

关松荫等编著

# 土壤酶 及其 研究法



农业出版社

# 土壤酶及其研究法

关松荫等 编著

农业出版社

# 土壤酶及其研究法

关松荫等 编著

• • •

责任编辑 陈菁华

农业出版社出版 (北京朝内大街130号)

新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

850×1168 毫米 32 开本 12 印张 288 千字  
1986 年 7 月第 1 版 1986 年 7 月北京第 1 次印刷  
印数 1—2,400 册

统一书号 16144·3123 定价 2.50 元

# 前 言

---

土壤酶学是土壤学中一门比较年轻的分支学科。近几年来，土壤酶学研究进展很快，它已成为土壤生物化学和土壤生物学研究中的重要内容。我国许多土壤学工作者很注意土壤酶的研究，希望了解一些关于土壤酶的基本性质、理论和应用以及酶活性测定方法等。另一方面，目前土壤酶分析法主要是沿用一般生化研究中习用的方法，且不够规范化，一些学者对土壤酶的认识也很不相同。作为一个分支学科来说，不仅要在广度和深度方面加强其理论与实践研究，同时要逐渐完善它的试验方法。本书就是根据这两方面的需要编写而成的。

为丰富和发展土壤科学，提高土壤生产力，作者想在推动土壤酶研究工作方面，试抛一砖，起到引玉的作用。

在编著本书过程中，得到了许多同志的帮助，特表示谢忱。同时，向引用未公开发表的资料的作者，致以谢意。

本书除第二章第八节，第五章和第十二章第三节由张德生编写，第十一章由张志明编写外，其余各章节均由关松荫编写。由于作者水平有限，书中难免存在错误和缺点，敬请读者批评指正。

编著者

1983年9月于北京

# 目 录

---

前言	
绪论	1
一、研究土壤酶的意义	1
二、研究土壤酶的目的与任务	2
三、土壤酶的研究内容	4
四、土壤酶学研究中的存在问题	5
第一章 土壤酶学研究简史	7
一、研究简史	7
二、国外土壤酶学主要研究成果	9
三、50年代以来的土壤酶学研究	11
四、我国土壤酶学研究结果与现状	12
第二章 土壤酶的基本特性	14
一、土壤酶的来源	14
二、土壤酶的种类	19
三、主要酶类的酶促反应	22
四、土壤酶的抑制与激活	33
五、积累酶与增殖酶	34
六、酶促活性与触媒作用	37
七、土壤酶的稳定性	38
八、土壤酶的动力学性质	40

<b>第三章 土壤酶的状态与分布</b> .....	47
一、土壤酶的存在状态 .....	47
二、土壤酶的分布状况 .....	52
三、土壤酶的季节变化 .....	57
四、土壤酶分布的地带性 .....	59
<b>第四章 土壤酶在碳、氮、磷、硫生物循环中的作用</b> .....	61
一、碳循环 .....	62
二、氮循环 .....	71
三、磷循环 .....	79
四、硫循环 .....	85
<b>第五章 土壤酶与土壤代谢</b> .....	88
一、土壤的有机组成 .....	89
二、土壤的氧化代谢 .....	93
三、土壤中有机残体的分解与腐殖质化 .....	104
<b>第六章 土壤状况与土壤酶活性</b> .....	115
一、土壤物理特性与土壤酶活性 .....	115
二、土壤有机质与土壤酶活性 .....	120
三、土壤氮、磷、硫与土壤酶活性 .....	122
四、土壤pH与土壤酶活性 .....	126
五、土壤微生物与土壤酶活性 .....	128
六、土壤类型与土壤酶活性 .....	131
<b>第七章 土壤酶活性与植物生长</b> .....	134
一、作物生育时期土壤酶活性 .....	134
二、作物对土壤酶活性的影响 .....	139
三、酶活性与土壤生产力 .....	141
<b>第八章 农业技术对土壤酶的影响</b> .....	143
一、无机肥料对土壤酶的影响 .....	143
二、有机肥料对土壤酶的影响 .....	148
三、绿肥对土壤酶的影响 .....	150

