

蚯蚓对锌污染土壤养分状况及锌形态的影响^①

王丹丹¹, 巫丽俊¹, 戴莹¹, 钟树明¹, 孙华¹, 张维清¹, 李洁¹, 李辉信², 胡锋^{2*}

(1 环境保护部南京环境科学研究所, 南京 210042; 2 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘要:以长江冲积物形成的高沙土为供试土壤, 分别加入 4 个浓度的 Zn (100、200、300、400 mg/kg) 以模拟 Zn 污染土壤, 设置了接种蚯蚓(*Pheretima* sp.) 处理与不接种蚯蚓的对照处理, 以研究蚯蚓活动对 Zn 污染土壤的养分状况及土壤 Zn 形态的影响。培养试验结果表明, 供试蚯蚓能存活于设定浓度的 Zn 污染土壤中, 对 Zn 的富集系数为: 0.21 ~ 0.29, 但蚯蚓生长率随污染浓度升高而下降, 表明重金属污染仍对蚯蚓生长有一定的抑制作用。蚯蚓活动降低了土壤 pH, 而显著提高了土壤 DTPA-Zn 含量, 使土壤 Zn 形态从残渣态、有机态向铁锰氧化态和交换态转变, 提高了重金属植物有效性。另外, 蚯蚓活动增加了各处理土壤的速效氮、磷以及 NO₃-N 含量, 而对土壤速效钾和 NH₄⁺-N 含量无显著影响。

关键词: 蚯蚓; 污染土壤; Zn 形态; DTPA-Zn; 土壤养分

中图分类号: S154.2

蚯蚓处于食物链的底端, 与土壤中的各种污染物密切接触, 通常被视为土壤动物区系的代表类群而被用于指示、监测土壤污染^[1-2]。众多资料表明, 重金属污染对蚯蚓的种群数量、种类丰度、多样性等参数有负面影响^[3-4]。但是也有研究发现一些蚯蚓种类能存活于重金属污染土壤, 包括一些矿区, 并能在体内富集一定量的重金属^[5-6]。有研究表明蚯蚓的耐受性和它们的品种及蚯蚓暴露于污染物中时间长短有关系^[7], 将蚯蚓长时期暴露于污染土壤, 发现蚯蚓可以富集并且提高对重金属的抗性, 和无暴露于污染土壤的蚯蚓比, 它们在污染土壤中的活性、生殖率都较高^[8]。既然蚯蚓有耐受重金属的基因潜力, 那么完全有可能利用它为污染土壤的修复工作服务。

蚯蚓在改良土壤, 提高土壤肥力方面的作用已经被国内外大量研究所证实^[9]。目前有研究将蚯蚓应用到重金属污染土壤的植物修复中去, 结果表明蚯蚓对植物修复污染土壤有积极意义, 可同时提高植物的生物量和植物重金属浓度^[10], 污染土壤的氮、磷、钾等养分状况也得到了改善^[11]。韩清鹏等^[12]研究还发现, 当土壤 Zn 污染浓度低于 400 g/kg 时, 蚯蚓对土壤氮素矿化、硝化和反硝化活性有显著促进作用, 进而提高污染土壤的氮素矿化量, 改善污染土壤的养分状况。但是关于耐性蚯蚓在 Zn 污染条件下对土

壤速效养分以及对土壤基本性质、土壤重金属形态的影响如何, 还研究较少。本研究通过培养实验, 着重研究了耐性蚯蚓在不同浓度的 Zn 污染下对土壤 pH、氮、磷、钾、NH₄⁺-N、NO₃⁻-N 等指标的影响, 并对蚯蚓的生长率, 蚯蚓体内和蚓粪中重金属的富集系数以及蚯蚓对土壤重金属形态的影响作了初步的探讨, 为揭示耐性蚯蚓在污染土壤中的作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试土壤为采自江苏如皋的高沙土(0 ~ 20 cm), 土壤的基本性状为: pH 8.15, 总有机碳 5.18 g/kg, 全氮 0.70 g/kg, 全磷 0.66 g/kg, 全 Zn 62.26 mg/kg, 有效态 Zn 4.6 mg/kg。供试蚯蚓为环毛蚓(*Pheretima* sp.)。

1.2 试验方法

称取 1 kg 过 2 mm 筛的高沙土(风干土)于塑料盆钵中, 加入 ZnSO₄ 溶液以制备成 0、100、200、300、400 mg/kg 的 Zn 污染土壤。此污染浓度的设置一方面是参照国家土壤的污染标准, 另一方面是根据前期预备试验结果及 Yin 等^[13]和王丹丹等^[14]的研究结果中蚯蚓可存活最高浓度而设置的。将这些盆钵置于 28℃ 温室中干湿交替培养 2 个月, 使土壤重金属各形

