

土壤中细菌产氨代谢对农田生态系统的意义

王国兴¹, 徐福利², 王渭玲¹, 王伟东¹

(1. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 中国科学院 水利部 水土保持研究所, 陕西 杨凌 712100)

摘要: 土壤细菌利用尿素产氨不仅可以直接影响土壤中氮源的循环利用和土壤氮素肥力, 并且有助于酸化土质的改良。该文就土壤中细菌利用尿素产氨的生物学特征及分子调控机制, 影响土壤脲酶活性的土壤化学特性、环境因素、尿素来源以及微生物间相互作用进行等研究进展进行了综述分析。指出土壤中脲酶活性是检测土壤质量和土壤肥力的重要指标之一, 它与固氮作用、土壤改良和土壤中其他产氨代谢有密切关系, 土壤中脲酶的活性指标对土壤氮素肥力评价和农作物生产具有重要意义。

关键词: 土壤; 细菌; 脲酶; 产氨代谢

中图分类号: Q935

文献标识码: A

文章编号: 1005-3409(2012)06-0305-04

Significance of Ammonia Production in Soil to the Ecosystem of Farmlands

WANG Guo-xing¹, XU Fu-li², WANG Wei-ling¹, WANG Wei-dong¹

(1. College of Life Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Institute of Soil and Water Conservation, Chinese Academy of Sciences and Ministry of Water Resource, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The ammonia production by bacteria in soil not only could influence the recycle of nitrogen source in soil, but also could be used to improve the acidified soil. In this review article, the biological characteristics and molecular regulation mechanism of ammonia producing pathway by bacteria in soil, the factors influence the urease activity in soil, environmental factors, urea sources, and research progress of microbial interaction will be reviewed. It points out that urease activity in soil is one of the most important indexes to test quality and fertility of soil. The urease activity has an intimate connection with nitrogen fixation, soil reclamation and other ammonia production metabolism. In one word, the urease activity is of great significance to the soil nitrogen fertility evaluation and crop production.

Key words: soil; bacteria; urease; ammonia production

自然界的氮素以分子态(N₂)、无机态(铵态氮和硝态氮等)和有机态(蛋白质和核酸等)形式存在, 分布在地球的各个部位。进入土壤中的动植物残体, 除各类不含氮有机物质外, 还有含氮有机物质。生物来源的含氮有机物主要是蛋白质, 还有核酸、尿素、尿酸、几丁质等。尿素作为土壤氮素的主要来源之一, 主要源于有机肥料如动植物组织的核酸降解产物。植物虽然可以直接吸收尿素, 但进到土壤中的尿素一般很快地被土壤中的细菌和土壤中的脲酶分解成为氨、二氧化碳和水。氨可以与土壤中碳酸盐结合产生碳酸铵。近年来, 研究显示土壤中细菌利用尿素产生氨不仅直接影响土壤中 N 源的循环利用, 并且可以用于酸化土质的改良。本文就土壤中细菌利用

尿素产生氨的生物学特征以及对农业的意义作一综述, 为深入研究利用土壤中尿素代谢, 给土壤提供 N 素营养, 满足植物生长对 N 素营养需求, 提高植物产量与品质, 促进农业生产和土壤 N 素肥力提供科学依据。

1 土壤中的脲酶

脲酶(E. C. 3. 4. 1. 5)在自然界中广泛存在。土壤微生物作为土壤生物系统能量循环的重要组成部分, 为土壤中脲酶的活性提供了主要来源^[1]。尿素在细菌脲酶的作用下快速分解产生氨, 二氧化碳以及 ATP^[2]。脲酶催化产氨是自然界三条微生物氮源代谢产氨的途径之一^[2-5]。研究发现土壤中有大

收稿日期: 2012-10-25

修回日期: 2012-11-16

资助项目: 国际重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2012CB416902)

作者简介: 王国兴(1987—), 男, 山东淄博人, 在读硕士研究生, 研究方向为植物水分与抗旱分子生物学。E-mail: wanggx_521@163.com

通信作者: 王渭玲(1962—), 女, 陕西渭南人, 博士, 教授, 主要从事药用植物生理生态方面的研究。E-mail: ylwyl@163.com

量的微生物具有产生尿素酶的能力,包括真菌,酵母菌,细菌,蓝细菌(cyanobacteria)和放线菌。尿素酶通过分解有机氮源对土壤培肥起到极其关键的作用。土壤中氮源的转化和利用与土壤中尿素酶密切相关;此外,土壤中尿素酶的活性直接影响到土壤中尿素肥料的使用,氮源挥发与过滤,以及环境中氮源污染^[6]。土壤中尿素酶活性的检测被认为是检测土壤质量以及衡量土壤肥沃程度的重要指标^[7]。

