

土壤酶学的研究进展

张咏梅^{1,2} 周国逸^{2*} 吴宁¹

(1. 中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041; 2. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650)

摘要: 土壤酶在生态系统中是否作为一个组成成分, 经典生态学没有明确的表述, 但土壤酶在生态系统中具有重要的地位, 它参与了包括土壤生物化学过程在内的自然界物质循环。介绍土壤酶的研究历史, 土壤酶的检测技术、土壤酶的来源、土壤状况与土壤酶活性的关系、管理措施对土壤酶的影响等方面的研究进展, 旨在推动土壤酶学的研究和利用。

关键词: 生态学; 土壤酶; 综述

中图分类号: S154.2

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)01-0083-08

A Review of Studies on Soil Enzymology

ZHANG Yong-mei^{1,2} ZHOU Guo-yi^{2*} WU Ning¹

(1. Chengdu Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China;

2. South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: One of the most important functions of soil enzymes is to serve as main mediators in soil biochemical process such as organic matter degradation, mineralization and nutrient cycling. In this review, advances in the studies on soil enzymes are summarized under headings of history of the studies, measuring techniques of soil enzymes, sources of soil enzymes, soil regime in relation to soil enzyme activities, and the influence of soil management on the enzymes.

Key words: Ecology; Soil enzymology; Review

土壤酶是由微生物、动植物活体分泌及由动植物残体、遗骸分解释放于土壤中的一类具有催化能力的生物活性物质, 根据作用原理可以分为水解酶类、氧化还原酶类、转移酶类、裂合酶类 4 大类。土壤酶是土壤的组成成分之一, 参与包括土壤中的生物化学过程在内的自然界物质循环, 土壤酶的酶促作用, 是在土壤颗粒、植物根系和微生物细胞表面上发生的, 具有与环境的统一性, 土壤酶使土壤具有同生物体相似的活组织代谢能力。

1 研究历史概述

在 Woods(1898)首次从土壤中检测出过氧化物酶活性之后, 土壤酶学的发展经历了很长的时间。

早期主要是运用微生物学研究材料和方法, 探讨土壤酶与土壤微生物的关系。20 世纪 50 年代以后, 生物化学、分子生物学等学科在理论和技术上的发展, 极大地推动了土壤酶学的研究, 研究重点转向土壤酶检测手段的改进、土壤酶的来源和性质、土壤酶活性与土壤状况的相互关系以及土壤酶活性与土壤肥力因子的关系等方面, 到 80 年代中期, 土壤酶学的理论和体系逐渐完善^[1,2]。80 年代后期至今, 土壤酶的检测技术、土壤酶活性对干扰的响应和土壤酶功能重要性等方面的研究成为研究者感兴趣的研究内容^[2]。

我国对土壤酶的研究始于 20 世纪 60 年代初期, 主要研究土壤酶与土壤微生物的关系、耕作技术对土壤酶的影响及土壤酶与植物生长的关系, 仅

收稿日期: 2002-11-11 接受日期: 2003-06-02

基金项目: 中国科学院知识创新工程重大方向性项目(KSCX2-SW-120); 基础研究重大项目前期研究专项(2001CCB00600); “岷江”项目(KSCX-07-01-01); “十五”攻关项目(2001BA606A-05-03)联合资助。

* 通讯作者 Corresponding author

发表少量研究报告^[1]。从 1970 年开始,土壤酶研究涉及的土壤有白浆土、黑土、棕壤、褐土、栗钙土、黑垆土、灰钙土、潮土、黄棕壤、红壤、黄壤、紫色土、石灰岩土和水稻土等十几种土壤,研究内容既联系微生物性质研究土壤酶活性,也特别注意研究一些土壤积累酶的特性,探讨了土壤酶与其它肥力因素的关系^[3,4],同时用土壤酶评价农业管理措施的效果^[5],鉴别土壤类型和肥力水平^[1]。研究的土壤酶种类有过氧化氢酶、多酚氧化酶、脲酶、蛋白酶、磷酸酶、脱氢酶和蔗糖酶等。20 世纪 80 年代中期以后,随着环境科学的发展,土壤酶对废水、废物的降解作用受到普遍关注^[6,7],金属元素对土壤酶的影响也备受生态学家的重视^[8]。

国内对农田生态系统的土壤酶研究较多,如:与碳、氮、磷转化相关的几种土壤酶在剖面的分布特点,农业管理措施对土壤酶活性的影响及土壤酶活性与土壤其它肥力因子的相关性的研究。土壤酶在环境污染治理中的作用也进行了初步探讨,并报道了废水、废物中金属元素对土壤酶的影响。然而土壤酶在森林生态系统、水生生态系统中的功能及其作用机制探讨少,更没有把研究成果用于生态系统恢复与重建工作。

2 土壤酶检测技术

土壤酶检测技术的创新是土壤酶学得以发展的前提和基础。早期的土壤酶研究主要是运用微生物学研究材料和方法,20 世纪 50 年代以后,滴定、比色法等广泛用于土壤酶的测定^[1];近年来,由于生物化学、分子生物学技术的飞速发展,土壤酶的检测技术也取得了长足的进展。透射电子显微镜技术(Transmission electron microscopy)用于研究土壤酶对枯落物的分解作用及过程,观测叶肉组织超微结构变化的同时可以定位研究胞内酶活性的变化^[9]。荧光微型板酶检测技术(Microplate fluorimetric assay)被广泛用来研究土壤酶多样性及其功能多样性^[10]。土壤酶活性测试盒(Soil enzyme activity test kit)在土壤酶野外快速测定上具有极好的应用前景^[11]。凝胶电泳(Electrophoresis)不仅可以测定胞内酶活性,分析同工酶的差异,并可用于某些酶的分类^[12]。

