

不同来源可溶性有机质对稻田土壤中砷甲基化的影响

田腾, 颜蒙蒙, 曾希柏, 王济, 白玲玉, 吴翠霞, 苏世鸣

引用本文:

田腾, 颜蒙蒙, 曾希柏, 等. 不同来源可溶性有机质对稻田土壤中砷甲基化的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(3): 511–520.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11654/jaes.2019-1098>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

洛克沙肿代谢物在土壤中的累积及其植物有效性研究

黄连喜, 魏岚, 姚丽贤, 何兆桓, 周昌敏

农业环境科学学报. 2019, 38(5): 1079–1088 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0834>

微生物砷甲基化及挥发研究进展

王培培, 陈松灿, 朱永官, 孙国新

农业环境科学学报. 2018, 37(7): 1377–1385 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0542>

生物炭对紫色土耕地土壤中溶解性有机物含量和组成特征的影响

刘慧云, 鲜青松, 刘琛, 唐翔宇

农业环境科学学报. 2017, 36(4): 718–726 <https://doi.org/10.11654/jaes.2016-1538>

硫素对土壤砷生物有效性与水稻吸收的影响研究

邹丽娜, 戴玉霞, 邱伟迪, 张舒, 赵佳伟, 唐先进, 施积炎, 徐建明

农业环境科学学报. 2018, 37(7): 1435–1447 <https://doi.org/10.11654/jaes.2018-0837>

不同磷浓度对钝顶螺旋藻吸附、吸收和转化砷酸盐的影响

王淑, 许平平, 刘聪, 王亚, 张春华, 葛滢

农业环境科学学报. 2015(6): 1034–1040 <https://doi.org/10.11654/jaes.2015.06.003>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

田 腾, 颜蒙蒙, 曾希柏, 等. 不同来源可溶性有机质对稻田土壤中砷甲基化的影响[J]. 农业环境科学学报, 2020, 39(3): 511–520.

TIAN Teng, YAN Meng-meng, ZENG Xi-bai, et al. Effect of dissolved organic matter from different sources on arsenic methylation in paddy soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2020, 39(3): 511–520.

不同来源可溶性有机质对稻田土壤中砷甲基化的影响

田 腾^{1,2}, 颜蒙蒙², 曾希柏², 王 济¹, 白玲玉², 吴翠霞², 苏世鸣^{2*}

(1. 贵州师范大学地理与环境科学学院, 贵阳 550001; 2. 中国农业科学院农业环境与可持续发展研究所 农业农村部农业环境重点实验室, 北京 100081)

摘 要:以湖南省石门县雄黄矿区砷污染水稻土为试验用土,采用离心管培养试验探究了由猪粪、牛粪、鸡粪和水稻秸秆制备的4种可溶性有机质(DOM)对土壤中砷甲基化的影响。结果表明:添加不同有机碳(TOC)浓度的DOM可显著改变水稻土壤中砷的形态,且不同处理中各形态砷含量均随TOC浓度增加呈现不同程度的增加。当土壤溶液TOC浓度为320 mg·L⁻¹时,4种DOM处理的土壤溶液中甲基态砷含量分别占总砷的75.8%(猪粪DOM)、75.7%(牛粪DOM)、68.3%(鸡粪DOM)和61.8%(水稻秸秆DOM);土壤溶液中甲基态砷含量与TOC浓度呈现显著正相关关系($P<0.01$),表明TOC浓度增加可显著促进土壤中砷的甲基化。各处理对土壤砷甲基化的激发作用大小排序为猪粪DOM(0.016 1 μg·L⁻¹)>鸡粪DOM(0.014 7 μg·L⁻¹)>牛粪DOM(0.009 9 μg·L⁻¹)>水稻秸秆DOM(0.008 2 μg·L⁻¹);添加320 mg·L⁻¹ TOC浓度的DOM处理中土壤砷甲基化功能基因 $arsM$ 拷贝数均高于对照(添加等体积超纯水),其中猪粪处理最高,为 3.36×10^9 copies·g⁻¹,约是对照的2倍;不同DOM作用下土壤pH变化规律为水稻秸秆>牛粪>鸡粪>猪粪,土壤EC值变化规律为水稻秸秆>鸡粪>牛粪>猪粪。综上,不同来源的DOM可差异性地影响水稻土壤中砷甲基化效率,通过合理施用有机肥有望减少土壤中砷的甲基化,从而在一定程度上减轻水稻直穗病发生。

关键词:猪粪源DOM;有机砷; $arsM$;16S rRNA;土壤pH

中图分类号:X171.5 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2020)03-0511-10 doi:10.11654/jaes.2019-1098

Effect of dissolved organic matter from different sources on arsenic methylation in paddy soils

TIAN Teng^{1,2}, YAN Meng-meng², ZENG Xi-bai², WANG Ji¹, BAI Ling-yu², WU Cui-xia², SU Shi-ming^{2*}

(1.School of Geographic and Environmental Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China; 2.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: Culture experiment using centrifuge tubes loaded with arsenic (As)-contaminated paddy soils from realgar mining area of Shimen County of Hunan Province was conducted to study the effect of dissolved organic matter (DOM) from different sources, such as from pig manure, cow dung, chicken manure, and rice straw, on arsenic methylation in paddy soils. The results indicated that DOM addition significantly changed the species of As in paddy soil, and the content of each As species increased under varying degrees with total organic carbon (TOC) concentrations. When the TOC reached 320 mg·L⁻¹ in soil solution, the content of methyl-As under the four treatments of DOM were 75.8%, 75.7%, 68.3%, and 61.8% of the total As content, respectively. A significantly positive correlation ($P<0.01$) between methyl-As contents and TOC concentration in soil solution was found. The As methylation in paddy soil was evidently accelerated after the

收稿日期:2019-10-07 录用日期:2019-12-20

作者简介:田 腾(1992—),女,河北辛集人,硕士研究生,从事土壤重金属污染修复研究。E-mail:2697815998@qq.com

*通信作者:苏世鸣 E-mail:sushiming@caas.cn

基金项目:国家自然科学基金面上项目(41671328);贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2017]2580)

Project supported: The National Natural Science Foundation of China (41671328); Guizhou Science and Technology Support Plan (Combined Support of Guizhou[2017]2580)

addition of DOM. As methylation efficiency from high to low was in the order of pig manure DOM ($0.016\ 1\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), chicken manure DOM ($0.014\ 7\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), cow dung DOM ($0.009\ 9\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), and rice straw DOM ($0.008\ 2\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$). When the TOC applied reached $320\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ in the soil solution, the copy numbers of *arsM* in soil with DOM addition were all higher than these in control, and the highest number was found in pig manure DOM treatment with $3.36\times 10^9\ \text{copies}\cdot\text{g}^{-1}$ which was about 2.0 times higher than that in the control. The soil pH after addition of different DOM was from high to low in the order of rice straw, cow dung, chicken manure, and pig manure. The pH values increased with increase in TOC concentration. The soil electrical conductivity (EC) varied from high to low in the order of rice straw, chicken manure, cow dung, and pig manure. In conclusion, DOM from different sources can differentially affect As methylation efficiency in paddy soils. It is expected that reasonable application of organic fertilizer might reduce the occurrence of rice straighthead disease to some extent by reducing the content of methyl-As in paddy soils.

