

# 土壤酶功能及测定方法研究进展

邵文山, 李国旗

(宁夏大学 西北土地退化与生态恢复国家重点实验室培育基地, 西北退化生态系统恢复与重建教育部重点实验室, 宁夏 银川 750021)

**摘要:**土壤酶是土壤中的生物催化剂,是土壤生态系统物质循环和能量流动的重要角色,研究土壤酶对培肥土壤、土壤污染治理及土地科学利用与管理等具有重要价值。现通过对土壤酶来源、分类的阐述及分析,总结了国内外土壤酶研究的功能价值,并对土壤酶活性测定的不同方法进行了系统归纳,其中主要对不同样品处理方式、传统测定方法和新型测定法做了详细对比,不仅为不断发展的土壤酶学提供了理论参考价值,而且具有一定的实践参考意义。

**关键词:**土壤酶活性;功能;测定

**中图分类号:**S 154.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)09-0188-06

土壤酶是土壤组分之一,是一种具有加速土壤生化反应速率功能的蛋白质,它参与土壤生物化学过程中许多有关物质循环和能量流动的反应<sup>[1-2]</sup>,可以说它不仅是土壤中有有机物转化的执行者,也是植物营养元素的活性库<sup>[3]</sup>。近年来,随着土壤质量问题日益突出,国内外有关土壤质量的研究一直是热点。研究表明,土壤酶活性的高低能够表征土壤中微生物活性的高低,同时也能够反映出土壤养分转化及其运移能力的强弱,是土壤综合肥力特征的有效反映,而且重要的是它对环境等外界因素引起的变化很敏感<sup>[4-6]</sup>。因此,它的检测与分析研究对土壤质量方面的很多问题有较强的说服力。目前,水体和大气质量标准已被学术界普遍认可,但土壤质量却因土壤属性内在的一些因素,至今尚未建立公认的标准<sup>[7]</sup>。目前,土壤质量的评价主要包括物理、化学和生物学指标 3 个方面<sup>[8]</sup>,通常又将生物学指标分为土壤微生物指标(微生物组成及其多样性、微生物活性、微生物生物量)、土壤酶活性指标和土壤动物指标<sup>[9]</sup>。自 20 世纪 80 年代以来,土壤酶作为土壤质量的生物学活性指标一直是土壤酶学研究的热点问题,现在土壤酶学的发展已经与农学、生态学、林学、水土保持科学等相互交叉、渗透,在几乎所有的生态系统监测和研究中,土壤酶

活性的检测已成为必不可少的指标<sup>[6,10]</sup>。对于土壤酶的来源、分类、功能及其测定的研究在土壤酶学的发展中具有重要作用。该研究综述了土壤酶的来源、分类、功能及其不同测定方法,并展望了土壤酶学的发展前景,以期对土壤酶学的深入研究及土壤质量的评价在理论和实践上提供研究思路和方向。

## 1 土壤酶的来源和分类

### 1.1 土壤酶的来源

土壤酶是存在于土壤中所有酶的总称,虽然土壤中各土壤酶的催化作用是专一的,但土壤中酶的来源不同,且种类繁多,已经被鉴定出的土壤酶约有 60 多种<sup>[11-12]</sup>。研究土壤酶的来源,有助于从根本上的解释土壤酶的功能及生态系统中物质和能量的循环机制<sup>[13]</sup>。土壤酶来源于土壤微生物、植物根系、土壤动物的分泌物及其残体的分解物等<sup>[14-15]</sup>,其中土壤中的微生物数量庞大而且能够快速繁殖,是土壤酶最主要的来源。越来越多的试验研究已经表明<sup>[16-21]</sup>,土壤微生物对土壤酶的影响相当大。1953 年,CREWETHER 与 LENNOX 发现土壤微生物可以向土壤中释放土壤酶,有糖酶、磷酸酶、蛋白酶和过氧化酶等<sup>[6]</sup>。植物根系的分泌和释放是土壤酶的另一个重要来源,SHKJINS<sup>[22]</sup>以及后来的 SPEIR 等<sup>[23]</sup>、CASTELLANO 等<sup>[24]</sup>和 DICK 等<sup>[25]</sup>的研究都表明,植物根际土壤比非根际土壤土壤酶活性更强,如磷酸酶、过氧化氢酶、脲酶、蔗糖酶、核酸酶、芳基硫酸酯酶和蛋白酶等。但是目前,因为技术上的缺陷还很难准确地区分出土壤中酶是起源于土壤微生物还是植物根系。土壤动物也是土壤酶的来源之一,1957 年,KISS<sup>[26]</sup>研究了蚯蚓和转化酶的关系,他发现在耕地和草地的土壤表层,蚯蚓排泄物能够明显提高土壤中转化酶的活性。此

