

蚯蚓/改性生物炭对As污染红壤的稳定化效应

苏倩倩, 李莲芳, 朱昌雄, 叶婧, 刘雪, 黄晓雅

引用本文:

苏倩倩, 李莲芳, 朱昌雄, 等. 蚯蚓/改性生物炭对As污染红壤的稳定化效应[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(5): 999–1007.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1114>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

生物炭和猪粪肥对铜污染土壤中菹菜生长及铜形态的影响

陈璇, 郭雄飞, 陈桂葵, 黎华寿, 贺鸿志

农业环境科学学报. 2016, 35(5): 913–918 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016.05.014>

杀螟丹和Cr⁶⁺复合污染对赤子爱胜蚓的毒性研究

朱艳, 高晨昕, 孟雨婷, 肖娴, 刘建国, 赵远

农业环境科学学报. 2021, 40(2): 300–309 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0934>

蚯蚓(*Eisenia foetida*)对水稻土中Cd的富集及其氧化应激

陈娴, 王晓蓉, 季荣

农业环境科学学报. 2015, 34(8): 1464–1469 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.08.005>

羊栖菜生物炭对镉污染土壤性质及镉形态的影响

汪玉瑛, 计海洋, 吕豪豪, 刘玉学, 杨瑞芹, 杨生茂

农业环境科学学报. 2018, 37(6): 1132–1140 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1501>

模拟酸雨条件下铁硅材料和生物炭对土壤镉砷形态及生物有效性的影响

郭娟, 罗小丽, 姚爱军, 袁鸣, 刘冲, 汤叶涛, 仇荣亮

农业环境科学学报. 2018, 37(7): 1495–1502 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0363>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

苏倩倩, 李莲芳, 朱昌雄, 等. 蚯蚓/改性生物炭对As污染红壤的稳定化效应[J]. 农业环境科学学报, 2021, 40(5): 999–1007.

SU Qian-qian, LI Lian-fang, ZHU Chang-xiong, et al. Immobilization effect of earthworm/modified biochar on arsenic in contaminated red soil[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2021, 40(5): 999–1007.



开放科学 OSID

蚯蚓/改性生物炭对As污染红壤的稳定化效应

苏倩倩^{1,2}, 李莲芳^{1,2*}, 朱昌雄^{1,2}, 叶婧^{1,2}, 刘雪^{1,2}, 黄晓雅^{1,2}

(1. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所, 北京 100081; 2. 农业农村部农业环境重点实验室, 北京 100081)

摘要:以砷(As)污染红壤为研究对象,以耐污染能力强的赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)为土壤动物,采用生物学模拟试验方法,探讨了铈锰改性生物炭(Cerium-manganese modified biochar, MBC)与蚯蚓联合作用对As污染红壤的稳定化效应。结果表明:将蚯蚓接种于As污染红壤中,大幅降低了土壤中水溶态As(WSAs)含量和pH值;其中蚯蚓与MBC联合作用时钝化效应最为明显,60 d时,土壤中WSAs含量降低幅度为77.59%,同时pH值比对照同期降低0.84个单位,蚯蚓与MBC对土壤As表现为协同钝化作用;蚯蚓与MBC的联合作用,促进了土壤As结合形态由活性较强的非专性吸附态和专性吸附态向无定型/弱结晶水合铁铝氧化物结合态、结晶水合铁铝氧化物结合态和残渣态等稳定态的转化。因而,MBC与赤子爱胜蚓联合作用可使土壤中As的移动性和环境风险大幅降低,且蚯蚓的生存状况良好,其与MBC的联合作用可实现As污染土壤的修复。

关键词:改性生物炭;蚯蚓;pH;As;土壤

中图分类号:X53 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2021)05-0999-09 doi:10.11654/jaes.2020-1114

Immobilization effect of earthworm/modified biochar on arsenic in contaminated red soil

SU Qian-qian^{1,2}, LI Lian-fang^{1,2*}, ZHU Chang-xiong^{1,2}, YE Jing^{1,2}, LIU Xue^{1,2}, HUANG Xiao-ya^{1,2}

(1. Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 2. Key Laboratory of Agro-Environment, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Beijing 100081, China)

Abstract: In order to explore the immobilization effect of cerium manganese modified biochar (MBC) and earthworms on contaminated red soil, a biological simulation experiment was carried out using the earthworm *Eisenia foetida*, which has a high tolerance to heavy metal pollution in soils, and the results showed that earthworms significantly decreased water soluble arsenic content and reduced the pH of the soil. When the earthworms were combined with MBC, the immobilization effect was more obvious. The content of water-soluble arsenic in soil decreased by 77.59%, and the pH decreased by 0.84 units compared with the control at the same period, indicating a synergistic inactivation of earthworms and MBC on arsenic (As) in soils. It also illustrated that the combination of earthworms and MBC in soils led to the conversion of active arsenic to a stable form, which showed the conversion of As species from non-specifically sorbed and specifically sorbed phases to non-crystallized hydrous oxides of Fe and Al, well-crystallized hydrous oxides of Fe and Al, and residual ones. This investigation indicates that the modified biochar combined with *Eisenia foetida* greatly decreases the mobility of As in soils, and therefore reduces the corresponding environmental risk, and the application of biochar or MBC has no significant effect on the survival of earthworms. Therefore, the use of earthworms combined with MBC is a promising method for the remediation of As contaminated red soil.

Keywords: modified biochar; earthworm; pH value; arsenic; soil

收稿日期:2020-09-23 录用日期:2020-12-03

作者简介:苏倩倩(1991—),女,山西人,硕士研究生,从事重金属污染土壤修复研究。E-mail:15234170575@163.com

*通信作者:李莲芳 E-mail:lilianfang@caas.cn

基金项目:国家重点研发计划项目(2020YFC1806401);国家基础性工作专项(2015FY111300)

Project supported: The National Key R&D Program of China(2020YFC1806401); The National Basic Work Special(2015FY111300)

