

新型脲酶抑制剂的试验研究

陆欣 王申贵 王海洪 王艳

(山西农业大学土化系, 太谷 030801)

摘 要

应用不同煤源及加工方式生产的二种腐植酸类物质作为脲酶抑制剂, 进行了二年盆栽一年田间小区的试验研究。表明了选用煤炭腐植酸类物质作为脲酶抑制剂是可行的。它既能减缓尿素分解, 以提高尿素利用率和减少氮素对环境的污染, 又能显著地改善作物根系活性和对土壤养分的有效利用率。且其原料易得、加工简便, 对环境无污染, 对生物无毒害, 并在开发利用风化煤之类资源的同时, 又改善了环境条件。

关键词 脲酶抑制剂, 煤炭腐植酸, 环境污染

尿素是目前世界及我国农业生产中应用面积最广、数量最多, 也最受欢迎的氮肥品种。但长期以来, 一直存在着利用率低、氨挥发损失或造成局部土壤 pH 值升高以及土壤中氨及硝酸盐积累等对作物及环境的危害, 限制了尿素肥料的应用范围及其增产效应的充分发挥。自 70 年代以来, 国内、外已经研究筛选了多种脲酶抑制剂, 例如有近百种有机、无机化合物已获专利^{[1, 15]1)}。其中, 效果较好的大多为汞盐和重金属类, 或多元酸及醌类化合物^{[2, 3, 4]2)}。但具备高效、价廉、无毒、无污染者甚少。

不过应用煤炭腐植酸类物质作为脲酶抑制剂的报道却很少见, 仅有肇溥敏等 (1993) 有用腐植酸不同组份作为尿素添加剂的尝试^[5, 6], 但很少涉及对作物生理代谢的作用, 以及由此而产生的脲酶抑制剂对增产效果的影响。

本研究, 在前期对 16 种不同煤源及加工方式的煤炭腐植酸类物质对土壤脲酶活性的抑制作用进行筛选的基础上^[7], 选择了 HA₂ 及 HA₄ 两种煤炭腐植酸物质以及用对苯二酚为参比抑制剂, 进行了玉米盆栽及田间小区试验。着重探讨了不同抑制剂对土壤脲酶活性、作物生长发育、根活力、根代换量、根脲酶活性的影响, 并对其增产效应进行了分析。

1 材料和方法

1.1 供试土壤与材料

1.1.1 供试土壤 为暖温带半干旱地带石灰性褐土。土壤有机质含量 10.68~14.75g/kg; 全氮 0.8~

1) 周礼恺, 1988: 脲酶抑制剂研究的国内外动态与今后工作的设想。全国土壤酶第三次学术讨论会交流论文 2—3。

2) 曹承锦, 1988: 长效尿素的研制生产和应用。全国土壤酶第三次学术讨论会交流论文。

收稿日期: 1995-04-06; 收到修改稿日期: 1996-03-23

0.92g / kg; 速效磷 6.2~17.5mg / kg; pH7.5~8.5; 质地为砂壤—轻壤。

1.1.2 供试作物 玉米(品种为农大 60)。

1.1.3 供试材料 CK₂(参比抑制剂), 为我国唯一获专利的脲酶抑制剂对苯二酚(C. P); 腐植酸抑制剂: HA₂(原料: 新疆风化煤含游离腐植酸 52.9%); HA₄(原料: 山西灵石风化煤, 含游离腐植酸 82.21%)。

1.2 试验内容及方法

1.2.1 试验内容 于 1991 年及 1992 年进行了瓦格涅尔钵钵的玉米盆栽试验^[6], 以考核供试抑制剂在有作物生长的情况下, 对土壤脲酶活性的抑制作用和规律, 及其对作物生长发育的影响。1993 年又进行了玉米田间小区试验, 以进一步检验在接近大田的条件下, 供试抑制剂的效果及对作物生长、代谢与产量结构的影响。