Keywords: pig manure DOM; organic arsenic; *arsM*; 16S rRNA; soil pH

砷是一种自然环境中广泛存在且有剧毒的类金属元素^[1]。砷在自然环境中的形态主要包括无机态砷[三价砷 As(Ⅲ)、五价砷 As(V)]和有机态砷(一甲基砷 MMAs、二甲基砷 DMAs 和三甲基砷 TMAsO)^[2]。不同形态的砷在土壤中的毒性相差很大,其中 As(Ⅲ)毒性分别比 DMAs 和 TMAsO 高出 100 倍和 1000 倍^[3]。水稻特殊的淹水栽培环境及喜磷和喜硅的生理特性是造成其对砷具有很强敏感性的重要原因^[4-5]。如我国湖南郴州的某些矿区,水稻籽粒中的无机砷含量可达 $0.5\sim 7.5\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, 远超我国对水稻砷含量的限值 ($0.2\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 无机砷)^[6]。根据现有报道,通过稻米摄入的无机砷量占我国人群无机砷平均摄入量的 60%^[7],长期食用含砷稻米将对人体健康造成严重的危害^[8]。

稻田土壤中的砷能在微生物介导作用下发生甲基化作用,经过还原-甲基化交替的过程,亚砷酸盐 (H_3AsO_3) 中的羟基不断被甲基取代,最终形成还原态有机砷被挥发到大气中^[9-10]。研究表明每年约有 419~1252 t 的砷从水稻土中释放到大气中^[11]。最新研究发现,水稻籽粒累积过量的有机砷,特别是 DMAs,能诱导水稻产生直穗病^[12],而水稻植株本身无法实现对无机砷的甲基化,因此其累积的有机砷主要来自稻田土壤^[13]。稻田土壤砷的甲基化主要受土壤微生物如细菌或真菌体内的砷甲基化功能基因(*arsM*)调控^[14]。土壤中砷的甲基化过程受到多种因素影响,有机质是其中的关键因素^[15]。Edvantoro 等^[16]研究表明,随着有机质添加量的增加土壤中砷的挥发量逐渐增加,砷的甲基化程度逐渐提高。施用有机质的种类和浓度不同,促进砷甲基化的效果亦有差异。Mohapatra 等^[17]研究表明,添加牛粪可显著促进厌氧甲烷菌对砷的挥发,砷含量为 $30\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养条件下添加牛粪 $25\ \text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,砷的挥发量最高,约为总砷含量的

35%;Huang 等^[18]研究了添加苜蓿和处理过的谷物对土壤中砷挥发的影响,结果表明,添加处理过的谷物后砷的挥发量 ($9.8\ \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{月}^{-1}$) 高于添加苜蓿的处理约 2 倍。土壤中有有机质来源广泛,不同来源的有机质差异性地促进土壤中砷挥发的效应仍然不是很明确,特别是有机质中相对更为活跃的可溶性有机质 (DOM),其对土壤中砷甲基化和挥发的贡献以及相关的分子生物学机制还少有报道。DOM 在土壤中的含量不到土壤总有机质的 1%,但对土壤营养物质的活化、重金属和有机污染物的迁移转化、微生物区系改变等有极其重要的作用^[19-21],本文假设不同有机物来源的 DOM 添加可差异性改变砷甲基化功能基因 *arsM* 丰度进而影响砷甲基化进程。

本研究首先制备不同有机物来源的 DOM,通过向砷污染水稻土壤中添加含不同有机碳 (TOC) 浓度的 DOM,分析土壤上清液不同砷形态含量、*arsM* 和总细菌 (16S rRNA) 丰度以及关键理化因子如土壤 pH、EC 值的变化,探究不同可溶性有机质添加对土壤砷甲基化效率的影响及其可能机制,相关结果对于今后砷污染稻田通过合理施肥影响砷甲基化效率有重要科学价值。

1 材料与方法

1.1 土壤样品及理化性质

供试土壤来自湖南省石门县雄黄矿区 ($29^{\circ}38'\text{N}$, $111^{\circ}01'\text{E}$) 砷污染水稻土壤,类型为发育自第四纪红土母质的红壤。土壤样品经自然风干后混合均匀,去除植物残根和石砾,并用玛瑙研钵研磨后过 2 mm 和 0.25 mm 尼龙筛备用。土壤中总砷含量为 $60\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,有效态砷采用 $0.5\ \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 NaHCO_3 溶液浸提后用原子荧光光谱仪 (AFS-9120, 北京吉天仪器, 中国) 测定^[22],含量为 $1.45\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。供试土壤其他理化性

质见表1,测定分析方法参照《土壤农化分析》^[23]。

1.2 DOM制备及理化性质

试验所用DOM制备的原料分别选自动物源的猪粪、牛粪和鸡粪以及植物源的水稻秸秆。鸡粪取自中国农业大学鸡养殖场,猪粪和牛粪取自中国农业科学院北京马池口基地,水稻秸秆取自中国农业科学院岳阳试验站,其中采取的猪粪、牛粪和鸡粪都已腐熟发酵。猪粪、牛粪和鸡粪自然风干研磨后过20目(0.850 mm)筛备用,水稻秸秆自然风干后,剪成长度

为2 cm左右的秸秆碎屑备用。猪粪、牛粪、鸡粪DOM溶液利用超纯水浸取(粪:水=1:10)^[21]:分别称取15 g猪粪、牛粪和鸡粪研磨物,置于200 mL三角瓶中,分别加入150 mL超纯水,在25℃下,200 r·min⁻¹振荡16 h。然后将振荡液取出,分批转入50 mL离心管中,4℃、12 000 r·min⁻¹离心15 min。将离心后的上清液于0.45 μm醋酸水系滤膜上过滤,滤液即为猪粪、牛粪、鸡粪的DOM原液,将其置于4℃冰箱中保存备用。水稻秸秆DOM溶液的制备^[24]:将秸秆碎屑10 g与石英砂100 g按1:10(质量比)混合均匀后置于250 mL烧杯中,加入足量超纯水使秸秆湿度达到最大持水量的80%,封口膜密封,用竹签扎孔透气,放入培养箱中,(25±1)℃恒温培养60 d,每隔5 d用称质量的方法补充水分。培养初始加入新鲜土壤提取液5 mL作为接种液(取新鲜水稻土10 g,与450 mL超纯水混合,振荡2 h,静置过夜,上清液用定量滤纸过滤,即为接种液)。培养60 d后,秸秆培养液取出加入一定量超纯水(秸秆石英砂混合质量的2倍)混匀,然后分批转入200 mL三角瓶中,在200 r·min⁻¹条件下振荡2 h,然后将振荡液取出,分批转入50 mL离心管中,4℃、12 000 r·min⁻¹离心15 min。将离心后的上清液于0.45 μm醋酸水系滤膜上过滤,滤液即为水稻秸秆DOM原液,将其置于4℃冰箱中保存备用。从猪粪、牛粪、鸡粪和水稻秸秆中提取的DOM分别标记为PD、CDD、CMD和RD,其理化性质如表2所示,所有制备的DOM在实验前均经γ射线照射灭菌处理。