近年来,工矿业活动的三废排放、污水灌溉、污泥农用及含重金属畜禽粪便生产的有机肥过量施用等,造成土壤中重金属不断累积甚至超标现象。其中,As作为一种具有致癌作用且毒性极强的类金属,污染问题尤为突出^[1]。据世界卫生组织(WHO)估计,全球至少有5 000万人口正面临着地方性As中毒的威胁,以亚洲国家更甚,我国是受As中毒危害最为严重的国家之一。据报道,我国诸多地区土壤存在不同程度的As污染,且发生过多起群体性As污染事件,如湖南石门^[2]、湖南株洲、湖南郴州、云南文山、广西河池、贵州独山等^[3-5]。土壤中的As可以通过植物根系吸收富集在作物体内,并最终随着食物链进入人体,这不仅对民众的健康安全构成威胁^[6-8],同时也制约着耕地的可持续利用。在当前庞大的人口基数下,实施As污染土壤的修复,是一项保增长及促民生的紧迫任务。

近年来,原位钝化修复作为As污染土壤修复的重要手段之一,由于其见效快、成本低及可操作性强等优点而被广泛关注。生物炭是一种环境功能型钝化材料,对土壤重金属污染钝化修复具有良好的应用前景^[9]。已有大量研究表明,生物炭的施用可显著降低土壤重金属活性^[10-11],降低作物对重金属的吸收^[12-13],但对于As污染土壤而言,生物炭的施用大多导致土壤中As的活化^[14-15],研究者们通过对生物炭表面改性则可大幅提高其对As的吸附及固定能力^[16]。据报道,铁锰改性生物炭较原始生物炭对As的平衡吸附量增大了35倍^[17],针铁矿改性生物炭与其未改性的生物炭相比,其吸附量提高了62.10倍^[18]。另据本课题组前期的研究结果,经铈锰氧化物改性后的生物炭对土壤中的As具有良好的固定效果,在1%~10%添加量情况下,红壤、黄壤、紫色土3种不同类型土壤As的固定效率分别为70.59%~94.72%、43.00%~75.36%、80.45%~99.61%,红壤中最高固定效率在94%以上,并促进了土壤中活性态As向稳定态As的转化^[19]。然而,改性生物炭在土壤中发挥固定作用效果的稳定性及长效性可受土壤环境条件的影响,不仅与水分、温度、pH值等物理化学因素相关,还受到土壤生物因素的必然干扰。直至当前,有关改性生物炭施用后固定效应是否稳定,尤其在土壤动物是否会影响改性生物炭的长效稳定性方面,相关研究尚不多见。

蚯蚓作为土壤中生物量最大的典型无脊椎动物,其对土壤重金属污染的强耐受力已被诸多研究证实^[20-21]。一方面蚯蚓可以通过吞食及皮肤接触等作

用吸收富集土壤中的重金属及类金属^[22],对土壤中重金属及类金属活性产生一定影响;另一方面在蚯蚓分泌物、消化系统酶系和蚯蚓体内微生物等作用下,土壤性质及土壤重金属活性会发生改变^[23]。至今为止,有关蚯蚓与生物炭联合作用于土壤重金属污染修复,以及蚯蚓如何影响生物炭固定重金属的效应方面研究尚少,尤其是蚯蚓对改性生物炭固定As效应的影响,以及两者联合作用对土壤As稳定化研究方面更不多见。基于此,本研究在已明确前期铈锰改性生物炭(cerium-manganese modified biochar, MBC)对土壤As固定效应的基础上,拟探讨赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)对MBC固定土壤As稳定性的影响及两者联合作用效应,明确蚯蚓与MBC联合作用对土壤As的稳定化效果,为利用MBC进行As污染土壤的修复提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试红壤采集于湖南石门雄黄矿周边500 m范围内的As污染菜地,土壤经自然风干后研磨、过2 mm尼龙筛。经分析测定,土壤的总As含量为141.80 mg·kg⁻¹,土壤水溶态As含量为0.41 mg·kg⁻¹。清洁土采自距雄黄矿100 km之外的菜地土。土壤基本性质见表1。

表1 土壤基本性质

Table 1 Basic characteristics of the soils

试验土壤 Experimental soils	pH	全氮 Total N/ (g·kg ⁻¹)	全钾 Total K/ (g·kg ⁻¹)	全磷 Total P/ (g·kg ⁻¹)	总As Total As/ (mg·kg ⁻¹)
砷污染土 As contaminated soil	6.30	0.54	14.56	0.73	141.80
清洁土 Clean soil	6.42	0.16	6.13	0.17	—

1.2 铈锰改性生物炭的制备

小麦秸秆生物炭(Biochar, BC)采用小麦秸秆制备而成,其具体过程如下:将小麦秸秆粉碎过100目筛后置于马弗炉内,600℃无氧热解2 h后,冷却至室温,研磨后过100目筛备用。BC的基本性质见表2。

MBC的制备采用课题组前期的制备方法^[20],其具体过程如下:称取10 g制备的BC于烧杯中,用1 mol·L⁻¹的盐酸浸泡处理12 h后,去离子水清洗至中性。将该处理后的BC放入70~80℃烘箱中烘干,研磨过筛后依次加入0.2 mol·L⁻¹高锰酸钾溶液50 mL和0.5 mol·L⁻¹氯化铈溶液50 mL,混合均匀超声分散2 h后,

表2 BC及MBC的基本性质

Table 2 Basic characteristics of the BC and MBC

项目 Items	pH	全氮 Total N/(g·kg ⁻¹)	全钾 Total K/(g·kg ⁻¹)	全磷 Total P/(g·kg ⁻¹)	有机碳 Organic carbon/(g·kg ⁻¹)	砷 As/(g·kg ⁻¹)	锰 Mn/(g·kg ⁻¹)	铈 Ce/(g·kg ⁻¹)
BC	9.26	7.41	19.34	2.64	357.93	0.11	0.20	0.07
MBC	6.06	3.96	22.05	1.00	233.60	0.10	31.57	223.13

放入水浴锅95℃恒温水浴蒸干,然后于600℃的马弗炉内无氧热解2 h,冷却至室温即得产物MBC。MBC基本理化性质见表2。

1.3 试验设计

蚯蚓培养:试验用蚯蚓为赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*),购于北京大地聚龙生物科技有限公司。试验前先将蚯蚓置于试验环境中预培养2周。选取大小基本一致的成年蚯蚓,洗净后置于烧杯中,烧杯底部放置被去离子水湿润的滤纸,在(25±2)℃下清肠48 h,期间需更换滤纸。

