

脲酶抑制剂NBPT提前施用对尿素水解和氨挥发的影响

史云峰¹, 车志伟², 赵牧秋¹

(1.海南热带海洋学院热带生物与农学院, 海南 三亚 572022;

2.国家海洋局海口海洋环境监测中心站, 海南 海口 570100)

摘要: 采用室内模拟培养试验, 研究了脲酶抑制剂N-丁基硫代磷酸三胺(NBPT)比尿素提前施用不同天数(1、3、5 d)对土壤尿素残留量、铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)含量、脲酶活性及氨(NH_3)挥发的影响。结果表明, 提前3 d施用NBPT效果最优, 能使整个培养期(0~20 d)土壤脲酶活性保持较低水平, 土壤中尿素完全水解的时间由单施尿素的7 d延长至15~20 d, 可使土壤在培养末期(20 d)保持较高水平的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量, 同时使 NH_3 挥发峰值出现时间比单施尿素推迟4 d、峰值强度降低74.5%、培养期内 $\text{NH}_3\text{-N}$ 累积挥发量降低53.5%。

关键词: 脲酶抑制剂; 尿素水解; 氨挥发; NBPT

中图分类号: X53; S154

文献标志码: A

DOI:10.16803/j.cnki.issn.1004-6216.2016.05.021

Effects of Pre-application of Urease Inhibitor NBPT on Urea Hydrolysis and Ammonia Volatilization

Shi Yunfeng¹, Che Zhiwei², Zhao Muqiu¹

(1.Collage of Tropical Biology and Agronomy, Hainan Tropical Ocean University, Sanya 572022, China;

2.Haikou Marine Environmental Monitoring Station, State Oceanic Administration, Haikou 570100, China)

Abstract: In this paper, a simulated indoor incubation experiment was conducted to study the effects of pre-application of urease inhibitor N-(n-butyl)-thiophosphoric triamide (NBPT) (1, 3, 5 d earlier than the time of application of urea) on the concentrations of residual urea and ammonium nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$), urease activity and ammonia (NH_3) volatilization. The results showed that the effect of application of NBPT 3 days in advance was the best, with soil urease activity remaining at a low level during the whole incubation period (0~20 d). The time of complete urea hydrolysis in soils extended from 7 d with urea alone to 15~20 d. The concentration of $\text{NH}_4^+\text{-N}$ in soils remained at a high level by the end of the incubation (20 d). Simultaneously, the peak time of NH_3 volatilization delayed 4 days than that with urea alone, the peak strength reduced by 74.5%, and the quantity of cumulative $\text{NH}_3\text{-N}$ volatilization decreased by 53.5% during the incubation period.

Keywords: Urease Inhibitor; Urea Hydrolysis; Ammonia Volatilization; NBPT

CLC number: X53; S154

尿素是我国农业生产中广泛应用的氮(N)肥品种, 但尿素表施到土壤后, 会在土壤脲酶的作用下迅速水解生成 NH_3 和 CO_2 而无法被植物有效吸收利用, 导致其当季利用率仅为28%~41%^[1]。 NH_3 挥发是农田N肥损失的一个主要途径, 也是大气环境问题的一个主要原因: NH_3 不仅以干湿沉降返回地表, 还能作为 N_2O 和 NO 的二次源, 在

对流层中通过光化学反应产生 NO_2 , 进而引起酸雨、水体富营养化等环境问题^[2]。

脲酶也称尿素酰胺水解酶, 是一类广泛存在于植物、细菌、真菌、藻类和无脊椎动物中的酶类^[3]。脲酶广泛存在于土壤中, 能促进尿素水解, 与土壤中N素转化有密切关系, 尿素N的挥发损失主要与土壤脲酶活性有关^[4]。向化学N肥

收稿日期: 2016-03-07

基金项目: 三亚市农业科技创新项目(2014NK25); 三亚市专项科研试制项目(2014KS11); 三亚市院地科技合作项目(2013YD83); 海南耕地改良关键技术研究及示范专项及其配套项目(HNGDgl201501, 2015PT28)基金资助

