

文章编号: 1003-8701(2006)06-0025-04

脲酶抑制剂的作用机理与效应

郑福丽¹, 李 彬², 李晓云³, 石元亮¹

(1. 中科院沈阳应用生态研究所, 沈阳 110016; 2. 北京科技大学冶金与生态工程技术学院, 北京 100085;
3. 吉林省职业师范学院经济技术学院, 长春 130011)

摘 要: 综述了脲酶抑制剂作用机理及脲酶抑制剂对农作物生长和产量的影响, 总结了脲酶抑制剂对抑制尿素水解、减少氨气挥发损失和氮素总损失的作用以及对环境保护的效应等。

关键词: 脲酶抑制剂; 氮肥; 农业; 环境

中图分类号: S154.2

文献标识码: A

尿素肥料具有许多优良特性, 近二三十年来已日益成为世界尤其是亚洲肥料市场上最重要的固体氮肥, 约占世界氮素肥料生产及消费量的 50%。美国氮肥消费中约 25% 为尿素, 而亚洲 80% 为固体尿素和含有尿素的液体化肥, 加拿大的尿素形态氮占总肥料氮消费的 50%。在 1995~1996 年, 全世界 7 730 万 t 农用纯氮中, 3 800 万 t 是酰胺态氮, 并以尿素的形式用在农业和非农业的行业上^[1]。在我国, 据统计 1999 年氮肥生产中, 尿素为 1 386 万 t, 碳铵为 734 万 t, 硝铵为 45 万 t, 氯铵为 68 万 t, 尿素居氮肥消费之首。然而, 众所周知, 尿素施入土壤后损失严重, 尤其是在表施的情况下氨气挥发严重, 有时氨挥发损失达 40%, 尿素的肥料利用率仅达 30%~40%, 因此, 如何减少氨气的挥发, 提高氮肥利用率, 就成为一个重要的问题。

尿素施入土壤后, 在土壤脲酶的作用下迅速水解生成氨气, 水解快, 土壤氨分压高, 挥发加剧, 因此氨挥发程度与土壤脲酶活性有关, 人们便把如何抑制脲酶活性作为减少氨挥发损失的重要途径, 从而推动了对脲酶抑制剂的研究。虽然国外在 40 年代初期就发现了土壤中脲酶的存在, 然而直到 70 年代, 在研究出一种快速评价抑制脲酶活性的方法后, 人们才对化合物抑制土壤中尿素水解的效果给予评价。能够抑制土壤脲酶活性的有机无机化合物有许多种, 随着研究的深入, 人们逐渐把注意力转移到有机类化合物上, 目前已成为这一领域的研究热点^[2]。本文总结了国内外 10 几年的研究结果, 就脲酶抑制剂的作用机理及在农业中的应用效果进行了归纳, 以供参考。

1 脲酶抑制剂的作用机理

综合已有研究结果, 脲酶抑制剂控制尿素水解的作用机理主要有 3 种学说:

第 1, 由于 SH⁻ 的氧化降低脲酶活性。脲酶是一种分子量为 480 000 的含镍酶, 它有 129 个半胱氨酰基, 47 个巯基(半胱氨酰残基)。其中有 4~8 个巯基对酶的活性具有重要意义。醌类和酚类脲酶抑制剂对土壤脲酶的抑制作用具有相同的机制, 主要作用于对脲酶活性具有重要意义的巯基(-SH)。半胱氨酰的 -SH 基被醌氧化脱氢形成 S-S 的胱氨酰, 从而降低了脲酶的活性强度^[3]。

第 2, 争夺配位体, 降低脲酶活性。1999 年, B.M.anunza 等人解释了尿素、氧肟酸、酰胺类脲酶抑制剂(NBPT)竞争脲酶活性部位的机制, 认为脲酶抑制剂是通过与尿素竞争脲酶活性部位起作用的。

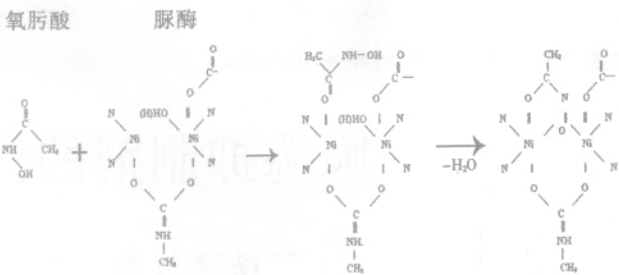
氧肟酸与脲酶反应简式如下:

收稿日期: 2006-06-08

基金项目: 中科院创新基金项目(SCXZD0104-03)

作者简介: 郑福丽(1979-), 女, 山东潍坊人, 硕士, 主要从事植物营养研究。现工作于山东省农科院。

脲酶分子中含有两个Ni原子,第1个Ni原子与两个咪唑环相连,另一个Ni原子也与两个咪唑环相连,同时还连有1个水分子和羧酸分子,两个Ni原子之间有氨基甲酸桥相连,当尿素分子与脲酶反应时,尿素分子中的O原子与脲酶中一个Ni原子(Ni-O)连接形成单齿配位体,而大多数酰胺类脲酶抑制剂分子都含有N、O原子,N、O原子都可与Ni原子对接形成配位体(Ni-O,Ni-N),而且NBPT分子中的另一个氨基化合物可以与氨基甲酸桥中的氧原子形成H-O桥,这样就形成了三齿配位体,三齿配位体自然要比单齿配位体牢固的多,从而减少了尿素与脲酶的接触,而且不同的酰胺类抑制剂,虽然主体结构类似,但是由于所连接基团的种类和数量的不同,使得键之间的键能不同影响键断裂,从而使得不同脲酶抑制剂分子与脲酶分子结合的难易程度不同,这就是虽是同类抑制剂但抑制效果不同的原因之一,与脲酶分子结合越牢固的抑制剂其抑制效果也越好^[4]。这是两种不同的说法,也有可能是不同类的抑制剂其作用机理有所不同。



第3,脲酶抑制剂能抑制或延缓脲酶的形成,部分抑制剂能通过影响微生物等过程影响脲酶的形成,从而抑制土壤中尿素水解,降低尿素的水解速度,并且阻止至少降低了酰胺氮向氢氧化铵和氨的转化。影响脲酶活性的因素包括土壤pH、水分状况、通气条件、有机物质数量以及尿素的浓度等。脲酶抑制剂的效果在很大程度上与那些对脲酶活性有影响的因素有关。人们对脲酶抑制剂的研究进行的还较少,对于种类繁多的脲酶抑制剂作用机理还需进一步的研究。

2 脲酶抑制剂的种类

到目前为止,已经过试验室、盆栽及田间试验的抑制剂有七八十种,其中包括无机盐类、有机化合物等两大类。在有机物类中根据其主分子结构大致有以下几类(表1)。

表 1 脲酶抑制剂类型

类别	化合物	结构特性(主要官能团)
磷酸类	CNPT(环乙基磷酸三酰胺)、TPT(硫代磷酸三胺)、PT(磷酸三胺)、NBPT(N-丁基硫代磷酸三胺)、NBPTO(N-丁基磷酸三胺)、PPD(苯基磷酸二胺)、CHTPT(环乙基硫代磷酸三酰胺)等	P=O P=SNH ₂
酚醌类	P-苯醌、HQ(氢醌)、醌氢醌、蒽醌、菲醌、1,4-对苯二酚、邻苯二酚、间苯二酚、苯酚、甲苯酚、苯三酚、茶多酚等	酚羟基 醌基
杂环类	HACTP(六酰氨基环三磷腈)、硫代吡啶类、硫代吡唑-N-氧化物、N-卤-2-咪唑艾杜烯、NN-二卤-2-咪唑艾杜烯	均有含N基及含O基团
其它类	楝树胶、腐殖酸、硼酸、汞盐银盐、木质素、硫酸铜、石灰氮、硫代硫酸盐、硫脲、菜籽饼、烟叶、茶叶、蓖麻叶等	

3 脲酶抑制剂有效性的影响因素

脲酶抑制剂的有效性在很大程度上受环境条件影响,如土壤pH值、水分状况、土壤质地、有机质量、尿素的浓度、气候条件和施肥的数量与方式等。不同抑制剂受各种条件影响的效果不尽相同,目前研究较多的4种抑制剂效果与环境条件的关系如表2。

