硝化抑制剂 DMPP 应用研究进展及其影响因素

俞巧钢, 殷建祯, 马军伟, 邹平, 林辉, 孙万春, 符建荣*

(浙江省农业科学院 环境资源与土壤肥料研究所, 杭州 310021)

摘要:硝化作用是土壤氮素转化的关键过程之一,利用化学氮肥添加硝化抑制剂可有效调控土壤氮素的转化,提高农产品产量和品质,同时降低氮肥损失对大气和水体造成的污染。3,4-二甲基吡唑磷酸盐(3,4-dimethylpyrazole phosphate, DMPP)是一种对植物及土壤无毒无害的高效硝化抑制剂。在现有相关研究的基础上,结合国内外研究进展,回顾了国内外硝化抑制剂 DMPP 的研究历史与特性,通过综述 DMPP 对土壤硝化抑制作用的机理,全面评述了施用 DMPP 的环境效应和农学效应,重点阐述了影响 DMPP 在土壤中硝化抑制效果的影响因素,归纳了国内外当前的研究热点及取得的科研成果,并对未来的研究方向予以展望。

关键词:硝化作用;硝化抑制剂;DMPP;土壤氮素

中图分类号:S143.1 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2014)06-1057-10 doi:10.11654/jaes.2014.06.001

Effects of Nitrification Inhibitor DMPP Application in Agricultural Ecosystems and Their Influencing Factors: A Review

YU Qiao-gang, YIN Jian-zhen, MA Jun-wei, ZOU Ping, LIN Hui, SUN Wan-chun, FU Jian-rong*

(Institute of Environment Resource and Soil Fertilizer, Zhejiang Academy of Agriculture Sciences, Hangzhou 310021, China)

Abstract: Nitrification is a key process for soil nitrogen transformation. Applying nitrification inhibitor in chemical fertilizers is an effective way to control nitrogen transformation, improve yield and quality of crops, and reduce the atmosphere and water pollution caused by nitrogen loss. 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) is an efficient nitrification inhibitor with little inhibitory effects on plants and soil biota. In this paper, environmental effects, agriculture effects, and ecological effects and their influencing factors and mechanisms of nitrification inhibitor DMPP were comprehensively reviewed. The current hot topics and future prospects about DMPP research were also discussed.

Keywords: nitrification; nitrification inhibitor; DMPP; soil nitrogen

近年来,中国氮肥用量逐年增加,在农业生产经济效益提高的同时,施用氮肥引发的环境问题已日益受到关注。大量氮素离开土壤,进入大气和水体,造成大气和水体污染,而减少化肥投入和提高氮素的利用率是缓解大气及水体污染的有效途径^[1-4]。铵态氮易被土壤胶体固定不易随水流失,而硝态氮极易随水流失造成水体污染。硝化作用的存在加速了硝态氮随水流失的几率,硝化抑制剂可以调控土壤氮素的迁移转化,延长铵态氮在土壤中停留的时间,有效减少氮素

损失和提高氮素利用率^[4-9]。自 20 世纪 50 年代中期美国开展人工硝化抑制剂研究以来,硝化抑制剂得到了许多国家的广泛关注。以吡唑、嘧啶、吡啶、噻唑、硫脲和酰胺类化合物为主的硝化抑制剂不断被开发应用,其中德国政府批准 BASF 公司生产的名为 3,4-二甲基吡唑磷酸盐(DMPP)的硝化抑制剂,具有高效、无毒、稳定和专一的特点。本文回顾了硝化抑制剂 DMPP 的研究历史,并全面评述了 DMPP 的特性、作用机制、环境生态效益及农学效应,重点阐述了 DMPP 在土壤中施用效果的影响因素,以期 DMPP 在农业中合理应用和进一步研究提供理论基础。

1 硝化抑制剂 DMPP 的特性

硝化抑制剂是人们为了减少氮肥损失、提高肥料利用率而开发的一类抑制铵态氮转化为硝态氮的化

收稿日期:2013-10-08

基金项目:国家自然科学基金项目(31172030);国际科技合作项目(2011DFA911190);浙江省自然科学基金(Y3090180)

作者简介:俞巧钢(1973—),男,博士,副研究员,主要从事农业环境保护与污染控制相关研究。

E-mail:yqganhzzj@sina.com;yqghzzj@163.com

*通信作者:符建荣 E-mail:fujr@mail.hz.zj.cn

学或天然生物制剂。它对硝化细菌有一定的毒性,可以抑制某些硝化细菌的活性,从而抑制硝化作用发生的强度。美国、日本、前联邦德国、前苏联和印度等国在这方面做了很多工作,其中日本筛选的品种最多,商品化的也最多,如硫脲(Thiouretv)、2-胺-4-氯-6-甲基嘧啶(AM)、2-巯基苯并噻唑(MBT)、4-胺-1,2,4-三氮唑(ATC)和2-磺胺噻唑(ST)等^[10-11]。1962年Goring^[12]首次报道了硝基吡啶具有硝化抑制特性,但是直到1974年DOW化学公司才利用硝基吡啶开发出一种硝化抑制产品N-server并在农业上大面积推广使用。印度以天然资源作为抑制剂的研究较为突出,如凋落的茶叶、杨树叶和栗树叶都可以作为硝化抑制剂的原料^[13-15]。德国近几年不断地筛选新品种,发现并推广应用了一些高效抑制剂,其中DMPP只需在铵态氮肥或者尿素中添加1%的用量便可获得很好的硝化抑制效果^[5-9]。上世纪90年代初,中国科学院沈阳应用生态研究所解决了硝化抑制剂在铵态氮肥中添加的难题,为我国硝化抑制剂的研究与发展做出了巨大贡献^[13-14,16]。目前我国使用的硝化抑制剂有多个品种,其中2-氯-6-(三氯甲基)吡啶(Nitrapyrin)、双氰胺(DCD)和DMPP的应用与研究较多^[13-14,16]。