1.3 试验设计

培养试验共设置4个不同来源DOM处理,各处理设置4个不同TOC浓度(40、80、160 mg·L⁻¹和320 mg·L⁻¹)水平,试验以添加等体积超纯水作为对照(CK),每个TOC浓度设置4个重复。试验过程如下:称取30 g过2 mm筛的供试水稻土转移到50 mL聚乙

表1 供试土壤的基本理化性质

Table 1 The physical and chemical properties of the experimental soils

项目 Items	含量 Content
pH	5.05
碱解氮/mg·kg ⁻¹	124.5
有效磷/mg·kg ⁻¹	0.18
速效钾/mg·kg ⁻¹	59.9
全氮/g·kg ⁻¹	1.62
全磷/g·kg ⁻¹	0.46
全钾/g·kg ⁻¹	17.4
有机质/g·kg ⁻¹	26.8
阳离子交换量/cmol(+)·kg ⁻¹	11.8
有效铁/mg·kg ⁻¹	244.8
有效锰/mg·kg ⁻¹	62.0
活性铝/g·kg ⁻¹	2.33
总镉/mg·kg ⁻¹	0.382
总铅/mg·kg ⁻¹	36.5
总铬/mg·kg ⁻¹	64.9
总镍/mg·kg ⁻¹	24.5
全铜/mg·kg ⁻¹	24.2
颗粒分析/%	
2~0.2 mm	1.94
0.2~0.02 mm	15.99
0.02~0.002 mm	50.77
< 0.002 mm	31.30

表2 供试可溶性有机质(DOM)原液的基本理化性质

Table 2 The physical and chemical properties of the experimental dissolved organic matter(DOM) original solution

可溶性有机质 DOM		pH	电导率 EC/mS·cm ⁻¹	总氮 TN/mg·L ⁻¹	总磷 TP/mg·L ⁻¹	总钾 TK/mg·L ⁻¹	可溶性有机碳 DOC/mg·L ⁻¹	可溶性有机氮 DON/mg·L ⁻¹	总砷 TAs/μg·L ⁻¹
动物源	PD	7.0b	6.5b	931.8a	214.5a	1 272.7b	3 801.7a	553.9b	2.28a
	CMD	6.9b	9.8a	786.4a	161.7b	2 058.4a	3 468.2b	667.9a	1.34b
	CDD	7.0b	3.6c	186.6b	115.2c	373.2d	1 789.1c	179.0c	1.27b
植物源	RD	7.9a	3.2c	57.2b	6.7d	758.6c	624.2d	48.6d	1.37b

注:同列不同小写字母表示不同DOM原液理化性质差异显著($P<0.05$)。

Note: The different lowercase letters in a column indicate significant differences among different DOM original solution of the same physical and chemical property ($P<0.05$).

烯离心管中,每个离心管中加入30 mL不同TOC浓度的DOM溶液,实验过程中保持淹水液面高于土壤表面2 cm。将离心管在 $(25\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 下恒温培养40 d,每隔5 d用称质量的方法补充水分。培养结束后,测定各处理土壤pH及EC值,然后将水土混合液振荡均匀,在常温下以 $4600\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20 min,将上清液转移到50 mL离心管中,放置于 -20°C 冰箱保存,用于砷形态的测定;将离心后的土壤装入2 mL离心管中,保存于 -80°C 冰箱,用于qPCR分子试验。

1.4 样品分析与测定

上清液砷形态分析:采用高效液相色谱-电感耦合等离子体质谱法(HPLC-ICP-MS,PerkinElmer NexION 300X)进行土壤上清液砷形态分析^[25]。将土壤上清液从 -20°C 冰箱中取出在常温下融化,过 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜后进行砷形态测定。因为As(Ⅲ)与TMA₅O在阴离子色谱柱中出峰时间一致,故测定时按待测液与H₂O₂体积比9:1混合以氧化样品中As(Ⅲ)为As(V)^[26]。砷形态分析过程中标准曲线 R^2 值大于0.99。为了进行质量控制,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)或DMA₅单标溶液(GBW08669,中国计量科学研究院)。各砷形态单标溶液中砷的回收率为91%~102%。

土壤*arsM*和16S rRNA拷贝数分析:通过Bio-Rad CFX96定量PCR仪(美国BIO-RAD)对土壤中提取的DNA进行qPCR扩增。*arsM*基因的扩增引物为*arsMF*(5'-TCYCTCGGCTGCGGCAAYCCVAC-3')和*arsMR*(5'-CGWCCGCCWGGCTTWAGYACCCG-3')^[27];16S rRNA的扩增引物为BACT1369F(5'-CGGTGAATACGTTTCYCGG-3')和PROK1492R(5'-ACG-GCTACCTTGTTACGACTT-3')^[28]。*arsM*基因qPCR反应体系为20 μL (试剂来自Takara):7.2 μL ddH₂O、10 μL SYBR、0.4 μL *arsMF*和0.4 μL *arsMR*,以及0.2 μL DNA样品(10倍稀释)。16S rRNA qPCR反应体系为20 μL (试剂来自Takara):7.2 μL ddH₂O、10 μL SYBR、0.4 μL BACT1369F和0.4 μL PROK1492R,以及0.2 μL DNA样品(1000倍稀释)。qPCR的反应程序:首先94 $^{\circ}\text{C}$ 变性1 min;然后变性30 s,退火30 s(*arsM*:67 $^{\circ}\text{C}$;16S rRNA:56 $^{\circ}\text{C}$),72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min,共40个循环;最后72 $^{\circ}\text{C}$ 末端延伸1 min,熔融曲线(Melt Curve)55 $^{\circ}\text{C}$ 30 s。

土壤pH和EC值测定:土壤pH值用pH计(Thermo Orion 4 Star, Beverly, USA)测定,土水比为1:2.5。土壤EC值用FiveEasy FE30K型电导仪测定,土水比

为1:5。

1.5 数据处理

砷形态分析使用Nexion软件(版本1.0.1916)进行。采用Excel 2013和SPSS 21进行绘图和数据分析,处理间方差分析采用LSD法在0.05水平下进行。所有数据均表示为平均值 $\pm$ 标准误(SE)。