在非酸性土壤,通气性良好的条件下,对尿素的抑制作用依次为NBPT>PPD>HQ,当使用1%的脲酶抑制剂HQ、PPD、NBPT分别对尿素水解推迟1d,2d和5d。然而,在酸性土壤上,几种脲酶抑制剂之间的差别不像在非酸性土壤上那么明显。PPD在酸性土壤(pH5.6)比在中性土壤(pH7.4)上效果好,而NBPT在碱性土壤上比PPD更为有效。NBPT受土壤pH的影响最小,表明NBPT不但适用于酸性而且适用于碱性土壤。但在酸性土壤或淹水条件下,PPD的效果优于NBPT,PPD可使氨气挥发损失

表 2 环境条件与抑制剂的关系

抑制剂	pH	有机质	土壤质地(土壤黏度)	环境温度	氧化还原电位
NBPT	0	-	-	+	+
PPD	-	-	-	+	-
HQ	0	-	-	+	-
TU	0	-	-	+	+

注:“0”表示受该条件影响不大,“+”代表正相关,“-”代表负相关,例如,土壤黏粒量负相关,用“-”表示。

从 40% 降到 20%。HQ 受土壤环境因素如 pH 和通气性的影响较小。HQ 在通气良好的条件下使用, 效果不如 NBPT 和 PPD; 在嫌气条件下使用时, 效果优于 NBPT, 但不及 PPD^[5]。

当脲酶抑制剂施于氨气挥发比较严重的壤土或沙壤土时, 效果较好, 但当作用于粘质土或有机质比较丰富的土壤时, 其效果较差。土壤温度影响抑制剂的作用效果, 高温氨气挥发加重, 此时使用 NBPT 效果明显。已有试验表明: 7 月份使用比 5 月份效果好, 因此 NBPT 的有效性还与使用的季节有关。

脲酶抑制剂的有效性还与施肥方式和使用的肥料有关, NBPT 与尿素、硝铵尿素、硝铵混施时, 其作用依次为尿素> 硝铵尿素> 硝铵; 当尿素表施时, 其作用比较明显, 撒施> 条施> 侧施> 底施, 因为微生物活性与土层深度有关, 土壤表层微生物比较活跃, 所以撒施尿素配用脲酶抑制剂效果比较好。

总之, 脲酶抑制剂使用在脲酶活性较高的土壤条件下的效果最好, 在那些作物产量潜力高、土壤氮的水平低、土壤和环境条件对氨的挥发损失有利的地区, 证明使用脲酶抑制剂可得到更大的收益。

4 脲酶抑制剂的使用效果

4.1 抑制剂抑制尿素水解、减少氮损失的作用

脲酶抑制剂在抑制尿素水解、减少氨气挥发损失中的作用已被大量试验所证明。Matzel 等用 170 个土样进行培养试验表明, 施用 PPD 显著减少了氨挥发, 施肥 15 d 后, 其氨挥发仅为对照的 10% ~ 25%。HQ 也有减少氨气挥发损失的效果。在盆钵试验中, PPD 也延缓了尿素水解, 降低了田面水中铵态及氨态氮的总浓度, 从而减少了氨挥发和氮素总损失。在不种植水稻时, PPD 降低氨挥发的作用表现得非常明显。HQ、PPD 和 NBPT 的效果随用量增加而增强, 随温度升高而降低。据 J M Brenner 等(1989)报道, NBPT 用量 0.47% 时, 30℃ 室内培养 14 d 后, 氨气挥发损失从 52% 减少到 5%。据王正平(1990)报道, 25℃ 好气培养条件下, 未加抑制剂的尿素施用 5 d 后, 尿素通过氨气挥发损失达到 20%, 使用 NBPT 后将挥发损失由 20% 减少到 3%。在淹水条件下, 氨气挥发损失更严重, 可达 40%, 此时 NBPT 虽也可减少氨气挥发损失, 但效果不如 PPD 明显, PPD 可将损失由 40% 减少到 20%。但据 S phongpan(1995)报道, 在水稻田中, PPD 与 NBPT 配施比单独使用 PPD 效果要好。据李联铁(1993)报道, 在通气条件下有 NBPT 存在时, 尿素水解比无 NBPT 时延后 13 d, NH₄⁺ 最大积累量的出现也延后 4 ~ 6 d, 但在淹水条件下, NBPT 效果不如 PPD, 有 PPD 存在时, 尿素水解延后 3 d, NH₄⁺ 最大积累量的出现延后 2 d^[5, 6, 7](表 3)。

