

31-35

第25卷 第1期
1997年2月西北农业大学学报
Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalisVol. 25 No. 1
Feb. 1997

⑥

几种测定条件下土壤尿素水解速率的差异*

李世清 李生秀

(西北农业大学资源与环境科学系, 陕西杨陵 712100)

摘要 分别用测定残留尿素(直接法)和矿质氮累积量(间接法)的方法,测定了土壤的尿素水解速率,并比较通气培养和淹水培养期间尿素水解的异同。结果表明:虽然这两种方法在反映土壤脲酶活性和尿素水解速率上有相同趋势,但直接法测定的结果显著高于间接法。用直接法测定尿素水解速率,既不考虑水解产物的转化,也不考虑氮素损失,因此,具有矿化量法难以比拟的优点。用通气培养法测定的尿素水解速率虽然极显著地高于淹水培养,但两者之间仍呈高度正相关,说明它们在表征土壤尿素水解状况上有相似趋势,对旱地土壤,通气培养法更切合实际。培养期间加入甲苯,使尿素水解速率大幅度增加。

关键词 土壤,尿素水解速率,残留尿素,矿质氮累积**中图分类号** S151.9

测定尿素水解速率的方法很多^[1~4],大体上可分两类:一是间接法,即测定加入尿素后培养期间 CO₂ 的释放速率,或矿质氮的累积速率(以不加尿素为对照);一是直接法,即测定尿素的减少速率(测定残留尿素量,用差减法计算水解率)。Ladd & Jackson 认为^[2],间接法有明显缺点:在酸性土壤上,测定 CO₂ 释放量可能会对尿素水解速率估计偏低;在新鲜有机质含量高,或粘土矿物固铵能力强,或易发生 NH₃ 挥发的土壤上,测定矿质氮累积速率也难以反映真实情况。与此相反,直接法测定尿素较准确、可靠。本文对两种方法测定结果加以分析比较。

1 材料和方法

1.1 供试土壤

以有机质(3~16.7 g/kg)、全氮(0.15~0.96 g/kg)、硝态氮(6.5~24.5 μg/g)、铵态氮(1.9~9.7 μg/g)和质地(106~448 g/kg 粘粒,104~403 g/kg 粉砂粒)差异较大的5种耕层土壤为供试土样^[4]。试验分3次进行,分别简称试验 I、II、III。

试验 I:目的在于比较直接测定残留的尿和水解形成的矿质氮两种测定方法之异同。用两种新鲜垆土,各设不施和施尿素(200 μg N/g 干土)两个处理。每种土壤分别称取相当于 10.00 g 烘干土的鲜土 104 份。52 份与需要加入尿素的溶液混匀;52 份加入无尿素的蒸馏水。然后分别装入 100 mL 小烧杯中,再加蒸馏水使含水量达 20%,水分调整好后用扎有小孔的农膜封口,分别在 5, 15, 25, 35 °C 下培养。5 和 15 °C 条件下培养的土壤分别在培养 12, 24, 48, 96, 144, 240 h 后取出浸取;25 和 35 °C 条件下培养的土壤分别在 8, 16, 24, 36, 48, 60, 72 h 后取出浸取。每次浸取时各处理均用两个烧杯的土壤。浸取时用

收稿日期:1996-07-18

* 国家自然科学基金与黄土高原土壤侵蚀和旱地农业国家重点实验室基金资助项目

1. A3

100 mL 2 mol/L KCl-PMA 溶液将土壤全部转移到 500 mL 硬质塑料瓶中,振荡 1 h,过滤,测定滤液中矿质氮和尿素含量。培养期间,不加尿素的土壤,均未测出尿素。两个处理矿质氮之差为尿素水解的矿质氮;加入尿素量和残留量之差为水解量。

试验 I:目的在于研究通气和淹水条件下尿素水解过程的差异。选用 1 种黑垆土、2 种垆土和 1 种黄褐土,共 4 种土壤,分别用通气和淹水法培养。通气培养法同上,每种土壤称取 14 份风干土(每份重 10.0 g),分别置于 100 mL 烧杯内,加入 1 000 $\mu\text{g N/mL}$ 的尿素溶液 2 mL,拌均后,用扎孔农膜封口,在 25℃ 下培养。分别在 4,8,12,16,20,24 和 48 h 取样,测定残留尿素。淹水培养用 Warming & Bremner 法,每种风干土壤各称取 2 份(每份 10.00 g),分别置于试管中,加入尿素溶液,再加入 10 mL 蒸馏水,用橡皮塞封口后,置于 40℃ 温度下培养 12 h。

