AM 真菌和牛粪对铅污染土壤的修复效应

何永辉¹, 王 玲¹, 孙德祥¹, 陈 莹¹, 王平喜¹, 吴张云¹, 宋志美², 王发园^{1*} (1.河南科技大学农学院, 河南 洛阳 471003; 2.青岛中烟种子有限责任公司, 青岛 266101)

摘 要:铅污染会对环境和人体健康产生较大风险,如何修复污染土壤、降低农产品中的铅残留值得深入研究。在温室盆栽条件下研究了接种丛枝菌根(AM)真菌、施加牛粪及复合处理对铅污染土壤的修复效应和机理。结果表明,在所有铅污染水平下,接种 AM 真菌、施加牛粪和复合处理均显著促进烟草生长,改善烟草磷营养。复合处理在所有铅污染水平下均降低烟草铅残留量,而施加牛粪仅在轻度和中度铅污染水平下、接种 AM 真菌仅在重度污染水平下作用显著。土壤 pH 升高,铅有效性降低。可见,AM 真菌和有机肥对铅污染地区优质烟叶生产及铅污染土壤的植物修复具有一定的应用潜力。

关键词:丛枝菌根真菌;铅污染;食品安全;有机肥;生物修复;烤烟

中图分类号: S572.06 文章编号: 1007-5119 (2013) 03-0065-05 DOI: 10.3969/j.issn.1007-5119.2013.03.13

Effects of AM Inoculation and Cattle Manure on the Remediation of Lead Polluted Soil

HE Yonghui¹, WANG Ling¹, SUN Dexiang¹, CHEN Ying¹, WANG Pingxi¹, WU Zhangyun¹, SONG Zhimei², WANG Fayuan^{1*}

(1. Agricultural College, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China; 2. China Tobacco Qingdao Seed Co., Ltd., Qingdao 266101, China)

Abstract: Lead (Pb) in foods poses great hazards to health of consumers, and measures to remediate Pb pollution and to reduce Pb residues in farm products deserve much attention. The effects and mechanisms of arbuscular mycorrhizal (AM) inoculation and cattle manure on the remediation of Pb polluted soil were studied in a pot experiment. The results showed that, at all Pb levels, AM inoculation and cattle manure, applied singly or in combination, all increased shoot and root dry matter yields of tobacco significantly, and improved P nutrition. Treatment with both AM inoculation and manure produced significant decrements on Pb residues at all pollution levels, while AM fungal inoculation did at heavy pollution level, and cattle manure did at slight and moderate pollution levels. The higher soil pH and lower DTPA-extractable Pb content contributed by AM fungal inoculation and /or organic amendments may be one of the contributing factors resulted in a lower Pb toxicity and higher tobacco growth. Our results show a promising potential of AM fungi and organic manure in the production of quality tobacco and phyto-remediation of Pb-polluted soils. **Keywords:** arbuscular mycorrhizal fungi; Pb pollution; food safety; organic manure; bioremediation; flue-cured tobacco

铅是常见有毒重金属元素之一,是一种严重的环境毒和神经毒,对人体有很高的毒性。烟草是我国重要的经济作物之一,也是一种特殊食品,近年来常有烟草铅残留超标的报道^[1-2]。降低烟草中重金属残留对保障食品安全及促进经济发展具有重要的现实意义^[3]。丛枝菌根(Arbuscular mycorrhiza,AM)真菌可以提高植物对重金属的耐性,促进植

物生长、提高产量,也可能在重金属污染修复和改善农产品品质方面起作用^[4]。烟草易与 AM 真菌共生 "形成菌根^[5]。接种 AM 真菌能够降低烟草对 Cd、As 等有害元素的吸收^[6-7],但 Sudov á 等^[8]发现接种 AM 真菌没有影响烟草地上部分 Pb 含量 "反而增加根系中的 Pb 含量,这说明 AM 真菌能否降低烟草的重金属残留尚需要更多的研究。

基金项目:河南科技大学大学生研究训练计划(SRTP)项目(2010084);农业部烟草类作物质量控制重点开放实验室开放课题(20090003)和中国博士后科学基金(200902095)

作者简介:何永辉,男,本科,主要从事植物营养方面的研究。E-mail:heyonghui@foxmail.com。*通信作者,E-mail:wfy1975@163.com

