

方知库
Eco-Environmental
Knowledge Web

环境科学

ENVIRONMENTAL SCIENCE

ISSN 0250-3301 CODEN HCKHDV

HUANJING KEXUE

2000~2018年我国大气重金属沉降通量时空变化特征

陈其永, 郜允兵, 倪润祥, 潘瑜春, 阎跃观, 杨晶, 刘孝阳, 顾晓鹤



■ 主办 中国科学院生态环境研究中心

■ 出版 科学出版社



2022年9月

第43卷 第9期
Vol.43 No.9

目次

2000~2018年我国大气重金属沉降通量时空变化特征	陈其永, 郇允兵, 倪润祥, 潘瑜春, 阎跃观, 杨晶, 刘孝阳, 顾晓鹤(4413)
面向二/三维城市形态指标的PM _{2.5} 浓度调控模拟	李莎, 邹滨, 刘宁, 冯徽徽, 陈军, 张鸿辉(4425)
减排背景下成都大气PM _{2.5} 碳质组分特征	陈璐瑶, 于阳春, 黄小娟, 董贵明, 张军科(4438)
青岛秋冬季PM ₁ 中金属元素污染特征及健康风险评估	刘子杨, 张宜升, 张厚勇, 马子轸, 陶文鑫, 王娇, 薛莲, 彭倩倩, 杜金花, 赵娇娇, 彭亮, 孙英杰(4448)
港口地区大气PM _{2.5} 中多环芳烃污染特征及来源分析	王鹏程, 杨凌霄, 别淑君, 黄琦, 齐安安, 虞雄, 王滢铭, 徐鹏, 张天琪, 王文兴(4458)
天津市冬季道路颗粒物粒径分布及来源解析	张国涛, 殷宝辉, 白雯宇, 郭丽瑶, 王智宇, 张楠, 郑镇森, 张利文, 杨文, 韩斌, 白志鹏(4467)
北京市生物源一次气溶胶浓度变化特征及影响因素	梁林林, 刘畅, 刘旭艳, 徐婉筠, 张根, 程红兵, 刘雨思(4475)
北京市城区夏季VOCs变化特征分析与来源解析	孟祥来, 孙扬, 廖婷婷, 张琛, 张成影(4484)
东莞工业集中区夏季臭氧污染与非污染期间VOCs组分特征及其来源	周振, 肖林海, 费蕾蕾, 余纬, 林满, 黄筠筠, 张智胜, 陶俊(4497)
生活垃圾填埋场恶臭污染的时空变化与膜阻隔效果	何品晶, 李健晨, 吕凡, 章骅, 邵立明(4506)
不同年份太湖水域全氟化合物健康风险源解析对比	武婷, 孙善伟, 樊境朴, 鲁富蕾, 郭昌胜, 徐建(4513)
沱江流域典型及新兴全氟/多氟化合物的污染特征及来源解析	宋娇娇, 汪艺梅, 孙静, 方淑红(4522)
白洋淀不同类型水体表层沉积物重金属的赋存形态及风险	许梦雅, 张超, 单保庆, 刘操(4532)
喹诺酮类抗生素在城市典型水环境中的分配系数及其主要环境影响因子	剧泽佳, 付雨, 赵鑫宇, 陈慧, 宋圆梦, 赵波, 张纪媛, 卢梦洪, 崔建升, 张璐璐(4543)
石家庄地下水中喹诺酮类抗生素生态风险及其与环境因子的相关性	陈慧, 剧泽佳, 赵鑫宇, 付雨, 崔建升, 张璐璐(4556)
不同淹水环境下湖泊沉积物DOM的特征与来源	陈佳, 李忠武, 金昌盛, 文佳骏, 聂小东, 王磊(4566)
晋城市沁河流域秋季浮游植物群落结构特征及其与环境因子的关系	高梦蝶, 李艳粉, 李艳利, 孙昂, 田爽, 张春晖, 耿亚平, 李林霞(4576)
不同配置绿色屋顶径流水质特征及综合评价	章孙逊, 张守红, 闫婧, 王任重远, 杨航(4587)
紫外光化过硫酸盐降解磷酸氯喹	李阳, 许玻琨, 邓琳, 罗伟(4597)
微气泡臭氧氧化预处理实际制药废水去除SS和有机性能	刘春, 陈蕊, 张静, 杨旭, 陈晓轩, 郭延凯, 武明泽, 庞勃(4608)
废水排放对近海环境中抗生素抗性基因和微生物群落的影响	陈嘉瑜, 苏志国, 姚鹏城, 黄备, 张永明, 温东辉(4616)
生物炭和秸秆还田对微咸水滴灌棉田土壤真菌群落结构多样性的影响	郭晓雯, 陈静, 鲁晓宇, 李远, 陶一凡, 闵伟(4625)
有机物料投入对喀斯特地区土壤磷素赋存形态与含 $phoD$ 基因细菌群落的影响	夏鑫, 乔航, 孙琪, 刘坤平, 陈香碧, 何寻阳, 胡亚军, 苏以荣(4636)
煤矿矿区复垦植被类型对土壤微生物功能基因和酶活的影响	宁岳伟, 刘勇, 张红, 李君剑(4647)
生物炭施用对黄壤土壤养分及酶活性的影响	袁访, 李开钰, 杨慧, 邓承佳, 梁红, 宋理洪(4655)
黄河源区斑块化退化高寒草甸土壤细菌群落多样性变化	孙华方, 李希来, 金立群, 赵玉蓉, 李成一, 张静, 宋梓涵, 苏晓雪, 刘凯(4662)
模拟氮沉降对三江平原小叶章湿地土壤微生物碳源利用能力的影响	翁晓虹, 隋心, 李梦莎, 刘赢男, 张荣涛, 杨立宾(4674)
石家庄市土壤中喹诺酮类抗生素空间分布特征及其与微生物群落相关性	赵鑫宇, 剧泽佳, 陈慧, 付雨, 宋圆梦, 赵波, 张纪媛, 卢梦洪, 崔建升, 张璐璐(4684)
典型氧化还原环境中微塑料表面的微生物群落组成特征与构建机制	龚志伟, 马杰, 苏趋, 林亚楠, 董鑫磊, 周立昌, 王宗平, 郭刚(4697)
作物秸秆材料处理养殖废水中氮的周年去除效果及其对氮循环微生物丰度的影响	刘铭羽, 夏梦华, 蒋磊, 彭健, 陈坤, 赵聪芳, 李希, 孟岑, 曾睿, 王栋, 李裕元, 吴金水(4706)
不同外碳源对尾水极限脱氮性能及微生物群落结构的影响	王伟, 赵中原, 张鑫, 由志鹏, 黄子晋, 彭永臻(4717)
总氮提标改造工程的微生物群落结构分析	李海松, 王柯丹, 陈晓蕾, 阎登科, 许子聪, 胡培基(4727)
IFAS工艺处理南方低碳源污水的泥膜微生物互作规律分析	赫俊国, 江伟勋, 何卓义, 刘新平, 吴世华, 储昭瑞, 冯杰(4736)
黄土高原土地利用方式对微塑料丰度和形态分布的影响	郝永丽, 胡亚鲜, 白晓雄, 郭胜利(4748)
南方丘陵区土壤重金属含量、来源及潜在生态风险评价	王玉, 辛存林, 于爽, 薛红蕾, 曾鹏, 孙平安, 刘凡(4756)
兰州市耕地“五毒”重金属的风险评价与归因分析	张利瑞, 彭鑫波, 马延龙, 康乐, 张妍娥, 王泉灵, 张松林(4767)
石家庄市栾城区农田土壤重金属分布特征及作物风险评价	孟晓飞, 郭俊梅, 杨俊兴, 郑国砥, 陈同斌, 刘杰(4779)
典型城市土壤中重金属锑(Sb)的含量分布特征及风险评价	沈城, 叶文娟, 钱诗颖, 吴健, 朱旭东, 王敏(4791)
有色金属矿业城市典型村镇土壤重金属污染评价及来源解析	汪峰, 黄言欢, 李如忠, 吴鸿飞(4800)
柠檬酸及刈割强化象草修复镉污染土壤的效应	唐棋, 伍港繁, 辜娇峰, 周航, 曾鹏, 廖柏寒(4810)
稻田干湿过程甲基化效率变化与关键影响因素分析	张玥, 李令仪, 文炯, 曾希柏, 苏世鸣(4820)
外源茉莉酸对水稻幼苗根系砷积累及抗逆应答效应	李颜, 黄益宗, 保琼莉, 黄永春, 张盛楠(4831)
秸秆还田配施化肥对土壤养分及冬小麦产量的影响	宋佳杰, 徐郁阳, 白金泽, 于琦, 程伯豪, 冯永忠, 任广鑫(4839)
冬季绿肥对黄土高原旱作春玉米农田土壤温室气体排放的影响	张少宏, 王俊, 方震文, 付鑫(4848)
庞泉沟自然保护区土壤呼吸空间分异性影响因素探测	李晓敏, 严俊霞, 杜自强, 王琰(4858)
小型养殖塘水体中CH ₄ 、CO ₂ 和N ₂ O浓度的时空变化特征及影响因素	石婕, 张弥, 邱吉丽, 万梓文, 赵若男, 谢燕红, 陈明健, 赵佳玉, 肖薇, 刘寿东(4867)
丁基黄药对选矿区土壤吸附铅镉的影响	胡志浩, 郭朝晖, 冉洪珍, 肖细元, 彭驰, 李钰滢(4878)
秸秆生物炭吸附对乙酰氨基酚的机制及其位能分布特征	商岑尧, 顾若婷, 张强, 谢慧芳, 王冰玉(4888)
黄土高原地区生态脆弱性时空变化及其驱动因子分析	张良侠, 樊江文, 张海燕, 周德成(4902)
植物促生菌在重金属生物修复中的作用机制及应用	马莹, 王玥, 石孝均, 陈新平, 李振轮(4911)
《环境科学》征订启事(4512)	《环境科学》征稿简则(4735)
信息(4696, 4790, 4887)	

稻田落干过程砷甲基化效率变化与关键影响因素分析

张玥¹, 李令仪¹, 文炯², 曾希柏¹, 苏世鸣^{1*}

(1. 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; 2. 岳阳市农业科学研究院, 农业农村部岳阳农业环境科学观测实验站, 岳阳 414000)

