

蚯蚓和铁处理对苹果根铁营养影响

崔美香¹, 台社珍¹, 赵志军¹, 刘贵巧¹, 刘子英¹, 薛进军^{1,2*}

(1. 河北工程大学, 河北 邯郸 056021; 2. 广西大学农学院, 南宁 530005)

摘要: 试验于2007~2009年在河北省永年县曹庄村和中国农业大学曲周实验站进行。在苹果树根际用不同价态的2 500、5 000、10 000、20 000 mg/kg的铁处理玉米秸秆后接种蚯蚓, 研究蚯蚓和铁对苹果根系生长、蚯蚓对铁的富集转移及根质外体铁的影响。结果表明: 蚯蚓对铁有很大的富集量, 在20 000 mg/kg(试验所用最高浓度)二价铁和三价铁处理的秸秆中可以成活并把秸秆转化为蚯蚓粪, 促进根系生长, 提高根的质外体铁含量, 蚯蚓对二价铁的适应性高于三价铁。蚯蚓可将有机物料中的铁转移到果树根系内, 5 000 mg/kg铁处理增加蚯蚓体内 Fe^{2+} 含量和根质外体铁含量效果最好, 蚯蚓、蚯蚓粪和根中的全铁含量随铁处理浓度的增加而增加。铁显著促进果树根系生长, 没有用铁处理过的秸秆接种蚯蚓诱导的新根量明显少于用铁处理的, 两种不同价态的铁都是以5 000 mg/kg的新根量最多。蚯蚓显著促进根系生长, 没有接种蚯蚓的处理新根量显著少于接种蚯蚓的处理。

关键词: 蚯蚓; 铁; 富集转移; 苹果根铁营养

中图分类号: S153.6 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2010)04-0513-04

Effect of treating with earthworm and iron on iron nutrition of apple roots

CUI Mei-Xiang¹, TAI She-Zhen¹, ZHAO Zhi-Jun¹, LIU Gui-Qiao¹,
LIU Zi-Ying¹, XUE Jin-Jun^{1,2*}

(1. Hebei University of Engineering, Handan 056021, China; 2. College of Agriculture,
Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: The experiment was carried out at Caozhuang Village of Yongnian County in Hebei Province and Quzhou Experiment Station of China Agricultural University from 2007 to 2009. The rhizosphere of apple trees was applied earthworms inoculated by corn stalks treated with 2 500, 5 000, 10 000 and 20 000 mg/kg of iron and different valence iron, the 8-year-old Fuji apple trees were taken. Effect of earthworm and iron on the growth of apple roots, earthworm to iron riched, translocation and iron of root apoplast was researched. The experiment showed that earthworm could survive in the corn stalks treated with 20 000 mg/kg iron (tested by the highest concentration) and turned the straw into vermicast to promote root growth and improve the apoplast Fe content of apple roots, earthworm was more adaptive to the two-valent iron than three-valent iron. The earthworm could transfer iron from organic material to the roots of fruit trees, the best treatment about increasing Fe^{2+} content of earthworm tissue and the apoplast Fe content of roots was 5 000 mg/kg. The total iron content of earthworms, vermicast and roots was increased as the concentration of iron treatment increased. Iron significantly promoted root growth of apple trees. The number of new roots was significantly less in the vermicast that earthworm inoculated with no iron than in the vermicast using iron processing, the new roots was the most by 5 000 mg/kg treatment in two different valence of the iron. Earthworm significantly promoted the root to growth, the number of new roots was significantly less in the treatment with no in-

收稿日期: 2008-10-31 修回日期: 2009-06-15

基金项目: 国家自然科学基金(30671448); 邯郸市科技局项目(0922101101-23)[Supported by the National Natural Science Foundation of China (30671448); Project of Science and Technology Bureau of Handan City(0922101101-23)]

作者简介: 崔美香(1969-), 女, 河北省永年县人, 副教授, 主要从事植物保护方面科研与教学工作, (E-mail) zzgcmx@163.com。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: xuejinjun@163.com)

culated earthworms than in the treatment which inoculated earthworms. The soil bulk density, soil pH, and pH value of the root apoplast and organic matter content in the soil were significantly improved by the iron and earthworms.