**第一作者简介:**邵文山(1990-),男,甘肃武威人,硕士研究生,研究方向为植物生态学与土壤生态学。E-mail:jinhaide@163.com.

**责任作者:**李国旗(1965-),男,博士,研究员,硕士生导师,现主要从事植物生态学和荒漠化防治等研究工作。E-mail:guoqilee@163.com.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31540007)。

**收稿日期:**2016-01-29

外,也有报道表明<sup>[27-29]</sup>,土壤中磷酸酶、脲酶来源于蚯蚓的排泄物,而除蚯蚓外,蚂蚁等其它土壤动物,也会向土壤中释放某些酶,目前有关土壤动物提供土壤酶量方面的研究报道还较少。

## 1.2 土壤酶的分类

酶的种类很多,为了方便研究和应用,国际酶学委员会(International Enzyme Committee)于1961年提出了一个关于酶的分类系统,即按照酶的催化反应类型和功能,把已知的酶分为六大类<sup>[30]</sup>,即氧化还原酶、转移酶、水解酶、裂合酶、异构酶和连接酶。其中,土壤中酶活性的研究目前主要涉及前4种酶。

氧化还原酶类主要包括过氧化氢酶、脱氢酶、过氧化物酶、多酚氧化酶、硫酸盐还原酶、亚硝酸还原酶、硝酸还原酶等。因为这些酶催化的反应很多与放出能量或获得能量有关,因此在土壤的能量流动方面扮演着重要角色,此外氧化还原酶还参与了土壤腐殖质组分的合成及土壤的形成过程。因此,对于土壤氧化还原酶系的研究,将有助于对土壤肥力及土壤发生等实质性问题的了解。转移酶主要包括转氨酶、转糖苷酶、己糖激酶、果聚糖蔗糖酶等,它们可催化某些化合物中基团的转移,与土壤中腐殖质、水溶性有机质和微生物数量等有密切关系。水解酶类主要包括脲酶、蔗糖酶、淀粉酶、磷酸酶、脂肪酶、纤维素分解酶等。水解酶能够水解大分子物质,从而形成易被植物吸收的小分子物质,对于土壤中的C、N循环具有重要作用。裂合酶主要包括有谷氨酸脱羧酶、天门冬氨酸脱羧酶、色氨酸脱羧酶等,它们在土壤中也具有某些作用,但对于这类酶的研究还较少。

## 2 土壤酶的功能

### 2.1 培肥土壤

近年来,随着化肥、农药等的过度使用和农家肥用量的不断减少,许多土地的土壤肥力出现退化,土壤环境问题也日益突出,已直接威胁到了农产品的安全。因此,寻找一种健康、有效地增加土壤肥力的措施已势在必行。目前,将作物秸秆、根茬等有机物返田,以实现培肥土壤的技术已得到了广泛的应用。近年来,为揭示各种有机物材料对土壤肥力的作用机理,国内外再次掀起了土壤酶学的研究热潮。土壤酶学从一开始就与土壤肥力的研究紧密结合在一起,早在1950年HOLMANN就曾提出用土壤酶活性来衡量土壤中的生物学活性指标<sup>[14]</sup>。土壤中的有机质是土壤固相中较为复杂的系统,也是土壤酶促底物的主要供源,可以说是土壤肥力的主要物质基础<sup>[9]</sup>。土壤中的有机质可分为非特异性和特异性,前者经分解可释放出植物生长所需要的氮、磷、硫等元素,这一过程需要有土壤酶的参与才能实现,因此土壤中酶活性的强弱,可直接影响到土壤中有有机质的转化等。许多研究表明,土壤酶活性与土壤肥力之间有很

大的关系,将土壤酶活性指标作为对土壤肥力的评价是完全可信和可行的<sup>[6]</sup>。陶磊等<sup>[31]</sup>用有机肥替代部分化肥,研究长期连作棉田中土壤酶活性对棉花产量的响应,结果表明,在常规施肥(CF)减量20%~40%,再配施3 000、6 000 kg/hm<sup>2</sup>的有机类肥料,即可获得与CF处理相持平的产量(4 945~4 978 kg/hm<sup>2</sup>),通过检测发现土壤中脱氢酶、碱性磷酸酶、荧光素二乙酸酯酶等活性得到了显著提高。高扬等<sup>[32]</sup>对连作条件下的荞麦产量、土壤养分及酶活性做了研究,结果发现,随着连作年限的增加,荞麦产量有下降的趋势,土壤中pH值升高,土壤的氮、磷、钾含量均降低,同时土壤过氧化氢酶、碱性磷酸酶活性下降,蔗糖酶活性总体上呈现降低趋势,脲酶活性出现先降后升的情况。