摘要: 研究稻田落干过程砷甲基化效率变化规律, 分析关键环境和生物因素的影响, 为今后水稻直穗病防控提供科学依据. 开展室内培养模拟稻田落干过程, 以采集自贵州兴仁(XR)和广西南丹(ND)的两种砷污染水稻土壤为供试土壤, 各土壤设置添加(RS)和不添加(CK)水稻秸秆处理, 分析自然落干0、24、36、48和60 h过程中 Eh、pH、孔隙水总有机碳(TOC)、砷形态、砷甲基化功能基因(*arsM*)、硫酸盐还原菌(*dsrA*, 砷甲基化相关微生物)、产甲烷菌(*mcrA*, 砷去甲基化相关微生物)丰度和 *arsM* 功能微生物多样性变化. 稻田落干过程土壤 Eh 由完全淹水状态下的 -300 ~ -200 mV 向落干后的 -150 ~ -50 mV 变迁, 而 pH 值变化规律不明显; 孔隙水无机砷(iAs)和二甲基砷(DMAs)浓度随落干过程变化更为显著, 总体呈现增加趋势, 且 RS 处理 DMAs 浓度显著高于 CK, ND 土壤孔隙水比 XR 土壤孔隙水 DMAs 浓度更高; 随落干时间延长, XR-CK 和 XR-RS 处理土壤砷甲基化效率有一定提升, 但变化不显著, 而 ND-CK 和 ND-RS 处理土壤砷甲基化效率显著增加. 当培养为 60 h 时, ND-CK 和 ND-RS 处理砷甲基化效率相比培养初期分别提高约 61.8% 和 23.2%; 随落干时间延长 *arsM* 和 *dsrA* 基因拷贝数明显增加, 而 *mcrA* 基因拷贝数显著下降. 秸秆添加后显著提高全细菌和 *arsM*、*dsrA* 和 *mcrA* 基因丰度; 进一步基于多因素方差分析和冗余分析发现, 供试土壤、秸秆添加、落干时间和其交互作用对于各砷形态、砷甲基化效率和关键基因丰度变化影响显著, TOC、Eh 和砷甲基化相关基因与甲基态砷呈正向关联, 而与无机砷 iAs 呈负向关联; 基于 *arsM* 微生物测序发现, 伴随落干过程还发生着砷甲基化功能微生物群落的更替. 研究结果有助于提升稻田落干过程中砷甲基化变化的理论认知, 为今后水稻直穗病科学防控提供指导.

关键词: 孔隙水; 砷甲基化效率; 水稻秸秆; 砷甲基化基因(*arsM*); 硫酸盐还原基因(*dsrA*)

中图分类号: X171.5 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2022)09-4820-11 DOI: 10.13227/j.hj.kx.202111138

Arsenic Methylation Efficiency Changes During Paddy Soil Drying and Its Key Influencing Factors Analysis

ZHANG Yue¹, LI Ling-yi¹, WEN Jiong², ZENG Xi-bai¹, SU Shi-ming^{1*}

(1. Key Laboratory of Agro-Environment, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Institute of Environment and Sustainable Development in Agriculture, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 2. Yueyang Agricultural Environment Scientific Experiment Station, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Yueyang Academy of Agricultural Sciences, Yueyang 414000, China)

Abstract: The straight head disease of rice is one of the main problems limiting rice production. Arsenic (As) methylation in paddy soils is considered to be highly related to the occurrence of the straight head disease. As a typical field practice, rice fields are usually drained during the late tillering stage and the mid-late grain filling stage. Nevertheless, the key influencing factors on the As methylation efficiency during paddy soil drying remain unclear. In this study, an indoor cultivation experiment was set up to simulate the drying process of paddy soil. Two As-contaminated soils collected from Xingren (XR) in Guizhou province and Nandan (ND) in Guangxi province were used as test soils. Each soil was treated with the addition of rice straw (RS) and without rice straw (CK). With the drying of paddy soil (0, 24, 36, 48, and 60 h), the changes in soil Eh, pH, total organic carbon (TOC), and As chemical species in the porewater were determined. The abundance of the As methylation functional gene (*arsM*), sulfate-reducing bacteria (harboring *dsrA*, As methylation-related microorganism), and methanogens (harboring *mcrA*, As demethylation-related microorganism), as well as the diversity of *arsM*-harboring microorganisms, were also observed. The results showed that during the process of drying paddy soil, soil Eh changed from -300 ~ -200 mV under complete flooding to -150 ~ -50 mV after drying; however, the change in soil pH was not obvious. The concentrations of inorganic As (iAs) and dimethylarsenic (DMAs) in porewater significantly increased ($P < 0.05$) with the drying process. Additionally, the concentration of DMAs in the RS treatment was prominently higher than that in CK. Compared with XR soil, the concentration of DMAs in ND soil was higher. As a function of soil drying time, the As methylation efficiency of XR soil (XR-CK and XR-RS) slightly increased but was not significant ($P > 0.05$), whereas the As methylation efficiency of ND soil (ND-CK and ND-RS) increased significantly ($P < 0.05$). After the drying time reached 60 h, the As methylation efficiency of ND-CK and ND-RS increased by 61.8% and 23.2%, respectively, compared with those at the early stage of drying (0 hours). The copy numbers of the *arsM* and *dsrA* genes greatly increased with the extension of drying time, whereas an opposite trend was observed for the copy number of the *mcrA* gene. Furthermore, the addition of straw obviously increased the gene abundance of whole bacteria and *arsM*-, *dsrA*-, and *mcrA*-harboring bacteria. Based on the multi-factor analysis of variance and the redundancy analysis, it was found that the test soil type, straw addition, drying time, and their interaction had a critical influence on the changes in As species, As methylation efficiency, and the gene abundance in soils. TOC, Eh, and the functional genes associated with As methylation were positively linked with the methylated As content in soil porewater but negatively correlated with that of iAs. According to the sequence of the *arsM*-harboring microbe, it was clearly demonstrated that a community shift of As-methylating microbe occurred with the soil drying. Here, the following conclusions were derived: ① the drying process did

收稿日期: 2021-11-14; 修订日期: 2022-01-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(42077139, 41671328); 中国农业科学院创新工程项目(CAAS-ASTIP-2016-IEDA)

作者简介: 张玥(1996 ~), 女, 硕士研究生, 主要研究方向为重金属超标农田风险调控与安全利用, E-mail: zhangyue06@caas.cn

* 通信作者, E-mail: sushiming@caas.cn

not lower the As methylation efficiency in paddy soil. On the contrary, in this study, the As methylation efficiency, especially that for ND soil, remarkably improved. The addition of straw notably promoted the As methylation efficiency and the content of DMAs in porewater. ② An increasing tendency was observed for the abundance of microbes related to As methylation, whereas a reverse trend was indicated for microbes related to As demethylation. The community shift of *arsM*-harboring microbes might be the crucial reason for the improved As methylation efficiency during the soil drying. These observations contribute to a better understanding of the As methylation process during paddy soil drying and will shed light on the future mitigation of rice straight head disease in paddy soils.

Key words: porewater; As methylation efficiency; rice straw; As-methylating gene (*arsM*); sulfate-reducing gene (*dsrA*)

由于含砷矿产的开采、含砷农药滥用和砷超标地下水灌溉等造成国内外稻田砷污染现象突出^[1]. 水稻籽粒相对于其他作物可食部位更易于积累砷, 可通过食物链方式严重威胁人体健康^[2]. 近年来研究发现, 水稻颖壳累积过量的二甲砷基(DMAs)容易引起水稻直穗病^[3], 后者是一种生理性病害, 水稻抽穗后不能灌浆结实, 颖壳畸形, 稻穗直立, 严重者不能抽穗, 导致水稻减产, 甚至绝产^[4,5]. 然而水稻植株本身不能将砷甲基化, 水稻体内 DMAs 主要来源于对土壤 DMAs 的吸收作用^[6]. 因此关注稻田土壤中砷的甲基转化过程, 明确环境因子影响砷甲基化效率变化, 对于今后水稻直穗病防控具有重要科学意义.

稻田土壤中砷存在形态主要包括无机砷(*iAs*)和甲基态砷, 其中无机砷包括还原态砷[As(Ⅲ)]和氧化态砷[As(Ⅴ)], 甲基砷主要包括单甲基砷酸盐(MMAs)、二甲砷基砷酸盐(DMAs)和三甲基砷(TMAsO)^[7]. 微生物参与土壤中砷的氧化、还原、甲基化和去甲基化过程^[8]. 微生物对砷的甲基化被认为是一个解毒过程, 无机砷通过连续的还原和甲基化过程形成具有挥发性的还原态甲基砷, 进而释放到微生物胞外^[9]. 微生物对砷的甲基化主要由功能基因 *arsM* 编码生成的 S-腺苷甲硫氨酸(SAM)甲基转移酶调控^[10]. 有研究表明, 稻田土壤中的砷甲基化主要由硫酸盐还原菌(*dsrA*)驱动, 而产生的 DMAs 可以被一些营养型产甲烷菌(*mcrA*)通过代谢甲基基团为 CO₂ 的方式发生去甲基反应^[11]. 因此, 稻田土壤中砷的甲基化和去甲基化动态平衡控制着土壤中 DMAs 的浓度水平, 进而在很大程度上影响着水稻直穗病的发生^[11]. 外源添加有机物料和含硫物质、环境温度等均会显著影响土壤 Eh、pH 状况和可溶性总有机碳(TOC)浓度, 改变砷甲基化相关微生物区系, 从而影响砷甲基化效率^[12~14]. 外源添加有机物质有助于提高稻田土壤微生物砷甲基化效率, 且不同来源的有机物质提升砷甲基化效率的能力亦不同^[12,15]. 持续性稻田淹水促进稻田土壤中微生物砷甲基化基因 *arsM* 拷贝数和籽粒甲基砷浓度明显增加^[16]. 外源添加硫酸盐和提高温度有利于提高硫酸盐还原菌丰度和活性, 进而促进砷甲基转化^[17]. 稻田落干是水稻生产中常见且必要的农艺措

施, 水稻分蘖晚期通过排水落干控制水稻有效分蘖数量, 促进产量提升; 而灌浆晚期通过稻田落干可为后期水稻收获提供便利条件. 稻田落干过程伴随着孔隙水 TOC、无机砷和砷甲基化相关微生物丰度与多样性等的同步变化, 进而造成稻田土壤砷甲基化效率改变. 以往研究更加关注单一环境因子对砷甲基化效率的影响, 而稻田落干过程中砷甲基化效率变化和关键因素影响还鲜见报道.

本研究通过室内模拟稻田落干过程, 分析落干过程中孔隙水砷形态、TOC 含量、土壤中砷甲基化微生物(*arsM*)、硫酸盐还原菌(*dsrA*)、产甲烷菌(*mcrA*)丰度和 *arsM* 微生物群落变化, 揭示稻田落干过程砷甲基化效率变化规律, 探究环境因子(如 Eh、pH、TOC)和砷甲基化相关微生物丰度与群落变化影响砷甲基化效率的可能过程, 相关结果有助于丰富稻田砷甲基化转化的理论认知, 以期在今后水稻直穗病科学防控提供指导.