①基金项目: 国家自然科学基金项目(30370286)和中央级公益性科研院所基本科研业务专项项目资助。

* 通讯作者(fenghu@njau.edu.cn)

作者简介: 王丹丹(1978—), 女, 江苏徐州人, 博士研究生, 工程师, 主要从事土壤污染修复研究工作。E-mail: ddwang78@163.com

态分布达到平衡后,每钵放入 4 条具有明显环带的成蚓(+E 处理),每条(2.0 ± 0.1) g,并以不加蚯蚓的相应处理为对照(NoE 处理),于控温、控湿的温室内培养一个月,培养过程中保持土壤水分在 60%~70% 之间。每个处理设置 3 个重复。培养期间收集各处理排泄于土表的蚓粪,风干备用。培养结束后,手捡法取出蚯蚓,并分别采集不同处理的土壤样品,土样一部分于 4℃ 冰箱中保存待测鲜样项目,另一部分晾干、过筛备用。

1.3 分析项目及方法

土壤 pH:无二氧化碳水浸提,液土比 5:1,Beckman pH 计测定;速效氮:KCl 提取,碱解蒸馏法测定;速效磷:Olsen 法(NaHCO₃ 法)提取,钼锑抗比色法测定;速效钾:NH₄OAC 提取,火焰光度计法测定;NH₄⁺-N、NO₃⁻-N:2 mol/L K₂SO₄ 提取,流动分析仪(型号为 AA3)测定。

蚯蚓体 Zn 含量的测定:培养一个月后,手捡法取出蚯蚓,并用去离子水洗净,吸干水分,称重,吐土 24 h 后,洗净、吹干转移至坩埚,100℃~110℃ 烘干,HNO₃-HClO₄ 湿消解法,原子吸收分光光度法测定^[15]。

土壤和蚓粪中重金属全量用 HNO₃-HClO₄ 湿消解法,有效态重金属用 DTPA 溶液浸提法,分别用原子吸收分光光度法测定。

土壤重金属形态:培养结束后,采用 BCR 重金属连续分级法测定供试土壤中各种 Zn 形态,其具体步骤如下:①可交换态及碳酸盐结合态:称取风干土壤样品 0.8 g 置于 100 ml 丙烯离心管中,加入 32 ml 0.11 mol/L 的醋酸,室温下(25℃)振荡 16 h,振荡过程中确保样品处于悬浮状态,然后离心 20 min(10 000 r/min),把上清液移入 100 ml 聚乙烯瓶中;往残渣中加入 16 ml 二次去离子水,振荡 15 min,离心 20 min (10 000 r/min),把上清液移入上述聚乙烯瓶中,储存于冰箱(4℃)内以备分析。②Fe-Mn 氧化物结合态:向第 1 步的残渣中加入 32 ml 当天配制的 0.1 mol/L 的盐酸羟胺(HNO₃ 酸化, pH 为 2),用手振荡试管使残渣全部分散,再按

第 1 步方法振荡、离心、移液、洗涤。③有机物及硫化物结合态:向第 2 步的残渣中缓慢加入 8 ml 双氧水(HNO₃ 酸化, 8.8 mol/L, pH 为 2),用盖子盖住离心管(防止样品剧烈反应而溅出),室温下放置 1 h(间隔 15 min 用手振荡);拿去盖子,放到砂浴锅中(85℃)温浴 1 h,待溶液蒸至近干凉置;再加入 8 ml 双氧水(HNO₃ 酸化, 8.8 mol/L, pH 为 2),重复上述操作;然后加入 40 ml 醋酸铵(HNO₃ 酸化, 1 mol/L, pH 为 2),按第 1 步方法振荡、离心、移液、洗涤。提取过程中所用试剂均为优级纯,所用器皿用 2 mol/L 的硝酸在超声波振荡仪内清洗 15 min,并用二次去离子水清洗 3 遍,然后在通风橱内晾干。重金属各提取态及总量均采用原子吸收分光光度法测定。

