DOI：10.11766/trxb201711270354

保存过程对土壤生化指标的影响及保存土样的应用*

陈雅涵　谢宗强†

（中国科学院植物研究所植被与环境变化国家重点实验室，北京　100093）

摘　要　土壤样品的生化指标反映了样品采集时期的生态与环境信息，具有极为重要的科学研究价值。样品的生化指标在保存过程中是否发生变化，是保存样品应用中应关注的重点问题。本文总结了各类土壤生化指标在不同保存条件、保存时间下的变化，表明长期保存的土壤样品适用于全量元素含量测定、土壤微生物群落结构分析、DNA/RNA序列分析、土壤污染物分析和土壤酶活性的比较研究，而土壤速效成分以及呼吸、硝化等代谢过程相关指标则不宜采用保存土样。土样长期保存应采用风干、磨口玻璃瓶密封、常温保存的方式。保存土样应用过程中应注意避免取样、分析时的环境污染，采用合适的分析测试技术，并考虑不同类型土壤保存效应的差异。随着分析技术的发展，保存土样中更多的历史环境信息将得以发掘，发挥出更大的科研价值。

关键词　土壤样品库；保存条件；土壤化学；土壤微生物；土壤酶

中图分类号　S153；S154　　**文献标识码**　A

土壤是地球生物圈的重要组成部分，与有机生命和无机环境均有密切联系，是物质循环和能量转化的活跃场所。土壤的生化指标定量反映了土壤系统的各项功能，例如营养物质与水分的含量、土壤生物与酶的活性、污染物的吸附与转化等，反映了土壤的肥力、物质循环与能量流通的水平、净化能力等。土壤生化指标对生态系统结构与功能、生物地球化学循环的理论研究以及农业、林业生产实践均有重要的意义[1-2]。

针对不同的研究目的和测试指标，土壤样品需要经过不同的前处理和一段时间的保存后进行测试[3]。土壤样品保存的时间从数天至上百年不等。样品需要进行短期保存的原因通常是由于采集样品的野外缺乏实验条件，或由于土壤具有异质性，需要经过风干、混匀、过筛等处理再进行测试，因此样品需短期保存与处理再进行测试，保存时间通常为数天至数月。针对特定的研究需求，土壤样品也需要经过长时间的保存，长达数年甚至上百年，例如：土壤类标准样品需要进行长期稳定的保存，保证元素价态和形态分析、持久性有机污染物等指标的稳定性[4]；土壤普查样品需要长期保存，保障数据复查与保存土壤环境资源信息[5]；生态学与环境科学长时间序列的比较研究[6-10]也促进了土壤样品长期保存的需求。

目前世界各地建有多个大规模的土壤样品库，例如英国洛桑实验站保存了1843年以来多个定位实验的超过30万份土壤和植物样品[11]，荷兰瓦格宁根大学和研究中心保存了1879年以来多个研究

* 科技基础性工作专项（2015FY210200，2015FY1103002）资助 Supported by the State Special Program for Basic Work of Science and Technology (Nos. 2015FY210200，2015FY1103002)

† 通讯作者 Corresponding author，E-mail：xie@ibcas.ac.cn

作者简介：陈雅涵（1984—），女，湖北人，博士，高级工程师，主要从事生态化学计量学研究。E-mail：yhchen@ibcas.ac.cn

收稿日期：2017-11-27；收到修改稿日期：2018-03-13；优先数字出版日期（www.cnki.net）：2018-04-20

项目的土壤、作物和肥料，其中土壤样品约25万份[12-13]。国内也有多个覆盖全国各土壤类型的大规模土壤样品库，例如中国科学院南京土壤研究所土壤标本馆建立于1953年，收藏有研究用瓶装标本约5万件[14]；中国环境监测总站的国家临时土壤样品库建于2010年，保存了全国“七五”土壤普查背景值样品约1.5万份，土壤调查样品超过5万份[5]；中国科学院植物研究所自然生态系统样品库建于2011年，保存了全国典型生态系统土壤与植物样品超过10万份，其中土壤样品约5万份[15]。

样品库中土壤样品的生化指标反映了样品采集时期的生态与环境信息，具有极为重要的科学研究价值，但样品保存过程中生化指标是否发生变化是保存样品应用中应关注的重点问题[16]。目前对保存样品的应用存在争议，有研究认为土壤保存对土壤生化指标有影响，不适用于长时间序列的比较研究[17-18]，也有研究认为尽管土壤保存后生化指标会发生显著变化，但不同环境因素下采集的土壤之间仍存在差异，保存土壤仍可应用于研究环境因素对土壤功能的影响[12, 19]。

由于各组织建设土壤样品库的目的不同，保存方法和保存时间也有所差别，必须了解样品在不同保存过程中生化指标发生的变化，以指导土壤保存样品在科学研究中的应用。土壤样品有多种保存方法，包括保存温度、土壤状态等方面。常见的样品保存温度包括−85℃冷冻、−20℃冷冻、4℃冷藏以及20~25℃常温保存。土壤状态包括样品是否风干、样品过筛粒径等。本文总结了各类土壤生化指标在不同保存方法、保存时间下的变化，并据此提出土壤保存样品适用的研究范围以及应用保存样品需要注意的问题。

1 土壤生化指标保存后的变化

1.1 土壤碳、氮、磷元素

土壤碳、氮、磷元素与土壤肥力密切相关，是碳、氮、磷循环的重要组成部分。碳、氮、磷的全量元素含量在风干土壤长期保存过程中保持稳定。例如风干土壤的全碳、全氮含量在保存4年、16年、32年后无显著变化[16, 20-21]，风干土壤的全氮含量在保存37年后无显著变化[22]，风干土壤的全磷含量在保存41年后无显著变化[17]（表1）。

土壤有机碳含量也比较稳定。研究表明保存2年以上的风干土壤，无论常温避光、4 ℃冷藏或－20 ℃冷冻保存，土壤有机质均无显著变化[23-24]。土壤有机碳根据在酸、碱溶液中溶解度的差异，分为富里酸、胡敏酸等组分，富里酸和胡敏酸的化学稳定性高，分解速率非常缓慢，较老的胡敏酸的平均停留时间可达780~3 000年，富里酸的平均停留时间为200~630年[1]；核磁共振碳谱（^{13}C-NMR）的研究结果显示，风干保存103年的土壤，富里酸和胡敏酸的分布与新鲜采集并风干的土壤无显著差异[25]。

土壤氮的两个重要组分铵态氮与硝态氮保存后变化较大，一般采用新鲜土壤测试。鲜土若需要保存一段时间后再测试，冷冻较冷藏保存的测试结果稳定，且保存时间不宜超过45天[26-29]。

与土壤碳、氮的转化相关的土壤呼吸作用、硝化作用、反硝化作用等土壤代谢过程也宜用新鲜土壤测试。即使是短期（<8个月）冷藏或冷冻保存的土样，其土壤呼吸作用、硝化作用、反硝化作用以及反映代谢活性的三磷酸腺苷(ATP)含量均有显著变化且无一定规律[30-34]。

