化，识别能影响水稻吸收和转运汞的关键水稻根部内生菌，探究其与水稻吸收和转运土壤汞的联系。

2.2 研究目标

通过对种植在不同汞污染类型稻田的水稻根部内生菌进行系统研究，结合土壤理化特征和汞的形态分布等，弄清水稻生长过程中其根部细菌和真菌的群落结构、组成、多样性和功能的变化，构建微生物生态互作网络，找出对水稻吸收和转运土壤汞的关键水稻根部内生菌，最终弄清其与水稻吸收和转运土壤汞的联系。

2.3 关键科学问题

(1) 不同汞胁迫下水稻根部内生菌的群落结构和生态功能及其在水稻生长过程中的变化特征；

(2) 水稻根部内生菌对水稻吸收和转运土壤汞的影响。

2.4 技术路线

本项目的总体技术路线见图 2.1。

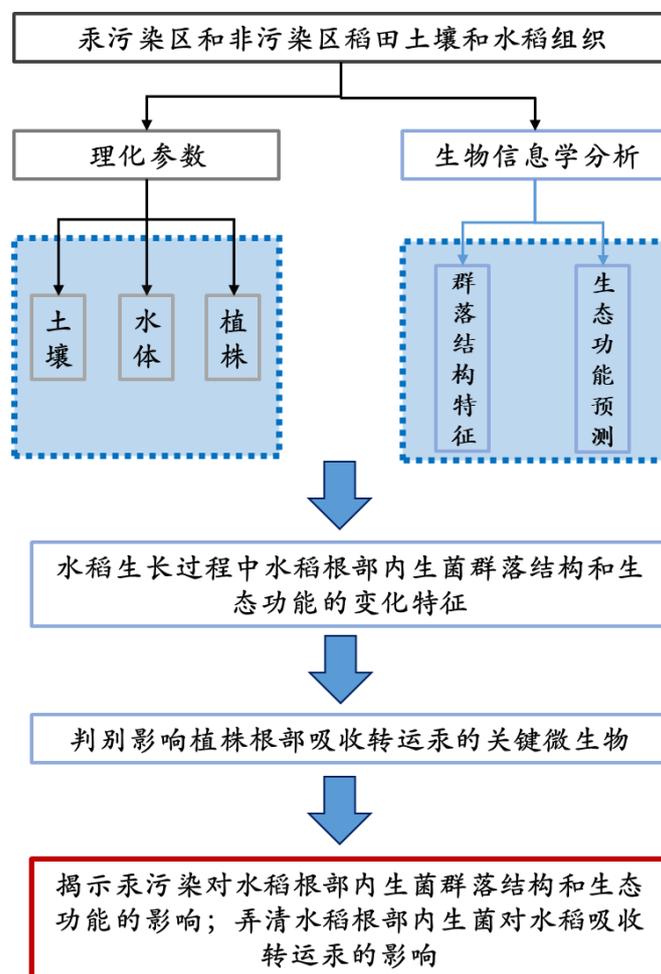


图 2.1 总体技术路线图

2.5 研究区域选择和样品采集

根据我们的前期调查以及课题组其他人员在我国贵州万山典型的汞矿区已取得的大量研究数据，本项目选择了不同汞污染程度、不同汞污染来源的稻田为研究对象，包括土法炼汞区（垢溪）、废弃汞矿区（四坑）和背景区（花溪）。其中，土法炼汞区的污染特征是：汞污染来源主要是大气沉降，稻田汞浓度约 10 mg/kg，稻米甲基汞污染严重；废弃汞矿区的污染特征是：汞污染来源复杂，包括冶炼废渣、大气沉降、灌溉水等，稻田汞浓度>100 mg/kg，稻米甲基汞含量较高；背景区汞污染来源主要是长途的大气沉降，稻田总汞和甲基汞浓度均较低。

根据水稻生长的四个周期（幼苗期、分蘖期、抽穗期和成熟期），在这三个不同汞污染类型区域的水稻田中分别采集稻田土壤、水体和水稻植株（每块田 5 个重复样品）。其中，采集的土壤和水体样品分别用双层密封袋和 500 mL 聚四氟乙烯（PTFE）采集瓶密封保存，新鲜水稻植株样品在采样地简单冲洗根部泥土后用采样袋保存。之后，所有样品均置于密封冷却箱中暂存，24 小时内带回实验室 4°C 冰箱避光保存，用于土壤、水体和植株理化参数和汞含量的测定。运回实验室的水稻植株用蒸馏水冲洗，以去除附着的土壤颗粒和其他污染物，之后将冲洗干净的水稻根、茎和叶（成熟期有种子样品）从植株上分离下来并分别对生物量称重。其中，一部分样品自然风干后用于植株理化参数和汞含量的测定；另一部分样品则用于水稻内生菌 DNA 的提取。这部分样品在去除萎凋、病变或其他异常的部分后，通过先后在 75%乙醇中浸泡 2 分钟，用无菌蒸馏水冲洗 3-5 次洗，再用 5%次氯酸钠处理 2 分钟，最后用无菌蒸馏水冲洗 5 次来进行表面消毒。经过表面消毒处理的植物组织块置于无菌滤纸上晾干，通过在含有马铃薯葡萄糖琼脂（PDA）的培养皿中制作消毒过的植物片的印记来检验表面消毒的有效性（若无真菌生长则表明水稻组织块表面消毒有效）。将消毒晾干后的植物组织块装入无菌冷冻管中，于 -80°C 冰箱中冷冻保存，用于后续 DNA 的提取和测序分析。每一项分析均进行三次生物学重复。

2.6 分析方法

2.6.1 理化参数和汞含量分析测定

土壤和上覆水的酸碱度 pH、氧化还原电位和温度等采用便携式 pH/Eh 计和温度计现场测定；采用美国环保局汞浓度测定的标准方法（USEPA 1631 和 USEPA 1630），测定土壤和水稻组织样品中的总汞和甲基汞。分析过程中通过校正曲线、空白、平行样和标准物质等进行样品分析的质量监测和控制，以确保分析数据的可靠性。其中，以 GBW07405（GSS-4, $590 \pm 50 \mu\text{g}/\text{kg}$ ）作为土壤汞标准参考物质，以 GBW10020（GSB-11, $150 \pm 25 \mu\text{g}/\text{kg}$ ）作为植物汞标准参考物质。

2.6.2 内生菌 DNA 提取和高通量测序

采用 DNA 提取试剂盒直接提取于 -80°C 冰箱中冷冻保存的植物组织样品中的总 DNA，并采用液氮和 bead-beating 结合的方法进行破壁来提高提取效率，提

取好的 DNA 于-80℃冰箱中冷冻保存，一部分经纯化后送测序公司进行测序，一部分用于后续的相关检测分析。

2.6.3 水稻根部内生菌的群落结构研究

通过各种分析软件（如 QIIME 2）和网络云分析平台对测序所得序列进行相关生物信息学分析，包括原始数据的质量控制（如通过软件 Trimmomatic）、序列组装及基因预测、物种及功能注释、物种组成分析、物种及功能差异分析、样本比较分析以及环境因子关联等分析，构建水稻根部内生菌的互作网络，探讨水稻根部内生菌与水稻吸收和转运土壤汞的关联。

第三章 稻田生态系统中汞的生物地球化学

3.1 稻田上覆水的理化特征

随着水稻生长（幼苗—分蘖—抽穗），对照区（花溪）、土法炼汞区（垢溪）和废弃汞矿区（四坑）稻田上覆水的 pH、DO 和温度均逐渐下降，而电导率则大体上逐渐上升（图 3.1）。这个可能是水稻在生长过程中向水体释放更多的根系分泌物（如有机酸），致使 pH 下降，有利于土壤中金属元素的释放，导致电导率上升，最终影响许多营养物质和有毒元素（如 Hg）的生物有效性 (Hinsinger et al., 2003)。而更多根系分泌物的释放能促进稻田水体和土壤中厌氧微生物的生长，增加氧气的消耗，导致上覆水中 DO 的下降，利于微生物对汞的甲基化 (Mei et al., 2009)。

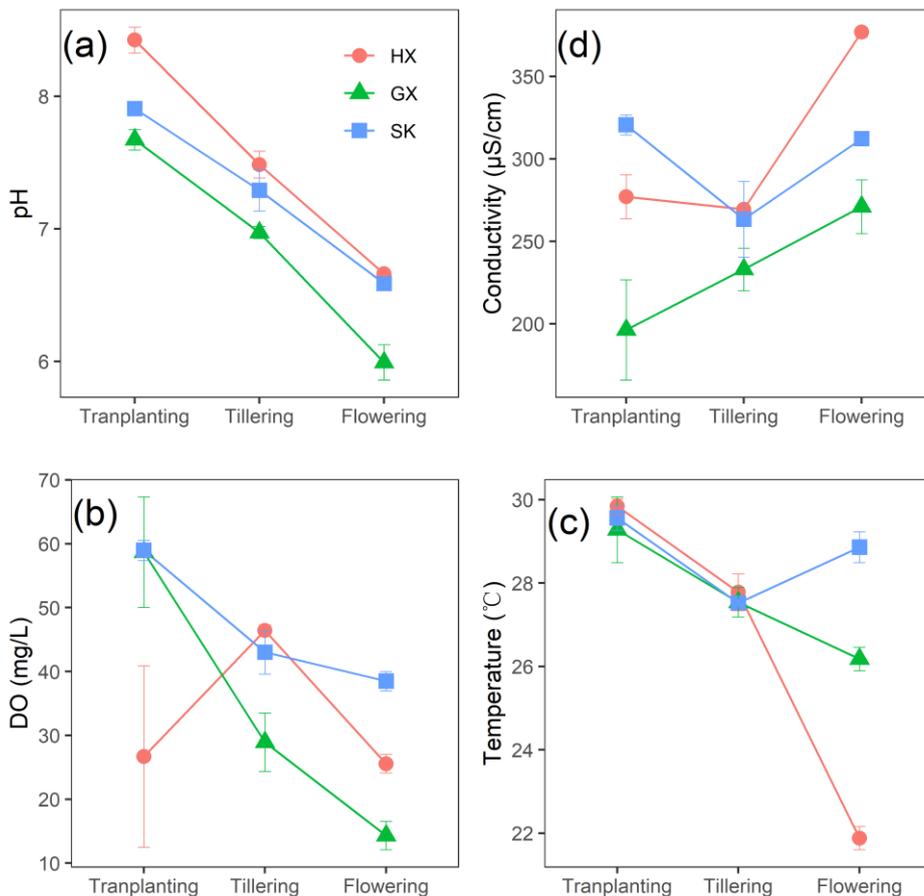


图 3.1 水稻三个生长阶段（幼苗、分蘖和抽穗期）中对照区（花溪，HX）、土法炼汞区（垢溪，GX）和废弃汞矿区（四坑，SK）稻田上覆水的理化特征

3.2 稻田土壤汞的分布特征

在水稻的生长周期（幼苗、分蘖、抽穗和成熟期）中，对照区（花溪）、土法炼汞区（垢溪）和废弃汞矿区（四坑）稻田表层土总汞（THg）与各自的根际土 THg 无显著差异，其 THg 平均值（范围）分别为 $0.20 \pm 0.05 \mu\text{g/g}$ （ $0.13 \sim 0.35 \mu\text{g/g}$ ）、 $10.77 \pm 1.89 \mu\text{g/g}$ （ $6.37 \sim 15.84 \mu\text{g/g}$ ）和 $563 \pm 56 \mu\text{g/g}$ （ $406 \sim 685 \mu\text{g/g}$ ），呈现明显的 THg 梯度（花溪<垢溪<四坑）（图 3.2）。其中，垢溪和四坑稻田土壤 THg 远高于我国土壤环境质量-农用地土壤污染风险管控标准（GB15618-2018）中水田土壤风险筛选值（ $0.6 \mu\text{g/g}$ ）。

