

## 第四类配合物型脲酶抑制剂对油菜生长及土壤氮素转化的影响

陈仙仙<sup>1</sup>, 王趁义<sup>1,2</sup>, 黄兆玮<sup>1</sup>, 付佳佳<sup>1</sup>, 汪少奇<sup>1</sup>

(1.浙江万里学院生物与环境学院,浙江 宁波 315100;2.宁波晟乾环境技术开发有限公司,浙江 宁波 315100)

**摘要:** 研究不同浓度第四类新型 Schiff 碱配合物型脲酶抑制剂对油菜生长及其对土壤氮素转化的影响,旨在为此类新型脲酶抑制剂在农业上的推广应用提供依据。采用室外盆栽方法,比较新型脲酶抑制剂(SU)和市售脲酶抑制剂乙酰氧肟酸(AHA)对油菜产量、品质、生长状况、氮素吸收利用和土壤表观硝化率等指标的影响。结果表明:SU 和 AHA 均能提高油菜产量,提高油菜品质指标和养分指标,其中 SU 对油菜增产和养分增效的效果比 AHA 明显;SU 平均提高油菜产量 28.0%,显著降低油菜硝酸盐含量 28.8%~50.8%,同时促进油菜对氮、磷的吸收,使氮肥利用率平均提高 68.0%,在一定程度也能降低土壤表观硝化率,平均降低 35.2%。不同浓度新型抑制剂处理的油菜指标和抑制尿素水解效果不同,表现为低中浓度的抑制剂对油菜增产和养分增效效果优于高浓度,其中抑制剂用量为纯氮施入量的 1%时对尿素水解抑制的效果最好,因此施入纯氮量的 1%为此类抑制剂的最佳用量。

**关键词:** 第四类脲酶抑制剂; Schiff 碱配合物; 油菜; 氮肥利用率; 表观硝化率

中图分类号:S154.2;S565.4

文献标识码:A

文章编号:1009-2242(2019)04-0180-07

DOI:10.13870/j.cnki.stbcxb.2019.04.026

## Effects of the Fourth Type of Complex Urease Inhibitors on Rapeseed Growth and Soil Nitrogen Transformation

CHEN Xianxian<sup>1</sup>, WANG Chenyi<sup>1,2</sup>, HUANG Zhaowei<sup>1</sup>, FU Jiajia<sup>1</sup>, WANG Shaoqi<sup>1</sup>

(1.College of Biology and Environment, Zhejiang Wanli University, Ningbo,

Zhejiang 315100; 2.Ningbo Shengqian Environmental Technology Development Co., Ltd., Ningbo, Zhejiang 315100)

**Abstract:** The effects of the fourth type of Schiff base complex urease inhibitors with different concentrations on rape growth and soil nitrogen transformation were studied to provide a basis for the promotion and application of such novel urease inhibitors in agriculture. The effects of new urease inhibitor (SU) and commercially available urease inhibitor acetohydroxamic acid (AHA) on the yield, quality, growth, nitrogen uptake and utilization of rapeseed and apparent nitrification rate of soil were compared through outdoor potting methods. The results showed that SU and AHA both could increase rapeseed yield and improve quality index and nutrient index of rapeseed, but SU had a better effect on increasing yield and nutrient efficiency of rapeseed than AHA. SU increased the yield of rapeseed by 28.0% on average, and significantly reduced the nitrate content by 28.8%~50.8%. At the same time, it promoted the absorption of nitrogen and phosphorus in rapeseed, the utilization rate of nitrogen fertilizer increased by about 68.0% on average, and also reduced the apparent nitrification rate of soil by about 35.2% on average. The novel inhibitors with different concentrations had different effects on the indicators of rapeseed and the inhibition of urea hydrolysis. The effects of low-medium concentration inhibitors on rapeseed yield increasing and nutrient efficiency were better than those of high concentration inhibitors, and the inhibitory effect of inhibitors on the urea hydrolysis was the best when the amount of inhibitor was 1% of pure nitrogen application, so the best amount of inhibitor was 1% of pure nitrogen.

**Keywords:** the fourth type of urease inhibitor; Schiff base complex; rapeseed; nitrogen utilization rate; apparent nitrification rate

收稿日期:2019-01-05

资助项目:国家自然科学基金项目(31071856,3197180798);浙江省自然科学基金项目(LY16C150002,Z20C150003);浙江省“生物工程”一流学科开放基金项目(KF2018004);浙江省重中之重学科“生物工程”学生创新项目(CX2017002);国家级大学生创新创业训练计划项目(201810876047X);浙江省公益性技术应用研究项目(2010C32060)

第一作者:陈仙仙(1994—),女,硕士研究生,主要从事环境生物制剂及其应用研究。E-mail:2649091734@qq.com

通信作者:王趁义(1964—),男,教授,主要从事环境污染治理与生态修复研究。E-mail:wcyxz@163.com

广泛赋存于土壤、细菌、真菌等微生物体内的脲酶(Urease)是唯一作用于尿素的酶蛋白,它在尿素转化为有效氮及其肥效的发挥过程中起着关键性作用。因为尿素施入土壤后会经脲酶催化水解成  $\text{NH}_3$ ,其水解速率是未经催化水解的  $10^{14}$  倍。其中未挥发的  $\text{NH}_3$  将以  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  的形式存在, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  可以被土壤中带负电的黏土和土壤有机物功能团吸附<sup>[1]</sup>,但其更容易在土壤微生物的作用下发生硝化反应,将  $\text{NH}_4^+$  最终氧化为  $\text{NO}_3^-$ ,这不仅会造成肥料利用率低下,也会造成一系列生态环境问题<sup>[2]</sup>,因此,如何在保障土壤供肥能力的同时,提高氮肥利用率,减少氮肥引起的环境污染和生态效应,已成为一个世界性研究课题<sup>[3]</sup>。