1 材料与方法

1.1 供试土壤和水稻秸秆

本实验土壤取自贵州兴仁县(XR)砷污染稻田土壤(25°24'N, 105°15' E)和广西南丹县(ND)砷污染稻田土壤(25°08'N, 107°30' E). 供试土壤类型分别为发育自第四纪红黏土的黄壤性水稻土和发育自砂页岩的红壤性水稻土, 均取自 0~20 cm 耕层. 实验前土壤先去除石砾和植物残根, 风干磨碎, 过 200 目筛后备用. 土壤理化性质见表 1, 各指标测定方法见文献[18]. 水稻秸秆由湖南省岳阳市农业

表 1 供试土壤基本理化性质		
Table 1 Geochemical property of experimental soils		
分析指标	XR 土壤	ND 土壤
pH	5.60	6.12
$\omega(\text{有机质})/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	34.7	43.4
$\omega(\text{全氮})/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	3.18	3.41
$\omega(\text{全磷})/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	2.37	0.46
$\omega(\text{全钾})/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	7.66	15.6
$\omega(\text{水解氮})/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	236	384
$\omega(\text{有效磷})/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	10.7	29.1
$\omega(\text{速效钾})/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	153	230
$\omega(\text{全砷})/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	73.1	35.4
$\omega(\text{全铁})/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	118.9	27.1
$\omega(\text{全锰})/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	1.28	0.35
$\omega(\text{全硫})/\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	0.68	0.37

科学研究院提供,实验前水稻秸秆切碎并研磨成粉末,并利用 γ 射线物理灭菌,避免因秸秆添加带入的可能生物污染.

1.2 土壤培养实验

将供试土壤称重 90 g 放入 50 mL 离心管中. 每种供试土壤设置对照 (CK) 和外源添加秸秆处理 (RS). 对照为无秸秆添加处理. 外源添加秸秆处理为每 90 g 土壤添加 2.25 g 秸秆. 秸秆添加量以碳输入量为土体重量的 1% 计算获得. 秸秆和土壤混合均匀装进 50 mL 离心管中. 各处理设置 3 个重复. 孔隙水采样器 (19.21.22F, MacroRhizon, 荷兰) 事先垂直埋放于供试土壤中,以减少后期采样对土壤的干扰. 离心管外壁锡纸覆盖,以保持高于土表 2 cm 静水层模拟稻田淹水状况开展淹水培养. 培养全过程温度控制在 25℃. 前期实验表明,淹水培养 21 d 后孔隙水砷形态、Eh 和 pH 等关键指标变化不显著,供试土壤进入相对稳定的淹水状态. 本实验中淹水培养 21 d 后停止水分补充,以自然落干开始模拟稻田水分落干过程. 实验在落干培养的第 0、24、36、48 和 60 h,利用 Pt/Ag-AgCl 电极和 pH 计 (Thermo Orion 4 Star, Beverly, 美国) 分别测定土表以下 3 cm 处 Eh 电位和 pH 值;利用孔隙水采样器采集土壤孔隙水样,于 -20℃ 冰箱保存备用;采集第 0、36 和 60 h 新鲜土壤于 -80℃ 冰箱保存,用于分子生物学指标分析. 落干时间为 60 h 时,离心管内表层土壤没有明显干裂,且下层孔隙水仍可通过采样器收集,对实验结果影响有限.

1.3 化学指标分析

土壤孔隙水样品过 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 ICP-MS 7900, 美国) 测定各砷形态浓度. 为提高砷形态分析质量, HPLC-ICP-MS 上机测样时,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),各批次单标溶液回收率达 97%. 为了更直观地表示砷甲基化效率,基于各砷形态结果计算砷甲基化效率,公式如下:

$$-\text{CH}_3/\text{As} =$$

$$\frac{3 \times c(\text{TMAOs}) + 2 \times c(\text{DMAOs}) + c(\text{MMAOs})}{c(\text{TMAOs}) + c(\text{DMAOs}) + c(\text{MMAOs}) + c(\text{iAs})}$$

式中, c 为该形态砷的浓度; TMAOs、DMAOs 和 MMAOs 分别结合有 3、2 和 1 个甲基基团. 此外,第 0、36 和 60 h 的孔隙水样利用 TOC 仪 (ELEMENTAL, 德国) 测定 TOC 浓度.

1.4 DNA 提取、qPCR 和 Illumina MiSeq 高通量测序

土壤 DNA 提取采用 DNA 提取试剂盒 [天根生

化科技 (北京) 有限公司] 进行. 分析细菌 16S rRNA^[19]、古菌 16S rRNA^[20]、*arsM*^[21]、*dsrA*^[22] 和 *mcrA*^[17] 绝对定量拷贝数,目的基因引物和反应条件见相关研究. 质粒克隆后, qPCR 反应体系为 2 $\times$ Master Mix 10 μL , 10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 PCR 特异引物 F 和 R,加水至总体积分别为 18 μL 和 2 μL DNA. 将质粒标准品按 10 倍梯度稀释,每个梯度取 2 μL 做模板建立标准曲线. 将混合好的 PCR 体系置于 Realtime PCR 仪上进行 PCR 反应. 扩增反应结束后建立 PCR 产物熔融曲线,确定反应特异性.

选择落干过程中砷甲基化效率变化较为显著的供试土壤为对象,以其功能基因 *arsM* PCR 扩增产物引物构建 MiSeq 文库,于 Illumina MiSeq_PE300 平台进行 Paired-end 测序. 对测得的 Fastq 数据进行质控处理,最终得到优质的 Fasta 数据. 下机数据 (Raw PE) 经去除拼接,进一步去除嵌合体 and 短序列后得到优质 clean_tags,采用聚类 uparse 方法,以 97% 相似水平对所有序列进行 OTU (Operational Taxonomic Units) 划分. 通过与 GenBank non-redundant nucleotide database (nt) 数据库使用 Blast 算法进行比对,设置 $1e-5$ 的阈值,得到每个 OTU 对应的物种分类信息.

1.5 数据分析

采用 Excel 2016 对所有数据进行基本统计分析,采用 Origin 2019 进行数据作图,处理间方差分析采用 LSD- t 检验在 0.05 水平下进行. 所有数据均表示为平均值 $\pm$ 标准误 (SE). 采用多因素方差分析的方法,于 SPSS 21 软件上分析不同处理和交互作用下各指标变化显著性. 采用 Canoco 5.0 中的冗余分析 (RDA) 来确定环境因子、功能基因丰度与砷化学形态之间关联. 对于高通量测序数据,使用 QIIME (v1.8.0) 软件进行 α 多样性指数分析 (包括 Shannon 和 Chao1 等指数). 基于物种注释及相对丰度结果,使用 R (v3.6.0) 软件进行物种组成柱状图分析. 使用 QIIME1 (v1.8.0) 计算 β 多样性距离矩阵,使用 R (v3.6.0) 软件进行最小二乘法判别分析 (PLS-DA 分析). 使用 Python (v2.7) 软件开展比较 LDA 效应大小 (LEfSe) 分析,以区分不同处理分组微生物丰度有显著差异的物种.

2 结果与分析

2.1 稻田土壤落干过程 Eh、pH 和孔隙水 TOC 浓度变化

伴随落干过程,土壤 Eh、pH (图 1) 和孔隙水 TOC 浓度 (图 2) 变化显著. 随落干时间延长, XR 和 ND 土壤 Eh 值显著升高,总体来看土壤 Eh 状态由

完全淹水状态下的 $-300 \sim -200$ mV 向落干后的 $-150 \sim -50$ mV 变迁[图 1(a)]. 相同土壤不同处理间存在一定差异,即落干后期 RS 处理 Eh 值高于 CK 处理. 特别是 XR 土壤,CK 处理在落干的第 0 和 24 h 时 Eh 值高于 RS 处理,而在第 36、48 和 60 h 时则 RS 处理 Eh 值明显高于 CK; 供试土壤落干过程 pH 值随着时间变化规律不明显, pH 值变化在 6.5~7.7 范围内[图 1(b)]. 总体来看,CK 处理土壤 pH 值整体呈现上升趋势,且变幅较大,而 RS 处理特别是 ND 土壤 pH 值呈下降趋势,变幅较小; 供试土壤 RS 处理 TOC 浓度均高于 CK 处理(图 2),其中 XR 土壤 RS 处理在各采样时间下均显著高于 CK ($P < 0.05$),而 ND 土壤仅在培养时间为 60 h 时显著高于 CK ($P < 0.05$). 除 ND-CK 处理外,各处理土壤 TOC 浓度均随落干时间延长呈现不同程度增加,但仅在 ND 土壤 RS 处理中存在显著差异.

