

# 陕西土壤脲酶与土壤肥力关系研究\*

## II. 土壤脲酶的动力学特征

和文祥 朱铭莪

(西北农业大学农化系, 陕西 杨陵, 712100)

### 摘 要

土壤脲酶动力学特征研究, 国内少见报道。本文通过对陕西七种主要土壤十六个土样脲酶动力学参数的测定, 揭示出: 动力学参数( $V_0$ 、 $K_m$ 、 $V_{max}$ 、 $V_{max}/K_m$ 、 $K$ )和活化能 $E_a$ 从各个角度表征了处于不同生态环境中土壤脲酶的活性特征; 高、低肥土样间也有明显差别, 除水稻土外, 各高肥土壤脲酶的 $V_0$ 、 $V_{max}$ 、 $K$ 、 $V_{max}/K_m$ 均大于低肥, 相关和主成分分析表明, 动力学参数 $V_{max}$ 、 $V_{max}/K_m$ 可作为土壤肥力的指标;  $E_a$ 平均值大小顺序也显示出高、低肥土样脲酶在酶促反应中作用机理上的差异。

**关键词** 土壤脲酶, 动力学参数, 主成分分析, 陕西土壤

土壤脲酶动力学特征研究, 国内未见报道, 国外如 Dalal. R. C, Bremner. J. B, Paulson 等开展了一些研究工作, 均发现<sup>[3,4,5]</sup>, 脲酶动力学特征不仅可显示土壤中脲酶含量的高低, 而且反映土壤脲酶与底物、土壤有机-无机复合体等之间结合的紧密程度和作用过程, 从而使我们对土壤脲酶作用机理有个深入的认识。如 Paulson 与 Kurtz 研究<sup>[5]</sup>指出: 土壤中存在着两种脲酶即直接与土壤微生物结合的脲酶和吸附在土壤颗粒上的脲酶。本文拟通过对陕西七种主要土壤十六个土样脲酶动力学参数的测定, 探讨土壤脲酶活性特征及酶促反应机理, 并进一步揭示其与土壤肥力的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试土样

采集陕西七种主要土壤: 黄褐土, 水稻土, 壤土, 褐土, 黑垆土, 黄绵土, 风沙土共十六个土样, 据理化性质和脲酶活性划分为高肥和低肥两个肥力水平。

### 1.2 方法

称取 10.00g 土样于三角瓶中, 加入 2ml 甲苯, 静置 15 分钟后, 于不同底物浓度(0.005mol/L、0.010mol/L、0.050mol/L、0.100mol/L); 不同时间(3h、6h、9h、12h、15h、18h、21h、24h)及不同

\* 国家教委博士点基金资助项目。本文承蒙张一平教授的审阅和指正, 谨表谢意。

收稿日期: 1995-03-10; 收到修改稿日期: 1996-04-01

温度条件(10℃、20℃、30℃、40℃)下靛酚蓝比色法测定脲酶活性。

### 1.3 数据计算及处理

(1) 土壤脲酶动力学参数计算:

米氏常数  $K_m$  和最大速度  $V_{max}$  可用米—孟速度方程的积分式测定:

$$V = -d[S] / dt = V_{max} \times [S] / (K_m + [S])$$

经数学变换和整理得到:

$$1/t \times \ln([S_0] / [S]) = -1/K_m \times ([S_0] - [S]) / t + V_{max} / K_m \quad (1)$$

其中  $t$  为酶促反应时间,  $[S_0]$  是初始底物浓度,  $[S]$  为  $t$  时间的底物浓度。

可见, (1) 式是一条  $1/t \times \ln([S_0] / [S]) \cdots \cdots 1/t \times ([S_0] - [S])$  的直线方程。在反应期间通过测量不同时间利用的底物浓度(或形成的产物浓度), 然后进行直线回归, 即可求得  $K_m$  和  $V_{max}$  值。

(2) 酶促反应速度常数  $K$  和活化能  $E_a$  的计算:

$$K = 1/t \times \ln[V_{\infty} / (V_{\infty} - V_t)]$$

其中  $V_{\infty}$  为最大放氮量,  $V_t$  为  $t$  时间的放氮量。

活化能  $E_a$  由 Arrhenius 速度方程的积分式求得:

$$\ln K = \ln A - E_a / R \times 1 / T$$

其中  $T$  为酶促反应温度(K);  $A$  为频率因子;  $R$  为 8.314 J/mol;  $K$  是温度  $T$  时的反应速度常数。

## 2 结果与讨论

### 2.1 温度和底物浓度对初速度 $V_0$ 的影响

温度与底物浓度对脲酶酶促反应初速度影响(图1)表明: 在一定范围内, 随着底物浓度和温度的增加, 酶促反应初速度增加, 且到一定温度和浓度时, 初速度不再增加, 图象上表示为出现平台。如在 0.10 mol/L 时, 平台出现的最低温度约为高肥力 14℃, 低肥力 19℃; 高肥力水稻土 36℃, 低肥力水稻土 29℃; 40℃ 时, 高肥力 14℃ 出现平台的最低浓度约 0.02 mol/L, 低肥力 14℃ 约为 0.025 mol/L; 风沙土则没有出现平台。分析在同一温度下、低底物浓度时, 初速度急剧上升, 底物浓度增加, 增幅减缓, 低肥力水稻土甚至在 10℃、0.1 mol/L 时初速度有所降低; 在同一底物浓度下, 酶促反应初速度随温度上升而增幅变异较大, 风沙土和水稻土 30℃—40℃ 增幅最大, 而 14℃—20℃ 增加较多, 30℃—40℃ 也有较大增加。不难看出, 除水稻土外, 其余土样的酶促反应初速度均为高肥大于低肥。