1.2 土壤金属元素与pH

土壤金属元素离子以可溶态、交换态、结合态等多种形态存在，其赋存状态和化学转化过程与土壤发生过程、微生物活性、植物根际化学等均有关，与土壤pH也密切相关。

多项研究均发现风干土壤长期（16年、20年、37年、41年、69年）保存后pH有显著下降，但不同类型的土壤pH下降程度不一致。有研究认为酸性土壤、有机质丰富的土壤pH下降更显著[16-17, 20]，也有研究认为碱性土壤pH下降更显著[35]（表1）。

土壤可交换金属离子在保存过程中的变化没有一定规律，故不适宜使用保存土样测定金属离子浓度。Blake等[20]研究发现风干土壤保存16年后钙、镁、钠离子浓度无显著变化，锰离子浓度则是保存前的两倍。Berndt[36]发现风干处理和保存过程均使锰离子浓度显著增加。随着保存时间的延长，风干土壤保存32年后，钙、镁离子仍无显著变化，钠、钾离子显著变化，锰离子浓度仍是保存前的两倍[16]。土壤金属离子的不同价态、不同形态之间也会发生相互转化，即使是短期（<28天）

保存过程中金属离子的价态、形态变化也无一定规律[37]。

金属元素总量则相对稳定。保存30个月（常温或−20℃）的风干土壤汞、锌、铜含量与初值无显著差异[24]，烘干、灭菌、密封保存12个月的土壤标准样品砷、铝、钡、铜、钴、铁、锰、镍、铅、钛、钒等21种重金属含量均保持稳定[38]。

1.3　土壤酶

土壤中的酶来自土壤微生物、土壤动物、植物根系与植物残体等，包括水解酶、裂解酶、氧化还原酶、转移酶等多种类型[1]。

不同种类的酶经过土壤保存过程后，酶活性通常有所下降。有研究认为土壤样品风干导致多数酶活性显著下降[32, 39]，随着风干土壤保存时间的延长，酶活性继续降低[40-41]（表1）。

但也有研究认为酶活性在风干保存过程中损失较小，即使酶活性有所下降，不同类型土壤酶活性的差异仍得以保留，可应用于对比研究。赵颖等[42]认为风干土壤的脲酶、蔗糖酶、多酚氧化酶活性与新鲜土壤无显著差异，即使长期保存，酶活性损失通常较小；Dadenko等[40]的研究表明，风干土壤和新鲜土壤在不同的保存条件下，经过7年的保存，过氧化氢酶、蔗糖酶、脱氢酶活性均降到较低水平，但酶活性的降低主要发生在保存初期，3个月后趋于稳定，且下降程度与保存条件无关，不同类型土壤酶活性的差异得以保留，保存土壤仍可应用于大范围的对比研究。

1.4　土壤微生物

土壤微生物是土壤中活跃的生物组分，其数量巨大、种类繁多，对土壤微生物的研究包括从整体角度考虑的土壤微生物量，从生物活性角度考虑的微生物代谢活性，以及从系统发生角度考虑的微生物群落结构等。有研究拟合了土壤微生物呼吸速率与样品保存时间（14年至103年）的线性关系，推导出土壤样品风干保存240年后土壤微生物仍具有活性[25]，但长期保存的风干土壤能否用于微生物的定量研究目前仍存在不同结论。

首先干燥处理过程对土壤微生物的影响有不同结论。有研究表明样品干燥后重新加水培养微生物量与微生物群落结构均会发生显著改变[18, 43]，也有研究表明微生物量显著变化而微生物群落结构无变化[44]，或总磷脂脂肪酸（PLFA，土壤微生物量的指标）无显著变化而微生物群落结构改变[33, 45]（表1）。

土壤保存过程对微生物的影响也存在不同结论。有研究认为与新鲜土壤比较，保存4个月的风干土壤和低温冻存土壤微生物代谢能力降低、多样性降低、群落结构改变[46]。基于分子技术提取土壤RNA/DNA分析微生物群落结构则发现在不同温度下保存14天以内的土壤微生物群落结构无显著改变[47-48]，保存50年以上的风干土壤与新鲜土壤比较即使微生物量和微生物群落结构会发生变化，分子生物学方法也可以提取足够的信息，进行长时间序列的土壤微生物研究[12, 19, 49-50]。

尽管风干保存过程对土壤微生物的影响存在不同研究结论，采用合适的土壤类型和分析方法，保存土样仍可应用于土壤微生物的研究。首先土壤微生物对干燥具有适应性，尤其是干旱地区的土壤，微生物受干燥处理影响较小。因为自然条件下土壤都会经历长时间的干燥或反复的干燥、湿润过程，土壤微生物活动在土壤干燥时中断，重新湿润时可迅速恢复[25]。研究表明干旱土壤中的微生物活性和微生物群落结构对土壤干燥处理更不敏感[51-52]。其次由于土壤中核酸物质的稳定性，采用分子生物学技术可充分提取土壤微生物群落结构信息。研究表明土壤在4℃、湿润和黑暗条件下储存4年，DNA仍有转化活性[53]；自然条件下固定在土壤黏粒表面的DNA可抗核酸酶的降解而在环境中持久存在[1]。土壤中核酸分子的稳定性使利用分子技术分析保存土样中的微生物信息成为可能。

1.5　土壤有机污染物

土壤中的有机污染物来自工业废水排放、大气沉降、农药肥料施用、生活污水排放与生化垃圾堆放等多种途径，部分有机污染物可通过生物吸收、降解等净化，部分则被土壤颗粒吸附而不断累积，在环境中滞留时间长，极难降解，这部分污染物称为持久性有机污染物 (Persistent organic pollutants, POPs)。《关于持久性有机污染物的斯德哥尔摩公约》（简称《POPs公约》）列出了26种持久性有机污染物[54]，随着化工技术与分析鉴定技术的发展，许多新型有机污染物不断从各种环境介质中被发现，POPs的种类还在不断增加中[55]。

POPs在土壤中的稳定性已得到实验证实。灭

菌密封保存的干燥土壤标准物质在12个月有效期内有机氯农药含量稳定[56]；−85℃冷冻保存的土壤样品有机氯农药和有机磷农药含量保存5年以上无显著改变[57]；英国洛桑实验站1881年采集的风干土壤样品密封保存至1996年分析，检出了多氯代二苯并二噁英(PCDDs)/ 多氯代二苯并呋喃(PCDFs)的含量，且排除了空气污染、容器污染的可能[58]（表1）。

目前对土壤污染物的研究多关注于城郊、工矿、农田等人类活动密集的地区，但由于污染物可通过大气、水远距离乃至全球性传播（“蚱蜢跳”效应）[59-60]，远离人类活动的自然生态系统土壤也受到POPs污染。保存的自然生态系统土壤保留了样品采集时环境污染物的信息，是POPs迁移、扩散、蓄积的重要研究对象。