脲酶活性的抑制剂调控技术是提高尿素利用率最有效的生物化学方法之一<sup>[4]</sup>。因为脲酶抑制剂能够延长施肥点处尿素的扩散时间,以此降低土壤中  $\text{NH}_4^+$  和  $\text{NH}_3$  的浓度,使土壤供肥和作物需肥近乎同步<sup>[5]</sup>。目前,人们对乙酰氧肟酸(AHA)<sup>[6]</sup>、N-丁基硫代磷酰三胺(NBPT)<sup>[7]</sup>、氢醌(HQ)<sup>[8]</sup>等传统脲酶抑制剂的研究较多。但AHA、NBPT、HQ等有机类脲酶抑制剂,以及金属盐类脲酶抑制剂存在着毒性大、易流失、药效短、高残留等明显弊端,难以被大范围推广应用<sup>[9-10]</sup>;而植物提取类抑制剂有效成分少、药效慢不易为农民接受<sup>[10]</sup>,这些使脲酶抑制剂调控技术走进了瓶颈。第四类配合物型脲酶抑制剂尤其是Schiff碱配合物型,因其结构中N原子上含有孤对电子,与金属离子的配位能力较强、毒性小<sup>[11]</sup>、抑制活性高<sup>[12]</sup>、稳定性好<sup>[13]</sup>,表现出优良的抑制脲酶活性,有望成为一类性能优良的新型脲酶抑制剂<sup>[4,14-15]</sup>。

近些年来,关于Schiff碱金属配合物在生物及医药方面的文献报道较多,主要是对其抗菌、抗癌、抗病毒等生物活性的研究,几乎很少有人研究其在农业方面的应用,比如开展第四类Schiff碱配合物型脲酶抑制剂对农作物的生长、生物学性状,尿素氮转化及其利用率以及养分释放过程影响的研究。相关研究<sup>[16]</sup>表明,Schiff碱配合物在抑制脲酶活性方面优于单纯的有机和无机化合物,You等<sup>[16]</sup>合成了9种Schiff碱铜配合物,其中5种配合物显示出较强脲酶抑制活性, $IC_{50}$ 为 $(0.03 \pm 0.78) \sim (0.76 \pm 0.95) \mu\text{M}$ ,抑制活性比单纯的铜离子、Schiff碱配体,以及对对照脲酶抑制剂乙酰氧肟酸AHA都要高。

课题组前期研究<sup>[10]</sup>证明,第四类脲酶抑制剂能够有效调控脲酶活性,并初步探讨了抑制剂、脲酶与尿素三者之间的耦合关系,但尚需探讨第四类脲酶抑制剂在实际应用中对农作物的影响,这是此类抑制剂能否进入农田应用的关键环节之一。本文通过盆栽试验研究Schiff碱配合物型脲酶抑制剂对油菜生

长和品质的影响,为减少蔬菜硝酸盐累积,减轻面源污染,提高氮肥利用率,保证营养品质及安全,以及抑制剂型缓释尿素的产业化生产等提供理论和试验依据,对于Schiff碱第四类脲酶抑制剂的推广应用具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试作物为油菜(*Brassica campestris* L.),品种为“苏州青”。供试土壤质地为黏土,取自宁波鄞州区月浦水稻种植地的0—10 cm表层土,土壤经风干后过2 mm筛,其基本理化性质为:水分含量32.2%,pH 6.7,有机质含量14.5%,全氮含量2.26 g/kg, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 含量0.77 mg/kg, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量3.58 mg/kg,有效磷含量62.96 mg/kg。无孔塑料盆长41.5 cm,宽26 cm,高26 cm,每盆装土800 g。试验所用肥料为尿素(N 46%)、磷酸二氢钾( $\text{P}_2\text{O}_5$  52%, $\text{K}_2\text{O}$  34%)、硫酸钾( $\text{K}_2\text{O}$  50%)和脲酶抑制剂,传统脲酶抑制剂AHA购自罗恩试剂公司,新型脲酶抑制剂来自项目组前期合成的Schiff碱铜配合物<sup>[17]</sup>,抑制剂施用量为氮肥的0.5%,1%和2%,分别记作SU-0.5%、SU-1%和SU-2%。

### 1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 试验采用室外盆栽方法。于2018年6月2日播种,6月11日移栽,每盆定苗6株,7月26日收获,生长期共54天。试验设8个处理组,3次重复:(1)磷钾(PK,不施氮肥);(2)氮磷钾(NPK);(3)NPK+SU-0.5%;(4)NPK+SU-1%;(5)NPK+SU-2%;(6)NPK+AHA-0.5%;(7)NPK+AHA-1%;(8)NPK+AHA-2%。施氮量为0.49 g/kg土(尿素,N 46%),施磷量为0.2 g/kg土(过磷酸钙, $\text{P}_2\text{O}_5$ 12%),施钾量为0.2 g/kg土(硫酸钾, $\text{K}_2\text{O}$  50%),所有肥料均配制成浓度为0.15%的水溶性肥料,油菜移栽后自6月21日开始每隔10天施肥1次,总共3次,3次施用比例分别为20%,40%和40%。油菜所需微量元素来自阿农微量元素营养液,使用时将其浓度稀释成0.2%再浇灌土壤。