另外,超声波降解法^[13]、超速离心技术^[14]和高压液相色谱(HPLC)^[15]等也应用于土壤酶活性的测定。在与动植物、微生物相结合的研究领域,PCR、

RAPD、RFLP 等已被广泛应用于探讨土壤生物多样性与土壤酶的关系、土壤酶的分子特征及土壤酶的合成和利用等方面^[16-21];在研究土壤酶对物质循环的作用和土壤酶的来源等方面已开始采用同位素示踪技术。对于土壤酶活性的检测中涉及的土样保存、pH、缓冲剂及抑制剂的使用等方面均进行了有效的研究^[22]。

目前还没有理想的方法把土壤中的酶提取出来,以直接显示酶的活性,土壤提取液中所能测出的酶仅占土壤酶的小部分,所以现有的研究方法一般是用基质的分解产物数量表示酶活性,这需要较大的土样。将分子生物学技术用于土壤酶的研究是未来土壤酶研究的重要发展方向之一,对于探讨土壤酶来源及功能本质有帮助。

3 土壤酶来源

土壤酶的来源问题,一直倍受科研工作者的关注。它对揭示土壤酶的功能及生态系统物质循环的机制具有极其重要的作用。在早期的研究中,人们认为土壤酶来自土壤微生物。随着研究的深入开展,研究结果显示,土壤酶既来自于微生物,也来源于其它有机组织。

真菌 *Cladorrhinum foecundissimum* 能分泌 1,4-β-葡聚糖酶,并对许多经济作物的病原真菌起生防作用^[23]。洋葱伯克霍尔德氏菌(*Burkholderia cepacia*)可分泌分解海藻糖油酸盐的脂肪酶^[24]。人们从生脂固氮螺菌(*Azospirillum lipoferum*)中提取到了漆酶,并测定和分析了漆酶的特征^[25]。库尔萨诺夫链霉菌(*Streptomyces kurssanovii*)可产生葡萄糖苷酶、N-乙酰-β-D-氨基葡萄糖苷酶和壳多糖酶等具有水解功能的胞外酶^[26]。真菌中的尖镰孢(*Fusarium oxysporum*)和 *Ovandendron sulphureo-ochraceum* 均能产生脂肪酶^[27]。*Scedosporium apiospermum* 可分泌降解酚和甲基苯的代谢酶^[28]。

植物根系分泌物是土壤酶的重要来源。Gramss 等通过对照试验,采用分光光度法和凝胶电泳法测定了菊科的蒲公英(*Taraxacum officinale* Wiggers)和苦苣菜(*Sonchus oleraceus* L.)、十字花科的家独行菜(*Lepidium sativum* L.)和欧白芥(*Sinapis alba* L.)、豆科的紫苜蓿(*Medicago sativa* L.)和大豆(*Glycine max* L.)、禾本科的草(60% 紫羊茅 *Festuca rubra* L., 25% 黑麦草 *Lolium perenne* L., 15% 草地早熟禾 *Poa pratensis* L.)和玉米(*Zea mays* L.)、茄科的烟草(*Nicotiana tabacum*

L.) 和番茄 (*Lycopersicon esculentum* Miller cv. isolde)、百合科的韭葱 (*Allium porrum* L.) 及罂粟科的白屈菜 (*Chelidonium majus* L.) 等 14 种陆生植物根释放的分泌物对土壤过氧化物酶、漆酶、蛋白酶、酯酶和脂肪酶等土壤酶活性的贡献。结果表明,将近 90% 的土壤酶活性可能是通过植物根系分泌物提供的。同时他们发现,根系分泌的酶的活性在施用化学肥料、干旱和水分胁迫下增加。他们认为豆科、禾本科和茄科释放足够的氧化还原酶参与一定土壤物质的氧化分解^[29]。另外一些研究表明,棉花、小麦、水芹、西红柿、水葫芦等植物能分泌过氧化物酶^[30],植物根系分泌物还可为根际生物提供氨基酸、糖类和维生素等养料,改善了根际微生态环境,间接提高了土壤酶活性^[31]。尽管 Kandeler 等发现,土壤-凋落物界面的土壤木聚糖酶、转化酶和蛋白酶活性在整个土壤剖面上最高^[32],但要定量植物残体分解过程中释放的酶还是很困难^[33]。

目前的研究难以准确地鉴别哪些酶是植物根系提供的,哪些酶是微生物提供的。这将是今后土壤酶研究工作的重点之一。随着研究手段的改进,有关土壤酶来源问题的研究必将取得新的突破。

4 土壤状况与土壤酶活性

4.1 土壤理化性质与土壤酶活性的关系

土壤理化性质对土壤酶活性具有深刻的影响,土壤水分、温度、空气、团聚体、有机质、矿质元素和 pH 值影响着土壤酶的活性及稳定性^[1]。通常情况下,土壤酶主要以酶-无机矿物胶体复合体、酶-腐殖质复合体和酶-有机无机复合体等形式存在于土壤中,与腐殖质复合的土壤酶总是处于物理性的被保护状态,而且催化特性也有较大差异^[34-36]。Lozzi 等研究了山葵过氧化物酶(HRP)与高岭石 Na^+ 、 Ca^{2+} 等不同离子形态间的关系对结合态酶活性和生物降解能力的影响,结果表明,当 HRP 与 M-Na 结合后,HRP 活性减小 90%,而 HRP 与 M-Ca 结合后,HRP 活性与束缚的蛋白质量相关,束缚量高时酶活性不变,而束缚量低时酶活性减小 60%。纯 HRP 在稀释液中酶活性每天减小 10%,而 M-Ca-HRP 形态在蛋白质束缚量高时,酶活性减小 30%,低束缚量时酶活性减小 60%。M-Ca-HRP 与游离酶相比,土壤微生物的利用减少了 90%^[37]。Calamai 等检测了不同水溶液粒子对酶活性的影响,结果表明,结合于土壤的土壤酶除 M-PY-Ca 的