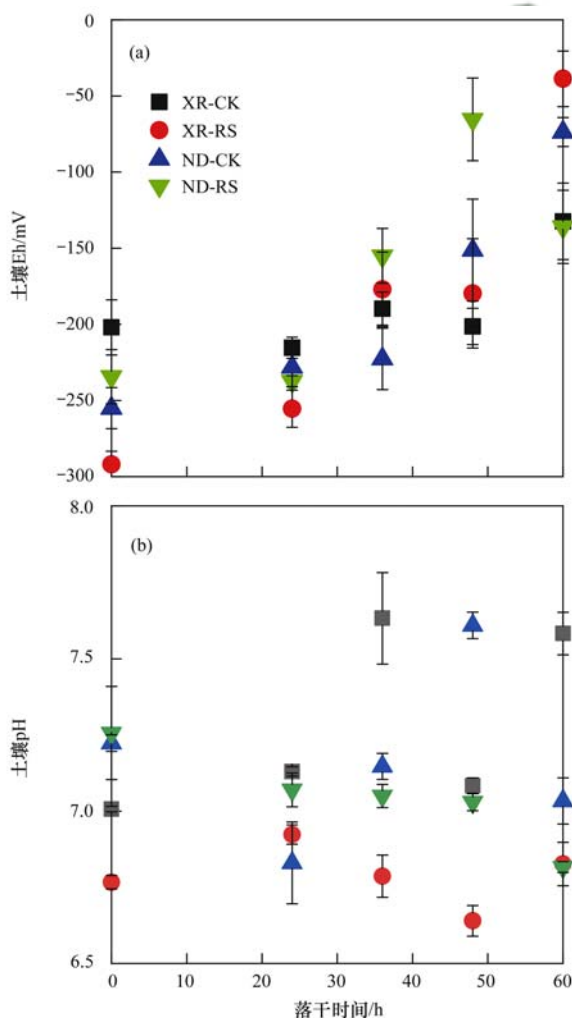


图 1 供试土壤落干过程中 Eh 和 pH 变化

Fig. 1 Changes in soil Eh and pH with paddy soil drying

2.2 孔隙水砷形态和砷甲基化效率随时间动态变化

供试土壤各处理的孔隙水 iAs 和 DMA_s 浓度随落干过程变化更为显著(图 3). 随落干时间延长,

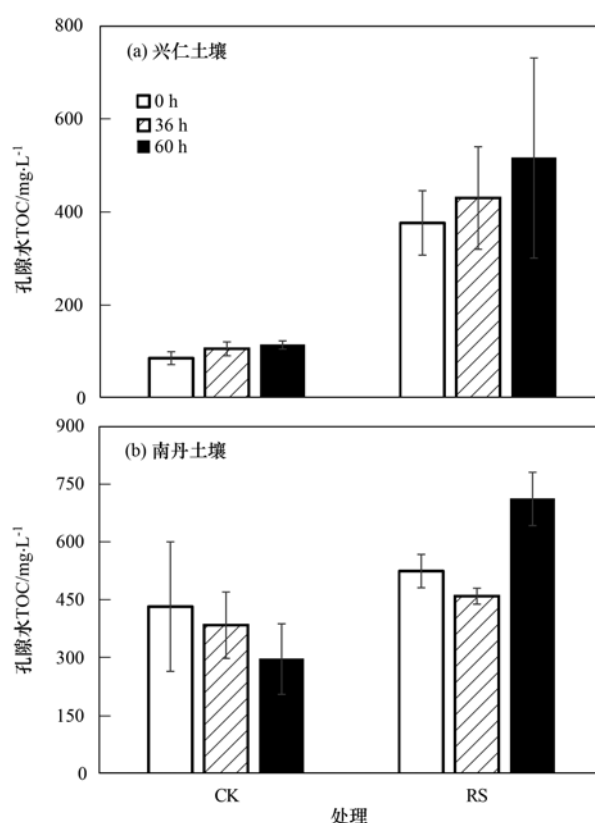


图 2 兴仁土壤和南丹土壤落干过程孔隙水 TOC 含量变化

Fig. 2 Changes in TOC content in porewater during drying of Xingren soil and Nandan soil

XR-CK 处理 iAs 浓度整体呈现增加趋势,而其它形态砷变化不显著; ND-CK、XR-RS 和 ND-RS 处理 iAs 浓度先增加后降低,而 DMA_s 浓度随培养时间延长而明显增加. 供试土壤 CK 处理 iAs 浓度均显著高于其它有机砷[图 3(a)和 3(b)],而 RS 处理 DMA_s 浓度均显著高于 iAs、MMA_s 和 TMA_sO[图 3(c)和 3(d)]. 两种供试土壤比较来看,ND 土壤无论是否添加秸秆处理均具有更高的 DMA_s 浓度.

供试稻田落干过程中砷甲基化效率变化存在差异(图 4). 随落干时间延长, XR-CK 和 XR-RS 处理土壤砷甲基化效率没有显著变化; 而 ND-CK 和 ND-RS 处理土壤砷甲基化效率则显著增加. 当培养时间为 60 h 时, XR-CK 和 XR-RS 处理砷甲基化效率分别提高 9% 和 0.6%, 而 ND-CK 处理土壤砷甲基化效率显著高于培养初期(0 h, $P < 0.05$), 提高约 61.8%; 当培养时间大于 36 h 时, ND-RS 处理土壤砷甲基化效率显著高于培养初期(0 h, $P < 0.05$), 培养时间为 60 h 时, 提高约 23.2%. 处理间比较来看, RS 处理的砷甲基化效率均显著高于 CK 处理 ($P < 0.05$). 两种供试土壤比较来看, ND-CK 处理的砷甲基化效率显著高于 XR-CK, ND 土壤相对具有更高的砷甲基化效率.

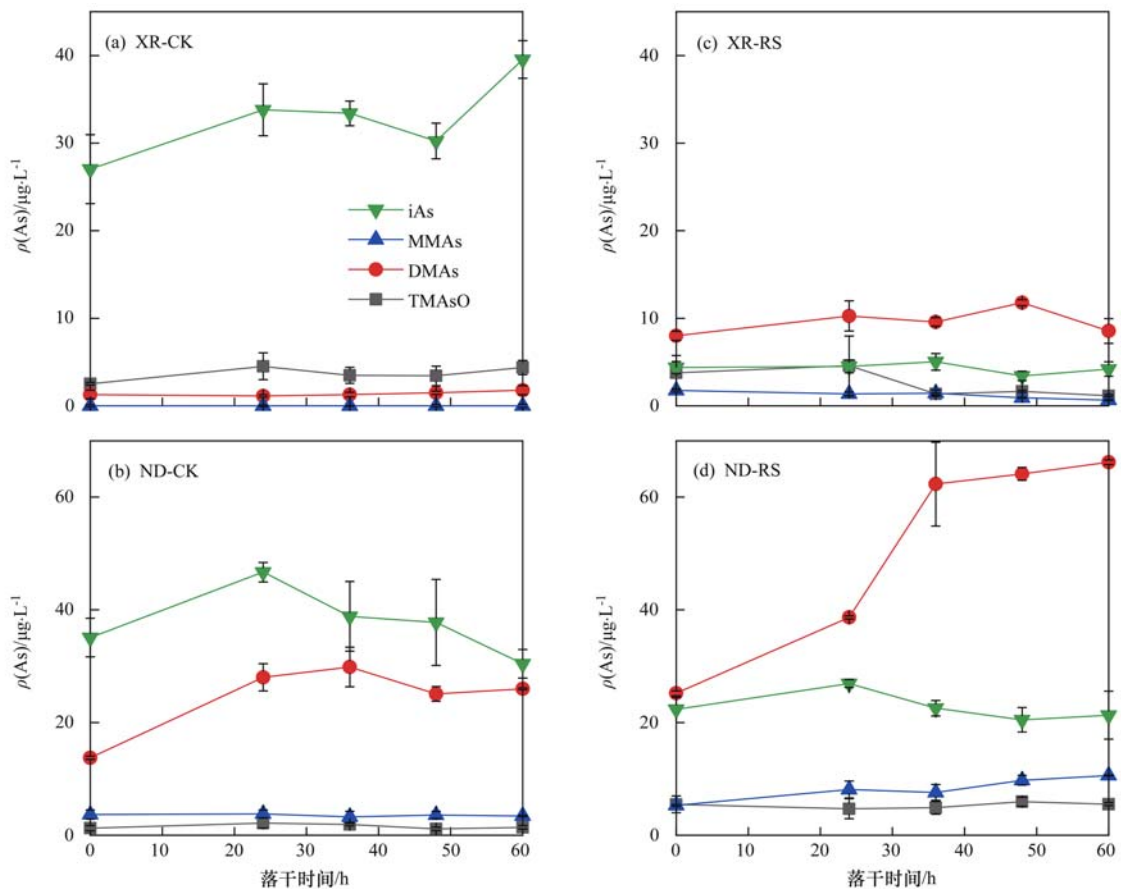


图3 随落干时间延长稻田土壤孔隙水各砷形态变化
Fig. 3 Changes in As species in porewater with paddy soil drying