数据用 SPSS 软件进行统计分析,用 Duncan 法分析不同处理间的差异,显著性定义为 $P<0.05$ 。

2 结果与讨论

2.1 土壤中重金属 Zn 对蚯蚓生长的影响

在整个培养过程中,蚯蚓全部存活且活动频繁,土壤表面有明显蚓粪堆积。接种蚯蚓的各处理土壤疏松,蚓穴明显,从表层土壤到底层土壤都有明显的团粒状蚓粪分布,说明所选环毛蚓(*Pheretima* sp.)对重金属 Zn 有一定的耐受性。但是重金属污染仍然对蚯蚓生长产生了一定的抑制作用,培养结束后,所有处理的蚯蚓鲜重都显著降低($P<0.01$),出现负增长,且蚯蚓生长率随污染浓度增大而降低,在 Zn400 处理下生长率最低,达到了-14.35%。试验同时发现,没有重金属污染的土壤中,蚯蚓的鲜重也较培养前降低。原因可能是:①试验培养蚯蚓的密度较田间实际浓度大且选用盆钵较小,蚯蚓的活动受到一定的抑制,从而影响了蚯蚓的活性;②蚯蚓主要以半腐解的有机物为食,在田间实际情况下要吞食大量的有机物,而本试验没有添加外源有机物,且供试土壤有机质含量较低。另外,因试验接种蚯蚓个数较少,且接种时间较短,培养结束后未发现蚯蚓有繁殖现象,土壤内无蚓茧出现。

表 1 土壤重金属 Zn 对蚯蚓生长的影响
Table 1 Effect of Zn on earthworm growth

项目	Zn 处理 (mg/kg)				
	0	100	200	300	400
培养前蚓鲜重(g/盆)	7.99 a	8.01 a	8.00 a	8.00 a	8.01 a
培养后蚓鲜重(g/盆 t)	7.21 b	7.15 b	6.98 b	6.91 b	6.89 b
蚯蚓生长率(%)	-9.78	-10.74	-12.75	-13.50	-14.35

注:表中同列不同小写字母表示蚯蚓培养前后鲜重差异显著($P<0.05$),下同。

2.2 蚯蚓活动对土壤速效氮、磷、钾含量的影响

土壤中速效氮、磷、钾含量的测定结果显示(图 1): Zn 污染浓度对土壤速效氮、磷、钾含量没有显著影响。蚯蚓活动显著提高了土壤各处理速效氮的含量,增幅为 20.70% ~ 32.78%。蚯蚓对速效氮的促进作用在低 Zn 浓度($Zn \leq 200$ mg/kg)时更显著,随土壤污染浓度增加,增幅出现降低趋势。蚯蚓对土壤速效氮含量的影响,既可能与蚯蚓体分泌和直接排泄富含有效氮的物质有关^[16-17];也可能是蚯蚓活动促进了微生物向营养源丰富部位的扩散及其活性的提高^[18-19],从而加速了微生物对氮的周转和释放^[20]。

加入蚯蚓还显著提高了土壤速效磷含量(图 1),但是在 Zn300 和 Zn400 处理时没有达到显著水平。可能是 Zn 浓度较高的情况下,蚯蚓活动受到了抑制。很多研究认为,蚯蚓对磷素的提高主要是通过对微生物以及土壤磷酸酶的影响而间接地改变土壤磷形态。王霞等^[21]的研究发现蚯蚓活动不仅改变了土壤磷素形态,提高活性磷含量,而且具有扩大土壤磷库的积极意义。从图 2 还可以看出,加入蚯蚓对土壤速效钾含量影响不大,土壤速效钾含量虽然都有增高的趋势,但没有达到显著水平。

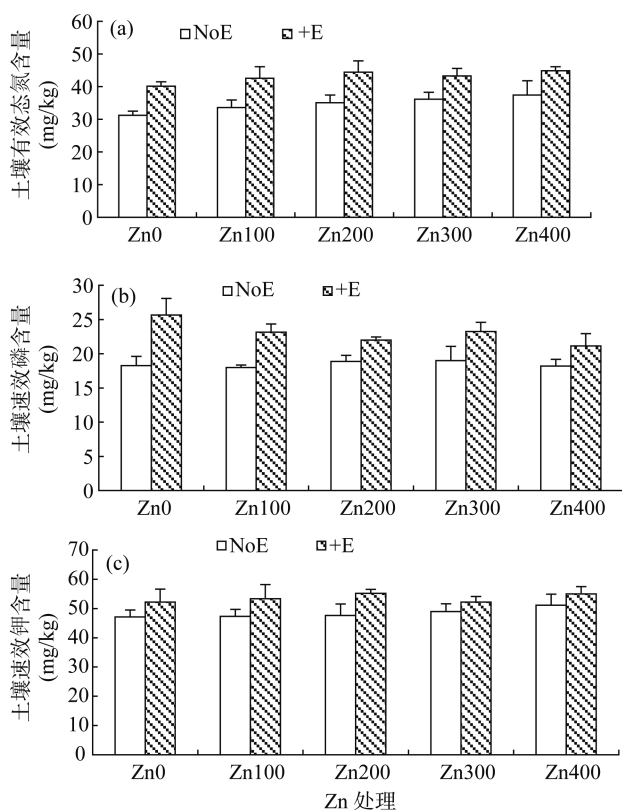


图 1 蚯蚓活动对土壤中速效氮(a)、磷(b)、钾(c)含量的影响
Fig. 1 Effects of earthworms on concentrations of available N, P and K in soils