表1 土壤生化指标在保存过程中的变化

Table 1 Changes in soil biochemical properties during storage

生化指标 Biochemical properties	保存条件 Storage condition	保存时间 Storage history	指标变化 Changes in biochemical properties
全碳、全氮、全磷	风干	4～32年	风干土壤保存前后全碳、全氮无显著变化[16, 20-21]
	风干	37年	风干土壤保存前后全氮无显著变化[22]
	风干	41年	风干土壤保存前后全磷无显著变化[17]
有机碳/有机质	风干保存后重新加水培养	103年	水溶性有机碳约为鲜土的两倍，其他组分的分布与鲜土无显著差异[25]
	常温/4℃	2年	风干土壤保存前后有机质无显著变化[23]
	常温/−20℃	2.5年	风干土壤保存前后有机质无显著变化[24]
	鲜土4℃	14月	鲜土保存前后可溶性碳(0.5mol L^{-1} K_2SO_4提取)无显著变化[61]
	20℃风干/4℃冷藏/−20℃冷冻	40天	三种保存方法水溶性有机碳变化趋势一致，前20天有所下降，其后渐趋稳定[62]
铵态氮、硝态氮	4℃/−20℃/风干	30天	保存对铵态氮、硝态氮、硝化势影响不一[33]
	风干/−19℃	10天	硝态氮较鲜土增加，铵态氮变化不规律[29]
	4℃/18℃	60天	鲜土冷冻保存45天内硝态氮无显著变化，冷藏保存7天内硝态氮无显著变化；随保存时间延长，硝态氮显著增加[26]
	风干后4℃保存	8月	强烈风干后保存土壤反硝化作用较稍微风干土壤显著增加[34]
pH	风干	8～69年	与风干土壤比较，保存后pH变化范围+0.23～−0.43，多数样品pH下降，酸性样品下降更多[16]
	风干	16年	与风干土壤比较，保存后pH最多下降0.2，尤其是原始pH<4.5的酸性土壤[20]
	风干	37年	与风干土壤比较，保存后pH下降0.5，但测试方法不一致，保存前用水浸提，保存后用$CaCl_2$溶液浸提[22]
	风干	20～41年	与风干土壤比较，保存后pH下降[17]
	风干、过2 mm筛、密封室温保存	20年	与风干土壤比较，保存后酸性至中性土壤pH下降0.3，但不显著；碱性土壤pH下降0.63，差异显著[35]
	鲜土4℃	14月	与鲜土比较，保存后pH下降[61]
可交换金属离子	风干	16～32年	与风干土壤比较，保存后Ca^{2+}、Mg^{2+}无显著变化；K^+增加10%~15%，但分析方法改变；Mn^{2+}增加100%[16, 20]
	风干	20～41年	与风干土壤比较，保存后可交换阳离子显著增加，尤其是有机质丰富的土壤[17]

续表

生化指标 Biochemical properties	保存条件 Storage condition	保存时间 Storage history	指标变化 Changes in biochemical properties
金属元素总量	常温/−20℃	30月	风干土壤汞（牛皮纸袋装红壤除外）、锌、铜含量与初值无显著差异[24]
	80℃烘干，^{60}Co辐照灭菌	12月	土壤标准样品砷、铝、钡、铜、钴、铁、锰、镍、铅、钛、钒等21种重金属含量稳定[38]
酶活性	风干	210天	与鲜土比较，风干保存土壤二乙酸荧光素（FDA）酶活性显著降低，脱氢酶活性变化较小；风干土保存210天后与保存30天后比较，转化酶活性显著降低，脲酶活性变化较小[41]
	风干	-	与鲜土比较，风干土壤脲酶、蔗糖酶、多酚氧化酶活性无显著差异；风干后即使延长存放时间，酶活性损失通常很小[42]
	4℃/−20℃/−80℃	28天	与鲜土比较，保存土壤多数酶活性均显著下降[32]
	风干室温/风干4℃/鲜土4℃/鲜土−5℃	24周 ~ 50年	与鲜土比较，保存土壤酶活性显著下降。不同保存方式下，酶活性均在前2~3个月有显著变化，12周后趋于稳定[40]
	风干/冷冻	16周	与鲜土比较，冷冻保存土壤酶活性下降<30%，风干保存土壤酶活性下降>50%[39]
	风干室温	6 ~ 9月	与鲜土比较，保存6个月酸性磷酸酯酶、脲酶、葡糖苷酶活性无显著变化；保存9个月，仅采自降雨量大地区的土壤有变化[63]
微生物量/微生物代谢活性	风干保存后重新加水培养	2 ~ 83年	重新加水培养2天后，ATP仅恢复至鲜土的14%~57%；风干土在保存12年之后，微生物呼吸改变很小，说明微生物的减少仅在保存的早期发生[25]
	40℃干燥研磨，室温保存	50年	干燥和研磨会导致土壤微生物量和微生物碳的大幅下降[13]
	风干	3年	风干土壤加水恢复培养后，与培养前比较，氨氧化古菌与细菌数量增加[44]
	鲜土4℃/−18℃/−140℃；风干21℃	20月	与鲜土比较，保存土壤ATP、产热量大幅下降；FDA无变化；风干使上述指标显著下降，不同保存温度下的保存效果差异不显著[64]
	鲜土过2 mm筛后4℃保存	14月	鲜土保存前后微生物碳（熏蒸提取方法）无显著变化[61]
	2° C /−20° C	13月	与鲜土比较，冷冻保存土壤微生物碳（基质诱导呼吸方法）无显著变化[65]
	−70℃冷冻干燥	1年	与鲜土比较，冷冻保存土壤PLFA下降超过28%[66]
	风干室温	6~9月	与鲜土比较，风干土壤保存6个月微生物生物量碳、基础呼吸、代谢熵无显著变化；保存9个月，仅采自降雨量大地区的土壤基础呼吸、代谢熵有变化[63]
	鲜土4℃/鲜土−20℃/风干4℃	32周	保存条件对不同类型土壤的测试结果影响不一致。4℃的保存效果较好[31]
	4℃风干/−20℃	4月	与鲜土比较，保存土壤微生物群落对碳源的利用能力大大降低，风干保存和低温冻存对微生物碳源利用能力的影响没有显著差异[46]
	4℃/−18℃	2月	鲜土4℃保存2个月内ATP无变化，−18℃保存2个月ATP下降至74%~80%[30]
	风干4℃/鲜土−20℃	2月	与鲜土比较，保存土壤微生物代谢活性均大幅下降[43]

