

稻田土壤可溶性有机碳荧光组分对砷甲基化的影响

李令仪, 张楠, 张洋, 吴翠霞, 曾希柏, 苏世鸣

引用本文:

李令仪, 张楠, 张洋, 吴翠霞, 曾希柏, 苏世鸣. 稻田土壤可溶性有机碳荧光组分对砷甲基化的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(10): 2211–2219.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2022-1260>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

P、Fe及水分对土壤砷有效性和小麦砷吸收的影响

李思妍, 史高玲, 姜来清, 蔡庆生

农业环境科学学报. 2018, 37(3): 415–422 <https://doi.org/10.11654/jaes.2017-1251>

等碳量玉米秸秆及其腐解、炭化材料还田对黑土腐殖质的影响

邵满娇, 窦森, 谢祖彬

农业环境科学学报. 2018, 37(10): 2202–2209 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0123>

秸秆还田对麦玉系统土壤有机碳稳定性的影响

王学霞, 张磊, 梁丽娜, 宋宁宁, 刘东生, 王甲辰

农业环境科学学报. 2020, 39(8): 1774–1782 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-0010>

有机硫影响稻田土壤甲基汞的产生

蔡章棣

农业环境科学学报. 2021, 40(7): 1492–1497 <https://doi.org/10.11654/jaes.2020-1304>

玉米秸秆添加畜禽粪便田间条带堆腐对黑土活性有机碳的影响

李虎, 吴景贵, 李建明

农业环境科学学报. 2021, 40(9): 1944–1953 <https://doi.org/10.11654/jaes.2021-0023>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

李令仪, 张楠, 张洋, 等. 稻田土壤可溶性有机碳荧光组分对砷甲基化的影响[J]. 农业环境科学学报, 2023, 42(10): 2211–2219.

LI L Y, ZHANG N, ZHANG Y, et al. Effects of soluble organic carbon fluorescence components on arsenic methylation in paddy soil [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2023, 42(10): 2211–2219.

稻田土壤可溶性有机碳荧光组分对砷甲基化的影响

李令仪, 张楠, 张洋, 吴翠霞, 曾希柏, 苏世鸣*

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

摘要:以浙江省绍兴市上虞地区砷污染水稻土为对象,采用厌氧培养试验研究了秸秆和猪粪两种不同有机物料施用后土壤溶液中甲基砷及有机碳荧光组分含量变化,初步探索了两者的可能存在的关联。结果表明:秸秆与猪粪处理及其不同添加量水平显著影响土壤溶液中甲基砷浓度,厌氧培养5 d后,秸秆处理3种添加量(分别以0.5%、1.0%和1.5%的总有机碳添加量计)水平下的甲基砷浓度分别增加了40.3%、24.2%和24.0%,猪粪处理3种添加量(分别以0.5%、1.0%和1.5%的总有机碳添加量计)水平下的甲基砷增加量低于秸秆处理,增幅分别为15.5%、6.9%和3.8%;厌氧培养前后土壤溶液中总有机碳消耗量与甲基砷增加量呈显著正相关($P < 0.05$);秸秆与猪粪处理后土壤溶液中有机碳荧光组分和性质存在明显差异,秸秆源有机碳的腐殖化程度低,生物可利用性相对更高,且含有更多的可溶性微生物副产物(SMP)、芳香蛋白类 I (AP I)和芳香蛋白类 II (AP II);厌氧培养5 d后,荧光指数、芳香蛋白类、富里酸类物质(FA)和腐植酸类物质(HA)与甲基砷浓度均呈显著正相关($P < 0.05$),而腐殖化指数与甲基砷浓度负相关,但相关性不显著($P > 0.05$)。综合来看,不同类型有机物料降解后有机碳荧光组分存在明显差异,其中AP II、FA和HA浓度可能是影响砷甲基化的重要因素,相关结果有利于明确稻田砷甲基化过程的关键碳分子形态以及服务于今后水稻直穗病预警防控。

关键词:三维荧光;稻田土壤;有机物料;砷甲基化;水稻直穗病

中图分类号:X53 **文献标志码:**A **文章编号:**1672–2043(2023)10–2211–09 **doi:**10.11654/jaes.2022–1260

Effects of soluble organic carbon fluorescence components on arsenic methylation in paddy soil

LI Lingyi, ZHANG Nan, ZHANG Yang, WU Cuixia, ZENG Xibai, SU Shiming*

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

Abstract: The difference between methylated arsenic and organic carbon fluorescence components in soil solution after application of two different organic materials, straw and pig manure, was investigated through an anaerobic cultivation experiment in arsenic-contaminated paddy soil in Shangyu area of Shaoxing City, Zhejiang Province. The possible relationship between methylated arsenic and organic carbon fluorescence components was preliminarily explored. The results indicated that straw and pig manure treatment at different addition levels significantly affected the content of methylated arsenic in soil solution. After 5 days of anaerobic cultivation, methylated arsenic increased by approximately 40.3%, 24.2%, and 24.0% under three application levels of pig manure addition (0.5%, 1.0%, and 1.5%, respectively, calculated based on total organic carbon); the increment of methylated arsenic under pig manure treatment was lower than that under straw treatment, with an increase of 15.5%, 6.9% and 3.8% under three application levels of pig manure addition (0.5%, 1.0%, and 1.5%, respectively, calculated based on total organic carbon). The consumption of total organic carbon in soil solution was significantly positively correlated with the increase of methylated arsenic after anaerobic cultivation ($P < 0.05$). Significant differences were observed in the

收稿日期:2022–12–09 录用日期:2023–02–22

作者简介:李令仪(1997—),女,河北石家庄人,硕士研究生,从事农田土壤重金属污染修复研究。E-mail:lilingyi@caas.cn

*通信作者:苏世鸣 E-mail:sushiming@caas.cn

基金项目:国家自然科学基金项目(42077139);中国农业科学院创新工程项目(CAAS-ASTIP-2021-IEDA)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China(42077139); The Science Innovation Project of the Chinese Academy of Agricultural Science(CAAS-ASTIP-2021-IEDA)

fluorescence composition and properties of organic carbon in soil solution under straw and pig manure treatment; the organic carbon from straw source had lower humification degree, higher bioavailability and more soluble microbial products (SMP), aromatic protein I (AP I), and aromatic protein II (AP II). After 5 days of anaerobic cultivation, the fluorescence index, aromatic proteins, fulvic acid (FA), and humic acid (HA) were significantly positively correlated with the content of methylated arsenic ($P < 0.05$), and the humification index was negatively correlated with methylated arsenic content ($P > 0.05$). In summary, the organic carbon fluorescence components are significantly different after degradation of different types of organic materials; AP II, FA, and HA contents may be important factors affecting arsenic methylation.