### 2.2 各土壤脲酶酶促反应的 $K_m$ 和 $V_{max}$

从供试土壤脲酶的动力学参数(表1)看出, 土壤脲酶的  $K_m$  值作为表征土壤脲酶与底物结合牢固程度的指标, 其随土壤类型、肥力不同而差异较大, 且温度影响显著, 这种差别显然是来自脲酶在土壤中的不同环境及脲酶被粘粒的不同吸附程度<sup>[8]</sup>, 但土壤的  $K_m$  值基本上都处于同一数量级, 这可能是土壤脲酶来源较单一造成的<sup>[6,7]</sup>。

$V_{max}$  可表征酶—底物复合体分解为酶和产物的速度, 对土壤来讲, 是实现酶过程的潜在能力的容量指标<sup>[9]</sup>。土壤脲酶  $V_{max}$  值变化较为规律, 水稻土为高肥 < 低肥, 黄褐土 10℃ 低肥 < 高肥; 关中、陕北地区土壤除褐土 10℃、14℃ 外, 其余均为低肥 <

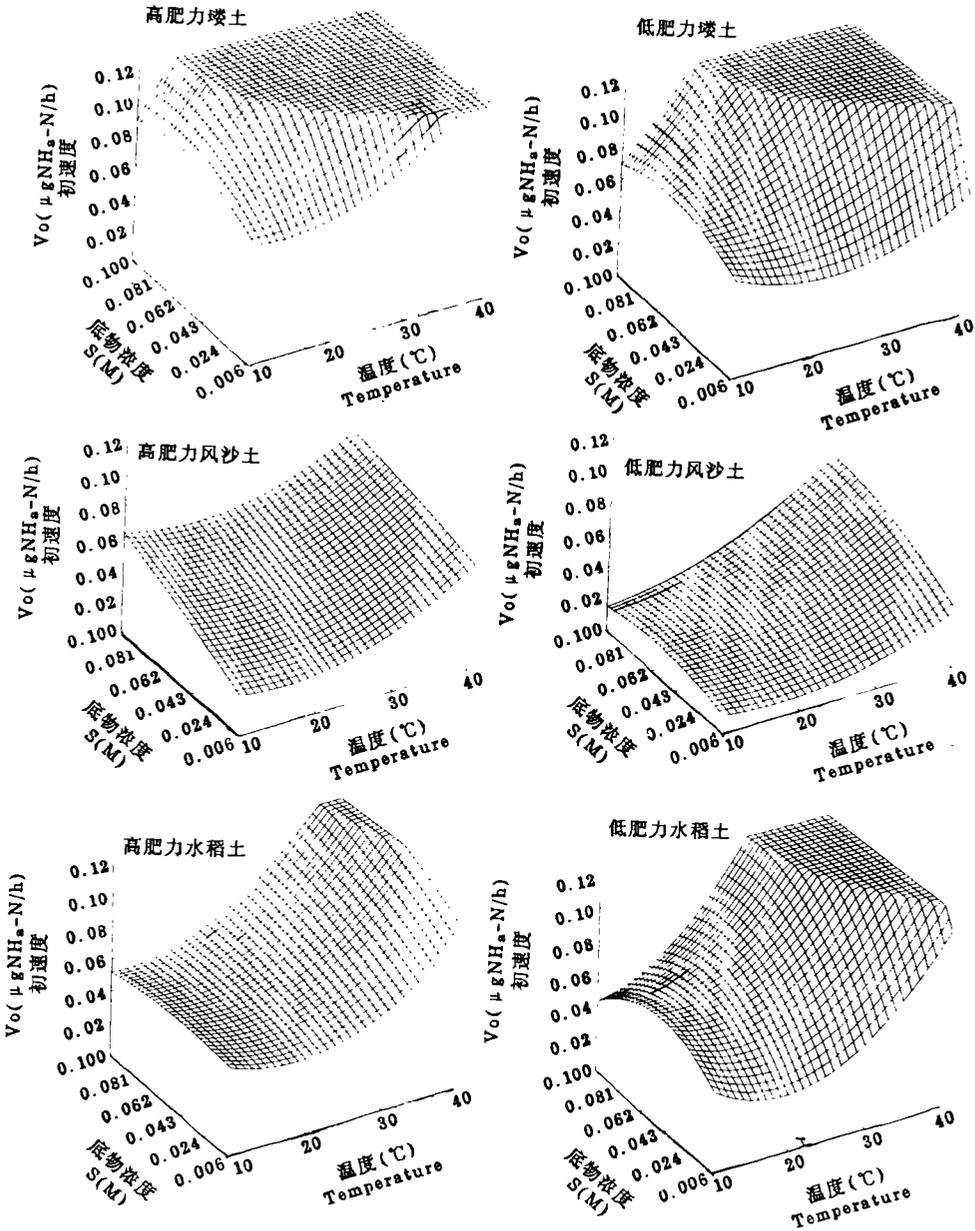


图1 不同温度与底物浓度下脲酶酶促反应的初速度

Fig.1 The urease reactive initial velocity affected by temperature and substrote concentration

高肥; 且随温度上升  $V_{\max}$  值增加, 增幅在  $30^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$  时表现出加速的趋势, 可见, 黄绵土、黑垆土、风沙土、褐土、壤土等的高肥土壤不仅脲酶含量多, 且易与产物分解; 水稻土则相反, 高肥土壤脲酶比低肥的更难与产物分解。

