

长期施肥土壤中酶活性的剖面分布及其动力学特征研究

邱莉萍^{1,2}, 刘军¹, 王益权¹, 张兴昌^{1,2*}

(1 西北农林科技大学资源环境学院, 陕西杨凌 712100; 2 中国科学院水利部水土保持研究所, 黄土高原土壤侵蚀与旱地农业国家重点实验室, 陕西杨凌 712100)

摘要: 对连续 25 年的长期培肥试验地中土壤剖面酶活性的分布及土壤酶的催化反应特性进行了研究, 结果发现, 土壤脲酶、碱性磷酸酶和蔗糖酶活性在土壤剖面中的分布从表层到深层, 酶活性依次减小; 而多酚氧化酶呈波浪型分布。土壤中脲酶、碱性磷酸酶、蔗糖酶活性与相应土层的有机质含量呈极显著正相关; 多酚氧化酶无此相关性。土壤脲酶和碱性磷酸酶活性均随时间的延长而逐渐趋于一个稳定值, 且各个时段酶活性均为施肥处理高于不施肥处理, 说明施肥能显著提高土壤酶活性。土壤脲酶和碱性磷酸酶酶促反应初速度(V_0)均随温度和底物浓度的增加而增加, 至一定温度和底物浓度时, V_0 不再增加; 不同培肥措施下 V_0 为: 厩肥 > 秸秆 > 化肥 > 对照。

关键词: 长期施肥; 酶活性; 剖面分布; 底物浓度; 酶促反应初速度

中图分类号: S154I 2

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2005)06-0737-06

Profile distribution of enzyme activity of long term fertilization soil and its dynamic characteristics

QIU Liping^{1,2}, LIU Jun¹, WANG Yiquan¹, ZHANG Xingchang^{1,2*}

(1 College of Resour. and Environ., Northwest Sci. and Tech Univ. of Agric. and For., Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 Inst. of soil and Water Conservation, CAS and MOWR, State Key Lab. of Soil Erosion and Dryland Farming on Loess Plateau, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Long term balanced fertilization not only can increase the soil fertility and biologic property including enzyme in the surface soil remarkably, but also can improve soil profile property and reflect the function depth and the influence space scope of long term fertilization effect. In this paper, we studied the relationship between enzyme activity of soil profile under different long term fertilization measures with organic matter and the influence rule of temperature and reactant concentration on the enzyme catalysis in the Loess Plateau, the results showed: from surface layer to in depth layer, soil urease, alkaline phosphatase and invertase activities reduced in turn, while the polyphenol oxidase activity appeared a wave distribution in the profile. There was a significant positive correlation between soil organic matter and urease, alkaline phosphatase, invertase at the corresponding soil layer, but it was not happened between organic matter and polyphenol oxidase. With the incubation time prolonging, activities of soil urease and alkaline phosphatase increased and reached to a constant at the end. Moreover, activities of soil urease and alkaline phosphatase were always higher in fertilization treatments than those in control treatment indicating fertilizer application could improve soil enzymatic activities significantly. The V_0 value (the initial velocity of enzymatic reaction) of soil urease and alkaline phosphatase increased along with the rising of temperature and reactant concentrations, moreover, to a certain temperature and reactant concentration, V_0 no longer increased. The V_0 value of fertilizations showed the same order as following: BM > SW > CF > CK.

收稿日期: 2004-12-03 修改稿收到日期: 2005-02-24

基金项目: 国家自然科学基金重大项目(90102012); 国家自然科学基金项目(40171063, 40371076)资助。

作者简介: 邱莉萍(1979), 女, 江西赣州人, 博士研究生, 主要从事土壤生物质量研究。* 通讯作者

Key words: long-term fertilization; enzyme activity; profile distribution; reactant concentration; initial velocity of enzymatic reaction