提高作物产量自始至终是人们追求的目标,对于缓解人口压力所带来的粮食问题意义重大,而健康、有效地增加土壤肥力是至上的选择,如何实现这些,则是长期以来国内外讨论、研究的热点。从上述可知,当土壤中相应的酶活性发生变化时,土壤的肥力也会呈现一定的变化,由此影响到农作物的产量。因此,可以通过有效控制土壤酶的方式来提高农作物产量。从土壤酶的来源看,微生物是其主要的来源,通过精确寻找微生物和土壤酶的关系,从而有目的的人为控制土壤中相应土壤酶的含量,是一种理想的生物培肥土壤措施,而对于这方面的研究目前还鲜有报道;此外,还可以人为创造一些与土壤酶有密切关系的土壤动物(蚯蚓、蚂蚁等)的生存条件,或直接人工培育后放养农田,对此具体的研究国内外尚鲜见报道。

### 2.2 治理土壤污染

土壤作为人类及自然界许多生物赖以生存的自然资源,其重要性不言而喻,它不但承担了环境中大部分的污染物质,同时作为自然界大多植物的常规载体,其自身的环境质量又直接影响到农产品、奶产品等的质量。而且土壤的污染又具有不可逆性、长期性、隐蔽性等特征。因此,土壤污染较水污染和大气污染形势更为严峻,而且治理污染的土壤在实施中又存在治理周期长及成本高等问题。目前,我国的土壤污染问题已非常严重,据估算,全国被污染的耕地已达到约0.1亿hm<sup>2</sup>,每年仅因重金属污染的粮食就高达1 200万t,造成的直接和间接性损失更是不可估算<sup>[33]</sup>。

土壤污染物一般有化学污染物、生物污染物、物理污染物和放射性污染物4类,其中化学污染中的重金属污染尤为严重。随着全球经济的迅速发展,被重金属污染的物质通过各种途径进入到土壤。重金属对土壤的污染,一方面因为重金属可以影响土壤酶活性,而土壤酶活性与土壤肥力的高低又密切相关,另一方面植物吸收重金属可使其进入食物链,从而造成食品污染等。

SPEIR 等<sup>[34]</sup>、BROOKES<sup>[35]</sup>研究了 As 和 Cr 对土壤生物的毒害作用,结果表明,土壤酶活性随着土壤重金属离子含量的增加而降低。张文影等<sup>[36]</sup>对采煤矿区重金属污染的研究发现,磷酸酶、过氧化氢酶、脲酶、蛋白酶、蔗糖酶、多酚氧化酶、纤维素酶 7 种土壤酶活性均受到不同程度的抑制,且 7 种土壤酶对重金属的敏感性不一致。还有研究发现<sup>[37]</sup>,利用土壤中过氧化氢酶和脱氢酶活性能够表征土壤中重金属污染程度。

20 世纪 70 年代,国内外学者将土壤酶应用到土壤污染治理的研究领域中,在许多方面都取得了显著的效果<sup>[38]</sup>。有研究表明<sup>[39]</sup>,土壤酶可参与有机化合物的降解,如用缓冲萃取剂提取土壤酶,可作为降解有机化合物的酶源,由此可降低农药、化肥等的危害。此外,由于土壤酶活性对重金属的敏感性很强,可以根据土壤酶的活性变化来监测重金属的污染状况<sup>[40-42]</sup>。加里乌林等<sup>[43]</sup>按转化酶的活性变化对土壤污染程度进行了分级,经过与对照相比,酶活性下降 25% 属轻度污染;下降 25%~45% 为中等污染;45% 以上则属于严重污染。这种评价方法虽不能用作最终判断土壤污染程度的标准,但可以起到监测土壤污染程度的辅助作用。因此,土壤酶在治理土壤污染方面应用价值极高,目前的研究发现还有较高的开发潜力。

### 2.3 土地科学利用与管理的指标

土地作为人类生存的基本资源,在可持续发展中有着不可替代的作用,尤其像我国这样人均土地占有量较少的国家,土地的可持续利用问题更是显得尤为重要。而科学化合理、有效的利用与管理是实现土地可持续利用的关键。现在,随着我国经济的高速发展,城市人口出现了迅速膨胀,由此也产生了大量的生活污水和生活垃圾等污染问题;此外,城市中开办的一些企业更是产生了大量的工业“三废”,而且由于盲目追求经济利益,对工业“三废”的处理及净化设施投入严重不足,从而进一步造成了我国许多城市环境的急剧恶化。同时,在农村的污染问题也相当严峻,农药、化肥等的过度使用引起了土壤与水体的毒素污染、湖泊及河流的富营养化、地下水的硝酸盐污染等。这些污染直接或间接的影响了土地的可持续利用。

