

不同剂型尿素酶抑制剂对土壤尿素酶活性及大豆生长的影响

张雪崧¹, 胡超², 白铁军², 马国宝¹, 孙庆元^{1*}

(1. 大连工业大学 生物与食品工程学院, 辽宁 大连 116034; 2. 黑山县农业技术推广中心, 辽宁 黑山 121400)

摘要: 研究了粉剂(DP)和水剂(AS)尿素酶抑制剂对土壤中尿素水解和大豆生长的影响。结果表明, 两种不同剂型的尿素酶抑制剂对尿素酶活性和尿素水解均有显著的抑制作用, 对大豆根系活力有促进作用, 并随着尿素酶抑制剂施用浓度的增加而增强。在试验浓度范围内, 未发现尿素酶抑制剂对大豆株高有明显的不良影响。粉剂和水剂尿素酶抑制剂对尿素酶活性的抑制作用和对大豆根系活力的影响无明显差异。

关键词: 尿素酶抑制剂; 剂型; 土壤尿素酶; 大豆; 生长发育

中图分类号: S565.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-3268(2007)10-0041-04

Effects of Different Urease Inhibitor on Soil Urease Activity and Soybean Growth

ZHANG Xue song¹, HU Chao², BAI Tie jun², MA Guo bao¹, SUN Qing yuan^{1*}

(1. College of Food Science and Biotechnology, Dalian Polytechnic University, Dalian 116034, China;

2. Agro Technology Extension of Heishan County, Heishan 121400, China)

Abstract: The effects of 2 kinds of urease inhibitors, water soluble (AS) and dry power (DP), on soybean growth and soil urea hydrolysis were studied in the paper. The results showed that both forms of urease inhibitors had obvious inhibition effects on the urease activity and urea hydrolysis of soil, and improved the soybean root vigor. The inhibition effects enhanced with the increase of inhibitor concentration. It was found that urease inhibitors had no side effect on soybean seedling height, and there was no obvious difference between the two forms of urease inhibitors.

Key words: Urease inhibitor; Application forms; Soil urease; Soybean; Growth and development

尿素酶抑制剂可节省肥料用量, 提高作物产量, 减少环境污染, 减少残留。尿素酶抑制剂的开发和应用对农业可持续发展具有重要意义^[1,2]。国内外有关尿素酶抑制剂的应用研究主要集中在液体剂型。液体剂型的尿素酶抑制剂须喷洒到土壤中或与尿素混合后施入土壤中, 比较有利于大规模的机械化生产。然而, 对于小规模农户来说, 由于设备条件限制, 液体剂型的尿素酶抑制剂带来农事操作上的不便。为适应不同的农业生产条件, 本试验以大豆为供

试作物, 研究固态型尿素酶抑制剂对土壤尿素酶的抑制效果以及对大豆生长发育的影响。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试土壤为棕壤, 采自黑山县农业技术推广中心试验地。采集 0~20 cm 表层土壤, 经风干、弃去沙石和植物残体, 再过 0.9 mm 筛, 备用。尿素酶抑制剂[正丁基硫代磷酸三胺(nBPT)], 乳白色胶状

收稿日期: 2007-06-03

基金项目: 辽宁省教育厅科研项目(2004D203); 大连市重点科研项目(大连计发[2003]99号); 辽宁省发酵工程重点实验室开放课题(辽发表 2006-009)

作者简介: 张雪崧(1972-), 女, 河北南和人, 讲师, 硕士, 主要从事生物化工研究。

通讯作者: 孙庆元(1957-), 男, 辽宁北票人, 教授, 博士, 主要从事生物化工研究。

物,微溶于水,有效含量 30%,由大连工业大学生物与食品工程学院尿素酶抑制剂项目组提供。大豆 [*Glycine max* (L.) Merri.] 品种采用辽豆 11 号。