作者简介: 史云峰(1981-), 男, 博士、教授。研究方向: 土壤肥料, 农业生态。

中添加脲酶抑制剂来调节尿素在土壤中的转化进程以提高肥料N的利用率,降低 NH_3 挥发损失,是一项很有发展潜力的N肥管理措施。国内外广泛开展了脲酶抑制剂的试验研究,已筛选出100多种能够抑制土壤脲酶活性的物质,但广泛应用于农业生产实践的品种尚少^[5]。NBPT被认为是目前最有效的土壤脲酶抑制剂之一^[6],且因其高效无毒、环境友好等特征,已成为世界农业领域应用最广泛而且唯一商业化的脲酶抑制剂^[7]。

NBPT在土壤中的施用效果主要受土壤pH、含水量、温度、质地等的影响,NBPT和尿素的施用比例也影响其效果^[8],但是通过调整NBPT的施用时间来改善其脲酶抑制效果的研究尚未见报道。采用室内模拟试验,研究了NBPT比尿素提前施用对土壤尿素残留量、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量、土壤脲酶活性的影响,并探讨了其对 NH_3 挥发损失速率和累计损失量的降低效果,为进一步改善脲酶抑制剂的施用性能、减少 NH_3 挥发、提高N肥利用率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

该项研究所使用的土壤为草甸土,采自辽宁省农业科学院试验站。新鲜土样(0~20 cm)采回实验室后剔除杂物及残留根系,风干,过2 mm筛备用。其基本理化性质为:pH 7.2,有机碳含量14.8 g/kg,全N含量1.2 g/kg,全P含量0.68 g/kg,土壤质地为砂:粉:粘=45%:36%:19%。供试肥料尿素为分析纯试剂,购于国药集团化学试剂有限公司;供试脲酶抑制剂NBPT为化学纯试剂,购于J&K化学技术有限公司。

1.2 NBPT提前施用对尿素水解的影响

试验共设5个处理,分别为:NBPT比肥料(尿素)提前5 d施用,记为-5NBPT;NBPT比肥料提前3 d施用,记为-3NBPT;NBPT比肥料提前1 d施用,记为-1NBPT;NBPT与肥料同时施用,记为NBPT;只施用尿素不施用NBPT,记为U。尿素按每千克干土250 mg纯N施用,NBPT添加量为纯N用量的1%。每处理重复3次。

称取风干土壤250 g,调整含水量为田间持水量的60%,置于培养瓶中于25℃恒温恒湿预培养1周。预培养结束后,向土壤中按处理设置方案添加所需量的脲酶抑制剂NBPT或尿素,充分混匀后置于25℃继续培养。分别于培养后的第0(添加尿素时间记为0 d)、1、3、5、7、10、15、20 d取样测定土壤尿素含量、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量和脲酶活性。

1.3 NBPT提前施用对 NH_3 挥发的影响

NH_3 挥发采用静态吸收法^[9]测定,即将40 g干土调整含水量为田间持水量的60%,置于500 mL广口瓶中预培养(25℃)1周后按处理设置方案(同1.2)添加NBPT或尿素,混合均匀,于0 d(添加尿素时间)将20 mL含2%硼酸以及加入了指示剂的50 mL吸收皿放入广口瓶中继续培养。培养到指定天数(1、3、5、7、10、15、20 d)后取出吸收皿测定 NH_3 吸收量,并放入新的硼酸-指示剂混合液继续吸收释放的 NH_3 。

1.4 测定方法

采用常规分析方法测定土壤基本理化性质;尿素态N含量采用KCl-乙酸苯汞浸提-二乙酰-肟显色法测定; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量采用KCl浸提-靛酚蓝显色法测定;土壤脲酶活性采用靛酚蓝比色法测定,以37℃条件下24 h生成 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的量表示;硼酸-指示剂混合液吸收的 NH_3 用浓度为0.1 mol/L硫酸溶液进行滴定测量。