 畜禽粪便等各种有机肥等可作为土壤改良剂,是常用的降低烟草重金属残留的措施之一^[9-10]。有机肥不仅可以改善土壤理化性状、增加土壤肥力,而且还降低重金属的毒性及植物的吸收。有机肥中碳、氮等养分丰富,对于微生物的生存也是有利的。把微生物菌剂和有机肥共同应用于降低农产品重金属残留值得深入探讨。

本试验选择栽培面积较广的烟草品种 K326 为供试植物,人工模拟不同铅污染水平,研究施加牛粪和接种 AM 真菌对烟草生长和 Pb 残留的影响,以探讨 AM 真菌和有机肥在降低烟草重金属残留和烟草安全生产方面的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

供试烟草品种为 K326。供试 AM 真菌为 Glomus intraradices BEG 141,来自中国农业大学。腐熟牛粪风干后备用,基本性质为 pH 6.9,有机质含量 16.9%,全氮 15.10 g/kg,全磷 3.71 g/kg,全钾 4.92 g/kg。供试土壤采集自河南科技大学农场,粉碎过筛,用甲醛熏蒸灭菌处理,风干后备用。基本理化性质为 pH 7.9(水土比 2.5:1),有机质 1.71%,速效钾 120.0 mg/kg,速效磷 21.4 mg/kg,碱解氮 50.0 mg/kg,DTPA-Pb 1.95 mg/kg,全 Pb 11.15 mg/kg。

1.2 试验设计

向土壤中添加适量的 $Pb(NO_3)_2$,使 Pb 污染水平分别为 0、350、500、1000 mg/kg,分别代表无污染、轻度污染、中度污染、重度污染。同时分别施加相应的 $Ca(NO_3)_2$,使各污染水平下的 NO_3 -N含量相同。设置 4 个不同的处理,分别为对照(CK),AM 真菌处理(M),施加牛粪处理(N),接种 AM 真菌同时施加牛粪的复合处理(M+N)。重复 4 次。

在泡沫漂浮孔穴育苗盘中分别装入 AM 真菌菌剂和灭菌河沙,播种烟草种子,培育菌根化烟苗和对照烟苗。4~6 周后检查菌根侵染率,待菌根化烟苗的侵染率达 30%以上时,选择大小一致的烟苗用于盆栽试验。

温室盆栽试验采用 1.8 L 塑料盆,每盆装配置

好的风干土壤 1.5 kg。牛粪施加量为每盆 15 g,与土壤完全混匀。每盆移栽烟苗 4 棵,在日光温室内随机排列,浇自来水,维持土壤田间持水量在 70% 左右。生长 70 d 后收获。

1.3 测定项目和方法

植株地上部分和根系分开收获,自来水冲洗后去离子水清洗,擦干后于烘箱内 70 °C烘干 48 h,称取干质量。植株地上部分和根系粉碎,优级纯 HNO_3 - $HCIO_4$ (4:1) 消煮后,用原子吸收分光光度 法测定 Pb 含量,钒钼黄吸光光度法测定磷含量 [11]。 把整盆土壤混匀,取 100 g 风干。土壤 pH 用 pH 计法测定。土壤有效态 Pb 用 DTPA 提取液浸提,原子吸收分光光度法测定 [11]。

1.4 数据分析

用 SPSS 13.0 进行单因子方差分析, Duncun 法进行多重比较。

2 结 果

2.1 烟草干质量

总体上看,随着施 Pb 水平升高,各处理中烟草地上部分和根系干质量逐渐降低(表1),尤其是在 1000 mg/kg 水平下,对照处理中烟草地上部分和根系干质量分别只有0水平下的47%和41%;其他3 个处理中,烟草地上部分和根系的平均干质量分别只有0水平下的65%和66%。

在所有施 Pb 水平下,接种 AM 真菌、施加牛粪、复合处理均显著促进烟草生长,平均地上干质量是对照的 2.5、2.3、2.5 倍,平均根系干质量是对照的 2.6、2.7、2.7 倍;但在重度污染水平下效果最为显著;在 0 水平下,AM 真菌的促生效果最好,在其他污染水平下,复合处理效果最显著。