试验处理:准确称取1.2 kg As污染土壤置于每个花盆(上部内径×底部内径×高为23 cm×11 cm×18 cm)中,含蚯蚓的处理每盆添加蚯蚓35条(生物量为8.23±0.54 g),试验设置6个As污染处理:(1)污染土壤(CK);(2)污染土壤+蚯蚓(AE);(3)污染土壤+0.3%BC(AB);(4)污染土壤+蚯蚓+0.3%BC(AEB);(5)污染土壤+0.3%MBC(AMB);(6)污染土壤+蚯蚓+0.3%MBC(AEMB)。同时设置清洁土(不含As)+蚯蚓的处理(SE),以比较蚯蚓在两者中生存状况差异。每个处理3次重复,试验周期60 d。向土壤中加入蚯蚓前,调节土壤水分含量为最大田间持水量的70%(70%MWHC),在(25±2)℃孵育48 h后加入清肠的蚯蚓;恒重法每隔1 d添加去离子水以保持含水量,培养温度(25±2)℃。分别在培养的1、15、30 d和60 d取土分析土壤中的水溶态As(WSAs)含量,同时测定土壤pH值、总As、结合形态As等指标。

1.4 分析方法

1.4.1 土壤及生物炭理化性质的测定

土壤及生物炭理化性质分析参考《土壤农化分析》中的方法^[24]。pH值采用1:5土水比-电位法测定,全N采用凯氏定氮法,全P采用钼锑抗比色法,全K采用火焰原子吸收法。MBC中锰和铈含量采用Optima8300电感耦合等离子体光谱仪(PerkinElmer公司,USA)分析测定,检出限为0.01 mg·L⁻¹。

1.4.2 土壤、生物炭及蚯蚓体内As含量的测定

土样总As的测定采用HNO₃-HCl消解(USE-

PA3051a),氢化物发生-原子荧光仪分析(型号AFS-933,北京吉天仪器公司)。仪器检出限为0.02 μg·L⁻¹,标准曲线相关系数为0.999 8,分析标准物质GBW07391(GSS-35)参比进行分析质量控制,方法回收率为94.18%~100.80%,符合质量控制要求。生物炭和蚯蚓As含量采用植物样HNO₃-HClO₄消解法(EPA3010a),测定过程中加入玉米成分分析标准物质GBW10012(GSB-3)进行质量控制,方法回收率为94.95%~99.63%,满足质量控制要求。

土壤As结合形态采用Wenzel等^[25]的连续提取法分析:取1.000 g土样,加入0.05 mol·L⁻¹(NH₄)₂SO₄溶液振荡4 h,离心过滤所得上清液进行As含量测定即为非专性吸附态As(F1);用0.05 mol·L⁻¹的(NH₄)H₂PO₄溶液振荡16 h,离心过滤所得上清液进行As含量测定即为专性吸附态As(F2);再加入0.2 mol·L⁻¹草酸铵缓冲液(pH=3.25)黑暗振荡4 h提取,离心过滤,洗涤,用0.2 mol·L⁻¹草酸铵缓冲液(pH=3.25)黑暗振荡10 min离心过滤,合并上清液进行As含量分析即为无定形和弱结晶水合铁铝氧化物结合态As(F3);在所剩残渣中加入0.2 mol·L⁻¹草酸铵和0.1 mol·L⁻¹抗坏血酸溶液(pH=3.25),并于96℃下水浴加热30 min,离心过滤后的残渣土壤继续用0.2 mol·L⁻¹草酸铵缓冲液(pH=3.25)洗涤,黑暗振荡10 min,将溶液合并进行As含量分析即为结晶水合铁铝氧化物结合态As(F4);将剩余的土壤60℃烘干,研磨过筛,称取0.500 g土壤,加入3 mL HNO₃、9 mL HCl,消煮至样品呈灰白色,定容至50 mL,过滤,得到残渣态As(F5)。各结合态As测定方法与上述As测定方法一致。

1.5 数据处理与统计分析

数据处理及统计分析采用SPSS 22软件及Origin 9.5完成。

材料对土壤As的固定效率 η (%)计算:

$$\eta = (C_0 - C_a) / C_0 \times 100\%$$

式中: C_0 和 C_a 分别为空白土样和添加材料土样的有效As含量,mg·kg⁻¹。

用迁移系数 M 表示活性态 As 在土壤中的迁移性, 计算公式^[26]为:

$$M = \frac{F1 + F2}{F1 + F2 + F3 + F4 + F5}$$

式中: $F1$ 、 $F2$ 、 $F3$ 、 $F4$ 、 $F5$ 分别为非专性吸附态 As 含量、专性吸附态 As 含量、无定型和弱结晶水合铁铝氧化物结合态 As 含量、结晶水合铁铝氧化物结合态 As 含量、残渣态 As 含量, $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 蚯蚓及生物炭作用下土壤 WSAs 的变化

土壤中 WSAs 是易被植物体吸收的主要 As 形态, 是表征 As 有效性的重要指标之一。生物炭改性后与蚯蚓联合作用对土壤 As 的活性构成了重要影响, 具体见图 1。从图 1 可以看出, 随着培养时间的延长, 各处理土壤中 WSAs 总体呈现降低趋势, 但不同处理比较, 不同时期 WSAs 含量存在显著差异。AE 处理土壤中 WSAs 含量前期较 CK 略有增加, 而后呈现不断降低趋势, 但前期与 CK 差异不显著, 试验结束时, 其 WSAs 含量已显著低于 CK 处理 ($P < 0.05$); 与此相反, AB 处理在前期较 CK 略有下降但是不显著, 后期不断升高, 培养至 30 d 和 60 d 时, 土壤中 WSAs 含量均显著高于 CK、AE、AEB、AMB 及 AEMB 处理 ($P < 0.05$); 而 AEB 处理下, WSAs 含量较 CK 亦呈现先略微升高后显著降低趋势, 至 60 d 时已显著低于 CK 处理 ($P < 0.05$)。当培养试验进行至 60 d 时, AE 处理下土壤 WSAs 含量比 CK ($0.058 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 降低了 57.88%, AMB 处理下土壤 WSAs 含量为 $0.032 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 比 CK 降低了 44.83%, 而 AEMB 处理土壤中 WSAs 含量为 $0.013 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 比 CK 降低 77.59%, 其 WSAs 含量显著低于

AMB、AE 及 AEB 处理 ($P < 0.05$)。土壤中 WSAs 含量由高至低的处理排序为 $AB > CK > AEB > AMB > AE > AEMB$ 。