长期不同措施的培肥作用不仅对表层土壤肥力性状及包括酶在内的生物性状有明显作用,反映培肥效应的强度问题,而且对土壤剖面性状也会有不同改善作用^[1,2],并在一定水平上反映着长期培肥效应的作用深度及影响空间范围。沈慧^[3]研究指出,在水土保持林土壤中,不同土层土壤脲酶、磷酸酶和蔗糖酶的活性均是表层土壤高于下层土壤。张成娥^[4]在研究黄土丘陵区不同撂荒年限的自然恢复草地中发现,土壤蔗糖酶、脲酶、中性磷酸酶活性在剖面的分布均为上高下低,并随着土层的加深而降低。

酶作为一种蛋白质,在土壤异质体里,主要以结合状态存在,它具有特殊的催化能力,比普通无机催化剂要大十几倍,几十倍,乃至数百倍^[5,6]。然而,在酶参与土壤的生物化学反应过程中,要受环境的影响,如温度、pH、底物浓度及重金属等。因此,研究土壤中酶的动力学远比均质体系中的酶催化反应动力学要复杂得多。Zantua^[7]研究表明,增加底物浓度酶促反应速度加快,但底物浓度达到一定限度,酶活性不再增加。和文祥^[8]通过对陕西7种类型19个土样脲酶活性进行测定结果也发现,在一定温度和底物浓度范围内,随温度和底物浓度增加,脲酶活性升高。

本试验通过研究长期不同培肥措施土壤剖面酶活性的分布特征及与有机质的相互关系,了解不同温度和底物浓度对酶的催化反应的影响规律,旨在更全面地揭示长期培肥过程中土壤肥力的演化规律和培肥措施对土壤质量的影响强度和作用深度,从而为实际生产过程的调控提供理论依据。

1 材料与分析

1.1 供试土样

供试土壤采自西北农林科技大学1977年在农一设置长期肥料定位试验地中的部分试验设计^[9]: 1)对照处理(无肥,CK); 2)施化肥处理(施尿素和过磷酸钙分别为450、525 kg/hm²,CF); 3)施中量秸秆处理(施尿素、过磷酸钙和玉米秸秆分别为450、525和18750 kg/hm²,SW); 4)施厩肥处理(施尿素、过磷酸钙和厩肥分别为450、525和9375 kg/hm²,BM)。其中有机肥(包括厩肥和秸秆)和磷肥的施用是在小麦播种前,氮肥在每季作物播种前

都施用。试验期间的田间管理措施同大田,作物收获后根茬保留在原地。处理均为小麦)玉米一年两茬轮作种植制度。各处理随机区组排列,3次重复。土壤为重壤质土(系统分类名为土垫旱耕人为土,Earth2cumul2orthic anthrosols)。样品是在连续培肥25年后于2002年冬小麦播种前采样。采样时先去除表层未腐解的秸秆,每个试验小区内用五点法分别采取5)20cm耕层土样,并在剖面0)40cm范围内按10cm的间距采取土样,混合均匀后风干,所有土样通过1mm和0.125mm筛处理供分析用。

1.2 测定方法

土壤有机质采用丘林法测定^[10]。

酶促反应初速度的测定:初速度(V₀)是指在酶促反应刚开始的一瞬间产生的一个起始速度,一般在一定底物浓度下,由酶活性与时间关系曲线过零切线的斜率求得^[12]。

脲酶的测定^[11]:称取5g土样于三角瓶中,加入1mL甲苯,静置15min后,于不同尿素浓度(10、50、100、500mmol/L);不同时间(3、6、9、12、15、24h)及不同温度条件(15、30、45℃)下用Hoffmann与Teicher法测定脲酶活性,单位为NH₃-N Lg/(g#h)。

碱性磷酸酶的测定^[11]:称取5g土样于三角瓶中,加入5滴甲苯后,于不同磷酸苯二钠浓度(1、5、10、20 mmol/L);不同时间(3、6、9、12、15、24)及不同温度条件(15、30、45)下用±法测定碱性磷酸酶活性,单位为ph(OH) Lg/(g#h)。