在较大范围内,  $V_{\max}/K_m$  是酶促反应初速度最重要的指标, 可作为土壤肥力指标之一<sup>[10]</sup>。  $V_{\max}/K_m$  值水稻土为低肥 < 高肥; 黄褐土  $10^{\circ}\text{C} - 20^{\circ}\text{C}$  低肥 < 高肥, 关中, 陕北

表 1 供试土壤脲酶的动力学参数

Table 1 The urease kinetic parameters of soils tested

土 壤 Soil	$K_m$ (mM)				$V_{max}$ (mM /h)				$V_{max} / K_m$			
	10 ℃	20 ℃	30 ℃	40 ℃	10 ℃	20 ℃	30 ℃	40 ℃	10 ℃	20 ℃	30 ℃	40 ℃
高肥力水稻土	0.585	0.969	1.02	1.56	0.024	0.028	0.039	0.078	0.041	0.029	0.039	0.050
低肥力水稻土	1.783	1.316	1.51	2.18	0.025	0.032	0.057	0.108	0.014	0.024	0.038	0.049
高肥力黄褐 1	0.396	4.313	1.19	1.05	0.010	0.011	0.023	0.036	0.026	0.003	0.019	0.034
高肥力黄褐 2	0.925	0.631	0.81	1.60	0.015	0.022	0.017	0.042	0.016	0.035	0.021	0.027
高肥力黄褐 3	0.427	0.825	1.28	1.46	0.023	0.021	0.033	0.042	0.033	0.028	0.024	0.029
低肥力黄褐土	2.49	1.410	0.72	1.02	0.017	0.019	0.017	0.030	0.007	0.013	0.023	0.029
高肥力黄绵土	1.55	5.430	7.42	3.20	0.056	0.044	0.081	0.091	0.036	0.008	0.011	0.028
低肥力黄绵土	1.65	3.98	7.08	3.83	0.042	0.029	0.057	0.089	0.026	0.807	0.008	0.023
高肥力黑垆土	1.70	3.85	8.57	4.43	0.051	0.042	0.102	0.162	0.030	0.011	0.012	0.037
低肥力黑垆土	0.90	3.42	7.12	4.19	0.027	0.031	0.068	0.114	0.030	0.009	0.010	0.027
高肥力风沙土	2.06	5.71	3.29	2.55	0.026	0.029	0.033	0.048	0.012	0.005	0.010	0.019
低肥力风沙土	3.94	3.26	3.59	3.35	/	0.008	0.014	0.019	/	0.002	0.004	0.008
高肥力褐土	1.85	3.77	8.44	4.33	0.091	0.120	0.142	0.186	0.049	0.032	0.017	0.043
低肥力褐土	1.78	8.47	10.2	6.32	0.051	0.061	0.115	0.200	0.029	0.007	0.011	0.032
高肥力瘠土	1.15	2.19	8.65	6.06	0.052	0.071	0.173	0.232	0.045	0.033	0.020	0.038
低肥力瘠土	1.35	2.00	7.94	13.25	0.048	0.050	0.117	0.244	0.036	0.025	0.015	0.018

地区土壤均为低肥 < 高肥, 除水稻土外与  $V_{max}$  呈相似的规律性变化。37 ℃ 脲酶活性可作为土壤肥力指标之一, 其与动力学参数相关分析(表 2)表明,  $K_m$  仅关中、陕北地区 30 ℃、供试土样 40 ℃ 的值与脲酶活性显著相关。 $V_{max}$  只有 20 ℃ 和 40 ℃ 的陕南地区土样脲酶活性不与其相关外, 其余的相关系数均达 95% 或 99% 以上, 证明了脲酶酶量及产物与酶的分解速度和表观上的酶活性有着密切关系。用 30 ℃  $V_{max}$  将供试土样排序: 高肥力瘠土 > 高肥力褐土 > 低肥力瘠土 > 低肥力褐土 > 高肥力黑垆土 > 高肥力黄绵土 > 低肥力黑垆土 > 低肥力黄绵土、低肥力水稻土 > 高肥力水稻土 > 高肥力风沙土 > 高肥力黄褐土 3 > 高肥力黄褐土 1 > 高肥力黄褐土 2、低肥力黄褐土 > 低肥力风沙土; 此与采用脲酶活性、理化性质组成的主成分值排序得到的结果是一致的。

动力学参数与土壤理化性质相关分析结果(表 3)显示, 关中、陕北地区土样脲酶的  $K_m$  在 30 ℃ 时与物理性粘粒、有机质、全氮、碱解氮、全磷、CEC 及 pH 呈显著或极显著相关。陕南地区土样的  $V_{max}$  在 20 ℃ 和 40 ℃ 时与有机质、全氮、碱解氮等的显著水平小于 5%, 关中、陕北地区土样的  $V_{max}$  由 10 ℃ 上升到 20 ℃ 时相关系数增大, 30 ℃

表 2 脲酶活性与动力学参数的相关分析

Table 2 The Correlation analysis between urease activities and kinetic parameters

土 样 Soil sample	$K_m$				$V_{max}$				$V_{max}/K_m$			
	10 ℃	20 ℃	30 ℃	40 ℃	10 ℃	20 ℃	30 ℃	40 ℃	10 ℃	20 ℃	30 ℃	40 ℃
陕南地区	-0.18	-0.30	0.534	0.756	0.744	0.815*	0.782	0.894*	0.487	0.441	0.944**	0.928**
关中陕北	0.48	0.085	0.668*	0.271	0.858**	0.936**	0.886**	0.762*	0.835**	0.780**	0.883**	0.821**
供试土壤	-0.002	0.448	-0.11	0.574*	0.900**	0.926**	0.922**	0.843**	0.682**	-0.226	-0.243	0.226