Key words: earthworms; iron; enrichment and translocation; iron nutrient of roots of apple trees

铁是植物必须的矿物元素之一。自 1844 年 Gris 报道葡萄叶片失绿症黄化是由于缺铁造成以来,人类为根治植物缺铁失绿症进行了 100 多年的艰苦研究。在植物缺铁机理,植物对铁的吸收,铁在植物体内的运输与分配,植物体内铁的再利用,矫正缺铁失绿症的方法和途径等方面都已取得巨大的成果(周厚基等,1992; Peryea 等,1997)。果树缺铁是果园普遍存在的问题,因果树根系只能吸收土壤中的 Fe^{2+} ,石灰性土壤中的铁绝大部分以 Fe^{3+} 形式存在,即使施入 Fe^{2+} 肥,也大多被氧化成 Fe^{3+} ,不能被根系直接吸收(Femandez 等,2005)。铁肥根系输液、铁肥强力高压注射的效果,断根对铁的吸收、运输、分配机理(王秀茹等,2006; 崔美香等,2005; 薛进军等,2000)研究,对于在生产上解决石灰性土壤的苹果树叶片黄化问题起到了重要作用。但是,这些研究都没有能够改变果树根系生长的生态环境,没有解决根系对环境中铁的吸收问题。我们在研究利用玉米秸秆接种蚯蚓成功的基础上(刘子英等,2004),试图利用铁处理秸秆后接种蚯蚓,通过蚯蚓活动和对铁的富集转移作用,改善石灰性土壤上苹果根系生长的生态环境,从根本上解决石灰性土壤上果树的铁营养问题。

1 材料与方法

1.1 材料及处理

试验于 2007~2009 年在永年县曹庄果园和中国农业大学曲周实验站苹果园中进行,试材为 8 年生红富士苹果树(*Malus pumila*),曹庄果园于 2007 年 4 月 10 日、曲周实验站果园于 2009 年 4 月 7 日分别在每株树下不同的方向挖 4 个深 50 cm、直径 40 cm 的穴,穴内填满玉米秸秆。玉米秸秆分别先用 2 500、5 000、10 000、20 000 mg/kg N-Fe(薛进军等,1999)(二价铁)和 FeCl_3 (三价铁)处理,然后每穴接种 25 条“进农六号”成蚓,并设两个对照:玉米秸秆用去离子水处理不接种蚯蚓为对照 1(CK1),玉米秸秆用去离子水处理接种蚯蚓为对照 2(CK2),穴上用塑料布覆盖保湿。接种蚯蚓的处理均用尼龙网将玉米秸秆和蚯蚓网住,以防蚯蚓逃匿。单株区

组,重复 5 次。

1.2 测试及方法

当玉米秸秆被转化为蚯蚓粪并诱导生根时,曹庄果园于 2007 年 9 月 15 日,曲周果园于 2009 年 9 月 2 日对不同处理新根生长情况进行拍照,测定不同处理的新根鲜重和干重、新根的全铁含量,取蚯蚓粪和蚯蚓测定全铁、 Fe^{2+} 、 Fe^{3+} 含量。根系质外体铁的测定:先用去离子水冲洗根系,放到饱和 CaSO_4 溶液中浸泡 0.5 h,再用去离子水冲洗数次,将根系移入 50 mL 三角瓶中,瓶外壁以避光材料包裹,内装 50 mL 含有 15 mmol/L 2',2'-二联吡啶的 5 mmol/L CaSO_4 溶液。通入 N_2 5 min 后加入连二亚硫酸钠,使之终浓度为 75 mmol/L,继续通入 N_2 5 min 后取出植株根系,溶液在 520 nm 波长处比色,以无根溶液为空白,测定吸光值。根系质外体 pH 值的测定:吸收根质外体汁液的收集参照 Daniel 等(1995)的方法,将吸收根在 4 ℃ 环境下 1 500 × g 离心 5 min,收集的汁液去掉,然后 2 500 × g 离心 15 min,所得汁液即为质外体汁液,用微电极测定质外体汁液的 pH 值,每处理重复测定三次,取平均值。用邓肯氏新复极法测定不同处理间差异的显著性。