因而, 从总体效果看, 蚯蚓与 MBC 联合作用于 As 污染红壤时, 两者对土壤 As 表现出协同固定的作用。

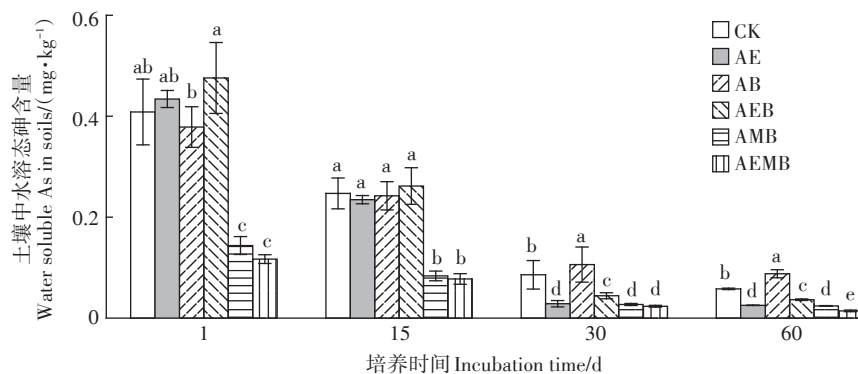
2.2 蚯蚓及生物炭作用下土壤 pH 值的变化

在蚯蚓及生物炭单一处理及联合作用下, 土壤 pH 值随着时间的延长总体呈现不断降低的趋势 (表 3)。由表 3 可知, 1 d 时, AE、AB 及 AEB 处理下土壤 pH 值高于 CK, 而 AMB、AEMB 处理下 pH 值均比 CK 显著降低 ($P < 0.05$), 随着时间的延长, 各处理土壤 pH 值均出现明显下降。当培养至 30 d 时, AE、AB、AEB、AMB、AEMB 处理与 CK 相比, pH 值分别降低了 0.18、0.01、0.19、0.29、0.28 个单位。当培养至 60 d 时, AE、AB、AEB、AMB、AEMB 处理相比于 CK 的 pH 值分别降低了 0.59、0.16、0.13、0.29、0.84 个单位, 其中, 以 AEMB 处理下 pH 值降幅最大, 其次为 AE 和 AMB 处理, AB 和 AEB 处理的降幅较小。

2.3 蚯蚓及生物炭作用下土壤中 As 赋存形态的变化

蚯蚓及生物炭单一和联合作用均会对土壤中 As 的赋存形态产生影响 (表 4)。由表 4 可知, 土壤中 As 形态主要以专性吸附态 ($F2$)、无定型结晶水合铁铝氧化物结合态 ($F3$)、结晶水合铁铝氧化物结合态 ($F4$) 和残渣态 ($F5$) 存在, 前三者占比达 80% 以上, 而非专性吸附态 As ($F1$) 含量占比较低。

从 $F1$ 含量的变化可以看出, 各处理由高至低的顺序为 $AB > CK > AEB > AMB > AE > AEMB$ 。对于 AEMB 处理而言, 随着 $F1$ 和 $F2$ 含量及占比明显降低 (降幅分别为 22.73% 和 7.89%), 其他形态 $F3$ 、 $F4$ 、 $F5$ 的含量及占比均有不同程度增加 (增幅依次为 25.52%、



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)
Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ($P < 0.05$)

图 1 不同处理土壤中水溶态 As 含量

Figure 1 Soil water soluble As in different treatments

表3 不同处理和培养时间土壤的pH值

Table 3 Soil pH values in different treatments and incubation time

处理 Treatments	培养时间 Incubation time/d			
	1	15	30	60
CK	6.35±0.05c	6.33±0.07b	6.30±0.09a	6.09±0.09a
AE	6.58±0.07b	6.34±0.08b	6.12±0.09b	5.50±0.01d
AB	6.68±0.04a	6.48±0.04a	6.29±0.04a	5.93±0.05b
AEB	6.43±0.01c	6.27±0.04b	6.11±0.07b	5.96±0.01a
AMB	6.23±0.04d	6.13±0.07c	6.01±0.09b	5.80±0.01c
AEMB	6.17±0.06d	6.12±0.06c	6.02±0.06b	5.25±0.08e

注:不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters in a column indicate significant differences among treatments at $P<0.05$. The same below.

表4 培养60 d时土壤各结合形态As含量及迁移系数M

Table 4 Chemical speciation of As and mobility coefficient in soils when cultivated 60 days

处理 Treatments	土壤中不同结合形态As含量 Different species arsenic content/($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)					迁移系数M Mobility coefficient/%
	F1	F2	F3	F4	F5	
CK	0.22±0.01b	45.38±0.19b	31.15±2.75b	38.17±2.96b	8.67±1.03ab	36.90±0.37a
AE	0.18±0.01cd	42.97±1.21cd	31.80±1.23b	43.83±3.07a	8.51±1.08ab	33.90±0.71b
AB	0.24±0.02a	47.53±0.18a	37.21±1.08a	37.20±0.05b	6.59±0.58bc	37.10±0.21a
AEB	0.21±0.01b	45.86±1.14ab	39.01±2.20a	40.08±2.27b	6.03±1.36c	35.13±0.45b
AMB	0.19±0.01c	44.70±1.42bc	39.56±3.68a	37.98±7.03b	8.05±1.63abc	34.44±1.51b
AEMB	0.17±0.01d	41.81±1.52d	39.10±0.67a	41.65±1.25b	9.79±1.49a	31.67±1.06c

9.12%和12.92%)。将AEMB与AE处理比较,其F3含量显著增加,同时F5的含量也有增加;在AB处理下,土壤中活性态As(F1、F2、F3)含量相比CK显著提升,增幅依次为9.09%、4.74%、19.45%,而F5的含量降低了23.99%,F4的含量也小幅降低(2.54%),表明生物炭施用后导致土壤As的活化主要是由F5溶解转化成活性较强的As形态。在AEB处理下,土壤中F1的含量降低4.55%,F5含量相对于AE处理显著下降($P<0.05$),而F3含量较CK大幅增加(25.23%),同时出现F4的小幅增加(5.00%),这表明蚯蚓促进了土壤中F5向F3和F4的转化。在AMB处理下,土壤活性态As显著降低,F1和F2分别降低13.64%和1.50%,而F3却大幅增加(比CK增加27.00%),同时F5含量下降,这表明MBC导致土壤其他形态As向F3转化。而在AEMB处理下,土壤中的As除出现类似AE处理及AMB处理的现象外,还导致F5的增加,这可能与MBC及蚯蚓联合作用机制有关。由上可知,土壤中F1、F2降低及F3、F4、F5升高意味着土壤活性态As向稳定态As的转化,同时表明相应处理对土壤As的钝化作用明显。