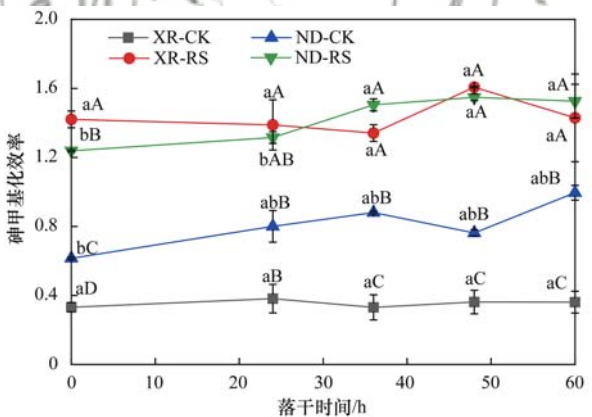


图4 随落干时间延长稻田土壤孔隙水砷甲基化效率变化

Fig. 4 Changes in As methylation efficiency in porewater with paddy soil drying

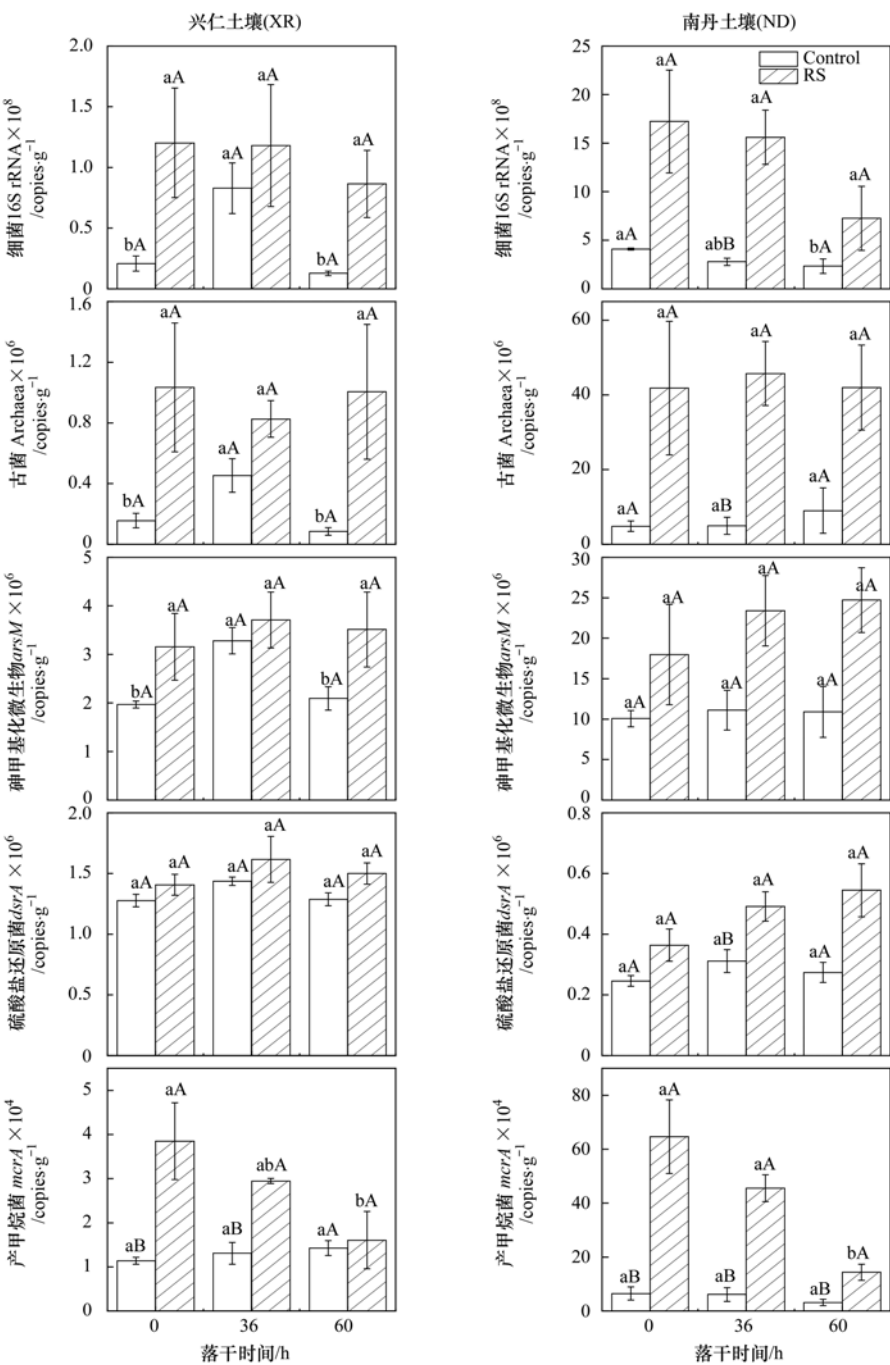
2.3 砷甲基化相关功能基因丰度变化

各砷甲基化相关功能基因拷贝数随落干过程发生显著变化(图5). 随落干时间延长,除 XR-CK 处理外,细菌 16S rRNA 和产甲烷菌 *mcrA* 拷贝数均表现出不同程度下降. 特别是 XR-RS 和 ND-RS 处理 *mcrA* 拷贝数,当落干时间为 60 h 时显著低于培养初

期(0 h, $P < 0.05$). 砷甲基化基因 *arsM* 和硫酸盐还原菌 *dsrA* 拷贝数则随落干时间延长表现出一定的增加趋势,而古细菌拷贝数保持相对稳定. 供试土壤的 CK 和 RS 处理比较来看,添加秸秆处理后各基因拷贝数均明显增加,特别是 ND 土壤的细菌 16S rRNA、古细菌和 *dsrA* 拷贝数增加显著 ($P < 0.05$). 两种供试土壤比较来看,ND 土壤具有更高的细菌 16S rRNA、古细菌、*arsM* 和 *mcrA* 拷贝数,而 XR 土壤含有更高的 *dsrA* 拷贝数.

2.4 关键因变量多因素方差分析和 RDA 分析

不同土壤、有无秸秆、落干时间和交互作用显著影响各因变量变化(表2). 不同土壤处理对于孔隙水 TOC 浓度、各砷形态浓度、砷甲基化效率和细菌、古菌、功能基因(*arsM*、*mcrA*、*dsrA*)拷贝数均具有显著影响 ($P < 0.05$). 有无秸秆添加对土壤 pH、TOC 浓度、细菌、古菌、功能基因(*arsM*、*mcrA*、*dsrA*)、各砷形态浓度和砷甲基化效率有显著影响 ($P < 0.05$). 时间处理对于环境因子(Eh)、功能基因(*mcrA*)、砷形态(DMAs)和砷甲基化效率有显著影响 ($P < 0.05$). 土壤和有无秸秆交互作用对于环境因子(pH)、细菌、古菌、功能基因(*arsM*、*mcrA*、*dsrA*)、砷化学形态(iAs、MMAs、DMAs、TMAsO)和



不同小写字母表示相同处理不同落干时间下差异显著,不同大写字母表示相同时间不同处理间差异显著

图5 土壤全细菌、古菌和砷转化相关功能基因拷贝数随落干时间变化

Fig. 5 Changes in copy numbers of bacteria, archaea, and other genes associated with As methylation with paddy soil drying

砷甲基化效率存在显著影响 ($P < 0.05$). 土壤和时间交互作用对于环境因子 (pH)、功能基因 (*mcrA*)、砷化学形态 (MMAs、DMAs) 和砷甲基化效率有显著影响 ($P < 0.05$). 有无秸秆与落干时间交互作用对于环境因子 (pH)、功能基因 (*mcrA*) 和砷化学形态 (MMAs、DMAs) 有显著影响 ($P < 0.05$). 土壤、有无秸秆和落干时间三者交互作用对于环境因子 (Eh)、功能基因 (*mcrA*) 和砷化学形态 (MMAs、DMAs) 有显著影响 ($P < 0.05$).

利用 RDA 分析探讨环境因子 (TOC、Eh、pH)、

功能基因丰度和砷化学形态之间的关系 (图 6). RDA 1 解释度为 65.64%, RDA 2 解释度为 16.51%, 总解释度为 82.15%, 由此可见, RDA 轴 I 和轴 II 能够较好地反映环境因子、功能基因丰度与 As 化学形态之间关联. 功能基因 *dsrA* ($F = 55.8$, $P = 0.002$)、*arsM* ($F = 42.4$, $P = 0.002$)、古菌 ($F = 26.6$, $P = 0.002$)、细菌 ($F = 13.2$, $P = 0.002$)、*mcrA* ($F = 7.9$, $P = 0.004$)、环境因子 TOC ($F = 10.9$, $P = 0.002$) 和 pH ($F = 6.8$, $P = 0.004$) 对砷化学形态影响显著 ($P < 0.05$). 功能基因 *dsrA*、*arsM*、

mcrA 和古菌、细菌分别解释不同化学形态 As 的 62.1%、55.5%、18.9% 和 43.9%，28.0%；环境因子 TOC 和 pH 分别解释不同化学形态 As 的 24.2%

和 16.7%。总体来看,环境 TOC 与 Eh 变化和砷转化相关功能基因与甲基态砷呈现正相关联,与无机砷 iAs 呈负相关联。

表 2 供试土壤、有无秸秆、时间和其交互作用对于各指标的多因素方差分析

Table 2 MANOVA of soil, rice straw, drying time, and their interactions influencing each response factor							
响应因子	土壤	处理	时间	土壤 × 处理	土壤 × 时间	处理 × 时间	土壤 × 处理 × 时间
Eh	0.435	0.458	<0.001	0.968	0.778	0.044	<0.001
pH	0.763	<0.001	0.211	<0.001	<0.001	0.004	0.130
TOC	0.001	<0.001	0.537	0.301	0.658	0.182	0.643
细菌	<0.001	<0.001	0.102	0.001	0.184	0.828	0.304
古菌	<0.001	<0.001	0.979	<0.001	0.968	0.934	0.915
<i>arsM</i>	<0.001	0.001	0.585	0.006	0.638	0.803	0.703
<i>mcrA</i>	<0.001	<0.001	0.001	<0.001	0.003	0.003	0.010
<i>dsrA</i>	<0.001	<0.001	0.096	0.001	0.168	0.374	0.392
iAs	<0.001	<0.001	0.499	<0.001	0.112	0.462	0.138
MMAs	<0.001	<0.001	0.085	0.001	0.004	0.044	0.003
DMAs	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.002	0.002
TMAOs	0.028	0.040	0.791	<0.001	0.880	0.335	0.404
—CH ₃ /As	<0.001	<0.001	0.004	<0.001	0.013	0.992	0.994

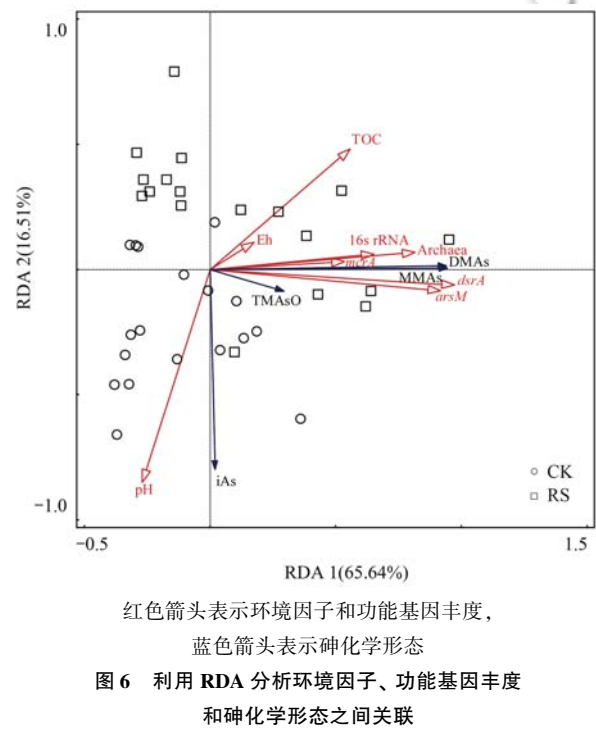


Fig. 6 RDA analysis of the relationship among environmental factors, functional genes, and As species