稻田土壤中产生的甲基汞（MeHg）是稻米甲基汞的主要来源。随着水稻的生长，所有稻田土壤 MeHg 变化不大，只有花溪和垢溪稻田土壤 MeHg 略微增加，而四坑稻田土壤中的 MeHg 则无显著变化（图 3.2）。除了分蘖期花溪和垢溪稻田表层土的 MeHg 显著高于根际土中的 MeHg，花溪、垢溪和四坑稻田表层土和根际土中的 MeHg 均无显著差异（图 3.2）。总体而言，四坑稻田土壤中的 MeHg（平均值： $4.96 \pm 1.59 \text{ ng/g}$ ，范围： $2.37 \sim 12.97 \text{ ng/g}$ ）显著高于花溪（ $1.88 \pm 0.62 \text{ ng/g}$ ， $0.724 \sim 4.260 \text{ ng/g}$ ）和垢溪（ $1.76 \pm 0.76 \text{ ng/g}$ ， $0.685 \sim 3.806 \text{ ng/g}$ ）稻田土壤 MeHg，而花溪和垢溪稻田土壤中的 MeHg 之间无显著差异。MeHg 是无机汞的甲基化和甲基汞的去甲基化共同作用的结果，这些稻田中 DO、pH、氧化还原电位、温度和有机质含量等诸多因素都能影响无机汞的甲基化（Ullrich et al., 2001），而汞污染区域产甲烷菌主导的甲基汞的去甲基化作用也可能是这些稻田土壤 MeHg 差异化的原因之一（Wu et al., 2020）。

与稻田土壤 MeHg 相似，只有花溪和垢溪稻田土壤甲基汞占总汞的比例（%MeHg）随水稻的生长略微增加，四坑稻田土壤 %MeHg 则无显著变化（图 3.2）。花溪、垢溪和四坑稻田土壤 %MeHg（范围）分别为： $0.99 \pm 0.47\%$ （ $0.34 \sim 2.76\%$ ）、 $0.016 \pm 0.007\%$ （ $0.006 \sim 0.036\%$ ）和 $0.0009 \pm 0.0003\%$ （ $0.0004 \sim 0.0028\%$ ）。由此可见，稻田土壤总汞和甲基汞含量间没有明显的相关关系，而是土壤中的生物可利用性汞能影响甲基汞的形成（Jonsson et al., 2014; Zhu et al., 2018）。

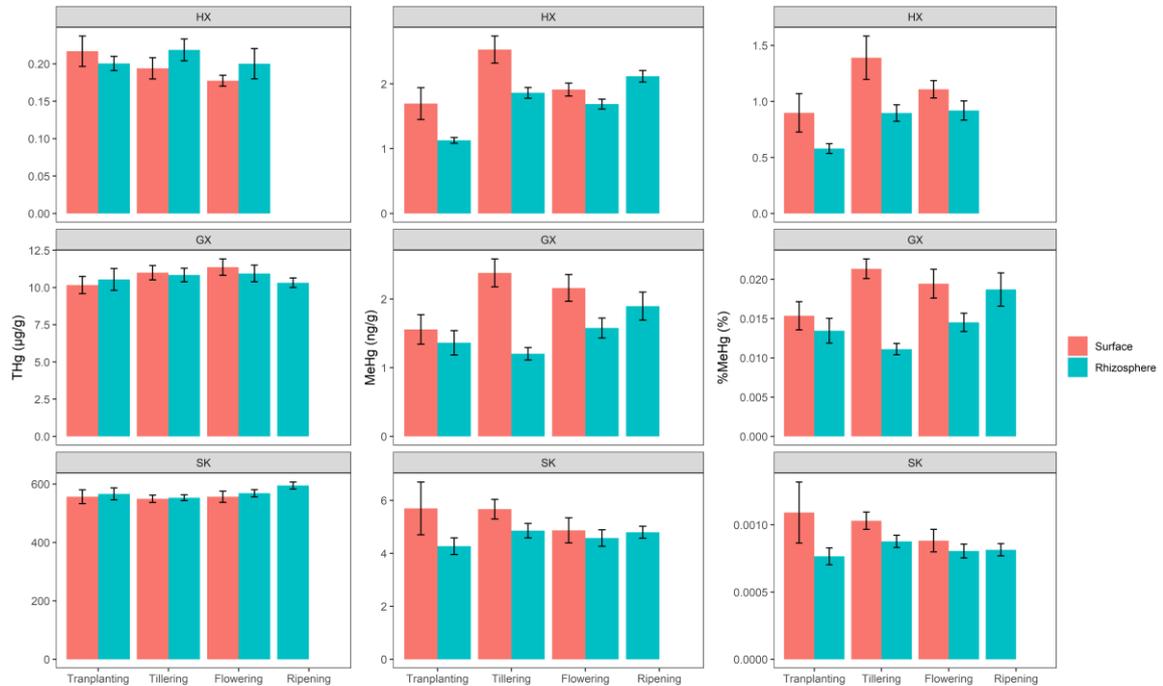


图 3.2 水稻生长过程（幼苗、分蘖、抽穗期和成熟期）中对照区（花溪，HX）、土法炼汞区（垢溪，GX）和废弃汞矿区（四坑，SK）稻田土壤汞的分布特征

3.3 水稻植株组织中汞的分布特征

汞污染区域（垢溪和四坑）的水稻其根、茎和叶中的 THg 均显著高于对照区花溪种植水稻的对应组织中的 THg，其中四坑种植的水稻其 THg 均最高，水稻各组织中 THg 含量的总体趋势为：根>叶>茎（图 3.3），这些结果与前人的研究相似 (Meng et al., 2010; Meng et al., 2011b)。在水稻生长过程中，对照区花溪种植的水稻的根、茎和叶在水稻幼苗期具有最高的 THg，并在之后的生长过程中逐渐下降并趋于稳定（图 3.3）；这可能是对照区花溪稻田土和大气中的汞浓度均处于背景浓度范围，水稻可吸收的汞有限，再加上随着水稻生长其各组织生物