通过对迁移系数M的计算可知,CK、AE、AB、

AEB、AMB和AEMB的迁移系数分别为36.90%、33.90%、37.10%、35.13%、34.44%和31.67%。除AB处理外,各处理的迁移系数均较CK降低。其中,以AEMB降幅最大,其次为AE、AMB和AEB处理。由此可知,蚯蚓与MBC在单一及联合处理下,均会导致土壤As迁移系数显著降低($P<0.05$),而未改性生物炭AB处理正好相反,其导致土壤As的迁移系数显著升高($P<0.05$)。

比较而言,AB处理导致土壤As的活化效应明显,AEB处理则可缓解生物炭活化土壤As的效果,其与AE、AMB处理相比虽然表现出一定的固定作用,但综合来看,仍以AEMB处理的钝化效果最优。

2.4 蚯蚓生长及富集As的状况

从本试验中蚯蚓的生长状况看,当土壤培养至60 d时,BC及MBC处理下蚯蚓的存活率均有一定程度的下降,说明外源生物炭对蚯蚓生存产生了一定的干扰,尤其以AEB处理下存活率降幅更明显(表5),存活率排列顺序为SE>AE>AEMB>AEB。清洁土与污染土中蚯蚓的生存状况间并无显著差异,即无论从蚯蚓的存在条数、总质量降低率还是从存活率来看,各试验处理间均无显著差异,这表明蚯蚓与生物炭联

表5 60 d时不同处理中蚯蚓生长状态及体内 As 含量

Table 5 Growth status and arsenic content of earthworms in different treatments when cultivated 60 days

处理 Treatments	蚯蚓的条数 Number of earthworms	蚯蚓体内 As 含量 As content in earthworms/(mg·kg ⁻¹)	蚯蚓总质量降低率 Total earthworms weight loss rate/%	存活率 Survival rate/%
SE	34±1a	—	53.26±2.88a	99.04±1.65a
AE	34±1a	14.35±0.84c	55.57±5.80a	98.10±1.65a
AEB	32±3a	22.02±0.02a	54.63±3.72a	91.43±7.56a
AEMB	34±1a	18.94±0.25b	56.01±1.07a	97.14±2.86a

注:“—”代表未检出;蚯蚓总质量降低率是指第1 d放入的蚯蚓总质量与第60 d的蚯蚓总质量的差再除以第1 d放入的蚯蚓总质量;存活率是指60 d时蚯蚓剩余数量除以第1 d时放入的蚯蚓数量。

Notes: “—” means not detected. Total earthworms weight loss rate refers to the difference between total earthworms weight on day 1 and the total earthworms weight on day 60 and divides by the total earthworms weight on day 1; Survival rate means the number of earthworms left on day 60 divides the number of earthworms on day 1.

合处理均不会显著影响蚯蚓的生存。说明本研究中赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)具有良好的耐 As 能力,对 As 污染表现不敏感。另从蚯蚓对土壤 As 的富集效果看(表5),不同处理下蚯蚓体内 As 含量呈现一定差异,各处理中蚯蚓对 As 有显著的富集作用($P<0.05$),AEB 及 AEMB 蚯蚓体内 As 含量较 AE 处理下均显著增加($P<0.05$),增幅分别为 53.45% 和 31.99%,说明在 As 污染土壤中,由于生物炭的引入会导致蚯蚓对土壤 As 的富集能力增强。

2.5 土壤 WSAs 与 pH 值的相关分析

统计分析的结果表明,土壤中 WSAs 含量与土壤 pH 值呈现极显著的正相关关系($P<0.01$)(图2),即材料的加入,导致土壤 pH 值的变化规律与土壤中 WSAs 含量的变化趋势具有良好的一致性,土壤 pH 值升高的同时,土壤 WSAs 含量也不断升高,土壤 As 的活化更明显。

3 讨论

3.1 生物炭及其改性对土壤 As 移动性的影响

土壤 As 的迁移性和可利用性与氧化还原电位、土壤 pH 值、铁/锰/铝氧化物的矿物组成等土壤条件密

切相关^[27-28]。根据 Vithanage 等^[29]的研究,生物炭通过改变土壤 pH 值、阳离子交换量、氧化还原电位和土壤中溶解有机碳等因素,从而影响 As 的迁移率和可利用性。其中,土壤 pH 值可显著影响土壤中重金属的生物利用度^[30],通常土壤中 As 的移动性随土壤 pH 值的降低而减弱。在本研究中,随着培养时间的延长,各处理中土壤 pH 值均表现出降低的趋势,这与土壤有效 WSAs 含量降低的趋势基本一致。向土壤中添加 BC(pH 9.26)后,土壤 pH 值增加,较高的 pH 值有利于土壤中 As 的活化,这与以往诸多研究得出生物炭施用导致土壤 As 活化的规律一致^[27];加入 MBC(pH 6.06)后,土壤 pH 值却显著降低,更利于土壤 As 的钝化,MBC 对土壤 As 的钝化主要与其特性密切相关。前期研究发现,MBC 对 As 的最大吸附量达 108.88 g·kg⁻¹,其吸附与氧化铈、氧化锰的负载有关^[20],这主要得益于改性生物炭材料多方面性质的改善。经改性后 MBC 比表面积从 5.525 m²·g⁻¹增大到 6.881 m²·g⁻¹,平均孔宽从最初的 36.00 nm 减小到最终的 10.68 nm,孔隙容积从 0.005 cm³·g⁻¹增大到 0.024 cm³·g⁻¹,这些表面特性的变化均有利于其对 As 的吸附。与此同时,丰富的羟基在 As 吸附过程中起关键作用。FT-IR 和 XPS 等分析结果表明,As 在 MBC 上的吸附可能与静电作用、表面吸附、氧化还原反应和表面络合等多种机制有关^[31]。此外,土壤中 As 可以通过与 MBC 中铈、锰氧化物形成配位体或共沉淀作用,同时发生土壤活性 As 向稳定态 As 的转化,增强对土壤 As 的固定能力^[19]。