2 结果与分析

2.1 NBPT提前施用对土壤尿素残留量的影响

不同处理土壤尿素残留量见图1。

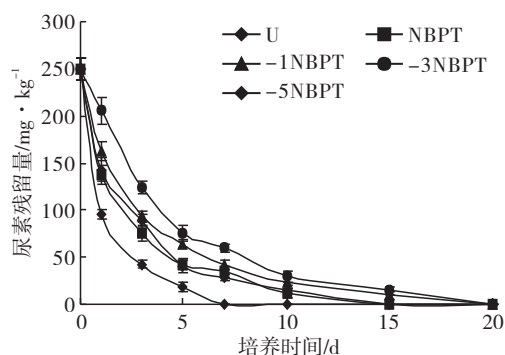


图1 土壤尿素残留量随培养时间的变化

由图1可知,不添加脲酶抑制剂的处理培养过

程尿素分解很快, 添加后7 d基本完全水解。NBPT不论是否提前施用, 均能显著降低尿素的水解速率, 但效果不同: NBPT与尿素同时施用(NBPT处理)或提前5 d施用(-5NBPT处理), 培养后10 d尚能检测到尿素残留; NBPT提前3 d施用(-3NBPT)或提前1 d施用(-1NBPT), 尿素完全水解则需要15~20 d。-3NBPT与-1NBPT两处理比较, 前者效果更优, 尤其在培养前期(0~7 d)-3NBPT处理尿素残留量显著($P<0.05$)低于-1NBPT处理。

NBPT具有与尿素相似的化学结构, 属于竞争性抑制剂, 当二者混合施用时, NBPT可以与尿素竞争脲酶的活性位点, 从而减少了脲酶与尿素的结合几率, 延缓了尿素的水解反应^[10]。李莉等^[11]在白浆土上的研究表明, NBPT的有效时间为10 d; 李君等^[12]通过研究指出其高效作用时间可持续14 d。该研究的结果也表明, 不论NBPT是否提前施用, 其均能有效延缓尿素在土壤中的水解时间, 最长可达15~20 d。陈轶雄等^[13]提前施用醋酸棉酚后施用尿素, 发现尿素的回收率大幅度提高。该项研究也发现, NBPT提前施用1~5 d能够显著提升培养期(20 d)土壤尿素残留量, 且提前施用3 d效果最佳。

2.2 NBPT提前施用对土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量的影响

尿素施入土壤后会在土壤脲酶作用下发生水解, 导致土壤中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量迅速升高; 生成的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 可能以 NH_3 的形式挥发损失, 也可能转化为硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$), 因此随着培养时间的延长 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的含量会逐渐降低。土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量随培养时间的变化见图2。

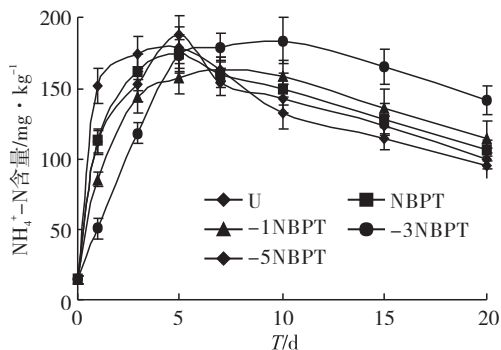


图2 土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量随培养时间的变化

由图2可知, 单施尿素的U处理在培养的前5 d内 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量迅速升高, 5 d后则缓慢降低。所有施用NBPT的处理无论前期 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 累积的速率还是后期 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量降低的速率, 均显著低于U处理, 表明NBPT在延缓尿素水解的同时, 也起到了降低 NH_4^+ 积累和损失的作用。比较而言, 提前3 d施用NBPT处理比提前1 d或5 d施用NBPT处理 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 累积速率和含量降低速率更加缓慢, 在培养结束时土壤 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著($P<0.05$)高于其他处理。一般而言, $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 高峰出现越早, 说明尿素水解快, 对作物的有效期就越短, 因而利用率就越低。由此可见, 与单纯施尿素相比, 不同的配施处理均能在不同程度上延缓 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 高峰值的出现, 使水解产物以 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的形式在土壤中得到更多和更长时间的保持, 且以NBPT较尿素提前3 d施用效果最佳。

2.3 NBPT提前施用对土壤脲酶活性的影响

在土壤酶中, 脲酶是唯一对尿素的转化作用具有重大影响的酶, 施入土壤中的尿素只能在脲酶的参与下才能水解, 因此土壤脲酶活性能够准确反映土壤水解酰胺态N的能力。不同处理土壤脲酶活性随时间的变化见图3。