1.2.2 测定方法 自施肥后,每隔10天利用直尺测倒数第6片的叶长、叶宽和株高,利用SPAD-502叶绿素仪测量倒数第6片叶的叶绿素。施肥后每隔5天取1次土壤样品,测定土壤 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 含量,同时计算土壤表观硝化率。收获时将油菜根部的土洗净擦干,测定每盆油菜产量(鲜重)和干重,测完鲜重后将油菜分成2份,其中1份立即测定油菜硝酸盐(水杨酸比色法)、维生素C(2,6-二氯酚靛酚比色法)和可溶性糖含量(蒽酮比色法)<sup>[18]</sup>,另1份置于烘

箱 90 ℃ 杀青 20 min, 后于 65 ℃ 烘干测定油菜全氮 ( $\text{H}_2\text{SO}_4\text{—H}_2\text{O}_2$  消化—凯氏定氮法)、全磷含量 (钼锑抗比色法, NY/T 2421—2013), 同时按公式 (1) 计算氮肥利用率, 按公式 (2) 计算土壤表观硝化率。

氮肥利用率 = (施氮处理吸 N 量 - 不施氮处理吸 N 量) / 施氮量 × 100% (1)

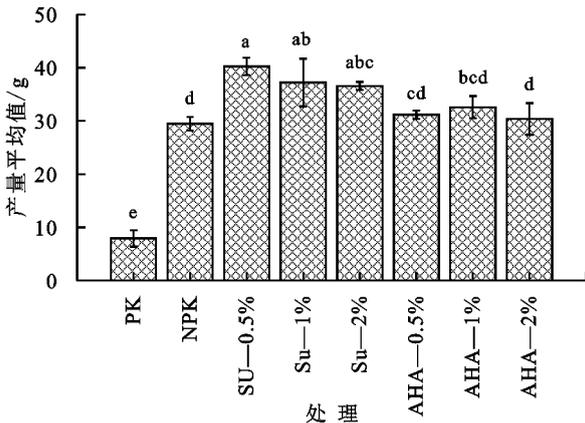
土壤表观硝化率 =  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  含量 / ( $\text{NO}_3^- - \text{N}$  含量 +  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量) (2)

1.2.3 数据处理 采用 Microsoft Excel 2016 软件进行数据处理, 采用 SPSS 软件对数据进行显著性分析, Origin 8.0 软件对数据进行绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 脲酶抑制剂对油菜生长的影响

2.1.1 脲酶抑制剂对油菜产量的影响 由图 1 可知, NPK 处理的油菜生物产量是 PK 处理的 3.7 倍, 这表明氮肥施用可以显著促进油菜的生长; 与 NPK 处理相比, 施用脲酶抑制剂处理提高了油菜的生物产量, 但差异不显著, AHA—0.5%、AHA—1%、AHA—2% 处理分别提高 5.7%、10.5%、3.0%; 而 SU 处理达到显著差异 ( $P < 0.05$ ), SU—0.5%、SU—1%、SU—2% 处理分别比 NPK 处理增加 36.5%、26.2% 和 24.0%。不同浓度抑制剂处理的油菜产量没有显著差异, 但施用低、中浓度脲酶抑制剂的处理油菜产量高于高浓度的脲酶抑制剂处理。



注: 图中不同小写字母表示  $P$  在 0.05 水平上差异显著。下同。

图 1 不同浓度脲酶抑制剂处理的油菜产量

2.1.2 脲酶抑制剂对油菜生长指标的影响 从图 2 可以看出, 所有处理油菜的株高、叶长、叶宽均在移栽后 10~20 天, 即第 2 次施肥后增加幅度较大。在施用 PK 一致条件下, 无氮处理的各项指标均明显低于施氮处理。施加抑制剂处理的油菜株高、叶长、叶宽等生长指标与不施抑制剂处理相比均有所提高, 其中在移栽第 30 天时, 施用脲酶抑制剂处理与 NPK 处理相比, 株高提高较多的为 SU—0.5% 和 AHA—0.5% 处理组, 分别提高 24.2%、6.3%; 叶长提高较多的为

SU—0.5% 和 AHA—0.5% 处理组, 分别提高 15.8%、7.7%; 叶宽提高较多的为 SU—1% 和 AHA—1% 处理组, 分别提高 6.4%、4.2%。因此, 认为 SU 处理效果较 AHA 好, 低中浓度的脲酶抑制剂对于提高油菜的品质指标比较明显。在整个生长期油菜叶绿素含量均处于下降状态, 原因是油菜在生长前期长势较好, 叶片鲜嫩, 而后期由于天气原因, 阳光照射强烈, 叶片容易发黄。施加抑制剂处理的油菜叶绿素含量与不施加抑制剂处理相比, 除了 SU—1% 处理外, 其余处理组均有所降低, 但差距不明显。

2.1.3 脲酶抑制剂对油菜品质指标的影响 可溶性糖是植物光合作用的产物, 为植物体内合成有机溶剂提供碳骨架和能量来源; Vc 是植物体内参与多种代谢途径的一系列酶的辅酶, 因此探讨脲酶抑制剂对油菜 Vc 和可溶性糖含量的影响可作为评价蔬菜品质的重要营养指标。由表 1 可知, PK 组油菜 Vc 和可溶性糖含量较高, 可能是由于不施氮肥处理的油菜植株生物产量较小, 导致浓缩效应, 使其浓度较高。与 NPK 处理相比, SU 处理的油菜可溶性糖与 Vc 含量均显著提高 ( $P < 0.05$ ), 其中抑制剂浓度为 0.5% 的处理提高效果比较明显; 而 AHA 处理的可溶性糖与 Vc 含量均有所降低, 这表明 SU 更有利于提高油菜的品质指标。