1.2 试验方法

1.2.1 处理 供试尿素酶抑制剂分粉剂(DPnBPT)和水剂(ASnBPT)。试验共设 7 个处理,详见表 1。按照配施比例的不同分别计算每盆所需的尿素酶抑制剂的用量。每盆施用尿素0.33 g,以不加尿素酶抑制剂为空白对照。尿素酶抑制剂与适量 N-甲基吡咯烷酮混合乳化后即可制得水剂。尿素酶抑制剂与膨润土均匀混合,自然风干 48 h 后即可制得粉剂。与水剂尿素酶抑制剂混施的尿素溶解至 33%(w/v) 浓度,每盆施用 10 mL (含 0.33 g 尿素)。根据配施比例,取适量的尿素酶抑制剂水剂或粉剂分别与尿素溶液或尿素混匀后施入花盆中。

表 1 处理设置

处理	尿素:nBPT (有效量)	每盆 nBPT 用量
尿素(U)(对照)	100:0	0
尿素+0.5%ASnBPT(UI0.5AS)	100:0.5	5.7mg(8.25mL)
尿素+0.5%DPnBPT(UI0.5DP)	100:0.5	5.7mg
尿素+1.0%ASnBPT(UI1.0AS)	100:1.0	11.4mg(16.5mL)
尿素+1.0%DPnBPT(UI1.0DP)	100:1.0	11.4mg
尿素+2.0%ASnBPT(UI2.0AS)	100:2.0	22.8mg(33.0mL)
尿素+2.0%DPnBPT(UI2.0DP)	100:2.0	22.0mg

1.2.2 播种和管理 2006 年 7 月初将挑选好的种子用清水洗干净并在水中浸泡。浸泡 2 h 左右,将种子取出,放入平皿中,上面盖上干净的湿纱布,放入培养箱,在 25~30℃温度条件下催芽,待露出芽时,立即播种在装有 3 kg 土壤各处理花盆里,每盆播种 6 粒大豆种子,每个处理 3 次重复,每重复 3 盆,随机区组排列。播种后放置自然光照下培养,土壤保持湿润,除草。

1.3 测定项目与方法

1.3.1 大豆生长指标的测定 播种后 14 d 计算出苗率。出苗后 20 d,40 d 分别测量植株高度。

1.3.2 土壤尿素酶活性的测定^[3] 从各处理称取 7.5 g 供试土壤,加 2 mL 甲苯(抑菌作用)处理 15 min,加入 5 mL 尿素溶液(10%)和 10 mL 柠檬酸缓冲液(pH 7.6),混合均匀。然后置 38℃的恒温培养箱中培养 24 h,用 38℃蒸馏水稀释至 50 mL,振荡并过滤。取滤液 0.5 mL,加入 2 mL 苯酚钠溶液,并加入 1.5 mL 次氯酸钠溶液,定容至 25 mL。显色 20 min 后,用 722 型可见光分光光度计在波长 578 nm 处测定吸光度。土壤尿素酶活性以 24 h 后每克土

壤中 NH₃-N 毫克数表示。

$$M=(X_{\text{样品}}-X_{\text{无土对照}})\times 100/7.5$$

式中:M——土壤尿素酶活性;X_{样品}——样品的光密度值在标准曲线上对应的 NH₃-N 毫克数;X_{无土对照}——无土对照的光密度值在标准曲线上对应的 NH₃-N 毫克数;100——样品稀释倍数。

1.3.3 大豆根系活力的测定 大豆出苗 35 d 后测定大豆根系活力。本试验采用 TTC 法^[4]进行测定,以大豆根系还原产生的三苯基甲腈(TTF)量表示其活力大小。从各处理盆中把所有整株大豆取出,用自来水冲洗除净土壤,剪去大豆植株地上部分,将根系用滤纸吸干水分,放入研钵中,加乙酸乙酯 3~4 mL 和少量的石英砂,充分研磨,把红色提取液移入刻度试管,加乙酸乙酯定容至 10 mL,用 722 型可见光分光光度计在波长 485 nm 处测定吸光度。土样中全部根量每小时所还原产生的 TTF 称为 TTC 还原量。