Keywords: 3D excitation-emission-matrix; paddy soil; organic material; arsenic methylation; straight head disease

砷(As)是一种广泛存在于环境中的有毒类金属元素,通常以无机态砷包括砷酸盐[As(V)]、亚砷酸盐[As(III)]和有机态砷如一甲基砷(MMAs)、二甲基砷(DMAs)和三甲基砷(TMAOs)等形式存在^[1]。不同形态砷的毒性差异较大,一般认为无机砷的毒性远高于有机砷,其中As(III)毒性约是As(V)的25~60倍,约是有机砷的70倍^[2]。稻田淹水后As(V)易还原为As(III),从而增加了砷的移动性与活性^[3],而水稻根系可分别通过磷酸盐和硅酸盐的通道蛋白实现对As(V)和As(III)的吸收,进而造成水稻对砷的累积^[3-4]。有研究发现,与其他类型作物如叶类蔬菜、玉米等的可食部位砷累积状况相比,稻米中砷含量高10~22倍^[5]。稻米是我国特别是南方地区居民饮食的主要作物,也是人体通过食物链摄入砷的主要来源^[6-7]。

水稻直穗病是水稻颖壳畸形病变造成无法成功灌浆,表形为稻穗直立,可造成水稻减产甚至绝产^[8-9]。近年来研究发现,水稻籽粒颖壳中积累较多的DMAs是导致直穗病发生的主要原因^[9]。然而水稻植株本身不会合成有机砷,其主要是通过根系吸收土壤中的DMAs,DMAs在根系中具有较高的向上转运能力,从而导致水稻颖壳和籽粒中DMAs过量积累^[10]。研究表明,土壤微生物通过胞内 $arsM$ 基因编码的S-腺苷甲硫氨酸甲基转移酶(SAM)使As(III)发生甲基转化,主要依次产生MMAs、DMAs和TMAOs^[2,11]。稻田土壤中影响砷甲基化的因素有很多,例如底物As(III)浓度水平^[12]、 $arsM$ 功能微生物活性^[11]、水分状况^[13]、温度^[12]以及有机质含量状况^[14]等。砷超标稻田施用有机物料不仅易造成孔隙水As(III)浓度增加,还易增加砷甲基转化效率和水稻籽粒累积As(III)和DMAs的风险^[15]。不同类型及不同投入量的有机物料对砷甲基化过程的促进作用存在明显差异^[16-17],这可能是由于有机物料分解后的有机碳分子组成、性质和含量存在差异,进而导致其介导砷甲基转化过程差别

化。Yan等^[18]研究发现,稻田土壤中砷甲基化效率随着可溶性有机物中烷基碳、羧基碳等活性碳官能团丰度的增加而显著提高。田翔等^[19]发现秸秆和牛粪的分解产物的芳香性、疏水性和腐殖化水平存在明显差异,芳香性较高的有机质会络合甲基汞,降低其植物可利用性。Lei等^[20]的研究表明藻类分解过程中芳香性低的富氧富氮小分子碳,如芳香蛋白类有机物,提高了携带有汞甲基化基因的微生物丰度,从而提高了湖泊中的汞甲基化效率。目前稻田土壤中可溶性有机碳组成特征与甲基砷产生的关联性仍未明确,该工作对于探索稻田砷甲基化过程的可能影响因素及服务于今后水稻直穗病的发生预警均具有重要意义。

三维荧光光谱(3DEEM)技术在有机质成分表征方面的应用发展迅速,荧光区域积分(FRI)法是常用的解谱方法,可对复杂体系中的荧光组分进行识别,并通过积分获得其相对浓度^[21]。本实验选取砷污染水稻土壤为研究对象,通过室内培养模拟开展相关工作,一是分析稻田孔隙水培养前后有机砷含量及总有机碳(TOC)变化,二是利用三维荧光光谱技术表征培养后溶液中有机碳分子荧光组分特征,并尝试探索其与甲基态砷的相关性。

1 材料与方法

1.1 供试材料及其理化性质

供试土壤采自浙江省绍兴市上虞地区(29°59' N, 120°47' E)砷污染水稻土壤,母质类型为粗松咸砂土。土壤样品经自然风干后混合均匀,去除植物残根和石砾,用玛瑙研钵研磨后过2 mm和0.25 mm尼龙筛备用。供试土壤总砷含量为96.7 mg·kg⁻¹,全铁含量为19.7 g·kg⁻¹,全锰含量为435.0 mg·kg⁻¹,总氮含量为2.2 g·kg⁻¹,有机质含量为33.6 g·kg⁻¹,阳离子交换量为43.2 cmol·kg⁻¹,pH值为5.8。

水稻秸秆和猪粪取自中国农业科学院岳阳农业

环境科学观测实验站,实验前水稻秸秆切碎研磨成粉末,猪粪自然风干研磨后过20目(0.850 mm)筛备用。秸秆和猪粪在施用前均利用 γ 射线物理灭菌,避免带入生物污染。

1.2 实验设计

为模拟稻田土壤不同类型和不同添加量的有机物料还田营造的复杂有机碳环境,实验设计了2种有机物料处理和3种投入量水平。为研究培养过程中土壤溶液甲基砷含量变化与有机碳荧光组分特征变化之间的可能关联,减少土壤胶体本身对溶液中有机碳分子的可能补给与固定的影响,实验以土壤浸提液培养的方式开展。实验过程如下:将灭菌后的秸秆粉末和猪粪粉末与30 g供试土壤充分混合,秸秆施用量分别为0.375、0.750 g和1.500 g(分别标记为RS、2RS和3RS),猪粪施用量分别为0.470、0.940 g和1.880 g(分别标记为PM、2PM和3PM),有机物料施用量按TOC添加量分别为土壤质量的0.5%、1.0%和1.5%计算得到,以不添加任何有机物料的供试土壤作为对照(CK),各处理设置3个重复。将各处理土壤放进100 mL离心管,在30℃的黑暗环境中进行恒温淹水培养,保持土面以上2 cm的静水层,每日通过称质量补充水分,保持水分不变。土壤培养7 d以后,以4 000 $r \cdot \min^{-1}$ 离心20 min,静置后提取25 mL上清液,转移到血清培养瓶中,在液面以上充氮气5 min,赶走上层空气,营造相对厌氧环境,并于30℃恒温静置培养。培养4 h和5 d时分别收集溶液样品,用于砷形态、TOC含量测定,考虑工作量原因,将培养5 d后的各添加量水平的3个重复样品混合均匀后用于三维荧光光谱分析。