续表

生化指标 Biochemical properties	保存条件 Storage condition	保存时间 Storage history	指标变化 Changes in biochemical properties
微生物量/微生物代谢活性	20℃风干14天后重新加水湿润	48天	与40%含水率的湿润土壤比较，干燥处理后的土壤DNA无显著变化；细胞数下降56%；基质诱导呼吸与荧光分析方法测量微生物量增加，但加水恢复后降至与参比土样无显著差异[18]
	风干/4℃/−20℃	30天	除个别情况外，保存对总PLFA无显著影响[67]
	4℃/−20℃/风干	30天	除个别情况外，保存对总PLFA无显著影响[33]
	风干/4℃/−20℃/−80℃	28天	与鲜土比较，保存土壤FAMEs、总DNA、微生物量均显著下降[32]
	风干/风干后冷冻/冷藏	15天	与鲜土比较，保存土壤PLFA无显著变化[45]
微生物多样性/群落结构	40℃干燥然后研磨，室温保存	50年	通过提取土壤rRNA，发现不同施肥条件下微生物群落结构的系统差异[12, 49]
	风干	3年	风干土壤与加水恢复培养土壤微生物物种组成无显著差异[44]
	42℃干燥后20℃/15℃保存	120天	干燥与保存影响微生物群落结构，但不影响分析各个因素对群落结构的效应[19]
	风干/冷冻	16周	与鲜土比较，冷冻保存土壤微生物群落结构无变化[39]
	风干4℃/−20℃	4月	与鲜土比较，保存土壤多样性、均匀度和Simpson指数均降低[46]
	风干4℃/鲜土−20℃	2月	与鲜土比较，保存土壤微生物群落结构改变[43]
	直接保存/LifeGuard/DESS保存液中4℃/30℃保存	30天	直接保存和DESS保存液中保存的土壤DNA片段数量和微生物群落结构与鲜土无显著差异[68]
	4℃/−20℃/风干	30天	与鲜土比较，保存土壤微生物多样性指数增加，各类群微生物相对丰度有变化[33]
	风干/4℃/−20℃	30天	与鲜土比较，保存土壤微生物群落结构基本无变化[67]
	风干/风干后冷冻/冷藏	15天	与鲜土比较，保存土壤微生物群落结构显著改变，风干比冷冻对群落结构的改变更显著[45]
	20℃/4℃/−20℃/−80℃	14天	与鲜土比较，保存土壤微生物群落结构与多样性无显著变化，各类群相对丰度无影响[48]
	室温/4℃/−22℃/−80℃	11天	与鲜土比较，保存土壤微生物群落无显著变化[47]
污染物	−85℃	5年	冷冻土壤保存前后有机氯农药和有机磷农药无显著变化[57]
	^{60}Co辐照灭菌，密封避光	12月	干燥土壤保存前后有机氯农药稳定[56]
	20℃风干14天后重新加水湿润	48天	与40%含水率的湿润土壤比较，干燥处理后的土壤甲霜灵和氯芬奴隆半衰期延长（降解变慢）[18]

2　土壤样品保存方法

土壤样品根据预计保存时间、分析测试目的的不同，应适用不同的保存方法。保存方法包括样品的处理状态，如过筛粒径、是否风干、是否研磨等，以及保存条件，如样品容器的选择、环境温度、湿度等。

样品的处理状态与土壤生化指标的稳定性有密切联系。其中土壤过筛的粒径会对土壤微生物活性有影响。小粒径样品中微生物活动更活跃[31]，从而影响保存效果；而大粒径样品影响取样的均匀性。按照土壤的定义以及土壤样品生化分析的需求[3]，通常土壤样品库以保存过2 mm筛的土壤样品为主。土壤样品风干后保存或湿润状态下保存，土壤速效成分、微生物代谢活性均会发生改变，因此这些指标应使用新鲜土壤测定，或新鲜土壤低温状态保存后尽快测定[43, 69-70]。长期存档的样品适宜风干后保存，以减少土壤中微生物活动，延缓土壤中化学物质分解速率[18, 64]，保存尽可能多的土壤生化指标。

样品保存条件中环境温度的选择尤为重要，应根据保存时间和分析目的的不同选择合适的保存温度。短期（<8个月）保存的土壤样品，各类生化指标在不同保存温度下的保存效果并不一致，因此短期保存且有明确测试目的的样品应根据测试指标选择保存温度。例如测定铵态氮、硝态氮、可交换离子的样品，冷冻保存效果优于冷藏、常温保存[26-28, 36]；测定微生物生物量碳、呼吸的样品，冷藏保存效果则优于冷冻保存[31]；测定三价铁还原性的土壤，22℃常温保存效果则优于冷藏保存[71]；测定酶活性的样品，针对不同的酶、不同类型的土壤，均有不同的最适保存温度使酶活性变化最小[40]。随着保存时间的延长，长期保存的样品在不同保存温度下生化指标的变化趋于一致，保存温度对保存效应的影响不明显[21, 40, 64]。考虑到样品长期保存的成本与管理因素，长期存档的样品适合常温保存。

3　保存土样的应用

3.1　保存土样的应用范围

保存土样生化指标在保存过程中的变化如表1所示，保存土样中碳、氮、磷及金属元素的全量元素含量保持稳定，土壤微生物可应用分子技术提取DNA/RNA序列分析微生物群落结构，土壤POPs难以降解可在土壤样品中长期存在，因此长期保存的土壤样品可适用于这几方面的研究。土壤酶活性尽管在保存过程中会下降，但Dadenko等[40]的研究表明，酶活性下降仅发生在保存初期，其后保持稳定，不同种类酶的活性差异得以保留，保存土样仍可应用于大范围的对比研究。

土壤速效成分以及呼吸、硝化等代谢过程相关指标在短期保存过程中有显著变化且无一定规律，建议若条件允许使用新鲜土壤测试。土壤pH在多数保存土样中均下降，不同种类的土壤下降程度不一致，因此土壤pH的长时间序列的比较研究应选用同一类型的土壤。

除应用保存土样进行各类生化指标的定量分析外，保存土样也可用于定性分析。随着化学分析技术手段的发展，保存土样中各类化学物质、微生物群落留存的历史环境信息将得到进一步的揭示。

3.2　保存土样的应用实例

英国洛桑实验站，拥有最早且规模最大的土壤样品库，其保存土样应用于多项长时间序列的研究。例如1949/1950年采集的保存土样与同一地点重新采集土样的pH、可交换阳离子、有机碳含量、氮含量进行比较，发现了采样地区土壤化学性质的长期变化，且土壤酸化主要与地上植被类型有关，土壤碳库与氮库的增加主要与O层的厚度增加有关[22, 72-74]。Blake和Goulding[75]分析了自1876年开始多次采集存档的保存土样，揭示了土壤重金属累积的过程和主要影响因素。Blake等[76]分析了自1843年开始6个长期实验样地的保存土样，揭示了长期的磷添加（通过施肥）或磷减少（通过移除地上农作物）对土壤磷元素不同组分的影响。

荷兰瓦格宁根大学和研究中心的土壤样品库（TAGA）也拥有保存上百年的土壤样品。Knapp等[77]提取TAGA保存土样中的微生物DNA/RNA并分析抗生素抗性基因的丰度，发现自20世纪40年代开始，随着医学与农业领域抗生素的大规模生产和使用，土壤中抗生素抗性基因丰度大幅度增加，部分抗生素抗性基因丰度增加超过15倍。