注:  $p < 0.05$  时, 相关系数  $r$ , 陕南地区为 0.811, 关中陕北为 0.632, 供试土壤为 0.497

$p < 0.01$  时, 相关系数  $r$ , 陕南地区为 0.917, 关中陕北为 0.765, 供试土壤为 0.623

达最高, 与除  $\text{CaCO}_3$  外的所有理化性质呈显著或极显著相关关系, 40 ℃ 时则仍保持较高的相关性。供试土样  $V_{max}$  则仅与全磷显著相关。 $V_{max}/K_m$  与理化性质值的相关分析结果较为规律, 供试土壤除 20 ℃ 时的全磷和 pH 及 30 ℃ 和 40 ℃ 时的全磷外与其它理化性质值均呈显著相关; 陕南地区土壤 30 ℃、40 ℃ 时与有机质、全氮、碱解氮、全磷的相关水平达 99%; 关中、陕北地区土样除  $\text{CaCO}_3$ 、10 ℃ 和 40 ℃ 的物理性粘粒外均表现出很高的相关性, 其中仅与 pH 呈负相关。以上分析表明,  $V_{max}$  和  $V_{max}/K_m$  值与土壤理化性质有着极密切的关系, 基本上可作为土壤肥力指标; 同时也佐证了在大的土壤生态区中, 各种类型土壤有其固定的脲酶活性水平, 分析时应区分开。

### 2.3 主成分分析

主成分分析是近年来生物科学中较多应用的分析方法, 我们将土壤脲酶的动力学参数进行主成分分析, 以便能筛选出对土壤肥力产生影响的主要参数和因子群, 探讨动力学参数与土壤肥力之间的关系。

表 4 是土壤主成分特征值和方差贡献率, 从中可见, 第一主成分的方差贡献率最大, 两地区和供试土样分别达到 56.1%、65.7% 和 42.1%, 加上第二、三主成分的方差贡献率, 均大于 80%, 则可用第一、二、三主成分这三个综合指标来反映土壤肥力系统内的变异信息。

通过特征向量发现, 陕南地区肥力系统的第一主成分主要综合了  $V_{max}$ 、30 ℃ 和 40 ℃  $V_{max}/K_m$  及 30 ℃  $K_m$  的变异信息, 本文称“ $V_{max}$  及  $V_{max}/K_m$  因子”, 第二主成分则综合了 20 ℃ 和 30 ℃  $K_m$  及 20 ℃  $V_{max}/K_m$  的变异信息, 本文称“ $K_m$  因子”, 第三主成分综合了 10 ℃  $V_{max}/K_m$  和  $K_m$  的变异信息, 关中、陕北地区土壤的肥力系统中第一主成分综合了  $V_{max}$ 、10 ℃、30 ℃ 和 40 ℃  $V_{max}/K_m$  的变异信息, 第二主成分反映了 30 ℃ 和 40 ℃  $K_m$  的变异信息, 余动力学参数综合为第三主成分; 整个供试土壤肥力系统则有所变化, 第一主成分为  $V_{max}$ 、10 ℃  $V_{max}/K_m$  及 30 ℃  $K_m$ , 第三主成分主要综合了 40 ℃ 时的  $V_{max}/K_m$  及  $K_m$ , 余组成了第二主成分。可见, 不论哪种类型土壤, 尽管各动力学参数对土壤肥力的第一、二、三主成分作用的权系数值有所差别, 但各参数对土壤肥力的影响地位却是相似的, 对肥力起主要作用的因子群是土壤脲酶的“ $V_{max}$  及  $V_{max}/K_m$  因子”, 其中包括

表 3 动力学参数与理化性质的相关系数

Table 3 The Correlation. Coefficients between kinetic parameters and soil physico-chemical properties