DMPP是英文名3,4-dimethylpyrazole phosphate的缩写,其商品名称为ENTEC^[16]。它是一种灰白色的粉状物质,分子量为194.2,熔点165℃,密度1.51 g·cm⁻³(20℃),水中溶解度为132 g·L⁻¹,pH为2.5~3.0,蒸汽压小于10⁻⁴ Pa(20℃)^[17]。DMPP可以和铵态氮肥及能产生铵态氮的酰胺态氮肥尿素等混合使用,只需少量就可以达到明显的抑制效果^[18]。目前已在德国化学药品法案中注册,并且在澳大利亚、比利时、法国、德国、意大利、西班牙和新西兰等多个国家的肥料施用法案中注册使用^[19]。

与目前市场上普遍应用的硝化抑制剂相比,DMPP拥有诸多优点,如对农作物无毒害,对土壤无污染,对人无刺激性等,但其最大的优点就是硝化抑制作用时间长且用量少,硝化抑制效率高。这是由于DMPP易被土壤胶体所吸附,在土壤中迁移的速度慢,不易被水淋洗^[17-19]。Azam等^[20]的培养试验表明,肥料颗粒与DMPP在25℃湿土中培养24h后,肥料颗粒已不再完整,而DMPP则未受到影响;10d后DMPP仍停留在0~5cm范围。用¹⁴C标记的DMPP在培养5个月后仍有42%的DMPP停留在0~30cm的范围;15个月后,39%的DMPP停留在0~10cm范围,7.3%停留在10~20cm范围,4.9%停留在20~30cm范围。这

充分证明DMPP在作物的整个生长期内都可以产生硝化抑制效果。

2 DMPP的作用机制

当氨或者铵盐被施入土壤后会发生硝化作用,即铵态氮在微生物的作用下被氧化为硝态氮。硝化作用大致可以分为两个步骤:第一步为氨氧化细菌将NH₄⁺氧化为NO₂⁻,中间产物为NH₂OH,N₂O由这一步产生;第二步为NO₂⁻被亚硝酸氧化细菌氧化为NO₃⁻^[21]。这两步反应只要有一步受到抑制,整个反应就会被抑制。现在的研究普遍认为,硝化抑制剂DMPP是通过抑制硝化反应的第一步来发挥硝化抑制作用的^[22]。

DMPP及许多硝化抑制剂都是通过影响微生物的活性来达到抑制目的,其抑制途径主要有^[23]:

(1)通过抑制硝化细菌的呼吸作用来影响其繁殖速率和活性。一些硝化抑制剂中的有毒物质,破坏了微生物呼吸作用中电子传递链及细胞色素氧化酶的活性,从而使亚硝酸氧化细菌无法进行呼吸作用,进而抑制亚硝酸氧化细菌的繁殖^[24]。

(2)通过影响氨单加氧酶(Ammonia monooxygenase,AMO)的活性来抑制硝化反应的进行。其一是通过螯合AMO活性位点的金属离子干扰AMO的活性,从而抑制硝化进程中氨氧化的强度。在硝化反应的第一步,铵态氮在氨氧化细菌(Ammonia oxidizing bacteria,AOB)的作用下被氧化为亚硝态氮,AMO作为AOB的一种胞内酶——可催化氨氧化成羟胺,为该微生物提供能量^[25],而AMO是活性位点上含有Cu的酶^[26],所以能够与Cu发生螯合反应的物质都能阻碍AOB对氨的氧化^[27-28]。其二是通过影响AMO底物来阻碍硝化反应的进行。AMO具有较为广泛的底物专性,除了能氧化氨中的N-H键外,还能氧化芳基中的C-H键、烷基(烃基)中的C-H键和C=C键,以及断裂的C-O-C键,并可催化氧化乙硫醇为亚砷;AMO能以甲烷、硫、脂肪族、芳香族、卤代化合物、苯酚等40多种化合物为底物,与氨竞争AMO的活性位点,同时还可与氨竞争还原剂,从而抑制土壤硝化作用的进行^[29-31]。其三是通过改变AMO的结构来抑制硝化反应^[32]。Carty等^[33]认为,这种抑制剂是指通过形成可与多肽或蛋白质结合的活性更高的具有硝化抑制作用的产物来抑制酶的正常催化反应的化合物,其作用方式一般为共价修饰,通过与AMO有关的蛋白质形成共价键,进而对AMO产生不可逆转的灭活作用。由于该类型抑制剂对AMO活性的钝化是对有机体中

蛋白质的共价修饰造成的,AMO 活性的恢复需要蛋白质的重新合成^[34]。

(3)通过改变土壤微域环境来抑制微生物的繁殖。硝化细菌喜欢弱碱性条件,一些硝化抑制剂可以降低土壤的 pH 从而抑制硝化细菌的生长^[23]。

(4)通过影响土壤氮的矿化和固持过程而对土壤硝化过程表现出抑制作用^[23]。原因是当土壤微生物利用该化合物作为碳源时引起矿质氮的固持而实现硝化抑制,如单萜等萜(烯)类化合物,这是对 AMO 的一种非竞争性抑制^[25]。