1.2.2 试验方法 根据试验设计的要求, 将供试抑制剂和尿素混合均匀, 所有处理的用肥均以基肥形式于播前一次性施入土壤中作底肥, 作物生长期不再追肥。试验处理为: (1) CK₁ 底肥(N:P₂O₅:K₂O = 0.13:0.10:0.13g / kg 土)(N 以尿素形式提供, P₂O₅ 为过磷酸钙, K₂O 为氯化钾配施), 不加任何抑制剂; (2) CK₂ 底肥加对苯二酚; (3) HA₂ 底肥 + HA₂; (4) HA₄ 底肥 + HA₄, 每个处理重复四次。于作物不同生育期采样测定土壤的脲酶活性, 植株的根活力, 根的脲酶活性及代换量, 并同时植株生长发育情况进行相应的调查。小区试验还进行计产及产量结构的调查。

1.2.3 测定方法 均采用常规分析方法。其中: 土壤脲酶活性为靛酚比色法^[11], 根据活力为 α -萘胺比色法^[12]; 根脲酶为苯酚钠比色法^[13]; 根代换量用氢氧化钠滴定法^[1]。

2 结果与分析

2.1 不同抑制剂对土壤脲酶活性的抑制作用

2.1.1 对盆栽玉米生育期间土壤脲酶活性的影响 因尿素一经施入土, 即可在脲酶的催化作用下分解为碳酸铵。这种转化作用在温度为 10℃ 时需 7~10 天, 20℃ 时需 4~5 天, 30℃ 时需 2 天即可完成^[9]。据我们前期筛选工作中对脲酶活性所进行的 6~8 天连续测定的结果, 也表明了尿素在施入土中第 2~3 天是氨释放的高峰期^[7]。故在尿素施入土壤后的早期能否有效地抑制脲酶活性应成为选择脲酶抑制剂的重要条件之一。本试验分别于施肥后第 2、第 3 天(出苗期), 以及 37~40 天(拔节期)与 104~106 天(抽穗孕穗期), 对各处理的土壤脲酶活性进行了测定^[8]。将二年的测定结果进行了方差分析和多重比较(L. S. D)二种统计分析^[14]。方差分析表明三种处理的抑制剂与对照 CK₁ 相比较, 差异均达显著或极显著的水准(F 值 1991 年分别为 42.10**、45.90**、19.35**、12.30**; 1992 年分别为 26.032**、5.821**、1.273、4.678**); 说明了三种脲酶抑制剂均起到了对土壤脲酶活性的抑制作用, 且施入的前期作用大于后期。进一步经多重比较统计可知, 腐植酸抑制剂 HA₂ 及 HA₄ 处理与 CK₂ (参比抑制剂对苯二酚) 处理相比较, 在施肥后的第 2、第 3 天及 37~40 天, 土壤脲酶活性差异不显著。表明了在这几个时期腐植酸抑制剂(HA₂ 和 HA₄) 对脲酶活性的抑制作用, 是与参比抑制剂(CK₂) 的效果相同。

1) 山西农业大学土化系主编, 1989: 农业化学实验指导(土化专业用)19—20。

表 1 不同抑制剂对土壤脲酶的抑制率*(%)
Table 1 Inhibition rates of different inhibitors to soil urease (%)

时 间 Time	CK ₂		HA ₂		HA ₄	
	1991	1992	1991	1992	1991	1992
第2天(出苗期)	10.86	37.96	4.55	44.66	12.62	52.65
第3天	18.91	3.49	35.57	4.09	6.29	15.81
2天累计ΣX	29.77	41.43	40.12	48.57	18.91	68.46
37~40天(拔节期)	14.50	4.10	24.25	23.56	15.97	17.98
104~106天(抽雄孕穗期)	16.25	2.10	14.21	-14.47	15.23	3.03

$$* \text{ 抑制率} = \frac{\text{不加抑制剂的酶活性} - \text{加抑制剂的酶活性}}{\text{不加抑制剂的酶活性}} \times 100$$