土 壤	物理性粘粒	有机质	全 氮	碱解氮	全 磷	阳离子交	pH	CaCO <sub>3</sub>	
Soil	Physicalclay	O.M	Total N	Alkali- hydroly- zable N	Total P	换 量 CEC			
10 ℃	供试土壤	-0.585 <sup>*</sup>	-0.356	-0.437	-0.325	-0.187	-0.704 <sup>**</sup>	0.451	∖
	陕南地区	-0.025	-0.032	-0.165	0.056	-0.182	-0.245	-0.186	∖
	关中陕北	-0.676 <sup>*</sup>	-0.555	-0.553	-0.430	-0.699	-0.792 <sup>**</sup>	0.734 <sup>*</sup>	-0.079
20 ℃	供试土壤	-0.507 <sup>*</sup>	-0.214	-0.259	-0.285	0.408	-0.486	0.652 <sup>**</sup>	∖
	陕南地区	0.150	-0.258	-0.299	-0.366	-0.258	0.557	0.465	∖
	关中陕北	-0.293	0.145	0.021	0.167	0.193	-0.200	0.179	0.542
30 ℃	供试土壤	-0.192	-0.100	-0.075	-0.079	-0.131	0.093	-0.130	∖
	陕南地区	0.422	0.480	0.549	0.301	0.473	0.328	0.241	∖
	关中陕北	0.786 <sup>**</sup>	0.770 <sup>**</sup>	0.826 <sup>**</sup>	0.711 <sup>*</sup>	0.859 <sup>**</sup>	0.904 <sup>**</sup>	-0.770 <sup>**</sup>	0.504
40 ℃	供试土壤	-0.024	0.004	-0.002	-0.103	0.482	-0.121	0.512 <sup>*</sup>	∖
	陕南地区	0.475	0.737	0.759	0.628	0.713	-0.422	-0.129	∖
	关中陕北	0.684 <sup>*</sup>	0.345	0.285	0.250	0.202	0.471	-0.467	0.018
10 ℃	供试土壤	-0.265	0.150	0.233	0.132	0.852 <sup>**</sup>	-0.266	0.601 <sup>*</sup>	∖
	陕南地区	0.499	0.711	0.761	0.752	0.690	0.028	-0.59	∖
	关中陕北	0.342	0.762 <sup>*</sup>	0.838 <sup>**</sup>	0.851 <sup>**</sup>	0.773 <sup>**</sup>	0.469	-0.75 <sup>*</sup>	0.487
20 ℃	供试土壤	0.073	0.339	0.444	0.361	0.801 <sup>**</sup>	0.076	0.312	∖
	陕南地区	0.171	0.827 <sup>*</sup>	0.822 <sup>*</sup>	0.835 <sup>*</sup>	0.787	-0.325	-0.563	∖
	关中陕北	0.630	0.835 <sup>**</sup>	0.895 <sup>**</sup>	0.936 <sup>**</sup>	0.772 <sup>**</sup>	0.604	-0.796 <sup>**</sup>	0.444
30 ℃	供试土壤	0.126	0.304	0.388	0.226	0.830 <sup>**</sup>	0.100	0.431	∖
	陕南地区	0.545	0.739	0.800	0.648	0.719	0.219	-0.205	∖
	关中陕北	0.876 <sup>**</sup>	0.893 <sup>**</sup>	0.942 <sup>**</sup>	0.846 <sup>**</sup>	0.778 <sup>**</sup>	0.820 <sup>**</sup>	-0.885 <sup>**</sup>	0.264
40 ℃	供试土壤	0.177	0.339	0.389	0.241	0.790 <sup>**</sup>	0.128	0.390	∖
	陕南地区	0.272	0.937 <sup>**</sup>	0.899 <sup>*</sup>	0.858 <sup>*</sup>	0.887 <sup>*</sup>	-0.092	-0.395	∖
	关中陕北	0.946 <sup>**</sup>	0.783 <sup>**</sup>	0.816 <sup>**</sup>	0.711 <sup>*</sup>	0.678 <sup>*</sup>	0.827 <sup>**</sup>	-0.832 <sup>**</sup>	0.221

K<sub>m</sub>V<sub>max</sub>

续表 3

土 壤	物理性粘粒	有机质	全 氮	碱解氮	全 磷	阳离子交	pH	CaCO <sub>3</sub>
Soil	Physical clay	O.M	Total N	Alkali-hydrolyzable N	Total P	换 量 CEC		
供试土壤	0.113	0.328	0.463	0.306	0.719 <sup>**</sup>	0.150	0.252	∖
10 °C 陕南地区	0.475	0.361	0.478	0.366	0.488	0.491	-0.343	∖
关中陕北	0.588	0.783 <sup>**</sup>	0.882 <sup>**</sup>	0.790 <sup>**</sup>	0.813 <sup>**</sup>	0.804 <sup>**</sup>	-0.931 <sup>**</sup>	0.217
供试土壤	0.539 <sup>*</sup>	0.549 <sup>*</sup>	0.650 <sup>**</sup>	0.609 <sup>*</sup>	0.191	0.541 <sup>*</sup>	-0.473	∖
20 °C 陕南地区	-0.312	0.356	0.432	0.387	0.410	-0.638	-0.314	∖
V <sub>max</sub> 关中陕北	0.780 <sup>**</sup>	0.700 <sup>*</sup>	0.792 <sup>**</sup>	0.717	0.531	0.632 <sup>*</sup>	-0.789 <sup>**</sup>	0.059
供试土壤	0.789 <sup>**</sup>	0.794 <sup>**</sup>	0.781 <sup>**</sup>	0.841 <sup>**</sup>	-0.079	0.700 <sup>**</sup>	-0.887 <sup>**</sup>	∖
30 °C 陕南地区	0.517	0.969 <sup>**</sup>	0.951 <sup>**</sup>	0.982 <sup>**</sup>	0.938 <sup>**</sup>	0.088	-0.719	∖
关中陕北	0.802 <sup>**</sup>	0.841 <sup>**</sup>	0.860 <sup>**</sup>	0.790 <sup>**</sup>	0.674 <sup>*</sup>	0.694 <sup>*</sup>	-0.878 <sup>**</sup>	0.068
供试土壤	0.661 <sup>**</sup>	0.839 <sup>**</sup>	0.888 <sup>**</sup>	0.852 <sup>**</sup>	0.418	0.677 <sup>**</sup>	-0.561 <sup>*</sup>	∖
40 °C 陕南地区	0.555	0.967 <sup>**</sup>	0.931 <sup>**</sup>	0.930 <sup>**</sup>	0.941 <sup>**</sup>	0.256	-0.588	∖
关中陕北	0.584	0.764 <sup>*</sup>	0.877 <sup>**</sup>	0.773 <sup>**</sup>	0.835 <sup>**</sup>	0.721 <sup>*</sup>	-0.767 <sup>**</sup>	0.297