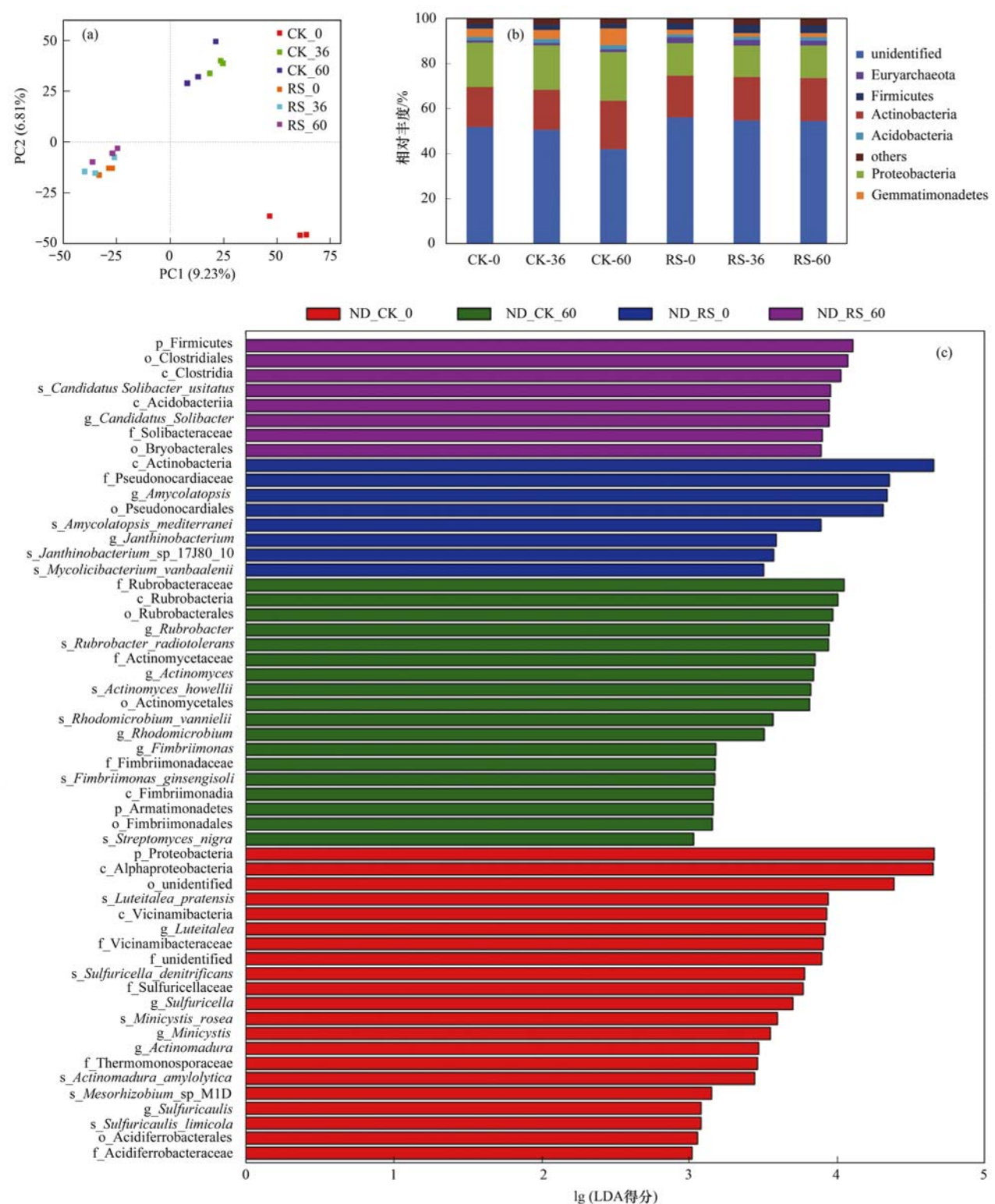
2.5 *arsM* 功能微生物多样性和 LEfSe 分析

由于 ND 土壤孔隙水砷甲基化效率随落干时间延长而显著增加,XR 土壤砷甲基化效率变化不显著,故进一步以 ND 土壤落干初期(0 h)和落干 60 h 样本为研究对象,基于功能基因测序分析 *arsM* 功能微生物群落变化.相同处理不同落干时间比较,ND 土壤 *arsM* 功能微生物 α 多样性指标如 Chao1、Observed_species、PD_whole_tree、Shannon、clean_reads 和 OTUs 无显著差异 ($P > 0.05$);相同落干时间不同处理比较来看,上述指标整体上亦未发现显

著差异 ($P > 0.05$) (数据未列).利用基于 OTU 的偏最小二乘法判别分析(PLS-DA)ND 土壤 *arsM* 功能微生物 β 多样性差异,结果表明 ND 土壤添加秸秆处理与对照存在显著差异,且对照处理 *arsM* 功能微生物多样性随时间变化存在显著差异,而 RS 处理则变化较小[图 7(a)].进一步物种注释分析发现,ND 土壤处理间 *arsM* 功能微生物门水平组成均主要以 unidentified、Actinobacteria 和 Proteobacteria 为主,且 ND-CK 处理相比 ND-RS 含有相对更高丰度的 Gemmatimonadetes[图 7(b)].利用线性判别分析比较各处理间和落干时间下 *arsM* 功能微生物差异物种影响力大小,发现添加秸秆和落干均能显著改变砷甲基化相关微生物群落[图 7(c)].以纲水平 *arsM* 功能微生物差异物种变化为例,ND-CK 土壤落干初期以 α -Proteobacteria 为主要差异物种,而落干 60 h 后主要差异物种为 Rubrobacteria 和 Fimbriimonadia;添加秸秆后 ND-RS 土壤落干初期以 Actinobacteria 为主要差异物种,而落干 60 h 后主要差异物种为 Clostridia 和 Acidobacterii.

3 讨论

水稻颖壳累积过量的 DMAs 是水稻直穗病发生的直接因素^[3],稻田土壤中砷甲基转化是诱导水稻直穗病发生的关键.水稻生长的分蘖晚期和灌浆晚期,为了减少无效分蘖,使籽粒灌浆更充分,稻田排水晒田是常见的农艺手段^[23].本研究采用的两种供试土壤田间淹水原位分析(表土下 15 cm 处)其水稻根际 Eh 为 -250 mV,经排水落干至表土出现裂痕时其 Eh 为 -40 mV.本研究通过室内模拟稻田土



(a) 不同处理和落干时间下 *arsM* 微生物群落变化主成分分析, (b) 不同处理和落干时间下 *arsM* 微生物门水平群落组成, (c) 不同处理和落干时间下显著差异 *arsM* 微生物 LEfSe 分析; (a) 和 (b) 中图例分别表示南丹土壤 CK 处理落干的第 0、36 和 60 h 的样本, RS 秸秆处理落干的第 0、36 和 60 h 样本; (c) 中图例表示南丹土壤 CK 处理和 RS 秸秆处理第 0 h 和 60 h 样本; ND 表示采集自广西南丹的砷污染水稻土, CK 表示未添加秸秆的对照, RS 表示添加秸秆处理

图 7 基于 OTU 的 ND 土壤不同处理 *arsM* 功能微生物 β 多样性和 LEfSe 分析

Fig. 7 The β diversity of *arsM*-carrying bacteria of the paddy soil under different treatments and the comparative LEfSe analysis

壤落干获得的 Eh 变幅为 $-300 \sim -50$ mV, 表明该模拟条件能相对较好地反映稻田真实条件下根际的 Eh 变化. 以往研究认为, 淹水环境更利于稻田砷甲

基化转化^[24], 而本研究中随落干过程延长, 供试土壤 Eh 变化并不会降低孔隙水中砷的甲基化效率, 对于 ND 土壤甚至存在显著提高, ND-CK 和 ND-RS

处理分别提高 61.8% 和 23.2%。该结果表明,尽管稻田落干造成土壤 Eh 状况显著提升,但其根际 Eh 可能仍处于有利于砷甲基化反应的还原性环境。研究还发现两种供试土壤间砷甲基化效率存在差异,秸秆添加显著提高土壤砷甲基化效率,而落干过程砷甲基化功能微生物 *arsM* 和硫酸盐还原菌 *dsrA* 丰度增加,产甲烷菌 *mcrA* 丰度下降,且砷甲基化功能微生物群落更替可能是造成砷甲基化效率变化的重要生物学原因。

供试土壤无论有无秸秆添加其落干过程中均未发现孔隙水砷甲基化效率下降,XR 土壤落干过程中孔隙水砷甲基化效率有一定提升,但差异不显著,而 ND 土壤则显著提高 ($P < 0.05$)。稻田土壤落干过程水分逐渐减少,Eh 值逐渐升高,由 $-300 \sim -200$ mV 范围向 $-150 \sim -50$ mV 范围变化。硫酸盐还原菌生长的最适 Eh 值为 -100 mV^[25],产甲烷菌最适 Eh 值为 -330 mV^[26]。因此,本研究模拟的落干过程可能存在由产甲烷菌的最适生境向硫酸盐还原菌最适生境的转变,进而影响砷甲基化相关微生物群落。本研究中砷甲基化功能微生物 *arsM* 和硫酸盐还原菌 *dsrA* 丰度伴随落干过程呈现不同程度提高,而产甲烷菌基因 *mcrA* 丰度显著下降。硫酸盐还原菌和产甲烷菌被认为分别是参与砷甲基化和去甲基化的关键微生物^[11]。落干过程中砷甲基化相关微生物丰度增加,而去甲基化相关微生物丰度减少,可能是砷甲基化效率提高的重要生物学原因。随落干时间延长 ND-RS 处理孔隙水 TOC 含量显著增加,可能为土壤中砷甲基化微生物生长提供了丰富碳源,进而促进该处理孔隙水砷甲基化效率提升。此外,无机砷浓度变化亦可能影响落干过程砷甲基化效率变化。本研究中,XR-RS、ND-CK 和 ND-RS 处理孔隙水 iAs 浓度随土壤落干呈现先增加后下降的变化趋势。iAs 作为砷甲基化的底物形态其浓度增加有助于促进砷甲基化进程^[27]。另外,本研究中落干过程可能造成的浓缩效应对孔隙水 DMAs 浓度提高的贡献基本可以忽略,因为 XR-CK、ND-CK 和 ND-RS 处理孔隙水 TMAOs 浓度并未发生明显变化。

不论 ND 土壤还是 XR 土壤,添加秸秆后孔隙水砷甲基化效率明显高于 CK 处理。秸秆添加显著促进孔隙水中 TOC 浓度提升,进而激发了土壤中砷甲基化微生物的数量和活性^[28]。秸秆添加后砷甲基化基因 *arsM* 和硫酸盐还原菌 *dsrA* 基因拷贝数均高于 CK 处理,很好地解释了秸秆添加提高砷甲基化效率背后的生物学原因。秸秆还田使得土壤孔隙水中 TOC 浓度提升,可以直接或间接地促进 iAs 从土

壤胶体表面释放,特别是在较高的 TOC 浓度下^[15,29]。DOM 浓度的提升还会使土壤 Eh 氧化还原电位下降,由于 H^+ 消耗,pH 值上升,促进土壤 iAs 向溶液释放^[30],进而增加砷甲基化效率。然而本研究中,添加秸秆处理孔隙水 iAs 含量相比对照则显著下降,这可能是因为添加秸秆处理中形成了 DOM-Fe-As 的三元络合物^[31]以及 iAs 向甲基态砷特别是 DMAs 转化导致。此外,硫素添加可以通过促进硫酸盐还原菌丰度增加的方式促进砷甲基转化^[17]。秸秆硫素含量相对较低,其腐解后产生的 DOM 中硫含量约 $6.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ^[15]。因此本研究因秸秆添加带入硫素对砷甲基化效率的影响较为有限。有研究发现,DOC 丰度和其碳分子特征可能差异性影响稻田土壤砷甲基化进程,活性碳官能团丰度相对更高的 DOC 有利于激发砷甲基化功能微生物活性,进而提高土壤砷甲基化转化^[15]。本研究中,不同供试土壤秸秆腐解造成的 DOC 碳分子差异是否与稻田土壤砷甲基化进程相关联还需进一步研究。此外,两种供试土壤比较来看,其甲基化效率亦存在明显差异。落干过程 ND-CK 处理砷甲基化效率均高于 XR-CK 处理,可能原因包括:①相比 XR 土壤,ND 土壤中可能有相对更高的砷甲基化功能微生物丰度。本研究中 ND 土壤 *arsM* 基因拷贝数显著高于 XR 土壤;②ND 土壤本底 iAs 浓度高于 XR 土壤,从而为砷甲基化提供更多底物。本研究中,ND 土壤不论有无秸秆添加其 iAs 浓度均高于 XR 土壤;③ND 土壤孔隙水含有更高的 TOC 浓度。ND 土壤孔隙水 TOC 浓度约为 XR 土壤的 2~4 倍,高浓度 TOC 有助于激发砷甲基化功能微生物活性,进而提高砷甲基化效率^[28]。两种土壤 CK 处理中孔隙水总砷(各形态加和法)含量比较来看,XR 土壤孔隙水总砷 ($27.3 \sim 45.7 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 明显低于 ND 土壤 ($57.7 \sim 82.8 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$),这可能与 ND ($0.54 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 相比 XR ($0.38 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 土壤较高的有效态砷含量有关。此外,ND 土壤相对更高的土壤 pH 及有机质含量,亦有利于增加土壤中砷的活性。