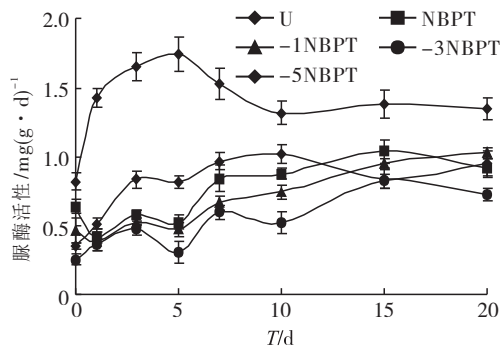


图3 土壤脲酶活性随培养时间的变化

由图3可知, 在整个培养期内, 只施尿素的U处理土壤脲酶活性呈现培养前期(0~5 d)迅速升高、中期(5~10 d)逐渐降低、后期(10~20 d)稳定的变化规律。由于在尿素添加前的不同时间施用NBPT, 因此在尿素施用不同土壤的脲酶活性即表现出较大差异: $\text{NBPT} > -1\text{NBPT} > -5\text{NBPT} > -3\text{NBPT}$ 。在尿素添加后, NBPT、-1NBPT和-3NBPT三个处理土壤脲酶活性呈缓慢升高趋势,

而-5NBPT处理土壤脲酶活性则是0~10 d缓慢升高, 10~20 d基本稳定。

尿素施入土壤后, 能够激活土壤脲酶, 使土壤脲酶活性增强。因而在培养前期, U处理的脲酶活性大于添加NBPT的处理。但由于尿素在脲酶的作用下迅速水解, 所以随着尿素浓度的降低, U处理在培养中、后期, 脲酶活性逐渐降低直至稳定。但添加NBPT的处理由于尿素水解较慢, 这种尿素对土壤脲酶的激活作用一直持续到培养后期, 故此表现为持续升高。但脲酶抑制剂也有一定的时效性, NBPT施入土壤后1~2周会降解为N、P、S等元素^[14], 因此过早施用效果未必最佳, 如提前5 d施用可能由于NBPT在土壤中的分解导致其效果不如提前3 d施用。

2.4 NBPT提前施用对土壤NH₃挥发的影响

NH₃挥发是N肥损失的重要途径之一, 其损失量占施N量的0.41%~40%^[15], 从而造成巨大的经济损失。因此, 如何科学合理地控制农田土壤的NH₃挥发, 提高N肥利用率, 减轻其产生的环境污染已成为世界各国共同关注的问题^[16]。土壤NH₃-N挥发速率随培养时间的变化见图4。

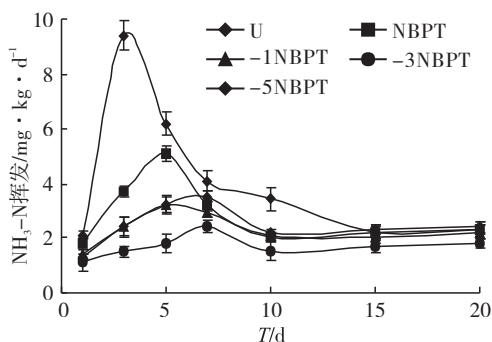


图4 土壤NH₃-N挥发速率随培养时间的变化

施用尿素后, U处理土壤的NH₃挥发在0~10 d始终保持较高水平, 其峰值出现在第3 d。施用NBPT不仅能够有效降低NH₃挥发的整体水平, 还能使NH₃挥发峰值有所延迟: NBPT和-1NBPT处理NH₃挥发峰值均出现在第5 d, 峰值强度分别为U处理的54.3%和34.1%; -3NBPT和-5NBPT处理的NH₃挥发峰值均出现在第7 d, 峰值强度分别为U处理的25.5%和37.2%。就整个培养期(0~20 d) NH₃-N累积挥发量而言见图5, U处理接近80 mg/kg,