2.3 蚯蚓活动对土壤硝态氮和铵态氮的影响

图 3 表明, Zn 污染土壤的 NH_4^+-N 、 NO_3^--N 含量较无污染对照土壤显著提高, 随土壤污染浓度增加, 土壤的 NH_4^+-N 含量基本保持稳定, NO_3^--N 含量则有增高趋势, 在 Zn400 处理中达到最大。土壤 NO_3^--N 含量远远高于 NH_4^+-N 含量, 平均为 NH_4^+-N 的 3.8 ~ 28.02 倍, 是土壤矿质氮($NH_4^+-N + NO_3^--N$)的主要组成部分。接种蚯蚓后, 土壤 NO_3^--N 显著提高, NH_4^+-N 则只在 Zn0 处理显著增加。可以看出无论是重金属的单独加入, 还是蚯蚓和重金属的相互作用, 都促进了土壤矿质氮含量的提高。Yang 等^[22]也发现一定程度的重金属污染可促进土壤 NO_3^--N 、 NH_4^+-N 含量增加, 并认为是由低浓度重金属污染刺激了土壤中氨化、硝化细菌的增长引起的。蚯蚓对于土壤矿质氮的提高已有广泛研究, 土壤增加的这部分矿质氮可能是来源于蚯蚓体表、肠道的分泌物, 和蚯蚓活动对有机态氮的矿化, 也可能是蚯蚓作用下固氮菌增多的缘故^[23]。

同时有研究表明在一定比例 NH_4^+-N 存在的前提下, NO_3^--N 供应的增加不仅促进根系的生长, 而且提高根系活力^[24], 这表明蚯蚓对土壤 NO_3^--N 量的提高对污染土壤中植物生长具有重要作用。

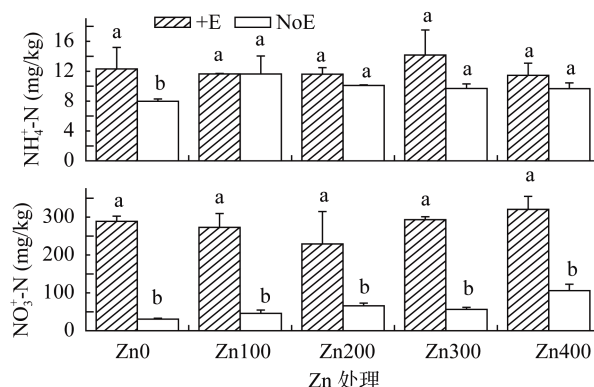


图 2 蚯蚓对土壤 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 含量的影响
Fig. 2 Effects of earthworms on NH_4^+-N and NO_3^--N contents in soils

2.4 蚯蚓对土壤 pH 的影响

由于土壤 pH 是影响土壤对重金属的吸附-解吸附行为, 进而影响重金属活性的一个关键因子, 因此试验测定了蚯蚓活动对土壤 pH 的影响。从表 2 可以看出, 蚯蚓活动显著降低了土壤的 pH, 降幅分别达 0.07 ~ 0.16 个单位。土壤加入外源 Zn 污染物后, 随 Zn 污染浓度增大, 土壤 pH 呈降低趋势, Zn400 处理较 Zn0 处理降低了 0.11 个单位, 其原因与土壤胶体对金属离子的吸附机制有关。土壤中一些铁锰氧化物等含有氢氧根离子可与添加进去的重金属离子反应, 释放出氢离子进入土壤溶液, 从而使土壤 pH 降低^[25]。

表 2 蚯蚓对 Zn 污染土壤 pH 的影响
Table 2 Effect of earthworms on soil pH

处理	Zn 处理 (mg/kg)				
	0	100	200	300	400
加蚯蚓(+E)	8.14 b	8.10 b	7.99 b	8.01 b	7.97 b
不加蚯蚓(NoE)	8.23 a	8.17 a	8.15 a	8.14 a	8.12 a