四、微量元素对土壤酶的影响·····	151
五、耕作对土壤酶的影响·····	153
六、轮作对土壤酶的影响·····	156
七、污水灌溉对土壤酶的影响·····	157
八、排水对土壤酶的影响·····	161
九、土壤酶与农用化学物质·····	163
<b>第九章 土壤酶研究的应用</b> ·····	171
<b>第十章 我国主要土壤酶活性状况</b> ·····	176
一、白浆土·····	176
二、黑土·····	180
三、棕壤·····	184
四、褐土·····	187
五、潮土·····	189
六、栗钙土·····	192
七、黄棕壤·····	194
八、黄壤·····	196
九、红壤·····	199
十、紫色土·····	203
十一、石灰岩土·····	207
十二、水稻土·····	209
<b>第十一章 土壤酶研究的数理统计分析</b> ·····	214
一、相关分析·····	214
二、回归分析·····	226
三、群分析·····	239
<b>第十二章 土壤酶活性测定</b> ·····	260
I. 土壤酶活性测定基本原则·····	260
一、土壤样品采集、贮藏与称量·····	260
二、土壤样品中微生物的钝化·····	263
三、酶作用基质与酶促反应环境·····	266

四、对照样品问题.....	272
五、酶活性表示方法.....	274
II. 土壤酶活性测定方法.....	274
一、水解酶.....	274
二、氧化还原酶.....	320
三、转移酶.....	338
四、裂合酶.....	339
III. 土壤酶的提取 .....	340
一、脲酶-腐殖质复合物的提取 .....	342
二、蛋白酶-腐殖质复合物的提取 .....	344
附录 1 常用的缓冲液 .....	347
附录 2 .....	354
附录 3 .....	359
主要参考文献.....	361



# 绪 论

---

## 一、研究土壤酶的意义

农业土壤是在各种自然因素和人类生产活动的直接影响下形成和发展的。它不仅是一个特殊的历史自然体，一个复杂的多形体；同时是“类生物体”或称为“特殊的有机体”。尤其垦植多年的农业土壤，在其自身的物理、化学和生物等多种因素综合作用下，发生极其复杂的变化。每一个小土块是绝对不同于任何无生命的自然体，其中既存在动物、微生物，也存在其他活性。土壤中不间断地进行着具有活组织特征的催化反应。一种微土壤成分——酶参与这种催化反应，使土壤有同生物体相似的活组织的代谢能力。土壤酶的意义是：植物根系及其残体，土壤动物及其遗骸和微生物所分泌的酶，能催化土壤中复杂的有机物质，转化为简单的无机化合物，供植物再利用。酶参与包括土壤生物化学过程在内的自然界物质循环。由于土壤的类生物体性质，酶活性形成了一个独立的系统。该系统不同于有生命群体的活性，也不同于其他活组织匀浆体的活性。土壤酶促作用，是在土壤颗粒、植物根系和微生物细胞表面上发生的。在此多相介质环境中，离子浓度、pH、氧化还原电位等因子影响不间断的酶促反应速度。土壤各种成分也直接影响酶促反应。土壤供应作物养分的能力，不仅取

决于潜在养分的有效化过程，同时取决于土壤胶体吸收性离子的有效程度，这两方面作用都和土壤酶活性有关。酶系统是土壤中最活跃的部分，土壤酶和土壤微生物一起共同推动土壤的代谢过程。研究资料证明，土壤酶活性与土壤肥力的关系是十分密切的。土壤生物化学特性的研究进展，使人们对土壤—植物系统的认识有了新的概念。植物营养不再是一种相对静止状态的离子移动问题，而是受植物根系生理活动、酶促作用、微生物活动影响的动态现象。当然，这种认识将随着土壤科学研究的深入发展而不断提高。众所周知，土壤生物化学特性是土壤的基本性质，土壤生物学活性的组成部分和指标。