NBPT、-1NBPT、-3NBPT和-5NBPT分别降低了26.8%、38.4%、53.5%和33.2%。

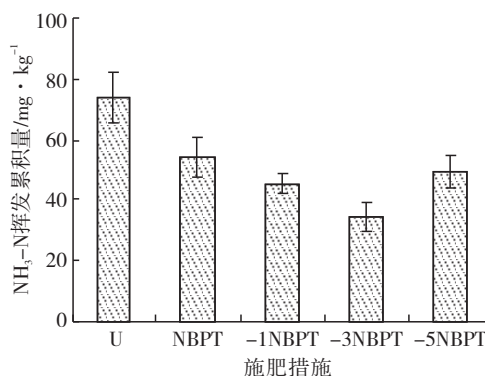


图5 不同处理NH₃-N挥发累积量

影响尿素施用后土壤NH₃挥发的因素有很多, 如土壤pH、环境温度、NH₄⁺-N含量、施肥措施等^[17]。脲酶抑制剂可通过延缓尿素水解, 降低NH₃挥发的物质基础(NH₄⁺-N)在土壤中的含量, 进而降低NH₃挥发速率, 推迟挥发峰出现时间。Sanz-Cobena等^[18]的研究表明, 在尿素用量为170 kgN/hm²时, 在整个试验期内不施用NBPT的对照处理NH₃挥发损失总量为17.3 kgN/hm², 而配施纯N量0.14%NBPT的处理NH₃挥发损失仅为10.0 kgN/hm²。Suter et al^[19]也认为脲酶抑制剂NBPT可使施用尿素时的NH₃挥发损失由对照处理的30%降低到9%。该研究的结果不仅表明施用NBPT能够显著降低NH₃挥发速率, 延迟NH₃挥发峰值出现的时间, 还证明了NBPT比尿素提前施用可能对NH₃挥发损失产生更好的抑制效果。

3 结论

(1) 不添加脲酶抑制剂的土壤尿素施用后7 d可完全水解, 纯N量1%的脲酶抑制剂NBPT能显著降低尿素的水解速率; 提前5 d施用NBPT效果与尿素-NBPT同时施用相当; NBPT提前1 d或3 d施用则能将尿素水解期延长至15~20 d。

(2) 施用NBPT能够降低土壤中NH₄⁺-N的积累速率和损失速率, 提前3 d施用NBPT比提前1 d或5 d施用效果更佳。

(3) 在尿素施用前的不同时间添加NBPT, 可使尿素施用前土壤的脲酶活性表现出较大差异, 其中以提前3 d施用土壤脲酶活性最低; 添加

NBPT的处理在尿素施入后,土壤脲酶活性基本呈缓慢升高趋势。

(4)施用NBPT可降低土壤 NH_3 挥发水平,推迟 NH_3 挥发峰出现时间;提前3 d或5 d施用NBPT可使 NH_3 挥发峰出现时间比单施尿素推迟4 d,峰值强度降低74.5%和62.8%, NH_3 -N累积挥发量降低53.5%和33.2%。