DMPP 施入土壤后会对土壤微生物的活性、种群结构和数量产生影响。传统上人们认为氨氧化细菌是氨氧化过程的主要参与者,所以目前都认为 DMPP 是通过抑制氨氧化细菌的活性来抑制硝化反应进行的^[36-38]。Kleineidam 等^[39]利用含有大量氨氧化细菌和氨氧化古菌的农业土壤进行试验,观察 DMPP 对这两种菌的影响,结果发现在两周的时间内氨氧化细菌遭到了严重的破坏,而氨氧化古菌没有受到影响,8 周后情况并未发生改变,可认为 DMPP 只对氨氧化细菌起作用,而对氨氧化古菌无效。Li 等^[40]利用水稻和油菜轮作进行两年田间试验,3 个处理分别为单施尿素、尿素与 1% 的 DMPP 混施及不施肥,结果发现与单施尿素相比,DMPP 与尿素混施的稻田两年内氨氧化细菌、硝酸还原酶和亚硝酸还原酶分别减少了 24.5%~30.9%、14.9%~43.5% 和 14.7%~31.6%,而亚硝酸氧化细菌和羟胺还原酶的数量没有明显的变化。这也进一步证明 DMPP 是通过抑制氨氧化细菌的活性来产生抑制效果的。

3 DMPP 的环境效应

3.1 对 N₂O 和 CH₄ 等温室气体排放及氨挥发的影响

N₂O 释放损失是农田氮损失的重要途径。N₂O 是一种温室气体,也是一种能破坏臭氧层的气体。大气中 N₂O 浓度每增加一倍将导致臭氧层减少 10%,从而使紫外线向地球辐射增加 20%^[41]。化学氮肥施入土壤中短期内会引起土壤 N₂O 释放量的增加^[42]。这样不仅会造成氮肥的损失,还会对大气造成严重污染。据专家计算,农业生产每年向大气排放的 CH₄、N₂O、CO₂ 等温室气体分别占全球总排放量的 40%、70% 和 40%。Weiske 等^[43-45]通过 3 年的田间试验来比较 DMPP 与 DCD 对 CH₄、N₂O、CO₂ 等温室气体释放的影响,结果显示,DMPP 和 DCD 的施用可使农田土壤 N₂O 年均排放量分别减少 49% 和 26%,CO₂ 排放量减少 28% 和 7%,草地土壤 N₂O 排放量减少 40%~60%,

但是它们均对烷氧化物的释放量无影响,DMPP 每年能够降低全球变暖潜能值 30%。Dittert 等^[46]利用 ¹⁵N 标记的泥浆进行土壤培养试验,结果显示每公顷农田添加 2 kg DMPP 可减少 32% N₂O 的释放量。DMPP 能够有效减少 N₂O 的排放,一方面是由于 DMPP 延缓了土壤铵态氮向硝态氮的转化过程,进而减少了土壤反硝化作用的底物来源;另一方面是施用 DMPP 后可间接减少施肥次数,从而减少 N₂O 的释放^[23,32,43]。DMPP 能够减少 CO₂ 的释放,可能是因为 DMPP 减少了土壤有机碳的矿化而减少了土壤碳的分解^[23,32,43]。在实验室培养条件下 DMPP 可减少 19%~95% 的 N₂O 排放,野外田间试验表明能减少 20%~72% 的 N₂O 排放。在培养试验的有机肥中添加 DMPP 后,N₂O 的排放量从 64% 降为 9%^[49]。定位试验研究表明,农田和草地施用 DMPP 可减少 20%~61% 的 N₂O 排放量。3 年褐土田间试验表明,DCD 平均减少了 26% N₂O 释放量,而 DMPP 平均减少了 49% N₂O 释放量^[43,50-53]。此外,DMPP 还使土壤中残留的 N₂O 量减少了 61%^[43]。与其他硝化抑制剂相比,DMPP 减少 N₂O 释放的作用效率更高。DMPP 对 CH₄ 排放的影响目前报道不一,有研究表明 DMPP 能抑制 24%~55% 的 CH₄ 排放^[48],也有研究指出 DMPP 对 CH₄ 排放没有影响,在室内培养时甚至表现为促进 CH₄ 的排放^[49]。

硝化抑制剂的使用提高了土壤中铵离子的浓度,DMPP 对硝化作用的抑制可能导致铵态氮肥或尿素更多以氨形式挥发损失^[17,47]。DMPP 对氨挥发释放的作用主要依赖于土壤的理化特性(尤其是土壤 pH),在土壤中施入含 DMPP 产铵态氮肥之后,土壤中的氮主要以铵态氮形式存在,若土壤呈碱性,氨就很容易挥发。俞巧钢等^[47]研究了含 DMPP 硝化抑制剂的尿素氨挥发损失状况,结果表明随着 DMPP 尿素施用量的增加,土壤氨挥发损失量呈显著上升的趋势,配施低 C/N 比的有机物鸡粪使氨挥发损失增加 6.0%,而配施高 C/N 比的生物秸秆可使其损失减少 78.2%。尿素和硫硝酸铵的氨挥发损失分别为 25.7% 和 18.6%,而添加 DMPP 抑制剂后,尿素和硫硝酸铵的氨挥发损失相应增加 1.9% 和 2.0%;污泥和污泥添加 DMPP 处理氨挥发分别为 7.8% 和 11.0%,但差异均不显著^[54]。多数情况下氮肥中添加 DMPP 氨挥发损失增加,但差异不显著,在特定条件下则可减少氨挥发^[54-57]。也有研究表明,DMPP 并没有导致高浓度的氨挥发损失,反而比其他硝化抑制剂更能抑制氨的挥发^[50]。脲酶抑制剂可以有效抑制土壤中尿素氮的转化,避免土壤中出现过

高铵态氮浓度,从而减少氨挥发。采用脲酶抑制剂与硝化抑制剂协同使用,有效减少了土壤氨挥发损失^[47,58]。土壤 pH、CEC、水分含量、环境温度以及有机物料的 C/N 值等对 DMPP 氮肥的氨挥发损失有较大的影响。在农业生产上,因地制宜,综合考虑当地的环境温度及土壤特性,采用合理的施肥配合恰当的水分管理,对提高 DMPP 的应用效果,减少稻田氨挥发损失、减轻对大气及水环境间接污染有重要意义。