为进一步验证蚯蚓对铁不同价态和浓度的富集效应,2008 年 10 月 5 日在室内进行 2 个试验:(一)玉米秸秆分别用 0、2 500、5 000、10 000、20 000 mg/kg 的 N-Fe、 FeCl_3 溶液处理后,放人体积为 500 mL 的烧杯中,每烧杯中放入 10 条成蚓,用纱布覆盖杯口,防止蚯蚓逃逸和保湿,放入 25 ℃ 恒温恒湿培养箱内培养,各处理重复 3 次;(二)把按上述处理过的玉米秸秆放入直径为 20 cm 的培养皿内,放入当天产的蚯蚓卵 50 粒,每处理 5 皿,共 45 皿,2 250 粒卵。盖盖放 25 ℃ 恒温恒湿培养箱内培养。2009 年 1 月 15 日调查记录试验(一)的蚯蚓条数和重量,试验(二)孵化的蚯蚓数。

2 结果与分析

2.1 蚯蚓和铁显著促进苹果根系生长

不同形态、不同浓度铁处理玉米秸秆接种蚯蚓

的处理,都显著促进了苹果根系的生长,无论是二价铁还是三价铁处理,均以 5 000 mg/kg 处理秸秆接种蚯蚓的诱导新根生长效果最好,其中 5 000 mg/kg N-Fe 处理新根鲜重达到 16.50 g,5 000 mg/kg FeCl₃ 处理达到 15.77 g。即使用 20 000 mg/kg 的二价铁和三价铁处理秸秆后接种蚯蚓,蚯蚓也能够将秸秆转化为蚯蚓粪,增加的新根量分别为 10.08 g 和 6.42 g,显著高于没有用铁处理秸秆接种蚯蚓(2.15 g)和秸秆处理(0.66 g)(表 1)。说明蚯蚓粪具有诱导生根的作用,这一结果与已有的报道一致(薛进军等,2003)。

2.2 蚯蚓富集铁并转移到根,蚯蚓对二价铁的适应性高于三价铁

蚯蚓在 20 000 mg/kg 的二价铁和三价铁处理

的秸秆中都可以成活,将秸秆中的铁转移到新生根中。蚯蚓对二价铁的适应性高于三价铁,20 000 mg/kg 二价铁处理促进根的生长和根的全铁含量都显著高于 20 000 mg/kg 三价铁处理,表明蚯蚓能够比较多地吸收二价铁,并将其转移到果树的根内;蚯蚓将秸秆转化为蚯蚓粪后,根内的铁含量也显著高于没有接种蚯蚓的处理(表 1)。由于蚯蚓把秸秆转化为了蚯蚓粪,使根系生长在蚯蚓粪中,改变了根系生长的环境,从而促进了根系对铁的吸收。

室内试验进一步证明,蚯蚓对二价铁适应性明显强于三价铁,同一形态的铁随着浓度的增加,蚯蚓卵孵化的幼蚓数减少。FeCl₃ 2 500、5 000、10 000、20 000 mg/kg 每皿分别孵化出幼蚯蚓 30、10、9、5 条,N-Fe 2 500、5 000、10 000、20 000 mg/kg 分别孵

表 1 不同处理的新根重量和新根中铁含量

Table 1 The weight and iron content of new roots under different treatments

项目 Item	N-Fe (mg/kg)				FeCl ₃ (mg/kg)				CK2	CK1
	2 500	5 000	10 000	20 000	2 500	5 000	10 000	20 000		
新根鲜重 Fw of new roots (g)	10.44b	16.50a	7.21b	10.08b	3.44c	15.77a	4.86b	6.42b	2.15c	0.66d
新根干重 Dw of new roots (g)	5.44b	7.44a	3.49b	4.99b	1.74c	9.05a	2.60b	3.31b	1.09c	0.42d
铁含量 Iron content (mg/kg)	127.9c	141.1b	149.4b	215.8a	127.9c	136.2c	149.4b	172.6a	120.2c	102.1d

注: 表中同行不同小写字母表示处理间存在显著性差异($P<0.05$)。下同。

Note: Different small letters in the same line indicate significant difference at $P<0.05$. The same below.