试验 II:目的在于研究加入甲苯对尿素水解的影响。仍用试验 I 的 4 种土壤。每种土壤各称取 8 份,每份 5.00 g,分别置于 100 mL 塑料瓶中。4 份加入 0.5 mL 甲苯;4 份不加,之后,均加入 5 mL 200 $\mu\text{g N/mL}$ 尿素溶液,摇匀,分别在 25℃ 和 35℃ 下培养 12 h 后,浸取测定残留尿素量。

1.2 浸提液中尿素和矿质氮的测定

尿素用 Douglas & Bremner 法测定^[5],矿质氮用连续流动分析仪测定,结果以配对 t 法检验。

2 结果与讨论

2.1 尿素水解量和矿质氮累积量的差别

两种方法测得的尿素水解速率(表 1)呈高度正相关($r=0.92$, $p<0.01$),但测定数值有显著差异。测量尿素残留量获得的水解速率和最大水解量显著高于由矿质氮增量得到的结果($t_{\text{水解速率}}=2.467^*$, $t_{\text{最大水解量}}=4.46^*$, $df=7$)。这种差异因土壤和培养温度而异。土壤肥力较低、培养温度高时差异更大。就两种土壤平均值来看,5,15,25 和 35℃ 时,用残留法测得的尿素水解速率分别为 2.56,3.94,8.24 和 11.55;而用矿质氮增长量测定的结果依次为 2.17,3.19,7.07 和 8.19,依次相差 0.39,0.75,1.17 和 3.36 $\mu\text{g N/g}$ 。就 4 个温度平均值来看,有机质含量较低的土壤,两种方法测得的水解速率分别为 6.50 和 4.22 $\mu\text{g N/g}$;有机质含量较高的土壤,分别为 6.56 和 6.09 $\mu\text{g N/g}$ 。

表 1 两种测定尿素水解速率方法的比较

土壤	温度 (℃)	直接测定尿素		不施尿素培养后矿质氮			施尿素培养后矿质氮			矿质氮增量			矿质氮增 加速率 ($\mu\text{g/g} \cdot \text{h}$)
		水解量 ($\mu\text{g/g}$)	水解速率 ($\mu\text{g/g} \cdot \text{h}$)	$\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$ ($\mu\text{g/g}$)	$\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$ ($\mu\text{g/g}$)	Σ	$\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$ ($\mu\text{g/g}$)	$\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$ ($\mu\text{g/g}$)	Σ	$\text{NO}_3^- \cdot \text{N}$ ($\mu\text{g/g}$)	$\text{NH}_4^+ \cdot \text{N}$ ($\mu\text{g/g}$)	Σ	
垆土 (麦田 低肥)	5	199.8	2.54	24.9	5.1	30.0	27.6	160.5	188.1	2.7	155.4	158.1	1.79
	15	198.8	3.75	28.3	4.8	33.1	55.4	127.7	178.1	27.1	117.9	145.0	2.33
	25	181.7	7.23	25.5	5.2	30.7	37.0	126.6	163.6	11.5	121.4	132.9	5.31
	35	196.1	12.48	27.3	3.3	30.6	34.9	151.4	186.3	7.6	149.1	155.7	7.44
垆土 (菜园 高肥)	5	196.7	2.58	15.7	4.4	21.1	27.3	188.4	215.7	10.6	184.0	194.6	2.54
	15	196.0	4.13	15.9	2.2	18.1	82.1	122.3	204.4	56.2	120.1	186.3	4.05
	25	185.9	9.25	16.9	4.9	21.8	42.3	152.3	194.6	25.4	147.4	172.8	8.82
	35	193.0	10.26	19.7	1.3	21.0	44.9	129.3	174.2	25.2	128.0	153.2	8.93

两种方法测定结果的差异可能与粘土矿物对铵态氮的固定有关。测定矿质氮累积量会受到粘土矿物固定的影响:炉土对铵态氮有很强的固定能力,施入铵态氮培养 24 h,固定量可占施氮量的 30% 左右^[6]。尿素施入土壤后会水解转化为铵态氮;温度高,水解更快,会使铵态氮浓度急剧上升。培养时形成的铵态氮挥发甚微,除一部分转化为硝态氮,一部分被生物利用外,相当一部分会被粘土矿物固定。培养温度愈高,愈有利于固定,因而用矿质氮估计的尿素水解速率愈低。由于高肥力菜园土起始晶层固定铵态氮(289.7 $\mu\text{g N/g}$)高于低肥力土壤(241.7 $\mu\text{g N/g}$)、固定的肥料氮较少,因而两种方法测得的结果较为接近。相反,用残留的尿素量计算水解速率,既不考虑水解产物的转化,又不考虑氮素损失,方法简单,而精确度和准确性又高^[4]。