3.2 对硝态氮淋洗及径流损失的影响

化学氮肥施入土壤后很容易以硝态氮的形式随水流失,这是肥料利用率低的主要原因之一。硝态氮的淋洗会对水体造成污染,这是现阶段全球范围内最主要的环境问题之一^[59]。硝态氮含量过高会造成水体富营养化,严重时会对牲畜和人类造成危害^[60]。延缓铵态氮在土壤中被微生物氧化为硝态氮,是减少硝态氮被淋洗的有效途径,目前使用最多的方法之一就是利用硝化抑制剂来抑制硝化作用的发生^[61]。DMPP 可以维持土壤中的氮素以铵态氮的形态存在,增加氮素被植物体吸收利用的几率而减少淋洗的发生。Li 等^[40]研究发现,两年内 DMPP 与尿素混施比单独施用尿素的农田硝态氮淋溶量分别减少 44.9%和 47.3%,同时铵态氮含量分别增加 20.5%和 19.1%。添加 1%DMPP 与不添加 DMPP 的尿素相比,在 60 d 内能有效抑制土壤铵氧化反应的发生,显著降低 20 cm 以上耕作层土壤中硝态氮和亚硝态氮的浓度,深层土壤中硝态氮的浓度显著低于未加 DMPP 的处理,明显降低硝态氮垂直迁移的淋溶损失^[62-63]。Chaves 等^[64]向蔬菜作物残渣中添加 DMPP 和 DCD 来比较两种硝化抑制剂对氮素迁移的影响,结果显示,与空白相比,施加 DCD 的处理平均减少硝态氮淋洗 45%,施加 DMPP 的处理平均减少硝态氮淋洗 64%,并且 DMPP 不会影响到氮的矿化作用。总体来看,DCD 的抑制效果可以持续 50 d,DMPP 的抑制效果可以持续 95 d。因此,DMPP 可有效降低硝态氮的积累和被淋洗的风险。由于硝化抑制剂的施用显著降低了硝酸盐的淋溶损失,根据溶液等电荷平衡原理,一些土壤阳离子如 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的淋溶损失也会相应降低。土壤中盐基离子淋失量的降低,可能正是硝化抑制剂的施用导致植株对盐基离子吸收量增加以及土壤 pH 升高的重要原因之一^[23,62,65]。

硝态氮随地表径流流失是坡地及水田中氮素流失的主要途径之一。DMPP 通过抑制铵态氮的氧化极大地降低了硝态氮随地表径流水流失的风险,并且提高了一些喜好铵态氮的淹水作物对氮素的利用率。俞

巧钢等^[6]利用杭嘉湖地区典型的小粉土及青紫泥进行水稻盆栽试验,考察了 DMPP 对水稻田田面水氮素转化及地表径流流失潜能的影响,结果显示,与常规施用尿素相比,添加 DMPP 的两种土壤,田面水铵态氮浓度分别增加了 24.8%和 16.7%,硝态氮浓度降低了 47.7%和 70.9%,亚硝态氮浓度降低了 90.6%和 88.9%,总无机氮浓度下降了 13.5%与 23.1%,能显著降低氮素流失的几率,DMPP 还可以使田面水的电导率下降,进而降低盐基离子随农田排水或暴雨径流流失的风险。在 DMPP 硝化抑制的作用下,土壤中存在大量的铵态氮,有效促进了农作物对其吸收,同时土壤胶体又能高效吸附铵态氮减少其流失,降低硝态氮的径流损失。模拟降雨试验研究表明,DMPP 可显著降低菜地土壤硝态氮和亚硝态氮的地表径流损失^[66]。DMPP 在减少氮素径流损失方面效果显著,可有效地实现农业面源污染的源头控制。比较不同土壤应用效果发现,相对于小粉土,青紫泥具有更好的吸附性及较高的 CEC 值,因此对铵态氮的吸附能力更强,就减少氮素径流损失方面来看,DMPP 用于青紫泥的效果更加显著^[23,46,66]。

4 DMPP 对作物产量与品质的影响

DMPP 施入土壤明显提高了植物体对氮的吸收利用率,至于其是否可以提高农产品的产量,现有研究结果不一。但大部分的研究结果都表现为施加 DMPP 可以显著提高叶片、茎秆和根系中氮的累积量和干物质产量^[17,67-69]。Pasda 等^[67]利用欧洲西部和南部的 161 个样地进行田间试验来评估 DMPP 对不同作物产量的影响,结果表明 DMPP 可以使冬小麦、水稻、玉米、土豆、甜菜、胡萝卜、生菜、洋葱、大萝卜、菜花、青蒜和芹菜分别增产 0.24、0.43、0.24、1.9、0.24、1.9、2.6、1.0、4.6、2.3、3.1、1.9 t·hm⁻²。这表明 DMPP 对很多作物尤其是块根类作物有明显的增产效果。然而,也有学者认为 DMPP 对农产品没有明显的增产效果^[68]。Carrasco 等^[68]向有机和无机肥料中加入 DMPP,来验证 DMPP 是否可以提高玉米和小麦的产量,结果显示 DMPP 确实增加了土壤中铵态氮的百分比,提高了植物体对氮的吸收利用率,但是并没有增加作物的产量。从现有研究来看,DMPP 对不同作物在不同条件下的增产效果存在一定的差异性。但是无论如何,施加 DMPP 至少不会引起作物减产。伍少福等^[70]采用田间试验研究了含 DMPP 复合肥对西瓜和黄瓜生长与品质的影响,表明含 DMPP 复合肥可以使西瓜产量提高 6.50%~44.55%,黄瓜产量提高 8.40%。当铵态氮和