2.2 烟草磷营养

总体上看,随着施 Pb 水平升高,各处理地上部分和根系磷含量没有显著改变(表2)。与对照相比,在所有施 Pb 水平下,接种 AM 真菌、复合处理显著增加地上部分磷含量,且复合处理效果要优于接种 AM 真菌处理,而施加牛粪没有显著作用。

接种 AM 真菌、施加牛粪、复合处理均显著增加根系磷含量,且3个处理间没有显著差异(表2)。

2.3 烟草中铅残留

随着施 Pb 水平升高,烟草地上部分和根系中Pb 残留量随之增加,并且 Pb 主要是积累在根系中(表3)。在0水平时,各处理间地上部分和根系Pb 残留量均没有显著差异。对于地上部分 Pb 残留,在污染水平为 350、500 mg/kg 时,施加牛粪、复合处理均显著降低地上部分 Pb 残留,依次为 CK>M>M+N>N;但在 1000 mg/kg 时,仅接种 AM 真菌、复合处理降低了地上部分 Pb 残留。施加牛粪和复合处理在多数污染水平降低根系 Pb 残留,

且二者没有显著差异,而接种 AM 真菌仅在 1000 mg/kg 时降低根系 Pb 残留。

2.4 土壤中 DTPA 提取态 Pb 含量

随着施 Pb 水平升高,土壤中 DTPA 态 Pb 含量不断增加(表4)。与对照相比,在350、500、1000 mg/kg 污染水平下,接种 AM 真菌、施加牛粪、复合处理显著降低了土壤 DTPA 态 Pb 含量(除1000 mg/kg 下的牛粪处理)。但在 0 水平下,只有接种 AM 真菌处理显著降低了土壤 DTPA 态 Pb 含量。

2.5 土壤 pH

在 0 水平下,与对照相比,施加牛粪降低了土壤 pH,而接种 AM 真菌及复合处理没有使土壤 pH

表 1 不同处理和施铅水平下烟草的干质量 g
Table 1 Dry matter yields of tobacco plants under different treatments and Pb addition levels

处理		施 Pb 水平/(mg·kg ⁻¹)			
		0	350	500	1000
	CK	2.46 (0.07)dA	2.00 (0.25)cA	1.99 (0.34)cA	1.15 (0.33)cB
地上部分	M	6.18 (0.04)aA	4.04 (0.18)bB	3.94 (0.18)bB	3.91 (0.24)aB
	N	5.00 (0.08)cA	4.57 (0.10)aB	4.50 (0.09)aB	2.99 (0.14)bC
	M+N	5.36 (0.07)bA	4.89 (0.42)aAB	4.37 (0.17)abB	3.78 (0.33)aC
根系	CK	0.27 (0.01)cA	0.19 (0.01)cB	0.18 (0.01)cB	0.11 (0.01)bC
	M	0.64 (0.03)aA	0.40 (0.03)bB	0.37 (0.03)bB	0.39 (0.03)aB
	N	0.54 (0.02)bA	0.50 (0.02)aAB	0.45 (0.02)aB	0.38 (0.02)aC
	M+N	0.57 (0.02)bA	0.48 (0.01)aB	0.46 (0.02)aB	0.36 (0.01)aC

注:表中数字表示平均值(标准误差);不同小写字母表示同一列数据在不同处理中差异显著(p<0.05);不同大写字母表示同一行数据在不同 施Pb水平差异显著(p<0.05),下同。

表 2 不同处理和施铅水平下烟草中磷含量 mg/kg

Table 2 P concentrations in tobacco plants under different treatments and Pb addition levels

处理		施 Pb 水平/(mg·kg ⁻¹)			
		0	350	500	1000
地上部分	CK	346.32 (39.03)ab	339.98 (44.70)a	278.17 (16.83)a	339.59 (35.62)a
	M	410.58 (7.12)bA	459.16 (6.55)bAB	440.06 (27.13)bAB	502.66 (25.20)bB
	N	295.22 (26.62)a	360.80 (47.93)a	305.62 (5.55)a	309.33 (61.11)a
	M+N	588.97 (29.43)c	667.49 (36.75)c	568.07 (36.17)c	573.79 (24.31)c
根系	CK	413.64 (42.94)a	341.19 (54.99)a	350.16 (50.38)a	300.50 (55.71)a
	M	572.01 (35.48)bB	520.53 (49.00)bAB	520.53 (37.68)bAB	434.23 (39.50)bA
	N	483.66 (35.85)ab	510.36 (49.97)b	536.97 (23.80)b	493.22 (14.53)b
	M+N	542.73 (48.87)bAB	601.87 (51.68)bB	506.39 (26.80)bAB	477.31 (10.65)bA