1.3 样品分析与测定

砷形态分析:溶液样品过0.22 μm 滤膜后,取1 mL待测液添加200 μL H_2O_2 (30%)氧化样品15 min,使用高效液相电感耦合等离子体质谱仪(HPLC-ICP-MS, Agilent 7900, 美国)测定各砷形态的浓度。为提高砷形态分析质量,测样时每间隔10个样品检测一次As(Ⅲ)单标溶液(GBW08666, 中国计量科学研究院),本实验中各批次单标溶液回收率达97%。

TOC测定:溶液样品过0.22 μm 滤膜后,采用同步TOC/N分析仪(Multi C/N 2100 S, Jena Analytik Jena, 德国)测定样品中的TOC。

三维荧光光谱测定:溶液样品过0.45 μm 滤膜后,使用稳态荧光光谱仪(FLS1000, 英国爱丁堡公司)扫描三维荧光光谱。以去离子水为空白,激发波

长(E_x)范围为200~450 nm,增量为5 nm,发射波长(E_m)范围为250~600 nm,扫描信号积分时间为3 s,光源为150 W 氙弧灯。采用荧光区域积分法^[21]对溶液中的成分进行半定量分析,5个积分区域分别为芳香蛋白类Ⅰ(APⅠ, E_x 为220~250 nm, E_m 为280~330 nm)、芳香蛋白类Ⅱ(APⅡ, E_x 为220~250 nm, E_m 为330~380 nm)、富里酸类物质(FA, E_x 为220~250 nm, E_m 为380~550 nm)、可溶性微生物副产物(SMP, E_x 为250~340 nm, E_m 为280~380 nm)和腐植酸类物质(HA, E_x 为250~280 nm, E_m 为280~550 nm)。其他荧光光谱的特征参数计算方法见表1。

表1 特征参数计算方法

Table 1 Description of commonly used characteristic parameters of fluorescence spectra

荧光光谱特征参数 Characteristic parameters of fluorescence spectra	定义及计算方法 Definition and calculation
荧光指数(FI) ^[22]	E_x 为370 nm时, E_m 在470 nm和520 nm处的荧光发射强度比值
自生源指数(BIX) ^[23]	E_x 为310 nm时, E_m 在380 nm与430 nm处的荧光强度比值
腐殖化指数(HIX) ^[24]	E_x 为254 nm时, E_m 在435~480 nm区域积分值与 E_m 在300~345 nm区域积分值的比值

1.4 数据处理

采用Excel 2016和SPSS 23.0软件对数据进行统计分析, Origin 2021进行绘图和PCA分析,将原始三维荧光光谱数据进行转化校正并扣除空白后用Matlab 2016a软件对数据进行荧光区域积分分析。

2 结果与分析

2.1 土壤溶液甲基砷含量变化

土壤溶液厌氧培养4 h和5 d时相比较(图1A), 2RS、PM和3PM处理总砷(无机砷和甲基砷)浓度无显著差异($P>0.05$), 而CK、RS、3RS及2PM处理培养5 d后总砷浓度相比4 h时分别显著增加20.8%、26.2%、23.3%和5.4%。添加有机物料处理的土壤溶液中具有相对更高的甲基砷浓度,但不同类型有机物料处理后土壤溶液砷甲基化过程的激发作用不同,添加秸秆粉末后土壤溶液的甲基砷浓度增幅明显高于添加猪粪处理。CK处理培养5 d后溶液中甲基砷浓度比培养4 h时仅增加了7.1 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$; 秸秆处理下,培养5 d后RS、2RS、3RS处理甲基砷浓度分别增加了13.7、9.6 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和13.3 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,增幅分别为40.3%、

24.2%和24.0%;猪粪处理3种添加量水平下溶液甲基砷增加量要明显低于秸秆处理,培养5 d后PM、2PM、3PM处理甲基砷浓度分别增加了4.3、2.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和1.3 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,增幅分别为15.5%、6.9%和3.8%。

进一步分析各甲基态砷浓度变化发现,DMA_s浓度在各处理的甲基砷形态中比例最高,其各处理培养前后占比达到64.4%~78.4%(图1B)。各处理土壤溶液厌氧培养4 h和5 d时比较:CK处理DMA_s浓度仅增加了5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,增幅为44.0%;秸秆处理下,培养5 d后PM、2RS、3RS处理DMA_s浓度分别增加了11.2、7.4 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和13.2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,增幅分别为43.4%、26.6%和37.0%;猪粪处理下PM、2RM、3RM处理DMA_s浓度分别增加了2.3、3.2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和3.2 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,增幅分别为11.9%、16.0%和12.6%。