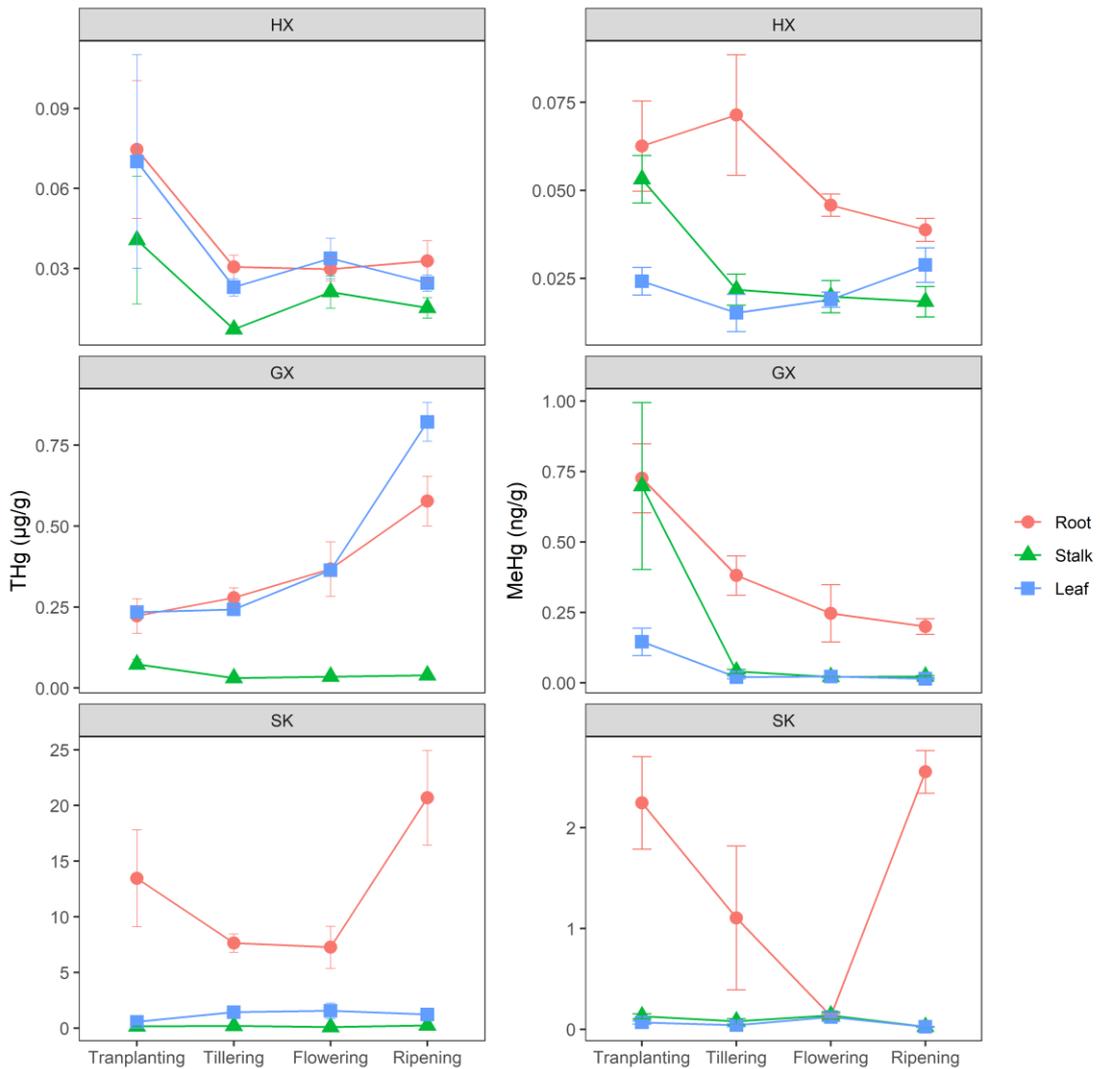


图 3.3 不同汞污染区域水稻根、茎和叶中 THg 和 MeHg 的分布特征

量增加的生物稀释作用所致。土法炼汞区垢溪种植的水稻的根和叶中 THg 均随着水稻生长的逐渐升高，而茎中的 THg 则变化较小；废弃汞矿区四坑种植的水稻其根中的 THg 随着水稻生长逐渐下降，却在水稻成熟期又大幅升高，而其叶和茎中的 THg 在整个水稻生长过程中则变化较小（图 3.3）。水稻各组织中 MeHg 含量的总体趋势为：根>茎≥叶。其中，汞污染区域四坑和垢溪水稻茎和叶中的 MeHg 均显著高于花溪水稻对应组织中的 MeHg，而四坑水稻根部 MeHg 又显著高于垢溪和花溪水稻根部 MeHg。除了垢溪水稻根部 MeHg 随水稻生长逐渐升高和叶中的 MeHg 则逐渐降低，不同汞污染区域水稻各组织中 MeHg 随水稻生长的变化趋势均与其对应组织中 THg 的变化趋势相似（图 3.3）。

汞矿区土壤汞污染严重 (Horvat et al., 2003; Qiu et al., 2006)，稻田土壤中产

生的 MeHg 是稻米甲基汞的主要来源 (Meng et al., 2011b), 这些都是导致垢溪和四坑水稻根部 THg 和 MeHg 显著升高的主要原因。水稻根表铁膜组织具有潜在的“屏障”作用, 能有效阻止无机汞进入水稻根部, 从而使得大量的无机汞聚集在水稻根部, 只有部分能进入地上植株组织 (如茎) (Tiffreau et al., 1995), 这可能是垢溪和四坑水稻茎中的 THg 则变化较小的原因。土法炼汞区垢溪大气 GEM 含量显著高于废弃汞矿区四坑和对照区花溪 (Feng and Qiu, 2008), 而水稻能通过叶吸收大气中的汞, 从而导致垢溪水稻叶 THg 随水稻的生长逐渐升高(图 3.3)。

水稻籽粒各组织 THg 的分布为: 麸皮>外壳>精米; MeHg 的分布为: 精米>麸皮>外壳。汞污染区域垢溪和四坑的水稻籽粒各组织 (外壳、麸皮和精米) 中 THg 和 MeHg 均显著高于对照区花溪水稻籽粒的对应组织中的 THg 和 MeHg(图 3.4)。

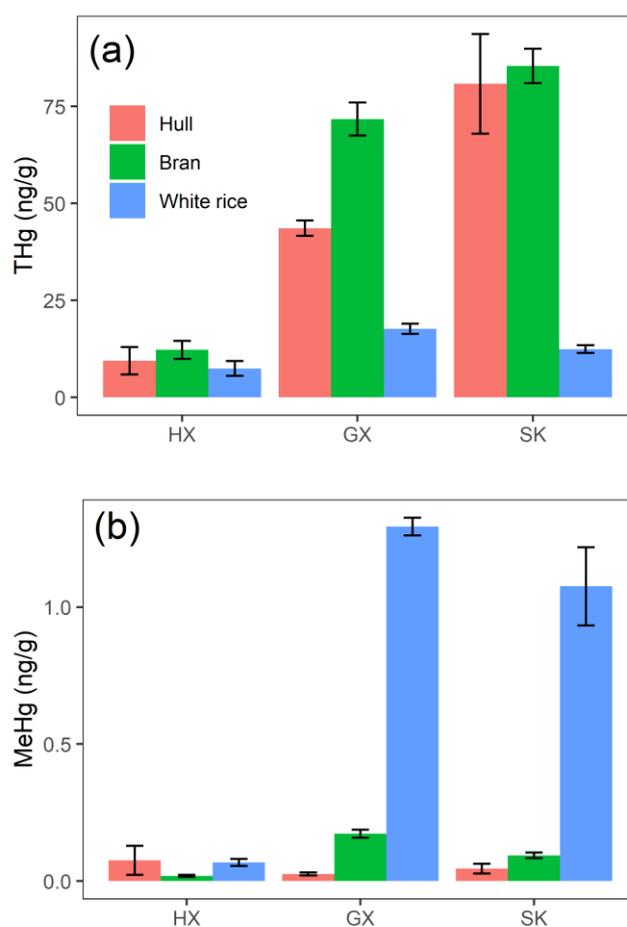


图 3.4 不同汞污染区域水稻籽粒各组织 (外壳、麸皮和精米) 中 THg 和 MeHg 的分布特征

3.4 水稻对汞的富集和转运

图 3.5 展示了水稻生长过程中水稻各组织对 THg 和 MeHg 的生物富集系数 (Bioamplification Factor, BAF), 可用于评价植物体内汞积累的标准。对 THg 而言, 水稻各组织的 BAF_{THg} 均小于 1, 且汞污染区域 (垢溪和四坑) 水稻各组织的 BAF 均小于对照区花溪水稻相应的组织, 说明汞污染区域稻田土壤中汞的生物可利用性相对较低。此外, 所有水稻根部对 THg 的 BAF 均高于其他水稻组织, 说明根部对 THg 的吸收最强。随着水稻的生长, 花溪和四坑水稻根部对 THg 的 BAF 均逐渐减小, 而垢溪水稻的根和叶对 THg 的 BAF 均逐渐增大, 这可能是由于垢溪区域具有较高浓度的大气汞, 水稻叶片可以从大气总吸收汞, 而新沉降的汞也更容易被水稻根部吸收。对 MeHg 而言, 水稻各组织的 BAF_{MeHg} 均小于 1, 汞污染区域 (垢溪和四坑) 水稻各组织的 BAF_{MeHg} 均大于对照区花溪水稻相应的组织, 尤其是根和精米, 说明土壤中产生的 MeHg 经水稻根部吸收、茎转运和叶赋存, 最后富集于稻米 (Meng et al., 2010; Meng et al., 2011b)。此外, 垢溪和四坑水稻各组织的 BAF_{MeHg} 均大于其对应组织的 BAF_{THg} , 这也说明 MeHg 比 THg 跟容易被水稻吸收。

图 3.6 展示了水稻生长过程中 THg 和 MeHg 经水稻根部吸转运至其它组织的转运系数 (Transfer Factor, TF)。花溪水稻大部分组织的 TF_{THg} 均接近 1; 垢溪水稻除了其叶的 TF_{THg} 均大于 1 外, 其余组织的 TF_{THg} 均小于 1; 而四坑水稻各组织的 TF_{THg} 均小于 1, 但叶的 TF_{THg} 显著高于其他组织的 TF_{THg} 。这些结果说明经根吸收的 THg 主要转运并赋存至叶。水稻各组织的 TF_{MeHg} 差异较大, 其中根、穗和精米 (尤其是精米) 具有较大的 TF_{MeHg} , 这也再次说明了稻米对甲基汞的富集作用。