保存土样也用于研究环境中污染物的来源分布与变化趋势。例如短链氯化石蜡(SCCPs)于2017

年增列入《POPs公约》附件A中，中链氯化石蜡(MCCPs)迄今受到的关注较少，此前由于技术分析手段的限制，没有早期的历史数据可供比较。Bogdal等[78]利用保存的瑞士土壤，分析1989—2014年间土壤中SCCPs、MCCPs的变化趋势，发现SCCPs浓度自1994年开始下降，反映了欧洲控制SCCPs生产使用以来的正面效应，但MCCPs浓度仍在持续增加中，需要引起更多的重视。Covaci等[79]对大气-水-土壤系统的保存样品进行α-HCH（六六六）的对映体分析，研究阐述了α-HCH的来源分布。由于手性农药的对映异构体往往具有不同的生物活性、毒性、环境行为及残留风险性，对映体分析提供了污染物来源、扩散途径、分布等更进一步的信息。

3.3 保存土样应用的注意事项

保存土样应用时应注意以下几方面的问题：避免样品污染，选用合适的分析方法以及考虑不同类型土壤的保存效应。

首先应注意避免样品受到污染。样品污染有以下几种可能途径：（1）样品保存时未完全密封，受到外界空气或灰尘污染；（2）储存容器的材料化学性质不稳定或含有杂质，污染样品；（3）样品取出分析时暴露在空气中受到污染[58, 80]。为避免样品污染应使用合适的储存容器并保证完全密封，使用磨口玻璃瓶并用石蜡封口是合适的保存方式；样品取出时应在无尘无菌环境中操作；取出样品尽快完成分析测试以减少样品暴露在当前环境中的时间。

选用合适的分析方法是获得稳定可靠的土壤生化指标的保证。应用保存土样进行比较分析的重要优势是保证分析测试方法的一致性。由于分析技术手段的限制，有些土壤生化指标的历史数据可能采用和现代不一样的技术方法得到，因而不能直接和现阶段的分析数据相比较[20, 22]。针对保存过程中保持稳定的生化指标，将保存土样与新鲜采集土样采用同样的方法测试，可以有效避免分析技术、仪器设备前后不一致的问题，减少系统误差。但应注意的是，即使是样品保存过程中保持稳定的生化指标，如果采用的分析方法不恰当，也无法得到稳定的测试结果，保存后的测试数据无法反映保存前的土壤状态。例如土壤中的有机污染物，在保存过程中难以降解，性质稳定，但随着时间的推移，会与土壤腐殖质紧密结合形成结合态残留，解析率与可提取态残留物明显减少，若采用传统的溶液浸提方式无法充分提取土壤中的污染物[1, 81]。又例如土壤微生物碳有多种检测方法，如熏蒸培养、基质诱导呼吸、ATP分析、PLFA分析等，采用不同的方法可能对土壤微生物碳做出不同的估计，保存土样中微生物经过休眠，即使重新培养也难以恢复保存前的代谢活性，ATP分析等基于微生物代谢过程的方法结果不稳定，PLFA分析则是较为稳定的分析方法[18, 25, 30, 33, 65, 68, 70]。

此外应考虑不同类型土壤的保存效应，针对某一指标的比较研究，应选用其他指标一致的同类型的土壤样品。由于土壤形成因素与形成过程的不同，采自不同地点或同一地点采集的不同深度的土壤具有不同的组成、结构与生化性质。不同类型的土壤在同样的保存过程中，生化指标可能发生不同程度的变化。例如土壤中腐殖质和黏粒含量影响污染物的降解速率和存在状态[1, 81]；土壤pH和矿物组成影响土壤有机质的稳定性、重金属的赋存状态、土壤对重金属的吸附能力等[1, 82-83]；土壤有机碳含量影响土壤微生物在保存土壤中的存活率[25]。

4 展 望

除本文总结的几大类常见生化指标外，利用现有的技术手段，土壤样品还可以进行多方面的分析。例如土壤矿物质的晶体结构与化学成分、腐殖酸的化学结构与吸附解析特性、各类生物大分子如木质素、纤维素、蛋白质的含量等，均为土壤的发生、形成过程、功能提供更多研究信息。土壤样品库在做好样品保存的同时，应充分利用已有分析技术，跟踪检测各类生化指标的变化，为保存土样的应用提供更多依据。

随着未来技术的发展，土壤科学也面临快速的发展，新技术将促进土壤观测与认识的飞跃，保存土样将发掘出更多的利用价值。例如近红外光谱分析技术可以对样品进行无损分析，最大限度地利用保存土样测定各类化学组分[84]；宏蛋白质组学技术可应用于考察土壤微生物的生态功能[85]；同位素分析技术、胶体化学方法、NMR电子显微镜、X射线衍射、质谱等技术，与计算化学模拟相结合，

为土壤微观结构、化学组成与转化的研究提供了更多可能[86]。

参 考 文 献

[1] 黄巧云，林启美，徐建明. 土壤生物化学. 北京：高等教育出版社，2015
Huang Q Y，Lin Q M，Xu J M. Soil biochemistry（In Chinese）. Beijing：Higher Education Press，2015

[2] 朱鹤健，陈健飞，陈松林，等. 土壤地理学. 北京：高等教育出版社，2010
Zhu H J，Chen J F，Chen S L，et al. Soil geography（In Chinese）. Beijing：Higher Education Press，2010

[3] 鲍士旦. 土壤农化分析. 北京：中国农业出版社，2000
Bao S D. Analytical methods for soil and agrochemistry（In Chinese）. Beijing：China Agriculture Press，2000

[4] 田衍，周裕敏，邢书才，等. 土壤类标准样品的稳定性研究方法探讨. 理化检验（化学分册），2017，53（2）：201—204
Tian K，Zhou Y M，Xing S C，et al. Research method for stability of soil standard samples（In Chinese）. Physical Testing and Chemical Analysis（Part B：Chemical Analysis），2017，53（2）：201—204

[5] 赵晓军，孙聪，张朔，等. 土壤环境样品库建设及样品信息数据库管理. 中国环境监测，2016，32（4）：44—48
Zhao X J，Sun C，Zhang S，et al. Construction of soil sample database and management of sample iinformation database（In Chinese）. Environmental Monitoring in China，2016，32（4）：44—48

[6] Gruneberg E，Ziche D，Wellbrock N. Organic carbon stocks and sequestration rates of forest soils in Germany. Global Change Biology，2014，20（8）：2644—2662

[7] Keenan T F，Hollinger D Y，Bohrer G，et al. Increase in forest water-use efficiency as atmospheric carbon dioxide concentrations rise. Nature，2013，499（7458）：324—327

[8] Lange M，Eisenhauer N，Sierra C A，et al. Plant diversity increases soil microbial activity and soil carbon storage. Nature Communications，2015，DOI:10. 1038/ncomms 7707

[9] MacDougall A S，McCann K S，Gellner G，et al. Diversity loss with persistent human disturbance increases vulnerability to ecosystem collapse. Nature，2013，494（7435）：86—89

[10] Niu S L，Sherry R A，Zhou X H，et al. Nitrogen regulation of the climate-carbon feedback：Evidence from a long-term global change experiment. Ecology，2010，91（11）：3261—3273

[11] Storkey J，Macdonald A J，Bell J R，et al. The unique contribution of Rothamsted to ecological research at large temporal scales. Advances in Ecological Research，2016，55：3—42

[12] Dolfing J，Vos A，Bloem J，et al. Microbial diversity in archived soils. Science，2004，306（5697）：813