蔗糖酶和多酚氧化酶活性,用比色法^[11]测定,单位分别以glu Lg/(g#h)和紫色没食子酸 Lg/(g#h)表示。

各土层中土壤脲酶、碱性磷酸酶、蔗糖酶活性与相应土层有机质的相关分析采用美国SAS软件进行。

2 结果与讨论

2.1 土壤有机质的剖面分布

经过25年有机培肥后,0)40cm土层有机质含量有显著差异,且在0)20cm的土层内差异极显著(图1)。施用化肥、秸秆和厩肥3个处理耕层20cm以上土壤有机质含量比无肥对照分别增加了19110%、54133%和69169%;比培肥前分别高出0121%、29186%和42179%,而无肥处理比培肥之前

降低了 15186%。表明无论长期利用无机肥培肥还是有机肥培肥都可能维持着土壤有机质在最低水平上平衡或者不同程度地提高土壤有机质累积, 且有机质累积作用主要在 40cm 土层以上。不同培肥措施 0) 40cm 土层内有机质含量变化较大, 大小依次为 BM> SW> CF> CK。

小, 这可能是多酚氧化酶属于氧化还原酶类, 土壤空气的氧分压和氧化还原电位决定了多酚氧化酶活性的大小, 由于各培肥措施在各剖面层对碳氮之间比例协调不一致, 导致了氧化还原电位的变化, 因此造成处理之间的差异。

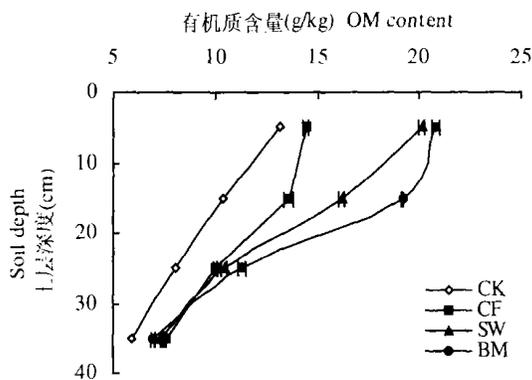


图1 土壤剖面有机质的分布

Fig. 1 Distribution of organic matter in soil profile

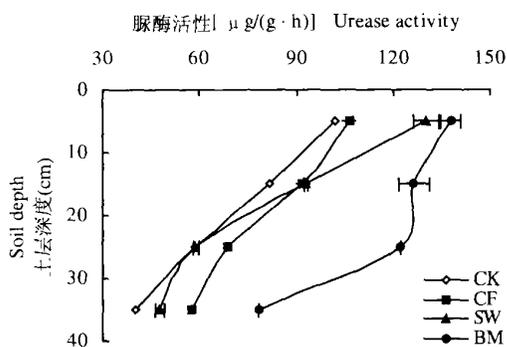


图2 土壤剖面脲酶的分布

Fig. 2 Distribution of urease in soil profile

212 土壤酶的剖面分布

各处理土壤剖面脲酶、碱性磷酸酶和蔗糖酶活性的分布状况与剖面有机质含量分布类似, 即在 0) 40cm 范围内, 各处理 3 中酶活性从上到下逐渐减小, 但减小的幅度不同 (图 2、图 3、图 4)。长期施用秸秆处理, 3 种酶活性在土壤上下层间相差最大, 脲酶、碱性磷酸酶和蔗糖酶活性变化分别为 130129 ~ 47173 Lg/(g#h)、188101 ~ 66192 Lg/(g#h) 和 1710159 ~ 963159Lg/(g#h); 施用化肥变化最小, 其活性变化分别为 106145 ~ 57133 Lg/(g#h)、122151 ~ 75106 Lg/(g#h) 和 1292146 ~ 1076135 Lg/(g#h)。在 0) 40cm 土层中, 施用厩肥可明显地提高土壤脲酶的活性, 这可能与厩肥处理中生理活性物质对作物根系刺激作用比其它处理强有关。说明土壤中增施有机肥, 提高了各种养分的含量, 并为生物酶的生存带来了良好的环境, 从用地养地的角度出发, 应当改变那种重无机轻有机的施肥观点^[13]。