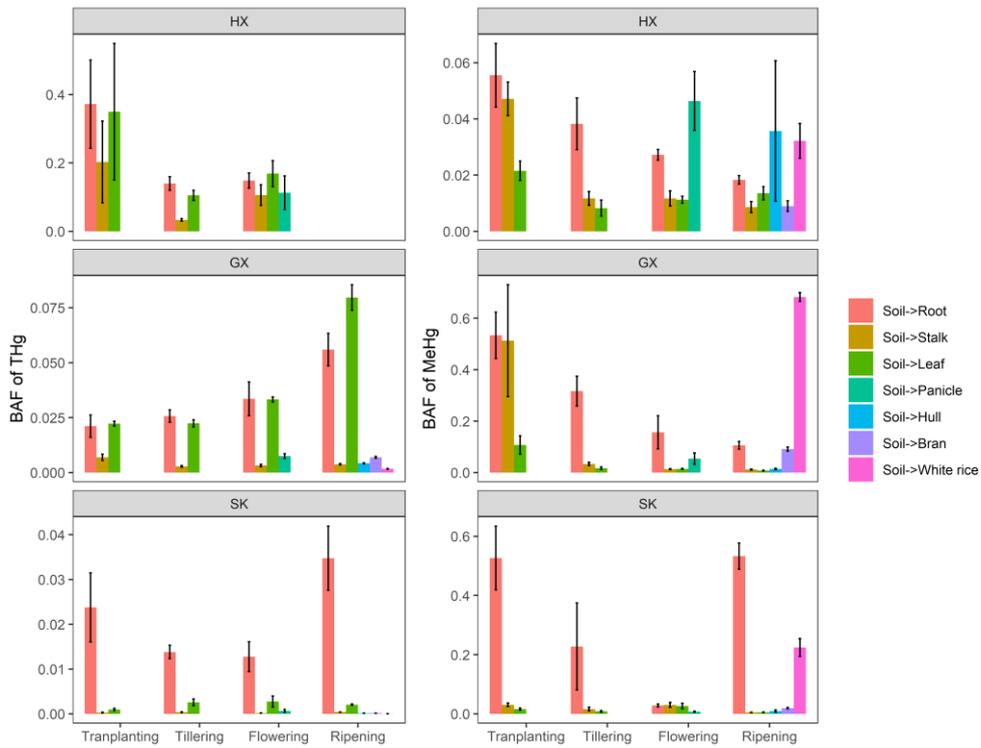


图 3.5 不同汞污染区域水稻组织在水稻生长过程中对 THg 和 MeHg 的生物富集系数

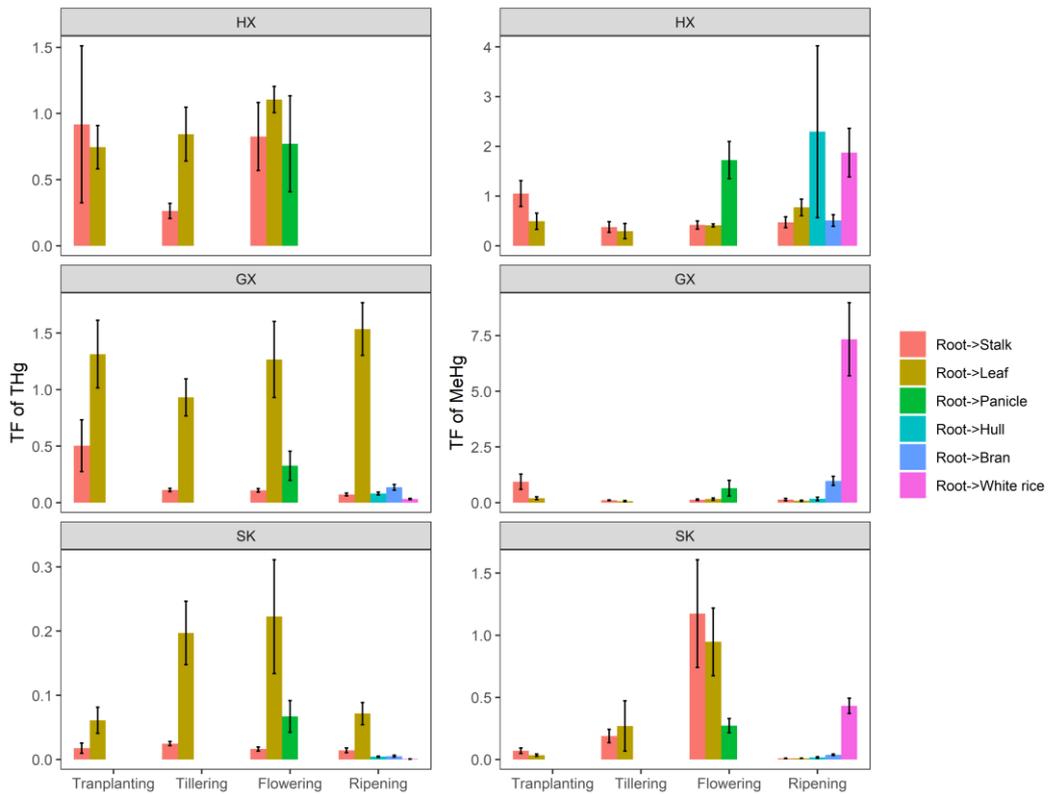


图 3.6 不同汞污染区域水稻组织在水稻生长过程中对 THg 和 MeHg 的转运系数

第四章 水稻根部内生菌的群落结构及其对水稻根转运汞的影响

4.1 水稻根部内生细菌的群落结构及其对水稻根部吸收转运汞的影响

不同汞污染区域(花溪、垢溪和四坑)水稻根部内生细菌的 α 多样性(Shannon 指数)没有显著差异,且在水稻生长过程中也无显著变化(图 4.1)。水稻内生菌群落丰富多样,主要包括变形菌门(*Proteobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、放线菌门(*Actinobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和螺旋体门(*Spirochaetes*)等(图 4.2),这与前人的研究相似(Ahmed, 2020; 胡桂萍, 2010; 沙月霞, 2018)。

这三个区域水稻根部内生细菌的群落结构和组成均存在一定的差异,尤其在水稻的四个生长阶段存在显著差异(图 4.3 和图 4.4)。这可能是水稻为了更好地适应环境变化和吸收土壤养分,在不同的生长环境(如不同程度的汞胁迫)和生长阶段会招募具有不同生理功能的微生物来维持其更好的生长,从而导致其根部内生细菌的群落结构和组成发生了这些显著变化(Durand et al., 2018; Pietro-Souza et al., 2017; Ustiatik et al., 2021)。比如,对照区花溪的水稻根部有较多的根瘤菌科(*Rhizobiaceae*)、假单胞菌科(*Pseudomonadaceae*)和草酸杆菌科(*Oxalobacteraceae*),而汞污染区垢溪和四坑的水稻根部则有较多的产碱菌科(*Alcaligenaceae*)、硝化杆菌科(*Nitrobacteraceae*)和芽胞杆菌科(*Bacillaceae*)和皮生球菌科(*Dermacoccaceae*)(图 4.4a);在幼苗期水稻的根部有较多的气单胞菌科(*Aeromonadaceae*)和丛毛单胞菌科(*Comamonadaceae*),而在分蘖期、抽穗期和成熟期其根部有较多伯克氏菌科(*Burkholderiaceae*)、甲基孢囊菌科(*Methylocystaceae*)、硝化杆菌科(*Nitrobacteraceae*)、黄色杆菌科(*Xanthobacteraceae*)、生丝微菌科(*Hyphomicrobiaceae*)和分支杆菌科(*Mycobacteriaceae*)(图 4.4b)。其中,芽胞杆菌科、气单胞菌科、伯克氏菌科和甲基孢囊菌科的很多微生物都携带有表达汞离子还原酶(MerA)有机汞裂解酶(MerB)的基因(Barkay and Gu, 2022; Barkay et al., 2003)。产碱菌科则可能在水稻根部产生较多的碱类,从而可能固定进入根部的无机汞。

通过随机森林分析发现,某些衣原体目(*Chlamydiales*)、原囊粘菌科(*Archangiaceae*)、军团菌科(*Legionellaceae*)、硝化杆菌科(*Nitrobacteraceae*)、放线菌科(*Gaiellaceae*)、红蠕菌科(*Coriobacteriaceae*)、芽胞杆菌科(*Bacillaceae*)、

除硫单胞菌目 (*Desulfuromonadales*)、*Syntrophorhabdaceae* 和互营杆菌科 (*Syntrophobacteraceae*) 等分类单元中的微生物可能与水稻根部从土壤中吸收 THg 和 MeHg 相关 (图 4.5)。其中, 除硫单胞菌目、互营杆菌科和 *Syntrophorhabdaceae* 科中的某些微生物被证明能把无机汞转化成甲基汞, 暗示水稻根部可能存在汞的甲基化作用 (Christensen et al., 2016; Gionfriddo et al., 2020)。