[13] Dolfing J，Vos A，Bloem J，et al. Microbial diversity in archived agricultural soils：The past as a guide to the future. Alterra，Wageningen，the Netherlands，2004

[14] 陈冬峰. 土壤标本的搜集整理及信息化管理. 南京：南京农业大学，2011
Chen D F. Collection，organization and information management of soil samples（In Chinese）. Nanjing：Nangjing Agricultural University，2011

[15] 生态系统固碳项目技术规范编写组. 生态系统固碳观测与调查技术规范. 北京：科学出版社，2015
Technical Manual Writing Group of Ecosystem Carbon Sequestration Project. Observation and investigation for carbon sequestration in terrestrial ecosystems（In Chinese）. Beijing：Science Press，2015

[16] Blake L，Goulding K W T，Mott C J B，et al. Temporal changes in chemical properties of air-dried stored soils and their interpretation for long-term experiments. European Journal of Soil Science，2000，51（2）：345—353

[17] Miller J D，Duff E I，Hirst D，et al. Temporal changes in soil properties at an upland Scottish site between 1956 and 1997. Science of the Total Environment，2001，265（1/3）：15—26

[18] Pesaro M，Nicollier G，Zeyer J，et al. Impact of soil drying-rewetting stress microbial communities and activities and on degradation of two crop protection products. Applied and Environmental Microbiology，2004，70（5）：2577—2587

[19] Tzeneva V A，Salles J F，Naumova N，et al. Effect of soil sample preservation，compared to the effect of other environmental variables，on bacterial and eukaryotic diversity. Research in Microbiology，2009，160（2）：89—98

[20] Blake L，Goulding K W T，Mott C J B，et al. Changes in soil chemistry accompanying acidification over more than 100 years under woodland and grass at Rothamsted Experimental Station，UK. European Journal of Soil Science，1999，50（3）：401—412

[21] 陈雅涵，谢宗强. 样品保存条件对土壤与植物全碳全氮含量的影响. 植物生态学报，2017，41（6）：

632—638
Chen Y H，Xie Z Q. Effects of storage conditions on total carbon and nitrogen contents of soil and plant samples（In Chinese）. Chinese Journal of Plant Ecology，2017，41（6）：632—638

［22］ Billett M F，Parkerjervis F，Fitzpatrick E A，et al. Forest soil chemical-changes between 1949/50 and 1987. Journal of Soil Science，1990，41（1）：133—145

［23］ 池靖. 土壤样品中有机质的保存方法及稳定性研究. 中国环境监测，1992，8（5）：1—2
Chi J. Research on storage methods and stability of organic matters in soil samples（In Chinese）. Environmental Monitoring in China，1992，8（5）：1—2

［24］ 岳巍，郑达英，郭同进，等. 环境背景值土壤、沉积物样品保存方法的研究. 中国环境监测，1991，7（1）：6—9
Yue W，Zheng D Y，Guo T J，et al. Research on storage methods of soil and sediment samples about environmental background values（In Chinese）. Environmental Monitoring in China，1991，7（1）：6—9

［25］ De Nobili M，Contin M，Brookes P C. Microbial biomass dynamics in recently air-dried and rewetted soils compared to others stored air-dry for up to 103 years. Soil Biology & Biochemistry，2006，38（9）：2871—2881

［26］ 陕红，张庆忠，张晓娟，等. 保存、分析方法等因素对土壤中硝态氮测定的影响. 分析测试学报，2013，32（12）：1466—1471
Shan H，Zhang Q Z，Zhang X J，et al. Effects of preservation，analysis method on determination of nitrate in soils（In Chinese）. Journal of Instrumental Analysis，2013，32（12）：1466—1471

［27］ Mian I A，Riaz M，Cresser M S. How stable are soils for the determination of available N? Communications in Soil Science and Plant Analysis，2011，42（8）：896—904

［28］ Esala M J. Changes in the extractable ammonium-nitrogen and nitrate-nitrogen contents of soil samples during freezing and thawing. Communications in Soil Science and Plant Analysis，1995，26（1/2）：61—68

［29］ 朱强，马丽，马强，等. 不同浸提剂以及保存方法对土壤矿质氮测定的影响. 中国生态农业学报，2012，20（2）：138—143
Zhu Q，Ma L，Ma Q，et al. Content of soil mineral nitrogen as influenced by sample extraction and preservation（In Chinese）. Chinese Journal of Eco-Agriculture，2012，20（2）：138—143

［30］ Arnebrant K，Baath E. Measurements of ATP in forest humus. Soil Biology & Biochemistry，1991，23（6）：501—506

［31］ Cernohlavkova J，Jarkovsky J，Negporova M，et al. Variability of soil microbial properties：Effects of sampling，handling and storage. Ecotoxicology and Environmental Safety，2009，72（8）：2102—2108

［32］ Lee Y B，Lorenz N，Dick L K，et al. Cold storage and pretreatment incubation effects on soil microbial properties. Soil Science Society of America Journal，2007，71（4）：1299—1305

［33］ 王娟. 稻田土壤碳氮转化与微生物群落结构及活性之间的联系机制. 杭州：浙江大学，2015
Wang J. The relationship of microbial community structure and activity to carbon and nitrogen transformations in paddy soil（In Chinese）. Hangzhou：Zhejiang Universtiy，2015

［34］ 续勇波，蔡祖聪，雷宝坤. 土样制备和保存方法对亚热带土壤反硝化的影响. 土壤，2008，40（6）：914—919
Xu Y B，Cai Z C，Lei B K. Effects of soil samples preparation and conservation on denitrification capacity in subtropical soils（In Chinese）. Soils，2008，40（6）：914—919

［35］ Prodromou K P，Pavlatou-Ve A S. Changes in soil pH due to the storage of soils. Soil Use and Management，1998，14（3）：182—183

［36］ Berndt G F. Effect of drying and storage-conditions upon extractable soil manganese. Journal of the Science of Food and Agriculture，1988，45（2）：119—130

［37］ 阎秀兰，陈同斌，廖晓勇，等. 土壤样品保存过程中无机砷的形态变化及其样品保存方法. 环境科学学报，2005，25（7）：976—981
Yan X L，Chen T B，Liao X Y，et al. Transformation of arsenic species in soil samples stored under different conditions：Recommended technique of soil sample storage for arsenic species analysis（In Chinese）. Acta Scientiae Circumstantiae，2005，25（7）：976—981

［38］ 田衍，杨珺，孙自杰，等. 矿区污染场地土壤重金属元素分析标准样品的研制. 岩矿测试，2017，36（1）：82—88
Tian K，Yang J，Sun Z J，et al. Preparation of soil certified reference materials for heavy metals in contaminated sites（In Chinese）. Rock and Mineral Analysis，2017，36（1）：82—88

[39] Wallenius K，Rita H，Simpanen S，et al. Sample storage for soil enzyme activity and bacterial community profiles. Journal of Microbiological Methods，2010，81（1）：48—55

[40] Dadenko E V，Kazeev K S，Kolesnikov S I，et al. Changes in the enzymatic activity of soil samples upon their storage. Eurasian Soil Science，2009，42（12）：1380—1385