因此，我们研究土壤性质时，既要研究它的物理、化学、生物学特性，同时要注意研究其生理生化特性，尤其是酶活性引起的土壤代谢性能。这样，才能进一步揭示农业土壤的本质——土壤代谢作用强度及其适应外界环境和维持植物生长条件的能力——土壤肥力。

## 二、研究土壤酶的目的与任务

检测土壤中的酶活性，能够了解复杂有机物质的分解强度与简单物质的再合成强度。为判断土壤肥力演变趋势，定向培育高肥力土壤提供理论依据。如比较分析土壤磷酸酶、蛋白酶、脲酶、蔗糖酶与相应的植物有效养分的有效磷、氨基氮、氨态氮、二氧化碳释放量的关系；多酚氧化酶与腐殖质数量、品质的关系，有助于了解土壤碳、氮、磷、硫的生物转化进程和动向以及土壤潜在肥力的有效化程度。

积累在土壤中的酶，主要是与土壤有机、无机成分结合在一起的。在某种意义上说，土壤酶是被土壤成分所保护的。因此，

土壤酶活性表现出一定的稳定性。外界环境条件的改变，使微生物活动受阻的土壤，仍有土壤酶活性存在。甚至在结冻数千年的土壤中，也可测出酶的活度。土壤酶活性有可能是判断土壤年龄的依据之一。

试验资料证明，不同种类土壤的起源、发生及发展条件不同，它们的酶活性状况就不尽相同。不仅表层土壤的酶活性有差异，整个土壤剖面酶活性差异也较大，有些土壤酶活性表现尤为明显。一种土壤酶活性在几种土壤中显示的强弱程度是不一样的。因此，研究不同种类土壤酶活性时，可以根据每种土壤所固有的酶活性状况，做为鉴别土壤类型的依据。这方面工作，在欧美几个国家中已有一定的进展。

用土壤酶活性评价土壤肥力水平问题，已有大量试验研究报告及评论性的文章发表。随着研究工作的深入发展，土壤酶的测定数据，可与土壤其他肥力因子一样，编码输入电子计算机，为正确的评价土壤肥力水平提供依据。

土壤管理措施（施肥、耕作、灌排等）和施用农药，可以引起土壤酶活性发生很大的变化。通过典型样品的酶法分析，能够判断这些技术措施的经济效果。确定和维持土壤中酶的适宜活性，是土壤酶学研究的重要任务之一。它将为提高土壤生产性能开辟新途径。

在尿素氮肥广泛应用的今天，筛选高效脲酶调节剂，是一件很有意义的工作。根据土壤生物化学过程的原理，使尿素氮的释放与作物需氮速率相适应，是提高尿素氮肥利用率的一个方向。它的试验研究成功将为人类贡献更多的农产品。

由于尿素日渐代替硫酸铵，人工加到土壤中的无机硫逐渐减少，土壤硫素营养的问题显得日益重要了。研究证明，土壤中的硫绝大多数是有机态的，有机硫的矿化直接影响土壤有效硫的状

况。有机硫的分解是在微生物参与下，通过一系列酶促作用完成的，其中包括解聚酶和脱硫酸酶酶促作用。自从 Tabatabai 和 Bremner (1970) 发现土壤解硫酶以来，这方面的工作已有了新的进展。由此可知，硫酸酶与植物硫素营养关系密切。

植物吸收无机磷早已为世界各地的农学家和土壤学家所接受。但是，土壤中大部分磷是有机态的，那么有机磷在土壤体系中是怎样转化的呢？关于这个问题，知道的却不多。研究证明，土壤磷酸酶在有机磷的矿化中起着重要的作用。磷酸酶是对农业生产有重要影响的一种酶。