2.5 蚯蚓活动对土壤 DTPA-Zn 含量的影响

DTPA 提取态重金属是植物有效态重金属，与植物体重金属浓度有很好的相关性。土壤中 DTPA 提取态 Zn 含量的测定结果(图 3)表明：除 Zn0 处理外，蚯蚓活动显著提高了土壤中 DTPA-Zn 的含量。这与 Cheng 和 Wong^[26]发现蚯蚓通过与土壤微生物的相互作用增加红壤中的 DPTA-Zn 的结果相吻合。

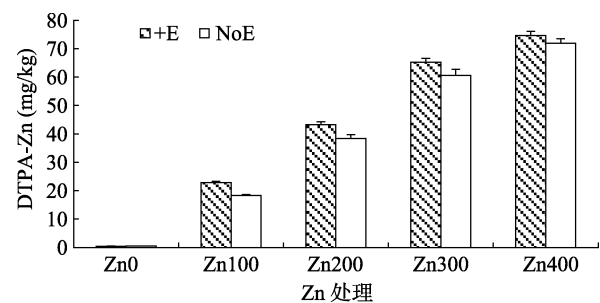


图 3 蚯蚓对土壤 DPTA-Zn 含量的影响
Fig. 3 Effects of earthworms on soil DTPA extractable Zn

2.6 蚯蚓活动对土壤 Zn 形态的影响

DTPA 溶液络合能力很强，可同时提取出多种形

态的重金属，不能反映出加入蚯蚓后土壤重金属形态的具体变化。因此本研究用 BCR 重金属分级法，测定了土壤 Zn 的各个形态。BCR 三步提取法得到了接种蚯蚓和没有接种蚯蚓处理下污染土壤的 Zn 各个形态值(表 3)，B1 为可交换态及碳酸盐结合态(酸溶态)，是植物最容易吸收的形态；B2 为铁锰氧化态，植物较易利用的形态；B3 为有机物及硫化物结合态，是植物较难利用的形态；最后为植物几乎不能利用的形态——R 残渣态。从表 3 可以看出，Zn 在土壤中形态分布趋势主要是：有机态<可交换态<铁锰氧化态<残渣态，主要形态为残渣态。丁疆华等^[27]也认为土壤中 Zn 主要以残渣态、铁锰氧化态和碳酸盐态存在，且铁锰氧化物态 Zn 在还原条件下可被释放出来，易被植物利用。王亚平等^[28]调查铜尾矿库周围土壤时发现，污染土壤中重金属的分布特征为：可交换态<碳酸盐态<有机态<铁锰氧化态<残渣态。可见不同土壤类型，不同污染浓度，Zn 在土壤中的分布特征是不同的。

表 3 蚯蚓活动对土壤 Zn 形态的影响
Table 3 Effects of earthworm on soil Zn fraction distribution

Zn 处理(mg/kg)	B1(mg/kg)		B2(mg/kg)		B3(mg/kg)		R(mg/kg)	
	+E	NoE	+E	NoE	+E	NoE	+E	NoE
0	14.58 ± 0.82	11.5 ± 0.83	10.02 ± 1.17	7.66 ± 0.96	2.38 ± 0.99	3.03 ± 0.77	33.02 ± 2.98	37.81 ± 2.56
100	39.39 ± 0.18	31.03 ± 0.18	51.54 ± 2.29	43.63 ± 1.22	2.39 ± 0.27	2.41 ± 0.09	66.69 ± 5.74	82.93 ± 2.49
200	40.4 ± 0.51	36.18 ± 1.62	59.58 ± 2.89	51.98 ± 1.87	2.79 ± 0.05	3.89 ± 0.28	157.63 ± 3.45	167.95 ± 3.77
300	47.12 ± 3.45	40.34 ± 0.8	70.96 ± 2.56	68.07 ± 1.43	2.65 ± 0.48	3.25 ± 0.47	242.16 ± 6.49	245.50 ± 2.70
400	59.11 ± 2.33	52.35 ± 1.59	79.52 ± 2.50	79.04 ± 2.83	2.91 ± 0.26	2.99 ± 0.36	318.46 ± 5.09	325.62 ± 4.78

注：表中 B1、B2、B3、R 分别表示重金属的交换态、铁锰氧化态、有机态和残渣态；+E 表示接种蚯蚓，NoE 表示没有接种蚯蚓。

表 3 显示，除个别 Zn 浓度外(Zn400)，接种蚯蚓显著提高了 Zn 的交换态和铁锰氧化态($P<0.05$)，使它们分别提高了 11.66%~26.78%、4.24%~30.81%，且蚯蚓对 Zn 各个形态的提高作用随土壤污染浓度升高而降低。同时蚯蚓活动降低了土壤有机态 Zn 含量和残渣态 Zn 含量，但是有机态的降低幅度没有达到显著水平。Cheng 和 Wong 等^[26]的研究表明蚯蚓对铁锰氧化态 Zn 有活化作用，而对有机态 Zn 起钝化作用，本研究的结果基本一致。也有研究认为，蚯蚓对