表 4 供试土壤主成分特征值

Table 4 Principal component eigenvalues of soils tested

土 样	第一主成分	第二主成分	第三主成分
Soil	First Principal Component	Socond Principal Component	Third Principal Component
陕南地区	特征值 6.7349	2.2417	1.876
	方差贡献率(%) 56.1	18.7	15.6
	累积方差贡献率(%) 56.1	74.8	90.4
关中、陕北地区	特征值 7.8799	1.6975	1.0588
	方差贡献率(%) 65.7	14.1	8.8
	累积方差贡献率(%) 65.7	79.8	88.6
供试土壤	特征值 5.0520	3.2706	1.6348
	方差贡献率(%) 42.1	27.3	13.6
	累积方差贡献率(%) 42.1	69.4	83.0

所有温度下的  $V_{\max}$  和一些温度下的  $V_{\max}/K_m$ 。

采用动力学参数的特征值和特征向量, 我们得到反映土壤肥力水平的主成分方程:  
陕南地区:

$$\begin{aligned} X_1 &= 0.02649K'_{10} - 0.1991K'_{20} + 0.22578K'_{30} + 0.34544K'_{40} + 0.3465V'_{10} + 0.3659V'_{20} \\ &\quad + 0.35485V'_{30} + 0.36295V'_{40} + 0.07292VK'_{10} + 0.2193VK'_{20} + 0.36173VK'_{30} + 0.3060VK'_{40} \\ X_2 &= -0.342K'_{10} + 0.5230K'_{20} + 0.4552K'_{30} - 0.04635K'_{40} - 0.1041V'_{10} - 0.2024V'_{20} \\ &\quad + 0.23106V'_{30} + 0.1141V'_{40} + 0.2295VK'_{10} - 0.4126VK'_{20} + 0.03615VK'_{30} + 0.2411VK'_{40} \\ X_3 &= 0.5737K'_{10} + 0.2331K'_{20} - 0.01811K'_{30} + 0.0212K'_{40} - 0.129V'_{10} + 0.0476V'_{20} \\ &\quad + 0.08577V'_{30} + 0.17296V'_{40} - 0.63775VK'_{10} - 0.3352VK'_{20} + 0.06589VK'_{30} + 0.1903VK'_{40} \end{aligned}$$

关中、陕北地区:

$$\begin{aligned} Y_1 &= -0.24169K'_{10} - 0.0622K'_{20} + 0.29102K'_{30} + 0.16402K'_{40} + 0.3075V'_{10} + 0.3081V'_{20} \\ &\quad + 0.34606V'_{30} + 0.32211V'_{40} + 0.34255VK'_{10} + 0.3090VK'_{20} + 0.33187VK'_{30} + 0.3001VK'_{40} \\ Y_2 &= -0.0396K'_{10} + 0.61475K'_{20} + 0.16705K'_{30} - 0.51927K'_{40} + 0.2425V'_{10} + 0.168566V'_{20} \\ &\quad - 0.033597V'_{30} - 0.17815V'_{40} + 0.05635VK'_{10} - 0.2654VK'_{20} - 0.10003VK'_{30} + 0.3453VK'_{40} \\ Y_3 &= -0.3121K'_{10} + 0.4159K'_{20} + 0.40768K'_{30} + 0.47599K'_{40} - 0.1623V'_{10} - 0.2842V'_{20} \\ &\quad + 0.01854V'_{30} + 0.2914V'_{40} - 0.0676VK'_{10} - 0.3190VK'_{20} - 0.1465VK'_{30} - 0.1293VK'_{40} \end{aligned}$$

供试土样:

$$\begin{aligned} Z_1 &= -0.07362K'_{10} + 0.1369K'_{20} + 0.37715K'_{30} + 0.13098K'_{40} + 0.4151V'_{10} + 0.4051V'_{20} \\ &\quad + 0.42989V'_{30} + 0.40934V'_{40} + 0.30634VK'_{10} + 0.1521VK'_{20} - 0.07218VK'_{30} + 0.0738VK'_{40} \\ Z_2 &= -0.35926K'_{10} - 0.3962K'_{20} - 0.26006K'_{30} - 0.05502K'_{40} - 0.0260V'_{10} + 0.0397V'_{20} \\ &\quad - 0.00754V'_{30} - 0.01044V'_{40} + 0.2542VK'_{10} + 0.4363VK'_{20} + 0.50027VK'_{30} + 0.3683VK'_{40} \\ Z_3 &= -0.00262K'_{10} + 0.3576K'_{20} + 0.03799K'_{30} - 0.69863K'_{40} + 0.1135V'_{10} + 0.1111V'_{20} \\ &\quad - 0.0087V'_{30} - 0.16880V'_{40} + 0.01771VK'_{10} - 0.2253VK'_{20} + 0.01744VK'_{30} + 0.5267VK'_{40} \end{aligned}$$

其中  $K'_i$ 、 $V'_i$ 、 $VK'_i$  ( $i=10, 20, 30, 40$ ) 分别代表  $10^\circ\text{C}$ 、 $20^\circ\text{C}$ 、 $30^\circ\text{C}$ 、 $40^\circ\text{C}$  时标准化的  $K_m$ 、 $V_{\max}$ 、 $V_{\max}/K_m$  的值。

