

DOI: 10.13758/j.cnki.tr.2024.02.017

陈起跃, 曾文增, 梁新然, 等. 施苯菌灵抑制丛枝菌根真菌对污染土壤-玉米系统镉迁移的影响. 土壤, 2024, 56(2): 375–381.

施苯菌灵抑制丛枝菌根真菌对污染土壤-玉米系统镉迁移的影响^①

陈起跃¹, 曾文增¹, 梁新然¹, 王磊¹, 何永美¹, 和成忠², 涂春霖², 湛方栋^{1*}

(1 云南农业大学资源与环境学院, 昆明 650201; 2 中国地质调查局昆明自然资源综合调查中心, 昆明 650111)

摘要: 为探讨土壤丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)对污染土壤-作物系统Cd迁移行为的影响, 采用云南兰坪铅锌矿周边重金属污染的土壤, 开展室内试验, 施杀真菌剂(苯菌灵)特异性抑制土壤土著AMF, 研究抑制AMF对玉米生长、Cd含量与累积量、土壤Cd淋溶流失的影响。结果表明: ①施苯菌灵显著抑制土壤AMF生长, 导致AMF侵染率、孢子数、土壤球囊霉素相关蛋白(Glomalin related soil protein, GRSP)含量显著降低; 并显著影响玉米生长与矿质营养, 玉米地上部生物量、叶绿素与磷含量增加, 而地上部氮钾含量降低。②施苯菌灵促进Cd向玉米根部和地上部迁移, 主要富集在玉米地上部, 导致玉米地上部的Cd含量和累积量显著增加。③施苯菌灵导致10 cm和20 cm壤中流的Cd浓度显著增加。此外, 土壤GRSP含量与玉米地上部Cd累积量和壤中流的Cd流失浓度均呈极显著负相关。研究结果表明, 土壤土著AMF有助于抑制土壤Cd向植株地上部迁移, 减少壤中流Cd的流失浓度, 降低污染土壤-作物系统Cd的环境迁移。

关键词: 重金属污染; AMF; 玉米; 流失; 镉迁移

中图分类号: X172 文献标志码: A

Effect of Benomyl on Inhibition of Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Cadmium Migration in Polluted Soil-Corn System

CHEN Qiyue¹, ZENG Wenzeng¹, LIANG Xinran¹, WANG Lei¹, HE Yongmei¹, HE Chengzhong², TU Chunlin², ZHAN Fangdong^{1*}

(1 College of Resources and Environment, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2 Kunming Natural Resources Comprehensive Survey Center, China Geological Survey, Kunming 650111, China)

Abstract: To investigate the effect of soil arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) on Cd migration in contaminated soil-crop system, the farmland soil polluted by heavy metals around the Lanping Lead Zinc Mine in Yunnan Province was used to carry out indoor experiments. The specific fungicide (benomyl) was applied to inhibit indigenous AMF in soil, and the effects of inhibiting AMF on corn growth, Cd content and accumulation, and soil Cd leaching loss were studied. The results showed that the application of benomyl significantly inhibited the growth of soil AMF, resulting in the significant reduction in the infection rate of AMF, the number of spores, and the content of soil glomalin related soil protein (GRSP); It also significantly affected the growth and mineral nutrition of maize, leading to the increase in the aboveground biomass, chlorophyll and phosphorus contents in maize, while the decreases in the aboveground nitrogen and potassium contents. The application of benomyl promoted the migration of Cd to the roots and shoots, mainly concentrated in the shoots, resulting in the significant increases in the content and accumulation of Cd in shoots. The application of benomyl resulted in the significant increases in Cd concentration in the 10 cm and 20 cm soil streams. In addition, soil GRSP content was significantly negatively correlated with the accumulation of Cd in the aboveground part of maize and Cd loss concentration in soil subsurface flow. The research results indicated that indigenous AMF in soil can help inhibit the migration of soil Cd to the aboveground parts of plants, reduce the loss concentration of Cd in soil subsurface flow, and reduce the environmental migration of Cd in polluted soil-crop systems.