蔬菜食用部分对硝酸盐含量有不同的限值标准<sup>[19]</sup>, 试验得出所有处理油菜的硝酸盐含量均未超过国家农产品安全质量无公害蔬菜安全要求 (叶菜类蔬菜硝酸盐  $\leq 3\ 000$  mg/kg)<sup>[20]</sup>。其中施氮处理显著提高油菜植株硝酸盐含量, NPK 处理硝酸盐含量达到 PK 处理的 4.8 倍。与 NPK 处理相比, SU 处理硝酸盐含量显著降低 ( $P < 0.05$ ), SU—0.5%、SU—1%、SU—2% 处理分别比 NPK 处理降低 36.6%、28.8%、50.8%; AHA 处理也降低硝酸盐的含量, 但降低效果较 SU 处理差。

2.1.4 脲酶抑制剂对油菜养分吸收的影响 从表 2 可以看出, 氮肥施用显著提高油菜植株的全氮含量, 但降低其磷素含量。与 PK 处理相比, NPK 处理后油菜植株含氮量提高 50.4%, 含磷量下降 38.6%。与 NPK 处理相比, 施用脲酶抑制剂处理既能提高油菜的全氮含量, 其中 SU—0.5% 处理的含氮量达到显著差异 ( $P < 0.05$ ), 又能提高油菜的全磷含量, 但各处理油菜含磷量提高不显著, 其中 AHA 平均提高油菜含磷量 14.3%, SU 平均提高油菜含磷量 13.8%。同种抑制剂不同浓度处理的油菜含氮、含磷量之间差异也不显著。

吸氮量是表征作物吸收氮素能力大小的指标。NPK 处理的吸氮量是 PK 处理的 6.3 倍; 与 NPK 处理相比, SU 处理显著提高油菜的吸氮量和氮肥利用

率( $P < 0.05$ ), 氮素平均利用率提高 68%, 而 AHA 处理提高不明显, 这表明 SU 作为一种新型脲酶抑制

剂对于提高氮素利用效率、减少氮素损失和环境风险具有实际意义。

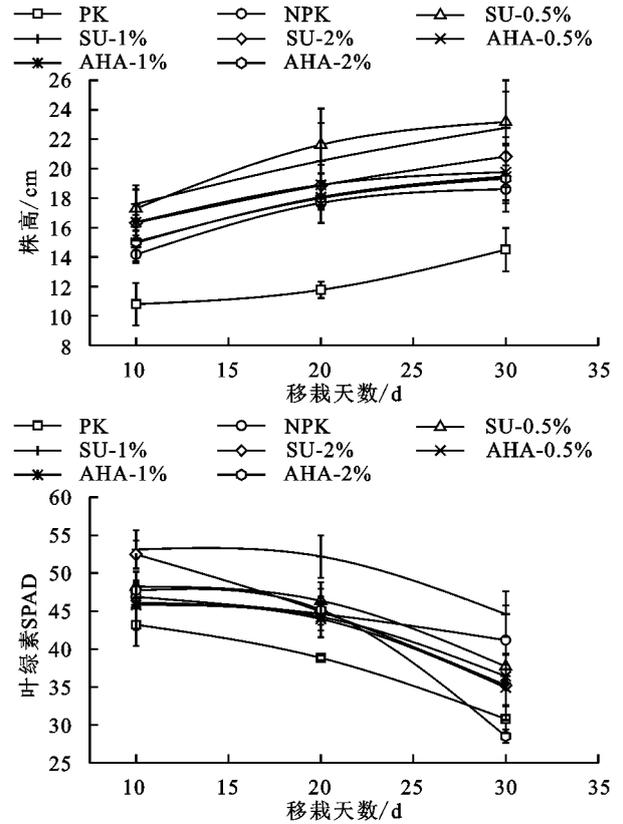
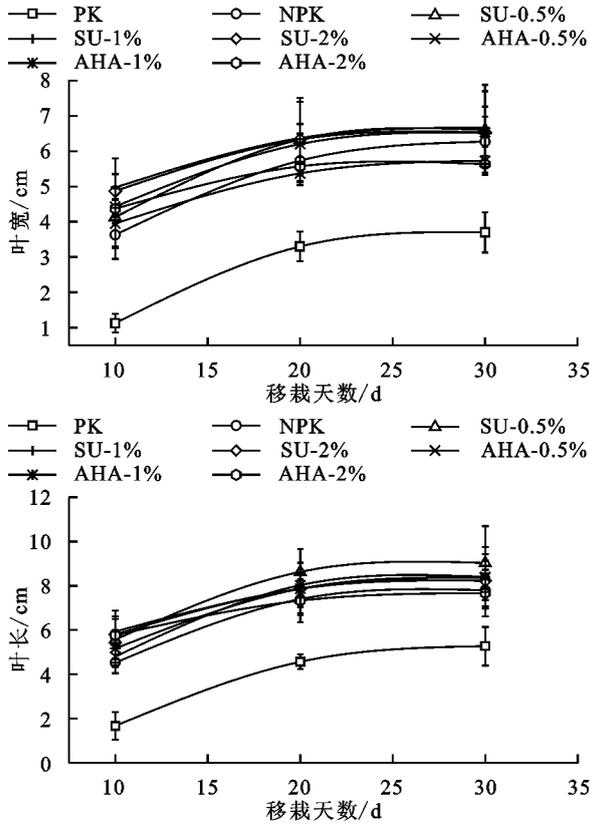