硝化抑制剂一起施用,土壤中铵态氮可长时间地保持着较高浓度,便于作物对铵态氮的有效大量吸收。

一些农产品尤其是叶菜类农产品,容易累积硝态氮,而硝态氮是强致癌物亚硝胺的前体物质,也是决定农产品品质的重要指标,因为人类长期食用硝态氮含量超标的农产品会对健康产生不良的影响。DMPP可以使氮以铵态氮的形式被植物吸收,减少硝态氮在植物体内的积累,改善农产品品质。Pasda 等^[67]的研究表明,施用 DMPP 后叶菜类和土豆中的硝酸盐含量明显低于单施肥料的处理,并且一些叶菜的颜色明显变得更加深绿,甜菜、马铃薯等淀粉含量提高。在添加 DMPP 的情况下,当施氮水平为 $150 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时,菠菜叶内的硝态氮含量下降了 40.96%;当施氮水平为 $200 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时,菠菜叶内的硝态氮含量降低了 25.85%,显著降低了菠菜叶的硝酸盐含量^[70]。施用含 DMPP 复合肥,西瓜硝酸盐含量降低了 2.42%~10.70%,黄瓜硝酸盐含量降低了 27.44%,并且西瓜、黄瓜的糖分、可溶性固形物、Vc、氨基酸、氮素等含量都明显提高^[69]。日光温室种植芹菜试验表明,与普通复合肥相比,施用 DMPP 复合肥可降低芹菜可食部分硝酸盐含量,提高 Vc、游离氨基酸、可溶性糖及氮、磷含量^[71]。包心菜和小青菜施用 DMPP,包心菜硝态氮降低 9.4%~7.3%,小青菜可食部硝态氮降低 13.8%~19.1%^[72-73]。DMPP 对作物品质的不利影响主要是降低了部分作物的粗蛋白浓度,这可能与生物产量提高引起的浓度稀释效应有关^[17-18]。

5 DMPP 硝化抑制作用效果的影响因素

DMPP 的作用效果存在一定的波动性,在不同的环境条件下其作用效果表现出一定的差异。DMPP 硝化抑制效率的高低、有效作用期长短及施用效果,均受到 DMPP 施用水平、土壤质地、环境温度、土壤水分、土壤过氧化氢酶活性、土壤酸碱状况等多因素的共同影响^[47,77];作物栽培与耕作管理方式亦影响其抑制作用效果。即 DMPP 的硝化抑制作用效果不是由某个因素单独决定的,而是多个因素综合作用的结果。

5.1 添加水平

DMPP 的用量和施用形式是影响 DMPP 作用效果的重要因素。研究表明,DMPP 施用量为 $0.5\sim 1.5 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 时,就可使土壤硝化抑制时间在田间条件下持续 4~10 周,当 DMPP 在田间土壤中均匀分布时, $0.39 \mu\text{g DMPP} \cdot \text{g}^{-1}$ 土就可以起到显著的硝化抑制效果^[20]。通常情况下人们认为,以氮素的 1%作为 DMPP 的添加量

为最优用量^[17,74-75]。如果再增加 DMPP 的用量,其抑制效果不会有太大的改善^[74]。殷建祯等^[75]采用土壤恒温培养试验,研究了单施有机肥条件下不同 DMPP 添加水平对土壤中有机氮素转化及硝化抑制效应的影响,表明单施有机肥条件下,DMPP 可明显抑制土壤硝化反应的进程,施用有机肥模式下 DMPP 添加量以氮素含量的 1%~2%较为适宜。Barth 等^[76]的研究表明,当肥料中 DMPP 的用量提高 10 倍时,其抑制效果并未发生变化,而且固体颗粒的 DMPP 要比液体的 DMPP 抑制效果好。这可能是由于固体 DMPP 可以在土壤局部范围内制造一个高浓度的铵态氮和 DMPP 含量,这个浓度要远远高于液体 DMPP 所能达到的范围,从而有效地保护了铵态氮,避免其被氨氧化细菌氧化。

5.2 土壤质地

土壤质地被认为是影响 DMPP 作用效果的最重要的因素。一般情况下土壤质地越轻,其抑制效果越强烈,但是作用时间也越短,而土壤质地越粘重作用时间越长。Barth 等^[76]的研究表明,在短期内疏松的土壤中 $\text{NO}_2\text{-N}$ 的减少量要多于质地粘重的土壤,说明 DMPP 在质地疏松的土壤中可有效抑制铵态氮的氧化。而在长期的试验中,在同为 20%土壤含水量的条件下,DMPP 在壤土中的抑制效果要好于沙壤土。这是因为在这样的含水量条件下,壤土中的基质势低于 -600 kPa ,使得 DMPP 在壤土中分解缓慢,而沙壤中的基质势高于 -5.8 kPa ,使 DMPP 容易分解。较低的分速度,降低了微生物接近铵态氮的几率,致使 DMPP 在壤土中的作用效果要好于沙壤^[74]。DMPP 在不同质地土壤上的抑制效果存在较大差异,原因主要在于土壤粘粒对 DMPP 的有效吸附,进而控制土壤微域点位的硝化进程,高粘粒和粉粒含量的土壤使 DMPP 被强烈吸附,DMPP 在土壤中不易均匀分布,硝化作用受到的抑制较弱^[23,47,77-79]。

5.3 土壤有机质

土壤有机质对硝化抑制剂的吸附可以减少抑制剂的挥发损失量,有利于抑制剂在土壤中的存留,但同时使硝化抑制剂受到了非生物学保护,从而在一定程度上降低其生物活性。此外,土壤有机质对硝化抑制剂的吸附与有机质的组成成分及抑制剂本身的极性有关^[18,47,77]。Zhu 等^[80]研究土壤有机质对森林土壤中铵态氮和硝态氮形态维持的影响,结果表明土壤铵态氮的含量与土壤有机质含量呈正相关。薛妍等^[77]认为土壤有机质去除后土壤中保持高的铵态氮和低的硝态氮含量,原因可能与去除有机质后,土壤比表面积