Key words: Heavy metal pollution; AMF; Corn; Loss; Cd migration

①基金项目: 云南省专家工作站项目(202305AF150042, 202205AF150010)和国家自然科学基金项目(42177381, 42267002)资助。

* 通讯作者(zfd97@ynau.edu.cn)

作者简介: 陈起跃(1998—), 男, 云南文山人, 硕士研究生, 主要从事土壤重金属污染修复研究。E-mail: 2624643126@qq.com

镉(Cd)被列为全球关注的重金属污染物之一,工矿业、农业等人为活动产生的 Cd 污染物,会通过各种途径进入到农田土壤中,导致严重的农田土壤 Cd 污染^[1-2]。进入农田土壤的 Cd 主要积累在表层,容易被作物吸收^[3],并会在降雨条件下,随着地表径流和壤中流流失,成为污染农田土壤 Cd 向周边环境迁移的主要方式之一^[4]。

丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)在自然环境中种类繁多、分布广泛,可侵染陆地生态系统 90% 的高等植物根系,形成互利共生体,即使在严重重金属污染的土壤中,AMF 仍普遍存在^[5]。且在农业生产中 AMF 可以共生定殖于作物根部,AMF 侵染植物根系后,减轻了重金属对植物的毒害,植物在重金属污染土壤中的耐受能力显著提高,对于协助农作物抵御重金属污染与环境胁迫有重要作用^[6]。这使得 AMF 在土壤中重金属的迁移、转化、固定方面发挥重要作用,所以研究 AMF 对植物 Cd 含量与土壤重金属迁移的影响具有重要意义。

施用苯菌灵是目前 AMF 原位试验中最常用的灭菌方法。在我国 AMF 的研究中,也有学者将该法用于室内盆栽试验以获得低 AMF 处理^[7]。在抑制 AMF 试验中,苯菌灵被认为是最好的杀菌剂,因为它能有效减少 AMF 的侵染^[8-9],并对植物和其他非目标生物的副作用最小^[10]。O'Connor 等^[11]报道,反复施用苯菌灵只会稍微增加土壤毒性;Kahiluoto 等^[12]也通过试验证明,施用苯菌灵不会产生植物毒素。

目前对于重金属污染条件下 AMF 对植物生长影响作用的研究较多,而对于菌根共生体及菌根际对重金属迁移转化及植物吸收方面发挥的功能报道较少。在室内条件下,通过高温、 γ 射线等方法对土壤进行灭菌,很容易建立无 AMF 的对照,以此为对照进行 AMF 的生态功能研究^[13]。但野外难以获得无 AMF 的处理,所以研究人员利用苯菌灵等特定杀真菌剂,特异性地抑制野外土著 AMF 生长,成功获得低 AMF 的处理,并对植物和其他非目标生物的副作用小^[12]。因此,广泛采用苯菌灵抑制土著 AMF 的方法,以研究不同生态系统中土著 AMF 的生态功能。但野外不可控因素过多,所以以原状土壤为对照,采用施杀真菌剂抑制土著 AMF 的试验方法进行室内模拟试验,分析部分抑制土著 AMF 后,植物生长生理的变化、植物 Cd 累积和土壤 Cd 迁移,可间接反映土著 AMF 的生态功能,初步获悉土著 AMF 在土壤-植物系统 Cd 迁移中的作用。

云南兰坪超大型铅锌多金属矿床是我国最重要

的铅锌矿产集中开发区之一,探明金属储量 1 547.61 万吨,矿区面积超过 6.9 km²,是全球最大的铅锌矿之一^[14]。该矿区大规模露天开采与冶炼历史超过 50 年,矿石中的重金属大量扩散到周边,导致矿区农田严重的 Cd 污染^[15],雨季污染农田土壤 Cd 流失严重。此外,玉米是矿区周边的主栽作物,它是典型的 AMF 作物。但矿区周边农田土著 AMF 对土壤-玉米系统 Cd 环境迁移行为的影响如何,尚不清楚。

因此,以云南兰坪铅锌矿周边农田重金属污染土壤为培养基质,选择广谱内吸性苯并咪唑类杀真菌剂——苯菌灵(Benomyl)抑制 AMF,开展室内试验,定期连续施用苯菌灵,测定 AMF 相关指标,玉米的生物量、叶绿素含量、养分含量、Cd 含量与累积量以及土壤速效养分、重金属流失量等指标,研究施用苯菌灵抑制 AMF 对玉米生长与土壤 Cd 迁移的影响,探讨 AMF 对土壤-作物系统重金属环境迁移行为影响的生态功能,为进一步发挥 AMF 在土壤重金属污染治理中的作用提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 供试土壤与植物