本研究模拟的稻田落干过程可以显著改变砷甲基化功能微生物多样性,进而影响砷甲基化效率。以 ND 土壤为研究对象,发现随落干过程延长,*arsM* 功能微生物 α 多样性指标并无显著差异,而基于 OTU 的 β 多样性和线性判别分析(LDA)存在显著差异。该结果表明,伴随稻田落干过程 *arsM* 功能微生物群落结构改变显著影响砷甲基化效率。基于 LEfSe 分析结果发现,ND-CK 土壤落干初期以 α -Proteobacteria 为主要差异的 *arsM* 基因携带物种,而落干 60 h 后主要差异的 *arsM* 基因携带物种为

Rubrobacteria 和 Fimbriimonadia. 携带 *arsM* 基因的 α -Proteobacteria 物种被报道广泛发现于中国东部砷累积严重的沉积物和含砷废水中, 并参与环境中砷的甲基化过程^[32,33]. 添加秸秆后 ND-RS 土壤落干初期以 Actinobacteria 为主要差异 *arsM* 基因携带物种, 而落干 60 h 后主要差异物种为 Clostridia 和 Acidobacteriia. 具有抗砷能力的 Actinobacteria 被发现广泛存在于砷污染土壤, 同时参与土壤中砷的甲基转化^[34]; 分离自砷污染稻田的隶属 Clostridia 的多株厌氧硫酸盐还原菌被发现具备将土壤中 As(III) 甲基化为 MMAs(V) 和 DMAs(V) 的能力^[35]. 稻田落干过程中伴随的土壤 Eh、TOC 等环境因子变化可能影响部分关键 *arsM* 功能微生物群落的更替, 该过程中 *arsM* 功能微生物对环境 Eh-pH 变化和 TOC 丰度与分子特征的响应机制仍需进一步关注.

4 结论

本研究通过模拟稻田落干过程发现, 当土壤 Eh 由 $-300 \sim -200$ mV 范围向 $-150 \sim -50$ mV 范围变化时, 并未降低稻田土壤砷甲基化效率, 相反 ND 土壤砷甲基化效率显著提高, 而 XR 土壤孔隙水砷甲基化效率变化不显著. 伴随落干稻田 Eh 增加, 砷甲基化微生物和硫酸还原菌拷贝数增加, 而砷去甲基化相关微生物产甲烷菌拷贝数显著下降, 砷甲基化功能微生物群落结构更替, 可能是 ND 土壤孔隙水砷甲基化效率提高的重要生物学原因. 此外, 添加秸秆显著增加孔隙水 TOC 含量, 提高 *arsM* 携带微生物和硫酸盐还原菌 *dsrA* 基因拷贝数, 进而提高孔隙水甲基化砷特别是 DMAs 含量和砷甲基化效率. 研究结果有助于提升稻田落干过程中砷甲基化变化的认知, 为今后水稻直穗病防控提供指导.

参考文献:

- [1] Yang Y P, Zhang H M, Yuan H Y, *et al.* Microbe mediated arsenic release from iron minerals and arsenic methylation in rhizosphere controls arsenic fate in soil-rice system after straw incorporation[J]. *Environmental Pollution*, 2018, **236**: 598-608.
- [2] Zeng X B, Bai L Y, 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**, doi: 10.1016/j.jclepro.2021.127403.
- [3] Tang Z, Wang Y J, Gao A X, *et al.* Dimethylarsinic acid is the causal agent inducing rice straighthead disease[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2020, **71**(18): 5631-5644.
- [4] Yan W G, Dilday R H, Tai T H, *et al.* Differential response of rice germplasm to straighthead induced by arsenic[J]. *Crop Science*, 2005, **45**(4): 1223-1228.
- [5] Rahman M A, Hasegawa H, Rahman M M, *et al.* Straighthead disease of rice (*Oryza sativa* L.) induced by arsenic toxicity[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2008, **62**(1): 54-59.
- [6] Huang J H, Hu K N, Decker B. Organic arsenic in the soil environment: speciation, occurrence, transformation, and adsorption behavior[J]. *Water, Air, & Soil Pollution*, 2011, **219**(1-4): 401-415.
- [7] Akter K F, Owens G, Davey D E, *et al.* Arsenic speciation and toxicity in biological systems[J]. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 2005, **184**: 97-149.
- [8] Bhattacharya P, Welch A H, Stollenwerk K G, *et al.* Arsenic in the environment: biology and chemistry[J]. *Science of the Total Environment*, 2007, **379**(2-3): 109-120.
- [9] Zhu Y G, Xue X M, Kappler A, *et al.* Linking genes to microbial biogeochemical cycling: lessons from arsenic[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, **51**(13): 7326-7339.
- [10] 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.
- [11] Chen C, Li L Y, 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.
- [12] 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.
- [13] 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.
- [14] 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.
- [15] Yan M M, Zeng X B, Wang J, *et al.* Dissolved organic matter differentially influences arsenic methylation and volatilization in paddy soils[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, **388**, doi: 10.1016/j.jhazmat.2019.121795.
- [16] Wang M, Tang Z, Chen X P, *et al.* Water management impacts the soil microbial communities and total arsenic and methylated arsenicals in rice grains[J]. *Environmental Pollution*, 2019, **247**: 736-744.
- [17] Chen C, Yang B Y, Shen Y, *et al.* Sulfate addition and rising temperature promote arsenic methylation and the formation of methylated thioarsenates in paddy soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, **154**, doi: 10.1016/j.soilbio.2021.108129.
- [18] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. (第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [19] Reid M C, Maillard J, Bagnoud A, *et al.* Arsenic methylation dynamics in a rice paddy soil anaerobic enrichment culture[J]. *Environmental Science & Technology*, 2017, **51**(18): 10546-10554.
- [20] Yin F B, Dong H M, Zhang W Q, *et al.* Antibiotic degradation and microbial community structures during acidification and methanogenesis of swine manure containing chlortetracycline or oxytetracycline[J]. *Bioresource Technology*, 2018, **250**: 247-

- 255.
- [21] 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.
- [22] Schippers A, Neretin L N. Quantification of microbial communities in near-surface and deeply buried marine sediments on the Peru continental margin using real-time PCR [J]. *Environmental Microbiology*, 2006, **8**(7): 1251-1260.
- [23] 杨军, 黄淑娥, 张金恩, 等. 晒田土壤含水量对水稻有效分蘖的影响[J]. *中国农学通报*, 2016, **32**(24): 36-42.
Yang J, Huang S E, Zhang J E, *et al.* Effects of soil water content after field drying on rice effective tillers [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2016, **32**(24): 36-42.
- [24] 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.
- [25] Kushkevych I. Isolation and purification of sulfate-reducing bacteria [EB/OL]. <https://cdn.intechopen.com/pdfs/69731.pdf>, 2019-10-24.
- [26] 蔡祖聪, 沈光裕, 颜晓元, 等. 土壤质地、温度和 Eh 对稻田甲烷排放的影响 [J]. *土壤学报*, 1998, **35**(2): 145-154.
Cai Z C, Shen G Y, Yan X Y, *et al.* Effects of soil texture, soil temperature and Eh on methane emissions from rice paddy fields [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 1998, **35**(2): 145-154.
- [27] Ascar L, Ahumada I, Richter P. Influence of redox potential (Eh) on the availability of arsenic species in soils and soils amended with biosolid [J]. *Chemosphere*, 2008, **72**(10): 1548-1552.
- [28] 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.
- [29] Avneri-Katz S, Young R B, McKenna A M, *et al.* Adsorptive fractionation of dissolved organic matter (DOM) by mineral soil: Macroscale approach and molecular insight [J]. *Organic Geochemistry*, 2017, **103**: 113-124.
- [30] Bennett W W, Teasdale P R, Panther J G, *et al.* Investigating arsenic speciation and mobilization in sediments with DGT and DET: a mesocosm evaluation of oxic-anoxic transitions [J]. *Environmental Science & Technology*, 2012, **46**(7): 3981-3989.
- [31] Borggaard O K, Holm P E, Strobel B W. Potential of dissolved organic matter (DOM) to extract As, Cd, Co, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn from polluted soils: a review [J]. *Geoderma*, 2019, **343**: 235-246.
- [32] Guo T, Li L G, Zhai W W, *et al.* Distribution of arsenic and its biotransformation genes in sediments from the East China Sea [J]. *Environmental Pollution*, 2019, **253**: 949-958.
- [33] Zhai W W, Qin T Y, Li L G, *et al.* Abundance and diversity of microbial arsenic biotransformation genes in the sludge of full-scale anaerobic digesters from a municipal wastewater treatment plant [J]. *Environment International*, 2020, **138**, doi: 10.1016/j.envint.2020.105535.
- [34] Retamal-Morales G, Mehnert M, Schwabe R, *et al.* Detection of arsenic-binding siderophores in arsenic-tolerating Actinobacteria by a modified CAS assay [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, **157**: 176-181.
- [35] 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.