2.2 通气和淹水条件下尿素水解的差异

尿素既可在通气条件下,也可在淹水条件下水解,但水解速率有明显差异(表 2):通气条件下的结果显著高于淹水培养。从 4 种土壤平均值来看,前者为 4.67 $\mu\text{g N/g} \cdot \text{h}$,后者为 3.06 $\mu\text{g N/g}$,差异达 0.05 显著水平($t=6.756^*$, $df=2$)。水解速率数值虽然有别,但不同土壤的趋势却相当一致。两种培养条件下水解速率的高度正相关($r=0.97$, $p<0.05$)说明了它们在表征土壤脲酶活性、尿素水解状况方面有相似功效。

Sahrawat 研究表明^[7],在田间饱和持水量的情况下,进一步增加水分,脲酶活性不变,或下降。淹水培养,土壤颗粒分散,微生物矿化能力增强,土壤中腐殖质-脲酶或粘粒-脲酶复合体中的一些脲酶被分解。从此考虑,评价旱地的尿素水解用好气培养法似乎更切合实际。

2.3 甲苯对尿素水解速率的影响

尿素的水解是脲酶催化的结果。为了客观地反映土壤脲酶活性和尿素水解情况,一些研究者建议用甲苯或辐射处理灭菌,以减少微生物活动对脲酶活性的影响;但也有一些研究者认为,不灭菌更能反映自然状态下土壤尿素水解的过程^[8]。为了了解灭菌对脲酶活性的影响,我们以甲苯做抑制剂进行了试验,结果表明(表 3):加入甲苯后,两种温度下,除弱性黄褐土的尿素水解率略有

表 2 两种培养方法对水解速率的影响

土壤	通气培养* ($\mu\text{g/g} \cdot \text{h}$)	淹水培养 ($\mu\text{g/g} \cdot \text{h}$)
黑炉土	4.23	2.21
麦田炉土	5.16	3.19
菜园炉土	5.62	5.15
黄褐土	2.68	1.96
平均	4.67	3.06

* 含水量为干土重的 20%

降低外,其他 3 种石灰性土壤尿素水解量和水解速率显著增加;水解量平均增加 39.9 $\mu\text{g N/g}$,水解速率平均增加 3.25 $\mu\text{g N/g} \cdot \text{h}$ ($t=3.657^*$, $df=5$)。这说明,甲苯对尿素水解的影响与土壤有关。加入甲苯,一方面可抑制微生物活动,降低对脲酶的分解;另一方面,甲苯是一种原生质溶解剂,可溶解微生物,释放出脲酶^[10]。可能由于这两方面的综合作用,3 种石灰性土壤上脲酶活性增强。黄褐土与其他几种石灰性土壤的差异是否与粘粒含量高、团聚力强、对脲酶有较高的保护作用有关,需进一步研究。

甲苯的效果与温度有关,温度高,影响显著。从 3 种土壤的平均结果看,25℃ 时,水解量和水解速率增加 15.9 $\mu\text{g N/g}$ 和 1.32 $\mu\text{g N/g} \cdot \text{h}$;而 35℃ 时,相应值高达 63.9 和 5.17 $\mu\text{g N/g} \cdot \text{h}$ 。不同温度的水解速率差异达极显著水平($t=38.77^*$, $df=2$)。温度对甲苯效果的影响,很容易从甲苯对脲酶活性的影响得以解释。

Ladd & Jackson 认为^[2],土壤固有脲酶活性在培养期间相对稳定。施用甲苯,较大幅度地增加了其活性,对维持脲酶稳定性并无实际效果。

表 3 培养期间微生物活动对尿素水解的影响

土壤	温度 (°C)	水解量		水解速率		甲苯-无甲苯	
		无甲苯 ($\mu\text{g/g}$)	有甲苯	无甲苯 ($\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$)	有甲苯	水解量 ($\mu\text{g/g}$)	水解速率 ($\mu\text{g/g}\cdot\text{h}$)
黑垆土	25	26.5	41.9	2.21	3.49	15.4	1.28
	35	57.3	121.2	4.78	10.10	63.9	5.32
麦田垆土	25	38.8	47.1	3.19	3.93	8.3	0.74
	35	75.0	134.5	6.25	11.21	59.5	4.96
菜园垆土	25	61.8	85.3	5.15	7.11	23.5	1.96
	35	91.2	159.5	7.60	13.29	68.3	5.69
黄褐土	25	23.5	13.2	1.96	1.10	-10.3	-0.86
	35	32.4	27.1	2.70	2.26	-5.3	-0.44