供试土壤取自云南省兰坪县新井村铅锌矿周边 Cd、Pb 污染农田(26°34'N、103°38'E),海拔 2 150 m,距离矿山 15 km。属南温带季风性气候,干湿季节明显。年平均气温 12.6 °C,年平均降水量 1 015.5 mm,降雨主要集中在 5—8 月,无霜期 202 d,该矿床规模为特大型,是中国最大的铅锌矿,矿区集采、选、冶及辅助设施为一体,工业三废排放严重,周边农田土壤污染加剧,重金属富集。基本理化性质为:土壤 pH 为 6.25,有机质含量 34.56 g/kg,全氮、全磷、全钾含量分别为 1.16、0.42、9.58 g/kg,碱解氮、有效磷、速效钾的含量分别为 205.41、62.92、167.54 mg/kg。土壤 Cd、Pb 全量分别为 2.62、76.78 mg/kg。

供试植物为玉米(*Zea mays* L.),品种为会单四号,种子由昆明市小板桥种子市场购得,挑选大小一致且籽粒饱满的种子播种。用 10% H₂O₂ 进行表面处理,再用蒸馏水冲洗 3 次后,于 25 °C 恒温培养箱中催芽 3 d 后播种。苯菌灵产自江苏蓝丰生物化工股份有限公司,Cd、Pb 均未检出。

1.2 试验处理

试验设置不施苯菌灵抑制 AMF 处理(CK)和施苯菌灵抑制 AMF 处理(Benomyl),每个处理均设 4 个重复,播种玉米种子 2 颗。玉米出芽后 7 d 开始施苯菌灵,每 7 d 浇灌一次苯菌灵溶液,投加量 0.04 g/kg,

试验周期 45 d;CK 处理浇灌同等体积的蒸馏水代替。试验期间采用自然光照,不施肥,各盆栽按照 70% 的田间持水量添加去离子水,种植过程中采用称重法补充水分,使土壤水分维持在田间持水量的 70% 左右。

试验于云南农业大学后山试验大棚中开展,供试土壤研磨至过 2 mm 筛后分层填入试验装置。试验装置为高 50 cm、直径 11 cm、底端设出水阀的 PVC 管,按照 10、20 和 30 cm 土壤深度设置壤中流取点,壤中流采用 0.25 μm 陶瓷滤管(RHIZON MOM 19.21.21F, Rhizosphere research products)负压抽取。

1.3 采样与测定方法

玉米生长 45 d 后采样。取 25 g 土反复冲洗过筛,取 400 目上残留物置于 100 mL 离心管,加入 50% 的蔗糖溶液摇匀后离心,于显微镜下观测孢子数;取洗净的根部剪切至 1 cm 左右小段,10% KOH 90 $^{\circ}\text{C}$ 加温 1 h 软化后,以乳酸甘油蓝墨水染色,再以乳酸甘油脱色后制片,于显微镜下观察,计算侵染率及侵染强度;取 1 g 土于离心管,加 8 mL 柠檬酸钠溶液,高温高压 1 h 后加考马斯亮蓝显色,与牛血清蛋白比色测得易提取土壤球囊霉素相关蛋白(EE-GRSP);取 1 g 土,加 8 mL 柠檬酸钠溶液后高温高压 1 h,并重复上述步骤 5~6 次后加考马斯亮蓝显色,与牛血清蛋白比色测得总土壤球囊霉素相关蛋白(T-GRSP)^[16]。

玉米植株样品 105 $^{\circ}\text{C}$ 杀青、75 $^{\circ}\text{C}$ 烘干后分为地上部和根部称量干重;养分含量测定的样品采用 $\text{H}_2\text{SO}_4\text{-H}_2\text{O}_2$ 消煮,全氮的测定采用加奈氏试剂比色法,全磷的测定采用钼锑抗试剂比色法,全钾以火焰分光光度计测定;玉米 Cd 含量采用 $\text{HNO}_3\text{-HClO}_4$ 消煮,火焰原子吸收分光光度法测定^[17];叶片叶绿素 a、叶绿素 b 含量采用 80% 丙酮提取,分光光度法测定^[18]。

土壤碱解氮的测定采用碱解扩散法;土壤有效磷的测定采用碳酸氢钠提取法;土壤速效钾的测定采用醋酸铵提取法;土壤 Cd 含量采用王水-高氯酸消解,火焰原子吸收分光光度法测定。

试验收集了 2 次 10、20 和 30 cm 壤中流与 40 cm 淋溶液。搅拌均匀的水样采用 $\text{HNO}_3\text{-H}_2\text{O}_2$ 消解,采用石墨炉测定 Cd 浓度。