由表 1 可知: (1)从施肥后前二天的累计抑制率来看, 三种不同抑制剂均以 1992 年的抑制效果优于 1991 年。其中 HA₂ 和 HA₄ 二种腐植酸抑制剂的抑制率除 1991 年 HA₄ 外, 均高于 CK₂ (对苯二酚抑制剂)。(2)各抑制剂对脲酶的抑制作用大多数可以延长到拔节和抽雄期。其中 1992 年拔节期时 HA₂ 及 HA₄ 二种腐植酸抑制剂远高于 CK₂ 的抑制效应, 表明腐植酸的抑制作用在此时得到最大发挥。这与肇溥敏^[5] 等人的研究结果相符。(3)拔节至抽穗期间各处理的抑制率一般逐渐开始下降, 也就是说此时脲酶活性又逐渐得到恢复, 以保证作物(玉米)此时对氮的大量需求。因为玉米生长到喇叭口至抽雄时期, 是其营养生长和生殖生长同时并进生长发育最旺盛的阶段和需要养分最多的时期, 也是作物营养利用效率最大时期^[10]。所以在这个时期, 土壤要保持相当水平的脲酶活性才能保证作物对氮素营养的需求。故研究抑制剂对土壤脲酶活性的抑制作用, 还应重视与作物生育期需氮规律相适应, 这也是选择脲酶抑制剂的又一个重要条件。

2.1.2 对田间小区玉米生育期间土壤脲酶活性的影响 在盆栽试验的基础上, 以 CK₁ 及 CK₂ 为对照, 选择了盆栽试验中表现较佳的 HA₄ 于 1993 年进行了田间小区试验。并于施肥后 2 天, 3 天, 4 天(出苗期)及 35 天(拔节期), 135 天(成熟期)的土壤脲酶活性进行了测定, 结果列于表 2。

表 2 不同抑制剂对土壤脲酶活性的影响(1993) (NH₃-N mg/g±24h)

Table 2 Influence of inhibitors on soil urease activity (NH₃-N mg/g±24h)

时 间 Time	CK ₁		CK ₂		HA ₄	
	酶活性	酶活性	抑制率(%)	酶活性	抑制率(%)	
	Enzyme activity	Enzyme activity	Inhibition rate	Enzyme activity	Inhibition rate	
2天	3.516	3.390	3.580	3.413	2.93	
3天(出苗期)	3.655	2.938	19.60	3.10	15.19	
4天	3.244	2.425	25.20	2.672	17.63	
35天(拔节期)	2.581	1.596	38.20	1.609	37.70	
135天(抽雄孕穗期)	1.606	1.530	4.74	1.642	0.0	

由表 2 可见: (1)抑制剂在田间条件下, 施用后第 2 天时, 抑制率仍较低, 至第 3~4 天时, 抑制率才有明显的增加, 表明了抑制作用较盆栽条件下发挥的略迟一些。但抑制剂对土壤脲酶活性的抑制能力的总趋势与盆栽试验一致。即抑制率在拔节期时达最高

峰期, 拔节以后又开始减弱。(2)HA₄抑制剂在成熟时期, 土壤脲酶活性已恢复至CK₁同等水平(抑制率为0%), 但CK₂(对苯二酚), 此时仍对土壤脲酶有一定的抑制作用, 其抑制率为4.74%, 这对玉米后期需对土壤氮素大量吸收利用不利。所以, 腐植酸抑制剂优于对苯二酚。

2.2 不同抑制剂对玉米根系及植株生长发育的影响

一个优良的脲酶抑制剂, 不仅要求有效地抑制土壤脲酶活性, 而且还应对植物(尤其根系)生长及代谢无不良影响, 才能确保作物对土壤养分的有效利用与增产效应。这也是选择脲酶抑制剂的重要条件之一。

为此, 在本试验过程中, 我们特别研究了脲酶抑制剂对玉米根系及植株生长发育所产生的影响。我们在盆栽试验中对在玉米生长至抽雄孕穗期及时对各处理植株的根活力和根的脲酶活性以及生物产量进行了测定, 而且还对植株生长发育状况进行了调查。在小区试验中分别于玉米幼苗期及成熟期进行了根代换量的测定与产量结构的测算(表3, 表4)。据表3、表4充分表明了:

表3 不同抑制剂对玉米根系的影响
Table 3 Influence of different inhibitors on corn roots

项 目 Item	根活力 ¹⁾ Root activity		根脲酶活性 ²⁾ Root urease activity		根代换量 ³⁾ Root exchange capacity			
	— x	比CK ₁ 增 (%) ⁴⁾ Compared with	— x	比CK ₁ 增 (%) Compared with	幼苗期 Seeding stage	比CK ₁ 增 (%) ⁴⁾ Compared with	成熟期 Mature stage	比CK ₁ 增 (%) ⁴⁾ Compared with
CK ₁	29.0425		0.4025		31.525		10.145	
CK ₂	20.0225	-31.1	0.2955	-26.58	30.576	-3.01	10.435	2.86
HA ₂	41.5625	43.1	0.3990	-0.87				
HA ₄	79.02	172.11	0.4050	0.62	34.45	9.28	11.323	11.61
F 值	6.85*				6.8*		23.23**	
(F _{0.05} /F _{0.01})	(3.86/ 6.99)				(5.14/10.92)		(5.14/10.92)	
L. S. D. 检 验	HA ₄ 与其余处理 间差异极显著		CK ₂ 与其余处理 间差异极显著		HA ₄ 与其余处理 间差异显著		HA ₄ 与其余处理 间差异极显著	
试验方式	盆栽试验				小区试验			

1) 单位: α-萘胺 μg/g 鲜根·h 2) 单位: NH₃-N mg/g 鲜根·10min

3) 单位: cmol (+) /kg 干根 4) 比CK₁增(%) = $\frac{\text{各处理测定值} - \text{CK}_1\text{测定值}}{\text{CK}_1\text{测定值}} \times 100$

据表3、表4, 充分表明了: (1)HA₂及HA₄二种煤炭腐植酸抑制剂无论对根系活力及根代换量都有显著或极显著的良好影响, 与CK₁相比较, 分别增加43.1%; 172.11%; 9.28%; 11.61%(表3)。另反映在植株干重, 侧根数、茎直径以及抽雄率、成穗率上均明显地优于CK₁及CK₂(表4), 说明本试验中选用的HA₂、HA₄抑制剂由于对土壤脲酶活性的抑制作用适时, 从而对作物根系生成及植株产量结构因素都有良好的反应。(2)参比抑制剂CK₂(对苯二酚)表现了对根活力、根脲酶活性以及幼苗期根代换量均有不同程度的抑制作用。与CK₁相比较, 分别下降31.1%; 26.6%及3.01%(表3)。故相应地表现为

表 4 不同抑制剂对玉米生长发育的影响

Table 4 Influence of different inhibitors on corn growth

类别 Type	项 目 Item	CK ₁		CK ₂		HA ₂		HA ₄	
		\bar{x}	\bar{x}	比CK ₁ 增 (%) Compared with	\bar{x}	比CK ₁ 增 (%) Compared with	\bar{x}	比CK ₁ 增 (%) Compared with	\bar{x}
	植株鲜重(g/株)	1031	943	-8.5	1187	15.1	1132	9.8	
盆	地上部干重(g/株)	5.45	3.70	-32.1	6.76	24.0	6.36	16.7	
栽	地下部干重(g/盆)	34.75	28.90	-16.8	34.4	-1.0	36.5	5.0	
试	侧根数(条/株)	8.75	8.25	-5.7	13.75	57.1	11.5	31.4	
验	茎直径(mm)	4.45	4.30	-3.4	4.78	7.4	4.8	7.9	
(1992)	抽雄率(%)	70.0	83.8		85.2		88.9		
	成穗率(%)	50	61.7		64.3		66.7		
小 区 试 验 (1993)	干物重 地上部 (g/株)	107.63	67.167	-37.6			113.0	5.0	
	干物重 地下部 (g/株)	10.33	10.00	-3.2			10.42	0.9	
	产量 籽粒重 (kg/区)	20.0	12.14	-14.3			22.07	10.3	
	产量 穗轴重 (kg/区)	5.00	4.31	-13.8		未设该处理	4.71	-5.8	
	产量 籽粒+穗轴 (kg/区)	25.00	21.45	-14.2			26.78	7.1	
	每穗粒重(g/穗)	68.87	58.56	-15.0			76.64	11.3	
	籽粒/茎秆	1/1.641	1/2.104				1/1.434		