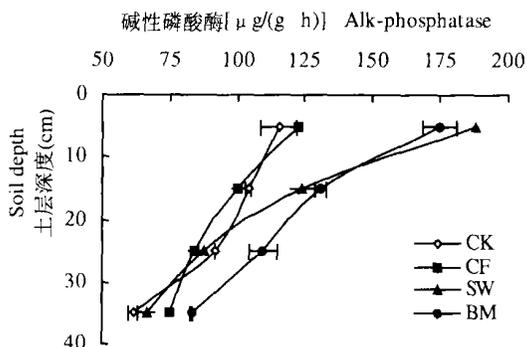


图3 土壤剖面碱性磷酸酶的分布

Fig. 3 Distribution of alk2phosphatase in soil profile

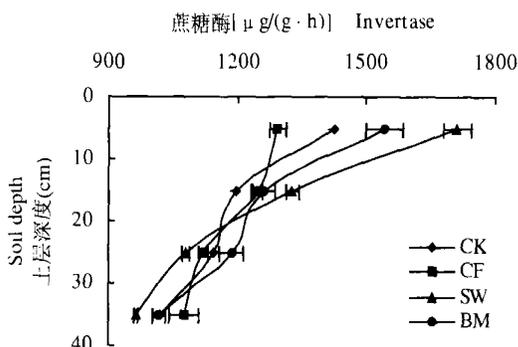


图4 土壤剖面蔗糖酶的分布

Fig. 4 Distribution of invertase in soil profile

图 5 看出, 与前 3 种酶活性不同, 在 0) 40cm 范围内不同培肥措施下土壤多酚氧化酶的剖面分布多呈/波浪0型分布。原因可能在于同一土壤剖面上, 由于上、下土层间性质不同, 特别是土壤水分、有机质含量、微生物活性以及土壤孔隙等性质的不同, 造成氧分压在不同土层间差别较大。培肥措施对土壤剖面多酚氧化酶活性的分布没有影响。无肥处理多酚氧化酶的活性变化最为剧烈, 而施化肥变化比较

213 土壤酶与土壤有机质的相关分析

土壤酶活性与土壤中其它肥力因子有着显著相关性, 国内外已有许多报道^[4,14]。本试验在此基础

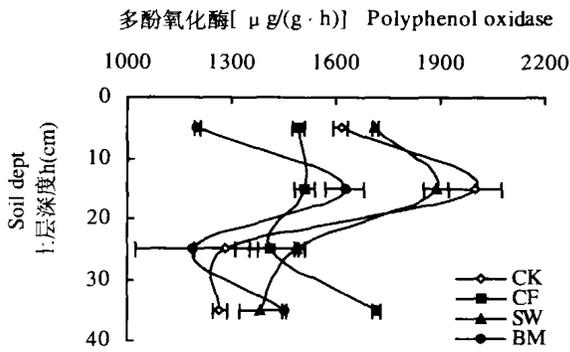


图 5 土壤剖面多酚氧化酶的分布

Fig. 5 Distribution of polyphenol oxidase in soil profile

上研究了土壤剖面中土壤酶活性与土壤有机质的相关性, 结果表明, 土壤各层脲酶、碱性磷酸酶和蔗糖酶活性与相应土层有机质的含量呈显著相关, 相关系数分别为 0.17026^{**}、0.17572^{**} 和 0.18786^{**}, 均达到极显著标准。而各土层中的多酚氧化酶与相应土层有机质没有相关性, 这是由于它的酶性质不同造成的。