图 2 不同浓度脲酶抑制剂处理的油菜生长指标

表 1 不同浓度脲酶抑制剂处理的油菜收获后 Vc、可溶性糖和硝酸盐的含量

处理	可溶性糖/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	比 NPK 提高(+) 或降低(-)/%	Vc 含量/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	比 NPK 提高(+) 或降低(-)/%	硝酸盐含量/ ( $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1}$ )	比 NPK 提高(+) 或降低(-)/%
PK	47.30 ± 2.96b	115.90	134.89 ± 0.51a	137.15	579.74 ± 153.32d	-79.20
NPK	22.01 ± 2.60de	—	56.88 ± 2.52bcd	—	2781.59 ± 429.49a	—
SU-0.5%	89.96 ± 3.90a	308.72	59.97 ± 2.50bc	5.43	1762.40 ± 422.60bc	-36.64
SU-1%	35.39 ± 5.96bc	60.79	61.22 ± 2.46b	7.63	1981.54 ± 248.44abc	-28.76
SU-2%	36.76 ± 4.58bc	67.01	61.29 ± 4.09b	7.75	1369.09 ± 323.05c	-50.78
AHA-0.5%	15.74 ± 4.17e	-28.49	56.46 ± 1.13bcd	-0.74	2475.62 ± 468.77ab	-11.00
AHA-1%	20.78 ± 3.52de	-5.59	54.06 ± 2.14d	-5.00	2253.32 ± 97.68ab	-18.99
AHA-2%	28.56 ± 4.37cd	29.76	55.34 ± 0.45cd	-2.71	2569.93 ± 282.96ab	-7.61

注: 表中数据为平均值 ± 标准差; 同列数据后不同字母表示处理间差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

表 2 不同浓度脲酶抑制剂处理的油菜全氮、全磷含量、吸氮量和氮肥利用率

处理	含氮量/ %	比 NPK 升高(+) 或降低(-)/%	含磷量/%	比 NPK 升高(+) 或降低(-)/%	吸氮量/ g	比 NPK 升高(+) 或降低(-)/%	氮肥利用 率/%	比 NPK 升高(+) 或降低(-)/%
PK	2.84 ± 0.07c	-33.45	4.06 ± 0.13a	38.57	0.03 ± 0.01d	-82.11	—	—
NPK	4.27 ± 0.13b	—	2.93 ± 0.22b	—	0.19 ± 0.01c	—	39.79 ± 3.35c	—
SU-0.5%	5.28 ± 0.04a	23.65	3.10 ± 0.27b	5.80	0.34 ± 0.02a	78.95	77.41 ± 4.49a	94.55
SU-1%	4.79 ± 0.41ab	12.18	3.60 ± 0.08ab	22.87	0.28 ± 0.00b	47.37	63.94 ± 0.01b	60.69
SU-2%	4.84 ± 0.57ab	13.35	3.30 ± 0.06ab	12.63	0.27 ± 0.03b	42.11	59.52 ± 8.84b	49.59
AHA-0.5%	4.43 ± 0.34ab	3.75	3.43 ± 0.04ab	17.06	0.20 ± 0.01c	5.26	43.80 ± 2.70c	10.08
AHA-1%	4.13 ± 0.42b	-3.28	3.24 ± 0.32ab	10.58	0.20 ± 0.008c	5.26	42.70 ± 2.06c	7.49
AHA-2%	4.22 ± 0.26b	-1.17	3.38 ± 0.71ab	15.36	0.19 ± 0.022c	0	40.64 ± 5.61c	2.14

## 2.2 脲酶抑制剂对土壤氮素转化的影响

2.2.1 脲酶抑制剂对不同时期土壤  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  含量变化的影响 尿素施入土壤后水解产生的  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  和硝化作用产生的  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  是作物能够直接吸收的氮素形态,其总量关系到土壤的有效氮素供应水平,但氮肥施用也是导致土壤中硝酸盐积累的重要原因。由表 3 可知,土壤  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  含量在 6 月 26 日和 7 月 16 日这 2 个时间段含量较高,这是因为肥料在整个油菜生长期间分 3 次施入氮肥,这 2 个时间段距离施肥时间点最近,土壤硝化作用强,因此含量

表 3 不同浓度脲酶抑制剂处理的土壤  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  含量

单位:mg/kg

处理	6月26日	7月1日	7月6日	7月11日	7月16日	7月21日
PK	2.07±0.44	0.77±0.00	0.11±0.02	0.30±0.09	2.44±0.48	0.35±0.05
NPK	7.60±0.99	1.04±0.21	0.14±0.05	0.35±0.20	21.36±0.05	0.59±0.03
SU-0.5%	4.01±0.76	0.22±0.03	0.45±0.16	0.27±0.05	16.23±2.50	0.77±0.11
SU-1%	2.01±0.24	0.16±0.03	0.22±0.08	0.30±0.09	17.54±4.55	0.46±0.11
SU-2%	2.30±0.16	0.12±0.03	0.11±0.03	0.14±0.04	22.36±5.37	0.17±0.03
AHA-0.5%	4.78±1.84	0.59±0.03	0.27±0.08	0.32±0.18	17.04±2.84	0.41±0.05
AHA-1%	5.25±3.26	0.60±0.28	0.17±0.08	0.25±0.07	17.84±0.47	0.12±0.33
AHA-2%	2.33±0.08	0.33±0.13	0.64±0.24	0.51±0.00	13.38±0.08	1.25±0.11