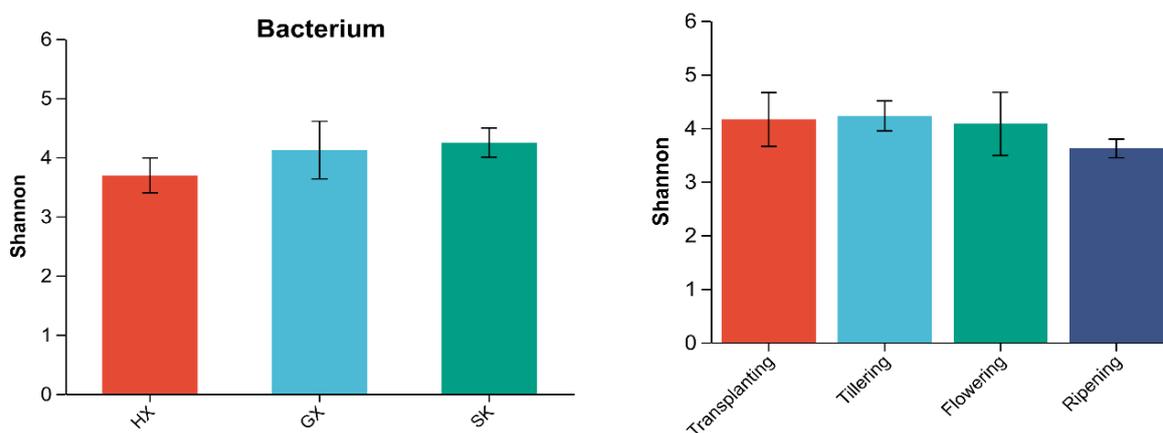


图 4.1 不同汞污染区域 (花溪、垢溪和四坑) 水稻根部内生细菌的 α 多样性

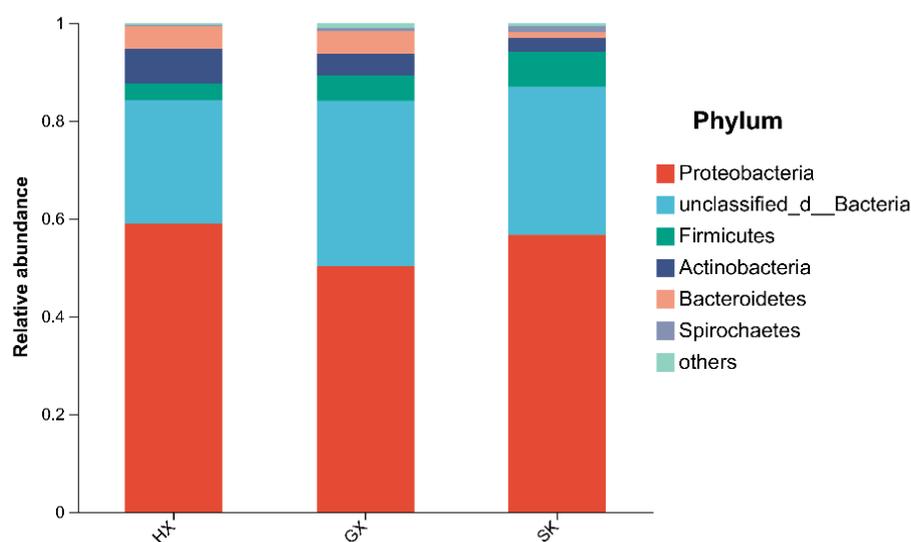


图 4.2 不同汞污染区域 (花溪、垢溪和四坑) 水稻根部内生细菌的群落组成

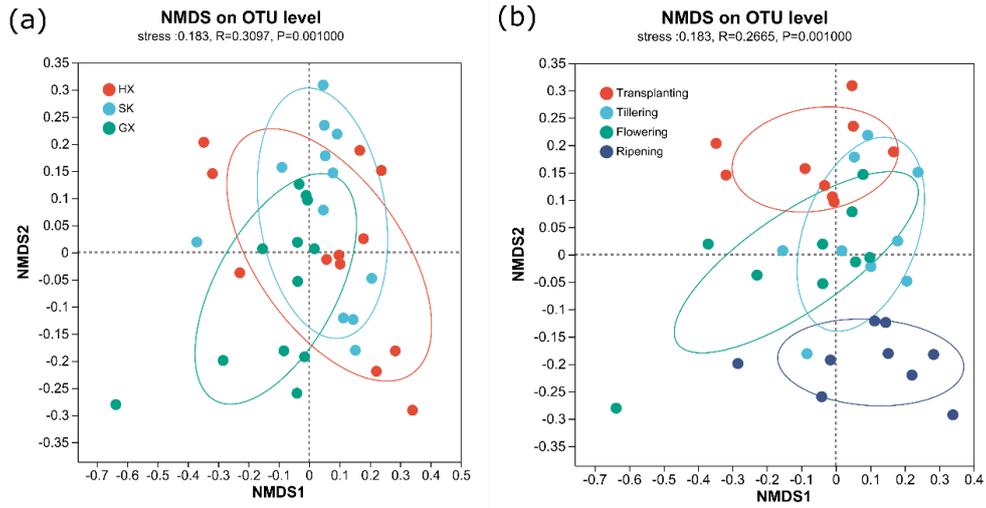


图 4.3 不同汞污染区域（花溪、垢溪和四坑）水稻根部内生细菌的群落结构

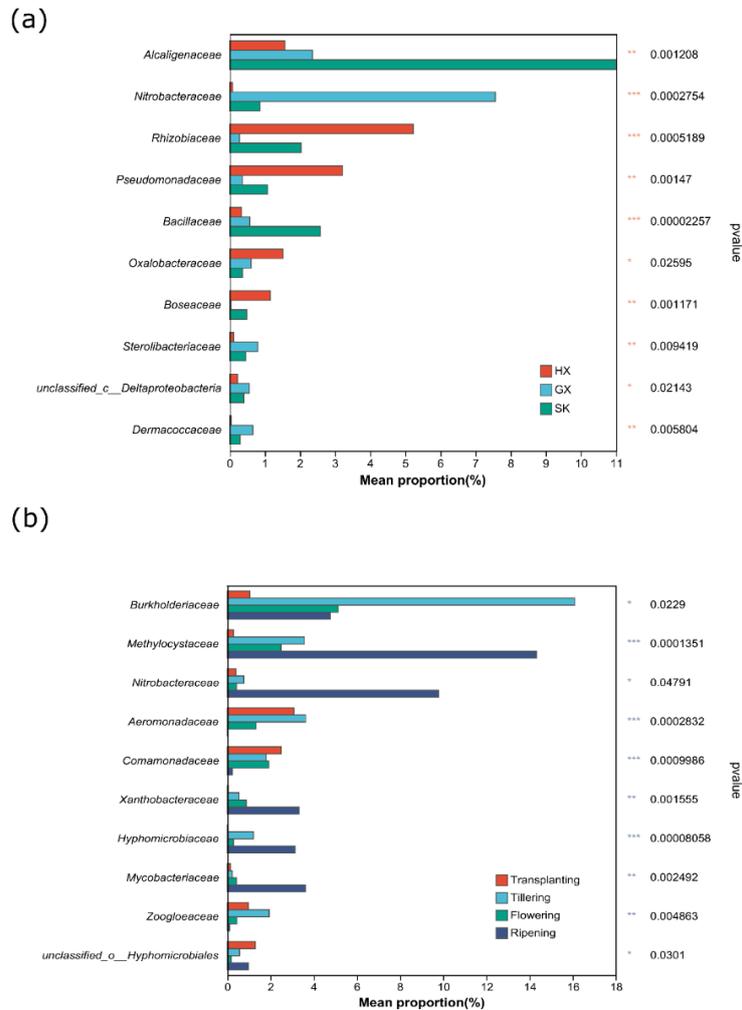


图 4.4 不同汞污染区域（花溪、垢溪和四坑）水稻根部内生细菌的群落组成差异

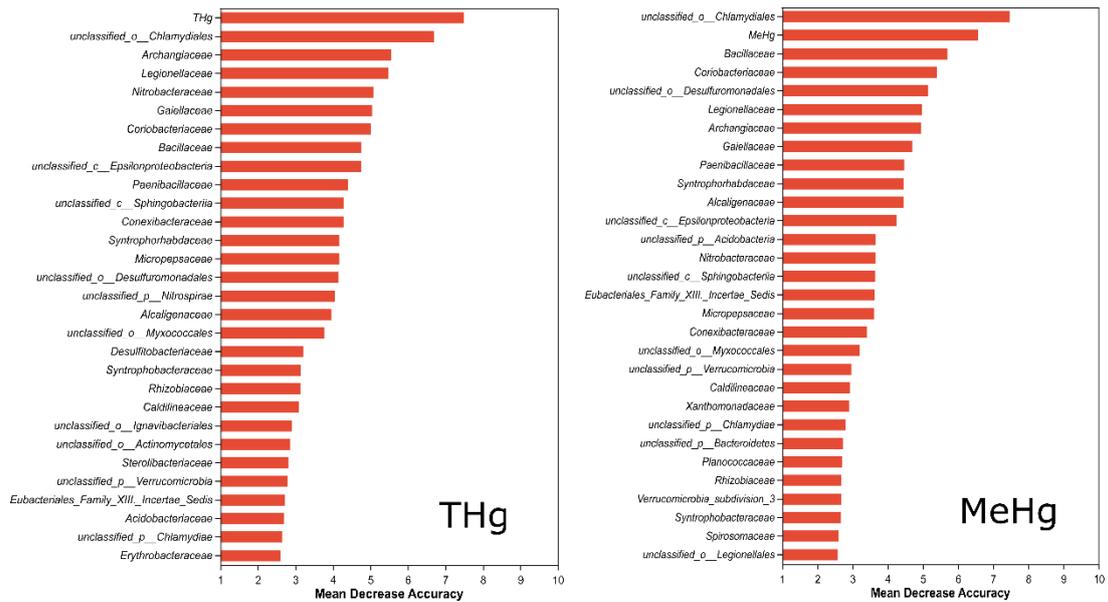


图 4.5 与水稻根吸收土壤 THg 和 MeHg 相关的水稻根部内生细菌

4.2 水稻根部内生真菌的群落结构及其对水稻根部吸收转运汞的影响

对照区花溪和废弃汞矿区四坑水稻根部内生真菌的 α 多样性 (Shannon 指数) 没有显著差异, 但却均高于土法炼汞区垢溪水稻根部内生真菌的 α 多样性。在水稻生长过程中这三个区域中的水稻根部内生真菌的 α 多样性无显著变化 (图 4.6)。这三个区域中的水稻内生真菌主要包括子囊菌门 (*Ascomycota*) 和担子菌门 (*Basidiomycota*)。花溪和四坑水稻根部内生真菌的群落结构无显著差异, 但均与垢溪水稻根部内生真菌的群落结构存在显著差异。在水稻的生长过程中, 幼苗期和分蘖期水稻根部内生真菌的群落结构无显著差异, 但均与成熟期水稻根部内生真菌的群落结构存在显著差异, 而灌浆期水稻根部内生真菌的群落结构与其它时期的水稻根部内生真菌群落结构无显著差异 (图 4.7)。

对照区花溪的水稻根部有较多的复膜孢酵母科 (*Saccharomycopsidaceae*)、毛球壳科 (*Lasiosphaeriaceae*) 和丝孢酵母科 (*Trichosporonaceae*) 等真菌, 而四坑水稻根部则有较多的粪壳目 (*Sordariales*) 真菌; 在幼苗期水稻的根部有较多的子囊菌纲 (*Sorbariomycetes*)、亚隔孢壳科 (*Didymellaceae*)、亚胶孢黑团壳科 (*Massarinaceae*)、线黑粉菌科 (*Filobasidiaceae*) 和 *Cucurbitariaceae*, 而在成熟期其根部有较多毛球壳科 (*Lasiosphaeriaceae*)、小丛壳目 (*Glomerellale*)、子囊菌纲 (*Sorbariomycetes*) 和 *Trichosphaeriaceae* (图 4.8)。通过随机森林分析发现,

粪壳目、假散囊菌科 (*Pseudeurotiaceae*)、嗜热子囊菌科 (*Thermoascaceae*)、复膜孢酵母科和巨座壳菌科 (*Magnaporthaceae*) 等分类单元中的真菌可能与水稻根部从土壤中吸收 THg 和 MeHg 相关 (图 4.9)。