利用率低外,其余的利用均高于游离酶^[38]。高岭土和单宁酸盐结合的复合体磷酸酶与游离磷酸酶的催化特性也有很大的差异^[39]。尽管有几种理论试图解释土壤物质组成和结构(如高岭土和蒙脱石等)对土壤酶稳定性产生的保护作用,但仍然未能揭示土壤酶稳定性的机理^[40,41]。一般而言,土壤粘粒含量和腐殖质含量较高的土壤,酶活性的持续期相对较长^[42]。

土壤有机质含量显著影响土壤酶活性。土壤中有机质含量并不高,但它能增强孔隙度、通气性和结构性,有显著的缓冲作用和持水力,是微生物、土壤酶和矿物质的有机载体。Debosz 等研究了有机物输入对纤维素酶变化的影响,长达 8 a 的研究表明,无论是低量输入还是高量输入,时间变化模式通常是一样的,变化的驱动因子是温度和湿度等环境因子,在作物生长期,土壤酶活性增强,其中 β -葡萄糖苷酶和纤维素酶增加 30%^[43]。Albiach 等通过 4-5 a 的对比研究发现,城市垃圾的堆积肥可极大地加强土壤酶活性,绿肥和淤泥产生的效果次之,施用有机残体后土壤酶活性平衡能力加强^[44]。Taylor 等研究也表明,土壤酶与土壤有机质之间存在显著正相关^[45]。Moreno 等人的研究表明,Cd 在有机质含量高的土壤中对土壤酶的影响要低于有机质含量低的土壤^[46]。

土壤酶活性与土壤粒径密切相关^[47]。Busto 等采用连续分级的方法研究了扰动和自然土壤在不同的分级处理过程中酶-有机无机复合体的稳定性和定位特征,结果表明,当采用自然分散法对土壤进行分级时,粒径小于 $50\ \mu\text{m}$ 的微团聚体土壤 β -葡萄糖苷酶活性在 73% 以上,这些微团聚体与腐殖化的有机质紧密相连;用中性焦磷酸分散后的不同粒径土壤酶活性以团粒直径小于 $50\ \mu\text{m}$ 和团粒直径为 $100-2\ 000\ \mu\text{m}$ 的土壤酶活性最高(分别为 34.5% 和 36.0%),但采用微滤和超滤法过滤后的土壤,粒径小于 $50\ \mu\text{m}$ 团粒的土壤酶活性明显升高,而粒径为 $100-2\ 000\ \mu\text{m}$ 团粒的土壤酶活性降低^[41]。

土壤水热状况对土壤酶活性有重要作用。在不良水热状况下,土壤酶活性较低。Krämer 等研究了一个半干旱林地酸性和碱性磷酸酶活性与植物和土壤微生物过程的关系,结果表明,林地土壤微气候对土壤酶活性有明显的作用。落叶松林冠间的土壤温度比林下的土壤温度高 6.2°C ,相应的土壤酸性和碱性磷酸酶活性比林下土壤高 20% 以上^[48]。Luo 等的研究也表明随着土壤深度的改变,土壤酶活性

存在较大差异^[49]。

土壤酶活性与土壤矿质元素含量之间存在一定的关系。Nausch 等调查了波罗的海 N、P 及磷酸酶对肽酶活性的影响,结果表明,肽酶与碱性磷酸酶间极显著相关,他们认为这是因为磷酸酶导致 P 的释放,P 的增加导致肽酶活性的增强,但是无机磷的施加却没有令肽酶的活性增强^[50]。土壤酶、矿质营养元素 N、P、K 含量的减少可能是由微生物减少造成的^[51]。长期施用 N 肥可显著地增加 β -葡萄糖苷酶、酸性磷酸酶等酶的活性,但是脲酶活性会减小^[52]。有机物质分解的不同时期,土壤酶活性发生改变,矿质元素含量亦表现出不同的变化趋势。Fioretto 研究发现,枯落物降解的后期,N、S、P 和 Na 含量减小,Mg 和 Mn 含量增加^[53]。Henriksen 等根据研究结果,修改了土壤 C、N 转化的模型^[54]。可见,某些土壤酶活性可以作为生态环境改变的指示物。

环境条件与土壤酶活性密切相关。深入探讨土壤生态条件与土壤酶活性的关系,尤其是土壤粘粒含量、土壤腐殖质和土壤化学反应等对土壤酶稳定性的影响对于进一步探索土壤酶在生态系统中的作用具有重要意义。

4.2 土壤微生物、土壤动物与土壤酶的关系

土壤细菌、真菌和放线菌等是土壤酶的重要来源之一。一般而言,特定的土壤酶活性与土壤微生物的类群密切相关,担子菌纲真菌能释放漆酶、过氧化物酶、Mn-过氧化物酶和木质素过氧化物酶等,放线菌能释放降解腐殖质和木质素的过氧化物酶、酯酶和氧化酶等^[2, 55-59]。真菌的木霉属(*Trichoderma*)和腐霉属(*Pythium*)可释放酸性和碱性磷酸酶、脲酶、 β -葡聚糖酶、纤维素分解酶和几丁质酶^[60]。菌根菌、固氮菌、假单孢菌属和木霉属等菌类对其它微生物种群具有明显的抑制作用,却能提高土壤酶活性^[61]。