2.14 不同底物与温度下土壤酶活性的动力学特征

2.14.1 不同培养时间酶活性的变化 不同培肥措施土壤脲酶、碱性磷酸酶活性随培养时间的变化而变化。如在 45 e 下, 尿素浓度为 10 mmol/L 的脲酶酶促反应和磷酸苯二钠浓度为 10 mmol/L 的碱性磷酸酶酶促反应 (图 6、图 7) 看出, 不同培肥措施土壤中脲酶、碱性磷酸酶活性均随时间的延长, 累积值不断增加, 最后趋于一个稳定值。随时间的延长, 底物浓度逐渐减小, 产物浓度逐渐增加, 导致酶反应速度逐渐减慢, 酶活性的增加幅度减小。

从不同的培肥措施来看, 各个时间阶段脲酶和碱性磷酸酶活性均为: BM > SW > CF > CK。碱性磷酸酶活性表现为施肥处理明显高于不施肥处理, 而施肥的 3 个处理酶活性在前 15h 相近, 可能是因为温度较高, 有效地激发了各施肥处理碱性磷酸酶活性, 从而使得在培养前期各处理酶活性几乎相近, 而在培养后期, 由于施入肥料不同, 带入底物和本身释放酶量不同, 使得各处理碱性磷酸酶活性强度不一, 因而差异也逐渐显现。

2.14.2 温度、底物浓度对土壤酶酶促反应初速度的影响 温度对土壤脲酶、碱性磷酸酶酶促反应初速度的影响如图 8 所示。在不同底物浓度条件下, 各培肥措施土壤脲酶、碱性磷酸酶酶促反应初速度均随温度的升高而增加, 增加量随土壤肥力水平而有

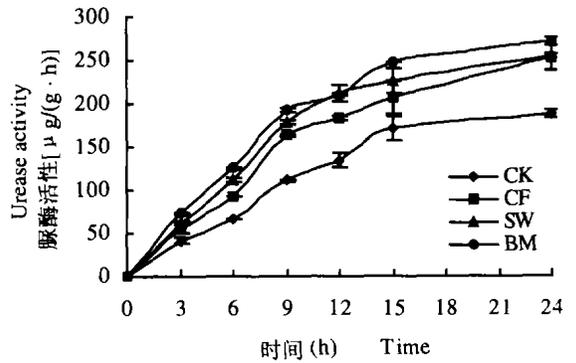


图 6 不同培养时间土壤脲酶活性变化

Fig. 6 Change of urease activity during the incubation time

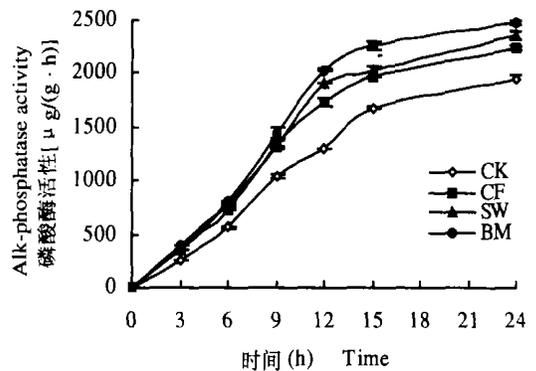


图 7 不同培养时间土壤碱性磷酸酶活性变化

Fig. 7 Change of alk2phosphatase activity during the incubation time

明显差异, 且脲酶初速度的增幅低底物浓度小于高底物浓度。同一底物浓度水平, 不同培肥措施下脲酶酶促反应初速度为: BM > SW > CF > CK; 且低温下各处理初速度相差不大, 随温度升高, 各处理初速度差异增大。与脲酶有所不同, 在低底物浓度下, 各施肥处理碱性磷酸酶初速度明显高于无肥处理, 但各施肥处理之间初速度相差不大, 随底物浓度的增加, 各施肥处理之间碱性磷酸酶初速度差异才逐渐增大。

图 8 还看出, 同一温度下, 随着底物浓度的增加, 土壤脲酶、碱性磷酸酶酶促反应初速度升高, 至一定浓度时, 无肥处理土壤初速度不再增加, 而各施肥处理初速度未表现降低趋势。说明在底物浓度较低时, 只有一部分酶与底物形成中间络合物, 此时若增加底物浓度, 则有更多的中间络合物生成, 因而反应速度随之增加; 但当底物浓度很大时, 反应体系中的酶分子全部与底物结合成中间络合物, 此时底物浓度虽再增加, 但无剩余的酶与之结合, 也没有更多的中间络合物形成, 因而反应速度保持不变。酶