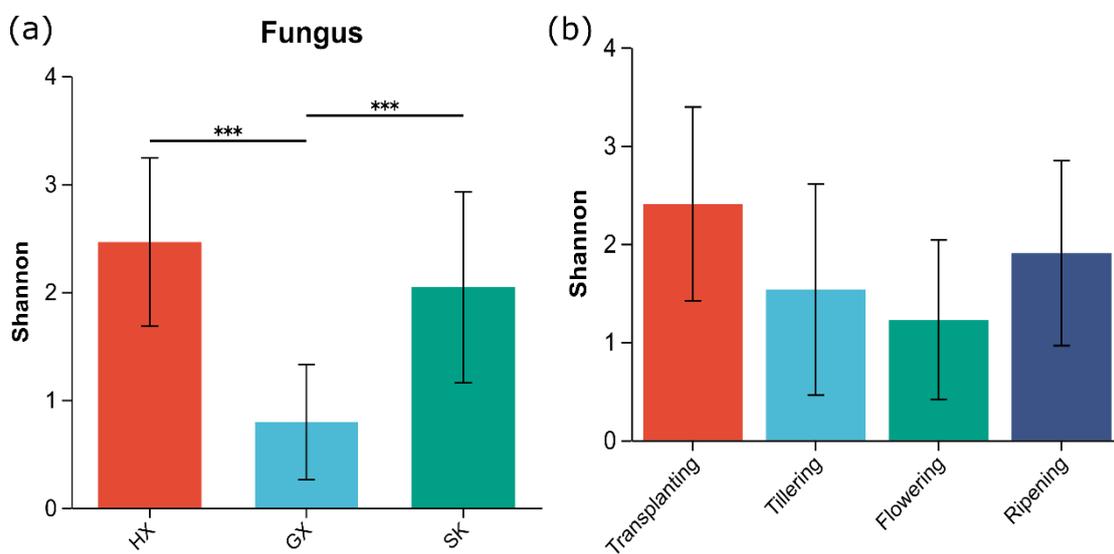


图 4.6 不同汞污染区域（花溪、垢溪和四坑）水稻根部内生真菌的 α 多样性

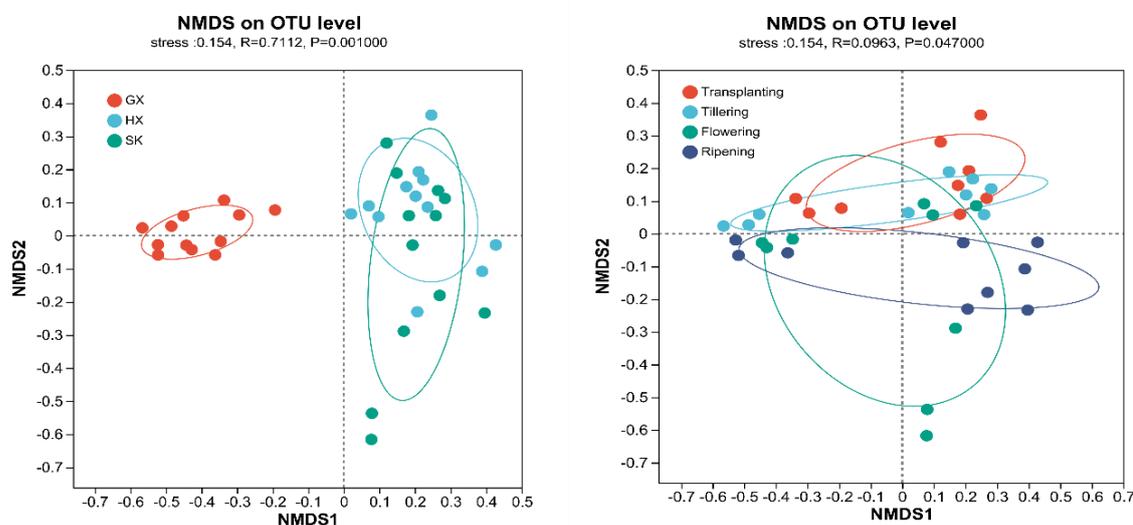


图 4.7 不同汞污染区域（花溪、垢溪和四坑）水稻根部内生真菌的群落结构

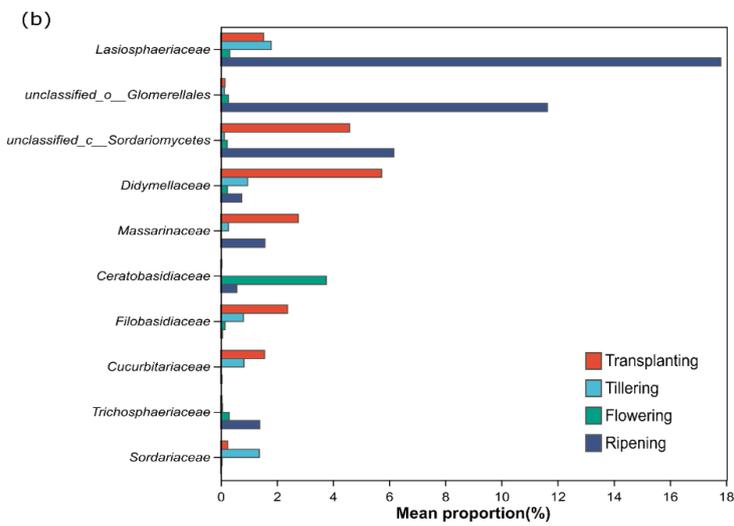
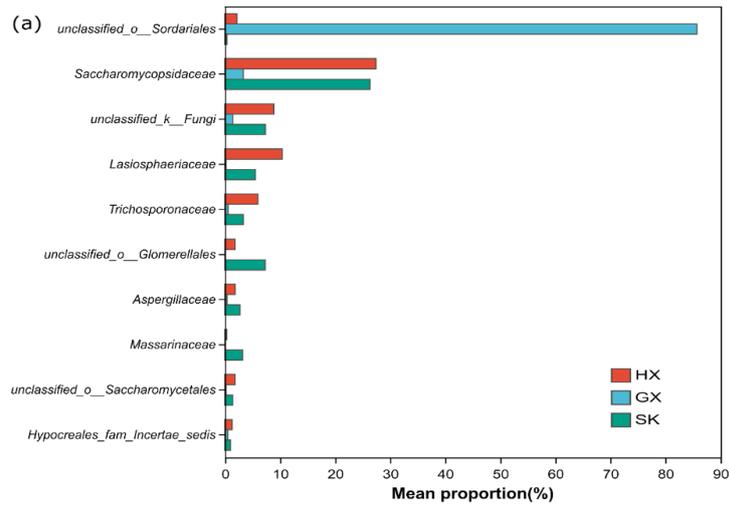


图 4.8 不同汞污染区域（花溪、垢溪和四坑）水稻根部内生真菌的群落组成差异

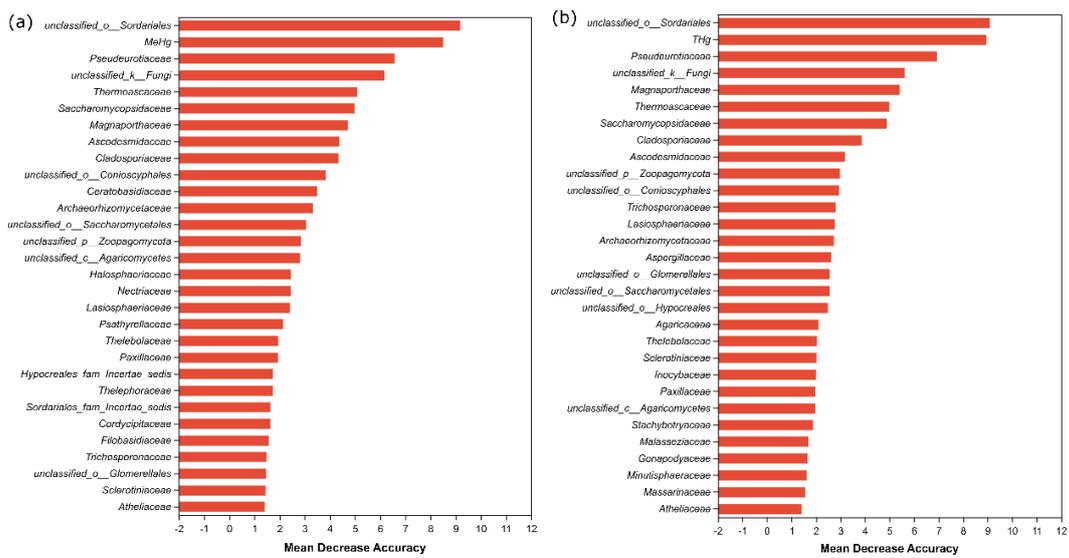


图 4.9 与水稻根吸收土壤 THg 和 MeHg 相关的水稻根部内生真菌

第五章 结论与展望

5.1 主要结论

随着水稻生长（幼苗—分蘖—抽穗），对照区（花溪）、土法炼汞区（垢溪）和废弃汞矿区（四坑）稻田上覆水的 pH、DO 和温度均逐渐下降，而电导率则大体上逐渐上升。这三个区域稻田土壤中 THg、MeHg 和 %MeHg 呈现明显梯度（THg：花溪<垢溪<四坑；MeHg：四坑>花溪~垢溪；%MeHg：四坑>花溪>垢溪）；花溪和垢溪稻田土壤中 MeHg 和 %MeHg 随水稻的生长逐渐升高，而四坑稻田土壤中 MeHg 和 %MeHg 则无显著变化。

汞污染区域（垢溪和四坑）的水稻其根、茎和叶中的 THg 和 MeHg 均分别显著高于对照区花溪种植水稻的对应组织中的 THg 和 MeHg（根、茎和叶 THg 和 MeHg：四坑>垢溪>花溪）。水稻各组织中 THg 含量的总体趋势为：根>叶>茎，而 MeHg 含量的趋势为根>叶≥茎。汞污染区域垢溪和四坑的水稻籽粒各组织（外壳、麸皮和精米）中 THg 和 MeHg 均显著高于对照区花溪水稻籽粒的对应组织中的 THg 和 MeHg。水稻籽粒各组织 THg 的分布为：麸皮>外壳>精米；MeHg 的分布为：精米>麸皮>外壳。

在水稻生长过程中，对照区花溪种植的水稻的根、茎和叶在水稻幼苗期具有最高的 THg，并在之后的生长过程中逐渐下降并趋于稳定。土法炼汞区垢溪种植的水稻的根和叶中 THg 均随着水稻生长的逐渐升高，而茎中的 THg 则变化较小；废弃汞矿区四坑种植的水稻其根中的 THg 随着水稻生长逐渐下降，却在水稻成熟期又大幅升高，而其叶和茎中的 THg 在整个水稻生长过程中则变化较小。除了垢溪水稻根部 MeHg 随水稻生长逐渐升高和叶中的 MeHg 则逐渐降低，不同汞污染区域水稻各组织中 MeHg 随水稻生长的变化趋势均与其对应组织中 THg 的变化趋势相似。

水稻各组织对汞的生物富集系数 BAF_{THg} 和 BAF_{MeHg} 均小于 1，且其 BAF_{MeHg} 均大于其对应组织的 BAF_{THg} ，说明 MeHg 比 THg 更容易被水稻吸收。花溪水稻大部分组织的转运系数 TF_{THg} 均接近 1；垢溪水稻除了其叶的 TF_{THg} 均大于 1 外，其余组织的 TF_{THg} 均小于 1；而四坑水稻各组织的 TF_{THg} 均小于 1，但叶的 TF_{THg} 显著高于其他组织的 TF_{THg} 。水稻各组织的 TF_{MeHg} 差异较大，其中根、穗和精米

(尤其是精米) 具有较大的 TF_{MeHg} 。

除了对照区花溪和废弃汞矿区四坑水稻根部内生真菌的 α 多样性 (Shannon 指数) 均高于土法炼汞区垢溪水稻根部内生真菌的 α 多样性外, 这三个不同汞污染区域水稻根部各自的内生细菌和内生真菌之间的 α 多样性没有显著差异, 且在水稻生长过程中也均无显著变化。此外, 这三个区域水稻根部内生细菌和内生真菌的群落结构和组成均存在一定的差异, 尤其在水稻的四个生长阶段存在显著差异。水稻内生菌群落丰富多样, 这三个区域中的水稻内生细菌主要包括变形菌门 (*Proteobacteria*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、放线菌门 (*Actinobacteria*)、拟杆菌门 (*Bacteroidetes*) 和螺旋体门 (*Spirochaetes*) 等, 而内生真菌则主要有子囊菌门 (*Ascomycota*) 和担子菌门 (*Basidiomycota*)。

通过随机森林分析发现某些水稻内生菌可能与水稻根部从土壤中吸收 THg 和 MeHg 相关, 主要包括某些衣原体目 (*Chlamydiales*)、原囊粘菌科 (*Archangiaceae*)、军团菌科 (*Legionellaceae*)、硝化杆菌科 (*Nitrobacteraceae*)、放线菌科 (*Gaiellaceae*)、红螯菌科 (*Coriobacteriaceae*)、芽胞杆菌科 (*Bacillaceae*)、除硫单胞菌目 (*Desulfuromonadales*)、*Syntrophorhabdaceae* 和互营杆菌科 (*Syntrophobacteraceae*) 等分类单元中的微生物, 以及粪壳目、假散囊菌科 (*Pseudeurotiaceae*)、嗜热子囊菌科 (*Thermoascaceae*)、复膜孢酵母科和巨座壳菌科 (*Magnaporthaceae*) 等分类单元中的真菌。