表 3 不同施铅水平下烟草中 Pb 残留 mg/k

Table 3 Pb residues in tobacco plants under different treatments and Pb addition levels

处理		施 Pb 水平/(mg·kg ⁻¹)			
		0	350	500	1000
	CK	0.09 (0.02)D	10.79 (1.06)aC	15.50 (1.34)aB	25.15 (1.23)aA
地上部分	M	0.04 (0.01)D	8.12 (1.14)abC	12.54 (0.70)abB	18.06 (0.83)bA
	N	0.06 (0.02)D	3.51 (0.98)cC	6.57 (1.10)cB	24.58 (1.48)aA
	M+N	0.07 (0.02)D	6.15 (0.73)bC	9.29 (0.64)bB	20.28 (1.12)bA
	CK	0.33 (0.01)D	135.25 (15.49)abC	209.81(20.55)aB	602.05 (46.40)aA
根系	M	0.22 (0.01)D	156.48 (12.58)aC	218.56 (20.17)aB	330.70 (29.10)cA
低尔	N	0.27 (0.04)D	84.74 (10.05)bC	143.94 (19.00)bB	427.63 (35.06)bA
	M+N	0.32 (0.05)C	123.64 (8.82)abB	153.19 (21.64)bB	433.24 (22.33)bA

显著降低(表5)。在其他污染水平下,接种 AM 真菌处理、牛粪处理和复合处理均使土壤 pH 显著升高,且以复合处理效果最为显著。

表 4 烟草收获后土壤 DTPA 态 Pb 含量 mg/kg Table 4 Soil DTPA-extractable Pb concentrations after tobacco harvest

处理		施 Pb 水平	/(mg·kg ⁻¹)	
	0	350	500	1000
CK	1.73 (0.17)aD	4.86 (0.22)aC	6.79 (0.17)aB	7.39 (0.32)aA
M	1.33 (0.10)bC	4.10 (0.20)bB	6.06 (0.20)bA	6.42 (0.29)bA
N	1.42 (0.15)abD	3.52 (0.14)cC	6.12 (0.18)bB	7.04 (0.12)aA
M+N	1.43 (0.08)abD	3.96 (0.06)bC	6.03 (0.17)bB	6.52 (0.12)bA

表 5 不同处理和施铅水平下烟草收获后土壤 pH Table 5 Soil pH after tobacco harvest under different treatments and Pb addition levels

处理	施 Pb 水平/(mg·kg ⁻¹)				
/2	0	350	500	1000	
CK	8.40 (0.06)aA	7.85 (0.01)cC	7.92 (0.07)bB	7.88 (0.06)cB	
M	8.28 (0.07)abA	8.17 (0.02)bB	8.21 (0.03)aB	8.30 (0.05)aA	
N	8.10 (0.05)bB	8.20 (0.01)bA	8.28 (0.08)aA	8.12 (0.06)bB	
M+N	8.30 (0.05)ab	8.32 (0.03)a	8.29 (0.08)a	8.30 (0.06)a	

3 讨论

AM 真菌可能通过多种直接或间接机制降低重 金属毒性,促进植物生长。AM 真菌根外菌丝对镉 的累积能力是烟草根系的 10~20 倍[12]。根外菌丝中 的镉含量可以高达 $728 \, \mu g/g^{[13]}$ 。除了根外菌丝,孢 子、根内菌丝、泡囊等结构也可以固持重金属,减 少其向植物地上部分的转运。球囊霉素相关土壤蛋 白 (glomalin-related soil protein, GRSP)是AM真 菌丝产生的一种含金属离子的专性糖蛋白。GRSP 具有络合重金属(如 Cu²⁺、Cd²⁺、Fe²⁺、Pb²⁺、Mn²⁺ 等)的能力[14-15],被看作重金属污染土壤的生物稳 定剂。在接种了 AM 真菌的污染土壤中, GRSP 中 可以固持 Cu 4.3、Pb 1.12、Cd 0.08 mg/g^[14]。本研 究也发现,接种 AM 真菌增加了总球囊霉素相关土 壤蛋白总量和易提取态的含量(本文未显示),通 过分析发现,其中含有较多的 Pb。这可能是接种 AM 真菌降低 Pb 有效性和 Pb 含量的一个原因。