土壤微生物与土壤酶活性关系的研究报道很多。影响微生物的各种因素也影响着土壤酶,自 20 世纪 60 年代以来,人们一直将土壤酶作为土壤微生物活性的敏感指示物^[6]。在人为和自然因素的干扰下,土壤酶活性与土壤微生物数量、微生物多样性、微生物生物量和土壤动物数量等呈显著或极显著正相关^[63, 64]。例如,太阳紫外线通过抑制土壤微生物活性而影响土壤酶活性^[65]。由真菌和细菌产生的纤维素酶、酰胺酶和转化酶在开阔地和郁闭森林中存在差异,郁闭森林下比开阔地的酶活性要高,转移酶与枯落物可溶性糖、总氮量间存在正相关,但

是与失重率存在负相关关系;酰胺酶和纤维素酶活性与真菌、细菌和枯落物湿度呈极显著相关关系;纤维素酶与纤维素呈极显著负相关关系,森林林冠对真菌群落和微生物的酶活性有影响^[66]。最近, Taylor 等用活细胞计数、显微镜直接观察、DNA 技术和菌落计数等研究手段对比研究了粉砂粘壤土不同层次的土壤微生物数量与土壤酶活性的关系,结果表明,土壤微生物数量,尤其是土壤细菌丰度与土壤芳基硫酸酯酶、磷酸单酯酶、 β -葡聚糖酶和脱氢酶等酶活性呈显著正相关^[45]。Aon 等通过实验建立了土壤微生物与土壤酶的时空模型^[67]。

值得注意的是,近年来人们加强了土壤动物,如蚯蚓^[68-73]、白蚁、蜗牛^[74]、线虫等与土壤酶活性相关性的研究,以揭示动物在生态系统物质循环中的作用及机制^[75, 76]。蚯蚓在有机物质动态和营养循环中扮演着重要作用,蚯蚓的肠液含有容易代谢的组分,在肠道能迅速消失,诱发生物活性物质,消化肠道内有机物质。事实上,土壤无脊椎动物的绝大多数似乎没有拥有消化纤维素、木质素、丹宁和腐殖质的酶类,许多酶类直接来自土壤中物质,虽然在无脊椎动物中检查到了纤维素酶的存在,但主要是由消化道微生物产生而不是由无脊椎动物自身产生。Lattaud 等检测了葡糖苷酶活性及其来源,研究表明,蚯蚓拥有相对完整的酶系统,释放的酶可以分解根、枯落物和真菌组织,并且表现一定的专一性。目前,有关蚯蚓粪便能增强土壤酶活性的报道也相当多^[77, 78]。潮湿的热带草原,蚯蚓是土壤动物群落的关键组分,它们消化率高并且具有专一的消化过程,可以以土壤中贫瘠的有机物为食,提高他们的生态位^[79]。土壤酶活性可以作为蚯蚓和它们的排泄物对土壤质量影响的指示物^[80]。这些研究显示,土壤酶与土壤动物在物质代谢中扮演着重要角色。

有关土壤微生物及土壤动物对土壤酶的贡献及其与土壤酶的相互关系将是今后研究的重要内容之一。利用先进的土壤微生物研究技术、生物化学技术和分子生物学技术来探讨土壤微生物区系、微生物数量、多样性及生物量与土壤酶活性的关系,有助于揭示土壤酶的来源、基本性质及土壤酶在生态系统物质循环中的作用。

4.3 土壤类型与土壤酶的关系

不同土壤所处的气候条件、母质类型和植被状况等都有明显差异,土壤的生化过程也存在差异。

每种土壤类型都有其固定的土壤酶活性水平,与耕作土比较,森林、草地土具有较高的土壤酶活性,有机土壤(泥炭土)酶活性比矿质土壤酶活性高^[1]。根据土壤酶活性强弱鉴别土壤类型的研究不多,已有的研究结果也只是初步的,未能找到不同土壤类型的土壤酶活性的大致界限,因此可以预见界定典型地带土壤酶活性大致范围将是今后土壤酶研究工作的一个方面。

5 农业管理措施对土壤酶的影响

农业管理措施对土壤理化性质、土壤生物区系和农业植被均会产生明显的作用,对土壤酶活性也将产生直接或间接的影响。

施肥 肥料和作物残体可通过改善土壤水热状况和微生物区系而影响土壤酶活性^[81]。例如,小麦和玉米秸秆还田可以提高土壤葡聚糖酶、酸性和碱性磷酸酶、磷酸单酯酶、焦磷酸酶和芳基硫酸酯酶活性^[82,83]。增施有机肥能提高土壤微生物数量和土壤酶活性^[84]。增施有机肥料和微生物肥料有利于改善土壤理化性质和微生物区系,提高土壤转化酶、磷酸酶、葡聚糖酶、过氧化物酶和脲酶活性^[84]。当然,施肥也可能引起部分酶活性的降低,如,施用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 的欧洲云杉(*Picea abies* (L.) Karst.)林下土壤芳基硫酸酯酶活性降低^[85]。

耕作方式 土地耕作方式会影响土壤酶的分布及活性^[63,81]。森林生态系统转变成农田生态系统会导致土壤退化,土壤 β -葡萄糖苷酶和磷酸单酯酶活性降低^[86]。Badiane 等研究塞内加尔半干旱地区自然和改良弃耕地的土壤酶活性,结果表明 β -葡萄糖苷酶、淀粉酶、几丁质酶和木聚糖酶活性与管理方式、管理年限和植被有关,但不同的酶变化规律不同^[87]。轮作方式下的土壤转化酶、 β -葡萄糖苷酶、磷酸酶和脲酶活性常高于单作方式下的酶活性,通常被用作耕作方式影响土壤质量的生物评价指标^[88,89]。Bandick 等研究了苇状羊茅(*Festuca arundinacea*)和三叶草轮作系统以及小麦弃耕地只施无机 N 肥、增施绿肥或牛粪处理后对土壤芳基硫酸酯酶、脲酶、酰胺酶、 β -葡聚糖酶、 β -半乳糖酶和脱氨酶活性的影响,结果表明,轮作、增施绿肥和施用粪肥处理的土壤酶活性明显上升, β -葡聚糖酶等是很好的土壤质量指标,但脱氨酶不能作为土壤质量指标^[63]。