关于细菌尿素酶生物学特征以及分子调控机制在放线菌和链球菌中曾被深入研究^[2,8-10]。土壤中大量微生物均具有尿素酶活性,并作为一种细胞内酶的形式存在^[11]。目前,对土壤细菌尿素酶的研究主要集中于杆菌,如巴斯德氏芽胞杆菌(*Bacillus pasteurizing*),该菌具有较高尿素酶活性^[11]。研究发现巴斯德氏芽胞杆菌尿素酶的活性在 pH 8.0 的弱碱性环境活性较低,在 pH 5.0 的酸性环境酶活性显著增强^[12]。这种在酸性环境下尿素酶活性被诱导增强的表达方式在其他细菌,如唾液链球菌,内氏放线菌以及幽门螺杆菌也曾被检测到^[9,13-14]。从细菌生理学角度讲,细菌在酸性环境下尿素酶代谢有利于维持细菌自身酸碱平衡,尿素水解产生的 ATP 同时为细菌生长提供能量,因此尿素代谢被认为是细菌耐受酸性环境压力的重要生理机制^[15-16]。与唾液链球菌,内氏放线菌以及幽门螺杆菌等其他细菌尿素酶不同的是,巴斯德氏芽胞杆菌尿素酶不仅以自由形式存在,也可以结合的方式存在^[12]。Gianfreda 等人研究发现土壤中无机成分黏土,氧化铝,黏土有机复合物均能与尿素酶结合^[11,16]。此外,尿芽胞八叠球菌(*Sporosarcina ureae*)也是土壤中一种具有较高尿素酶活性的细菌,该菌为周生鞭毛的四联或八联球菌,细胞大小为 1.2~2.5 μm ,能形成芽胞(0.8~1.0 mm),这是唯一能形成芽胞的球菌。

2 影响土壤中尿素酶活性的因素

土壤样本中能够直接提取分离有活性的尿素酶,尿素酶可以与土壤的有机物或无机物相结合从而防止酶被降解。与其它细菌尿素酶类似,土壤中尿素酶的活性也同时受到多种因素的影响,这些因素包括土壤的化学特性,环境因素,尿素来源以及微生物间相互作用^[9,17]。土壤中尿素酶活性与细菌(包括放线菌,真菌和固氮细菌)组成比例和尿素酶活性均呈现随季节变迁呈周期性变化,从年季变化分析,四月最高,从七月开始下降至十二月最低,因此,Liu 等人提出土壤中细菌比例被认为尿素酶活性直接相关^[18]。McCarty 等人利用不同形式的氮源研究其对土壤中

细菌尿素酶活性的影响,发现具有生物活性的左旋丙氨酸、精氨酸、天冬酰胺酸、谷氨酸盐能够抑制土壤中尿素酶活性,右旋氨基酸和谷氨酸盐对土壤中尿素酶活性没有显著的抑制作用。因此,McCarty 等人提出土壤中细菌尿素酶的合成受全局氮源调节子调控^[19]。研究发现在土壤中加入有机成分能够有效的促进土壤中细菌生长以及土壤中尿素酶的活性,例如杀虫剂^[20-21]。最近,Yu 等人对使用杀虫剂百菌清(Chlorothalonil)后土壤中具有尿素酶活性的细菌和土壤尿素酶活性进行检测,研究发现第一次使用百菌清后,土壤中具有尿素酶活性的细菌如放线菌数量和土壤尿素酶活性明显下降,然而四次使用(21 d)后,土壤中具有尿素酶活性的细菌对百菌清出现耐受,并能对百菌清进行降解。因此,Yu 等人认为反复使用百菌清不会对土壤中具有尿素酶活性的细菌和土壤尿素酶活性造成影响^[22]。Tabatabai M 发现土壤中金属元素的含量可以抑制土壤尿素酶活性,包括铅和镉^[23]。Nourbakhsh 等人通过研究伊朗中部地区土壤发现,土壤中尿素酶的活性与土壤的湿润程度无明显的相关性;不同的土壤酸碱值,碳酸钙含量以及阳离子渗透程度对土壤中尿素酶活性也没有影响;但是土壤中尿素酶的活性与土壤中可分离的具有尿素酶活性的细菌含量呈明显的正相关,而与土壤的电流传导性呈负相关^[24]。