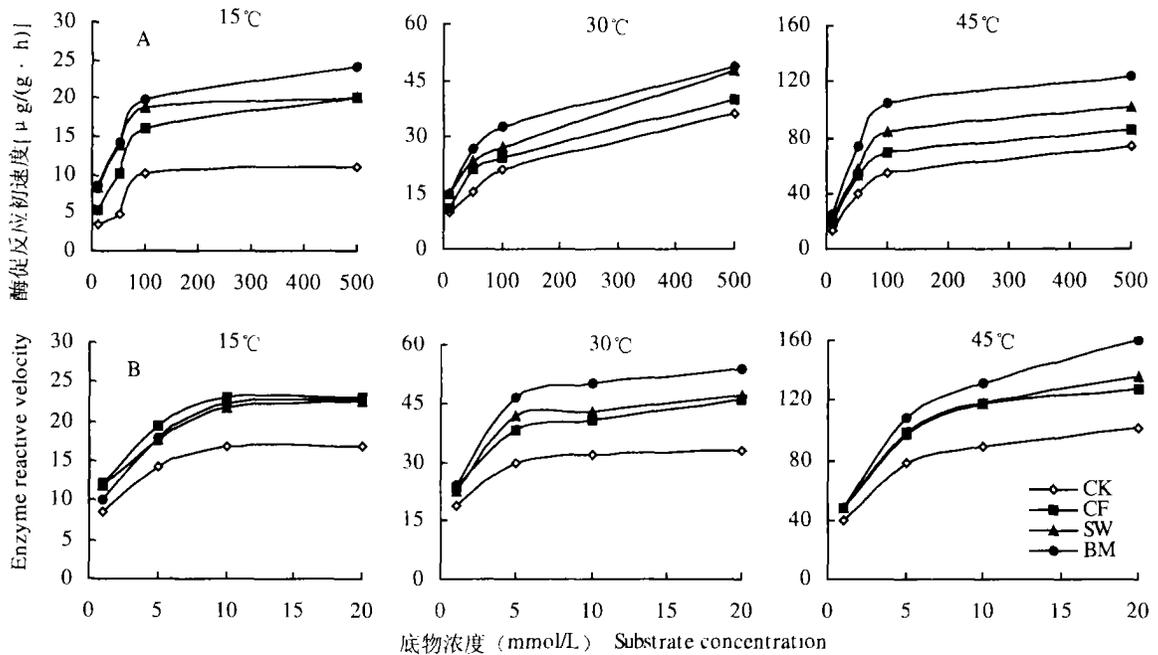


图 8 不同底物浓度下土壤酶促反应的初速度

Fig. 8 The soil enzyme reactive velocity affected by substrate concentrate

(A: 脲酶 Urease; B: 碱性磷酸酶 Alk- phosphatase)

促反应初速度随浓度变化在 15e 时最先达到稳定状态, 说明温度过低对脲酶和碱性磷酸酶初速度也有影响。

3 小结

长期培肥不仅能改善表层土壤生物酶活性, 而且在酶活性的提高都具有明显作用, 充分体现了土壤长期培肥的作用结果与深度。0) 40cm 土层内, 不同培肥措施土壤脲酶、碱性磷酸酶、蔗糖酶活性在剖面中从上到下均呈现出减小趋势, 但不同处理其减小幅度不一致; 土壤多酚氧化酶的变化则从上到下呈现/波浪0型分布, 这是由于酶的性质不一样造成的。各土层中土壤脲酶、碱性磷酸酶、蔗糖酶活性与相应土层有机质有极显著相关性, 相关系数分别为 0.17026^{**}、0.17572^{**} 和 0.18786^{**}, 多酚氧化酶与土壤有机质无相关性。

