西北农业学报　1997, 6(2): 73~75
Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica

有机肥对土壤脲酶活性特征的影响*

和文祥　朱铭莪　童江云　周　玲
(西北农业大学农化系　陕西杨陵　712100)

摘　要　采用氮流动连续分析仪对长期定位试验地土壤脲酶活性进行了分析,结果表明:脲酶总量、动力学参数和热力学参数均证明,施有机肥对土壤脲酶活性特征的影响远大于单施化肥和不施肥土壤,在各处理中脲酶的 V_{max}、V_{max}/K_m、k、F_0 值均最大,E_a、ΔH 和 ΔG 则最小。

关键词　土壤脲酶;有机肥;动力学参数;热力学参数

国内外学者[1~3]研究认为:土壤脲酶活性与理化性质关系密切,可灵敏反映土壤肥力水平状况。但关于有机肥施用对土样脲酶动力学和热力学特征影响的报道较少。笔者拟通过对长期定位试验地土壤脲酶动力学和热力学参数的测定,探讨其与土壤肥力之间的关系。

1　材料与方法

供试土样采自西北农业大学长期定位(1977年始)试验地,设置Ⅰ无肥(不施肥),Ⅱ单施化肥(尿素 450 kg/hm^2,过磷酸钙 525 kg/hm^2),Ⅲ秸秆+化肥(化肥同Ⅱ,玉米秸秆 18 750 kg/hm^2)3个处理;有机质、全氮、阳离子代换量均为Ⅲ>Ⅱ>Ⅰ。

取 50 g土样(1 mm),加入 4 ml甲苯,静置 15 min,加入 100 ml磷酸缓冲液(pH 7.0)和 10 ml不同浓度的尿素溶液(0.005 mol/L、0.01 mol/L、0.05 mol/L、0.10 mol/L),于不同温度(10℃、20℃、30℃、40℃)下培养,定时取样。用英国产氮流动连续分析仪测定溶液中 NH_4^+-N 含量,脲酶活性用 μg NH_4^+-N/g土·h表示。

土壤脲酶动力学参数计算　米氏常数 K_m 和最大速度 V_{max} 用下式求得[4]: $1/t\times\ln([S_0]/[S])=-1/K_m\times([S_0]-[S])/t+V_{max}/K_m$。其中 t 为酶促反应时间,$[S_0]$ 是初始底物浓度,$[S]$ 为 t 时间的底物浓度。

酶促反应速度常数 $k=1/t\times\ln[V_\infty/(V_\infty-V_t)]$。其中 V_∞ 为最大放氨量,V_t 为 t 时间的放氨量。活化能 E_a 由 Arrhenius速度方程的积分式: $\ln k=\ln A-E_a/R\times 1/T$ 求得[5]。其中 T 为酶促反应温度(K),k 是温度 T 时的反应速度常数,A 为频率因子,R 为 8.314 J/mol。

热力学参数计算[5]　活化自由能变 $\Delta G=RT\ln[R/(Nh)T/k]$;活化焓变 $\Delta H=E_a-nRT$;活化熵变 $\Delta S=(\Delta H-\Delta G)/T$。其中,$N$ 为阿佛加德罗常数,h 为普朗克常数,n 为摩尔数。

2　结果与分析

2.1　脲酶动力学参数 K_m 和 V_{max}

由表 1可见,施肥处理不同,动力学参数有明显的差异。除 10℃外,其余温度下的 K_m 值以处理Ⅲ最小,处理Ⅱ和Ⅰ的 K_m 值为Ⅲ的 2.6~5.7倍,而Ⅰ、Ⅱ处理的高者仅为低者的 1.1倍左右;处理Ⅲ的 V_{max} 值比Ⅱ高 90%~96%,比Ⅰ高 100%~68.2%,Ⅱ和Ⅰ差异不大,呈现Ⅲ>Ⅱ>Ⅰ的变化规律。处理Ⅲ由于长期大量施入有机肥料(玉米秸秆)和化肥,使得土壤物理性状和营养水平同

收稿日期　1995-12-25　修回日期　1996-07-07
* 国家教委博士点基金资助项目

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

时得到合理、稳定的改善,肥力水平明显提高,酶活性亦较高[7]。

表 1 供试土样脲酶动力学参数

Table 1 The urease kinetic parameters of soils tested

处理 Treatment	10℃			20℃			30℃			40℃		
	K_m	V_{max}	F_0	K_m	V_{max}	F_0	K_m	V_{max}	F_0	K_m	V_{max}	F_0
I	6.27	0.073	6.56	8.56	0.159	7.75	15.97	0.352	11.1	39.2	0.475	10.7
II	2.31	0.054	4.85	9.71	0.197	9.60	13.96	0.355	11.2	49.2	0.562	12.7
III	5.00	0.106	9.53	2.51	0.240	11.7	5.20	0.387	12.3	8.6	0.799	18.0