急剧增大、土壤表面电荷密度减小、土壤中铵态氮吸附量降低有关^[81]。此外, 氨氧化细菌和氨氧化古菌在农田土壤铵态氮氧化进程中发挥重要的作用^[82], 而土壤有机质含量高低可影响氨氧化古菌和氨氧化细菌的种群组成, 且氨氧化古菌数量与易分解有机质含量呈明显正相关, 所以有机质的去除也可导致氨氧化作用程度发生下降^[83]。由于有机质对硝化作用的影响还与有机质的组成成分及比例有关^[84], 土壤有机质作为微生物的能源及碳氮源物质会提高微生物的生物活性, 有机质含量较高的土壤, 微生物活性一般较强, 从而使微生物对硝化抑制剂的降解加快^[77]。所以去除有机质可显著降低 DMPP 的降解率, 延长 DMPP 的作用时间, 进而延缓土壤硝化作用强度。不同的有机质组分会影响土壤硝化菌群的组成和数量水平, 进而影响抑制剂对硝化反应抑制作用的发挥^[37, 85]。

5.4 土壤温度

土壤环境温度是影响 DMPP 抑制效果以及有效抑制作用时间长短的重要因素之一^[37, 47, 56-57, 65]。室内实验培养表明, 温度对 DMPP 的有效性有着显著影响, 10 °C 时 DMPP 能稳定铵态氮长达 100 d 以上, 20 °C 和 30 °C 时硝化作用加速, 使铵态氮的半衰期分别降为 18、8 d, 铵态氮消失加快^[37, 47]。在 5~15 °C 和含水量 40%~60% 时, DMPP 在粘壤土中硝化抑制作用时间达 42 d^[36, 56]。2~14 °C (平均 7 °C) 时, DMPP 在粉质壤土中有效控制蔬菜残体硝化作用的时间为 95 d^[64]。殷建祯等^[5, 47]采用好气恒温土壤培养试验, 研究环境温度对有机无机氮肥配施模式添加 DMPP 的硝化抑制效果的影响, 60 d 时 15 °C 处理铵态氮含量比 25 °C 处理高 56 倍, 硝态氮含量低 18 倍, 低温环境有利于 DMPP 对硝化进程的抑制。随着温度的升高, DMPP 的有效抑制时间逐渐缩短, 原因在于温度升高可加速 DMPP 在土壤中的移动, 同时铵态氮在土壤中的移动也随着温度升高而加快^[20, 47]。而铵态氮在土壤中扩散能力比 DMPP 移动能力要强, 当两者之间距离超过 DMPP 作用范围 30 mm 左右时, DMPP 抑制作用就会明显减弱^[20]。另一方面, DMPP 的抑制效果随着温度的升高而降低, 还可能是因为高温增加了微生物的活性, 加速了 DMPP 在土壤中的降解^[17, 47]。

5.5 土壤湿度

土壤环境条件不同, DMPP 的作用效果也不同。土壤水分含量对 DMPP 抑制效果的影响较为复杂^[47, 77]。在一定的范围内, 土壤湿度越大, DMPP 的作用效果就越明显。这可能是由于高湿度增加了土壤的基质

势, 减少了土壤对 DMPP 的吸附, 使得 DMPP 易在土壤局部形成高浓度区域, 保护铵态氮不被氧化^[76]。在土壤湿度较高, 硝酸盐十分容易随水流淋失的环境下, DMPP 在砂土中的硝化抑制效果较强^[67, 70, 76]。土壤水分含量升高, 促进 DMPP 在土壤中发生移动, 由于铵态氮的扩散比 DMPP 的移动要快, 当两者之间的距离超过 DMPP 硝化抑制作用范围时, 其抑制效果就明显减弱^[20]。对含 DMPP 的铵态氮肥试验表明, 土壤含水量升高能促进 DMPP 和硝态氮在土壤中的移动, 但对铵态氮的移动性无显著影响, 铵态氮含量与 DMPP 含量呈显著正相关^[20]。在砂壤土中, 高含水量会使 DMPP 的吸附量减少, 有效性增加^[74]。Azam 等^[20]培养试验表明, 18% 和 24% 土壤含水量处理 10 d 后, 有 80% DMPP 在施入处未发生移动。Barth 等^[76-77]的研究认为, 40% 田间持水量条件下 DMPP 的硝化抑制效果最佳。DMPP 的硝化抑制效果随土壤含水量降低而增加, 其原因可能是在一定土壤含水量范围内, 土壤硝化作用强度与土壤含水量呈正相关^[87]。Fettweis 等^[86]采用 ¹⁴C 标记 DMPP 侧渗发现, DMPP 的侧渗量不超过 0.1 μg·L⁻¹, 并认为土壤含水量对 DMPP 硝化效果的影响是通过影响其在土壤中的降解速度, 而不是通过影响其分布和迁移状况而实现的。

5.6 土壤酸碱度

在一定 pH 范围内, 随土壤 pH 值升高 DMPP 的硝化抑制效果下降。短期培养试验证明, 土壤氢离子浓度是影响 DMPP 抑制作用的重要因素之一^[76]。在 pH 为中性的土壤中连续 3 年施加 DMPP 的试验表明, 田间作物每个生长季结束后都有一定的 DMPP 残留, 完全降解时间长达 5 个月^[43]。石灰性土壤中施入 DMPP 的硝化抑制效果也较为明显, 可使硝化过程延滞 35~39 d^[88]。殷建祯等^[9]采用不同类型土壤研究表明, 60 d 时红壤 (pH4.08) 中铵态氮含量分别是小粉土 (pH7.18) 和青紫泥 (pH5.89) 的 30 倍与 31 倍, 而硝态氮含量仅为二者的 55.7% 与 33.6%, DMPP 在红壤中的作用时间较在青紫泥与小粉土中更持久。通常, pH 较高的土壤中硝化活性较高, 因而有利于 DMPP 作用效果的发挥, 但弱碱性的环境使土壤中微生物的活性也较高, 氨氧化细菌活性增强, 又会使 DMPP 的作用效果受到影响, 导致土壤中铵态氮含量降低^[76-77, 89-91]。土壤 pH 的变化首先影响土壤 DMPP 的保持, 而间接影响土壤中硝化作用过程。改变土壤体系的 pH 可以得到 DMPP 不同的降解速率常数, 土壤 pH 对 DMPP 的影响可能是通过影响其吸附行为实现的^[77]。