不同类型土壤 Zn 有效性的影响是不同的^[29]。总体来看，蚯蚓活动具有将重金属从难溶态向植物易吸收利用形态转变的作用。Wen 等^[30]认为蚯蚓的这种活化重金属的作用一方面是由于蚯蚓增加了土壤可溶性有机碳含量，另一方面可能是蚯蚓通过影响土壤某些微生物的数量而改变了重金属形态。

2.7 蚯蚓蚓体和蚓粪对土壤 Zn 的富集

表 4 是蚯蚓体及蚓粪(试验期间收集的土壤表层蚓粪)中 Zn 含量和富集系数(蚯蚓体重金属含量/供试

土壤中重金属含量的比值),可以看出蚯蚓体内 Zn 的含量随外源 Zn 加入量的增加而增加,其对 Zn 的富集系数为 0.21~0.29,可见环毛蚓对土壤中 Zn 有一定的吸收能力,但是没有富集作用(富集系数均小于 1)。同时蚯蚓的富集系数随土壤污染浓度升高而降低,并且蚓粪中重金属浓度明显高于蚓体,这进一步表明蚯蚓对 Zn 只有吸收而无富集作用,说明蚯蚓可以通过向外排泄或其他保护机制将吸收的 Zn 排出体外,从而减少重金属的毒害作用^[31]。

表 4 蚯蚓蚓体及蚓粪对土壤中 Zn 的生物量富集
Table 4 Concentrations of Zn in the body of earthworms and earthworm casts

项目	Zn 处理 (mg/kg)				
	0	100	200	300	400
蚯蚓体内 Zn 含量 (mg/kg)	8.82	28.65	55.68	72.24	82.58
蚓粪内 Zn 含量 (mg/kg)	21.78	38.89	76.67	109.73	126.08
蚯蚓体富集系数	—	0.29	0.28	0.24	0.21

本研究得到的蚯蚓体重金属浓度与以往的研究结果不尽相同,如 Lukkari 等^[32]研究表明蚯蚓(*Lumbricidae*)在 Cu/Zn 浓度为 79/139 mg/kg 时,即可富集 40 mg/kg 的 Cu 和 600 mg/kg 的 Zn,远远高于本试验所得。Dai 等^[33]认为,富集浓度的差异和蚯蚓品种以及蚯蚓对食物的选择性、蚯蚓暴露在污染物中的时间,以及土壤中重金属的形态等因素有关。

相关性分析表明,土壤全量和 DTPA 提取态 Zn 和蚯蚓体内的 Zn 含量显著正相关(表 5),DTPA 提取的重金属和蚯蚓各指标的相关性与重金属全量与蚯蚓的各指标一致,都是与蚯蚓生长率呈显著负相关,而和蚯蚓体富集系数、蚓粪中重金属含量显著正相关。考虑到 DTPA 提取态操作步骤简单、重复性好等特点,有研究推荐 DTPA 提取态重金属作为预测蚯蚓 BSAF 的指标^[33],本研究也证实了这一点。

表 5 土壤 Zn 全量及有效态 Zn 与蚯蚓生物量、Zn 浓度、蚓粪 Zn 含量之间的相关性

项目	蚯蚓生物量	蚯蚓体 Zn 含量	蚓粪中 Zn 含量
全 Zn	-0.948**	0.977**	0.988**
DTPA-Zn	-0.982**	0.996**	0.991**

注: **表示在 $P<0.01$ 水平显著相关。

4 小结

(1) 供试蚯蚓能存活于设定浓度的 Zn 污染土壤

中,接种蚯蚓的土壤蚯蚓活动痕迹明显。但是重金属污染明显抑制了蚯蚓的生长,蚯蚓生长率随土壤污染浓度升高而下降。

(2) 蚯蚓提高了土壤速效态氮、磷的含量,还显著提高了土壤 NO_3^- -N 含量,而对速效钾、 NH_4^+ -N 含量影响不大。蚯蚓提高土壤养分有效性对改善植物修复污染土壤具有重要意义。