过去的土地利用与管理,虽然在土地利用规划方案时也有与经济效益和社会效益并重的环境效益评价,但在土地利用规划中与环境之间的作用,在分析和定量时缺乏深入的评价,由此也难以真正地反映出土地利用规划对于环境的影响效果,这也就导致了一系列的土地生态环境问题<sup>[44]</sup>。土壤酶活性是土壤生物活性的总体现,是衡量土壤肥力高低的较好指标,此外一些土壤酶还被用来评价土地改良及土地污染后治理的效果等。有人通过植物吊兰的盆栽试验<sup>[45]</sup>,研究了吊兰对重金属锌污

染后土壤的修复作用,结果表明,未栽培吊兰的空白组、吊兰非根际组、吊兰根际组的土壤酶活性逐次升高,说明吊兰生长能够有效的改善土壤环境。马恒亮等<sup>[46]</sup>以非多环芳烃(PAHs)代表物,采用植物室内及土培培养,研究土壤非污染条件下苜蓿和小麦套作修复过程中土壤酶活性的动态变化,结果表明,土壤脲酶、蔗糖酶、磷酸酯酶、多酚氧化酶的活性变化具有规律性,从而说明土壤酶活性可以用来作为 PAHs 污染土壤修复的评价指标,而且只需监测关键酶即可。利用土壤中的某些酶的动态变化达到土壤监测与管理的目的,简单且操作容易,在今后的应用定会越来越广;此外,人为有目的的筛选和利用相对应的土壤酶应用到土地管理上潜力巨大。

## 3 土壤酶活性的测定

### 3.1 土壤样本的采集及贮存方法

活的微生物是土壤酶的主要来源,土壤酶活性对外界环境的变化十分敏感,为了能有效地反映土壤实际状况,在试验之前采取有效、可靠的取样及贮存方法是研究结果取得成功的前提保障<sup>[1,47]</sup>。在土壤样品采集时,首先是根据试验需求确定样地及土层的深度,在所选择的样地中一般是采用五点取样法,然后混合同土层土样,根据试验设计需求设置重复,最少 3 个重复。对采集的土壤样本立即进行试验分析是较为理想的情况,但在大多数情况下难以实现,因此如何贮存土壤样品,一直以来是土壤酶研究者所关心的问题。

3.1.1 低温贮藏对土壤酶活性的影响 低温贮存是一种常见的土壤样品贮藏方式,关于低温贮藏对土壤酶活性的影响也有较多的研究。VERCHOT 等<sup>[48]</sup>研究了低温贮藏下土壤中水解酶活性的变化,结果表明土壤经冷冻后,土壤中水解酶的活性有所下降,4℃ 下贮存的效果要好于-20℃ 条件下;此外,低温贮存的影响还与土壤酶种类有关,低温贮存导致了纤维二糖酶和磷酸酶活性的降低,而  $\beta$ -乙酰氨基葡萄糖苷酶和  $\beta$ -葡萄糖苷酶的变化却并不显著。LEE 等<sup>[49]</sup>较全面地研究了低温贮存对土壤酶活性的影响,结果表明当土壤经干燥处理,再经重新湿润处理培养 14 d 后,可显著降低土壤中碱性磷酸酶、芳基硫酸酯酶、 $\beta$ -乙酰氨基葡萄糖苷酶的活性,但也出现了纤维素酶、酸性磷酸酶活性升高的现象,并且土壤酶活性的变化与土壤类型有关。目前,4℃ 或-20℃ 贮存土壤样本是较常见的贮存方式。除了考虑常规土壤酶活性测量的影响,对荧光分析法测定的土壤酶活性,低温贮存的影响及理想的贮藏条件研究也同样重要。DEFOREST<sup>[50]</sup>对此有过相关研究,发现 4℃ 或-20℃ 条件下贮存土壤,不会引起土壤酶活性的显著变化,但随着贮存时间的延长,不同种类的土壤酶活性会



发生不同的变化。而 WALLENIUS 等<sup>[51]</sup>认为土壤样本的贮存影响了土壤悬液中荧光体的荧光强度,其影响程度则主要取决于贮存的方法以及土壤基质的特征等,冷冻对腐殖质及黏壤土酶活性的影响小于 20%。