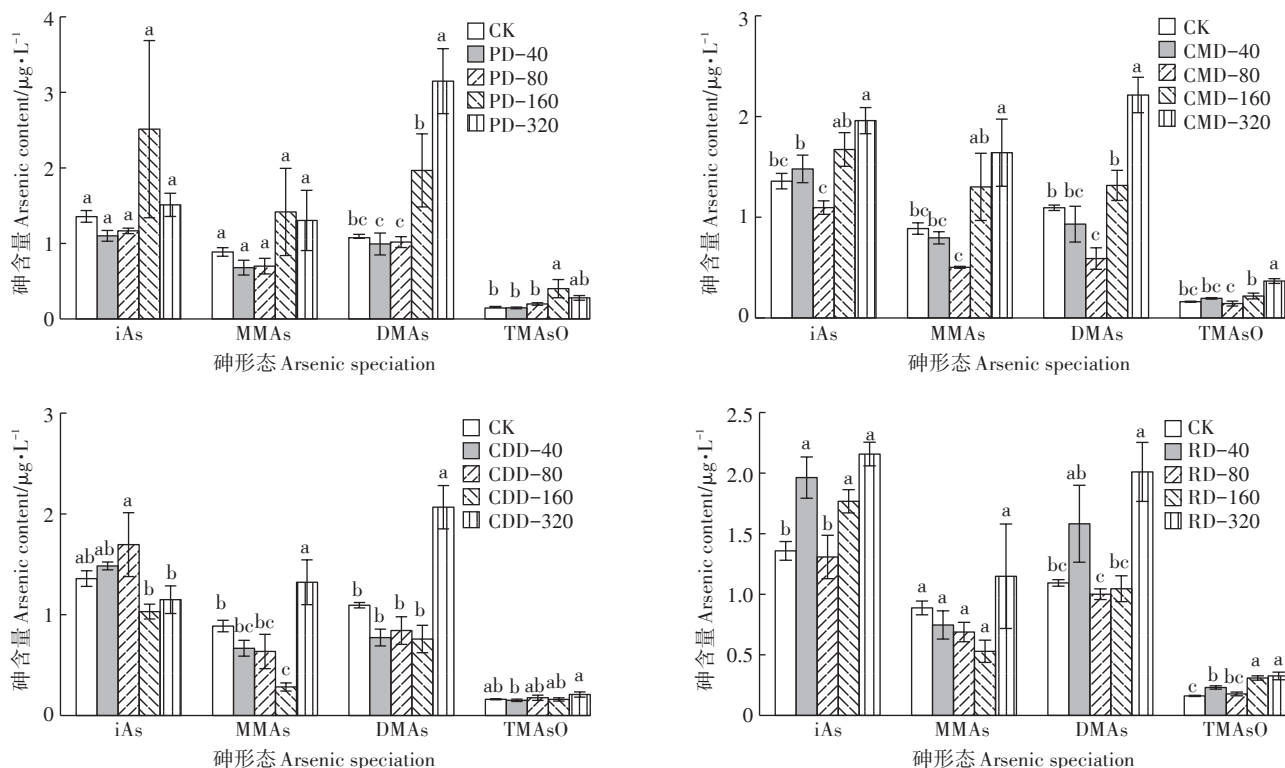
2 结果与分析

2.1 添加不同来源DOM对土壤中砷形态变化的影响

添加不同TOC浓度的DOM可显著改变水稻土壤中砷的形态(图1)。研究发现各处理中砷形态主要包括无机砷(iAs)、MMAs、DMA₅和TMA₅O,且不同处理中各形态砷含量均随TOC浓度增加呈现不同程度的增加。PD处理,当TOC浓度达到 $320\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,DMA₅含量($3.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)显著高于对照($1.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),当TOC浓度达到 $160\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,TMA₅O含量($0.4\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)显著高于对照($0.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$);CMD处理,当TOC浓度达到 $320\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,iAs、MMAs、DMA₅和TMA₅O含量均显著高于对照(1.4 、 0.9 、 $1.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),且分别约是对照的1.4、1.8、2.0倍和2.3倍;CDD处理,当TOC浓度为 $320\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,MMAs和DMA₅含量分别为 $1.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $2.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,均显著高于对照($0.9\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $1.1\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),而iAs含量和TMA₅O含量与对照相比无显著差异;RD处理,当TOC浓度为 $320\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,iAs($2.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)、DMA₅($2.0\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)含量和TMA₅O含量($0.3\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)与对照相比均显著增加,而4个浓度下MMAs含量与对照相比均无显著差异。此外,不同来源DOM处理的有机砷占砷形态总量的比例显著增加,其中CMD-320总甲基态砷(MMA₅+DMA₅+TMA₅O)含量为 $4.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,占砷形态总量($6.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的68.3%;CDD-320甲基态砷含量为 $3.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,占砷形态总量($4.7\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的75.7%;RD-320甲基态砷含量为 $3.5\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,占砷形态总量($5.6\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的61.8%;而PD-320处理中甲基态砷比例最大,含量为 $4.7\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,占砷形态总量($6.2\text{ }\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)的75.8%。

2.2 土壤溶液中不同DOM下TOC含量与甲基态砷的相关性

4种不同DOM作用下土壤溶液中TOC与甲基态砷含量之间均呈显著线性相关($P<0.01$)。如图2所示,甲基态砷含量随着土壤中TOC浓度的增加而增加,表明添加的DOM可显著促进砷的甲基化。比较拟合的相关方程斜率可知,4种DOM对土壤中砷甲基化的激发效率存在明显差异,激发作用的大小排序为



不同小写字母表示相同砷形态下不同TOC浓度处理之间差异显著($P < 0.05$)。40, 80, 160, 320表示TOC含量, $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$
 Different lowercase letters indicate the significant differences ($P < 0.05$) among the different TOC concentration gradient treatments of the same arsenic species. 40, 80, 160 and 320 represent TOC contents in $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

图1 不同TOC浓度的DOM作用下土壤砷形态变化

Figure 1 Arsenic speciation in soil solution added with DOM at different TOC levels

猪粪 DOM (0.016 1) > 鸡粪 DOM (0.014 7) > 牛粪 DOM (0.009 9) > 水稻秸秆 DOM (0.008 2)。加入猪粪 DOM 后对土壤中砷甲基化的激发率最高, 即单位 TOC 浓度下土壤溶液中砷的甲基化效率为 $0.016\ 1\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 而水稻秸秆 DOM 的激发率最低, 单位 TOC 浓度下土壤溶液中砷的甲基化效率为 $0.008\ 2\ \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.3 添加不同 DOM 对土壤中砷甲基化功能基因 (*arsM*) 和总细菌 (16S rRNA) 丰度的影响