土壤酶是土壤自净容量的一个指标。土壤酶活性能提高土壤自净能力，如氰基酶 (Cyanase) 能酶解土壤中的氰酸氨，减少对植物的危害。在城镇和工厂的废弃物中，含有许多有毒有害物质，研究土壤酶对它们的降解能力，是从土壤生物化学角度探索环境保护的一个新内容。

### 三、土壤酶的研究内容

根据土壤酶的研究意义、目的和任务，它的研究内容应当包括：

1. 土壤生物催化作用的性质；
2. 土壤酶的来源、分布、状态、组成和活性；
3. 土壤酶参与有机物质转化（分解与合成）过程的实质；
4. 植物营养中土壤酶的作用机制与功能；
5. 土壤酶与土壤生命的关系及其在土壤发生、发展中的作用；
6. 土壤酶与农用化学物质（除莠剂、杀菌剂和杀虫剂等）之间的相互影响；

7. 土壤酶与土壤肥力因子的关系及评价土壤肥力问题；
8. 植物体对土壤酶活性的影响；
9. 土壤酶活性与农业技术措施的关系及其农业生产意义；
10. 土壤酶在植物营养元素生物循环中的作用；
11. 土壤酶活性鉴别土壤类型；
12. 土壤酶活性研究方法；
13. 土壤酶的抽提技术；
14. 土壤酶活性在其他学科领域中的应用。

#### 四、土壤酶学研究中的存在问题

土壤酶的最理想的研究方法，是把土壤中的酶提取出来，然后显示酶的活性，或者使微生物代谢活性和胞外酶活性分离。然而目前的酶学测试技术水平和土壤中酶的存在状态表明，难于达到这样的目的。通常用基质的分解产物数量表示酶活性，测定中用抑菌剂（如甲苯）处理土壤样品，以抑制微生物活性。这种方法测得的酶活性，主要是测定土壤酶促基质反应的速度。因此，存在测定对象的准确性问题。

测定前的预处理项目较多，操作标准不够一致，方法也不统一，未能实现标准化。如土壤样品贮藏条件（温度、湿度、时间），基质种类、浓度、缓冲体系、培养温度与时间等都需要标准化。酶活性表示单位也应在统一测定方法的基础上，用同一单位表示酶活性，以利于测定结果的比较分析。可惜，至今为止还没有制定出任何标准的测定方法。这项工作是摆在土壤酶学工作者面前一项十分重要的任务。

虽然评论酶与土壤其他性质的关系已取得一定进展，但是由于土壤酶的存在状态等问题，至今对酶活性的一些重要性质是未

知的。从土壤学的一个分支学科的发展要求来看，仍然有很大差距。为了提高土壤酶学研究水平，土壤酶学工作者，不仅要掌握土壤物理、土壤化学、土壤生物学及生物化学知识，还要懂得农学、植物生理学、数学及其他学科的必要的知识。广开思路，发展各学科间的相互渗透，才能在探索土壤酶活性的理论与实践不断前进。

# 第一章 土壤酶学研究简史

---

## 一、研究简史

Woods 是研究土壤酶最早的人，他于 1899 年发表了土壤中具有过氧化物酶的试验报告。Bell 等 (1905) 进一步证明，土壤中存在过氧化物酶活性。Konig 等 (1906) 用生物抑制剂测定了土壤过氧化氢酶活性。1909 年，May 等研究了土壤过氧化氢酶活性与土壤有机质、微生物之间的关系。如果我们以上述 10 年作为土壤酶学的开创时期，那么土壤酶学发展到现在已有 80 多年的历史了。

可以看出，早期的土壤酶学研究，国外学者大部分注意力集中在过氧化氢酶的研究上。显然是因为这种酶易于检测，而当时对其他土壤酶了解很少之故。

十九世纪土壤微生物学的出现，为土壤酶学的诞生提供了条件。Woods 曾写道：“通过试验我们测定了过氧化氢酶。含有这种酶的植物的根和其他组织经腐解而进入土壤。”May 和 Gile 等人都是在掌握微生物学知识的基础上开展过氧化氢酶研究工作的。当时，许多土壤科学工作者，研究土壤酶活性时，总是比较分析与微生物活性的平行关系及其依赖程度，这一点是特别值得思考的。在初始时期，注意研究土壤酶活性的人，许多是从事土