2.2.2 脲酶抑制剂对不同时期土壤  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量变化的影响 2 种脲酶抑制剂处理的土壤  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量明显低于 NPK 处理(表 4),抑制剂添加浓度为 0.5% 时抑制效果不明显,当抑制浓度上升到 1% 时抑制效果明显,继续增加抑制剂浓度时抑制效果提高的反而不明显。与其他几次取样时间相比,第 5 次取样施氮处理的土壤  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量远高于无氮处理,可能与距离施肥时间长远有关,第 5 次取样时间是在施肥后的第 2 天,此时各处理土壤的养分入渗速度最快,而油菜植株吸收养分的速度较慢,因此土壤中  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量较高,在几天后  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量迅速下降。在油菜整个生长期,施氮处理前期土壤氨氮

较高。在油菜生长前期,添加脲酶抑制剂处理的土壤  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  含量低于 NPK 处理,其中在第 1 次施肥之后(6 月 26 日),SU-0.5%、SU-1%、SU-2%、AHA-0.5%、AHA-1%、AHA-2% 处理组分别比 NPK 处理降低 47.2%、73.6%、69.7%、37.1%、30.9%、69.3%,这表明 SU 和 AHA 处理在一定程度上能抑制尿素水解后  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  的形成,高浓度脲酶抑制剂对于抑制  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  的形成优于中低浓度。PK 处理由于没有氮肥投入,土壤  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  含量在 0.11~2.44 mg/kg 的小范围内变化。

含量下降不明显,是因为油菜植株较小,吸收的养分不多,而后期油菜长势旺盛,所吸收的氮素较多,所以在后期土壤氨氮含量下降的较快。有研究<sup>[21]</sup>表明,尿素施到土壤中转化为  $\text{NH}_4^+$  的时间与温度有关,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。因此在刚施完肥 1~3 天后检测土壤氨氮含量能相对准确说明抑制剂抑制脲酶活性的强弱。7 月 16 日(即施完肥后的第 2 天)SU 处理的土壤氨氮含量明显低于 AHA 处理,其中 SU-0.5%、SU-1%、SU-2% 处理分别比 AHA-0.5%、AHA-1%、AHA-2% 处理降低 35.4%、2.12%、54.9%,因此可以认为,SU 处理的抑制效果优于 AHA 处理。

表 4 不同浓度脲酶抑制剂处理的土壤  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  含量

单位:mg/kg

处理	6月26日	7月1日	7月6日	7月11日	7月16日	7月21日
PK	3.51±0.27	3.58±0.43	2.23±0.11	1.91±0.05	1.81±0.11	2.49±0.06
NPK	3.52±0.49	2.78±0.31	2.23±0.13	1.92±0.14	33.38±0.00	3.21±0.12
SU-0.5%	5.16±0.18	2.75±0.19	2.17±0.34	1.91±0.11	27.03±5.70	3.50±0.11
SU-1%	3.29±0.15	2.98±0.03	1.86±0.05	1.72±0.01	24.03±8.92	2.86±0.20
SU-2%	3.24±0.15	2.54±0.41	2.03±0.05	1.73±0.10	13.00±0.11	2.46±0.12
AHA-0.5%	3.01±0.25	1.99±0.06	1.77±0.17	1.82±0.20	41.82±0.97	3.00±0.18
AHA-1%	2.92±0.04	2.00±0.15	1.76±0.14	1.83±0.04	24.55±0.47	2.90±0.27
AHA-2%	3.08±0.32	2.16±0.09	1.97±0.15	1.75±0.13	28.82±4.13	3.18±0.21

2.2.3 脲酶抑制剂对土壤表观硝化率的影响 在油菜生长过程中,不同脲酶抑制剂处理土壤表观硝化率见表 5。从表 5 可以看出,常规施氮处理的土壤表观硝化率基本处于所有施氮处理中的最高水平,与 NPK 处理相比,添加脲酶抑制剂的土壤表观硝化率

均明显降低,其中 SU 处理平均降低土壤表观硝化率 35.2%,AHA 处理平均降低土壤表观硝化率 25.2%,说明脲酶抑制剂在一定程度上可以抑制土壤  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  向  $\text{NO}_3^- - \text{N}$  的转化,且 SU 处理抑制效果优于 AHA 处理。

表5 不同浓度脲酶抑制剂处理的土壤表观硝化率

单位:%

处理	6月26日	7月1日	7月6日	7月11日	7月16日	7月21日
PK	36.90±5.63	16.20±0	4.59±1.09	13.50±3.68	56.39±6.11	12.50±1.40
NPK	66.31±6.67	26.95±1.87	5.72±1.97	18.39±3.68	45.39±6.43	15.41±0.05
SU-0.5%	39.47±7.77	7.77±1.29	15.83±3.19	12.22±2.53	34.09±5.33	18.11±2.48
SU-1%	37.84±3.87	6.41±0.34	10.70±3.66	14.74±3.71	43.36±3.61	12.39±1.86
SU-2%	41.47±0.91	4.79±0.70	5.45±1.51	7.66±2.55	28.77±2.38	5.39±1.64
AHA-0.5%	43.48±6.98	12.11±0.11	13.19±2.02	8.98±1.78	28.82±3.79	11.68±0.64
AHA-1%	71.08±3.08	28.75±4.68	9.00±4.29	11.76±3.18	41.15±7.92	4.10±0.93
AHA-2%	42.55±2.06	12.69±4.79	18.33±2.27	23.31±0.00	25.44±3.57	28.14±3.29