(5)综合而言,在草甸土上脲酶抑制剂NBPT比尿素提前3 d施用可起到最优的延缓尿素水解和降低 NH_3 挥发损失的效果。

参考文献

- [1]曲均峰,王国忠,傅送保,等.控释尿素对土壤氮挥发及脲酶活性和氮淋溶的影响[J].贵州农业科学, 2015, 43(7): 97-100.
- [2]张亚欣,范志平,闫加亮,等.氮添加对沙质草地氨挥发及硝态氮淋溶的影响[J].生态学杂志, 2011, 30(9): 1969-1974.
- [3]Krajewska B. Ureasase I. Functional, catalytic and kinetic properties: A review[J]. Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic, 2009, 59(1-3):9-21.
- [4]孙凯宁,袁 亮,李絮花,等.增值尿素对氨挥发和土壤脲酶活性的影响[J].山东农业科学, 2010, (6): 60-62.
- [5]倪秀菊,李玉中,徐春英,等.土壤脲酶抑制剂和硝化抑制剂的研究进展[J].中国农学通报, 2009, 25(12): 145-149.
- [6]彭玉净,田玉华,尹 斌.添加脲酶抑制剂NBPT对麦秆还田稻田氨挥发的影响[J].中国生态农业学报, 2012, 20(1): 19-23.
- [7]Sanz-Cobena Alberto, Sánchez-Martin Laura, García-Torres Lourdes, et al. Gaseous emissions of N_2O and NO and NO_3^- leaching from urea applied with urease and nitrification inhibitors to a maize (*Zea mays*) crop[J]. Agriculture, Ecosystems and Environment, 2012, 149:64-73.
- [8]崔亚兰,李东坡,武志杰,等.水田土壤氮转化相关因子对多年施用缓/控释尿素的响应[J].土壤通报, 2015, 46(5): 1208-1215.
- [9]孙克君,毛小云,卢其明,等.几种控释氮肥减少氨挥发的效果及影响因素研究[J].应用生态学报, 2004, 15(12): 2347-2350.
- [10]孙庆元,张雪崧,王艳红.土壤脲酶抑制剂正丁基硫代磷酸三胺的作用基团研究[J].土壤, 2007, 39(3): 492-495.
- [11]李 莉,李东坡,武志杰,等.脲酶/硝化抑制剂对尿素氮在白浆土中转化的影响[J].植物营养与肥料学报, 2011, 17(3): 646-650.
- [12]李 君,刘 涛,褚贵新.脲酶抑制剂对石灰性土壤尿素转化及 N_2O 排放的影响[J].农业环境科学学报, 2014, 33(9): 1866-1872.
- [13]陈铁雄,陈 敏,张宗毅,等.醋酸棉酚对土壤脲酶活性的抑制作用[J].水土保持学报, 2012, 26(1): 219-222.
- [14]Chaiwanakupt P, Freney J R, Keerthisinghe D G, et al. Use of urease, algal inhibitors, and nitrification inhibitors to reduce nitrogen loss and increase the grain yield of flooded rice (*Oryza sativa* L.)[J]. Biology and Fertility of Soils, 1996, 22(1):89-95.
- [15]Guo J H, Liu X J, Zhang Y, et al. Significant acidification in major Chinese croplands[J]. Science, 2010, 327(5968):1008-1010.
- [16]Zhang Y S, Luan S J, Chen L L, et al. Estimating the volatilization of ammonia from synthetic nitrogenous fertilizers used in China[J]. Journal of Environmental Management, 2011, 92(3):480-493.
- [17]贺纪正,张丽梅.土壤氮素转化的关键微生物过程及机制[J].微生物学通报, 2013, 40(1): 98-108.
- [18]Sanz-Cobena A, Misselbrook T H, Arce A, et al. An inhibitor of urease activity effectively reduces ammonia emissions from soil treated with urea under Mediterranean conditions[J]. Agriculture, Ecosystem and Environment, 2008, 126(3-4):243-249.
- [19]Suter H, Sultana H, Turner D, et al. Influence of urea fertiliser formulation, urease inhibitor and season on ammonia loss from ryegrass[J]. Nutrient Cycling In Agroecosystems, 2013, 95(2):175-185.

欢迎订阅《工业用水与废水》杂志

《工业用水与废水》杂志由东华工程科技股份有限公司主办,全国化工给排水设计技术中心站承办,是中国土木工程学会水工业分会工业给水排水委员会的会刊。国内统一刊号CN34-1204/TQ,国际标准刊号ISSN1009-2455。

《工业用水与废水》杂志创刊于1970年,是国内创刊最早的工业给水排水、水处理专业期刊。权威性高,反映工业给水排水、水处理的学术水平和发展方向;实用性强,报道本行业的重大科研成果与进展,以及新技术、新工艺、新产品和新材料的工程应用。内容涉及给水排水、废水处理及回用、循环冷却水、锅炉用水,水处理设备和药剂、泵阀、冷却塔、离子交换及功能膜、消防设计等方面。

主要栏目:专论与综述、给水处理、废水处理及回用、技术与经验、工程实例、冷却塔、施工、设备与材料、消防设计、固废处理、分析与检测、标准规范、计算机应用、科技信息。

本刊为中国科技类核心期刊、中国科技论文统计源期刊,入选中国学术期刊(光盘版)、中国学术期刊综合评价数据库、中文科技期刊数据库、美国《化学文摘》、《剑桥科学文摘》及俄罗斯《文摘杂志》期刊。

读者对象:化工、石油、石化、电力、医药、机械、冶金、轻工、纺织和印染、市政等行业的给排水和环保专业的科研、工程设计和建设、生产和运营管理等方面的技术人员,以及大专院校的师生。

本刊发行量大,影响面广,设计、印刷精美,是给水排水、环保企业扩大产品影响的首选媒体。

《工业用水与废水》为双月刊,大16开本,正文88页,逢双月28日出版,国内外公开发行。每期定价12元/本,全年定价72元。邮发代号26-159,全国各地邮政局(所)均可订阅,也可直接与编辑部联系。

地 址:合肥市望江东路70号《工业用水与废水》编辑部

邮 编:230024

电 话:0551-63621791 63626465

传 真:0551-63621791

E-mail: shiliyuan@chinaecec.com

开户行:中国建设银行合肥城南支行

户 名:东华工程科技股份有限公司

账 号:3400 1458 6080 5000 4318