图 3 为 $320\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TOC 浓度下不同 DOM 对土壤 *arsM* 基因和 16S rRNA 丰度 (每克土壤拷贝数) 的影响。添加 DOM 处理后土壤 *arsM* 基因拷贝数均高于对照, PD-320、CDD-320、CMD-320 和 RD-320 处理下 *arsM* 拷贝数与对照相比分别增加了 1.65×10^9 、 0.62×10^9 、 0.58×10^9 和 0.60×10^9 copies $\cdot\text{g}^{-1}$, 其中 PD-320 处理土壤 *arsM* 拷贝数显著高于对照, 为 3.36×10^9 copies $\cdot\text{g}^{-1}$, 约是对照的 2 倍; 4 种 DOM 作用下土壤砷甲基化功能基因 *arsM* 丰度由高到低的分布规律为猪粪 DOM > 牛粪 DOM > 水稻秸秆 DOM > 鸡粪 DOM。添加 $320\ \text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TOC 浓度的猪粪源和鸡粪源 DOM 处理中土壤总细菌丰度均显著 ($P <$

0.05) 高于对照, 其中 CMD-320 处理 16S rRNA 拷贝数最高, 为 1.942×10^{11} copies $\cdot\text{g}^{-1}$; 不同 DOM 处理下土壤总细菌 (16S rRNA) 丰度由高到低的分布规律为鸡粪 DOM > 猪粪 DOM > 水稻秸秆 DOM > 牛粪 DOM。

2.4 不同 DOM 添加后土壤 pH 及 EC 值的变化

不同 DOM 添加后可显著改变土壤 pH 及 EC 值状况 (图 4)。对照土壤 pH 为 6.45, 添加 DOM 各处理 pH 均高于对照。其中猪粪 DOM 各处理作用下土壤 pH 平均值在 7.04~7.53 之间, 牛粪 DOM 在 7.64~7.97 之间, 鸡粪 DOM 在 7.18~7.73 之间, 水稻秸秆 DOM 在 8.12~8.64 之间。不同 DOM 作用下土壤 pH 由大到小的分布规律为水稻秸秆 > 牛粪 > 鸡粪 > 猪粪。相同 DOM 不同浓度处理间土壤 pH 变化总体呈现随 TOC 浓度增加而升高的趋势。对照处理下土壤 EC 值为 $128\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, 除了 PD-40 处理外其他处理均高于对照。其中猪粪 DOM 作用下土壤 EC 值在 $11\sim669\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 之间, 牛粪 DOM 在 $173\sim903\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 之间, 鸡粪 DOM 在 $231\sim1277\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 之间, 水稻秸秆 DOM 在 $249\sim1826\ \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$ 之间, 表明不同 DOM 处理下土壤

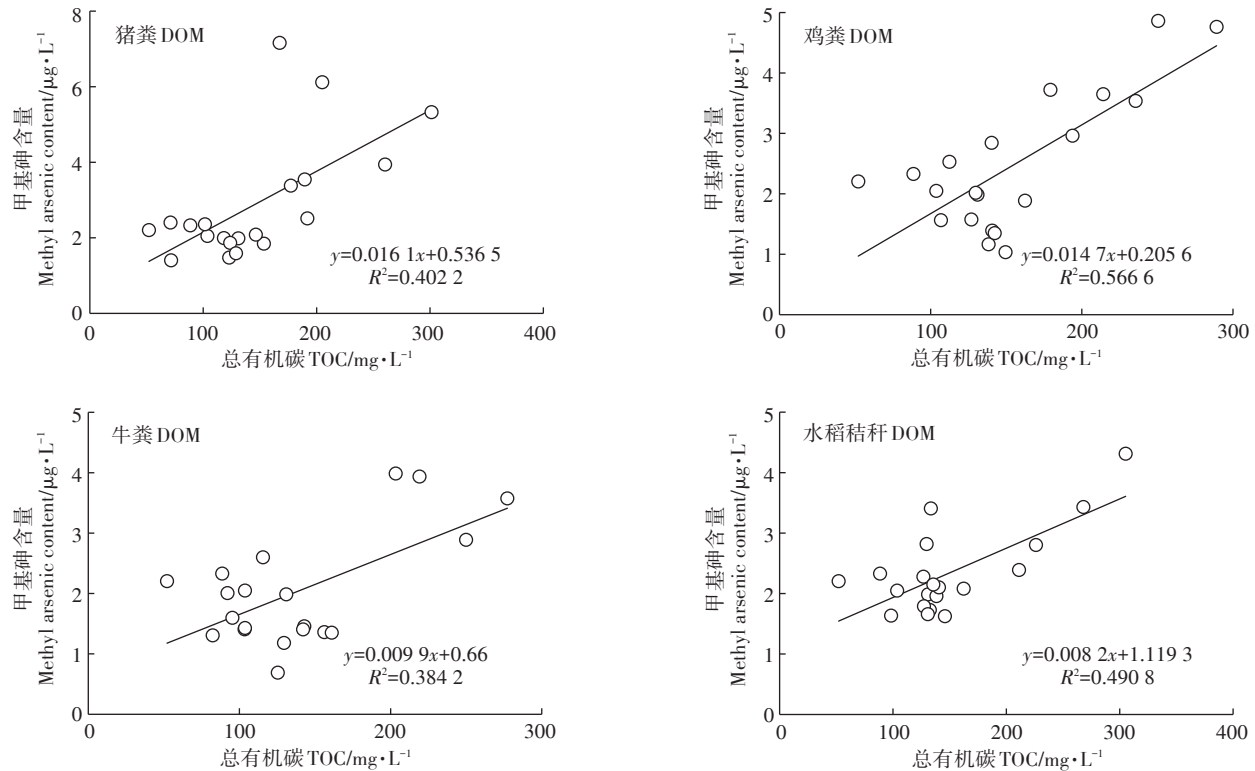
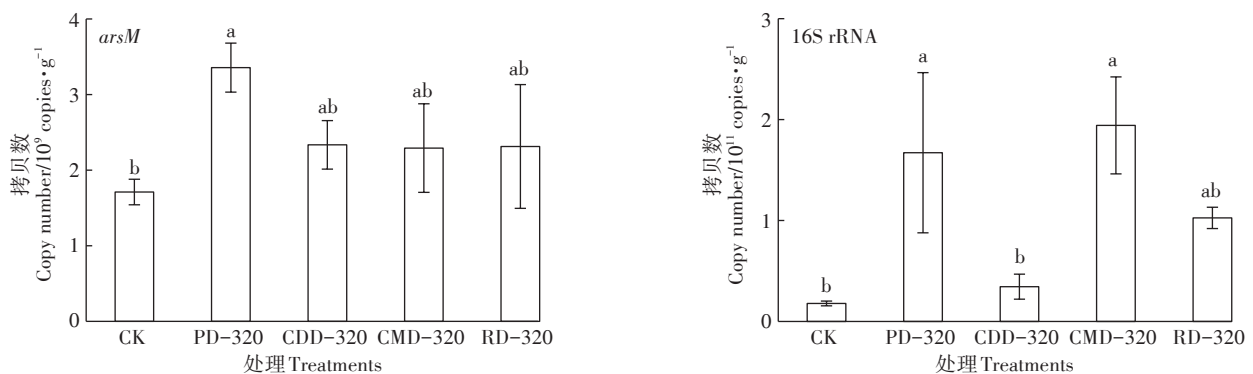