CONTENTS

Temporal and Spatial Variation Characteristics of Heavy Metal in Atmospheric Deposition in China from 2000 to 2018	CHEN Qi-yong, GAO Yun-bing, NI Run-xiang, <i>et al.</i> (4413)
Simulation of PM _{2.5} Concentration Based on Optimized Indexes of 2D/3D Urban Form	LI Sha, ZOU Bin, LIU Ning, <i>et al.</i> (4425)
Characteristics of Carbonaceous Species in PM _{2.5} in Chengdu Under the Background of Emission Reduction	CHEN Lu-yao, YU Yang-chun, HUANG Xiao-juan, <i>et al.</i> (4438)
Characteristics and Health Risk Assessment of Trace Elements in Atmospheric PM ₁ During Autumn and Winter in Qingdao	LIU Zi-yang, ZHANG Yi-sheng, ZHANG Hou-yong, <i>et al.</i> (4448)
Pollution Characteristics and Source Analysis of Atmospheric PM _{2.5} -bound Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in a Port Area	WANG Peng-cheng, YANG Ling-xiao, BIE Shu-jun, <i>et al.</i> (4458)
Size Distribution and Source Apportionment of Road Particles During Winter in Tianjin	ZHANG Guo-tao, YIN Bao-hui, BAI Wen-yu, <i>et al.</i> (4467)
Characteristics and Impact Factors of Number Concentration of Primary Biological Aerosol Particles in Beijing	LIANG Lin-lin, LIU Chang, LIU Xu-yan, <i>et al.</i> (4475)
Characteristic Analysis and Source Apportionment of VOCs in Urban Areas of Beijing in Summer	MENG Xiang-lai, SUN Yang, LIAO Ting-ting, <i>et al.</i> (4484)
Characteristics and Source Apportionment of Volatile Organic Compounds (VOCs) in a Typical Industrial Area in Dongguan During Periods of Ozone and Non-ozone Pollution in Summer	ZHOU Zhen, XIAO Lin-hai, FEI Lei-lei, <i>et al.</i> (4497)
Temporal and Spatial Variation in Odor Pollution and Membrane Barrier Effect in Municipal Solid Waste Landfill	HE Pin-jing, LI Jian-chen, LÜ Fan, <i>et al.</i> (4506)
Comparison of Health Risk from Sources of Perfluoroalkyl Substances in Taihu Lake for Different Years	WU Ting, SUN Shan-wei, FAN Jing-pu, <i>et al.</i> (4513)
Pollution Characteristics and Source Apportionment of Typical and Emerging Per- and Polyfluoroalkylated Substances in Tuojiang River Basin	SONG Jiao-jiao, WANG Yi-mei, SUN Jing, <i>et al.</i> (4522)
Speciation and Risk of Heavy Metals in Surface Sediments of Different Types of Water Bodies in Baiyangdian Lake	XU Meng-ya, ZHANG Chao, SHAN Bao-qing, <i>et al.</i> (4532)
Distribution Coefficient of QNs in Urban Typical Water and Its Main Environmental Influencing Factors	JU Ze-jia, FU Yu, ZHAO Xin-yu, <i>et al.</i> (4543)
Ecological Risk Assessment of Quinolones Antibiotics and the Correlation Analysis Between QNs and Physical-Chemical Parameters in Groundwater, Shijiazhuang City	CHEN Hui, JU Ze-jia, ZHAO Xin-yu, <i>et al.</i> (4556)
Characteristics and Sources of DOM in Lake Sediments Under Different Inundation Environments	CHEN Jia, LI Zhong-wu, JIN Chang-sheng, <i>et al.</i> (4566)
Characteristics of Phytoplankton Community Structure and Their Relationships with Environmental Factors in Autumn in Qinhe River Basin of Jincheng Region	GAO Meng-die, LI Yan-fen, LI Yan-li, <i>et al.</i> (4576)
Integrated Assessment of Runoff Quality from Green Roofs with Different Configurations	ZHANG Sun-xun, ZHANG Shou-hong, YAN Jing, <i>et al.</i> (4587)
Degradation of Chloroquine Phosphate by UV-activated Persulfate	LI Yang, XU Bo-hui, DENG Lin, <i>et al.</i> (4597)
Removal Performance of Suspended Solid (SS) and Organic Compounds in the Pre-treatment of Actual Pharmaceutical Wastewater by Microbubble Ozonation	LIU Chun, CHEN Rui, ZHANG Jing, <i>et al.</i> (4608)
Effects of Wastewater Discharge on Antibiotic Resistance Genes and Microbial Community in a Coastal Area	CHEN Jia-yu, SU Zhi-guo, YAO Peng-cheng, <i>et al.</i> (4616)
Effects of Biochar and Straw Returning on Soil Fungal Community Structure Diversity in Cotton Field with Long-term Brackish Water Irrigation	GUO Xiao-wen, CHEN Jing, LU Xiao-yu, <i>et al.</i> (4625)
Effects of Organic Materials on Phosphorus Fractions and <i>phoD</i> -harboring Bacterial Community in Karst Soil	XIA Xin, QIAO Hang, SUN Qi, <i>et al.</i> (4636)
Effects of Different Vegetation Types on Soil Microbial Functional Genes and Enzyme Activities in Reclaimed Coal Mine	NING Yue-wei, LIU Yong, ZHANG Hong, <i>et al.</i> (4647)
Effects of Biochar Application on Yellow Soil Nutrients and Enzyme Activities	YUAN Fang, LI Kai-yu, YANG Hui, <i>et al.</i> (4655)
Changes in Soil Bacterial Community Diversity in Degraded Patches of Alpine Meadow in the Source Area of the Yellow River	SUN Hua-fang, LI Xi-lai, JIN Li-qun, <i>et al.</i> (4662)
Effects of Simulated Nitrogen Deposition on Soil Microbial Carbon Metabolism in <i>Calamagrostis angustifolia</i> Wetland in Sanjiang Plain	WENG Xiao-hong, SUI Xin, LI Meng-sha, <i>et al.</i> (4674)
Spatial Distribution of Quinolone Antibiotics and Its Correlation Relationship with Microbial Community in Soil of Shijiazhuang City	ZHAO Xin-yu, JU Ze-jia, CHEN Hui, <i>et al.</i> (4684)
Composition Characteristics and Construction Mechanism of Microbial Community on Microplastic Surface in Typical Redox Environments	GONG Zhi-wei, MA Jie, SU Qu, <i>et al.</i> (4697)
Annual Nitrogen Removal Efficiency and Change in Abundance of Nitrogen Cycling Microorganisms in Swine Wastewater Treated by Crop Straw Materials	LIU Ming-yu, XIA Meng-hua, JIANG Lei, <i>et al.</i> (4706)
Effects of External Carbon Sources on Ultimate Nitrogen Removal Performance and Microbial Community in Secondary Effluent Treating Process	WANG Wei, ZHAO Zhong-yuan, ZHANG Xin, <i>et al.</i> (4717)
Microbial Community Structure of Activated Sludge for Total Nitrogen Upgrading Project	LI Hai-song, WANG Ke-dan, CHEN Xiao-lei, <i>et al.</i> (4727)
Analysis of Microbial Interaction Law of Mud Membrane in IFAS Process for Treating Low Carbon Source Sewage in South China	HE Jun-guo, JIANG Wei-xun, HE Zhuo-yi, <i>et al.</i> (4736)
Abundances and Morphology Patterns of Microplastics Under Different Land Use Types on the Loess Plateau	HAO Yong-li, HU Ya-xian, BAI Xiao-xiong, <i>et al.</i> (4748)
Evaluation of Heavy Metal Content, Sources, and Potential Ecological Risk in Soils of Southern Hilly Areas	WANG Yu, XIN Cun-lin, YU Shi, <i>et al.</i> (4756)
Risk Assessment and Attribution Analysis of "Five Toxic" Heavy Metals in Cultivated Land in Lanzhou	ZHANG Li-rui, PENG Xin-bo, MA Yan-long, <i>et al.</i> (4767)
Distribution Characteristics and Risk Assessment of Heavy Metal Pollution in Farmland Soils and Crops in Luancheng, Shijiazhuang City	MENG Xiao-fei, GUO Jun-mei, YANG Jun-xing, <i>et al.</i> (4779)
Distribution Characteristics and Risk Assessment of Antimony in Typical Urban Soil	SHEN Cheng, YE Wen-juan, QIAN Shi-ying, <i>et al.</i> (4791)
Contamination Assessment and Source Apportionment of Soil Heavy Metals in Typical Villages and Towns in a Nonferrous Metal Mining City	WANG Feng, HUANG Yan-huan, LI Ru-zhong, <i>et al.</i> (4800)
Effect of Citric Acid and Mowing on Enhancing the Remediation of Cadmium Contaminated Soil by Napier Grass (<i>Pennisetum purpureum</i> Schum)	TANG Qi, WU Gang-fan, GU Jiao-feng, <i>et al.</i> (4810)
Arsenic Methylation Efficiency Changes During Paddy Soil Drying and Its Key Influencing Factors Analysis	ZHANG Yue, LI Ling-yi, WEN Jiong, <i>et al.</i> (4820)
Effects of Exogenous Jasmonic Acid on Arsenic Accumulation and Response to Stress in Roots of Rice Seedlings	LI Yan, HUANG Yi-zong, BAO Qiong-li, <i>et al.</i> (4831)
Effects of Straw Returning and Fertilizer Application on Soil Nutrients and Winter Wheat Yield	SONG Jia-jie, XU Xi-yang, BAI Jin-ze, <i>et al.</i> (4839)
Effect of Winter Cover Cropping on Soil Greenhouse Gas Emissions in a Dryland Spring Maize Field on the Loess Plateau of China	ZHANG Shao-hong, WANG Jun, FANG Zhen-wen, <i>et al.</i> (4848)
Detection of Influencing Factors of Spatial Variability of Soil Respiration in Pangqiangou Nature Reserve	LI Xiao-min, YAN Jun-xia, DU Zi-qiang, <i>et al.</i> (4858)
Temporal and Spatial Variation Characteristics of Methane, Carbon Dioxide, and Nitrous Oxide Concentrations and the Influencing Factors in Small Aquaculture Pond	SHI Jie, ZHANG Mi, QIU Ji-li, <i>et al.</i> (4867)
Effect of Butyl Xanthate on Pb ²⁺ and Cd ²⁺ Adsorption by Soil Around a Dressing Plant	HU Zhi-hao, GUO Zhao-hui, RAN Hong-zhen, <i>et al.</i> (4878)
Sorption Mechanism and Site Energy Distribution of Acetaminophen on Straw-derived Biochar	SHANG Cen-yao, GU Ruo-ting, ZHANG Qiang, <i>et al.</i> (4888)
Spatial-temporal Variations and Their Driving Forces of the Ecological Vulnerability in the Loess Plateau	ZHANG Liang-xia, FAN Jiang-wen, ZHANG Hai-yan, <i>et al.</i> (4902)
Mechanism and Application of Plant Growth-Promoting Bacteria in Heavy Metal Bioremediation	MA Ying, WANG Yue, SHI Xiao-jun, <i>et al.</i> (4911)