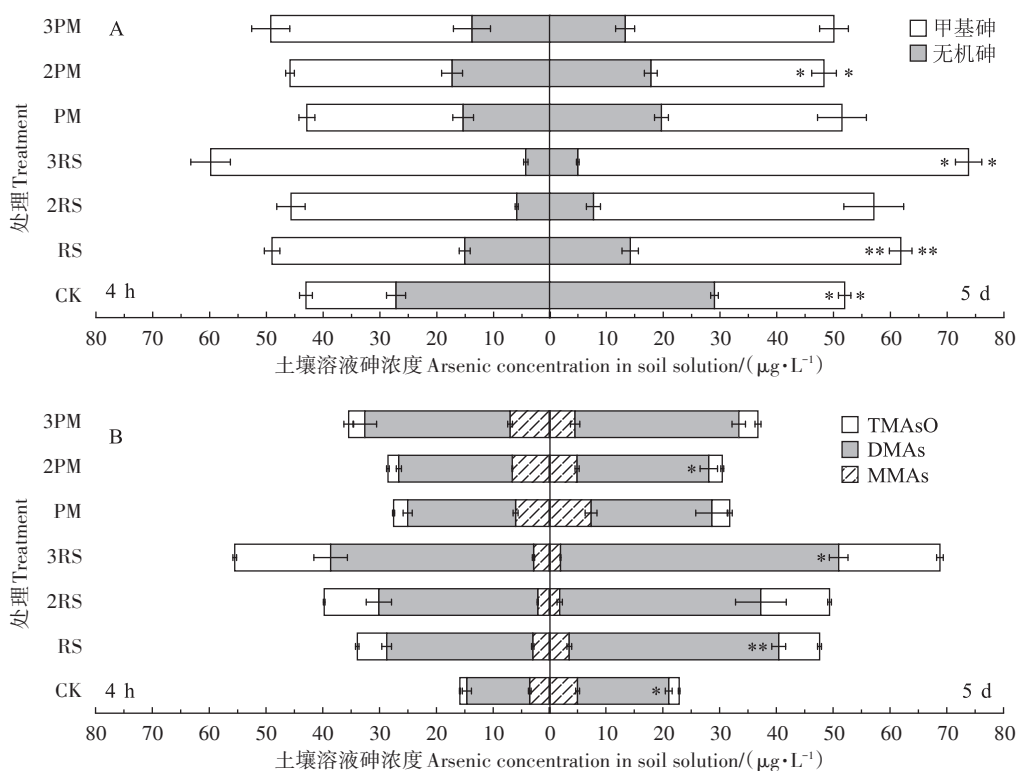
2.2 土壤溶液TOC浓度及其与甲基砷的相关性

添加有机物料显著提高土壤溶液中TOC浓度(图2A)。培养开始时(4 h),CK处理土壤溶液TOC浓度为244.3 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,而秸秆或猪粪处理TOC浓度均高于CK处理,且随着有机物料添加量增加而明显提高。

RS、2RS、3RS处理土壤溶液中TOC浓度分别为306.2、386.1 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和538.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,PM、2PM、3PM处理土壤溶液中TOC浓度分别为339.2、443.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和588.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,秸秆处理土壤溶液中TOC浓度明显高于猪粪处理。培养5 d后,各处理溶液中TOC浓度明显降低,其中秸秆处理土壤溶液中TOC消耗量明显高于猪粪处理。进一步分析发现,各处理TOC消耗量(ΔTOC)与甲基砷增加量(Δ 甲基砷)呈显著正相关($P<0.05$,图2B)。

2.3 土壤溶液TOC荧光光谱特征

为解析各处理土壤溶液中可溶性碳分子的组份性质差异,本文进一步基于荧光指数(FI)、自生源指数(BIX)和腐殖化指数(HIX)开展分析。已有研究表明:FI>1.9,主要为微生物活动所产生的内源可溶性有机质(DOM),自生源特征明显;FI<1.4,主要为以陆源输入的外源性DOM,自身生产力和微生物活动等贡献相对较低^[21,25]。如图3A所示,所有处理的土壤溶液在厌氧培养5 d后FI值均在1.4~1.9之间,说明溶解性有机碳的来源既包括陆源输入又包括自生源。CK



相同处理的总砷、甲基砷及DMA_s浓度在培养4 h和5 d时比较,在0.05水平显著差异标识为*,在0.01水平显著差异标识为**。

* and ** mean significant difference at the level of 0.05 and 0.01, respectively, for the total As, methylated As and DMA_s under the same treatment at cultivation time of 4 h and 5 d.

图1 不同有机物料处理及不同添加量水平下土壤溶液中各砷形态浓度

Figure 1 Concentrations of arsenic in soil solution with addition of different types and doses of organic materials

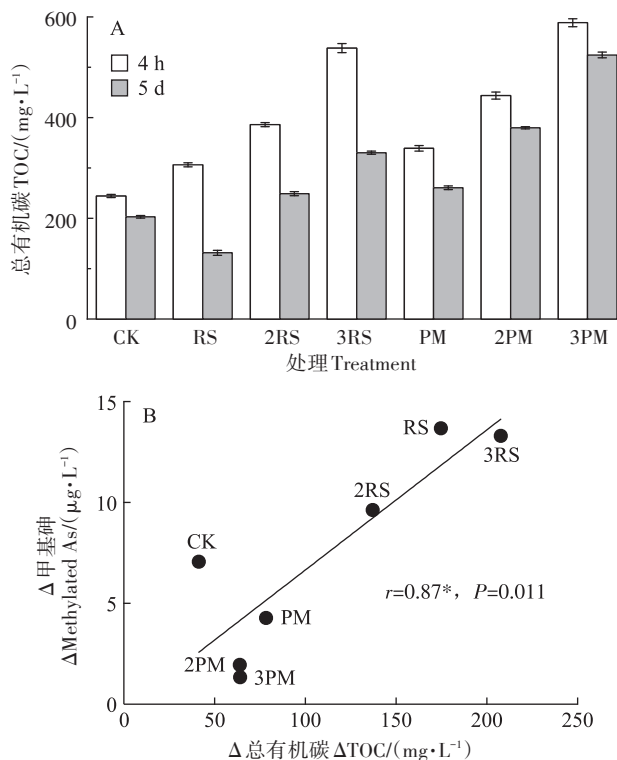


图2 土壤溶液TOC浓度变化及其与甲基砷变化量的相关性

Figure 2 Concentration of TOC in soil solution and the correlation between the consumed TOC (Δ TOC) and methylated As (Δ Methylated As)

处理的FI值为1.60, 秸秆处理3个添加量水平下的FI值分别为1.64(RS)、1.75(2RS)和1.72(3RS), 说明添加秸秆处理的土壤溶液中自生源有机碳的成分较多, 且2RS处理的FI值最高, 表明其微生物的生命活动最为活跃。而猪粪处理3个添加量水平下的FI值分别为1.58(PM)、1.52(2PM)和1.55(3PM), 均低于CK处理, 说明在猪粪处理的土壤溶液有机碳中微生物活动的贡献相对较低, 且随着猪粪添加量的增加, 自生源成分反而减少。此外, BIX指数越高, 自生源特征越明显, 蛋白组分的贡献越大, 生物可利用性越高^[26]。本研究中, CK处理的BIX指数为0.43(图3B), 秸秆处理3个添加量水平下的BIX值分别为0.45(RS)、0.54(2RS)和0.45(3RS), 猪粪处理3个添加量水平下的BIX值分别为0.40(PM)、0.37(2PM)和0.35(3PM), 表明在本实验条件下, 秸秆分解产生的生物可利用成分多于猪粪。HIX指数用来指示有机碳的腐殖化程度, 指数越高, 腐殖化程度越高, 生物可利用性越低^[27]。CK处理土壤溶液厌氧培养5 d后HIX值为17.89(图3C), 秸秆处理3个添加量水平下土壤溶液HIX值分别为15.03(RS)、9.54(2RS)和13.10(3RS), 均明显低