1.4 数据处理与统计分析

试验数据应用 Excel 进行处理,采用 SPSS 23.0 进行统计分析,LSD 法检验处理间在 $P<0.05$ 水平的显著性差异。

2 结果与分析

2.1 施苯菌灵对 AMF 侵染的影响

施苯菌灵能够有效抑制土壤 AMF 的生长,玉米根部侵染率降低 8.57%,根际土壤中孢子数下降 29%,总土壤球囊霉素相关蛋白和易提取土壤球囊霉素相关蛋白含量分别降低 18.4% 和 18.9%(表 1)。

2.2 施苯菌灵抑制 AMF 对玉米生长和矿质营养的影响

与 CK 相比,施苯菌灵处理,玉米叶片叶绿素含量增加 19.21%,地上部生物量增加 22.54%,根系生物量没有显著变化(图 1)。可见,施苯菌灵促进了玉米的生长。

施苯菌灵处理土壤有效磷含量降低 17.19%,土壤碱解氮、速效钾没有显著变化(图 2);玉米地上部全氮和全钾含量分别降低 17.39% 和 13.65%,全磷含量增加 44.13%,根部养分含量没有显著变化(图 2)。

2.3 施苯菌灵抑制 AMF 对玉米 Cd 含量和累积量的影响

施苯菌灵处理玉米根部和地上部 Cd 含量显著增加,增幅分别为 37.57% 和 141.49%;地上部 Cd 累积量增加 120.31%,根部 Cd 累积量没有显著变化(表 2)。可见,施苯菌灵导致 Cd 向玉米地上部迁移。

2.4 施苯菌灵抑制 AMF 对壤中流 Cd 浓度影响

本次试验共收集了两次壤中流(10、20 和 30 cm),施苯菌灵处理两次 10 cm 和 20 cm 壤中流 Cd 浓度均显著上升,增幅为 16.32%~144.77%,并且两次 20 cm 壤中流 Cd 浓度增幅均大于 10 cm 壤中流 Cd 浓度;30 cm 壤中流 Cd 浓度均没有显著变化(图 3)。可见,施苯菌灵会导致 10 cm 和 20 cm 壤中流 Cd 浓度增加。

2.5 施苯菌灵抑制 AMF 对淋溶液 Cd 浓度与流失量的影响

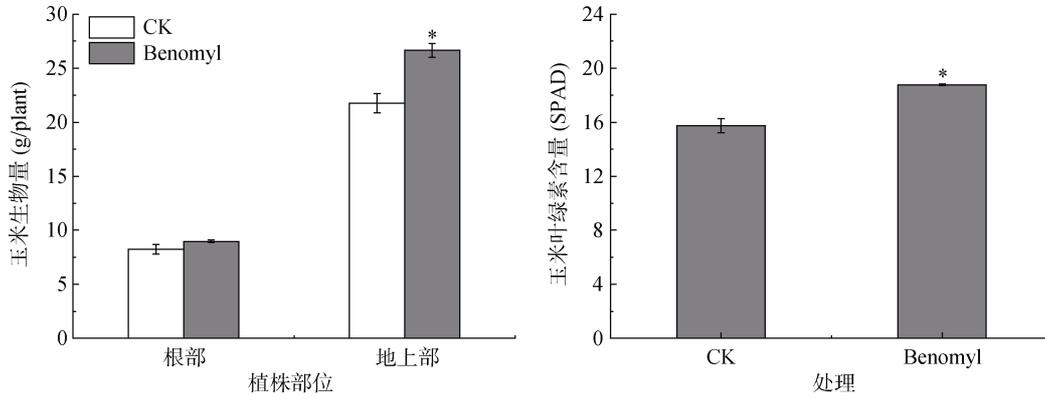
施苯菌灵抑制 AMF 对土壤淋溶液 Cd 流失浓度和流失量无显著影响(图 4)。

表 1 玉米根系 AMF 侵染率、根际孢子数与球囊霉素相关蛋白含量

Table 1 Infection rate of AMF, number of spores in rhizosphere and content of glomalin-related protein (GRSP) in maize roots

处理	根系侵染率(%)	孢子数(个/g)	T-GRSP(mg/g)	EE-GRSP(mg/g)
CK	77.78 \pm 1.11 a	18.12 \pm 0.36 a	6.75 \pm 0.02 a	1.34 \pm 0.01 a
Benomyl	71.11 \pm 1.11 b	12.84 \pm 0.41 b	5.51 \pm 0.05 b	1.08 \pm 0.02 b

注:表中同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$),下表同。



(*表示处理间差异达 $P < 0.05$ 显著水平, 下同)