5.7 土壤酶活性

土壤过氧化氢酶活性对 DMPP 抑制效果的发挥有较大的影响^[47,76]。过氧化氢酶和 DMPP 在土壤表面具有相似的结合行为,两者都易于被土壤粘土矿物吸附,具有相同的吸附位点,表现为竞争吸附^[76]。因此土壤过氧化氢酶活性直接影响 DMPP 的施用效果,当土壤过氧化氢酶活性增加时,DMPP 抑制效果降低^[47,76]。

6 展望

施肥是增加作物产量提高经济效益的重要手段,然而施肥过量不仅达不到最理想的经济收益,而且会引起农业面源污染等环境问题。DMPP 作为一种高效的硝化抑制剂,能够有效降低氮肥损失,提高肥料利用率,减少环境污染,提高农产品品质等。这已被很多研究所证实,但如何发挥其最优的抑制效果还有待进一步研究。对 DMPP 作用机理的研究大都采用常规的微生物培养方法,很有必要采用变性梯度凝胶电泳(DGGE)、末端限制性酶片段长度多态性分析(T-RFLP)、RT-PCR(实时定量-PCR)等现代生物技术手段从分子水平上进一步深入探究 DMPP 作用的深层生理生化机制与影响因素。DMPP 对减少氮素损失的效应显著,现有研究大多从单一的淋失、径流、气态损失等方面开展评价,而缺乏对其减少氮素损失的综合环境效应的全方位研究。有机肥与无机肥配合施用,是培肥和维持土壤肥力的重要途径。在我国大力推广有机无机配合施肥的今天,加强 DMPP 抑制剂对减少有机无机平衡施肥模式下土壤氮素尤其是有机氮素流失量和温室气体排放效应及作用机制的研究显得尤为重要。另外,DMPP 对土壤微生物以及一些酶类的影响效果还不够明确,尤其是在 DMPP 抑制 N₂O 等温室气体排放的深层机制上存在一些分歧,解决这些问题需要更深入的研究。硝化抑制剂的施用,提高了土壤中铵态氮的浓度,致使氨挥发有所加重,如何降低施用硝化抑制剂后氨挥发增加的负效应也有待进一步开展。

参考文献:

- [1] 中国农业部. 2010 年中国农业统计资料[M]. 北京:中国农业出版社, 2011.
Chinese Ministry of Agriculture. China agricultural statistics[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2011.
- [2] 马国霞, 於方, 曹东, 等. 中国农业面源污染物排放量计算及中长期预测[J]. 环境科学学报, 2012, 32(2): 489-497.
MA Guo-xia, YU Fang, CAO Dong, et al. Calculation of agricultural non-point source pollution emission in China and its long-term forecast [J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2012, 32(2): 489-497.
- [3] 杨林章, 冯彦房, 施卫明, 等. 我国农业面源污染治理技术研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2013, 21(1): 96-101.
YANG Lin-zhang, FENG Yan-fang, SHI Wei-ming, et al. Review of the advances and development trends in agricultural non-point source pollution control in China[J]. *Chinese Journal of Eco-Agriculture*, 2013, 21(1): 96-101.
- [4] 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.
ZENG Hou-qing, Zhu Yi-yong, Wang Huo-yan, et al. Biological nitrification inhibitor: A new strategy for controlling nitrogen loss from farmland[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2012, 49(2): 382-388.
- [5] 殷建祯, 俞巧钢, 符建荣, 等. 不同作用因子下有机无机配施添加 DMPP 对氮素转化的影响[J]. 土壤学报, 2013, 50(3): 144-153.
YIN Jian-zhen, YU Qiao-gang, FU Jian-rong, et al. Effects of combined application of organic and inorganic fertilizers plus DMPP on nitrogen transformation in soils as affected by different factors[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2013, 50(3): 144-153.
- [6] 俞巧钢, 陈英旭. DMPP 对稻田田面水氮素转化及流失潜能的影响[J]. 中国环境科学, 2010, 30(9): 1274-1280.
YU Qiao-gang, CHENG Ying-xu. Influences of nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate on nitrogen transformation and potential run off loss in rice fields[J]. *China Environmental Science*, 2010, 30(9): 1274-1280.
- [7] 孙志梅, 张阔, 刘建涛, 等. 氮肥调控剂对潮褐土中不同氮源氮素转化及油菜生长的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(9): 2497-2503.
SUN Zhi-mei, ZHANG Kuo, LIU Jian-tao, et al. Effects of nitrogen regulators on fertilizer nitrogen transformation in meadow cinnamon soil and on pakchoi growth[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(9): 2497-2503.
- [8] 俞巧钢, 陈英旭. 尿素添加硝化抑制剂 DMPP 对稻田土壤不同形态矿质态氮的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(7): 1357-1363.
YU Qiao-gang, CHENG Ying-xu. Effect of the urea with nitrification inhibitor DMPP addition on different form nitrogen transformation in rice fields[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2011, 30(7): 1357-1363.
- [9] Yu Q G, Cheng Y X, Ye X Z, et al. Evaluation of nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate on nitrogen leaching in undisturbed soil columns[J]. *Chemosphere*, 2007, 67: 872-878.
- [10] Subbarao G V, Rondon M, Ito O. Biological nitrification inhibition: Is it a wide spread phenomenon?[J]. *Plant and Soil*, 2007, 294: 5-18.
- [11] Trenkel M E. Controlled-release and stabilized fertilizers in agriculture [M]. Paris: International Fertilizer Industry Association, 1997.
- [12] Goring C A. Control of nitrification by 2-chloro-6-(trichloromethyl) pyridine[J]. *Soil Science*, 1962, 93: 211-218.
- [13] 张妹婷. 石灰性土壤中不同硝化抑制剂的抑制效果及其机理探讨[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2010.
ZHANG Mei-ting. The study of inhibitory effect and mechanism of different nitrification inhibitors in calcareous soil[D]. Xianyang: Northwest A&F University, 2010.
- [14] 何秋香. 硝化抑制剂的农业效应研究[D]. 海口: 华南热带农业大学,