于CK处理。比较来看, 2RS处理中土壤溶液的腐殖化程度最低, 表明添加适量秸秆会降低土壤溶液中有有机碳的腐殖化程度, 有利于微生物分解利用。而添加猪粪则会明显提高土壤溶液中有有机碳的腐殖化水平, 其不同添加量水平下的HIX值分别为26.83(PM)、28.68(2PM)和28.31(3PM)。

2.4 土壤溶液TOC三维荧光组分及其与甲基砷的相关性

通过荧光区域积分计算分析了培养5 d后不同处理及添加量的土壤溶液三维荧光组分积分标准体积(图4A), 发现各处理土壤溶液TOC的主要荧光组分

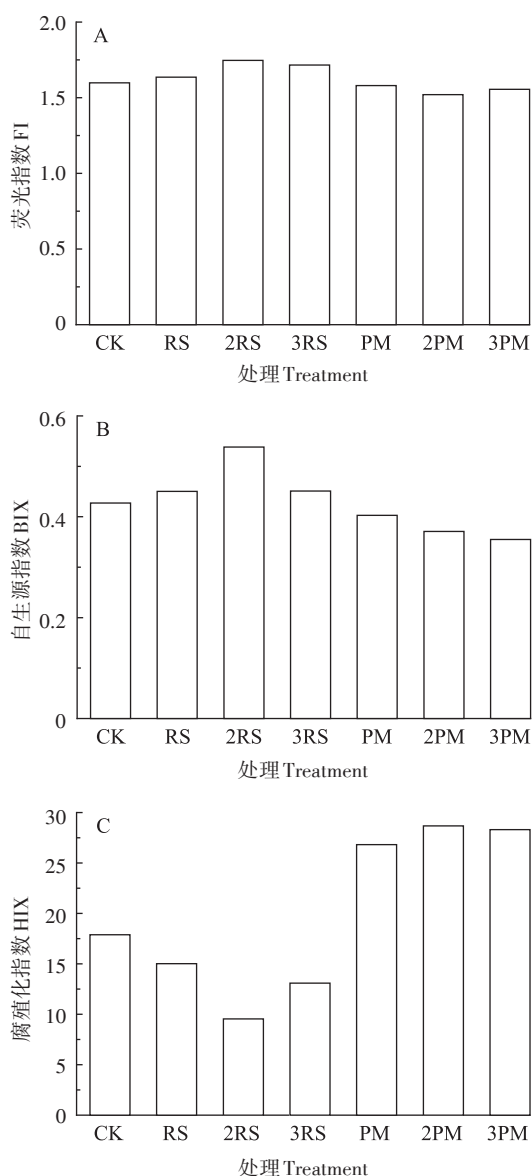


图3 土壤溶液TOC荧光特征指数

Figure 3 Characteristic parameters of fluorescence spectra of TOC in soil solution

为HA、SMP和FA,而AP I和AP II两类有机物占比较小。秸秆处理的土壤溶液中可检测到的荧光组分总强度均明显高于CK和猪粪处理,且随秸秆添加量增加,荧光组分总强度增大;猪粪处理的土壤溶液中荧光组分总强度与CK处理相比差异较小,其中2PM处理的荧光组分总强度低于CK处理。各处理中含量最高的TOC组分为HA,占比达82.2%~89.5%,且猪粪处理的HA占比明显高于秸秆处理。各处理中SMP、FA、AP I和AP II占比分别为9.3%~15.1%、2.1%~2.8%、0~0.1%和0.1%~0.2%。秸秆处理3种添加量下的SMP、AP I和AP II组分荧光积分分别为 1.2×10^6 ~ 1.8×10^6 、 4.0×10^3 ~ 6.9×10^3 AU-nm²和 1.5×10^4 ~ 2.3×10^4 AU-nm²,均分别高于猪粪处理的 5.7×10^5 ~ 8.4×10^5 、 1.5×10^3 ~ 2.9×10^3 AU-nm²和 4.6×10^3 ~ 8.3×10^3 AU-nm²。

为进一步分析土壤溶液中TOC不同荧光组分对处理的响应程度,采用主成分分析法将各处理间TOC组分差异性进行可视化(图4B)。第1、2主成分方差贡献率分别为86.0%、12.6%,对实验变量的总解释度达到98.6%。秸秆和猪粪处理后土壤溶液TOC在组分上存在明显差异,且在相同处理不同添加量下亦存在一定差异,但这种差异小于有机物料类别之间的差异。进一步将土壤溶液中荧光光谱特征参数、荧光组分区域积分结果和土壤溶液中甲基砷浓度进行相关性分析,发现FI指数、AP II、FA、HA区域积分与甲基砷浓度显著正相关($P < 0.05$),而HIX指数与甲基砷含量为负相关关系(图5)。