1.3.4 土壤尿素残留量的测定 从各处理称取 5 g 土壤,加 2 mL 甲苯(抑菌作用)处理 15 min,加入 5 mL 10% 尿素溶液和 10 mL 柠檬酸缓冲液(pH 7.6),混合均匀。然后置 38℃的恒温培养箱中培养 24 h,用 38℃蒸馏水稀释至 50 mL,振荡并过滤,滤液即为待测液。取待测液 1 mL,置于 10 mL 刻度试管中,加 10 滴混酸试剂,再加 1.5 mL 二乙酰-丙酮溶液,充分摇匀,放入沸水浴中,20 min 后取出,将着色液用 722 型可见光分光光度计在波长 478 nm 处进行比色测定^[5],土壤尿素残留量以每 5 g 土壤中 CO(NH)₂-N 毫克数表示。R=X×50/1000,式中:R——土壤中尿素的残留量;X——样品的光密度值在标准曲线上对应的 CO(NH)₂-N 毫克数;50——样品稀释倍数。

2 结果与分析

2.1 不同剂型尿素酶抑制剂对土壤尿素酶活性的影响

尿素一经施入土壤后,经土壤尿素酶的催化作用可水解为铵。当土壤为中性、水分适宜时,温度越高,水解就越快。温度为 10℃时需 7~10 d,20℃时需 4~5 d,30℃时只需 2 d 就能完全水解为铵^[7]。如图 1 所示,与对照(U)相比,不同剂型的尿素酶抑制剂对土壤尿素酶活性都有一定的抑制作用,UI0.5 的抑制作用明显低于其他浓度处理。处理 UI1.0 和 UI2.0 间的差异较小。在施入肥料后两周内,土壤中尿素酶活性呈现出逐渐上升的趋势;添

加两种不同剂型抑制剂的处理,从第 5 天开始就分别显示出了一定的抑制作用,在第 20 天左右土壤脲素酶的活性达到最高,随后则开始下降。在第 10、20 天时,UI1.0AS 和 UI1.0DP 处理的脲素酶活性分别比对照降低 21.4%,12.6%和 19.1%,13.4%,可见液态剂型对土壤脲素酶活性的抑制效果较高。然而,30 d 后,粉状土壤脲素酶抑制剂已全部溶解在土壤中,对土壤脲素酶的抑制作用也接近液态剂型的作用。

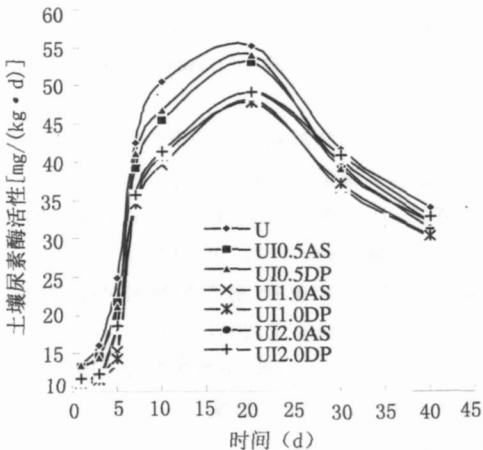


图 1 不同剂型脲素酶抑制剂对土壤脲素酶活性的影响

2.2 不同剂型脲素酶抑制剂对土壤脲素水解的影响

在一般情况下,土壤中含有大量的脲素酶能够快速水解脲素^[9]。在不施脲素酶抑制剂的条件下,脲素在土壤中迅速水解,其含量从第 1 天到第 7 天急剧下降,到第 7 天时脲素水解了 43%。添加脲素酶抑制剂的处理对脲素水解都有不同程度的抑制作用。在第 7 天时,添加脲素酶抑制剂处理的土壤脲素残留量明显高于对照(U)。不同浓度的脲素酶抑制剂处理(UI1.0 和 UI2.0)的土壤脲素残留量有一定的差异,UI1.0 的脲素残留量高于 UI2.0 处理,但不同剂型的脲素酶抑制剂处理(UIAS 和 UIDP)对脲素水解的抑制作用差别不明显(图 2)。