3 尿素代谢对于农业的意义

3.1 固氮作用

土壤中尿素酶的活性直接影响到土壤中尿素肥料的使用,氮源挥发与淋失,以及环境中氮源对环境的污染^[6]。土壤中尿素酶活性的检测被认为是检测土壤质量和土壤肥力的重要指标之一^[7]。在一些已知的具有尿素酶的土壤细菌中,一些氨氧化细菌(ammonia oxidizing bacteria—AOB),如亚硝化单胞菌,可以通过氧化氨或者其它尿素酶催化产物产生细菌生长所需能量,这一过程被成为固氮^[25]。AOB 细菌的氨氧化作用是生态系统中固氮的重要环节,其作用水平主要受到系统中氨水平的限制。

腐植酸是土壤中植物,动物和微生物等生物和化学降解产生的大分子复合物。腐植酸可以通过影响氮源的分布,生物供给以及有机氮的最终走向^[26]。研究发现腐植酸可以抑制土壤微生物群的组成比例和微生物数量,从而影响土壤尿素酶活性降低氮的产生,并且改变 AOB 细菌比例从而影响氨氧化作用最终影响固氮作用^[27]。

3.2 改良土质

在尿素酶的作用下,尿素分解产生的氨可以升高周围环境的 pH 值,引起环境中矿物离子(如钙离子和碳酸根离子)的沉积。土壤生物钙化是指在产碱细菌的诱导作用下土壤中钙盐沉积(Microbial induced calcium carbonate precipitation—MICP)^[28]。这一过程与细菌细胞浓度,离子强度以及 pH 值密切相关。将 MICP 用于改良土壤的机械特性,近年来受到了大量关注。Whiffin 等学者认为 MICP 可以增强砂质土壤的强度和持久度^[29]。与其它利用化学或者 cement grouting techniques 改良土壤的方法相比, MICP 对环境的污染更小^[30]。研究发现巴斯德氏芽胞杆菌尿素酶可以被土壤吸收固定,被吸收固定的细菌尿素酶稳定性增强。细菌尿素酶被土壤吸收固定的过程与土壤中氯化钠的浓度密切相关,此外,呈弱酸性的土壤更有利于细菌尿素酶的吸收固定^[11]。

3.3 土壤中其他产氮代谢

精氨酸脱氨酶是自然界微生物三条主要的产碱代谢之一,精氨酸在细菌精氨酸脱氨酶系统的作用下分解产生氨,二氧化碳,水和 ATP^[31-32]。然而,与其他植物与人的细菌相比,土壤中细菌利用精氨酸脱氨酶系统进行产氮通常被认为是一条很弱的产氮活性^[33-34]。2008年,Liu 等学者通过从西湖和无锡水渠的土壤中成功分离到 54 株具有精氨酸脱氨酶的活性的土壤菌株,通过 16S rDNA 测序分析鉴定所有分离株均属于假单胞菌属。其中 *Pseudomonas plecoglossicida* 菌精氨酸脱氨酶很高。研究发现具有高活性精氨酸脱氨酶的 *Pseudomonas plecoglossicida* 对人类肿瘤细胞 HEPG2 具有高度的抑制作用^[35]。此外,Williams 在利用蛋白组学的方法研究土壤细菌功能蛋白的作用以及随土壤环境因素变化所发生的功能变化时,发现在丙酮处理的土壤样本中,细菌精氨酸脱氨酶表达明显增高^[36]。因此,Williams 等学者提出土壤中细菌精氨酸脱氨酶在特殊的环境下可能成为土壤中重要的产氮固氮途径。

4 结语

土壤微生物区系和土壤酶活性是土壤肥力和农作物生产基础物质的重要基础^[37]。其中尿酶对土壤氮素转化和氮肥有效利用作用更大^[38-40]。本综述认为,土壤细菌利用尿素产氮不仅可以直接影响土壤中氮源的循环利用和土壤氮素肥力,并且可以酸化土质的改良。分析指出了土壤中细菌利用尿素产氮的生物学特征及分子调控机制。

同时,影响土壤尿素酶活性的壤的化学特性,环境

因素,尿素来源以及微生物间相互作用,土壤中尿素酶活性被认为是检测土壤质量和土壤肥力的重要指标之一,它与固氮作用、土壤改良和土壤中其他产氮代谢因素有着密切关系^[9,11,20-21]。土壤中尿素酶的活性对土壤氮素肥力评价和农作物生产具有重要意义。