3.1.2 风干对土壤酶活性的影响 土壤风干同样是一种常见的土壤样品贮存方式,有关风干土对土壤酶活性影响相关的研究报道有不同的解释。PANCHOLY 等<sup>[52]</sup>研究发现,虽然风干土样比新鲜土的温度有所提高,但土壤中转化酶、脲酶、蛋白酶、淀粉酶和芳基硫酸酯酶的活性反而有所降低。TABATABAI 等<sup>[53]</sup>却发现土壤风干处理使土壤中的芳基硫酸酯酶活性增加,SPER 等<sup>[54]</sup>也发现风干处理后土壤脲酶的活性有所增加。此外,也有报道指出风干土和新鲜土土壤酶活性差异并不显著。赵颖等<sup>[55]</sup>分别对大豆地和玉米地中不同生长时期的新鲜土和风干土中的多酚氧化酶、脲酶及蔗糖酶活性进行了检测与分析,结果表明除在种植前期,大多数情况下,土壤中多酚氧化酶、脲酶及蔗糖酶的活性在风干后和新鲜土差异并不显著。ZANTUA 等<sup>[56]</sup>研究表明,在 21~23℃ 条件下贮存 1 年和贮存 1 周的风干土,土样中脲酶的活性并没有显著的变化。YU 等<sup>[57]</sup>通过试验发现,土壤风干处理后在测定磷酸酶活性时,除了雨天采集的土样,此外对土壤酶活性没有影响,因为在砂土中田间水分含量一般较低。由此来看,土壤的风干过程中对不同种类的酶和不同条件下的同种酶影响趋势并不一致,从土壤酶产生的来源看,可能是因为风干过程导致了某些微生物的死亡,但死亡的微生物则又会释放出某些酶,二者酶的种类可能会不同。也有报道<sup>[7,58]</sup>指出,风干过程是否影响土壤酶活性与植物生长状况、土地土壤的管理方式等有关。

总之,不同的贮存方式都会影响到土壤酶活性,其影响程度与土壤类型、土壤酶种类及土壤样品管理等多种因素有关。但总的趋势是土壤样品的贮存降低了大多数土壤的酶活性。土壤样品酶活性的测定最好是在短期内完成,如果需要贮藏可以视贮藏时间、贮藏条件等因素综合分析而定,几周内一般在 4℃ 条件下贮存,其次是在 -20℃ 环境中保存;几个月甚至更长的时间一般选择风干贮藏;而对于某些酶,在发现风干后对其酶活性影响不大的,应尽量选择风干处理,这样既方便又节约;此外,对于同一种酶的分析应尽量在同一天或几天内完成,以在最大程度上降低样品贮存所造成的差异。

### 3.2 土壤酶活性测定的方法

土壤酶的测定是进行土壤酶学研究的基础。目前,土壤酶活性的测定方法较多,但并没有统一方法,常见的有分光光度法、荧光分析法、放射性同位素法及部分物理方法如滴定法等,其中常见的是传统的分光光度法和新型的荧光分析法。分光光度法也称比色法,其基本

原理是酶与底物混合经培养后产生某种带颜色的生成物,可在某一吸收波长下产生特征性波峰,再用分光光度计测定设定的标准物及生成物的吸光值,由此确定酶活性的量。20 世纪 90 年代,国际上发展起了酶活性测量的新方法-荧光分析法,其主要原理是以荧光团标记底物作为探针,通过荧光强度的变化来反映酶活性<sup>[59]</sup>。传统的比色法测定一般首先是根据所测酶的种类制作对应的标准曲线,然后对土样进行处理后在同一波长下测其吸光值,再利用标准曲线确定土样中的酶活性。这种方法已得到普遍认可,长期以来被国内外学者采纳,但缺点是精准度不高、操作不够简易而且耗时较长。荧光分析法测定步骤与比色法基本一致,但与传统方法相比较,荧光分析技术是一种更为强大的分析手段,具有灵敏度高(比分光光度法高 2~3 个数量级)、耗时短、试样量少等优点,同时它也存在分析成本较高、底物难溶解等缺点<sup>[60-62]</sup>。张丽莉等<sup>[61]</sup>通过荧光法对土壤中 2 种糖酶活性进行测定研究,提出了一种微孔板结合荧光检测的方法,从而提高了酶活性的测定效率。同位素标记法在所见有关报道中较少,其原因可能是:目前酶的直接提取技术还不成熟,而且它本身操作复杂,成本又较高等。滴定等一些物理方法由于准确度较差等原因已逐渐被淘汰。最近又出现了一种新型的测定方式-流体动力伏安法,它是通过转换在土壤酶反应中的底物,实现样品溶液有效的混合和对流,再大规模运输到电极表面,从而以 PAP 的电化学氧化快速检测土壤酶活性<sup>[63]</sup>,这种测定方法灵敏度更高,对于土壤酶活性的定量分析意义重大。