图 1 玉米生物量和叶绿素含量

Fig. 1 Corn biomass and chlorophyll content

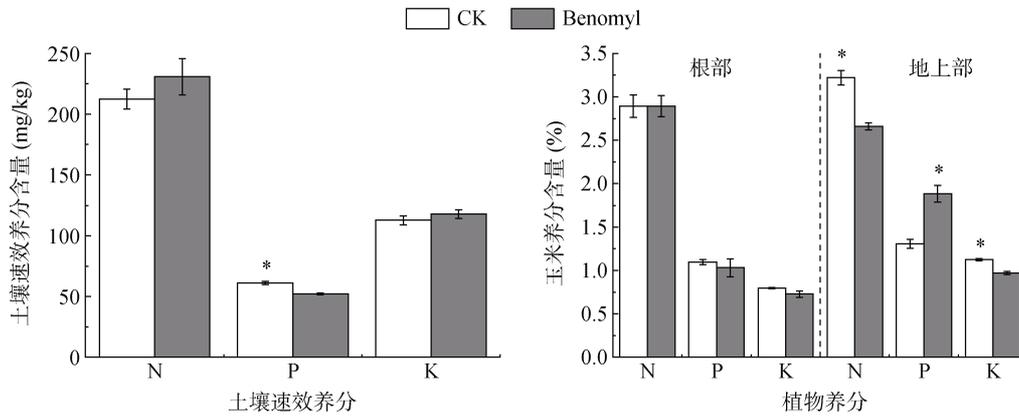


图 2 土壤速效养分和植物养分含量

Fig.2 Soil available nutrients and plant nutrient contents

表 2 玉米 Cd 含量与累积量

Table 2 Cd content and accumulation in corn

处理	Cd 含量(mg/kg)		Cd 累积量($\mu\text{g/plant}$)	
	根部	地上部	根部	地上部
CK	7.15 ± 0.61 b	0.27 ± 0.05 b	92.31 ± 6.37 a	1.32 ± 0.13 b
Benomyl	9.84 ± 0.53 a	0.64 ± 0.008 a	89.61 ± 11.78 a	2.91 ± 0.05 a