农用化学物质 有关化学肥料、除草剂、灭

菌剂和杀虫剂等对土壤酶活性的影响及土壤酶在降解有机污染物方面的报道也很多^[90]。TNT 降低脱氨酶的活性^[91]。土壤中 Cd 和 F 的浓度高,会降低土壤酶活性^[92]。氯仿熏蒸可能会导致水解酶的改变^[93]。除草剂的施用,会引起抗氧化酶类活性增强,以保护植物免受氧化的破坏,因此,酶活性可以用来检测植物生长的早期伤害^[94]。

灌溉 在湿地,积水与土壤酶的相关性更大,它通过改变微生物群落,影响土壤酶的合成,增加诸如 Fe^{2+} 等抑制因子的浓度而影响土壤酶^[95]。在沼泽地,低温和涝灾显著地限制了土壤酶活性^[96]。

微量元素 工业废弃物越来越多地用作肥料,从而含 As、Ba、B、Cd、Co、Cu、Pb、Cr、Mn、Hg、Mo、Ni、Ag、Sn、V 和 Zn 等元素的化合物也被带入土壤。有关重金属污染对土壤酶活性影响的研究报道很多。Cd 对土壤酶活性有明显的抑制作用,但粘粒含量较高的土壤酶活性受到的抑制作用相对较弱^[46]。土壤酶活性随着土壤重金属 Cr 和 As 等离子含量的增加而降低^[97,98]。Zn、Cu 对土壤酶活性的影响也较大^[99]。

火烧 长期火烧显著增加酸性磷酸酶、脲酶等酶的活性^[53]。火势强度对土壤酶活性影响表现不一,酸性磷酸酶活性随火烧强度增强而减少,壳多糖酶活性随火势强度不同而成比例减少, β -葡萄糖苷酶差异不显著,多酚氧化酶活性变化很大,但与火势的相关性不强。单作季节性火烧可能会消耗森林地面的大部分枯落物,改变地表有机质的表现特征,影响土壤酶活性^[55]。火烧对不同深度的土壤酶影响程度不同,对 0-5 cm 土层的酶活性影响较大,对 5-10 cm 土层的酶活性影响不大^[100]。

目前,全球生态环境问题的严重性及土壤酶学在环境科学和生态学中的特殊地位使 21 世纪的土壤酶学面临着新的挑战,与环境保护和治理结合是 21 世纪土壤酶学的发展趋势之一。

参考文献

- [1] Guan S Y (关松荫). Soil Enzymes and Its Methodology [M]. Beijing: Agricultural Press, 1986. 3-25. (in Chinese)
- [2] Yang W Q (杨万勤), Wang K Y (王开运). Advances in soil enzymology [J]. Chin J Appl Envir Biol(应用与环境生物学报), 2002, 8(5):564-570. (in Chinese)
- [3] He W X (和文祥), Lai H X (来航线), Wu Y J (武永军), et al. Study on soil enzyme activities effected by fertilizing cultivation [J]. J Zhejiang Univ (Agri Life Sci)(浙江大学学报(农业与生命科学版)), 2001, 27(3):265-268. (in Chinese)