2.4 尿素水解和微生物活动对 pH 的影响

测定尿素的水解速率时要不要调节 pH,至今仍无一致看法^[9,11]。Paulson & Kurlz 认为没有这种必要^[11]。要阐明这一问题,首先要明确培养过程中 pH 有无变化及变化大小。为了探讨培养期间尿素水解和微生物活动对 pH 的影响,我们在进行试验 III 的同时,安排另一试验。试验设 4 个处理,即 5 g 土+5 mL 水;5 g 土+5 mL 水+0.5 mL 甲苯;5 g 土+5 mL 尿素溶液(200 $\mu\text{g N/mL}$);5 g 土+5 mL 尿素溶液+0.5 mL 甲苯,分别在 25 和 35°C 下培养 12 h,并用玻璃电极测定培养前后的 pH。结果表明(表 4),甲苯对 pH 影响不大,加入与否,黄褐土基本一致;石灰性土壤相差不足 0.1pH 个单位。尿素加入后由于水解作用 pH 上升,但最多不超过 0.2 个单位。由本试验可以看出,尿素水解和微生物活动对 pH 无明显影响,研究尿素水解时调控 pH 似无实际意义。

表 4 培养期间土壤 pH 值的变化

处理	温度 (°C)	黑垆土		麦田垆土		黄褐土	
		起始	12 h	起始	12 h	起始	12 h
土壤	25	8.30	8.15	8.30	8.20	6.80	7.01
土壤+甲苯		8.36	8.24	8.30	8.22	6.72	6.95
土壤+尿素		8.22	8.24	8.17	8.22	6.85	7.08
土壤+尿素+甲苯		8.30	8.35	8.15	8.35	6.83	7.07
土壤	35	8.20	8.10	8.13	8.15	6.79	7.00
土壤+甲苯		8.25	8.15	8.10	8.15	6.84	7.02
土壤+尿素		8.29	8.32	8.15	8.30	6.81	7.10
土壤+尿素+甲苯		8.23	8.50	8.10	8.45	6.78	7.10

参 考 文 献

- 1 Bremner J M, Mulvaney C S. Urease activity in soils, In R. G. Burks(ed.), Soil enzymes, Academic Press, Inc. New York, 1978, 149~196
- 2 Ladd J N, Jackson R B. Biochemistry ammonification. In: H. J. Stevenson(ed.), Nitrogen in agricultural soils. Agronomy. Am. Soc. Agron, Inc. Madison, Wis. 1982, 172~228

- 3 Tabatabai M A. Soil enzymes. In Page(ed.) Methods of soil analysis, Part 2. Agronomy Monograph, No. 9. ASA-SSA. Madison, Wis. 1982, 903~943
- 4 李世清, 李生秀, 贺海香. 土壤中尿素的浸提和比色测定(第五届全国青年土壤科学工作者学术讨论会论文集). 北京: 中国农业出版社, 1994, 316~320
- 5 Douglas L A, Bremner J M. Extraction and Colorimetric determination of urea in soils. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 1970, 34: 859~862
- 6 李世清, 卜丹英, 李生秀. 石灰性土壤中 NH_4^+ -N 的硝化与 NH_4^+ 的粘土矿物固定. 干旱地区农业研究, 1993, 11(增刊), 99~107
- 7 Sahawat K L. Effects of temperature and moisture on Urease activity in arid tropical soil. Plant Soil. 1984, 78: 401~408
- 8 Douglas L A, Bremner J M. A rapid method of evaluating different Compounds as inhibitors of urease activity. Soil Biol. Biochem. 1971, 3: 309~315
- 9 Viraj Beri, Gaswami P K, Brar S S. Urease activity and its michaelis Constant for soil systems. Plant soil. 1978, 49: 105~115
- 10 McLaren A D, Peterson J H. Soil Biochemistry. 阎九康, 关松荫, 王维敏译. 北京: 农业出版社, 1984
- 11 Paulson K N, Kurtz L T. Locus of urease activity in soil. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 1969, 33: 897~901

Differences of Urea Hydrolysis Rates under Several Determination Conditions

Li Shiqing Li Shengxiu

(Department of Natural Resources and Environment Protection, Northwestern
Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract Two methods, one for determining residual urea (RU) and one for determining mineral nitrogen accumulation (MNA) were used for measuring urea hydrolysis rates in soils, and a comparison of the results was made under aerobic and waterlogged incubation conditions. The results obtained indicated that the urea hydrolysis rates by MRU were significantly higher than that by MNA although the urea hydrolysis rates by both methods were well correlated. This difference was mainly caused by clay mineral fixation of NH_4^+ produced in hydrolyzing process of urea. Considering neither transformation of hydrolyzed product nor loss of nitrogen, the RU method is superior to the MNA one. In addition, the urea hydrolysis rates estimated by aerobic incubation were higher than those did by waterlogged incubation. However, a good agreement was obtained between aerobic and waterlogged incubation. These results suggested that both incubation methods could provide similar information on estimation of urease activity and urea hydrolysis rate. As a whole, the aerobic incubation method is more suitable for dryland soils than the waterlogged. Applied to toluence during incubation, the urea hydrolysis rates could significantly increase.

Key words soil, urea hydrolysis rate, residual urea, mineral nitrogen accumulation