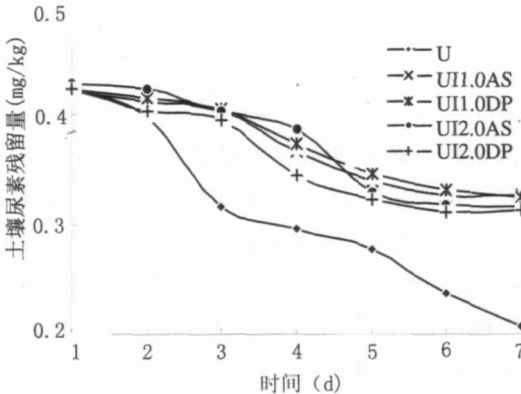


图 2 不同剂型脲素酶抑制剂对土壤脲素水解的影响

2.3 不同剂型脲素酶抑制剂对大豆出苗的影响

在不施脲素酶抑制剂的情况下,大豆的出苗株数相对较低。这是由于脲素水解为 NH_4^+ 和 NH_3 ,不仅提高了土壤的渗透压,而且通过氨对幼芽的直接毒害抑制了种子的萌发。配用脲素酶抑制剂后减缓了脲素的水解,延长了施肥点处脲素的扩散时间,降低了土壤中 NH_4^+ 和 NH_3 的浓度,因而减少了脲素对幼苗的毒害^[6,8]。两种剂型的脲素酶抑制剂处理的大豆出苗都整齐(数据略),但是 AS 处理较 DP 处理的出苗数平均高 3.2%(表 2),说明水剂脲素酶抑制剂比粉剂对种子萌发更有利。这是由于水剂脲素酶抑制剂抑制脲素酶的活性较迅速,在种子萌发之前,控制了土壤 NH_4^+ 和 NH_3 的浓度,减缓了对种子幼芽的伤害^[6]。

表 2 不同剂型的脲素酶抑制剂对大豆出苗的影响 (株/盆)

剂型	U	UI0.5	UI1.0	UI2.0
AS	5.3	5.7	6.0	5.8
DP	5.3	5.5	5.7	5.6

2.4 不同剂型脲素酶抑制剂对大豆苗期生长的影响

与空白对照(U)相比,两种剂型的脲素酶抑制剂对大豆幼苗生长未发现不良影响,并且长势略优于空白对照。说明在试验浓度范围内,脲素酶抑制剂抑制土壤脲素酶活性,使脲素水解减缓,降低了土壤铵离子浓度,但仍能满足大豆苗期对 N 素的需求,未对大豆苗期生长产生不利影响(图 3)。

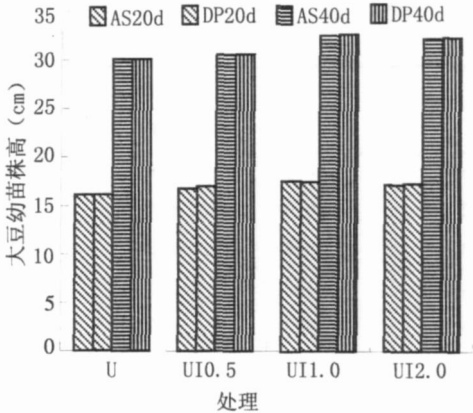


图 3 不同剂型脲素酶抑制剂对大豆幼苗生长的影响

2.5 不同剂型的脲素酶抑制剂对大豆根系活力的影响

与对照相比,两种剂型脲素酶抑制剂处理大豆的根系活力均有所提高。UI2.0AS 和 UI2.0DP 处理的大豆根系活力分别比对照提高 4.98 倍和 5.05 倍。相同浓度的抑制剂以粉剂处理大豆根系活力略高,处理 UI2.0, UI1.0, UI0.5 的大豆根系活力,粉

剂比水剂处理的大豆根系活力分别高 1.3%, 3.2%, 8.3%(表 3)。这表明, 水剂型尿素酶抑制剂的流动性较强, 有可能对大豆根系的生长有轻微的不利影响, 其影响机理还有待于进一步的研究。

表 3 不同剂型尿素酶抑制剂对大豆根系活力的影响

[mg/(g·h)]				
剂型	U	UI0.5	UI1.0	UI2.0
AS	0.0511	0.0605	0.2433	0.3055
DP	0.0511	0.0655	0.2511	0.3094