在目前常用的测定方式中,对于实验室所采用的底物浓度、缓冲液 pH 值、培养温度以及培养的时间还很不一致,但底物的选择应尽量与国际接轨。常见的底物主要有 2 类:一类是显色物质,另一类是荧光族物质。显色物质中,硝基酚类衍生物是常见的选择;荧光团的光物质有荧光素、香豆素、罗丹明的氨基或羟基取代物。土壤酶最适 pH 值的确定,通常是依据不同缓冲液 pH 条件下其土壤酶活性的变化来实现,由于不同土壤酶活性有不同的最适 pH 值,且不同土壤各自的 pH 值又不同,所以除了研究目的的需要,在酶活性测定过程中追求最适 pH 是不现实的。因此,对土壤不同酶活性测定过程中,应尽可能采用与土壤相近的 pH 值。温度对土壤酶反应物的影响主要体现在对反应速度上,酶的催化在一定温度范围内随着温度的升高逐渐提高,直至酶失活变性。虽然不同的酶都有其最适的反应温度,但在土壤酶试验中过分强调最适温度同样是不现实的,常见土壤酶的培养温度有 37℃ 和 25℃<sup>[48,64]</sup>。目前水解酶的培养时间一般在 1~2 h,而纤维二糖酶、 $\beta$ -乙酰氨基葡萄糖苷酶及  $\beta$ -葡萄糖苷酶等的培养时间为 4 h 等<sup>[48,64]</sup>。总

之,土壤酶的培养时间应该是在保证测定结果质量的前提下,适当缩短培养时间。

#### 4 土壤酶学发展的前景

土壤酶作为土壤中的生物催化剂,在土壤生态系统中扮演着极为重要的角色,研究土壤酶对提高土壤利用效率、土壤污染治理及土地科学化利用与管理等意义重大。目前随着科学的发展和新技术的引进,土壤酶的研究必将取得更大的进步。土壤酶学的研究已成为土壤科学、生态学及微生物科学等学科研究的重点内容之一,从根本上研究土壤酶的来源及功能,将土壤酶与农业生产和土壤环境生态保护、污染治理相结合,对处理农林业生产及生态环境的实际问题将发挥重要作用。其次,除了在机理上研究土壤酶的来源和功能,在应用上应该加强土壤酶的检测和提取 2 个方面同等重要。经过多年的发展,目前虽然土壤酶的测定方法不断有新的突破,但就其发展潜力及意义来说还远远不够,新的技术研发应不断向检测的简单化、快速化、低成本等方面靠拢;对于土壤酶成分的提取,相关技术攻关亦应有所提高,一旦提取技术成熟,土壤酶功能的应用将会有质的飞跃,例如,直接利用其治理污染土地,改造土壤质量等。