表 3 几种主要脲酶抑制剂的作用效果(通气条件下)

种类及剂量	U rea 残留率 (第 3 d·%)	U rea 全部水解 推迟时间(d)	NH ₃ 挥发损失 率(10 d·%)	NH ₄ ⁺ 最大积累 量晚出现时间(d)	减少 N 损失(%)	提高 N 利用率(%)
NBPT(1%)	67	13	5.4	4~6	40~47	10~20
PPD(1%)	22	3	7.3	2~4	20~26	10~15
HQ(1%)	2	1	9.7	1~2	10~21	62~75

NBPT 在抑制尿素水解减少氨气挥发损失中的作用是肯定的, 但是在减少氮总损失方面, 效果不稳定。它虽然减少了氨气的损失, 却有可能增加了土壤中硝酸根离子和亚硝酸根离子的含量, 硝酸根离子和亚硝酸根离子移动性强比较容易发生淋失, 而且在水分充足条件下, 容易发生反硝化生成 N₂O 等气体, 因此在减少氮素总损失方面, 要看它正负效应的大小, 若硝化、反硝化带来的损失大于减少的氨气挥发损失, 那么使用 NBPT 就加大了氮的总损失, 反之则减少了氮的总损失, 这需要在具体的环境条件下去评价。在这一方面, HQ 就比 NBPT 表现得好, 许多试验证明, HQ 可以减少氮总损失, 可能是因为 HQ 不仅是一种脲酶抑制剂, 同时具有一定的硝化抑制作用。因此, 若脲酶抑制剂和硝化抑制剂配合使用, 其效果应比单独使用要好。利用 ¹⁵N 示踪法研究表明, 使用 NBPT 可显著提高尿素氮的利用率, 其肥料利用率可提高 10% ~ 20%^[8]。

4.2 脲酶抑制剂对作物的影响

众多研究表明, 脲酶抑制剂对氮肥利用率的提高是肯定的, 但在作物产量方面其作用却不十分稳定。卢婉芳(1990)田间水稻小区试验表明, 使用 NBPT 水稻增产 357.0 ~ 618.0 kg/hm²^[9]。在意大利, Palazzo 等(1995)在为期 3 年的试验中研究了 NBPT 对玉米产量的影响, 通过使用 NBPT, 玉米子实产量

可增加 20% 左右^[10]。关于脲酶抑制剂施用在玉米上的效果,国内外均有一些报道,施用 HQ 仅提高玉米产量约 2% ~ 7%,施用 PPD 增产 7% ~ 22%,施用 NBPT 增产 6% ~ 20%。然而据 Nelson 等报道,当将 PPD 和 NBPT 施用在免耕地上时获得了一定的增产效果,但是,在常规耕作下施用却没有增产效果,在一些田间条件下使用抑制剂,作物的产量也并非一直增加。

虽然脲酶抑制剂对作物产量的影响并不稳定,但对尿素所带来的伤苗危害及提高作物对氮的吸收方面的作用却是肯定的。在不加脲酶抑制剂 NBPT 的情况下,春小麦出苗率随种旁施用尿素量的增加而明显下降,然而当尿素与 0.01% NBPT 混施时,出苗不因氮用量的增加而减少,而且其出苗率还可提高 13%。无论尿素种旁施用或表施,春小麦抽穗期植株氮的积累量均随氮用量的增加而提高,随 NBPT 使用量的增加而增加,尤其当尿素表施时,配用 NBPT 使氮的有效性提高。当尿素种旁施用时,NBPT 在高氮用量(80 或 120 kg/hm²)下使用比低氮用量(40 kg/hm²)下效果好。有研究报道,黑麦草的尿素氮吸收总量因加入 NBPT 而提高,但却随使用 HQ 而降低。据周礼恺等报道,HQ 用量为 0.01% 和 0.02% 时,可提高春小麦对尿素氮的利用率^[11]。