壤微生物工作的。由此可见，有了土壤微生物学这个背景，才为土壤酶学的诞生提供了必要的条件。1901年 Conn 曾指出：细菌、酵母菌和高等植物分泌释放的酶，所起的发酵作用对农业诸过程是极其重要的。没有酶对有机化合物的分解作用，土壤很快就会变得难于维持生命活动。他认为土壤酶对土壤肥力有着重要的作用。对土壤酶与微生物之间关系的认识一直能够延续下来，就是从土壤酶学的开创时期奠定基础的。

土壤酶的研究历史表明，每种酶的发现和检测都经历了较长的时间。土壤酶学的研究过程同样遵循对其他未知项的研究过程。酶促现象发现的较早，而真正检测到这种酶活性所需的时间总是比较长的。为了解迄今为止从土壤中发现的酶促现象和检测酶的历史，将发现主要土壤酶的年代与研究学者名单列后：

1905年 Cameron 和 Bell 发现土壤中存在“氧化酶”；

1910年 Fermi 首次检测出土壤中有蛋白酶存在；

1927年 Subrahmanyam 证明土壤中有脱氨基酶活性；

1927年 Parker 首先提出酶可以分解土壤有机磷化物，

1935年 Rotini 发现土壤中有脲酶；

本世纪40年代，对土壤脲酶、核酸酶和磷酸酶进行了比较详细的研究。Conrad 鉴定了脲酶活性，Rogers 阐述了土壤磷酸酶与植物根际的关系。这些工作对后来的土壤酶学研究起到了推动作用。

1950年 Hofmann 和 Seegerer 证明，在有甲苯存在情况下，土壤中的蔗糖能发生水解，表明土壤中存在蔗糖酶活性；

1951年 Hofmann 和 Seegerer 首先指出土壤含有淀粉酶；

1951年 Купревич 记述了土壤多酚氧化酶活性（儿茶酚氧化酶、酪氨酸酶）；

1952年 Jackman 和 Black 首先检测到土壤存在肌醇六磷



酸酶活性；

1970年 Tabatabai 和 Bremner 发现土壤中存在硫酸酶。

## 二、国外土壤酶学主要研究成果

自从发现土壤酶活性以来，国外土壤酶学工作者取得了不少研究成果：

1. 根据加到土壤中的基质的水解情况，判断水解这种基质的酶活性。

2. 应用人造基质测定土壤酶活性。50年代以前主要是测定天然基质的分解。

3. 在土壤酶的试验中，对抑菌剂的反复筛选认为，甲苯是酶法分析比较理想的抑菌剂。

4. 过氧化氢酶是最早发现的土壤酶。

5. 本世纪50年代是土壤酶学研究最活跃的时期。在此时期中，高能量辐射灭菌用于酶学检测。对与植物营养、土壤肥力有密切关系的土壤脲酶、磷酸酶进行了广泛研究，发表了大量的试验研究报告。

6. 在已知的1000多种酶中，已检测有40多种酶存在于土壤之中。

7. 某些土壤酶的提取。从土壤中提取出脲酶 (Briggs 和 Segal, 1963), 尿酸酶 (Martin-Smith, 1963), 过氧化物酶 (Bartha 和 Bordeleau, 1969), 蛋白酶和具有色氨酸脱羧酶活性的溶液 (Chalvignac 和 Mayaudon, 1971) 及复合体。

8. 目前，全世界有中国、美国、英国、苏联、日本、澳大利亚、新西兰、德国、意大利、罗马尼亚、印度、捷克斯洛伐克和匈牙利等十几个国家开展土壤酶的研究。欧美一些国家已有土壤