土壤脲酶和碱性磷酸酶活性均随时间的延长而逐渐趋于一个稳定值, 且各个时间段酶活性均为施肥处理高于不施肥处理, 说明施肥能显著提高土壤酶活性。土壤脲酶和碱性磷酸酶初速度均随温度和底物浓度的增加而增加, 且至一定温度和底物浓度

时, 土壤初速度不再增加。不同培肥措施下酶促反应初速度均为: BM> SW> CF> CK。

参考文献:

- [1] 关松荫, 沈桂琴, 孟昭鹏, 等. 我国主要土壤剖面酶活性状况[J]. 土壤学报, 1984, 21(4): 368- 381
Guan SY, Sheng G Q, Meng Z P et al. Enzyme activities in main soils in China [J]. Acta Pedologica Sinica, 1984, 21(4): 368- 381
- [2] 士^o (周礼恺译). 土壤酶活性[M]. 北京: 科学出版社, 1976
士^o (Translated by Zhou L K). Soil enzyme activity[M]. Beijing Science Press, 1976
- [3] 沈慧, 姜凤岐, 杜晓军, 等. 水土保持林土壤肥力及其评价指标[J]. 水土保持学报, 2000, 14(2): 60- 65
Shen H, Jiang F Q, Du X J et al. Study on soil fertility of water and soil conservation forest and its evaluation indexes[J]. J. of Soil and Water Conservation, 2000, 14(2): 60- 65
- [4] 张成娥, 陈小利. 黄土丘陵区不同撂荒年限自然恢复的退化草地土壤养分及酶活性特征[J]. 草地学报, 1997, 5(3): 195- 199
Zhang C E, Chen X L. Characteristics of soil enzymatic activity and nutrient of pasture from abandoned field in different years on the loess hilly areas [J]. Acta Agrestia Sinca, 1997, 5(3): 195- 199

[下转第 749 页]