3 讨论

本研究选择秸秆和猪粪作为植物源和动物源有

机物料,将其施入稻田土壤淹水培养后,提取其土壤溶液开展培养实验,结果发现2RS、PM、3PM处理培养4 h和5 d时的溶液总砷浓度无显著差异,但在CK、RS、3RS及2PM处理中有显著增加。这可能是由于土壤溶液中混有的少量土壤颗粒溶解释放砷所致,因土壤胶体固定的砷形态主要以无机砷为主^[5],故该现象并不影响对土壤溶液中砷甲基化的研究。研究发现在淹水土壤中施入两种有机物料后土壤溶液中甲基砷与TOC浓度均显著提高,两者均表现出随物料添加量增加而增加的趋势,且厌氧培养前后的TOC消耗量与甲基砷增加量显著正相关。该结果表明溶解性有机碳作为厌氧环境下砷甲基化微生物的有效碳源,很可能与甲基砷的产生存在关联。该结果与Yan等^[18]报道的结果一致,即添加有机物料源DOM可以显著提高稻田土壤中砷的甲基化效率,其主要是通过增加砷甲基化底物浓度及*arsM*功能微生物丰度的方式实现。Afroz等^[28]亦发现稻田土壤中施用猪粪可以显著提高土壤孔隙水中甲基态砷浓度,同时增加水稻地上部对甲基砷的吸收。本研究两种有机物料比较来看,厌氧培养后秸秆处理土壤溶液中消耗的TOC明显高于猪粪处理,这可能与不同来源有机物料发酵产生的可溶性有机碳分子的微生物利用度存在差异有关。罗雪婷等^[29]研究发现,秸秆分解后的有机碳的主要类型为多糖类、蛋白质类、芳香类和氨基酸类;田翔等^[19]的研究表明牛粪等动物源有机质芳香性和腐殖化程度明显高于秸秆源有机质。一般认为,芳香性和腐殖化程度高的有机碳分子相对较难被微生物利用,相反低腐殖化程度的有机碳分子更易被微生物同化^[23]。研究还发现,厌氧培养末期,和猪粪处理相比,

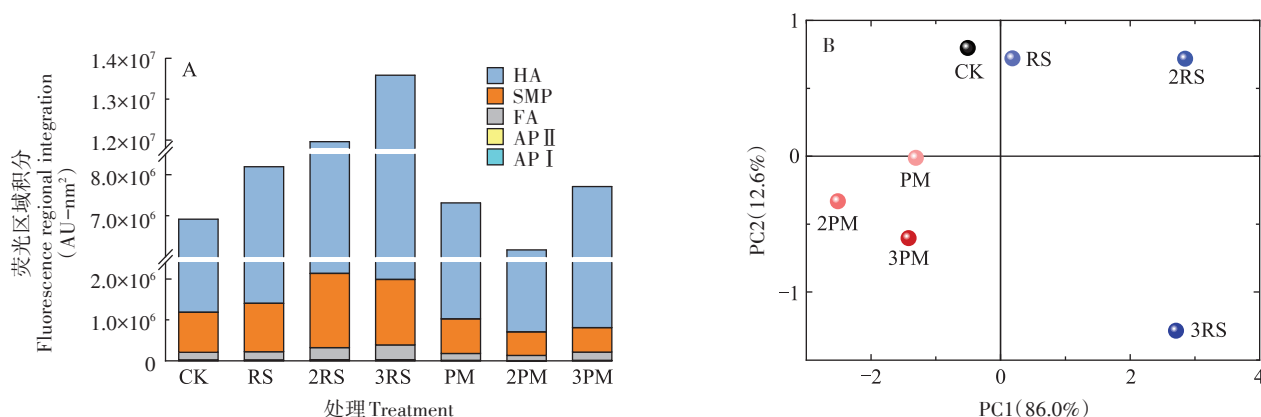


图4 5种有机组分荧光区域积分及不同处理土壤溶液有机组分主成分分析

Figure 4 Five organic carbon components identified by fluorescence regional integration (FRI) method and the principal component analysis of organic carbon components among different treatments

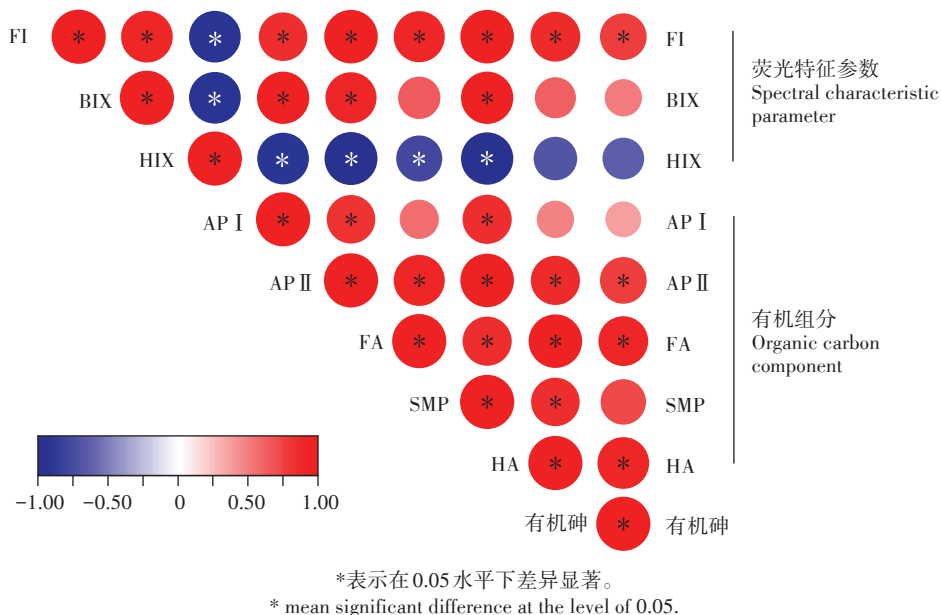


图5 荧光光谱特征参数及荧光组分区域积分结果和土壤溶液中甲基砷的相关性分析

Figure 5 Correlation analysis of spectral characteristic parameters, organic carbon components and the methylated As in soil solution

秸秆处理土壤溶液中有机碳自生源特征明显,蛋白质等生物可利用性组分含量多,腐殖化程度低。通过参考前人研究进行推测,该结果可能是本实验中秸秆处理通过提供相对更高的低腐殖化程度的有机碳分子,促进了微生物的同化作用,从而产生了相对更高的自生源有机碳组分,该过程中很可能激发了砷甲基化功能微生物的活性,从而产生了相对更高的甲基态砷^[30],该推测还需开展进一步验证。

本研究利用三维荧光技术表征了不同处理土壤溶液中有机碳分子的荧光组分,发现荧光区域积分结果与荧光特征指数规律有很好的印证关系。各处理中相对含量最高的荧光组分均为HA,且猪粪处理的HA占比高于秸秆处理,这与HIX指数的结果一致,猪粪分解产生的有机碳腐殖化程度高于秸秆分解产生的有机碳。SMP主要是微生物代谢活动产生的物质,对自生源有机碳贡献较大^[21],其在本实验秸秆处理中占比明显高于猪粪处理,这亦与BIX指数结果一致。比较来看,猪粪处理土壤溶液中HA和FA两种有机物在总荧光物质中占比高于秸秆处理,而秸秆处理土壤溶液中AP I、AP II和SMP 3种有机组分的相对浓度高于猪粪处理。这可能是因为猪粪是机体系统消化分解的产物,易分解的蛋白质组分已经被消耗,能提供的生物可利用性有机碳含量相对较低^[31]。本研究中,2PM处理的荧光组分总强度低于CK处理,这可能是因为腐殖化程度增加,结构复杂且稳定的大分子