3 结论

不同剂型的尿素酶抑制剂对土壤尿素酶活性都有一定的抑制作用。尿素酶抑制剂的施用浓度决定抑制效果, 但在相同浓度下, 水剂在施用后 30d 以内对尿素酶的抑制效果高于粉剂, 30d 之后不同剂型间的差异逐渐消失。尿素与两种不同剂型的尿素酶抑制剂配合施用后, 大豆的出苗率均有所提高。这说明尿素酶抑制剂有利于缓解尿素对大豆幼苗生长发育的不利影响。水剂和粉剂处理间的出苗率无明显差异。尿素酶抑制剂与尿素的配合施用对大豆株高无明显影响, 说明在试验浓度范围内, 尿素酶抑制剂抑制土壤尿素酶活性, 导致尿素水解减缓, 降低土壤铵离子浓度, 未对大豆苗期生长产生不利影响, 同时能满足大豆苗期对 N 素的需求。尿素酶抑制剂对大豆根系活力的提高有明显影响。在相同尿素酶

抑制剂浓度条件下, 粉剂处理的大豆根系活力高于水剂处理。高浓度的尿素酶抑制剂本身是否对大豆根系活力产生不利影响有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Pedrazzini F. The effect of phenylphosphorodiamidate on urease activity and ammonia volatilization in flooded rice[J] . Biology and Fertility of Soils, 1987, 3(3): 183 - 188.

[2] Terman G L. Volatilization losses of nitrogen as ammonia from surface applied fertilizers organic ameendments and crop residues [J] . Adv Agron, 1979, 31: 129 - 135.

[3] 林新坚, 陈济琛, 郑时利, 等. NBPT 产生菌筛选和抑制剂的提取[J] . 微生物学通报, 1997, 24(6) : 323 - 326.

[4] 白云峰, 李杰. 脲酶抑制剂(Urease inhibitor) 的作用机制[J] . 饲料博览, 2001(9) : 39 - 42.

[5] 王希鸿, 王宝琰, 宋彬彬. 脲酶抑制剂对尿素酶活性的抑制试验[J] . 饲料博览, 2001(2) : 32.

[6] 赵略, 孙庆元, 于英梅, 等. 脲酶抑制剂 nBPT 对土壤脲酶活性和脲酶产生菌的影响[J] . 大连轻工业学院学报, 2007, 26(1) : 24 - 27.

[7] 孙羲. 农业化学[M] . 上海: 上海科学技术出版社, 1980: 99.

[8] 刘娜, 扬红, 孙庆元. 尿素酶抑制剂对大豆生长的影响[J] . 大连轻工业学院学报, 2006, 25(1) : 26 - 29.

(上接第 40 页)

表 1 小麦产量及穗数调查结果

处理代号	产量(kg/hm ²)				较 ck 土		穗数 (万/hm ²)
	I	II	III	平均	(kg/hm ²)	(%)	
1(ck)	8775	8565	8280	8540	-	-	753.0
2	8940	9270	8910	9040	500	5.86	799.5
3	8055	7950	7395	7800	-740	-8.67	696.0
4	7185	7320	8085	7530	-1010	-11.83	693.0
5	8985	9079	8610	8891	351	4.10	793.5
6	8295	8475	8610	8460	-80	-0.90	687.0
7	8070	7890	7755	7905	-635	-7.40	738.0

3 小结

- 1) 本研究表明, 小麦超高产 9000 kg/hm² 栽培序列措施中, 在保证基础措施的同时, 春季适当追氮, 增加穗数是一项关键措施。
- 2) 超高产小麦实现全生育期及时防治各种病虫害(全程保健) 至关重要, 其中, 早春防治和 4 月中下

旬防治是两个必不可缺的关键措施。对于后期叶枯病比较严重的品种, 于 5 月下旬防治叶枯病和蚜虫。

- 3) 小麦超高产栽培, 在保证土壤肥力、适量底肥、适时灌水基础上, 有 3 项关键措施: (1) 春季追氮; (2) 早春防治纹枯病; (3) 抽穗前后综合防治病虫。

致谢: 本试验在王绍中研究员指导下进行, 并审改此稿, 特此致谢。