K_m: mmol/L; V_{max}: mmol/L·h; F_0: 10^{-6}mmol/L·h

当温度升高时,处理I、II的 K_m 值也呈增加趋势,且 30~40℃时增量最大,而处理III的 K_m 变化不明显; V_{max} 则直线上升,处理I、II和III与温度的相关系数分别为 0.990**、0.996** 和 0.957*,表明在处理I、II土壤上,温度一方面减缓形成中间络合物的速度,另一方面却加快了络合物分解为酶和产物的速度,处理III土样脲酶随温度升高,形成酶—底物复合体速度基本不变,而复合物的分解速度却大大加快,从而反映出它们在酶促反应机理上的差异。

有学者认为,在较大范围内, V_{max}/K_m 值是酶促反应初速度最重要的指标,可作为土壤肥力的指标之一[6]。从表 3计算知,处理III V_{max}/K_m 比I 高 82.7%~669%,而处理II 仅为I 的 94.2%~115.5%,除 10℃外,其大小为: III>II≈I ,可见有机肥处理土样的脲酶 V_{max}/K_m 最大,表明有机肥提高了土样肥力水平,从而较大地影响了脲酶的各动力学参数。

阿里耶夫[6]认为,土壤酶总量 F_0 可用 V_{max}/K_{cat} 求得,其中 K_{cat} 为酶—基质复合体分解为产物和酶的分解催化速度常数。计算结果(表 1)表明: 各施肥土样脲酶总量有明显差别。处理I 的酶总量在 30℃时最高,为 11.1×10^{-6} mmol/L·h,其余温度下仅为其 58.9%~96.1%,处理II 和III 40℃时最高,分别达 12.7×10^{-6} 和 18.0×10^{-6} mmol/L·h; 3个处理的总酶量平均值为III>II>I。

2.2 脲酶酶促反应速度常数 *k* 和活化能 *E*a

表 2表明,随温度升高,各处理土样脲酶的 k 值增大,I、II和III的 k 值与温度的相关系数分别达 0.982*、0.997** 和 0.959*;在同一温度下, k 值排序为: III>II>I ;处理III比I 的 E_a 值低 4.57 kJ/mol,比II 低 4.2 kJ/mol,这与 Gould. R. J 等[6]得到的 E_a 值较为接近,总的呈现I>II>III的变化规律,说明长期施用有机肥的土样中,脲酶与底物形成活化络合物时速度最快,所需能量最低;处理II 和I 则较困难。

表 2 供试土样脲酶的 *k* 和 *E*a 值

Table 2 The urease *k* and *E*a values of soils tested

		处理 Treatment		
		I	II	III
k	10℃	0.0046	0.0059	0.0087
	20℃	0.0094	0.0131	0.0174
	30℃	0.0146	0.0207	0.0218
	40℃	0.0246	0.0305	0.0407
E_a(kJ/mol)		40.27	39.90	35.70

2.3 脲酶酶促反应的热力学特征

从表 3可见,各土样脲酶的 $\Delta G>0$, $\Delta H>0$, $\Delta S<0$,与阿里耶夫等的研究[6]一致,说明土壤脲酶形成活化络合物的过程不能自发进行,需外界提供较多的能量,才能使反应正常进行,且酶与反应物形成活化络合物的过程使体系有序性增强。

在 10~40℃范围内, 3个处理土样脲酶的热力学参数值变幅不大, ΔG 范围为(83.39±3.04) kJ/mol,变幅仅 3.64%,高于细菌脲酶(47 kJ/mol),接近粘质粉壤土脲酶(101 kJ/mol)[9]; ΔH 和 ΔS 的范围分别为(36.90±1.52) kJ/mol和(-155.36±7.23) J/mol,变幅分别为 4.1%和 4.7%。

表 3 供试土样脲酶的热力学参数

Table 3 The urease thermodynamic parameters of soils tested

处理 Treatment		ΔH(kJ/mol)	ΔS(J/mol)	ΔG(kJ/mol)
I	10℃	37.92	-148.13	81.84
	20℃	37.83	-154.47	83.09
	30℃	37.75	-155.61	84.90
	40℃	37.67	-155.75	86.42
II	10℃	37.55	-154.45	81.26
	20℃	37.46	-152.97	82.28
	30℃	37.38	-153.93	84.02
	40℃	37.30	-155.18	85.87
II	10℃	35.62	-158.06	80.35
	20℃	35.54	-157.13	81.58
	30℃	35.46	-159.83	83.89
	40℃	35.38	-158.88	85.11