3.2 蚯蚓及其与生物炭对土壤 As 的钝化机制

蚯蚓对土壤中的 As 会产生多方面的影响。首先,蚯蚓在土壤中的生存活动会导致土壤 pH 值下降,这主要因为蚯蚓从土壤中摄取有机质并将其分解转化为氨基酸等简单的化合物,以蚓粪的形式排出,这

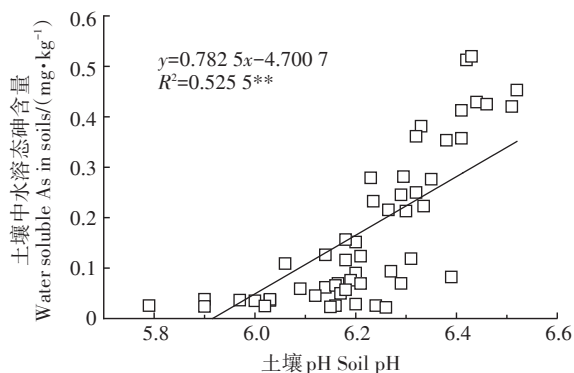


图2 土壤中 WSAs 与 pH 值的相关性分析

Figure 2 Correlation analysis of soil WSAs and pH

些有机物分解和硝化过程有助于土壤酸化^[32]。在蚓体及微生物的作用下,土壤中的有机质被分解成腐植酸^[33],使土壤呈酸性。其中,腐植酸的主要功能基团如羧基、苯酚及醇中的羟基和胺基都可以参与重金属的配合反应,同时,蚯蚓产生的体液尿液等黏液^[34]大多是低分子量水溶性碳水化合物、氨基酸、糖苷和糖蛋白的混合物^[35],这些小分子有机物既可使土壤呈酸性^[36],也会与土壤中重金属离子结合以降低其毒性和有效性。Cheng等^[37]的研究表明,蚯蚓的活动降低了酸性红壤pH值。在本试验中,蚯蚓总体上降低了土壤pH值,这与前人的诸多研究结果一致^[38-39],土壤pH值降低必然导致土壤As的钝化。其次,蚯蚓皮肤可通过表皮黏液腺的黏液分泌和肾孔的分泌物来实现对(类)金属的吸收,还可通过土壤吞噬作用累积重金属^[40]。

本研究发现,与清洁土相比较,蚯蚓在As污染土壤中对As的富集作用显著($P<0.05$)。当试验进行至60 d时,AEB处理蚯蚓体内的As含量显著高于AEMB处理,这与相应处理下土壤As结合形态的规律趋于一致。即在AEB处理下,F1、F2的含量及迁移系数均显著高于AEMB处理,在这两个处理中蚯蚓生长状况相似的前提下,BC的施用显著提升了土壤活性态As含量及迁移系数,导致蚯蚓由体表皮肤和肠道吸收土壤As作用比AE处理大幅增强,而在MBC作用下,其对土壤As的固定作用增强,土壤活性态As含量显著降低,蚯蚓通过皮肤和肠道作用吸收有效As的量也会下降,从而导致AEMB处理下蚯蚓吸收As的含量显著低于AEB处理($P<0.05$)。至于AEMB处理下蚯蚓体内As含量显著高于AE处理,这种差异可能与AEMB处理下蚯蚓对土壤As形态中F3吸收后的转化富集有关。关于蚯蚓对重金属富集机制,有研究表明蚯蚓体内黄色组织中的黄色细胞具有蓄积重金属的作用^[41],其体内的金属螯合蛋白和金属硫蛋白(MTs)等,可以与重金属形成巯基络合物等毒性较低的物质被隔离在特定组织中,导致重金属在蚯蚓体内富集并缓慢排出^[42],这种解毒机制可以有效减少重金属对蚯蚓机体的损害。

另根据土壤不同结合形态As的结果可看出,尽管蚯蚓及MBC对土壤As均有一定的钝化效果,但蚯蚓、MBC及其两者联合作用固定土壤As的机制存在明显差异。由表4可知,AE处理导致土壤As形态中F1、F2、F5含量降低的同时,F3和F4含量显著增加,表明蚯蚓可导致土壤活性As向F3及F4的转化;MBC

施用后可导致F1、F2、F4、F5含量下降,F3含量大幅增加,说明AMB处理可导致大量F3的生成;在AB处理下,土壤As的活化作用明显,当有蚯蚓存在时的AEB处理却导致土壤中活化的As被重新固定,主要导致F3及F4的重新形成,相比AB处理下分别增加了5.78%和7.54%,F1降低了13.64%,F2降低了3.68%,与AE的固定效果类似;与AE处理不同的是,AMB处理主要导致F3的大幅增加(27.00%)。值得关注的是,不同结合形态As的变化规律与WSAs的变化规律基本吻合。

由上可知,MBC与蚯蚓钝化土壤As的机制存在差异,蚯蚓的存在导致F5溶解,F1及F2固定并转化为F3和F4;而MBC的固定机制主要为其他形态的As转化为F3。AEMB处理则导致F1及F2的固定,同时带来F3、F4及F5的生成,F5含量显著提升体现了两者共同作用与As结合生成了新产物,此效果表现为协同钝化作用,体现了在蚯蚓和MBC单一作用机制的基础上,增加了活性As向F5转化的机制,即体现了两者叠加的协同钝化效果,并同时出现了新的结合产物,这可能与蚯蚓分泌物(如腐植酸)与MBC联合作用后增强了其对土壤As的固定能力有关^[43]。此结果与WSAs的结果具有较好的一致性,因此,在AEMB处理下,尽管土壤有效As含量较低,但蚯蚓对土壤As的富集能力依然较强。这与以往研究发现的随着土壤孔隙水中重金属浓度的降低,土壤中蚯蚓富集重金属能力不断增强的结果有相似之处^[44]。当然,有关机理的深度揭示,尚有待今后的进一步探讨。

4 结论

(1)赤子爱胜蚓与MBC联合作用显著降低了污染红壤中有效态As含量($P<0.05$),培养至60 d时,相比对照土壤,土壤水提取态As含量降低了77.59%,其对土壤As的固定效果优于蚯蚓及MBC的单一处理,两者协同钝化作用明显。