表 2 不同铁处理有机物料对蚯蚓的影响

Table 2 Effect of organic material treated with different irons on earthworm

项目 Item	N-Fe (mg/kg)				FeCl ₃ (mg/kg)				CK1
	2 500	5 000	10 000	20 000	2 500	5 000	10 000	20 000	
孵出幼蚓数(条)No. of Juveniles by hatched	44b	40b	20c	10d	38b	35b	9d	5d	52a
蚯蚓(条/皿)No. of worms/utensil	9.6a	8.8b	6.4c	3.6d	7.8b	5.6c	4.2d	3.0e	10a
蚯蚓重 Wt of worms (g)	4.8a	4.4a	3.2b	1.8c	3.9b	2.8b	2.1c	1.5c	5.0a

化出幼蚯蚓 44、40、20、10 条。蚯蚓的重量与条数相对应,低浓度的比高浓度的大,二价铁比三价铁大(表 2)。

2.3 蚯蚓和蚯蚓粪中铁的含量

接种蚯蚓的有机物料经铁处理后,可显著提高蚯蚓体内的铁含量。其中蚯蚓体内的三价铁含量高于二价铁含量,蚯蚓体内的三价铁含量有随铁处理浓度增加而增加的趋势,20 000 mg/kg N-Fe、FeCl₃ 处理蚯蚓体内三价铁含量分别为 205.8、192.6 mg/kg,显著高于其它处理。蚯蚓体内二价铁的含量以 5 000 mg/kg 二价铁和三价铁处理最高,分别为 9.05、7.44 mg/kg,显著高于所有处理,这可能是由于蚯蚓对 5 000 mg/kg 的二价铁和三价铁处理的秸

秆最适应造成的,没有用铁处理的秸秆接种蚯蚓,蚯蚓体内的 Fe^{2+} 只有 1.09 mg/kg。

蚯蚓粪中全铁含量随铁处理浓度的增加而增加。2 500、5 000、10 000、20 000 mg/kg FeCl₃ 处理产生的蚯蚓粪中全铁含量分别为 177.40、227.20、224.13、327.30 mg/kg;2 500、5 000、10 000、20 000 mg/kg N-Fe 处理蚯蚓粪中铁含量分别为 182.47、221.40、230.90、284.80 mg/kg,而对照 0 mg/kg 铁处理的蚯蚓粪含铁量为 68.10 mg/kg。其中高浓度 FeCl₃ 处理蚯蚓粪中铁浓度高于 N-Fe(表 3)。

2.4 蚯蚓提高根质外体铁含量,改善根质外体 pH 值

从表 4 看出,铁处理秸秆接种蚯蚓显著增加了根质外体铁含量,FeCl₃ 和 N-Fe 都是 5 000 mg/kg

处理最高, 分别为 49.2 nmol/g 和 47.8 nmol/g 这是由于 5 000 mg/kg 比较适于接种蚯蚓, 比较适于根系生长的缘故。所有铁处理根中质外体铁含量都显著高于去离子水处理。与去离子水处理接种蚯蚓

的对照相比, 铁处理秸秆后接种蚯蚓也显著降低了根质外体的 pH 值, 其中 5 000 mg/kg 铁处理根质外体 pH 值较低, FeCl_3 和 N-Fe 分别为 4.75、4.93, 说明该处理根质外体铁再利用率比较高。

表 3 不同处理蚯蚓粪和蚯蚓组织中铁(mg/kg)的含量

Table 3 Iron content in vermicast and earthworm tissue under different treatments

项目 Item	N-Fe (mg/kg)				FeCl_3 (mg/kg)				CK2
	2 500	5 000	10 000	20 000	2 500	5 000	10 000	20 000	
蚯蚓粪 Vermicast	182.47f	221.4e	230.9d	284.8b	177.4f	227.2e	244.13c	327.3a	68.10g
蚯蚓组织 Fe^{2+} worm tissue	5.44b	9.05a	3.49b	4.99b	1.74c	7.44a	2.60b	3.31b	1.09c
蚯蚓组织 Fe^{3+} worm tissue	127.9c	141.1b	149.4b	205.8a	127.9c	136.2c	149.4b	192.6a	120.2c

表 4 不同处理的质外体铁(nmol/g)和质外体 pH 值
Table 4 Iron and pH value of apoplast under different treatments