- [4] Xu J W(许景伟), Wang W D(王卫东), Li C(李成). The correlation among soil microorganism, enzyme and soil nutrient in different types of mixed stands of *Pinus thunbergi* [J]. Shandong For Sci Techn(山东林业科技), 2000, (2):1-6. (in Chinese)
- [5] Cao Z M(曹正梅), Dong S T(董树亭), Liu C S(刘春生). Studies on ecological effect of corn under protected condition with plastic sheeting [J]. J Shandong Agri Univ(山东农业大学学报), 1999, 30(4):489-492. (in Chinese)
- [6] He W X(和文祥), Chen H M(陈会明), Feng G Y(冯贵印), et al. Study on enzyme index in soil polluted by mercury, chromium and arsenic [J]. Acta Sci Circums(环境科学学报), 2000, 20(3):338-343. (in Chinese)
- [7] Shen B(沈标), Li S P(李顺鹏), Zhao S W(赵硕伟), et al. Effect of chlorobenzene and nitrophenol on soil biological activity [J]. Acta Pedol Sin(土壤学报), 1997, 34(3):309-314. (in Chinese)
- [8] He W X(和文祥), Zhu M E(朱铭毅), Zhang Y P(张一平). Recent advance in relationship between soil enzymes and heavy metals [J]. Soil Envir Sci(土壤与环境), 2000, 9(2):139-142. (in Chinese)
- [9] Rihani M, Botton B, Villemin G, et al. Ultrastructural patterns of beech leaf degradation by *Sporotrichum pulverulentum* [J]. Eur J Soil Biol, 2001, 37:75-84.
- [10] Marx M C, Wood M, Jarvis S C. A microplate fluorimetric assay for the study of enzyme diversity in soils [J]. Soil Biol Biochem, 2001, 33:1633-1640.
- [11] Vepsäläinen M, Kukkonen S, Vestberg M, et al. Application of soil enzyme activity test kit in a field experiment [J]. Soil Biol Biochem, 2001, 33:1665-1672.
- [12] Berchet V, Boulanger D, Gounot A M. Use of gel electrophoresis for the study of enzymatic activities in cold-adapted bacteria [J]. J Microbiol Methods, 2002, 40:105-110.
- [13] De Cesare F, Garzillo A M V, Buonocore V, et al. Use of sonication for measuring acid phosphatase activity in soil [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:825-832.
- [14] Herrera-Cervera J A, Caballero-Mellado J, Laguerre G, et al. At least five rhizobial species nodulate *Phaseolus vulgaris* in Spanish soil [J]. FEMS Microbiol Ecol, 1999, 30:87-97.
- [15] Kato Y, Asano Y. A new enzymatic method of stereoselective oxidation of racemic 1,2- indandiol [J]. J Mol Catal B: Enzymatic, 2001, 13:27-36.
- [16] Mendum T A, Sockett R E, Hirsch P R. The detection of Gram-negative bacterial mRNA from soil by RT-PCR [J]. FEMS Micro Lett, 1998, 164:369-373.
- [17] Szafranski P, Smith C L, Cantor C R. Cloning and analysis of the *dnas* gene encoding *Pseudomonas putida* DNA primase [J]. Biochim Biophys Acta, 1997, 1352:243-248.
- [18] Carvan M J, Sonntag D M, Cmar C B, et al. Oxidative stress in zebrafish cells: potential utility of transgenic zebrafish as a deployable sentinel for site hazard ranking [J]. Sci Total Envir, 2001, 274:183-196.
- [19] Schlöter M, Lebuhn M, Heulin T, et al. Ecology and evolution of bacterial microdiversity [J]. FEMS Micro Rev, 2000, 24:647-660.
- [20] Hamann C, Hegemann J, Hildebrandt A. Detection of polycyclic aromatic hydrocarbon degradation genes in different soil bacteria by polymerase chain reaction and DNA hybridization [J]. FEMS Micro Lett, 1999, 173:255-263.
- [21] Poly F, Monrozier L J, Bally R. Improvement in the RFLP procedure for studying the diversity of *nifH* genes in communities of nitrogen fixers in soil [J]. Res Microbiol, 2001, 152:95-103.
- [22] Acosta-Martínez V, Tabatabai M A. Inhibition of arylamidase activity on soils by toluene [J]. Soil Biol Biochem, 2002, 34:229-237.
- [23] Kumar R, Dahiya J S, Singh D, et al. Production of endo-1,4-β -glucanase by a biocontrol fungus *Cladorrhinum foecundissimum* [J]. Biore Technol, 2000, 75:95-97.
- [24] Ishimoto R, Sugimoto M, Kawai F. Screening and characterization of trehalose-oleate hydrolyzing lipase [J]. FEMS Microbiol, 2001, 195:231-235.
- [25] Diamantidis G, Effosse A, Potier P, et al. Purification and characterization of the first bacterial laccase in the rhizospheric bacterium *Azospirillum lipoferum* [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:919-927.
- [26] Ilyina A V, Tatarinova N Y, Varlamov V P. The preparation of low-molecular-weight chitosan using chitinolytic complex from *Streptomyces karsanovii* [J]. Proc Biochem, 1999, 34:875-878.
- [27] Cardenas F, de Castro M S, Sanchez-Montero J M, et al. Novel microbial lipases: catalytic activity in reactions in organic media [J]. Enzy Micro Techn, 2001, 28:145-154.
- [28] Clauß en M, Schmidt S. Biodegradation of phenol and p-cresol by the hyphomycete *Scedosporium apiospermum* [J]. Res Microbiol, 1998, 149:399-406.
- [29] Gramss G, Voigt K-D, Kirsche B. Oxidoreductase enzymes liberated by plant roots and their effects on soil humic material [J]. Chemosphere, 1999, 38:1481-1494.
- [30] Siegel B Z. Plant peroxidases — an organismic perspective [J]. Plant Grow Regul, 1993, 12:303-312.
- [31] García-Gil J, Plaza C C, Soler-Rovira P, et al. Long-term effects of municipal solid waste compost application on soil enzyme activities and microbial biomass [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:1907-1913.
- [32] Kandeler E, LuxhÖi J, Tschërko M, et al. Xylanase, invertase and protease at the soil-litter interface of a loamy sand [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:1171-1179.
- [33] Criquet S, Tagger S, Vogt G, et al. Laccase activity of forest litter [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:1239-1244.
- [34] Sarkar J M. Formation of ¹⁴C-cellulase-humic complexes and their stability in soils [J]. Soil Biol Biochem, 1986, 18:251-254.
- [35] Tabatabai M A, Fu M. Extraction of enzymes from soils [A]. In: Stotzky G, Bollag J M. Soil Biochemistry, Vol. 7 [C]. New York: Marcel Dekker, 1992. 197-227.
- [36] Theng B K G, Aislabie J, Fraser R. Bioavailability of phenanthrene intercalated into an alkylammonium-montmorillonite clay [J]. Soil Biol Biochem, 2001, 33:845-848.
- [37] Lozzi I, Calamai L, Fusi P, et al. Interaction of horseradish peroxidase with montmorillonite homoionic to Na⁺ and Ca²⁺: effects on enzymatic activity and microbial degradation [J]. Soil