有机肥除了供给养分,其中的有机质还可以增加土壤的缓冲性能和吸附能力,并通过吸附、络合、还原、挥发等作用,降低其生物有效性和植物毒性,促进植物的生长,有利于重金属污染土壤的植物修复[16]。就本研究而言,施加牛粪能促进植物生长,

一方面是因为牛粪直接提供一些养分源为植物吸收利用。另一方面,牛粪中含有的有机质可以与 Pb 发生各种理化作用,降低其生物有效性和植物毒性。这可能是牛粪降低烟草 Pb 残留的主要原因。

在多数情况下,施加有机肥对 AM 真菌是有利的[17],二者在植物生长方面往往具有协同作用[18]。本研究证实,AM 真菌与施加牛粪在促进烟草生长和改善营养、降低 Pb 残留等某些方面具有协同作用。究其原因,牛粪属于有机肥,肥效缓慢,AM 真菌可能直接或间接促进其中养分的释放。反过来看,尽管 AM 真菌对 Pb 有较强的耐性,但是高浓度的 Pb 势必会影响菌根的发育和功能,而牛粪能够降低 Pb 的毒性,对 AM 真菌起到一定的保护作用。因此,在重金属胁迫等逆境条件下,同时施加 AM 真菌和有机肥对于植物生长和土壤修复都是有利的[19-20]。

重金属的有效性与土壤 pH 密切相关,可以通过调节土壤 pH 达到修复重金属污染的目的。在 Pb 污染条件下,接种 AM 真菌使得 pH 升高,这与以前的研究结果类似^[21-22],其原因可能是在 Pb 胁迫条件下 AM 真菌分泌物、菌根分泌物成分发生了改变,酸性强的成分减少,DTPA 态 Pb 含量降低。在重金属污染土壤中施加有机肥也会使土壤 pH 升高,重金属有效性降低^[23-24]。牛粪含有的有机质也可能与 Pb²⁺发生吸附、络合等作用,降低其植物有效性。

本研究发现, Pb 主要积累于烟草根系中,地上部分含量远低于根系含量,说明 Pb 不易在植物体内转运。接种 AM 真菌同时施加牛粪提高了烟草产量,降低了烟草地上部分和根系中的 Pb 含量,显然,这有利于控制烟草中的 Pb 残留和烟叶的安全生产。从植物修复的角度看,尽管烟草中的 Pb 含量降低,但是由于其生物量的增加,无论是基于地上部分的植物提取还是基于根系的植物稳定,其效率都增加了。同时, Pb 在土壤中的有效性较低,比较根系和地上部分的 Pb 含量发现, Pb 主要积累于烟草的根系,所以 AM 真菌和有机肥更适合于 Pb 污染土壤的植物稳定。

4 结 论

在各种 Pb 污染水平下,接种 AM 真菌、施加牛粪、复合处理均可以降低土壤 Pb 的生物有效性,改善烟草营养状况,促进烟草生长。接种 AM 真菌在重度污染水平下降低了 Pb 残留,施加牛粪在轻、中度 Pb 污染水平下显著降低烟草中的 Pb 残留,而复合处理在所有污染水平下都有效。

综合考虑,施加牛粪和 AM 真菌在促进烟草生长和改善营养、降低 Pb 残留、土壤 Pb 生物有效性等方面具有协同效应,可以复合应用于烟草生产和 Pb 污染土壤的植物修复。