图2 土壤溶液中总有机碳(TOC)与甲基砷的相关性

Figure 2 Correlation between TOC and the methyl-As in soil solution

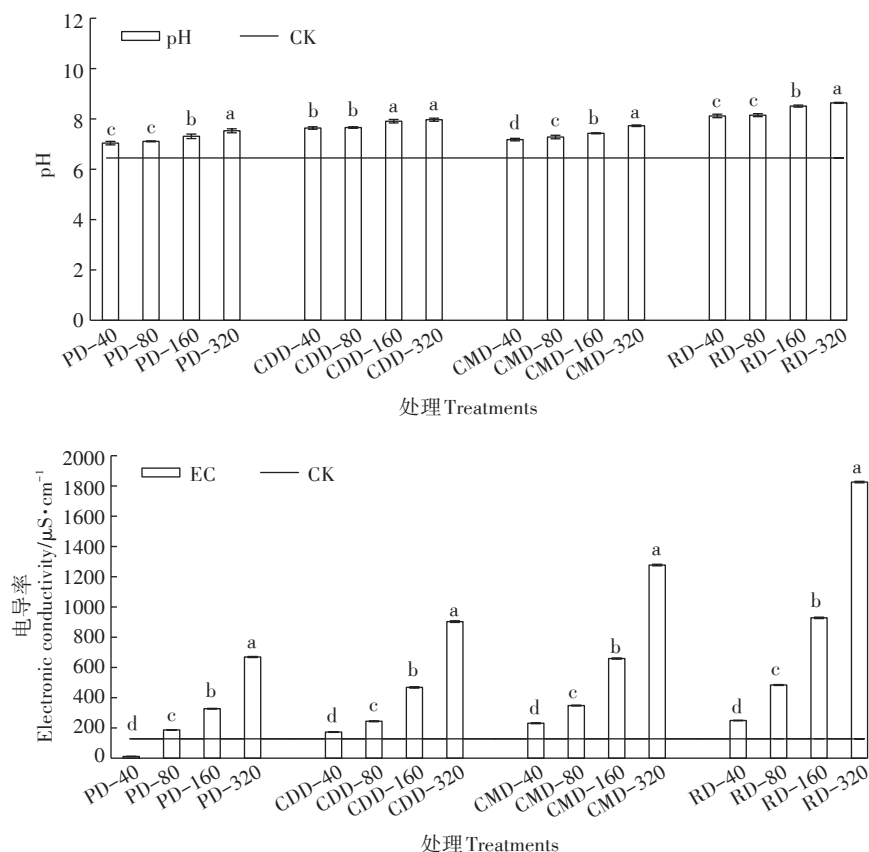
不同小写字母表示不同 DOM 处理之间同种基因拷贝数呈显著差异 ($P<0.05$)Different lowercase letters indicate the significant differences ($P<0.05$) among the different DOM treatments图3 不同 DOM 在 320 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TOC 浓度下土壤 *arsM* 和 16S rRNA 基因丰度Figure 3 The gene abundance of *arsM* and 16S rRNA in soils added with different DOM at TOC concentration of 320 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

EC 值差异较大, 总体呈现为水稻秸秆 DOM>鸡粪 DOM>牛粪 DOM>猪粪 DOM。此外, 相同 DOM 中不同的浓度处理对土壤 EC 值的影响也不同, 总体呈现土壤 EC 值随着 TOC 浓度增加而增加的趋势。

3 讨论

DOM 作为土壤环境中最为活跃的有机成分之一, 是影响重金属及砷吸附^[29]、络合^[30]、迁移^[31]、转化以

及生物地球化学循环过程^[32]的重要因素。本文中, 通过添加不同来源的 DOM, 土壤溶液中甲基态砷含量呈现出随着 TOC 浓度增大而增加的趋势, 表明砷的甲基化进程因土壤溶液中 TOC 浓度的增加而加强。Wang 等^[32]将具有砷甲基化与挥发能力的棘孢木霉菌接种到砷污染土壤中, 结果表明, 对有机质含量较高的土壤中砷挥发量的提高量是较低有机质含量土壤的近 10 倍, 与上述结果一致。DOM 能够为土壤微生物



不同小写字母表示相同DOM不同TOC浓度梯度之间pH或EC值呈显著差异($P<0.05$)

Different lowercase letters indicate the significant differences ($P<0.05$) of pH value or EC among the different TOC concentration gradient of the same DOM

图4 不同DOM作用下土壤pH和EC值的变化

Figure 4 The change of soil pH value and EC in soils added with different DOM

物的生命活动提供丰富的碳氮源与多种矿质营养,调控土壤中与砷氧化、还原与甲基化功能相关的微生物活性,进而影响土壤中砷的形态^[33]。本研究中添加4种不同来源的DOM后土壤砷甲基化功能基因 $arsM$ 的拷贝数均高于对照,表明这4种DOM加快了土壤中携带 $arsM$ 基因相关微生物的生长繁殖,提高了砷的甲基化效率^[18]。进一步将 $320\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TOC浓度下不同处理的 $arsM$ 基因拷贝数经 $\log_2$ 换算后(X)与其对应的总甲基态砷($\text{MMAs}+\text{DMAs}+\text{TMAOs}$)含量(Y)进行相关性分析发现,两者呈显著正相关($Y=1.513\ 5X-43.079$, $R^2=0.886\ 4$, $P<0.05$)。该结果进一步表明DOM可显著增加土壤中甲基化功能基因 $arsM$ 丰度,进而促进砷的甲基化。Jia等^[27]的研究也发现,向水稻土壤中添加水稻秸秆后,土壤中 $arsM$ 基因的丰度显著提高了139.4%,显著提高土壤中甲基态砷含量。此外,添加DOM后亦不同程度地增加了土壤溶液中无机态砷含量,通过增加砷甲基化底物浓度,进而促

进砷的甲基化进程。加入土壤中的DOM可能会由于竞争吸附或者共沉淀作用嵌入到铁矿物结构中而屏蔽铁矿物中 As(V) 的吸附位点^[34],或是与 As(V) 形成 As-DOM 络合物降低其在土壤中的吸附^[30],促进 As(V) 进入土壤溶液中进而被还原与甲基化。另外,本研究在土壤淹水状态下进行,厌氧条件有利于铁还原菌和砷还原菌的活动,促进铁矿物的还原溶解进一步使 As(V) 释放到溶液中^[35],提高水淹土壤中无机砷含量,为土壤中砷甲基化提供较高的底物浓度。土壤溶液中无机砷含量提高会增加水稻籽粒中砷的累积风险,砷污染稻田中施用有机肥时应注意其对水稻食用安全的影响。