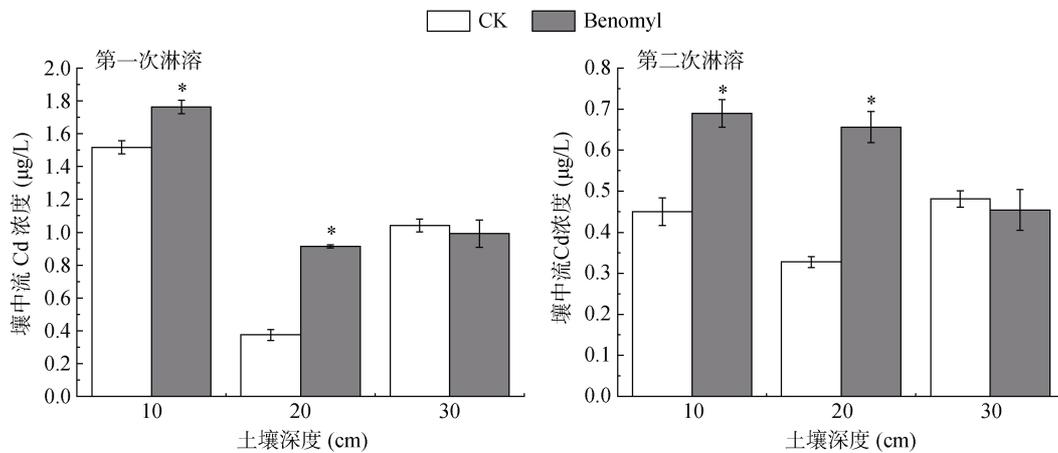


图 3 土壤中流 Cd 浓度

Fig. 3 Cd concentration in soil subsurface flow

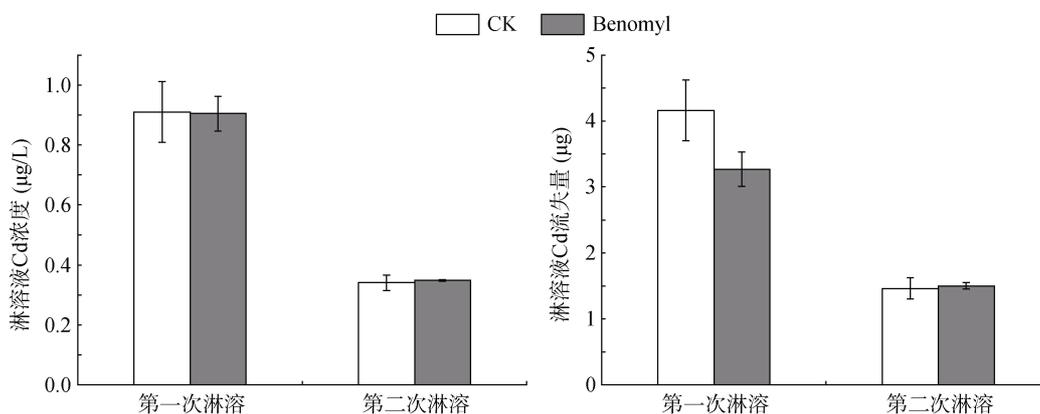


图 4 土壤淋溶液 Cd 浓度与流失量

Fig. 4 Cd concentration and loss in soil leaching solution

2.6 相关性分析

相关分析发现，土壤球囊霉素相关蛋白(GRSP)含量与玉米地上部 Cd 累积量呈极显著负相关($P < 0.01$),与根部 Cd 累积量呈显著负相关($P < 0.05$)(表 3)。

表明 AMF 菌丝分泌的 GRSP 有助于抑制 Cd 向玉米地上部转移。此外，土壤 GRSP 与 10 cm 和 20 cm 壤中流 Cd 流失浓度呈极显著负相关($P < 0.01$)。表明 AMF 菌丝分泌的 GRSP 与土壤 Cd 流失关系密切。

表 3 AMF 相关指标与玉米 Cd 累积量、土壤壤中流 Cd 浓度及流失量的相关性

Table 3 Correlation coefficients between AMF related indicators with Cd accumulation in maize, Cd concentration in soil subsurface flow and Cd loss

	侵染率	孢子数	T-GRSP	EE-GRSP
玉米根 Cd 累积量	-0.046	-0.743	-0.798*	-0.762*
玉米地上部 Cd 累积量	-0.242	-0.636	-0.918**	-0.859**
10 cm 壤中流 Cd 流失浓度	-0.386	-0.724	-0.872**	-0.868**
20 cm 壤中流 Cd 流失浓度	-0.560	-0.450	-0.988**	-0.983**
30 cm 壤中流 Cd 流失浓度	0.282	-0.539	0.157	0.224
淋溶液 Cd 流失量	-0.018	0.851*	0.564	0.588

注：*和**分别表示相关性达 $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ 显著水平。

3 讨论

矿区大规模露天开采与冶炼,矿石中的重金属大量扩散到周边,导致矿区农田严重的 Cd 污染^[19]。进入农田土壤的 Cd 主要积累在表层,容易被作物吸收,并会在降雨条件下,随着地表径流和壤中流流失^[20],成为污染农田土壤 Cd 向周边环境迁移的主要方式之一。普遍存在于污染农田土壤的 AMF,会显著影响土壤-作物系统重金属的迁移行为^[21]。

在重金属污染土壤中,为了避免 Cd 毒害植物,AMF 能够以其庞大的菌丝体网络和丛枝状结构,通过螯合作用、过滤机制、固持作用等吸附固持重金属,将相当一部分重金属滞留于菌根真菌体内。菌丝还能将重金属固定在植物根部的液泡或细胞壁中,减少重金属向地上部转移^[22]。真菌丛枝和细胞间菌丝具有高 Cd 积累,Cd 主要保留在真菌结构中,并限制其向植物细胞的传递^[23]。此外,AMF 的菌丝分泌物能螯

合重金属,降低植物对 Cd 的吸收累积。AMF 菌丝分解后产生分泌物球囊霉素土壤相关蛋白(GRSP)可以增强土壤稳定性,改善土壤质量,与重金属有较强的结合能力。GRSP 通过结合-转化作用将重金属沉淀在土壤,降低土壤中重金属的有效态,减少植物对重金属的吸收。根内 AMF 还会增强根系等酶的活性,提高果胶、纤维素和木质素等多糖组分含量,从而促进作物根系滞留重金属离子,抑制重金属向作物地上部转移^[24]。本研究发现,AMF 菌丝分泌的 GRSP 与玉米地上部 Cd 累积量呈极显著负相关,与根部 Cd 累积量呈显著负相关,施苯菌灵抑制土著 AMF 导致玉米地上部 Cd 吸收量增加,也间接证实 AMF 有助于作物根系固持 Cd 离子。

AMF 通过根外菌丝还有助于减少污染元素随水体的流失^[25]。之前的报道大多集中在 AMF 减少土壤 N、P 等矿质养分的淋溶流失^[26],但也有研究发现 AMF 可以减少污染土壤 Cd 离子的流失。本研究发