(2)随着MBC与赤子爱胜蚓联合作用时间的延长,土壤中pH值总体呈现下降的趋势。当试验进行至60 d时,AEMB处理下的As污染红壤中土壤pH值相比于对照降低了0.84个单位,显著低于蚯蚓、MBC及BC的单一处理及AEB处理,土壤pH值降低有利于土壤As的稳定化。

(3)蚯蚓与MBC联合作用可导致土壤As由非专性吸附态、专性吸附态向无定型/弱结晶水合铁铝氧化物结合态、结晶水合铁铝氧化物结合态和残渣态

转化, As 的移动性大幅降低; 在 MBC 施用后的 As 污染土壤中, 蚯蚓生长状况良好, 将两者联合应用于 As 污染土壤修复的固定效果最佳, 具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] Sinha D, Prasad P. Health effects inflicted by chronic low-level arsenic contamination in groundwater: A global public health challenge[J]. *Journal of Applied Toxicology*, 2019, 40(1): 87-131.
- [2] 李莲芳, 曾希柏, 白玲玉, 等. 石门雄黄矿周边地区土壤砷分布及农产品健康风险评估[J]. 应用生态学报, 2010, 21(11): 2946-2951. LI Lian-fang, ZENG Xi-bai, BAI Ling-yu, et al. Soil arsenic content and its health risk assessment for agricultural products in the region surrounding Shimen arsenic sulphide mine[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(11): 2946-2951.
- [3] 肖细元, 陈同斌, 廖晓勇, 等. 中国主要含砷矿产资源的区域分布与砷污染问题[J]. 地理研究, 2008, 27(1): 201-212. XIAO Xi-yuan, CHEN Tong-bin, LIAO Xiao-yong, et al. Regional distribution of arsenic contained minerals and arsenic pollution in China[J]. *Geographical Research*, 2008, 27(1): 201-212.
- [4] 蔡保松, 陈同斌, 廖晓勇, 等. 土壤砷污染对蔬菜砷含量及食用安全性的影响[J]. 生态学报, 2004, 24(4): 711-717. CAI Bao-song, CHEN Tong-bin, LIAO Xiao-yong, et al. Arsenic concentrations in soils and vegetables and their risk assessments in highly contaminated area in Hunan Province[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(4): 711-717.
- [5] 谢华, 廖晓勇, 陈同斌, 等. 污染农田中植物的砷含量及其健康风险评估——以湖南郴州邓家塘为例[J]. 地理研究, 2005, 24(1): 151-159. XIE Hua, LIAO Xiao-yong, CHEN Tong-bin, et al. Arsenic in plants of farmland and its healthy risk: A case study in an As-contaminated site in Dengjatang, Chenzhou City, Hunan Province[J]. *Geographical Research*, 2005, 24(1): 151-159.
- [6] 席玉英, 李峰, 樊甲仁. 铬砷在土壤和作物体内积累与迁移规律的研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 1989, 12(4): 472-480. XI Yu-ying, LI Feng, FAN Jia-ren. The rule of accumulation and movement of Cr and As in soil and inside of plant[J]. *Journal of Shanxi University(Natural Science Edition)*, 1989, 12(4): 472-480.
- [7] 刘伟鹏. 砷在土壤-作物体系中的形态测定及累积规律研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2017. LIU Wei-peng. Study on the speciation and accumulation of arsenic in soil - crop system[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2017.
- [8] Bienert G P, Thorsen M, Schüssler M D, et al. A subgroup of plant aquaporins facilitate the bi-directional diffusion of As(OH)₃ and Sb(OH)₃ across membranes[J]. *BMC Biol*, 2008, 6(1): 26.
- [9] 王萌萌, 周启星. 生物炭的土壤环境效应及其机制研究[J]. 环境化学, 2013, 32(5): 768-780. WANG Meng-meng, ZHOU Qi-xing. Environmental effects and their mechanisms of biochar applied to soils[J]. *Environmental Chemistry*, 2013, 32(5): 768-780.
- [10] O'Connor D, Peng T, Zhang J, et al. Biochar application for the remediation of heavy metal polluted land: A review of in situ field trial[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 619/620: 815-826.
- [11] Nie C, Yang X, Niazi N K, et al. Impact of sugarcane bagasse-derived biochar on heavy metal availability and microbial activity: A field study[J]. *Chemosphere*, 2018, 200: 274.
- [12] Houben D, Evrard L, Sonnet P. Beneficial effects of biochar application to contaminated soils on the bioavailability of Cd, Pb and Zn and the biomass production of rapeseed (*Brassica napus* L.)[J]. *Biomass and Bioenergy*, 2013, 57: 196-204.
- [13] Eric F, Zama, Brian J, et al. Silicon(Si) biochar for the mitigation of arsenic(As) bioaccumulation in spinach (*Spinacia oleracean*) and improvement in the plant growth[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2018, 189: 386-395.
- [14] Wang N, Xue X M, Albert L, et al. Biochar increases arsenic release from an anaerobic paddy soil due to enhanced microbial reduction of iron and arsenic[J]. *Environmental Pollution*, 2017, 220: 514-522.
- [15] Beesley L, Marmiroli M, Pagano L, et al. Biochar addition to an arsenic contaminated soil increases arsenic concentrations in the pore water but reduces uptake to tomato plants (*Solanum lycopersicum* L.)[J]. *Science of the Total Environment*, 2013, 454/455: 598-603.
- [16] 熊静, 郭丽莉, 李书鹏, 等. 砷污染土壤钝化剂配方优化及效果研究[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(8): 1909-1918. XIONG Jing, GUO Li-li, LI Shu-peng, et al. Optimizing the formulation and stabilization effects of an amendment for cadmium and arsenic contaminated soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(8): 1909-1918.
- [17] 解攀, 张言, 王雪梅, 等. 改性锯末生物炭对水中 As(Ⅲ) 和 Cd(Ⅱ) 吸附机制的研究[J]. 应用化工, 2020, 49(2): 296-301, 307. XIE Pan, ZHANG Yan, WANG Xue-mei, et al. Removal characteristics of As(Ⅲ) and Cd(Ⅱ) from aqueous solution by modified sawdust-ash biochar[J]. *Applied Chemical Industry*, 2020, 49(2): 296-301, 307.
- [18] 朱司航, 赵晶晶, 尹英杰, 等. 针铁矿改性生物炭对砷吸附性能[J]. 环境科学, 2019, 40(6): 2773-2782. ZHU Si-hang, ZHAO Jing-jing, YIN Ying-jie, et al. Application of goethite modified biochar for arsenic removal from aqueous solution[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(6): 2773-2782.
- [19] 梁婷, 李莲芳, 朱昌雄, 等. 铈锰改性生物炭对土壤 As 的固定效应[J]. 环境科学, 2019, 40(11): 5114-5123. LIANG Ting, LI Lian-fang, ZHU Chang-xiong, et al. Cerium-manganese modified biochar immobilizes arsenic in farmland soils[J]. *Environmental Science*, 2019, 40(11): 5114-5123.
- [20] Sivakumar S. Effects of metals on earthworm life cycles: A review[J]. *Environmental Monitoring and Assessment*, 2015, 187(8): 530.
- [21] Leveque T, Capowiez Y, EvaSchreck, et al. Assessing ecotoxicity and uptake of metals and metalloids in relation to two different earthworm species (*Eiseina hortensis* and *Lumbricus terrestris*)[J]. *Environmental Pollution*, 2013, 179: 232-241.
- [22] Nannoni F, Protano G, Riccobono F. Uptake and bioaccumulation of heavy elements by two earthworm species from a smelter contaminated area in northern Kosovo[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2011, 43(12): 2359-2367.
- [23] Sizmur T, Hodson M E. Do earthworms impact metal mobility and