- Biol Biochem, 2001, 33:1021–1028.
- [38] Calamai L, Lozzi I, Stotzky G, et al. Interaction of catalase with montmorillonite homoionic to cations with different hydrophobicity: effect on enzymatic activity and microbial utilization [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:815–823.
- [39] Rao M A, Violante A, Gianfreda L. Interaction of acid phosphatase with clays, organic molecules and organo-mineral complexes: kinetics and stability [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:1007–1014.
- [40] Burns R G. Enzyme activity in soil: location and possible role in microbial ecology [J]. Soil Biol Biochem, 1982, 14:423–427.
- [41] Busto M D, Perez-Mateos M. Extraction of humic- β -glucosidase fractions from soil [J]. Biol Fert Soil, 1995, 20:77–82.
- [42] Rao M A, Gianfreda L. Properties of acid phosphatase-tannic acid complexes formed in the presence of Fe and Mn [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:1921–1926.
- [43] Debosz K, Rasmussen P H, Pedersen A R. Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: effects of organic matter input [J]. Appl Soil Ecol, 1999, 13: 209–218.
- [44] Albiach R, Canet R, Pomanes F, et al. Microbial biomass content and enzymatic activities after the application of organic amendments to a horticultural soil [J]. Biore Technol, 2000, 75:43–48.
- [45] Taylor J P, Wilson B, Mills M S, et al. Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface and subsoils using various techniques [J]. Soil Biol Biochem, 2002, 34:387–401.
- [46] Moreno J L, García C, Landi L, et al. The ecological dose value (ED50) for assessing Cd toxicity on ATP content and dehydrogenase and urease activities of soil [J]. Soil Biol Biochem, 2001, 33: 483–489.
- [47] Kandeler E, Palli S, Stemmer M, et al. Tillage changes microbial biomass and enzyme activities in particle-size fractions of a Haplic Chernozem [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:1253–1264.
- [48] Krämer S, Green D M. Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in a semiarid woodland [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:179–188.
- [49] Luo J, Tillman R W, White R E, et al. Variation in denitrification activity with soil depth under pasture [J]. Soil Biol Biochem, 1998, 30(7):897–903.
- [50] Nausch M, Nausch G. Stimulation of peptidase activity in nutrient gradient in the Baltic Sea [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:1973–1983.
- [51] Parthasarathi K, Ranganathan L S. Longevity of microbial and enzyme activity and their influence on NPK content in pressmud vermicasts [J]. Eur J Soil Biol, 1999, 35(3):107–113.
- [52] Ajwa H A, Dell C J, Rice C W. Changes in enzyme activities and microbial biomass of tallgrass prairie soil as related to burning and nitrogen fertilization [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:769–777.
- [53] Fioretto A, Papa S, Sorrentino G, et al. Decomposition of *Cistus incanus* leaf litter in a Mediterranean maquis ecosystem: mass loss, microbial enzyme activities and nutrient changes [J]. Soil Biol Biochem, 2001, 33:311–321.
- [54] Henriksen T M, Breland T A. Nitrogen availability effects on carbon mineralization, fungal and bacterial growth, and enzyme activities during decomposition of wheat straw in soil [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:1121–1134.
- [55] Glenn J K, Gold M H. Purification and characterization of an extracellular Mn (II)-dependent peroxidase from the lignin-degrading basidiomycetes, *Phanerochaete chrysosporium* [J]. Arch Biochem Biophys, 1985, 242:329–341.
- [56] Sariaslani F S. Microbial enzymes for oxidation of organic molecules [J]. Crit Rev Biotechnol, 1989, 9:171–257.
- [57] Dari K, Béchet M, Blondeau R. Isolation of soil streptomyces strains capable of degrading humic acids and analysis of their peroxidase activity [J]. FEMS Microbiol Ecol, 1995, 16:115–122.
- [58] Magnuson M, Crawford D L. Comparison of extracellular peroxidase and esterase-deficient mutants of *Streptomyces viridosporus* T7A [J]. Appl Environ Microbiol, 1992, 58:1070–1072.
- [59] Simoes D C M, McNeil D, Kristiansen B, et al. Purification and partial characterization of a 1.57 kDa thermostable esterase from *Bacillus stearothermophilus* [J]. FEMS Microbiol Lett, 1997, 147: 151–156.
- [60] Naseby D C, Pascual J A, Lynch J M. Effect of biocontrol strains of *Trichoderma* on plant growth, *Pythium ultimum* populations, soil microbial communities and soil enzyme activities [J]. J Appl Microbiol, 2000, 88:161–169.
- [61] Vázquez M M, César S, Azcón R. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi other microbial inoculants (*Azospirillum*, *Pseudomonas*, *Trichoderma*) and their effects on microbial population and enzyme activities in the rhizosphere of maize plants [J]. Appl Soil Ecol, 2000, 15:261–272.
- [62] Sinsabaugh R L, Antibus R K, Linkins A E. The enzymic basis of plant litter decomposition: emergence of an ecological process [J]. Appl Soil Ecol, 1994, 1:97–111.
- [63] Bandick A K, Dick R P. Field management effects on soil enzyme activities [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:1471–1479.
- [64] Groffman P M, McDowell W H, Myer J C, et al. Soil microbial biomass and activity in tropical riparian forests [J]. Soil Biol Biochem, 2001, 33:1339–1348.
- [65] Häder D P. Effects of solar UV-B radiation on aquatic ecosystems [J]. Adv Space Res, 2000, 12:2029–2040.
- [66] Kayang H. Fungal and bacterial enzyme activities in *Alnus nepalensis* D. Don [J]. Eur J Soil Biol, 2001, 37:175–180.
- [67] Aon M A, Cabello M N, Sarena D E, et al. I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil [J]. Appl Soil Ecol, 2001, 18:239–254.
- [68] Lattaud C, Locati S, Mora P, et al. The diversity of digestive systems in tropical geophagous earthworms [J]. Appl Soil Ecol, 1998, 9:189–195.
- [69] Rouland C, Lenoir F, Lepage M. The role of the symbiotic fungus in the digestive metabolism of several species of fungus-growing termites [J]. Comp Biochem Physiol, 1991, 99A:657–663.
- [70] Garvín M H, Lattaud C, Trigo D, et al. Activity of glycolytic enzymes in the gut of *Hormogaster elisae* (Oligochaeta Hormogastridae) [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:929–934.