#### 参考文献

- [1] 耿玉清,王冬梅. 土壤水解酶活性测定方法的研究进展[J]. 中国生态农业学报,2012,20(4):387-394.
- [2] 张志丹,赵兰坡. 土壤酶在土壤有机培肥研究中的意义[J]. 土壤通报,2006,37(2):2362-2368.
- [3] 安韶山,黄懿梅,刘梦云. 宁南山区土壤酶活性特征及其与肥力因子的关系[J]. 中国生态农业学报,2007,15(5):55-58.
- [4] PAZ J M D, HORRA A M, PEUZZO L, et al. Soil quality: a new index based on microbiological and biochemical parameters[J]. Biology and Fertility of Soils, 2002, 35: 302-306.
- [5] 万忠梅,宋长春. 土壤酶活性对生态环境的响应研究进展[J]. 土壤通报,2009,40(4):951-956.
- [6] 刘善江,夏雪,陈桂梅,等. 土壤酶的研究进展[J]. 中国农学通报,2011,27(21):1-7.
- [7] BANDICK A K, DICK R P. Field management effects on soil enzyme activities[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31: 1471-1479.
- [8] 郭恢财,廖鹏飞,陈伏生. 脐橙果园土壤养分动态与酶活性的季节变化[J]. 生态学杂志,2010,29(4):754-759.
- [9] 唐玉妹,魏朝富,颜廷梅,等. 土壤质量生物学指标研究进展[J]. 土壤,2007,39(2):157-163.
- [10] 张玉兰,陈利军,张丽莉. 土壤质量的酶学指标研究[J]. 土壤通报,2005,36(4):598-604.
- [11] 杨文彬,耿玉清,王冬梅. 漓江水陆交错带不同植被类型的土壤酶活性[J]. 生态学报,2015,35(14):4604-4612.
- [12] 曹慧,孙辉,杨浩,等. 土壤酶活性及其对土壤质量的指示研究进展[J]. 应用与环境生物学报,2003,9(1):105-109.
- [13] 方斯文,张爱华,贾明慧,等. 化感作用对土壤酶影响的研究进展[J]. 中国农学通报,2012,28(32):249-252.
- [14] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社,1986.
- [15] BUMS R G. Soil enzymes[M]. New York: Academic Press, 1978.
- [16] ILYINA A V, TATARINOVA N Y, VARLAMOV V P. The preparation of low-molecular-weight chitosan using chitinolytic complex from *Streptomyces kurssanovii*[J]. Process Biochemistry, 1999, 34: 875-878.
- [17] 孙翠玲,郭玉文,佟超然,等. 杨树混交林地土壤微生物与酶活性的变异研究[J]. 林业科学,1997,33(6):488-497.
- [18] CARDENAS F, de CASTRO M S, SANCHEZ-MONTERO J V, et al. Novel microbial lipases: catalytic activity in reactions in organic media[J]. Enzyme and Microbial Technology, 2001(28):145-154.
- [19] 马朋,李昌晓,雷明,等. 三峡库区岸坡消落带草地、弃耕地和耕地土壤微生物及酶活性特征[J]. 生态学报,2014,34(4):1010-1020.
- [20] 马文文,姚拓,靳鹏,等. 荒漠草原 2 种植物群落土壤微生物及土壤酶特征[J]. 中国沙漠,2014,34(1):176-183.
- [21] 吕桂芬,吴永胜,李浩,等. 荒漠草原不同退化阶段土壤微生物、土壤养分及酶活性的研究[J]. 中国沙漠,2010,30(1):104-109.
- [22] SHKJINS J. History of abiotic soil enzyme research. In: BURNS R G ed. Soil enzymes[M]. New York: Academic Press, 1978.
- [23] SPEIR T W, LEE R, PANSIER E A, et al. A comparison of sulphatase, uratease and protease activities in planted and fallow soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1980(12):281-291.
- [24] CASTELLANO S D, DICK R P. Influence of cropping and sulfur fertilization on transformations of sulfur in soils[J]. Soil Science Society of America Journal, 1991, 55: 283-285.
- [25] DICK R P, DENG S. Multivariate factor analysis of sulfur oxidation and rhodanese activity in soils[J]. Biogeochemistry, 1991(12):87-101.
- [26] KISS I. The invertase activity of earthworm casts and soils from anthills[J]. Agrochimica, 1957(6):65-85.
- [27] SYERS J K, SHARPLEY A N, KEENEY D R. Cycling of nitrogen by surface-casting earthworms in a pasture ecosystem[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1979(11):181-185.
- [28] PARK S C, SMITH T J, BISESI M S. Activities of phosphomonoesterase from *Lumbricus terrestris*[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1992(24):873-876.
- [29] 中国科学院南京土壤研究所微生物室. 土壤微生物研究法[M]. 北京:科学出版社,1985.
- [30] 向泽宇,王长庭,宋文彪,等. 草地生态系统土壤酶活性研究进展[J]. 草业科学,2011,28(10):1801-1806.
- [31] 陶磊,褚贵新,刘涛,等. 有机肥替代部分化肥对长期连作棉田产量、土壤微生物数量及酶活性的影响[J]. 生态学报,2014,34(21):6137-6146.
- [32] 高扬,高小丽,张东旗,等. 连作对荞麦产量、土壤养分及酶活性的影响[J]. 土壤,2014,46(6):1091-1096.
- [33] 刘齐. 复合重金属对土壤酶活性及生菜富集量影响研究[D]. 西安:西安科技大学,2009.
- [34] SPEIR T W, KETTLES H A, PARSHOTAM A, et al. Simple kinetic approach to determine the toxicity of As(V) to soil biological properties[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31: 705-713.
- [35] BROOKES P. The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals[J]. Biology and Fertility of Soils, 1995(19):269-279.
- [36] 张文影,姚多喜,孟俊,等. 采煤沉陷复垦区重金属污染与土壤酶活性的关系[J]. 水土保持通报,2014,34(2):20-24,29.
- [37] 高秀丽,邢维芹,冉永亮,等. 重金属积累对土壤酶活性的影响[J]. 生态毒理学报,2012,7(3):331-336.
- [38] 和文祥,朱铭莪,张一平. 土壤酶与重金属关系的研究现状[J]. 土壤与环境,2000,9(2):139-142.