有机物趋于生成,并被土壤颗粒吸附沉淀,从而导致没有被荧光检测到,这也可以在一定程度上解释猪粪添加量越高,自生源成分相对越少的现象。猪粪添加量越高,土壤溶液中有机碳腐殖化程度越高,越不利于微生物分解利用,所以产生的微生物副产物等自生源成分越低^[27]。

添加秸秆和猪粪对砷甲基化过程的促进作用存在差异,这可能是由于有机物料分解后产生的溶解性有机碳组成和性质存在差异。这也在汞甲基化过程中被证实,Graham等^[32]认为来自陆地生态系统的有机物对汞甲基化的促进作用高于来自水生生态系统的有机物。Lei等^[20,33]研究发现,AP I、AP II和SMP这类芳香性和腐殖化程度低的小分子不稳定碳可作为微生物甲基化的激发剂,促进环境中更多甲基汞的生成。本研究中亦发现秸秆处理的SMP、AP I和AP II组分均明显高于猪粪处理,这3类物质很可能是激发砷甲基化效率的有效物质成分。研究还发现FI指数及AP II、FA、HA区域积分均与甲基砷浓度显著正相关,而HIX指数与甲基砷浓度为负相关关系。该结果在一定程度上说明,有机碳腐殖化程度高的环境中,甲基砷含量低,这可能因为腐殖化程度高的有机碳分子比较稳定,特别是在厌氧培养环境下不易被微生物代谢利用^[27]。此外,不同组分的有机碳分子还可能通过差异性促进培养环境中砷的解吸与释放,改变砷甲基化底物浓度的方式影响砷甲基化进程^[34]。例如猪

粪分解产生的有机碳腐殖化程度较高,HA和FA相对含量较高,富含的羟基、羧基等官能团易与无机砷形成络合物,一定程度上可能会降低砷甲基化作用的底物浓度^[35]。本研究并未发现SMP、AP I与甲基砷浓度呈显著正相关,且AP I和AP II组分相对浓度均较低,这很可能与本文只检测了培养5 d后的结果有关,其间这些组分被微生物同化利用。此外,本研究还尝试探索了不同荧光组分物质比值(各组分占总荧光组分的百分比)与砷甲基化的可能关联,发现两者间并没有显著相关,综合上述结果,荧光组分AP II、FA和HA很可能是影响砷甲基化的主要因素。另外,本研究工作还存在一定的局限性,本文仅对不同有机碳荧光组分与甲基砷浓度的关系进行了初步探索,今后还需开展验证试验以期明确影响砷甲基化的具体荧光物质组分,对于不同有机碳分子组分介导砷甲基化变化的相关微生物过程与机制也将进一步探索。

4 结论

(1) 秸秆与猪粪处理及不同添加量水平显著影响土壤溶液中甲基砷的生成及总有机碳(TOC)浓度水平,厌氧培养前后TOC消耗量与甲基砷增加量显著正相关。

(2) 秸秆与猪粪处理后土壤溶液中有机碳组成和性质存在明显差异,秸秆源有机碳的腐殖化程度低,生物可利用性相对更高,可溶性微生物副产物(SMP)、芳香蛋白类 I (AP I) 和芳香蛋白类 II (AP II) 物质占比更高。

(3) 荧光指数及AP II、FA、HA区域积分均与甲基砷浓度呈显著正相关,而腐殖化指数与甲基砷浓度呈负相关关系。

参考文献:

- [1] YUAN C, JIANG G, HE B. Evaluation of the extraction methods for arsenic speciation in rice straw, *Oryza Sativa* L., and analysis by HPLC-HG-AFS[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2005, 20(2): 103-110.
- [2] QIN J, ROSEN B P, ZHANG Y, et al. Arsenic detoxification and evolution of trimethylarsine gas by a microbial arsenite S-adenosylmethionine methyltransferase[J]. *PNAS*, 2006, 103(7): 2075-2080.
- [3] KAMIYA T, ISLAM R, DUAN G, et al. Phosphate deficiency signaling pathway is a target of arsenate and phosphate transporter OsPT1 is involved in As accumulation in shoots of rice[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2013, 59(4): 580-590.
- [4] MA J F, YAMAJI N, MITANI N, et al. Transporters of arsenite in rice and their role in arsenic accumulation in rice grain[J]. *PNAS*, 2008, 105(29): 9931-9935.
- [5] ZENG X, BAI L, GAO X, et al. Agricultural planning by selecting food crops with low arsenic accumulation to efficiently reduce arsenic exposure to human health in an arsenic-polluted mining region[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 308: 127403.
- [6] LI G, SUN G X, WILLIAMS P N, et al. Inorganic arsenic in Chinese food and its cancer risk[J]. *Environment International*, 2011, 37(7): 1219-1225.
- [7] WILLIAMS P N, ISLAM R, ADOMAKO E E, et al. Increase in rice grain arsenic for regions of bangladesh irrigating paddies with elevated arsenic in groundwaters[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(16): 4903-4908.
- [8] CHEN C, LI L, HUANG K, et al. Sulfate-reducing bacteria and methanogens are involved in arsenic methylation and demethylation in paddy soils[J]. *The ISME Journal*, 2019, 13(10): 2523-2535.
- [9] TANG Z, WANG Y, GAO A, et al. Dimethylarsinic acid is the causal agent inducing rice straighthead disease[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, 71(18): 5631-5644.
- [10] LOMAX C, LIU W, WU L, et al. Methylated arsenic species in plants originate from soil microorganisms[J]. *New Phytologist*, 2012, 193(3): 665-672.
- [11] ZHAO F J, HARRIS E, YAN J, et al. Arsenic methylation in soils and its relationship with microbial *ArsM* abundance and diversity, and As speciation in rice[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(13): 7147-7154.
- [12] WEBER F A, HOFACKER A F, VOEGELIN A, et al. Temperature dependence and coupling of iron and arsenic reduction and release during flooding of a contaminated soil[J]. *Environmental Science & Technology*, 2010, 44(1): 116-122.
- [13] YAMAGUCHI N, NAKAMURA T, DONG D, et al. Arsenic release from flooded paddy soils is influenced by speciation, Eh, pH, and iron dissolution[J]. *Chemosphere*, 2011, 83(7): 925-932.
- [14] ZHAO F J, ZHU Y G, MEHARG A A. Methylated arsenic species in rice: geographical variation, origin, and uptake mechanisms[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(9): 3957-3966.
- [15] JIA Y, SUN G X, HUANG H, et al. Biogas slurry application elevated arsenic accumulation in rice plant through increased arsenic release and methylation in paddy soil[J]. *Plant and Soil*, 2013, 365(1): 387-396.
- [16] ZHAI W, WONG M T, LUO F, et al. Arsenic methylation and its relationship to abundance and diversity of *ArsM* genes in composting manure[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 42198.
- [17] 张玥, 李令仪, 文炯, 等. 稻田落干过程砷甲基化效率变化与关键影响因素分析[J]. *环境科学*, 2022, 43(9): 4820-4830. ZHANG Y, LI L Y, WEN J, et al. Arsenic methylation efficiency changes during paddy soil drying and its key influencing factors analysis[J]. *Environmental Science*, 2022, 43(9): 4820-4830.
- [18] YAN M, ZENG X, WANG J, et al. Dissolved organic matter differentially influences arsenic methylation and volatilization in paddy soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 388: 121795.
- [19] 田翔, 何天容, 尹德良, 等. 土壤溶解性有机质结构和组成对秸秆、