参考文献

- [1] O'Connor R J, Li Q, Stephens W E, et al. Cigarettes sold in China: design, emissions and metals[J]. Tobacco Control, 2010, 19: 47-53.
- [2] 沈晓明,赵薇,Rosen J F. 美国、日本和国产香烟中铅含量的比较[J]. 广东微量元素科学,1998,5(6): 54-55.
- [3] 苏贤坤,庄文贤,李继新,等. 重金属对烤烟的影响及 其治理技术与策略[J]. 中国烟草科学,2008,29(4): 57-61.
- [4] 王发园,林先贵. 丛枝菌根真菌对污染土壤中农产品质量安全的影响[J]. 土壤学报,2008,45(6):1142-1147.
- [5] 王茂胜,卫亚丽.烟草丛枝菌根(AM)研究进展[J].中 国土壤与肥料,2007(2):13-16.
- [6] Janoušková M, Vosatka M, Rossi L, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal inoculation on cadmium accumulation by different tobacco (*Nicotiana tabacum* L) types[J]. Applied Soil Ecology, 2007, 35(3): 502-510.
- [7] Hua J F, Lin X G, Yin R, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi inoculation on arsenic accumulation by tobacco (*Nicotiana tabacum* L)[J]. Journal of Environmental Sciences, 2009, 21(9): 1214-1220.
- [8] Sudová R, Pavlíková D, Macek T, et al. The effect of EDDS chelate and inoculation with the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on the efficacy of lead phytoextraction by two tobacco clones[J]. Applied Soil Ecology, 2007, 35(1): 163-173.
- [9] 胡钟胜,章钢娅,王广志,等.改良剂对烟草吸收土壤中镉铅影响的研究[J].土壤学报,2006,43(2):233-239.
- [10] 招启柏 朱卫星 胡钟胜 等. 改良剂对土壤重金属 Cd、Pb)的固定以及对烤烟生长影响[J]. 中国烟草学报, 2009, 15(4): 26-32.
- [11] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国科学技术出版社,2000.

- [12] Janoušková M, Pavlikova D, Vosatka M. Potential contribution of arbuscular mycorrhiza to cadmium immobilisation in soil[J]. Chemosphere, 2006, 65: 1959-1965.
- [13] De Andrade S A, da Silveira A P, Jorge R A, et al. Cadmium accumulation in sunflower plants influenced by arbuscular mycorrhiza[J]. International Journal of Phytoremediation, 2008, 10: 1-13.
- [14] González-Chávez M C, Carrillo-González R, Wright S F, et al. The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements[J]. Environmental Pollution, 2004, 130: 317-323
- [15] Chern E C, Tsai D W, Ogunseitan O. A Deposition of glomalin-related soil protein and sequestered toxic metals into watersheds[J]. Environmental Science & Technology, 2007, 41: 3566-3572.
- [16] Park J H, Lamb D, Paneerselvam P, et al. Role of organic amendments on enhanced bioremediation of heavy metal(loid) contaminated soils[J]. Journal of Hazardous Materials, 2011, 185: 549-574.
- [17] Galvez L, Douds D D, Drinkwater L E, et al. Effect of tillage and farming system upon VAM fungus populations and mycorrhizas and nutrient uptake of maize[J]. Plant and Soil, 2001, 228: 299-308.
- [18] Caravaca F, Barea J M, Roldán. A Synergistic influence of an arbuscular mycorrhizal fungus and organic amendment on *Pistacia lentiscus* L seedlings afforested in a degraded semiarid soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2002, 34(8): 1139-1145.
- [19] Medina A, Azcón R. Effectiveness of the application of arbuscular mycorrhiza fungi and organic amendments to improve soil quality and plant performance under stress conditions[J]. Journal of Soil Science and Plant Nutrition, 2010, 10(3): 354-372.
- [20] Alguacil M M, Torrecillas E, Caravaca F, et al. The application of an organic amendment modifies the arbuscular mycorrhizal fungal communities colonizing native seedlings grown in a heavy metal-polluted soil[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43: 1498-1508.
- [21] Wang F Y, Lin X G, Yin R. Inoculation with arbuscular mycorrhizal fungus *Acaulospora mellea* decreases Cu phytoextraction by maize from Cu-contaminated soil[J]. Pedobiologia, 2007, 51(2): 99-109.
- [22] Li X L, Christie P. Changes in soil solution Zn and pH and uptake of Zn by arbuscular mycorrhizal red clover in Zn contaminated soil[J]. Chemosphere, 2001, 42: 201-207.
- [23] Walker D J, Clemente R, Bernal M P. Contrasting effects of manure and compost on soil pH, heavy metal availability and growth of *Chenopodium album* L in a soil contaminated by pyritic mine waste[J]. Chemosphere, 2004, 57: 215-224.
- [24] Walker D J, Clemente R, Roig A, et al. The effects of soil amendments on heavy metal bioavailability in two contaminated Mediterranean soils[J]. Environmental Pollution, 2003, 122(2): 303-312.