本研究中,添加不同来源的4种DOM后差异性地促进了土壤中砷甲基化的进程。比较来看,猪粪DOM对土壤砷甲基化的激发效应最高,其次是鸡粪、牛粪和水稻秸秆,可能是由不同有机物料自身的理化性质所导致。相关研究表明,氮碳比更高的有机质更

容易被微生物所利用^[36],本文中猪粪的DON/DOC值明显高于水稻秸秆,不同DOM在被微生物利用难易程度上的差异可能影响了全细菌及砷甲基化微生物丰度,进而导致其在砷甲基化效率方面的差异。本研究中,猪粪DOM作用下土壤砷甲基化功能基因 $arsM$ 丰度较水稻秸秆高,表明猪粪DOM对土壤中砷甲基化的促进作用更为显著。目前,已有研究发现,土壤甲基砷含量增加会导致水稻籽粒中积累过量的有机砷,进而可能诱导水稻产生直穗病^[12],因此通过合理施用有机肥有望减少土壤中砷的甲基化,从而在一定程度上减轻水稻直穗病发生。

土壤pH是影响土壤新陈代谢和微生物群落组成与结构的重要理化因子^[37]。本研究中,与对照相比,添加4种不同来源的DOM均提高了土壤的pH,这可能是因为4种DOM原料为近中性或偏碱性,中和了部分原土壤的酸性。王小淇等^[38]向土壤中添加大豆秸秆、花生秸秆、甘蔗渣、水稻秸秆4种有机物料并淹水均使土壤的pH显著提高,与本文的研究结果相一致。水稻土在淹水厌氧状态下的pH较高,Honma等^[39]研究发现,水稻土pH与土壤溶液中总砷含量存在 $[As]=3.56 \times 10^{-12} \exp(4.72pH)$ 的函数关系,而砷主要以As(Ⅲ)的形式存在于厌氧环境中^[40],所以较高的酸碱度可能有利于砷的还原,从而增加了砷甲基化反应的底物浓度。添加猪粪源DOM后,土壤pH增加的幅度最小,而猪粪源DOM对土壤中砷甲基化的激发效应最高,其原因可能是加入猪粪DOM后更加接近了与砷还原和甲基化相关的微生物所需土壤的最适酸碱度范围,增强了相应微生物群落的繁殖和生命活动^[41],促进了砷甲基化反应。电导率是土壤重要的物理化学指标,它可以间接表示土壤溶液中离子成分的总质量浓度(全盐量)。本文中添加DOM后,除PD-40处理外,土壤EC的平均值均增大,总体呈现出随着TOC浓度的增加土壤EC值增大的趋势,但不同DOM处理下对土壤电导率的影响有明显差异。戴志刚等^[42]向土壤中施加油菜秸秆后发现土壤表层水溶液电导率迅速升高,而且EC值随着秸秆用量的增加而增加,和本文的研究结果相似。土壤EC值的增加可能是由于猪粪、牛粪等有机物料释放出的营养物质增加了溶液中盐类含量,从而使土壤溶液的离子浓度增大。猪粪DOM处理下的土壤电导率要明显低于水稻秸秆DOM,而添加猪粪为来源的DOM的土壤中砷甲基化效率却高于水稻秸秆,原因可能是过多的 Ca^{2+} 与 Mg^{2+} 随水稻秸秆DOM进入土壤溶液中与As(V)结

合形成更多的沉淀^[43],减少了As(V)向As(Ⅲ)的转化,而有机砷含量亦随之下降。

4 结论

(1)添加动物源可溶性有机质对水稻土壤中甲基态砷浓度的增加作用要高于植物源,不同来源的可溶性有机质对土壤中砷甲基化的激发效应大小排序为猪粪DOM>鸡粪DOM>牛粪DOM>水稻秸秆DOM。

(2)可溶性有机质添加后,土壤砷甲基化功能基因 $arsM$ 丰度提高,以及土壤pH及EC值变化介导的砷甲基化底物浓度升高是导致砷甲基化效率增加的重要原因。

参考文献:

- [1] Zhu Y G, Yoshinaga M, Zhao F J, et al. Earth abides arsenic biotransformations[J]. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences*, 2014, 42(1):443-467.
- [2] 汪京超, 李楠楠, 谢德体, 等. 砷在植物体内的吸收和代谢机制研究进展[J]. *植物学报*, 2015, 50(4):516-526.
WANG Jing-chao, LI Nan-nan, XIE De-ti, et al. Mechanisms of arsenic uptake and metabolism in plants[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2015, 50(4):516-526.
- [3] Qin J, Rosen B P, Zhang Y, et al. Arsenic detoxification and evolution of trimethylarsine gas by a microbial arsenite S-adenosylmethionine methyltransferase[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103(7):2075-2080.
- [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]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105(29):9931-9935.
- [5] Kamiya T, Islam R, Duan G L, 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.
- [6] Liao X Y, Chen T B, Xie H, et al. Soil As contamination and its risk assessment in areas near the industrial districts of Chenzhou City, southern China[J]. *Environment International*, 2005, 31(6):791-798.
- [7] 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.
- [8] Williams P N, Islam M 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.
- [9] Wang P P, Sun G X, Jia Y, et al. A review on completing arsenic biogeochemical cycle: Microbial volatilization of arsines in environment[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2014, 26(2):371-381.
- [10] Song X L, Geng Z R, Zhu J S, et al. Structure-function roles of four