[41] 赵炳梓，陈吉，张佳宝，等. 风干土保存时间和湿土培育时间对黄淮海平原潮土酶活性的影响. 土壤，2011，43（3）：418—425
Zhao B Z，Chen J，Zhang J B，et al. Effect of storage time of air-drying soil and incubation period following rewetting on soil enzyme activities in North China Plain（In Chinese）. Soils，2011，43（3）：418—425

[42] 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. 东北农业大学学报，2011，42（11）：126—130
Zhao Y，Shi X S，Zhou L R，et al. Effect of air-drying on enzyme activities of soil samples（In Chinese）. Journal of Northeast Agricultural University，2011，42（11）：126—130

[43] Cui H，Wang C H，Gu Z H，et al. Evaluation of soil storage methods for soil microbial community using genetic and metabolic fingerprintings. European Journal of Soil Biology，2014，63：55—63

[44] 周雪，黄蓉，宋歌，等. 风干土壤中氨氧化微生物的恢复. 微生物学报，2014，54（11）：1311—1322
Zhou X，Huang R，Song G，et al. Restoration of microbial annonia oxidizers in air-dried forest soils upon wetting（In Chinese）. Acta Microbiologica Sinica，2014，54（11）：1311—1322

[45] Liu Y Y，Yao H Y，Huang C Y. Assessing the effect of air-drying and storage on microbial biomass and community structure in paddy soils. Plant and Soil，2009，317（1/2）：213—221

[46] 周杨，崔航，朱红惠，等. 土壤样品长期保存对微生物群落代谢活性和功能类群的影响. 微生物学通报，2015（6）：1017—1024
Zhou Y，Cui H，Zhu H H，et al. Effects of long-term soil storage on the metabolic activity and functional groups of soil microbial community（In Chinese）. Microbiology China，2015（6）：1017—1024

[47] Brandt F B，Breidenbach B，Brenzinger K，et al. Impact of short-term storage temperature on determination of microbial community composition and abundance in aerated forest soil and anoxic pond sediment samples. Systematic and Applied Microbiology，2014，37（8）：570—577

[48] Lauber C L，Zhou N，Gordon J I，et al. Effect of storage conditions on the assessment of bacterial community structure in soil and human-associated samples. FEMS Microbiology Letters，2010，307（1）：80—86

[49] Moon-van der Staay S Y，Tzeneva V A，van der Staay G W M，et al. Eukaryotic diversity in historical soil samples. FEMS Microbiology Ecology，2006，57（3）：420—428

[50] Zoetendal E G，Ben-Amor K，Akkermans A D L，et al. DNA isolation protocols affect the detection limit of PCR approaches of bacteria in samples from the human gastrointestinal tract. Systematic and Applied Microbiology，2001，24（3）：405—410

[51] Fierer N，Schimel J P，Holden P A. Influence of drying-rewetting frequency on soil bacterial community structure. Microbial Ecology，2003，45（1）：63—71

[52] Zornoza R，Guerrero C，Mataix-Solera J，et al. Assessing the effects of air-drying and rewetting pre-treatment on soil microbial biomass，basal respiration，metabolic quotient and soluble carbon under mediterranean conditions. European Journal of Soil Biology，2007，43（2）：120—129

[53] de Vries J，Heine M，Harms K，et al. Spread of recombinant DNA by roots and pollen of transgenic potato plants，identified by highly specific biomonitoring using natural transformation of an *Acinetobacter* sp. Applied and Environmental Microbiology，2003，69（8）：4455—4462

[54] UNEP（United Nations Environment Programme）. Stockholm convention on persistent organic pollutants. 2001.［2017-08-11］. http://www. pops. int

[55] 王亚韡，蔡亚岐，江桂斌. 斯德哥尔摩公约新增持久性有机污染物的一些研究进展. 中国科学:化学，2010，40（2）：99—123
Wang Y W，Cai Y Q，Jiang G B. Research processes of persistent organic pollutants（POPs）newly listed and candidate POPs in Stockholm Convention（In Chinese）. Scientia Sinica Chimica，2010，40（2）：99—123

[56] 鲁炳闻，刘海萍，房丽萍，等. 8种有机氯农药土壤标准样品研制. 分析试验室，2016，35（4）：435—439
Lu B W，Liu H P，Fang L P，et al. Development of soil certified reference material for eight organochlorine pesticides（In Chinese）. Chinese Journal of Analysis Laboratory，2016，35（4）：435—439

[57] Strupp D, Klussmann U, Ebing W. Umwelprobenbank für das System Pflanze/Boden – Möglichkeit zur stabilen Lagerhaltung kontaminierter Proben über viele Jahre – Ergebnisse einer Pilotstudie. Fresenius' Zeitschrift für Analytische Chemie, 1985, 322 (8): 747—751
Strupp D, Klussmann U, Ebing W. Environmental specimen bank for the plant-soil-system: Opportunity to store contaminated samples unchanged over many years — Results of a pilot-study (In German). Fresenius' Journal of Analytical Chemistry, 1985, 322 (8): 747—751

[58] Alcock R E, McLachlan M S, Johnston A E, et al. Evidence for the presence of PCDD/FAs in the environment prior to 1900 and further studies on their temporal trends. Environmental Science & Technology, 1998, 32 (11): 1580—1587

[59] Wania F, Mackay D. Global fractionation and cold condensation of low volatility organochlorine compounds in polar-regions. Ambio, 1993, 22 (1): 10—18

[60] Wania F, Mackay D, Li Y F, et al. Global chemical fate of alpha-hexachlorocyclohexane. 1. Evaluation of a global distribution model. Environmental Toxicology and Chemistry, 1999, 18 (7): 1390—1399

[61] Ross D J. Microbial biomass in a stored soil —A comparison of different estimation procedures. Soil Biology & Biochemistry, 1991, 23 (10): 1005—1007

[62] 张甲珅, 陶澍, 曹军. 土壤中水溶性有机碳测定中的样品保存与前处理方法. 土壤通报, 2000, 31 (4): 174—176, 193
Zhang J S, Tao S, Cao J. Soil sample preservation and pretreatment for water soluble organic carbon determination (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 2000, 31 (4): 174—176, 193

[63] Zornoza R, Mataix-Solera J, Guerrero C, et al. Storage effects on biochemical properties of air-dried soil samples from southeastern Spain. Arid Land Research and Management, 2009, 23 (3): 213—222

[64] Zelles L, Adrian P, Bai Q Y, et al. Microbial activity measured in soils stored under different temperature and humidity conditions. Soil Biology & Biochemistry, 1991, 23 (10): 955—962

[65] Stenberg B, Johansson M, Pell M, et al. Microbial biomass and activities in soil as affected by frozen and cold storage. Soil Biology & Biochemistry, 1998, 30 (3): 393—402

[66] Wu Y P, Ding N, Wang G, et al. Effects of different soil weights, storage times and extraction methods on soil phospholipid fatty acid analyses. Geoderma, 2009, 150 (1/2): 171—178