- 40(4): 618- 6231
- [4] 曾木祥,王蓉芳,彭世琪,等. 我国主要农区秸秆还田试验总结[J]. 土壤通报, 2002, 33(5): 336- 339
Zeng M X, Wang R F, Peng S Q et al. Summary of returning straw in 2 to field of main agricultural areas in China[J]. Chinese Journal of Soil Science, 2002, 33(5): 336- 339
- [5] 李酉开. 土壤农化常规分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1984
Li Y K. Soil agrochemical routine analytical method [M]. Beijing: Science Press, 1984
- [6] 周礼恺,张志明. 土壤酶的测定方法[J]. 土壤通报, 1980(5): 37- 381
Zhou L K, Zhang Z M. Measurements of soil enzyme [J]. Chinese Journal of Soil Science, 1980(5): 37- 381
- [7] 赵兰坡,姜岩. 土壤磷酸酶测定方法的探讨[J]. 土壤通报, 1986, 17(3): 138- 1411
Zhao L P, Jiang Y. Discussion on measurements of soil phosphatase [J]. Chinese Journal of Soil Science, 1986, 17(3): 138- 1411
- [8] Vance E D, Brookes P C, Jenkinson D S. An extraction method for measuring soil microbial biomass C [J]. Soil Biol. biochem., 1987, 19: 703- 7071
- [9] Brookes P C, Powlson D S, Jenkinson D S. Phosphorus in the soil microbial biomass [J]. Soil Biol. Biochem., 1984, 16: 169- 1751
- [10] 时正元. 农田养分再循环研究. N. 作物秸秆养分的利用率 [J]. 土壤, 1993(6): 281- 2851
Shi Z Y. Study of nutrient recycling in farm land. N. Use efficiency of nutrient in crop straw [J]. Soils, 1993(6): 281- 2851
- [11] 何振立. 土壤微生物量及其在养分循环和环境质量评价中的意义[J]. 土壤, 1997(2): 61- 691
He Z L. Soil microbial biomass and the significance of its in nutrient circulation and environmental quality estimations [J]. Soils, 1997, (2): 61- 691
- [12] 李世清,任书杰,李生秀. 土壤微生物体氮的季节性变化及其与土壤水分和温度的关系[J]. 植物营养与肥科学报, 2004, 10(1): 18- 31
Li S Q, Ren S J, Li S X. Seasonal change of soil microbial biomass and the relationship between soil microbial biomass and soil moisture and temperature [J]. Plant Nutrition and Fertilizer Science, 2004, 10(1): 18- 231
- [13] 唐玉霞,贾树龙,孟春香,等. 土壤微生物生物量氮研究综述 [J]. 中国生态农业学报, 2002, 10(2): 76- 781
Tang Y X, Jia S L, Meng C X et al. A summary of soil microbial biomass nitrogen [J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2002, 10(2): 76- 781
- [14] 黄敏,吴金水,黄巧云,李学垣. 土壤磷素微生物作用的研究进展 [J]. 生态环境, 2003, 12(3): 366- 3701
Huang M, Wu J S, Huang Q Y, Li X Y. Process in research on microbial action of soil phosphorus [J]. Ecology and Environment, 2003, 12(3): 366- 3701
- [15] 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- 12641
- [16] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 19861
Guan S Y. Soil enzyme and methods for studying soil enzyme [M]. Beijing: Agricultural Press, 19861
- [上接第 741 页]
- [5] 周礼恺. 土壤酶学 [M]. 北京: 科学出版社, 1987
Zhou L K. Soil enzyme [M]. Beijing: Science Press, 1987
- [6] Nor Y M. Soil urease activity and kinetics [J]. Soil Biol. and Biochem., 1982, 14: 63- 651
- [7] Zantua M I, Dumenil L C, Bremner J M. Relationships between soil urease activity and other soil properties [J]. Soil Sci. Soc. Am. J., 1977, 41: 350- 3521
- [8] 和文祥,朱铭莪. 温度和底物对陕西土壤脲酶活性的影响 [J]. 西北农业大学学报, 1998, 25(5): 15- 181
He W X, Zhu M E. Effect of temperature and substrate concentration on urease activity in Shaanxi major soils [J]. Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalis, 1998, 25(5): 15- 181
- [9] 张一平,张福锁,樊小林. 二十一年长期土壤培肥定位试验的启示 [R]. 陕西杨凌, 19981
Zhang Y P, Zhang F S, Fan X L. Inspiration of a 21 years fixed fertilization experiment [R]. Shaanxi Yangling, 19981
- [10] 中国科学院南京土壤研究所. 土壤理化分析 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 19811
Institute of Soil Science, CAS. Analysis of soil physical and chemical properties [M]. Shanghai: Shanghai Sci. and Tech. Press, 19811
- [11] 关松荫. 土壤酶及其研究法 [M]. 北京: 农业出版社, 19861
Guan S Y. Soil enzyme and its research methods [M]. Beijing: Agricultural Press, 19861
- [12] 朱铭莪,白红英,代伟,等. 陕西几种土壤过氧化氢酶的动力学和热力学特征 [J]. 西北农业大学学报, 1989, 17(1): 20- 251
Zhu M E, Bai H Y, Dai W et al. Catalase's dynamic and thermodynamic of several soils in Shaanxi [J]. Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalis, 1989, 17(1): 20- 251
- [13] 刘春生,曹正梅,李红光,等. 不同培肥措施对潮土酶活性影响的研究 [J]. 山东农业大学学报, 1998, 29(3): 365- 3741
Liu C S, Cao Z M, Li H G et al. Effects of different fertilizing measures on enzyme activities in Chao soil [J]. J. of Shandong Agric. Univ. 1998, 29(3): 365- 3741
- [14] 和文祥,朱铭莪. 陕西土壤脲酶活性与土壤肥力关系分析 [J]. 土壤学报, 1997, 34(4): 392- 3981
He W X, Zhu M E. Relationship between urease activity and fertility of soils in Shaanxi province [J]. Acta Pedologica Sinica, 1997, 34(4): 392- 3981