将各土样的动力学参数值代入上述主成分方程, 求出  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $Y_1$ 、 $Y_2$ 、 $Y_3$  及  $Z_1$ 、 $Z_2$ 、 $Z_3$ , 据主成分原理<sup>[2]</sup>, 用主成分值可计算各样品间的距离, 进行样品的聚类。聚类结果显示, 陕南地区土壤中, 水稻土为肥力水平较高的土壤, 高肥力黄褐土 2、3 为中等肥力土样, 高肥力黄褐土 1、低肥力黄褐土则是肥力较低的土样; 关中、陕北地区中, 塿土、褐土为一类群, 肥力最高, 黑垆土和高肥力黄绵土是中等肥力水平土样, 低肥力黄绵土、风沙土则为肥力低的类群; 所有供试土壤主成分分析结果显示: 高肥力褐土 > 高肥力塿土 > 低肥力塿土 > 低肥力褐土 > 高肥力黑垆土 > 高肥力黄绵土 > 低肥力黑垆土 > 低肥力黄绵土 > 高肥力水稻土 > 高肥力黄褐土 3 > 低肥力水稻土 > 高肥力风沙土 > 高肥力黄褐土 1 > 高肥力黄褐土 2 > 低肥力黄褐土 > 低肥力风沙土; 这与用理化性质组成的主成分值、脲酶活性、 $30^\circ\text{C}$   $V_{\max}$  等得到的肥力顺序是十分相似。

可见, 土壤脲酶的动力学参数与土壤肥力有着极密切的关系, 用其构筑的土壤肥力信息系统可用来评价肥力水平的高低, 且起主要作用的因子群是“ $V_{\max}$  及  $V_{\max}/K_m$  因子”,

动力学参数  $V_{\max}$ 、 $V_{\max}/K_m$  可以作为土壤肥力的重要指标。

#### 2.4 脲酶酶促反应速度常数 $K$ 和活化能 $E_a$

反应速度常数  $K$  的大小决定一个反应在本质上是“快”还是“慢”<sup>[1]</sup>。供试土壤脲酶反应速度常数  $K$  (表 5) 显示出, 不同土样  $K$  值有较大差别, 如 283K 时, 低肥力褐土  $K$  值为低肥力风沙土的 6.8 倍, 低肥力黄褐土仅与低肥力风沙土相差  $1.15 \times 10^{-3}$  /h; 比较同一类型不同肥力土样脲酶  $K$  值, 发现除水稻土和褐土外, 其余土类脲酶  $K$  值均为高肥大于低肥, 这与高肥力土样具有较高脲酶活性、反应初速度  $V_0$  和  $V_{\max}$  值的结果是一致的;  $K$  值受温度影响表明, 在 283K—303K 时,  $K$  值增加不大, 有的甚至降低, 303K—313K 时,  $K$  值增幅最大, 这与  $V_{\max}$  在 30℃—40℃ 范围内增幅较大相吻合。

表 5 供试土壤脲酶反应速度常数  $K$  及活化能  $E_a$

Table 5 The urease reactive velocity parameter  $K$  and active energy  $E_a$  of soils tested

土 壤 Soil	反应速度常数 $K$ ( $\times 10^{-3}$ /h) Reactive velocity parameter				活化能 $E_a$ active energy
	283K	293K	303K	313K	( k J /mol)
高肥力水稻土	8.83	6.10	12.8	19.65	22.25
低肥力水稻土	10.68	11.80	13.35	22.80	20.59
高肥力黄褐土 1	4.62	3.98	7.61	11.37	23.62
高肥力黄褐土 2	5.56	7.75	6.57	10.43	20.80
高肥力黄褐土 3	7.43	7.78	8.28	15.53	17.74
低肥力黄褐土	3.60	5.52	6.00	9.80	26.40
高肥力黄绵土	12.40	9.50	11.50	15.90	16.82
低肥力黄绵土	8.75	9.15	8.50	12.65	18.96
高肥力黑垆土	10.98	14.25	10.38	21.13	18.23
低肥力黑垆土	7.87	10.75	7.28	15.20	15.27
高肥力风沙土	4.43	5.73	4.40	8.80	50.74
低肥力风沙土	2.45	1.85	1.90	4.54	31.11
高肥力褐土	11.50	16.87	10.75	19.52	9.21
低肥力褐土	16.80	20.00	13.25	23.08	17.01
高肥力壤土	13.00	13.95	16.75	22.25	14.07
低肥力壤土	10.70	10.73	12.75	13.80	9.92

在土壤酶学中, 活化能  $E_a$  具体是指酶和底物形成活化络合物时所必须取得的最低能量<sup>[1]</sup>。从表 5 中看出高肥力风沙土的脲酶  $E_a$  为 50.74kJ /mol, 低肥力壤土的为 9.92kJ /mol,

相差 5.2 倍; 而高肥力瘠土与低肥力瘠土仅相差 4.15kJ/mol, 可见, 各土类脲酶活化能  $E_a$  差异较大。比较各土样脲酶活化能的平均值, 依次递减的顺序为: 风沙土 > 黄褐土 > 水稻土 > 黄绵土 > 黑垆土 > 褐土 > 瘠土。此与土样脲酶活性顺序基本呈相反趋势, 表明: 活化能愈高, 酶促反应速度愈慢, 土壤脲酶活性愈低; 各土样高、低肥间脲酶活化能变化, 水稻土、黑垆土、风沙土和瘠土为高肥大于低肥, 黄褐土、黄绵土和褐土则为高肥小于低肥。 $E_a$  与理化性质相关分析(表 6)显示, 供试土壤脲酶的  $E_a$  仅与物理性粘粒、全磷、CEC 呈显著或极显著负相关关系, 陕南地区土样的  $E_a$  不与任一性质相关, 关中、陕北地区土样的活化能则与物理性粘粒、有机质、全氮、全磷、CEC 和 pH 呈显著或极显著相关关系, 其中仅 pH 为正相关, 表明  $E_a$  与土壤肥力水平有着较密切的关系。