4.3 脲酶抑制剂对环境方面的影响

脲酶抑制剂的使用可减少氮肥对环境的污染。脲酶抑制剂在降低氨气、甲烷和氧化亚氮类气体向大气中的排放起了很大的作用。Schlestinger 和 Hartley(1992)曾对全球的氨气释放量做过预算。关于来自使用化肥氮的释放量,最近一项研究表明,施在旱地上的化肥,至少 20% 的尿素氮、10% 硫铵氮在施用后不久就已经损失掉。NBPT、PPD 和 HQ 作为脲酶抑制剂,其本身在土壤中的降解并不污染环境。但由于控制了氮的挥发而增加了参与硝化的氮量,因而增加淋失进入地下水的氮量,进而污染环境。

试验结果也不尽相同,Jae Hong lee 等(1999)在淹水水稻试验中发现,NBPT 与 DCD 配合使用取得了良好的效果,不仅减少了氨气挥发损失,同时也减少了硝酸根离子的淋失和反硝化引起的 N₂O 的产生,而且 NBPT 与 DCD 配合使用比单独使用增产效果也好。Francesco Montemurro (1998)在莴苣试验研究中发现,NBPT 与 DCD 配使还可减少莴苣中硝酸盐的积累^[12,13]。硫脲与 NBPT 的配合使用在一些试验中也表现出了良好的效果,但是这方面的研究不多。脲酶抑制剂和硝化抑制剂的配合使用当能更好的提高氮肥肥效,减少氮损失和环境污染,可至今这类的报道并不多。目前,我国研究较多的是 HQ 与 DCD 的配合使用。据周礼恺等(2000)报道,HQ 与 DCD 组合能有效的延缓土壤尿素水解,同时降低土壤硝态氮的富集,从而利于提高尿素氮利用率,且减少环境污染。

参考文献:

- [1] (德)马丁 E 特伦克尔.农业生产中的控释与稳定肥料.the International Fertilizer Industry Association, Paris, December 1997.
- [2] 王小彬,蔡典雄.脲酶抑制剂 NBPT 在农业中应用[J].中国化工,1998,(5):53-55.
- [3] Burns, R. G., 1978: Soil Enzymes. Academic press, London New York San Francisco. 149-187.
- [4] B. Manunza, S. Deiana, M. Pinore, C. Gessa. The binding mechanism of urea, hydroxamic acid and N=(N-butyl)-phosphoric triamide to the urease active site. A comparative molecular dynamic study. Soil Biology and Biochemistry 1999, 31:789-796.
- [5] 李联铁.三种脲酶抑制剂对尿素氮转化的影响[J].西南农业大学学报,1993,15(3):237-242.
- [6] J.M. Bremner and H. S. Chai. effect of PPD on ammonia volatilization and nitrite accumulation in soils treated with urea. Biol. Fert. Soil 1989 8: 227-230.
- [7] J.M. Bremner and H. S. Chai. evaluation of NBPT for retardation of urea hydrolysis in soil. Commun. in Soil Sci. Plant Anal. 1986 17(3):337-351.
- [8] 王小彬,辛景峰,等. NBPT 在改进尿素使用技术中的作用初探[J].土壤肥料,1996,6:6-9.
- [9] 卢婉芳,陈苇,王德仁.脲酶抑制剂 NBPT 对提高尿素氮利用率的研究[J].中国农学通报 1990,6(2):23-25.
- [10] S. Phongpan, J.R. Frenney, D.G. Keenleyside, use of PPD and NBPT to reduce ammonia loss and increase grain yield following application of urea to flooded rice, Fertilizer research 1995 41:59-66.
- [11] 徐星凯,周礼恺.脲酶抑制剂/硝化抑制剂对土壤中尿素氮转化及形态分布的影响[J].土壤学报.2000,37(3):339-345.
- [12] Jae Hong Lee, Ho Jin Lee and Byan Woo Lee, effect of urease inhibitor, nitrification inhibitor, and slow-release fertilizer on nitrogen fertilizer loss in direct-seeding rice, Korean J. Crop sci 1999 44(3):230-235.
- [13] Francesco Montemurro, Guido Capotorti, Giovanni Lacertosa and Domenico Palazzo, effect of urease and nitrification inhibitors application on urea fate in soil and nitrate accumulation in lettuce, Journal of plant nutrition 1998 21(20):245-252.