- cysteine residues in the human arsenic (+3 oxidation state) methyltransferase (hAs3MT) by site-directed mutagenesis[J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2009, 179(2/3):321-328.
- [11] Zheng R L, Sun G X, Zhu Y G. Effects of microbial processes on the fate of arsenic in paddy soil[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2013, 58(2):186-193.
- [12] Limmer M A, Wise P, Dykes G E, et al. Silicon decreases dimethylarsinic acid concentration in rice grain and mitigates straighthead disorder[J]. *Environmental Science & Technology*, 2018, 52(8):4809-4816.
- [13] Lomax C, Liu W J, Wu L, et al. Methylated arsenic species in plants originate from soil microorganisms[J]. *New Phytologist*, 2012, 193(3):665-672.
- [14] Zhao F J, Harris E, Jia Y, 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.
- [15] 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.
- [16] Edvantoro B B, Naidu R, Megharaj M, et al. Microbial formation of volatile arsenic in cattle dip site soils contaminated with arsenic and DDT[J]. *Applied Soil Ecology*, 2004, 25(3):207-217.
- [17] Mohapatra D, Mishra D, Chaudhury G R, et al. Removal of arsenic from arsenic rich sludge by volatilization using anaerobic microorganisms treated with cow dung[J]. *Soil and Sediment Contamination: An International Journal*, 2008, 17(3):301-311.
- [18] Huang H, Jia Y, Sun G X, et al. Arsenic speciation and volatilization from flooded paddy soils amended with different organic matters[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(4):2163-2168.
- [19] Chefetz B, Xing B S. Relative role of aliphatic and aromatic moieties as sorption domains for organic compounds: A review[J]. *Environmental Science & Technology*, 2009, 43(6):1680-1688.
- [20] Li G, Khan S, Ibrahim M, et al. Biochars induced modification of dissolved organic matter (DOM) in soil and its impact on mobility and bioaccumulation of arsenic and cadmium[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2018, 348:100-108.
- [21] Liu B, Li Y X, Zhang X L, et al. Combined effects of chlortetracycline and dissolved organic matter extracted from pig manure on the functional diversity of soil microbial community[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 74:148-155.
- [22] Woolson E A, Axley J H, Kearney P C. Correlation between available soil arsenic, estimated by six methods, and response of corn (*Zea mays* L.)[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1971, 35(1):101-105.
- [23] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 三版. 北京:中国农业出版社, 2000.
- BAO Shi-dan. Soil agricultural chemistry analysis[M]. 3rd Edition. Beijing:China Agricultural Press, 2000.
- [24] Chen X X, Wang X H, Xue Y Y, et al. Influence of rice straw-derived dissolved organic matter on lactic acid fermentation by *Rhizopus oryzae*[J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2018, 125(6):703-709.
- [25] Zhu Y G, Sun G X, Lei M, et al. High percentage inorganic arsenic content of mining impacted and nonimpacted Chinese rice[J]. *Environmental Science & Technology*, 2008, 42(13):5008-5013.
- [26] Huang H, Jia Y, Sun G X, et al. Arsenic speciation and volatilization from flooded paddy soils amended with different organic matters[J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, 46(4):2163-2168.
- [27] Jia Y, Huang H, Zhong M, et al. Microbial arsenic methylation in soil and rice rhizosphere[J]. *Environmental Science & Technology*, 2013, 47(7):3141-3148.
- [28] Suzuki M T, Taylor L T, Delong E F. Quantitative analysis of small-subunit rRNA genes in mixed microbial populations via 5'-nuclease assays[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66(11):4605-4614.
- [29] 陈同斌, 陈志军. 土壤中溶解性有机质及其对污染物吸附和解吸行为的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 1998, 4(3):201-210.
- CHEN Tong-bin, CHEN Zhi-jun. Dissolved organic matter and its effects on adsorption and desorption of pollutants in soils[J]. *Plant Nutrition and Fertilizer Science*, 1998, 4(3):201-210.
- [30] 刘广良, 蔡 勇. 环境中砷与溶解有机质的络合作用[J]. 环境化学, 2011, 30(1):50-55.
- LIU Guang-liang, CAI Yong. Complexation of arsenic with dissolved organic matter in the environment[J]. *Environmental Chemistry*, 2011, 30(1):50-55.
- [31] Kalbitz K, Wennich R. Mobilization of heavy metal and in polluted wetland soil and its dependence on dissolved organic matter[J]. *Science of the Total Environment*, 1998, 209(1):27-39.
- [32] Wang P P, Bao P, Sun G X. Identification and catalytic residues of the arsenite methyltransferase from a sulfate-reducing bacterium, *Clostridium* sp. BXM[J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2015, 362(1):1-8.
- [33] 孙冰洁, 张晓平, 贾淑霞. 农田土壤理化性质对土壤微生物群落的影响[J]. 土壤与作物, 2013, 2(3):138-144.
- SUN Bing-jie, ZHANG Xiao-ping, JIA Shu-xia. The effect of physical and chemical properties on soil microbial community in agro-ecosystem[J]. *Soil and Crop*, 2013, 2(3):138-144.
- [34] Bauer M, Blodau C. Mobilization of arsenic by dissolved organic matter from iron oxides, soils and sediments[J]. *Science of the Total Environment*, 2006, 354(2):179-190.
- [35] 钟松雄, 何宏飞, 陈至良, 等. 水淹条件下水稻土中砷的生物化学行为研究进展[J]. 土壤学报, 2018, 55(1):1-17.
- ZHONG Song-xiong, HE Hong-fei, CHEN Zhi-liang, et al. Advancement in study on biochemical behavior of arsenic in flooded paddy soil[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2018, 55(1):1-17.
- [36] 占新华, 周立祥, 卢燕宇. 农业常用有机物料中水溶性有机物的理化性质特征[J]. 中国环境科学, 2010, 30(5):619-624.
- ZHAN Xin-hua, ZHOU Li-xiang, LU Yan-yu. Fractionation and characterization of dissolved organic matter derived from different organic material commonly applied in agriculture[J]. *China Environmental Science*, 2010, 30(5):619-624.
- [37] Hartman W H, Richardson C J, Vilgalys R, et al. Environmental and anthropogenic controls over bacterial communities in wetland soils[J].

- Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2008, 105 (46) : 17842-17847.
- [38] 王小淇, 索 龙, 季雅岚, 等. 添加几种秸秆并淹水对海南土壤 N_2O 和 CH_4 排放的影响[J]. 环境科学学报, 2017, 37(10):4004-4010.
- WANG Xiao-qi, SUO Long, JI Ya-lan, et al. Effect of addition of several types of straws on N_2O and CH_4 emissions from soil under flooding condition in Hainan Province[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2017, 37(10):4004-4010.
- [39] Honma T, Ohba H, Kaneko-Kadokura A, et al. Optimal soil Eh, pH, and water management for simultaneously minimizing arsenic and cadmium concentrations in rice grains[J]. *Environmental Science & Technology*, 2016, 50(8):4178-4185.
- [40] 曾希柏, 和秋红, 李莲芳, 等. 淹水条件对土壤砷形态转化的影响[J]. 应用生态学报, 2010, 21(11):2997-3000.
- ZENG Xi-bai, HE Qiu-hong, LI Lian-fang, et al. Influence of flooding on form transformation of soil arsenic[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2010, 21(11):2997-3000.
- [41] 陈平平, 郭莉莉, 唐利忠, 等. 土壤 pH 对不同酸性敏感型水稻品种氮利用效率与根际土壤生物学特性的影响[J]. 核农学报, 2017, 31(4):757-767.
- CHEN Ping-ping, GUO Li-li, TANG Li-zhong, et al. Effect of soil pH on nitrogen utilization efficiency and biological characters of rhizosphere soil of rice varieties with different acid-sensitivity[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2017, 31(4):757-767.
- [42] 戴志刚, 鲁剑巍, 鲁明星, 等. 油菜秸秆用量对淹水培养土壤表层溶液理化性质的影响[J]. 水土保持学报, 2010, 24(1):197-201.
- DAI Zhi-gang, LU Jian-wei, LU Ming-xing, et al. Effect of rape straw rate on physicochemical properties of soil surface solution under waterlogged incubation[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2010, 24(1):197-201.
- [43] 赵仕林. 土壤中价态砷的浸取方法研究[J]. 四川师范大学学报(自然科学版), 1995, 18(6):45-51.
- ZHAO Shi-lin. Research on soak method of valence form of arsenic in soil[J]. *Journal Sichuan Normal University(Natural Science)*, 1995, 18(6):45-51.