- [71] Merino-Trigo A, Sampedro L, Rodríguez-Berrocal F J, et al. Activity and partial characterization of xylanolytic enzymes in the earthworm *Eisenia andrei* fed on organic wastes [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:1735–1740.
- [72] Frouz J, Elhottová D, Šustr V, et al. Preliminary data about compartmentalization of the gut of the saprophagous dipteran larvae *Penthetria holosericea* (Bibionidae) [J]. Eur J Soil Biol, 2002, 38: 47–51.
- [73] Tillinghast E K, O'Donnell R, Eves D, et al. Water-soluble luminal contents of the gut of the earthworm *Lumbricus terrestris* L. and their physiological significance [J]. Comp Biochem Physiol, 2001, 129A:345–353.
- [74] Charrier M, Rouland C. Les osidases digestives de l'escargot *Helix aspersa*: localizations et variations en fonction de l'état nutritionnel [J]. Can J Zool, 1992, 70:2234–2241.
- [75] Oppermann U C T, Nahel G, Belai I, et al. Carbonyl reduction of an anti-insect agent imidazole analogue of metyrapone in soil bacteria, invertebrate and vertebrate species [J]. Chemico-Biological Inter, 1998, 114:211–224.
- [76] Šustr V, Frouz J. Activity of carbohydrases in the gut of Bibionidae (Diptera) larvae [J]. Eur J Soil Biol, 2002, 38:75–77.
- [77] Mulongoy K. Microbial biomass and maize nitrogen uptake under a posphocarpus palustris-mulch grown on a tropical Alfisol [J]. Soil Biol Biochem, 1986, 18:395–398.
- [78] Mulongoy K, Bedoret A. Properties of worm casts and surface soil under various plant covers in the humid tropics [J]. Soil Biol Biochem, 1989, 21:197–203.
- [79] Kisand V, Tammert H. Bacterioplankton strategies for leucine and glucose uptake after a cyanobacterial bloom in an eutrophic shallow lake [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:1965–1972.
- [80] Flegel M, Schrader S. Importance of food quality on selected enzyme activities in earthworm casts (*Dendrobaena octaedra*, Lumbricidae) [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:1191–1196.
- [81] Kandeler E, Stemmer M, Klimanek E M. Response of soil microbial biomass, urease and xylanase within particle size fractions to long-term soil management [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:261–273.
- [82] Deng S P, Tabatabai M A. Cellulase activity of soils [J]. Soil Biol Biochem, 1994, 26:1347–1354.
- [83] Deng S P, Tabatai M A. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. II. Glycosidases [J]. Biol Fert Soil, 1996, 22:208–213.
- [84] Marcote I, Hernández T, García C, et al. Influence of one or two successive annual applications of organic fertilisers on the enzyme activities of a soil under barley cultivation [J]. Biore Technol, 2001, 79:147–154.
- [85] Prietzel J. Arylsulfatase activities in soils of the Black Forest/Germany—seasonal variation and effect of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ fertilization [J]. Soil Biol Biochem, 2001, 33:1317–1328.
- [86] Caldwell B A, Griffiths R P, Sollins P. Soil enzyme response to vegetation disturbance in two lowland Costa Rican [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:1603–1608.
- [87] Badiane N N Y, Chotte J L, Patea E, et al. Use of soil enzyme activities to monitor soil quality in natural and improved fallows in semi-arid tropical regions [J]. Appl Soil Ecol, 2001, 18:229–238.
- [88] Miller M, Dick R P. Thermal stability and activities of soil enzymes as influenced by crop rotations [J]. Soil Biol Biochem, 1995, 27:1161–1166.
- [89] Dick W A, Cheng L, Wang P. Soil acid and alkalinizing phosphatase activity as pH adjustment indicators [J]. Soil Biol Biochem, 2000, 32:1915–1919.
- [90] Landi L, Barraclough D, Badalucco L, et al. L-Methionine-sulfoximine affects N mineralisation-immobilisation in soil [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 33:253–259.
- [91] Siciliano S D, Roy R, Greer C W. Reduction in denitrification activity in field soil exposed to long term contamination by 2,4,6-trinitrotoluene (TNT) [J]. FEMS Micro, 2000, 32:61–68.
- [92] Langer U, Günther T H. Effects of alkaline dust deposits from phosphate fertilizer production on microbial biomass and enzyme activities in grassland soils [J]. Envir Pollut, 2001, 112:321–327.
- [93] Renella G, Landi L, Nannipieri P. Hydrolase activities during and after the chloroform fumigation of soil as affected by protease activity [J]. Soil Biol Biochem, 2002, 34:51–60.
- [94] Radetski C M, Cotelle S, Féraud J F. Classical and biochemical endpoints in the evaluation of phytotoxic effects caused by the herbicide trichloroacetate [J]. Envir Exp Bot, 2000, 44:221–229.
- [95] Dendooven L, Murphy M E, Catt J A. Dynamics of the denitrification process in soil from the Brimstone Farm experiment, UK [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:727–734.
- [96] Kang H, Freeman C. Phosphatase and arylsulphatase activities in wetland soils: annual variation and controlling factors [J]. Soil Biol Biochem, 1999, 31:449–454.
- [97] Speir T W, Kettles H A, Parshotam A, et al. Simple kinetic approach to derive the ecological dose value, ED50, for the assessment of Cr (VI) toxicity to soil biological properties [J]. Soil Biol Biochem, 1995, 27:801–810.
- [98] 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 Biol Biochem, 1999, 31:705–713.
- [99] Kunito T, Saeki K, Goto S, et al. Copper and zinc fractions affecting microorganisms in long-term sludge-amended soils [J]. Biore Technol, 2001, 79:135–146.
- [100] Saá A, Trasar-Cepeda M C, Carballas T. Soil P status and phosphomonoesterase activity of recently burnt and unburnt soil following laboratory incubation [J]. Soil Biol Biochem, 1998, 30 (3):419–428.