参考文献:

- [1] Martens D, Bremner J M. Urea hydrolysis in soils: Factors influencing the effectiveness of phenylphosphorodiamidate as a retardant [J]. *Soil Biol. and Biochem.*, 1984, 16(5): 515-519.
- [2] Liu Y, Hu T, Zhang J, et al. Characterization of the *Actinomyces naeslundii* ureolysis and its role in bacterial aciduricity and capacity to modulate pH homeostasis [J]. *Microbiological Research*, 2006, 161(4): 304-310.
- [3] 刘娅玲. 牙菌斑中尿素代谢与微生态平衡 [J]. *国外医学:口腔医学分册*, 2003, 20(3): 201-203.
- [4] Liu Y, Burne R A. Multiple two-component systems of *Streptococcus mutans* regulate agmatine deiminase gene expression and stress tolerance [J]. *J. Bacteriol.*, 2009, 191(23): 7363-7366.
- [5] Liu Y, Zeng L, Burne R A. AguR is required for induction of the *Streptococcus mutans* agmatine deiminase system by low pH and agmatine [J]. *Appl. and Environ. Microbiol.*, 2009, 75(9): 2629-2637.
- [6] Cookson P, Lepiece A G. Urease enzyme activities in soils of the Batinah region of the Sultanate of Oman [J]. *J. Arid Environ.*, 1996, 32(3): 225-238.
- [7] Nannipieri P K, Ruggiero P. *Enzyme Activities and Microbiological and Biochemical Processes in Soil* [M] // *Enzymes in the Environment*. Dekker: New York, 2002.
- [8] Liu Y, Dan J, Hu T, et al. Regulation of urease expression of *Actinomyces naeslundii* in biofilms in response to pH and carbohydrate [J]. *Oral Microbiol. and Immunol.*, 2008, 23(4): 315-319.
- [9] Liu Y, Hu T, Jiang D, et al. Regulation of urease gene of *Actinomyces naeslundii* in biofilms in response to environmental factors [J]. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2008, 278(2): 157-163.
- [10] 刘娅玲, 胡涛, 张静仪, 等. 内氏放线菌尿素酶对牙菌斑生物膜酸碱平衡调节作用的初步研究 [J]. *上海口腔医学*, 2005, 14(6): 605-607.
- [11] Gianfreda L, Rao M A, Violante A. Adsorption, activity and kinetic properties of urease on montmorillonite, aluminium hydroxide and Al(OH)₃montmorillonite complexes [J]. *Soil Biol. Biochem.*, 1992, 24(1): 51-58.
- [12] Ciurli S, Marzadori S, Benini S, et al. Urease from the soil bacterium *Bacillus pasteurii*: Immobilization on Ca-polygalacturonate [J]. *Soil Biol. Biotech.*, 1996, 28(6): 811-817.