表 6 活化能  $E_a$  与理化性质的相关系数

Table 6 The Correlation coefficients between active energy  $E_a$  and soil physico-chemical properties

土 样 Soil	物理性粘粒 Physic clay	有机质 O.M.	全 氮 Total N	碱解氮 Alkali- hydrolyzable N	全 磷 Total P	阳离子代 换 量 CEC	pH	CaCO <sub>3</sub>
供试土壤	-0.439	-0.311	-0.438	-0.304	-0.591	-0.598	0.037	\
陕南地区	0.067	-0.212	-0.369	-0.101	-0.291	0.190	-0.227	\
关中陕北	0.762	0.507	0.693	0.577	0.732	0.097	0.742	0.353

综上所述, 各土壤脲酶酶促反应动力学参数反映出了各自的特点, 如低肥力褐土脲酶的  $K_m$  和  $E_a$  均大于高肥力的, 表明低肥脲酶与底物的亲和力较弱, 且形成活化络合物需要能量较多, 同时  $V_{max}$  值低肥力的小于高肥的, 最终使得高肥的脲酶表现活性显著大于低肥; 而低肥力水稻土脲酶  $V_{max}$  值大于高肥力的, 且活化能  $E_a$  小于高肥力的, 表明低肥活化络合物解离成酶和产物的速度较快, 同时形成活化络合物跨越能障需能较少, 因而  $K$  值大于高肥, 但由于脲酶活性  $K_m$  值高肥小于低肥, 使酶与底物结合得牢固程度大于低肥, 最终导致低肥表观脲酶活性略低于高肥, 说明水稻土脲酶  $K_m$  值对其活性的影响远大于其它动力学参数。其它土类的高肥土样脲酶具有较高的  $V_0$ 、 $V_{max}$ 、 $K$  值, 使高肥土样的表观脲酶活性大于低肥, 显示出在这些土类中  $K_m$  对脲酶活性影响并不处于重要地位。不难看出, 各动力学参数从不同侧面、不同程度地反映土壤脲酶活性与酶促反应速度, 在一定条件下, 某一个动力学因子起主导作用, 从而决定了表观脲酶活性的高低; 同时, 相关和主成分分析表明: 用动力学参数组成的土壤肥力信息系统可用来评价肥力水平, 且  $V_{max}$ 、 $V_{max}/K_m$  可作为土壤肥力的重要指标。

### 参 考 文 献

1. J. Garety Morris 著, 王嶽等译, 1981: 生物学工作者的物理化学, 科学出版社。

2. 袁志发、孟德顺编著。1993: 多元统计分析。天则出版社。
3. Dalal, R. C. 1985: Distribution, Salinity, kinetic and Thermodynamic characteristics of urease activity in a vertisol profile. *Aust. J. Soil. Res.* 23: 49—60.
4. Tabatabai, M. A. and Bremner, J. M., 1971: Michaelis constants of soil enzymes. *Soil. Biol. Biochem.* 3: 317—323.
5. Paulson, K. Z. and Kurtz, L. T., 1970. Michaelis constants of Urease, *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* 34: 70—72.
6. Pettit, N. M., Smith A. R. J., Freedman R. B. and Burns, R. G., 1976: Soil urease activity, stability and Kinetic properties. *Soil Bio. Biochem.* 8: 479—484.
7. Tabatabai, M. A., 1973: Michaelis constant of urease in soil fractions. *Proc. Soil. Soc. Am.* 37: 707—710.
8. Хазиев Ф. Х., 1982: Системно-Экологический анализ Ферментативной активности Почв. Изд. Наука.
9. Алиев С. А., Гаджиев Д. А., Михайлов Ф. Д., 1984: Кинетические И Термодинамические Характеристики Ферментов Инвертазы И Уреазы В Почвах Азербай-Джанской сср. *Почвоведение.* 11: 55—66
10. Алиев С. А., Гаджиев Л. А., Михайлов Ф. Д., 1981: Кинетические Локазатели активности Каталазы В Основных Типах Почв Азербайджанской сср. *Почвоведение.* 9: 107—112

## STUDY ON RELATION BETWEEN UREASE AND FERTILITY OF SOILS IN SHAANXI

### II. SOIL UREASE KINETIC CHARACTERISTICS

He Wenxiang and Zhu Ming'e

(Department of Soil Chemistry, Northwestern Agricultural University, Yangling Shaanxi, 712100)

#### Summary

The parameters of urease kinetics were studied using sixteen samples collected from seven main soils in ShaanXi Province.

The kinetic parameters ( $V_0$ ,  $K_m$ ,  $V_{max}$ ,  $V_{max}/K_m$  and  $K$ ) and the active energy  $E_a$  could be used to express the characteristics of urease activity under different conditions of ecology, and there were apparent differences between the soil samples of high and low fertility. Except for the paddy soil, the  $V_0$ ,  $V_{max}$ ,  $K$  and  $V_{max}/K_m$  of urease in the high fertility soils are all greater than those in the low fertility soils. By means of correlation and principal component analysis, the kinetic parameters  $V_{max}$  and  $V_{max}/K_m$  could act as the indexes of soil fertility; The sequence of average values of  $E_a$  showed a difference of enzyme reaction mechanism between high and low fertility soil samples.

**Key word** Soil urease, Kinetic parameter, Principal component analysis, Shaanxi soil.