现, AMF 菌丝分泌的 GRSP 与 10 cm 和 20 cm 壤中流 Cd 流失浓度呈极显著负相关, 施苯菌灵抑制 AMF 会增加壤中流 Cd 的流失, 也间接证明了 AMF 具有减少土壤 Cd 流失浓度的生态功能。

施苯菌灵抑制 AMF 减小了 AMF 对 Cd 的作用, 迫使植株依靠自身抵御 Cd 胁迫, 植物生长离不开 N, 而 Cd 的固定很大程度依赖 P 的作用, 致使玉米叶片更高的 N、P 累积, 本研究中玉米地上部 P 含量较高也可能是此原因; K 对植株体内的部分酶可以起到激活作用, 同时参与合成蛋白质、输送叶片糖分以及提高植株抗逆性, 但由于 K 主要是通过扩散向根际运动, 其中扩散效率低, 不利于植物吸收利用, 而 AMF 可以在根系周边形成菌根际, 扩大根的吸收面积, 也可以促进根系低分子量有机酸的分泌, 有效提高植物吸收土壤中难溶性 K^[27]。本研究中施苯菌灵抑制 AMF 降低了玉米地上部 K 含量, 可能是由于施苯菌灵抑制 AMF 限制了菌丝的活化吸收功能, 对于土壤中 K 的活化作用减弱, 导致灭菌土壤中的速效钾降低, 致使根部可吸收利用的 K 含量减少, 而抑制 AMF 也限制了菌丝的分布, 影响了 AMF 对 K 的吸收利用。这些改变可以协助植物抵御 Cd 胁迫, 在较高浓度 Cd 污染条件下正常生长^[28-29], 本研究中施苯菌灵抑制 AMF 显著提高地上部生物量。AMF 除了可以改善植物对养分的吸收, 还可以影响叶绿素的合成、分泌促进植物生长的物质。本研究中叶绿素含量的提高也证明菌根的作用。

土著 AMF 调控污染土壤物质迁移的效应仍存在一定争议, 也有 AMF 对土壤污染物质迁移影响很小和无影响的报道, 甚至由于根系与 AMF 菌丝分泌物的作用, AMF 增加土壤污染物质流失的报道。考虑到目前关于 AMF 影响土壤污染物质受气候条件、宿主植物种类、土壤性质等诸多因素的影响, 本研究在室内受控条件下开展苯菌灵抑制 AMF 试验, 研究大田土著 AMF 对土壤污染物质流失的影响, 但该方法忽略了土壤中除 AMF 外的其他土著微生物作用。因此, 未来还需通过室内模拟与野外试验相结合的研究, 以更好地阐明 AMF 在调控土壤物质迁移方面的生态效应与作用机制。

4 结论

1) 施苯菌灵抑制 AMF 显著增加玉米地上部的 Cd 含量和累积量。

2) 施苯菌灵抑制 AMF 显著增加土壤壤中流 Cd 的流失浓度。

3) 土壤 GRSP 含量与玉米地上部 Cd 累积量呈极显著负相关, 并且与土壤淋溶液 Cd 的流失浓度也呈极显著负相关, 表明 AMF 菌丝分泌的 GRSP 与土壤 Cd 迁移关系密切。

综上所述, 土壤土著 AMF 能够减少污染土壤-作物系统 Cd 的环境迁移。

参考文献:

- [1] 陈能场, 郑煜基, 何晓峰, 等. 《全国土壤污染状况调查公报》探析[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(9): 1689-1692.
- [2] 章海波, 骆永明, 李远, 等. 中国土壤环境质量标准中重金属指标的筛选研究[J]. 土壤学报, 2014, 51(3): 429-438.
- [3] Wu X S, Cai Q Y, Xu Q, et al. Wheat (*Triticum aestivum* L.) grains uptake of lead (Pb), transfer factors and prediction models for various types of soils from China[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2020, 206: 111387.
- [4] Wei, Liu, Routh, et al. Release of heavy metals and metalloids from two contaminated soils to surface runoff in southern China: A simulated-rainfall experiment[J]. Water, 2019, 11(7): 1339.
- [5] 余春瑰, 张世熔, 姚苹, 等. 四种生物质材料水浸提液淋洗镉污染土壤及其废水处理研究[J]. 土壤, 2015, 47(6): 1132-1138.
- [6] 宋福强, 王立, 马放. 丛枝菌根真菌-紫穗槐共生体系的研究[M]. 北京: 科学出版社, 2013.
- [7] 张璐, 张倩, 叶宝兴. 盐胁迫下丛枝菌根真菌(AMF)对紫花苜蓿生长的影响[J]. 山东农业科学, 2010, 42(3): 32-37.
- [8] Pimienta-Barrios E, Gonzalez del Castillo-Aranda M E, Munoz-Urias A, et al. Effects of benomyl and drought on the mycorrhizal development and daily net CO₂ uptake of a wild *platyopuntia* in a rocky semi-arid environment[J]. Annals of Botany, 2003, 92(2): 239-245.
- [9] Zhang Q, Zhang L, Weiner J, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi alter plant allometry and biomass-density relationships[J]. Annals of Botany, 2011, 107(3): 407-413.
- [10] Fitter A H, Nichols R. The use of benomyl to control infection by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi[J]. New Phytologist, 1988, 110(2): 201-206.
- [11] O'Connor P, Manjarrez M, Smith S E. The fate and efficacy of benomyl applied to field soils to suppress activity of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2009, 55(7): 901-904.
- [12] Kahiluoto H, Ketoja E, Vestberg M. Creation of a non-mycorrhizal control for a bioassay of AM effectiveness[J]. Mycorrhiza, 2000, 9(5): 241-258.
- [13] Ferlian O, Biere A, Bonfante P, et al. Growing research networks on mycorrhizae for mutual benefits[J]. Trends in Plant Science, 2018, 23(11): 975-984.

- [14] Leach D L, Song Y C, Hou Z Q. The world-class Jinding Zn-Pb deposit: Ore Formation in an evaporite dome, Lanping Basin, Yunnan, China[J]. *Mineralium Deposita*, 2017, 52(3): 281-296.
- [15] Zhan F D, Zeng W Z, Yuan X C, et al. Field experiment on the effects of sepiolite and biochar on the remediation of Cd- and Pb-polluted farmlands around a Pb-Zn Mine in Yunnan Province, China[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2019, 26(8): 7743-7751.
- [16] Mukerji K G, Manoharachary C, Chamola B P. *Techniques in Mycorrhizal Studies*[M]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2002.
- [17] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 3 版. 北京: 中国农业出版社, 2000.
- [18] 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 2006.
- [19] Wu J, Long J, Liu L, et al. Risk assessment and source identification of toxic metals in the agricultural soil around a Pb/Zn mining and sSmelting area in Southwest China[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2018, 15(9): 1838-1838.
- [20] Lee H, Lee Y. Environmental pollution from heavy metals in soil and stream near an abandoned mine in Korea[J]. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, 2020, 12(2): 137-148.
- [21] He Y M, Yang R, Lei G, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi reduce cadmium leaching from polluted soils under simulated heavy rainfall[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263: 114406.
- [22] 滕秋梅, 张中峰, 李红艳, 等. 丛枝菌根真菌对镉胁迫下芦竹生长、光合特性和矿质营养的影响[J]. *土壤*, 2020, 52(6): 1212-1221.
- [23] Chen H P, Yang X P, Wang P, et al. Dietary cadmium intake from rice and vegetables and potential health risk: A case study in Xiangtan, Southern China[J]. *Science of the Total Environment*, 2018, 639: 271-277.
- [24] Gao M Y, Chen X W, Huang W X, et al. Cell wall modification induced by an arbuscular mycorrhizal fungus enhanced cadmium fixation in rice root[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2021, 416: 125894.
- [25] Parihar M, Meena V S, Mishra P K, et al. Arbuscular mycorrhiza: A viable strategy for soil nutrient loss reduction[J]. *Archives of Microbiology*, 2019, 201(6): 723-735.
- [26] Duffková R, Fučík P, Jurková L, et al. Experimental evaluation of the potential of arbuscular mycorrhiza to modify nutrient leaching in three arable soils located on one slope[J]. *Applied Soil Ecology*, 2019, 143: 116-125.
- [27] 张亮, 袁玲, 黄建国. 共生固氮菌对土壤钾的活化作用[J]. *土壤学报*, 2015, 52(2): 399-405.
- [28] Chauhan A, Kumar V. Effect of graded levels of nitrogen and VAM on growth and flowering in *Calendula (Calendula officinalis linn.)*[J]. *Journal of Ornamental Horticulture*, 2007, 10: 61-63.
- [29] Zaller J G, Saccani F, Frank T. Effects of earthworms and mycorrhizal fungi on the growth of the medicinal herb *Calendula officinalis (Asteraceae)*[J]. *Plant, Soil and Environment*, 2011, 57(11): 499-504.