(3) 蚯蚓活动显著降低了土壤 pH,还改变了土壤中 Zn 形态,促进了残渣态 Zn 向可溶态、铁锰氧化态转变,同时蚯蚓对 DTPA-Zn 有显著提高作用。

(4) 蚯蚓对 Zn 的富集系数为 0.21~0.29,相关分析显示,土壤全 Zn、DTPA-Zn 与蚯蚓生长率呈显著负相关,而与蚓体及蚓粪中重金属含量显著正相关,表明重金属污染浓度是影响蚯蚓各指标的关键因子。

参考文献:

[1] Maenpaa KA, Kukkonen JVK, Lydy MJ. Remediation of heavy metal-contaminated soils using phosphorus: Evaluation of bioavailability using an earthworm bioassay[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2002, 43(4): 389-398

[2] 高岩, 骆永明. 蚯蚓对土壤污染的指示作用及其强化修复的潜力[J]. 土壤学报, 2005, 42(1): 140-148

[3] 李帅章, 孙振钧, 王冲. 单一污染对蚯蚓体腔细胞的影响[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(6): 2 382-2 386

[4] Surgeon DJ, Svendsen C, Rimmer VR, Hopkin SP, Weeks JM. Relative sensitivity of life-cycle and biomarker response in four earthworm species exposed to zinc. Environmental[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2000, 19(7): 1 800-1 808

[5] Nahmani J, Hodson ME, Devin S, Vijver MG. Uptake kinetics of metals by the earthworm *Eisenia fetida* exposed to field-contaminated soils[J]. Environmental Pollution, 2009, 157(10): 2 622-2 628

[6] Ruiz E, Rodr í guez L, Alonso-Azc á rate J. Effects of earthworms on metal uptake of heavy metals from polluted mine soils by different crop plants[J]. Chemosphere, 2009, 75(8): 1 035-1 041

[7] Darling CTR, Thomas VG. Lead bioaccumulation in earthworms, *Lumbricus terrestris*, from exposure to lead compounds of differing solubility[J]. Science of the Total Environment, 2005, 346(1/3): 70-80

[8] Lukkari T, Teno S, Väisänen A, Haimi J. Effects of earthworms on decomposition and metal availability contaminated soil: Microcosm studies of populations with different exposure histories[J]. Soil Biology Biochemistry, 2006, 38(2): 359-370