### 3 讨论

项目组前期通过试验<sup>[10]</sup>得出,SU是与双镍相邻的氨基酸基团作用,形成多个氢键相互作用,使配体的大小足够在空间上阻碍双镍与尿素的催化反应,从而达到抑制脲酶活性的目的;SU对脲酶的抑制效应 $IC_{50}$ 为 $5.36\ \mu\text{M}$ ;而有研究<sup>[22]</sup>表明,AHA主要是通过脲酶的巯基(-SH)相互作用,从而起到抑制脲酶的作用,AHA的 $IC_{50}$ 为 $27.7\ \mu\text{M}$ <sup>[10]</sup>,两者的抑制机理不同,从而使其对土壤脲酶的抑制活性不一样。

脲酶抑制剂促进油菜对氮和磷的吸收可能与脲酶抑制剂缓解尿素水解有关;尿素施入土壤中会迅速水解成 $\text{NH}_4^+$ 从而被植物吸收,但植物每天吸收的 $\text{NH}_4^+$ 有限,一部分没有被吸收的 $\text{NH}_4^+$ 在土壤中经过硝化作用之后通过淋溶流失掉,另一部分转化为 $\text{NH}_3$ 挥发到大气中,从而造成氮的损失<sup>[23]</sup>。另外, $\text{NH}_4^+$ 被作物吸收时会伴随着大量的 $\text{H}^+$ 释放,导致作物根际周围变酸<sup>[9]</sup>,有研究<sup>[24]</sup>表明,酸性环境能改善土壤中磷素的有效性,使土壤磷素活化,促进作物对磷素的吸收。脲酶抑制剂的施入,使尿素缓慢水解释放出 $\text{NH}_4^+$ ,保持一定时间内土壤中较高 $\text{NH}_4^+$ ,延长土壤的供肥能力,保证土壤的潜在酸度,因此能够促进磷的吸收。

土壤表观硝化率为土壤 $\text{NO}_3^-$ -N含量占土壤矿质氮总量的百分数,可以指示土壤中硝化作用强度或硝化作用速率。本试验得出,脲酶抑制剂在一定程度上抑制土壤 $\text{NH}_4^+$ -N向 $\text{NO}_3^-$ -N的转化,原因是脲酶抑制剂使土壤中的 $\text{NH}_4^+$ -N缓慢释放,从而减少了前期土壤的 $\text{NH}_4^+$ -N含量,延长了后期土壤的供肥能力,有利于作物对 $\text{NH}_4^+$ -N的充分吸收利用,也减少了 $\text{NH}_4^+$ -N的硝化过程,因此施加脲酶抑制剂的土壤 $\text{NO}_3^-$ -N含量会较低,这与前人<sup>[25]</sup>的研究结果相同。但是土壤中 $\text{NH}_4^+$ -N氧化的量远高于植物对 $\text{NH}_4^+$ -N吸收的量,为了减少 $\text{NH}_4^+$ -N的硝化,可以往土壤中添加硝化抑制剂,抑制 $\text{NH}_4^+$ -N向 $\text{NO}_3^-$ -N的转化。有研究<sup>[26-27]</sup>表明,脲酶抑制剂配合硝化抑制剂一起使

用产生的效果远高于单独施用脲酶抑制剂,脲酶抑制剂单独施用只能影响尿素水解单一的特定过程,若将其与硝化抑制剂一起施用,则可以起到调节尿素氮转化全过程的作用。

不同浓度的脲酶抑制剂对油菜增产和养分增效的效果不一样,对抑制土壤尿素的程度也不一样。油菜品质指标和养分指标表明,施用低中浓度的脲酶抑制剂对于油菜生长的促进作用比较大,继续增加抑制剂的浓度促进效果不明显。土壤氮素转化结果也表明,中浓度脲酶抑制剂抑制效果比较明显,因此综合这两方面得出,抑制剂用量为纯氮施入量的1%是最佳选择。张文学等<sup>[28]</sup>也指出,在尿素中添加1%的脲酶抑制剂是目前使用效果最可靠的添加比例。

### 4 结论

第四类脲酶抑制剂能够提高油菜可溶性糖和维生素C含量,与市售脲酶抑制剂相比,第四类抑制剂可显著降低植物中硝酸盐含量,提高油菜植株体内全氮含量和氮肥利用率,将油菜硝酸盐含量降低38.8%~50.8%,油菜氮肥利用率平均提高68%,明显优于市售脲酶抑制剂。

第四类脲酶抑制剂能够抑制 $\text{NH}_4^+$ -N向 $\text{NO}_3^-$ -N转化,从而降低土壤表观硝化率,其中在尿素中添加1%的脲酶抑制剂抑制尿素水解的效果最好。不同浓度处理的油菜指标没有显著差异,但低中浓度抑制剂处理的效果优于高浓度,因此综合这两方面得出施入占纯氮施入量1%的第四类脲酶抑制剂是最佳选择。

#### 参考文献:

- [1] 曾后清,朱毅勇,王火焰,等.生物硝化抑制剂:一种控制农田氮素流失的新策略[J].土壤学报,2012,49(2):382-388.
- [2] Modolo L V, Da-Silva C J, Brandão D S, et al. A mini-review on what we have learned about urease inhibitors of agricultural interest since mid-2000s[J]. Journal of Advanced Research,2018,13:29-37.