- availability in soil? A review[J]. *Environmental Pollution*, 2009, 157(7):1981-1989.
- [24] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3版. 北京: 中国农业出版社, 2000: 30-103. BAO Shi-dan. Soil and agricultural chemistry analysis[M]. 3rd Edition. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 30-103.
- [25] Wenzel W W, Kirchbaumer N, Prohaska T, et al. Arsenic fractionation in soils using an improved sequential extraction procedure[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2001, 436(2):309-323.
- [26] Li L F, Zhu C X, Liu X, et al. Biochar amendment immobilizes arsenic in farmland and reduces its bioavailability[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2018, 25(34):34091-34102.
- [27] 钟松雄, 尹光彩, 陈志良, 等. Eh、pH和铁对水稻土As释放的影响机制[J]. 环境科学, 2017, 38(6):2530-2537. ZHONG Song-xiong, YIN Guang-cai, CHEN Zhi-liang, et al. Influencing mechanism of Eh, pH and iron on the release of arsenic in paddy soil[J]. *Environmental Science*, 2017, 38(6):2530-2537.
- [28] Wang Y, Zhang M M, Zhang D, et al. The influence of sediment particle size on the properties of adsorbed dissolved organic matter in the Yangtze Estuary and its interactions with As/Sb[J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2016, 105(1):351-358.
- [29] Vithanage M, Herath I, Joseph S, et al. Interaction of arsenic with biochar in soil and water: A critical review[J]. *Carbon*, 2017, 113:219-230.
- [30] Wen B, Hu X Y, Liu Y, et al. The role of earthworms(*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils[J]. *Biology & Fertility of Soils*, 2004, 40(3):181-187.
- [31] Liang T, Li L F, Zhu C X, et al. Adsorption of As(V) by the novel and efficient adsorbent cerium-manganese modified biochar[J]. *Water*, 2020, 12(10):2720.
- [32] Huang C, Wang W, Yue S, et al. Role of biochar and *Eisenia fetida* on metal bioavailability and biochar effects on earthworm fitness[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263(Pt A):114586.
- [33] Gogoi A, Biswas S, Bora J, et al. Effect of vermicomposting on copper and zinc removal in activated sludge with special emphasis on temporal variation[J]. *Ecohydrology and Hydrobiology*, 2015, 15(2):101-107.
- [34] Bityutskii N P, Maiorov E I, Orlova N E. The priming effects induced by earthworm mucus on mineralization and humification of plant residues[J]. *Eur J Soil Biol*, 2012, 50:1-6.
- [35] Pan X, Song W, Zhang D. Earthworms(*Eisenia foetida*, Savigny) mucus as complexing ligand for imidacloprid[J]. *Biology & Fertil Soils*, 2010, 46:845-850.
- [36] Shutenko G S, Kelleher B P, André J. et al. Evidence for substantial acetate presence in cutaneous earthworm mucus[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2020, 20:3627-3632.
- [37] Cheng J, Wong M H. Effects of earthworms on Zn fractionation in soils[J]. *Biology & Fertility of Soils*, 2002, 36(1):72-78.
- [38] Wang J, Shi L, Zhang X, et al. Earthworm activities weaken the immobilizing effect of biochar as amendment for metal polluted soils[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 696:133729.
- [39] Cheng J, Ming H W. Effects of earthworms on Zn fractionation in soils[J]. *Biol Fert Soils*, 2002, 36(1):72-78.
- [40] Spurgeon D J, Hopkin S P. Effects of variations of the organic matter content and pH of soils on the availability and toxicity of zinc to the earthworm *Eisenia fetida*[J]. *Pedobiologia*, 1996, 40(1):80-96.
- [41] Hobbelen P H F, Koolhaas J E, Gestel C A M V. Bioaccumulation of heavy metals in the earthworms *Lumbricus rubellus* and *Aporrectodea caliginosa* in relation to total and available metal concentrations in field soils[J]. *Environmental Pollution*, 2006, 144(2):639-646.
- [42] 李许明, 李福燕, 郭彬, 等. 蚯蚓对土壤重金属的影响[J]. 安徽农业科学, 2007(13):3940-3941. LI Xu-ming, LI Fu-yan, GUO Bin, et al. Effect of earthworm on heavy metal in soil[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007(13):3940-3941.
- [43] 颜昌宙, 郭建华, 罗专溪, 等. 一种铁锰腐殖酸改性生物炭及其制备方法与应用:2019. CN201910380460. 4[P]. 2019-07-16. YAN Chang-zhou, GUO Jian-hua, LUO Zhuan-xi, et al. A kind of iron manganese humic acid modified biochar and its preparation method and application:2019. CN201910380460. 4[P]. 2019-07-16.
- [44] Becquer T, Dai J, Cécile Quantin, et al. Sources of bioavailable trace metals for earthworms from a Zn-, Pb- and Cd-contaminated soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2005, 37(8):1564-1568.