[9] Edwards CA. Earthworm Ecology[M]. 2 ed. New York: CRC Press LLC, 2004: 3-4

[10] 俞协治, 成杰民. 蚯蚓对土壤中铜、镉生物有效性的影响[J]. 生态学报, 2003, 23(5): 922-928

- [11] Ma Y, Dickinson N M, Wong M H. Interactions between earthworms, trees, soil nutrition and metal mobility in amended Pb/Zn mine tailings from Guangdong, China[J]. Soil Biol. Biochem., 2003, 35: 1 369–1 379
- [12] 韩清鹏, 成杰民, 周娟, 张强, 陈丽敏, 胡健, 殷士学. 蚯蚓活动对锌污染土壤中氮素转化影响的研究[J]. 江苏农业研究, 2001, 22(3): 34–38
- [13] Yin SX, Yang LZ, Yin B, Mei LJ. Nitrification and denitrification activities of zinc-treated soils worked by the earthworm *Pheretima* sp.[J]. Biology and Fertility of Soils, 2003, 38(3): 176–180
- [14] 王丹丹, 李辉信, 魏正贵, 胡锋. 蚯蚓对污染土壤中黑麦草和印度芥菜吸收累积锌的影响[J]. 土壤, 2008, 40(1): 73–77
- [15] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000
- [16] Bhadauria T, Ramakrishnan PS. Influences of earthworms in nitrogen cycling during the cropping phase of shifting agriculture in north-east India[J]. Biology and Fertility of Soils, 1996, 22: 350–354
- [17] Cortez J, Billes G, Bouché MB. Effect of climate, soil type and earthworm activity on nitrogen transfer from a nitrogen-15-labelled decomposing material under field conditions[J]. Biology and Fertility of Soils, 2000, 30(4): 318–327
- [18] Winding A, Rønn R, Hendriksen NB. Bacteria and protozoa in soil microhabitats as affected by earthworms[J]. Biology and Fertility of Soils, 1997, 24(2): 133–140
- [19] 李辉信, 胡锋, 沈其荣, 陈小云, 仓龙, 王霞. 接种蚯蚓对秸秆还田土壤碳、氮动态和作物产量的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(12): 1 637–1 641
- [20] Abla DH, Berry EC. Effects of earthworm invasion on morphology, carbon, and nitrogen of forest soil[J]. Applied Soil Ecology, 1994, 1(3): 243–249
- [21] 王霞, 胡锋, 李辉信, 沈其荣, 王丹, 刘永刚. 秸秆还田情况下蚯蚓活动对稻麦轮作土壤磷素的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(2): 341–344
- [22] Yang Y, Chen YX, Tian GM, Zhang ZJ. Microbial activity related to N cycling in the rhizosphere of maize stressed by heavy metals[J]. Journal of Environmental Science, 2005, 17(3): 448–451
- [23] Araujo Y, Luizão FJ, Barros E. Effect of earthworm addition on soil nitrogen availability, microbial biomass and litter decomposition in mesocosms[J]. Biology and Fertility of Soils, 2004, 39(3): 146–152
- [24] 樊明寿, 孙亚卿, 邵金旺, 贾立国. 不同形态氮素对燕麦营养生长和磷素利用的影响[J]. 作物学报, 2005, 31(1): 114–118
- [25] Yu TR. Chemistry of variable charged soils[M]. New York: Oxford University Press, 1997
- [26] Cheng JM, Wong MH. Effects of earthworms on Zn fractionation in soils[J]. Biology and Fertility of Soils, 2002, 36(1): 72–78
- [27] 丁疆华, 舒强, 舒强. 土壤环境中镉、锌形态转化的探讨[J]. 城市环境与城市生态, 2001, 14(2): 47–49
- [28] 王亚平, 鲍征宇, 侯书恩. 尾矿库周围土壤中重金属存在形态特征研究[J]. 岩矿测试, 2002, 19(1): 7–13
- [29] 刘玉真, 朱宇恩, 成杰民. 赤子爱胜蚓(*Eisenia foetida*)对三种土壤 Zn、Pb 有效态含量的影响[J]. 生态环境, 2006, 15(4): 739–742
- [30] Wen B, Hu XY, Liu Y, Wang WS, Feng MH, Shan XQ. The role of earthworms (*Eisenia fetida*) in influencing bioavailability of heavy metals in soils[J]. Biology and Fertility of Soils, 2004, 40(3): 181–187
- [31] Lukkari T, Taavitsainen M, Soimasuo M, Oikari A, Haimi J. Biomarker responses of the earthworm *Aporrectodea tuberculata* to copper and zinc exposure: Differences between population with and without earlier metal exposure[J]. Environmental Pollution, 2004, 129(3): 377–386
- [32] Lukkari T, Teno S, Väisänen A, Haimi J. Effects of earthworms on decomposition and metal availability contaminated soil: Microcosm studies of populations with different exposure histories[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(2): 359–370
- [33] Dai J, Becquer T, Rouiller JH, Reversat G, Bernhard-Reversat F, Nahmani J, Lavelle P. Heavy metal accumulation by two earthworm species and its relationship to total and DTPA-extractable metals in soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2004, 36(1): 91–98

Effects of Earthworm on Soil Nutrients and Zn Chemical Forms in Zn Contaminated Soil

WANG Dan-dan¹, WU Li-jun¹, DAI Ying¹, ZHONG Shu-ming¹, SUN Hua¹,
ZHANG Wei-qing¹, LI Jie¹, LI Hui-xin², HU Feng^{2*}

(1 *Nanjing Institute of Environmental Sciences, Ministry of Environmental Protection, Nanjing 210042, China*; 2 *College of Resources and Environmental Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China*)

Abstract: Pot experiment was carried out to study the roles of earthworms in Zn contaminated soil, Zn was added in the form of ZnSO₄ solution to the soil (1 000 g per pot) at rates ranging from 0 to 400 mg/kg and the soil was incubated for 60 days at 20°C for fractionation and stabilization. Zn-tolerant earthworms (*Pheretima* sp.) were introduced into half of the pots, with the other half as control. The results showed that the employed earthworms could tolerate heavy metals and survive in Zn polluted soil tested, and their Zn enrichment coefficients were about 0.21–0.29, but the growth of earthworm was negatively affected by Zn pollution, the growth rate declined with soil polluted degree increased. Earthworm activities decreased soil pH and significantly increased concentration of DTPA-Zn of soil. In additional, earthworms made Zn fractions change from residual forms and organic forms to Fe-Mn oxides-bound and extractable forms, which contributed to increase soil plant-available heavy metals amounts. And earthworm could significantly increase available N, P and NO₃⁻-N contents in contaminated soil, but had no effect on soil available K and NH₄⁺-N contents.

Key words: Earthworm, Contamination soil, Zn forms, DTPA-Zn, Soil nutrients