- [13] 刘娅玲,胡涛,张静仪,等. 影响内氏放线菌尿素酶活性相关因素的初步研究[J]. 四川大学学报: 医学版, 2007,38(4):675-677.
- [14] Liu Y, Hu T, Jiang D, et al. Analysis of urease gene expression by *Actinomyces naeslundii* in biofilm[J]. J. Dent. Res., 2006,85(B):315.
- [15] 刘娅玲,胡涛,周学东. 尿素水解对内氏放线菌增殖及耐酸力的影响[J]. 实用口腔医学杂志, 2006, 22(3): 145-147.
- [16] Burne R A, Liu Y, Zeng L. Acid tolerance strategies of commensal and pathogenic oral streptococci[C]// Society for General Microbiology Autumn 2010 Meeting, University of Nottingham, 2010.
- [17] Mobley H L, Hausinger R P. Microbial ureases; significance, regulation, and molecular characterization [J]. Microbiological reviews, 1989. 53(1):85-108.
- [18] Liu J, Guo L, Hao Y, et al. Ecological Distribution of Soil Microorganism and Activity Characteristic of Soil Enzymes in *Camellia Oleifera* Stands[R]// International Conference on Challenges in Environmental Science and Computer Engineering. 2010.
- [19] McCarty G, Shogren D R, Bremner J M. Regulation of urease production in soil by microbial assimilation of nitrogen[J]. Biol. Fertil. Soil s, 1992, 12(4): 261-264.
- [20] Zantua M I, Bremner J M. Stability of urease in soils [J]. Soil Biol. Biochem., 1977, 9(2):135-140.
- [21] Kandeler E, Gerber H. Short-term assay of soil urease activity using colorimetric determination of ammonium [J]. Biol. Fertil. Soils, 1988, 6:68-72.
- [22] Yu Y, Shan M, Fang H, et al. Responses of Soil Microorganisms and Enzymes to Repeated Applications of Chlorothalonil[J]. J. Agric. Food Chem., 2006, 54: 10070-10075.
- [23] Tabatabai M. Effects of trace elements on urease activity in soils[J]. Soil Biology and Biochemistry, 1977, 9(1):9-13.
- [24] Nourbakhsh F, Monreal C M. Effects of soil properties and trace metals on urease activities of calcareous soils[J]. Biol. Fertil. Soils, 2004, 40(5):359-362.
- [25] Marsh K, Sims G K, Mulvaney R L. Availability of urea to autotrophic ammonia-oxidizing bacteria as related to the fate of ^{14}C - and ^{15}N -labeled urea added to soil [J]. Biol. Fert. Soil, 2005, 42:137-135.
- [26] Lichtfouse E C C, Baudin F, Leblond C, et al. A novel pathway of soil organic matter formation by selective preservation of resistant straight-chain biopolymers; chemical and isotope evidence[J]. Organic Geochemistry, 1998, 28:411-415.
- [27] Dong L, Cordova-Kreylos A L, Yang J, et al. Humic acids buffer the effects of urea on soil ammonia oxidizers and potential nitrification[J]. Soil Biol Biochem, 2009, 41(8):1612-1621.
- [28] Chu J, ab, Stabnikova V, Ivanova V. Microbially Induced Calcium Carbonate Precipitation on Surface or in the Bulk of Soil[J]. ACI Mater J, 2012, 29(6): 544-549.
- [29] Whiffin V, van Paassen L A, Harkes M P. Microbial carbonate precipitation as a soil improvement technique [J]. Geomicrobiol. J., 2007, 24(5):417-413.
- [30] Le Metayer-Levrel G, Castanier S, Oriol G, et al. Applications of bacterial carbonatogenesis to the protection and regeneration of limestones in buildings and historic patrimony [J]. Sediment. Geol., 1999, 126(23/34).
- [31] Liu Y, Burne R A. The major autolysin of *Streptococcus gordonii* is subject to complex regulation and modulates stress tolerance, Biofilm formation, and Extracellular-DNA release[J]. J. Bacteriol., 2011, 193(11): 2826-2837.
- [32] Liu Y, Burne R A. Multiple two-component systems modulate alkali generation in *Streptococcus gordonii* in response to environmental stresses[J]. J. Bacteriol., 2009, 191(23):7353-7362.
- [33] Liu Y, Dong Y, Chen Y Y, et al. Environmental and growth phase regulation of the *Streptococcus gordonii* arginine deiminase genes[J]. Appl. Environ. Microbiol., 2008, 74(16):5023-5030.
- [34] Burne R, Zeng L, Ahn S J, et al. Progress Dissecting the Oral Microbiome in Caries and Health[J]. Adv. Dent. Res., 2012, 4(3):135-140.
- [35] Liu Y, Sun Z H, Ni Y, et al. Isolation and identification of an arginine deiminase producing strain *Pseudomonas plecoglossicida* CGMCC2039[J]. World J. Microbiol Biotechnol, 2008, 24:2213-2219.
- [36] Williams M, Taylor E B, Mula H P. Metaproteomic characterization of a soil microbial community following carbon amendment[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2010, 42:1148-1156.
- [37] 栾晓波,徐福利,汪有科. 施肥对山地红枣林土壤微生物区系及酶活性的影响[J]. 西北农业学报, 2012, 21(7):149-154.
- [38] 李慧杰,徐福利,林云. 施用氮磷钾对黄土丘陵区山地红枣林土壤酶与土壤肥力的影响[J]. 干旱地区农业研究, 2012, 30(4):54-59.
- [39] 王叔起,韩晓增,乔云发,等. 不同土地利用和施肥方式对土壤酶活性及相关肥力因子的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2009, 15(6):1311-1316.
- [40] 王灿,王德建,孙瑞娟,等. 长期不同施肥方式下土壤酶活性与肥力因素的相关性[J]. 生态环境, 2008, 17(2): 688-692.