- 牛粪及其堆肥产品输入的响应特征[J]. 农业资源与环境学报, 2022, 39(3):556-566. TIAN X, HE T R, YIN D L, et al. Responses of soil dissolved organic matter properties to the amendment of straw, cow manure, or their composting products[J]. *Journal of Agricultural Resources and Environment*, 2022, 39(3):556-566.
- [20] LEI P, ZHANG J, ZHU J, et al. Algal organic matter drives methanogen-mediated methylmercury production in water from eutrophic shallow lakes[J]. *Environmental Science & Technology*, 2021, 55(15):10811-10820.
- [21] CHEN W, WESTERHOFF P, LEENHEER J A, et al. Fluorescence excitation-emission matrix regional integration to quantify spectra for dissolved organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37(24):5701-5710.
- [22] MCKNIGHT D M, BOYER E W, WESTERHOFF P K, et al. Spectrofluorometric characterization of dissolved organic matter for indication of precursor organic material and aromaticity[J]. *Limnol Oceanogr*, 2001, 46(1):38-48.
- [23] HUGUET A, VACHER L, RELEXANS S, et al. Properties of fluorescent dissolved organic matter in the gironde estuary[J]. *Organic Geochemistry*, 2009, 40(6):706-719.
- [24] OHNO T. Fluorescence inner-filtering correction for determining the humification index of dissolved organic matter[J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(4):742-746.
- [25] 王齐磊, 江韬, 赵铮, 等. 三峡库区典型农业小流域土壤溶解性有机质的紫外-可见及荧光特征[J]. 环境科学, 2015, 36(3):879-887. WANG Q L, JIANG T, ZHAO Z, et al. Ultraviolet-visible (UV-Vis) and fluorescence spectral characteristics of soil dissolved organic matter (DOM) in typical agricultural watershed of Three Gorges Reservoir region[J]. *Environmental Science*, 2015, 36(3):879-887.
- [26] HANSEN A M, KRAUS T E C, PELLERIN B A, et al. Optical properties of dissolved organic matter (DOM): effects of biological and photolytic degradation[J]. *Limnol Oceanogr*, 2016, 61(3):1015-1032.
- [27] 崔东宇, 何小松, 席北斗, 等. 牛粪堆肥过程中水溶性有机物演化的光谱学研究[J]. 中国环境科学, 2014, 34(11):2897-2904. CUI D Y, HE X S, XI B D, et al. Spectrum analysis on the evolution of dissolved organic matter during cattle manure composting[J]. *China Environmental Science*, 2014, 34(11):2897-2904.
- [28] AFROZ H, SU S, CAREY M, et al. Inhibition of microbial methylation via *ArsM* in the rhizosphere: arsenic speciation in the soil to plant continuum[J]. *Environmental Science & Technology*, 2019, 53(7):3451-3463.
- [29] 罗雪婷, 周丰武, 詹娟, 等. 秸秆和 Eh 对稻田土壤溶解性有机质组成及金属释放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2022, 41(6):1221-1229. LUO X T, ZHOU F W, ZHAN J, et al. Effects of straw addition and Eh on dissolved organic matter composition and metal release in paddy soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2022, 41(6):1221-1229.
- [30] SAADA A, BREEZE D, CROUZET C, et al. Adsorption of arsenic(V) on kaolinite and on kaolinite-humic acid complexes: role of humic acid nitrogen groups[J]. *Chemosphere*, 2003, 51:757-763.
- [31] 席北斗, 王燕, 檀文炳, 等. 土壤中溶解性有机质对不同类型堆肥的响应差异[J]. 环境科学, 2021, 42(7):3565-3576. XI B D, WANG Y, TAN W B, et al. Different responses of soil dissolved organic matter to different types of compost[J]. *Environmental Science*, 2021, 42(7):3565-3576.
- [32] GRAHAM A, BULLOCK A L, MAIZEL A C, et al. Detailed assessment of the kinetics of Hg-cell association, Hg methylation, and methylmercury degradation in several desulfovibrio species[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2012, 78:7337-7346.
- [33] LEI P, NUNES L M, LIU Y R, et al. Mechanisms of algal biomass input enhanced microbial Hg methylation in lake sediments[J]. *Environment International*, 2019, 126:279-288.
- [34] WANG Y H, LI P, JIANG Z, et al. Diversity and abundance of arsenic methylating microorganisms in high arsenic groundwater from Hetao Plain of Inner Mongolia, China[J]. *Ecotoxicology*, 2018, 27(8):1047-1057.
- [35] MOHAPATRA D, MISHRA D, CHAUDHURY G R, et al. Arsenic(V) adsorption mechanism using kaolinite, montmorillonite and illite from aqueous medium[J]. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, 2007, 42(4):463-469.

(责任编辑:李丹)