项目 Item	N-Fe (mg/kg)				FeCl_3 (mg/kg)				CK2
	2 500	5 000	10 000	20 000	2 500	5 000	10 000	20 000	
质外体铁 Apoplast iron	38.6b	47.8a	27.2c	20.2d	34.13b	49.2a	29.3c	22.5d	14.6e
Apoplast pH	5.01b	4.93c	4.95c	5.09b	5.07b	4.75d	5.01b	5.08b	5.38a

3 讨论

蚯蚓属于大型土壤动物, 其生物量占据土壤动物生物总量的 60% (袁方曜等, 2004)。据科学家估算, 地球上形成 2 cm 厚的土壤需要一千年的风化和分解。但是通过蚯蚓在泥土中钻洞和分配养分, 可将这一过程缩短到 5 年左右。达尔文计算英国牧场蚯蚓的年产粪量为 18.7~40.3 t/ hm^2 , 即相当于每年排出一层 5 cm 深的土 (李典友等, 2005)。石灰性土壤果园养蚯蚓, 将有机物料转化为蚯蚓粪, 诱导果树的根系在蚯蚓粪中生长, 相当于给部分根系生长提供了一个全新的生态环境, 可能是解决石灰性土壤上果树缺铁问题的新途径。

蚯蚓能够将有机物料中的矿质元素传递到植物体内。黑麦草叶和大豆叶剪碎后分别用丰度为 11% 和 12% 的 15 N 标记后掺入土中, 幼蚓在其中生活 6 周, 当体内 15 N 的原子百分浓度(丰度)为 2% 时将蚯蚓冷冻致死。把标记了的大约 (1.0 ± 0.01) g 鲜蚯蚓组织加入 120 mL 容积盆中的表土层下, 每盆装 80 g 土, 种植 6 株苗龄为 3 周的黑麦草苗。16 d 后, 蚯蚓组织内 70% 的 N 转移到黑麦草的茎内 (Whalena 等, 1999)。从本试验结果看, 蚯蚓对铁的富集量很大, 能够成功地将 20 000 mg/kg 二价铁和三价铁处理的玉米秸秆转化为蚯蚓粪, 显著提

高蚯蚓粪中铁的含量, 蚯蚓对二价铁的适应性比三价铁好。5 000 mg/kg 铁处理秸秆后接种蚯蚓对于促进苹果根系生长、提高蚯蚓体内的 Fe^{2+} 含量和根质外体铁含量效果最好。铁处理秸秆后接种蚯蚓促进苹果根系生长的效果显著好于去离子水处理秸秆后接种蚯蚓的处理, 说明铁能够显著促进苹果根系生长; 去离子水处理秸秆后接种蚯蚓促进苹果根系生长的效果显著好于没有接种蚯蚓的处理, 说明蚯蚓能够显著促进根系生长。

蚯蚓粪也是蚯蚓传递矿质元素的重要介质。用激光折射仪观察到, 蚯蚓粪外形是直径 1 mm 的小圆球, 由矿质元素和有机质均匀混合而成, 有机质体积 10~100 μm , 有机质上通常由一层厚 10~30 μm 的粘土包裹, 对有机质起保护作用 (Jongmans 等, 2003)。Priya Kaushik 报道, 牛粪中的总铁含量为 58 mg/kg, 用于养蚯蚓 90 d 变成蚯蚓粪后, 蚯蚓粪中的总铁含量为 54 mg/kg, 虽然牛粪中的总铁含量高于蚯蚓粪, 但牛粪的 pH 值 (7.50) 高于蚯蚓粪 (7.10), 铁的生物有效性低于蚯蚓粪 (Kaushik & Garg, 2003; 陈宝书等, 1998)。利用蚯蚓将有机物料中的铁有效化, 然后传递给果树根系, 将大大改善生长在石灰性土壤上的果树铁营养状况。

参考文献:

- Chen BS(陈宝书), Chen BJ(陈本建), Zhang HX(张惠霞). (下转第 439 页 Continue on page 439)

- (2):45—66
 廉永善,王镜泉. 1989. *Eritrichium*. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,64(2):116—151

Bentham G, Hooker JD. 1876. *Eritrichium*. Genera plantarum [M]. London:Reeve & CO.,2:850