对玉米根系生长有较为明显的抑制作用。如地下部干重 1992 年减少 16.83%；侧根数 1992 年减少 5.7%(表 4)。大大影响了根系对土壤养分的吸收利用，从而对玉米地上部生长也表现了一定的抑制作用。(3)小区试验的考种结果，更进一步地说明了煤炭腐植酸抑制剂 HA₄ 由于对植物根系有良好影响(地下部干重比 CK₁ 增加 8.7%)，促进了根系对营养物质的吸收，因此，籽粒产量比 CK₁ 增产 10.34%。而穗粒重与粒茎比大，穗轴重小则是增产的主要原因。由此也反映了煤炭腐植酸还可以促进植株体内对养份的有效利用，提高了土壤养分的有效利用率。由于 CK₂(对苯二酚)对植株根系也有一定抑制作用，故在一定程度上影响了根系对土壤养分的吸收转化。它与 CK₁ 相比，籽粒重量降低 14.28%(表 4)。

3 小 结

通过三年的盆栽及田间小区试验，充分表明了：与现有的酚醌类抑制剂相比较，选用煤炭腐植酸类物质作为脲酶抑制剂，除了能具有与对苯二酚脲酶抑制剂相似的抑制土壤脲酶活性的功能外，还对植株、土壤均表现了安全、无污染的特点。所以充分利用和开发这类低热值的煤炭资源，还可以改善矿区环境状况。总之，无论从社会效益、环境效益或是经济效益来看，这都是一项可行的举措。

参 考 文 献

1. 陈举鸣编译, 1987: 国外脲酶抑制剂研究动态. 国外农学—土壤肥料. 第 3 期, 1—2 页.
2. 关松荫, 1985: 土壤脲酶抑制剂应用效果的研究. 土壤通报, 第 16 卷 5 期, 232—234 页.
3. 张志明、武冠云等. 1987: 脲酶抑制剂氢醌提高尿素肥效的研究. 土壤通报, 第 5 卷 5 期, 214—216 页.
4. 肇由保、李双霖, 1991: 脲酶抑制剂的筛选及使用条件的研究. 土壤, 第 23 卷 2 期, 96—102 页.
5. 肇溥敏、王宝申、韩英群, 1993: 腐植酸类物质与尿素的复合效应及其对脲酶活性的抑制作用. 土壤通报, 第 24 卷 3 期, 135—136 页.
6. 肇溥敏、王宝申、韩英群, 1993. 长效复合肥中有机添加剂生物学效应的试验研究. 沈阳农学报. 第 24 卷 2 期, 157—164 页.
7. 陆欣、王海洪、陶运萍等. 1994: 应用煤炭腐植酸作为脲酶抑制剂的试验研究初探. 腐植酸, 第 1 期, 11—18 页.
8. 陆欣、王申贵, 1994: 煤炭腐植酸脲酶抑制剂应用效果的研究—对土壤脲酶活性及作物生长发育的影响. 腐植酸, 第 4 期, 10—14 页.
9. 孙曦, 1980: 农业化学. 75 页, 上海科学技术出版社.
10. 山东农学院主编. 1990. 作物栽培学(上册), 176—177 和 218—222 页. 农业出版社.
11. 严昶升, 1989: 土壤肥力研究方法. 农业出版社. 274—276 页.
12. 浙江农业大学主编, 1980: 农业化学实验(农学类专用). 73—76 页, 上海科技出版社.
13. 西北农大主编, 1985: 基础生物化学实验指导(农学类专业用). 102—103 页, 陕西科技出版社.
14. 毛达如主编, 1994: 植物营养研究方法(土壤与植物营养专业用). 193—197 页, 北京农业大学出版社.
15. Regis D. Voss., 1984: Nitrogen in Crop Production. ASA-CSSA-SSSA. Madison., p.571.

STUDY ON NEW TYPES OF UREASE INHIBITORS

Lu Xin Wang Shengui Wang Haihong and Wang Yan

(Dept. of Soil Science, Shanxi Agricultural University, 030801)

Summary

Two kinds of humic acids derived from different coal sources have been studied for three years. The results show that it is feasible to use humic acids as urease inhibitors. They could slowly reduce the decomposition of urea, lessen nitrogen pollution of environment, and significantly improve the activity of crop roots and the available utilization rate of soil nutrients. Also humic acids could be got easily and have little harmful effect on environment and organisms. While exploiting weathered coal resource, it could improve environmental conditions.

Key words Urease inhibitor, Coal humic acid, Environmental pollution