- [39] 李文革,刘志坚,谭周进,等. 土壤酶功能的研究进展[J]. 湖南农业科学, 2006(6):34-36.
- [40] HUANG Q, SHINDO H. Effects of copper on the activity and kinetics of free and immobilized acid phosphatase[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32:1885-1892.
- [41] AJWA H A, DELL C J, RICE C W. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tall grass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1999, 31:769-777.
- [42] CARREIRA J A, GARCIA-RUIZ R, LIE' TOR J, et al. Changes in soil phosphatase activity and P transformation rates induced by application of N-and S-containing acid-mist to a forest canopy[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2000, 32:1857-1865.
- [43] 加里乌林·尔·维,郭建钦. 根据土壤酶的活性监测土壤的重金属污染[J]. 农业环境与发展, 1992(3):33-36.
- [44] 蔡玉梅,郑伟元,张晓玲,等. 土地利用规划环境影响评价[J]. 地理科学进展, 2003, 22(6):567-575.
- [45] 李伟,韦晶晶,刘爱民,等. 吊兰生长对锌污染土壤微生物数量及土壤酶活性的影响[J]. 水土保持学报, 2013, 27(2):276-281.
- [46] 马恒亮,占新华,张晓斌,等. 小麦/苜蓿套作对非污染土壤酶活性的影响[J]. 环境科学, 2009, 30(12):3684-3690.
- [47] STENBERG B, JOHANSSON M, PELL M, et al. Microbial biomass and activities in soil as affected by frozen and cold storage[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1998, 30(3):393-402.
- [48] VERCHOT L V, BORELLI T. Application of para-nitrophenol (pNP) enzyme assays in degraded tropical soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2005, 37(4):625-633.
- [49] LEE Y B, LORENZ N, DICK L K, et al. Cold storage and pretreatment incubation effects on soil microbial properties[J]. Soil Science Society of America Journal, 2007, 71(4):1299-1305.
- [50] DEFOREST J L. The influence of time, storage temperature, and substrate age on potential soil enzyme activity in acidic forest soils using MUB-linked substrates and L-DOPA[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2009, 41(6):1180-1186.
- [51] WALLENIUS K, RITA H, SIMPANEN S, et al. Sample storage for soil enzyme activity and bacterial community profiles[J]. Journal of Microbiological Methods, 2010, 81(1):48-55.
- [52] PANCHOLY S K, RICE E L. Effect of storage conditions on activities of urease, invertase, amylase, and dehydrogenase in soil[J]. Soil Science Society of America Proceedings, 1972, 36(3):536-537.
- [53] TABATABAI M A, BREMNER J M. Factors affecting soil arylsulfatase activity[J]. Soil Science Society of America Proceedings, 1970, 34(3):427-429.
- [54] SPEIR T W, ROSS D J. A comparison of the effects of air-drying and acetone dehydration on soil enzyme activities[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1981, 13(3):225-229.
- [55] 赵颖,史晓爽,周连仁,等. 土壤样品风干后对土壤酶活性的影响[J]. 东北农业大学学报, 2011, 42(11):126-130.
- [56] ZANTUA M I, BREMNER J M. Preservation of soil samples for assay of urease activity[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1975, 7(4/5):297-299.
- [57] YU S, HE Z L, STOFFELLA P J, et al. Surface runoff phosphorus(P) loss in relation to phosphatase activity and soil P fractions in Florida sandy soils under citrus production[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2006, 38(3):619-628.
- [58] 孟立君,吴凤芝. 土壤酶研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2004, 35(5):622-626.
- [59] FREEMAN C, LISKA G, OSTLE N J, et al. The use of fluorogenic substrates for measuring enzyme activity in peatlands[J]. Plant and Soil, 1995, 175(1):147-152.
- [60] 部金凤,邹敬东,张心昱,等. 不同荧光校正方法对土壤水解酶活性测定结果影响的比较研究[J]. 土壤通报, 2014, 45(3):660-665.
- [61] 张丽莉,武志杰,陈利军,等. 微孔板荧光法对土壤糖酶活性的测定研究[J]. 光谱学与光谱分析, 2009, 29(5):1341-1344.
- [62] 张玉兰,陈利军,段争虎,等. 荧光光谱法测定生物炭/秸秆输入土壤后酶活性的变化[J]. 光谱学与光谱分析, 2014, 34(2):455-459.
- [63] KAZUTO S, HIDEKI K. Hydrodynamic voltammetry as a rapid and simple method for evaluating soil enzyme activities[J]. Sensors, 2015, 15(3):5331-5343.
- [64] SCHINNER F, OHLINGER R, KANDELER E, et al. Methods in soil biology[M]. Berlin:Springer-Verlag, 1995:162-232.

## Research Progress of Soil Enzymes Function and Its Determination Method

SHAO Wenshan, LI Guoqi

(Breeding Base for State Key Laboratory of Land Degradation and Ecological Restoration in Northwest China, Ningxia University/Key Laboratory for Restoration and Reconstruction Degraded Ecosystem in North-western China of Ministry of Education, Yinchuan, Ningxia 750021)

**Abstract:** Soil enzymes is a biological catalyst in the soil, which plays an important role in the soil ecological system of material circulation and energy flow. The research of soil enzymes have important value for improving soil fertility, soil pollution treatment and scientific utilization. The function of soil enzymes research at home and abroad were analyzed and summarized by expounding the sources and classification of them, and the different methods for the determination of soil enzyme activity were systematically summarized, including treatment of different samples, comparing the traditional methods with new methods. This study not only provided the theoretical reference value for the continuous development of the soil enzymology, but also had practical reference significance.

**Keywords:** soil enzyme activities; functions; determination