5.2 问题与展望

本研究针对不同汞污染区域稻田生态系统中汞的生物地球化学循环过程进行研究, 主要关注水稻对土壤中汞的吸收和转运, 尤其是水稻根部内生菌在这些过程中的作用。上述过程的厘清对于深入认识稻田生态系统中汞的生物地球化学循环具有重要意义。然而, 稻田生态系统中汞的生物地球化学循环过程极其复杂, 水稻内生菌又种类繁多。水稻内生菌群落结构和生态功能有哪些? 到底有那些关键内生菌能影响水稻对土壤中汞的吸收和转运? 其作用机理是什么? 水稻内生菌是否参与植株内汞的形态转化? 这些问题都还尚待解决。在接下来的工作中, 需要围绕这些关键问题进行系统深入研究, 为具体的粮食安全和汞污染防治措施和政策提供理论依据和科学指导。

致 谢

年近四十，已近不惑。期间已历经了包括学士、硕士和博士论文以及多篇学术论文的撰写和完稿。每当写至致谢部分，总是思绪万千，感慨良多。因为总是有那么些人在你需要的时候，在明处和暗处不断的付出，给予帮助和支持。在此，我想一一谢过那些在我博士后工作期间热心帮助和支持我的家人、老师、同事、朋友和学生。

初始冯新斌老师已是 24 年前（2009 年），那年我爱人海燕想要报考冯老师的博士。那时的我还是一个刚大学毕业不久的机械设计师，认识所至皆是与机械相关的东西。在冯老师把我爱人海燕招进课题组学习的过程中，我也跟着学习和了解了什么是汞，什么是科学研究，什么是大科学家。感谢冯老师的热心帮助让我进入了汞科学研究的圈子，这才有了后面我去瑞典的博士留学，并于 2020 年 12 月顺利毕业回国，最终能以博士后的身份成为冯老师的学生。能够成为冯老师的学生，我是幸运和幸福的。因为冯老师就是我“人生中最重要那么几个人”之一。冯老师的关爱总是很温暖、帮助总是很及时、支持总是很到位。从我硕士毕业找工作、国家留学基金的申请、留学回国从事博士后工作、国家基金的申请，到最近的找工作和入职，到处都有老师的身影，在我人生中的各种重要十字路口为我指引方向。就像我博士论文致谢里写到的“I would also like to give a thousand thank to Prof. **Xinbin Feng**, for opening the door of mercury science to me, and for the great help and support to both Haiyan and me whenever we need you. I could never get the opportunity to study in Sweden without your support”。这里我想再一次的感谢冯老师的热心帮助，让我有机会以汞科学研究成为我的工作和爱好，在未来的路上能走的更远。

刚回国的那会，在生活和工作上我有各种的不适应。是课题组的老师们、师兄弟姐妹们和学生们对我的各种热心帮助，才让我能顺利度过这段不易的时光，感恩这些艰难但温馨的日子和日子里的你们。

感谢我亲爱的父母和弟弟妹妹，是你们大家的大力支撑，我才能无后顾之忧好好工作，并建设好我自己的家庭。感谢我可爱的 Danny，是你让我获得了成为父亲的快乐，懂得了什么是父爱的柔软和深沉，愿使岁月静好，陪你慢慢长大。特别感谢我深爱的妻子海燕一路来的大力支持、默默付出、耐心陪伴和用心理解，才让我能顺利走到此刻。愿能执子之手与子偕老，Happy Wife, Happy Life!

王宝林

2023年8月

作者简历及博士后期间发表的学术论文与研究成果

作者简历:

王宝林, 男, 江西赣州人。

教育经历:

2015.03—2020.12: 博士, 瑞典农业大学 (Swedish University of Agricultural Sciences)

乌普萨拉大学 (Uppsala University) 联合培养, 环境科学与评估专业;

2010.09—2013.07: 硕士, 贵州大学, 微生物学专业;

2002.09—2006.07: 本科, 绍兴文理学院, 机械设计制造及其自动化专业;

工作经历:

2021.03—至今: 中国科学院地球化学研究所, 博士后; 从事水稻和湿地等水生生态系统中汞的生物地球化学循环研究;

2014.03—2015.03: 中国科学院地球化学研究所, 项目研究助理; 协助样品的化学分析以及 DNA 样品的提取和分析;

2013.08—2014.03: 贵州省分析测试院; 从事食品流通环节中微生物的检测;

2008.04—2010.06: 自主创业;

2007.01—2008.03: 浙江宁波均胜集团, 从事注塑机整机设计和车间管理。

博士后期间发表的学术论文:

(1) **Wang B.**, Hu H., Bishop K., Buck M., Björn E., Skjellberg U., Nilsson M.B., Bertilsson S. and Bravo A.G. (2023) Microbial communities mediating net methylmercury formation along a trophic gradient in a peatland chronosequence. *J. Hazard. Mater.* 442, 130057.

(2) **Wang B.**, Zhong S., Bishop K., Nilsson M.B., Hu H., Eklöf K., Bravo A.G., Åkerblom S., Bertilsson S., Björn E. and Skjellberg U. (2021) Biogeochemical influences on net methylmercury formation proxies along a peatland chronosequence. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 308, 188-203.

(3) Yang X.-F., Yang S.-C., Wen F.-L., Feng L., Meng B., Hu H.-Y., **Wang B.-L.**, Li J., Poulain A.J. and Li P. (2022) Impacts of Mercury Exposure Levels and Sources on the Demethylation of Methylmercury Through Human Gut Microbiota. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 109, 534-541.

学术会议报告:

(1) 王宝林, 胡海燕*, Kevin Bishop, Stefan Bertilsson, Ulf Skjellberg, Mats B. Nilsson, Andrea G. Bravo, 2021. 年龄系列泥炭湿地中汞甲基化微生物及与之相关的微生物群落对汞的甲基化作用, 第二十届中国生态学大会, 中国上海.

博士后期间主持的科研工作:

(1) 国家自然科学基金(面上, No. 42177114), 稻田生态系统中非汞甲基化微生物对甲基汞形成的影响, 2022.01-2024.12, 57万, 在研, 主持。

(2) 贵州省自然科学基金(一般项目, 黔科合基础-ZK[2022]一般 568), 产甲烷菌影响稻田生态系统中甲基汞形成的作用机理研究, 2022.04-2025.03, 10万, 在研, 主持。

参考文献：

- Ahmed M. (2020) 水稻根系相关内生细菌的分离鉴定及生防潜能研究. 中国水稻研究所.
- Barkay T. and Gu B. (2022) Demethylation—The Other Side of the Mercury Methylation Coin: A Critical Review. *ACS Environmental Au* **2**, 77-97.
- Barkay T., Miller S.M. and Summers A.O. (2003) Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystems. *FEMS microbiology reviews* **27**, 355-384.
- Bellanger M., Pichery C., Aerts D., Berglund M., Castaño A., Cejchanová M., Crettaz P., Davidson F., Esteban M., Fischer M.E., Gurzau A.E., Halzlova K., Katsonouri A., Knudsen L.E., Kolossa-Gehring M., Koppen G., Ligocka D., Miklavčič A., Reis M.F., Rudnai P., Tratnik J.S., Weihe P., Budtz-Jørgensen E. and Grandjean P. (2013) Economic benefits of methylmercury exposure control in Europe: monetary value of neurotoxicity prevention. *Environ Health* **12**, 3.
- Cheng J., Zhao W., Wang Q., Liu X. and Wang W. (2013) Accumulation of mercury, selenium and PCBs in domestic duck brain, liver and egg from a contaminated area with an investigation of their redox responses. *Environ Toxicol Phar* **35**, 388-394.
- Christensen G.A., Wymore A.M., King A.J., Podar M., Hurt R.A., Santillan E.U., Soren A., Brandt C.C., Brown S.D., Palumbo A.V., Wall J.D., Gilmour C.C. and Elias D.A. (2016) Development and Validation of Broad-Range Qualitative and Clade-Specific Quantitative Molecular Probes for Assessing Mercury Methylation in the Environment. *Applied and Environmental Microbiology*.
- de Siqueira K.A., Senabio J.A., Pietro-Souza W., de Oliveira Mendes T.A. and Soares M.A. (2021) *Aspergillus* sp. A31 and *Curvularia geniculata* P1 mitigate mercury toxicity to *Oryza sativa* L. *Archives of Microbiology* **203**, 5345-5361.
- Diez S. (2009) Human health effects of methylmercury exposure. *Reviews of environmental contamination and toxicology* **198**, 111-132.
- Durand A., Maillard F., Alvarez-Lopez V., Guincharde S., Bertheau C., Valot B., Blaudez D. and Chalot M. (2018) Bacterial diversity associated with poplar trees grown on a Hg-contaminated site: Community characterization and isolation of Hg-resistant plant growth-promoting bacteria. *Sci Total Environ* **622**, 1165-1177.
- Feng X. and Qiu G. (2008) Mercury pollution in Guizhou, Southwestern China — An overview. *Science of The Total Environment* **400**, 227-237.
- Feng X.B., Li P., Qiu G.L., Wang S., Li G.H., Shang L.H., Meng B., Jiang H.M., Bai W.Y., Li Z.G. and Fu X.W. (2008) Human exposure to methylmercury through rice intake in mercury mining areas, guizhou province, china. *Environmental Science & Technology* **42**, 326-332.
- Fu J., Zhou Q., Liu J., Liu W., Wang T., Zhang Q. and Jiang G. (2008) High levels of heavy metals in rice (*Oryza sativa* L.) from a typical E-waste recycling area in southeast China and its potential risk to human health. *Chemosphere* **71**, 1269-1275.
- Gionfriddo C.M., Wymore A.M., Jones D.S., Wilpieszski R.L., Lynes M.M., Christensen G.A., Soren A., Gilmour C.C., Podar M. and Elias D.A. (2020) An Improved hgcAB Primer Set and Direct High-Throughput Sequencing Expand Hg-Methylator Diversity in Nature. *Frontiers in Microbiology* **11**.
- Hinsinger P., Plassard C., Tang C. and Jaillard B. (2003) Origins of root-mediated pH changes in the rhizosphere and their responses to environmental constraints: A review. *Plant Soil* **248**, 43-59.
- Horvat M., Nolde N., Fajon V., Jereb V., Logar M., Lojen S., Jacimovic R., Falnoga I., Liya Q., Faganeli