- [3] 王大鹏,郑亮,吴小平,等.旱地土壤硝态氮的产生、淋洗迁移及调控措施[J].中国生态农业学报,2017,25(12):1731-1741.
- [4] Chen X X, Wang C Y, Fu J J, et al. Research status and progress of inhibitory effects and inhibitory mechanism of complex-type urease inhibitors: A review[J]. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2019,50(6):772-781.
- [5] Grant C A, Derksen D A, McLaren D, et al. Nitrogen fertilizer and urease inhibitor effects on canola seed quality in a one-pass seeding and fertilizing system[J]. Field Crops Research,2011,121(2):201-208.
- [6] 吴丽萍,张宁宁,王趁义,等.乙酰氧脲酸对蔬菜生长及氮肥利用率的影响[J].安徽农业科学,2010,38(25):13770-13771.
- [7] Grant C A. Use of NBPT and ammonium thiosulphate as urease inhibitors with varying surface placement of urea and urea ammonium nitrate in production of hard red spring wheat under reduced tillage management[J]. Canadian Journal of Plant Science,2017,94(2):329-335.
- [8] 赵婉伊,徐卫红,王崇力,等.脲酶—硝化抑制剂缓释肥对不同土壤氮素释放特性及黄瓜 NPK 吸收利用的影响[J].水土保持学报,2017,31(3):250-257.
- [9] Cantarella H, Otto R, Soares J R, et al. Agronomic efficiency of NBPT as a urease inhibitor: A review[J]. Journal of Advanced Research,2018,13:19-27.
- [10] Chen X X, Wang C Y, Fu J J, et al. Synthesis, inhibitory activity and inhibitory mechanism studies of Schiff base Cu(II) complex as the fourth type urease inhibitors[J]. Inorganic Chemistry Communication,2019,99(1):70-76.
- [11] Malakyan M, Babayan N, Grigoryan R. Synthesis, characterization and toxicity studies of pyridinecarboxaldehydes and L-tryptophan derived Schiff bases and corresponding copper (II) complexes[J]. F1000 Research,2016,5:1921-1933.
- [12] Jing C L, Wang C F, Yan K, et al. Synthesis, structures and urease inhibitory activity of cobalt(III) complexes with Schiff bases[J]. Bioorganic and Medicinal Chemistry,2015,24(2):270-276.
- [13] Ikram M, Rehman S, Faridoon, et al. Synthesis and distinct urease enzyme inhibitory activities of metal complexes of Schiff-base ligands: Kinetic and thermodynamic parameters evaluation from TG-DTA analysis [J]. Thermochemica Acta,2013,555:72-80.
- [14] Fátima A D, Pereira C D P, Oliveira B G D F, et al. Schiff bases and their metal complexes as urease inhibitors: A brief review [J]. Journal of Advanced Research,2018,13:113-126.
- [15] Habala L, Devinsky F, Egger A E. Review: Metal complexes as urease inhibitors[J]. Journal of Coordination Chemistry,2018,71(7):907-940.
- [16] You Z L, Liu M Y, Wang C F, et al. Inhibition studies of Helicobacterpylori urease with Schiff base copper (II) complexes [J]. Rsc Advances, 2016, 20 (6): 16679-16690.
- [17] Wang C Y, Ye J Y. Synthesis, crystal structures, and urease inhibitory activity of cooper(II) complexes with schiff bases[J]. Russian Journal of Coordination Chemistry,2011,37(3):235-241.
- [18] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [19] 串丽敏,赵同科.脲酶抑制剂 NBPT 对油菜生长及品质的影响[J].水土保持学报,2012,26(5):268-271.
- [20] 宋燕燕.负压灌溉下硝化/脲酶抑制剂对蔬菜生长及土壤氮素转化的影响研究[D].北京:中国地质大学(北京),2016.
- [21] 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].大连工业大学学报,2007,26(1):24-27.
- [22] Upadhyay L S B. Urease inhibitors: A review[J]. Indian Journal of Biotechnology,2012,11(4):381-388.
- [23] 宋燕燕,赵秀娟,张淑香,等.水肥一体化配合硝化/脲酶抑制剂实现油菜减氮增效研究[J].植物营养与肥料学报,2017,23(3):632-640.
- [24] 孙志梅,武志杰,陈利军,等.硝化抑制剂的施用效果、影响因素及其评价[J].应用生态学报,2008,19(7):1611-1618.
- [25] 周旋,吴良欢,戴锋.新型磷酰胺类脲酶抑制剂对不同质地土壤尿素转化的影响[J].应用生态学报,2016,27(12):4003-4012.
- [26] 鲁艳红,聂军,廖育林,等.氮素抑制剂对双季稻产量、氮素利用效率及土壤氮平衡的影响[J].植物营养与肥料学报,2018,24(1):95-104.
- [27] 周旋,吴良欢,戴锋.生化抑制剂组合与施肥模式对黄泥田水稻产量和经济效益的影响[J].生态学杂志,2017,36(12):3517-3525.
- [28] 张文学,杨成春,王少先,等.脲酶抑制剂与硝化抑制剂对稻田土壤氮素转化的影响[J].中国水稻科学,2017,31(4):417-424.