[67] Wang J, Chapman S J, Yao H Y. The effect of storage on microbial activity and bacterial community structure of drained and flooded paddy soil. Journal of Soils and Sediments, 2015, 15 (4): 880—889

[68] Tatangelo V, Franzetti A, Gandolfi I, et al. Effect of preservation method on the assessment of bacterial community structure in soil and water samples. FEMS Microbiology Letters, 2014, 356 (1): 32—38

[69] Min S S, Brookes P C, Jenkinson D S. Soil respiration and the measurement of microbial biomass-C by the fumigation technique in fresh and in air-dried soil. Soil Biology & Biochemistry, 1987, 19 (2): 153—158

[70] Mondini C, Contin M, Leita L, et al. Response of microbial biomass to air-drying and rewetting in soils and compost. Geoderma, 2002, 105 (1/2): 111—124

[71] Ginn B R, Habteselassie M Y, Meile C, et al. Effects of sample storage on microbial Fe-reduction in tropical rainforest soils. Soil Biology & Biochemistry, 2014, 68: 44—51

[72] Billett M F, Fitzpatrick E A, Cresser M S. Changes in the carbon and nitrogen status of forest soil organic horizons between 1949/50 and 1987. Environmental Pollution, 1990, 66 (1): 67—79

[73] Billett M F, Fitzpatrick E A, Cresser M S. Long-term changes in the acidity of forest soils in North-East Scotland. Soil Use and Management, 1988, 4 (3): 102—107

[74] Zulla Y, Billett M F. Long-term changes in chemical-weathering rates between 1949-50 and 1987 in forest soils from northeast Scotland. European Journal of Soil Science, 1994, 45 (3): 327—335

[75] Blake L, Goulding K W T. Effects of atmospheric deposition, soil pH and acidification on heavy metal contents in soils and vegetation of semi-natural ecosystems at Rothamsted Experimental Station, UK. Plant and Soil, 2002, 240 (2): 235—251

[76] Blake L, Johnston A E, Poulton P R, et al. Changes in soil phosphorus fractions following positive and negative phosphorus balances for long periods. Plant and Soil, 2003, 254 (2): 245—261

[77] Knapp C W, Dolfing J, Ehlert P A I, et al. Evidence of increasing antibiotic resistance gene abundances in archived soils since 1940. Environmental Science &

Technology，2010，44（2）：580—587

［78］ Bogdal C，Niggeler N，Gluge J，et al. Temporal trends of chlorinated paraffins and polychlorinated biphenyls in Swiss soils. Environmental Pollution，2017，220：891—899

［79］ Covaci A，Gheorghe A，Meijer S，et al. Investigation of source apportioning for alpha-HCH using enantioselective analysis. Environment International，2010，36（4）：316—322

［80］ Green N J L，Jones J L，Johnston A E，et al. Further evidence for the existence of PCDD/Fs in the environment prior as 1900. Environmental Science & Technology，2001，35（10）：1974—1981

［81］ 汪海珍，徐建民，谢正苗，等. 土壤中^{14}C-甲磺隆存在形态的动态研究. 土壤学报，2001，38（4）：547—557

Wang H Z，Xu J M，Xie Z M，et al. Dynamics and forms of ^{14}C-Metsulfuron-Methyl residual in soils（In Chinese）. Acta Pedologica Sinica，土壤学报，2001，38（4）：547—557

［82］ 马世娜. 土壤中不同赋存形态汞的生物有效性研究. 北京：北京化工大学，2016

Ma S N. Bioavailability of different forms of mercury in soil（In Chinese）. Beijing：Beijing University of Chemical Technology，2016

［83］ 王磊，应蓉蓉，石佳奇，等. 土壤矿物对有机质的吸附与固定机制研究进展. 土壤学报，2017，54（4）：805—818

Wang L，Ying R R，Shi J Q，et al. Advancement in study on adsorption of organic matter on soil minerals and its mechanism（In Chinese）. Acta Pedologica Sinica，2017，54（4）：805—818

［84］ Manley M. Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging：Non-destructive analysis of biological materials. Chemical Society Reviews，2014，43（24）：8200—8214

［85］ 张曦，李锋，刘婷婷，等. 土壤宏蛋白质组学在土壤污染评价中的应用. 应用生态学报，2012，23（10）：2923—2930

Zhang X，Li F，Liu T T，et al. Applications of soil metaproteomics in soil pollution assessment：A review（In Chinese）. Chinese Journal of Applied Ecology，2012，23（10）：2923—2930

［86］ 徐建明，蒋新，刘凡，等. 中国土壤化学的研究与展望. 土壤学报，2008，45（5）：817—829

Xu J M，Jiang X，Liu F，et al. Soil chemistry science in China and its perspective（In Chinese）. Acta Pedologica Sinica，2008，45（5）：817—829

Effects of Storage on Soil Biochemical Properties and Application of Stored Soil

CHEN Yahan　XIE Zongqiang†

（*State Key Laboratory of Vegetation and Environmental Change*，*Institute of Botany*，*the Chinese Academy of Sciences*，*Beijing* 100093，*China*）

Abstract　Biochemical properties of a soil sample may reflect the ecology and environment of the sampling area at the time when it was collected. So soil samples are of ultra-important scientific research value. For various research purposes, soil samples, before use, need certain pretreatment and storage for a certain period of time, which may last for several days or even over a hundred years. Quite a number of large-scale soil sample banks have been established the world over, storing various types of soil samples, which are of significant application value. It is essential for usage of the long-stored soil samples to ensure whether their biochemical properties change during their storage process. In this research, changes in soil biochemical properties relative to storage conditions were summarized, including soil elements, soil nutrients, soil metabolic activities, pH, soil microbes, soil enzymes and soil pollutants. The research found that the contents of soil carbon, nitrogen, phosphorus and metal elements remained almost unchanged in the soil samples during their storage; that information about soil microbial community structure and DNA/RNA sequences could still be extracted from the soil samples; that persistent organic pollutants, hardly

degraded, could exist in the samples for long; and that although soil enzyme activities decreased with the storage going on, the differences between the enzymes in activity were preserved. Therefore, long-stored soil samples are still valid for analysis of element contents, microbial communities, DNA/RNA sequence, soil organic pollutants and soil enzyme activities for comparison study. However, contents of readily available nutrients and soil metabolism-related indices varied irregularly during the storage, which indicates that only fresh soil samples can be used for analysis of these indices like nitrate nitrogen, ammonium nitrogen, exchangeable cation and soil respiration rate. Soil samples for long-term storage should be air-dried and then kept in sealed glass bottles at room temperature. There are several issues that matter in the use of long-stored soil samples: 1) Avoiding environmental contamination when soil samples are collected and analyzed; 2) Adopting suitable biochemical analysis methods to guarantee stability and reliability of the measurements; and 3) Considering the differences existing in effect of storage on soil samples relative to soil type. With analytical technology developing on and on, more and more historical environmental information will be excavated from the long-stored soil samples, which will yield higher scientific values.

Key words Soil sample bank; Storage condition; Soil chemistry; Soil microbes; Soil enzyme

（责任编辑：卢 萍）