- J. and Drobne D. (2003) Total mercury, methylmercury and selenium in mercury polluted areas in the province Guizhou, China. *Science of The Total Environment* **304**, 231-256.
- Idris R., Trifonova R., Puschenreiter M., Wenzel W.W. and Sessitsch A. (2004) Bacterial communities associated with flowering plants of the Ni hyperaccumulator *Thlaspi goesingense*. *Appl Environ Microbiol* **70**, 2667-2677.
- Jonsson S., Skjällberg U., Nilsson M.B., Lundberg E., Andersson A. and Björn E. (2014) Differentiated availability of geochemical mercury pools controls methylmercury levels in estuarine sediment and biota. *Nature Communications* **5**, 4624.
- Li H.Y., Li D.W., He C.M., Zhou Z.P., Mei T. and Xu H.M. (2012) Diversity and heavy metal tolerance of endophytic fungi from six dominant plant species in a Pb-Zn mine wasteland in China. *Fungal Ecol* **5**, 309-315.
- Li P., Feng X., Qiu G., Shang L. and Wang S. (2008) Mercury exposure in the population from Wuchuan mercury mining area, Guizhou, China. *Science of The Total Environment* **395**, 72-79.
- Li P., Feng X., Shang L., Qiu G., Meng B., Zhang H., Guo Y. and Liang P. (2011) Human co-exposure to mercury vapor and methylmercury in artisanal mercury mining areas, Guizhou, China. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **74**, 473-479.
- Liang P., Feng X., Zhang C., Zhang J., Cao Y., You Q., Leung A.O.W., Wong M.-H. and Wu S.-C. (2015) Human exposure to mercury in a compact fluorescent lamp manufacturing area: By food (rice and fish) consumption and occupational exposure. *Environmental Pollution* **198**, 126-132.
- Liu J., Meng B., Poulain A.J., Meng Q. and Feng X. (2021) 2021-Stable isotope tracers identify sources and transformations of mercury in rice (*Oryza sativa* L.) growing in a mercury mining area. *Fundamental research*, 259-268.
- Liu Y.-R., Johs A., Bi L., Lu X., Hu H.-W., Sun D., He J.-Z. and Gu B. (2018) Unraveling Microbial Communities Associated with Methylmercury Production in Paddy Soils. *Environ. Sci. Technol.* **52**, 13110-13118.
- Liu Y.-R., Yang Z., Zhou X., Qu X., Li Z. and Zhong H. (2019) Overlooked Role of Putative Non-Hg Methylators in Predicting Methylmercury Production in Paddy Soils. *Environ. Sci. Technol.* **53**, 12330-12338.
- Luo J., Tao Q., Wu K., Li J., Qian J., Liang Y., Yang X. and Li T. (2017) Structural and functional variability in root-associated bacterial microbiomes of Cd/Zn hyperaccumulator *Sedum alfredii*. *Appl Microbiol Biotechnol* **101**, 7961-7976.
- Luo S.L., Chen L., Chen J.L., Xiao X., Xu T.Y., Wan Y., Rao C., Liu C.B., Liu Y.T., Lai C. and Zeng G.M. (2011) Analysis and characterization of cultivable heavy metal-resistant bacterial endophytes isolated from Cd-hyperaccumulator *Solanum nigrum* L. and their potential use for phytoremediation. *Chemosphere* **85**, 1130-1138.
- Mei X.Q., Ye Z.H. and Wong M.H. (2009) The relationship of root porosity and radial oxygen loss on arsenic tolerance and uptake in rice grains and straw. *Environmental Pollution* **157**, 2550-2557.
- Mello I.S., Pietro-Souza W., Barros B.M., da Silva G.F., Campos M.L. and Soares M.A. (2019) Endophytic bacteria mitigate mercury toxicity to host plants. *Symbiosis* **79**, 251-262.
- Mello I.S., Targanski S., Pietro-Souza W., Stachack F.F.F., Terezo A.J. and Soares M.A. (2020) Endophytic bacteria stimulate mercury phytoremediation by modulating its bioaccumulation and volatilization. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **202**.
- Meng B., Feng X., Qiu G., Anderson C.W.N., Wang J. and Zhao L. (2014a) Localization and Speciation of Mercury in Brown Rice with Implications for Pan-Asian Public Health. *Environ. Sci. Technol.*

48, 7974-7981.

- Meng B., Feng X., Qiu G., Cai Y., Wang D., Li P., Shang L. and Sommar J. (2010) Distribution Patterns of Inorganic Mercury and Methylmercury in Tissues of Rice (*Oryza sativa* L.) Plants and Possible Bioaccumulation Pathways. *J Agr Food Chem* **58**, 4951-4958.
- Meng B., Feng X., Qiu G., Liang P., Li P., Chen C. and Shang L. (2011a) The process of methylmercury accumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *Environmental Science & Technology* **45**, 2711-2717.
- Meng B., Feng X.B., Qiu G.L., Anderson C.W.N., Wang J.X. and Zhao L. (2014b) Localization and Speciation of Mercury in Brown Rice with Implications for Pan-Asian Public Health. *Environmental Science & Technology* **48**, 7974-7981.
- Meng B., Feng X.B., Qiu G.L., Liang P., Li P., Chen C.X. and Shang L.H. (2011b) The Process of Methylmercury Accumulation in Rice (*Oryza sativa* L.). *Environ. Sci. Technol.* **45**, 2711-2717.
- Meng B., Feng X.B., Qiu G.L., Wang D.Y., Liang P., Li P. and Shang L.H. (2012) Inorganic mercury accumulation in rice (*Oryza sativa* L.). *Environ Toxicol Chem* **31**, 2093-2098.
- Mergler D., Anderson H.A., Chan L.H., Mahaffey K.R., Murray M., Sakamoto M. and Stern A.H. (2007) Methylmercury exposure and health effects in humans: a worldwide concern. *Ambio* **36**, 3-11.
- Parks J.M., Johs A., Podar M., Bridou R., Hurt R.A., Smith S.D., Tomanicek S.J., Qian Y., Brown S.D., Brandt C.C., Palumbo A.V., Smith J.C., Wall J.D., Elias D.A. and Liang L.Y. (2013) The Genetic Basis for Bacterial Mercury Methylation. *Science* **339**, 1332-1335.
- Pietro-Souza W., Mello I.S., Vendruscullo S.J., da Silva G.F., da Cunha C.N., White J.F. and Soares M.A. (2017) Endophytic fungal communities of *Polygonum acuminatum* and *Aeschynomene fluminensis* are influenced by soil mercury contamination. *Plos One* **12**.
- Qiu G., Feng X., Meng B., Sommar J. and Gu C. (2012) Environmental geochemistry of an active Hg mine in Xunyang, Shaanxi Province, China. *Applied Geochemistry* **27**, 2280-2288.
- Qiu G., Feng X., Wang S. and Shang L. (2006) Environmental contamination of mercury from Hg-mining areas in Wuchuan, northeastern Guizhou, China. *Environmental Pollution* **142**, 549-558.
- Schlaeppli K., Dombrowski N., Oter R.G., Ver Loren van Themaat E. and Schulze-Lefert P. (2014) Quantitative divergence of the bacterial root microbiota in *Arabidopsis thaliana* relatives. *Proc Natl Acad Sci U S A* **111**, 585-592.
- Strobel G. and Daisy B. (2003) Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiol Mol Biol R* **67**, 491-+.
- Sun L.N., Zhang Y.F., He L.Y., Chen Z.J., Wang Q.Y., Qian M. and Sheng X.F. (2010) Genetic diversity and characterization of heavy metal-resistant-endophytic bacteria from two copper-tolerant plant species on copper mine wasteland. *Bioresource Technol* **101**, 501-509.
- Tiffreau C., Lützenkirchen J. and Behra P. (1995) Modeling the Adsorption of Mercury(II) on (Hydr)oxides: I. Amorphous Iron Oxide and α -Quartz. *Journal of Colloid and Interface Science* **172**, 82-93.
- Ullrich S.M., Tanton T.W. and Abdrashitova S.A. (2001) Mercury in the Aquatic Environment: A Review of Factors Affecting Methylation. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* **31**, 241-293.
- Ustiatik R., Nuraini Y., Suharjono S., Jeyakumar P., Anderson C.W.N. and Handayanto E. (2021) Mercury resistance and plant growth promoting traits of endophytic bacteria isolated from mercury-contaminated soil. *Bioremediation Journal*.
- Vishnivetskaya T.A., Hu H., Van Nostrand J.D., Wymore Ann M., Xu X., Qiu G., Feng X., Zhou J., Brown S.D., Brandt C.C., Podar M., Gu B. and Elias D.A. (2018) Microbial community

- structure with trends in methylation gene diversity and abundance in mercury-contaminated rice paddy soils in Guizhou, China. *Environmental Science: Processes & Impacts* **20**, 673-685.
- Wu Q., Hu H., Meng B., Wang B., Poulain A.J., Zhang H., Liu J., Bravo A.G., Bishop K., Bertilsson S. and Feng X. (2020) Methanogenesis Is an Important Process in Controlling MeHg Concentration in Rice Paddy Soils Affected by Mining Activities. *Environ. Sci. Technol.* **54**, 13517-13526.
- Xu X.H., Zhao J.T., Li Y.Y., Fan Y.Q., Zhu N.L., Gao Y.X., Li B., Liu H.Y. and Li Y.F. (2016) Demethylation of methylmercury in growing rice plants: An evidence of self-detoxification. *Environ Pollut* **210**, 113-120.
- Zhang H., Feng X.B., Larssen T., Qiu G.L. and Vogt R.D. (2010) In Inland China, Rice, Rather than Fish, Is the Major Pathway for Methylmercury Exposure. *Environ Health Persp* **118**, 1183-1188.
- Zhao L., Qiu G.L., Anderson C.W.N., Meng B., Wang D.Y., Shang L.H., Yan H.Y. and Feng X.B. (2016) Mercury methylation in rice paddies and its possible controlling factors in the Hg mining area, Guizhou province, Southwest China. *Environ Pollut* **215**, 1-9.
- Zhu W., Song Y., Adediran G.A., Jiang T., Reis A.T., Pereira E., Skjellberg U. and Björn E. (2018) Mercury transformations in resuspended contaminated sediment controlled by redox conditions, chemical speciation and sources of organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **220**, 158-179.
- 胡桂萍 (2010) 水稻内生菌及其根系土壤微生物群落多样性的研究. 福建农林大学.
- 罗继鹏, 陶琦, 吴可人和李廷强 (2018) 超积累植物内生微生物群落组成特征及其功能研究进展. *浙江大学学报 (农业与生命科学版)* **44**, 515-529.
- 沙月霞 (2018) 不同水稻组织内生细菌的群落多样性. *微生物学报* **58 (12)**, 2216-2228