Johnston IM. 1951. Studies in the Boraginaceae, X XI. Sino-Indian species of *Onosma*[J]. *J Arn Arb*,32(3):201—225;
 (4):344—368

- Popov MG. 1953. *Eritrichum*[M]//Schischkin BK(ed). *Flora URSS*. Leningrad, **19**, 482–521

Wang WT(王文采). 1986. Notulae de Boraginaceis Sinensis (II)(中国紫草科植物小志(二))[J]. *Bull Bot Res(植物研究)*, **6**(3), 79–98

Zhu GL, Riedl H, Kamelim R. 1995. *Eritrichium*[M]//Wu ZY, Raven PH(eds). *Flora of China*. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, **16**, 378–390

(上接第 516 页 Continue from page 516)

1998. The research of worm-east nutritional constituents(蚯蚓粪营养成分的研究)[J]. *J Sichuan Grassland*(四川草原), (3):22—24

Cui MX(崔美香), Xue JJ(薛进军), Wang XR(王秀茹), et al. 2005. Application of iron fertilizer by use high-pressure trunk-injection to remedy the iron deficiency chlorosis in apple trees and its mechanism(树干高压注射铁肥矫正苹果失绿症及其机理)[J]. *Plant Nut Fert Sci*(植物营养与肥料学报), **11**(1):133—136

Fernandez AA, Marco SG, Lucena JJ. 2005. Evaluation of synthetic(Ⅲ)-chelates(EDDHAF/Fe³⁺, EDDHA/Fe³⁺ and the novel EDDHSA/ Fe³⁺) to correct iron chlorosis[J]. *Eur J Agron*, **22**(2):119—130

Jongmans AG, Pulleman MM, Balabane M. 2003. Structure and characteristics of organic matter in two orchards differing in earthworm activity[J]. *Appl Soil Ecol*, **24**:219—232

Kaushik EP, Garg VK. 2003. Vermicomposting of mixed solid textile mill sludge and cow dung with the epigeic earthworm[J]. *Bioresource Technology*, **90**:311—316

Li DY(李典友), Pan GX(潘根兴), Xiang CG(向昌国). 2005. Study and progress on exploitability and application of earthworm resource in soils(土壤中蚯蚓资源的开发利用研究及展望)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农学通报), **21**(10):340—347

Liu ZY(刘子英), Liu BM(刘保明), Xue JJ(薛进军), et al. 2004. Research on dealing with crop stalks with earthworm(用蚯蚓处理农作物秸秆可行性研究)[J]. *Chin Agric Sci Bull*(中国农

Peryea FJ, Kammerer R. 1997. Use of minolta SPAD-502 chlorophyll meter to quantify the effectiveness of mid-summer trunk injection of iron on chlorotic pear tree[J]. *J Plant Nutr*, **20**(11):1 457—1 463

Wang XR(王秀茹), Xue JJ(薛进军), Yang QQ(杨青芹), et al. 2006. The research about the absorption, transportation and distribution of iron in apple trees by using different fertilizer methods(苹果不同施肥方式对铁的吸收、运输与分配的影响)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), **33**(3):597—600

Whalena JK, Parmelee RW, Mcartney DA. 1999. Movement of N from decomposing earthworm tissue to soil, microbial and plant N pools[J]. *Soil Biol Biochem*, **31**:487—492

Xue JJ(薛进军), Yu DC(余德才), Tian ZW(田自武), et al. 1999. Effect of different fertilizing methods on chlorophyll and iron content in apple tree(施肥方式对苹果吸收、运输铁的影响)[J]. *J Fruit Sci*(果树科学), (4):246—249

Xue JJ, Wang XR, Yang QQ. 2003. Long-effect biological iron fertilizer for fruit trees. Fertilization in the third millennium-fertilizer[J]. *Food Security Environmental Protection, Proceedings*, **III**:1 744—1 750

Yuan FY(袁方曜), Wang F(王玢), Niu ZR(牛振荣). 2004. Earthworm community structure of representative agrotypes and its indicator function for heavy metals contamination in North China(华北代表性农田的蚯蚓群落与重金属污染指示研究)[J]. *Res Environ Sci*(环境科学研究), **17**(6):70—72