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

在同一温度下,各土样的热力学参数有明显差异,ΔG和ΔH为Ⅰ > Ⅱ > Ⅲ,随温度升高,ΔG值增加,ΔH减小。而ΔS则为Ⅰ ≈Ⅱ > Ⅲ,表明土壤在施入有机肥后,脲酶与尿素反应结合生成酶和产物的过程愈易进行,其活性部位与反应物发生互补时,从外界所需获取的能量较少,反应物在酶活性中心定向有序性较大,酶促反应较强,这与前述处理Ⅲ脲酶的 V_{max}、V_{max}/K_m、k值较大而 E_a较小的结果相一致。而处理Ⅰ由于不施任何肥料,土壤肥力水平较低。土壤脲酶在形成活化络合物时,需外界提供较多的能量,才能完成形成活化络合物时必须具有的强的应变、扭曲,甚至键的断裂,从而达到过渡态。

3　结论与讨论

3.1　施用有机肥对土壤生化活性特征有明显的影响。有机肥不仅提高了土壤脲酶的 V_{max}、k值,降低了 K_m、E_a值,使得脲酶与尿素结合形成活化络合物及分解产生氨的速度达最快,而且使需能相对减少。热力学参数则从酶促反应的机理上阐述了有机肥处理与其它处理间的差异,从而证明了有机肥施入对土壤肥力水平的提高有着十分重要的生物学意义。

3.2　K_m、V_{max}、V_{max}/K_m、k、E_a、ΔG、ΔH和ΔS从不同角度表征了各土样脲酶酶促反应机理上的差异。施有机肥对土壤脲酶活性特征有明显的影响,特别是在阳离子代换量较低的粗质土或钙质土壤上,由此引起的氨挥发已成为氮肥损失的一个重要方面,如何将土壤肥力水平的提高与土壤氨挥发损失间的矛盾有机结合起来,有待今后进一步探讨。

参　考　文　献

1　Schaefer R. Dehydrogenase activity as an index for total biological activity in soils. Ann. Inst. Pasteur. Pair., 1963, 105: 326 ~ 331

2　陈恩凤,周礼恺,邱风琼等.土壤肥力实质研究　Ⅰ 黑土.土壤学报,1984, 21: 229~ 237

3　李双霖.应用聚类—主组元分析检验土壤酶活性作为土壤肥力指标的可能性.土壤通报,1990, 6: 272~ 274

4　Malcolm, Dixon, Edwin C *et al*. Enzymes, 1958: 118~ 120

5　Dalal R C. Distribution, salinity, kinetic and thermodynamic characteristics of urease activity in a vertisol profile. Aust. J. Soil. Res., 1985, 23: 49~ 60

6　Aliyev S A, Gadjiyev D A, Mikailov F D. Kinetic and thermodynamic characteristics of enzymes-invertase and urease in azerbaijan soils. Почвов, 1984, (11): 55~ 66

7　关松荫.土壤酶活性影响因子的研究　Ⅰ 有机肥料对土壤中酶活性及氮磷转化的影响.土壤学报,1989, 26: 72~ 77

8　Gould W D, Cook F D, Webstar G R. Factors affectig urea hydrolysis in several Alberta soils. Plant& Soil, 1973, 38: 393~ 401

9　Dalal R C. Effect of toluene on the energy barriers in urease activity of soils. Soil. Sci., 1975, 120: 256~ 260

10　周礼恺编著.土壤酶学.北京:科学出版社,1987: 249

Effect of Organic Fertilizer on the Characteristics of Soil Urease

He Wenxiang, Zhu Ming'e, Tong Jiangyun, and Zhou Ling

(Soil Chemistry Department, Northwestern Agricultural University, Yangling Shaanxi 712100)

Abstract　Soil urease activities in long-term fertilizer trials were determined by Flow-Continual-Nitrogen-Analyser(FCNA) made in British. The results showed as follows: Effect of organic fertilizer on soil urease characteristics was far more than that of signal chemical fertilizer and no-fertilizer from total amount of urease, urease kinetic and thermodynamic parameters. In all treatments, soil ureases of organic fertilizer had the highest values of V_{max}, V_{max}/K_m, k and F_0, but the smallest values of E_a, ΔH and ΔG.

Key words　Soil urease; Organic fertilizer; Kinetic parameter; Thermodynamic parameter

21004-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.n