2004.
HE Qiu-xiang. Studying on the agricultural effect of nitrification inhibitors[D]. Haikou: South China University of Tropical Agriculture, 2004.
- [15] 伍少福. 硝化抑制剂 DMPP 对土壤硝酸盐淋失的影响及其蔬菜应用效果研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2006.
WU Shao-fu. Effect of nitrification inhibitor DMPP on soil nitrate leaching and vegetable production[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2006.
- [16] 茶正早, 林钊沐, 罗 微. 德国新型硝化抑制剂 DMPP[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(12): 46-48.
CHA Zheng-zhao, LIN Zhao-mu, LUO Wei. New nitrification inhibitor DMPP of Germany[J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2007, 13(12): 46-48.
- [17] Zerulla W, Barth T, Dressel J, et al. 3, 4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP): A new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 34: 79-84.
- [18] Zerulla W, Pasda G, Hähndel R, et al. The new nitrification inhibitor DMPP for use in agricultural and horticultural crops: An overview[M]// Horst W J, Schenk M K, Bürkert A. Plant nutrition: food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied research. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001: 754-755.
- [19] Wissemeyer A H, Linzmeier W, Gutscher R, et al. The new nitrification inhibitor DMPP: Comparisons with DCD in model studies and field applications[M]// Horst W J, Schenk M K, Bürkert A. Plant nutrition: Food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied Research. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001: 702-703.
- [20] Azam F, Benckiser G, Müller C, et al. Release, movement and recovery of 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP), ammonium and nitrate from stabilized nitrogen fertilizer granules in a soil under laboratory conditions[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 34: 118-125.
- [21] Di H J, Cameron K C, Shen J P, et al. Ammonia-oxidizing bacteria and archaea grow under contrasting soil nitrogen conditions[J]. *Microbiology Ecology*, 2010, 72: 386-394.
- [22] Cookson W R, Cornforth I S. Dicyandiamide slows nitrification in dairy cattle urine patches: Effects on soil solution composition, soil pH and pasture yield[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2002, 34: 1461-1465.
- [23] 孙志梅, 王志杰, 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.
SUN Zhi-mei, WU Zhi-jie, CHEN Li-jun, et al. Regulation of soil nitrification with nitrification inhibitors and related mechanisms[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(7): 1611-1618.
- [24] McCarty G W, Bremner J M, Lee J S. Inhibition of plant and microbial urease by phosphoramidates[J]. *Plant and Soil*, 1990, 127: 269-283.
- [25] Bedard C, Knowles R. Physiology, biochemistry and specific inhibitors of CH_4 , NH_4^+ and CO_2 oxidation by methanotrophs and nitrifiers [J]. *Microbiology Reviews*, 1989, 53: 68-84.
- [26] Gunsalus I C, Pederson T C, Sligar S G. Oxygenase-catalyzed biological hydroxylations[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1975, 44: 377-407.
- [27] Iizumi T, Mizumoto M, Nakamura K. A bioluminescence assay using *Nitrosomonas europaea* for rapid and sensitive detection of nitrification inhibitors[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64: 3656-3662.
- [28] Stein L Y, Arp D J. Ammonium limitation results in the loss of ammonia-oxidizing activity in *Nitrosomonas europaea*[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64: 1514-1521.
- [29] Juliette L Y, Hyman M R, Arp D J. Mechanism-based inactivation of ammonia monooxygenase in *Nitrosomonas europaea* by allylsulfide[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59: 3728-3735.
- [30] Hyman M R, Murton B, Arp D J. Interaction of ammonia monooxygenase from *Nitrosomonas europaea* with alkanes, alkenes and alkynes[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1988, 54: 3187-3190.
- [31] Rache M E, Hicks R E, Hyman M R, et al. Oxidation of monohalogenated ethanes and n-chlorinated alkanes by whole cells of *Nitrosomonas europaea*[J]. *Journal of Bacteriology*, 1990, 172: 5368-5373.
- [32] 武志杰, 史云峰, 陈利军. 硝化抑制剂作用机理研究进展[J]. 土壤通报, 2008, 39(4): 962-970.
WU Zhi-jie, SHI Yun-feng, CHEN Li-jun. Research progress of the mechanisms of nitrification inhibition[J]. *Chinese Journal of Soil Science*, 2008, 39(4): 962-970.
- [33] McCarty G W, Bremner J M. Inhibition of nitrification in soil by heterocyclic nitrogen compounds[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1989, 8: 204-211.
- [34] McCarty G W. Modes of action of nitrification inhibitors [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1999, 29: 1-9.
- [35] Bending G D, Lincoln S D. Inhibition of soil nitrifying bacteria communities and their activities by glucosinolate hydrolysis products[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2000, 32: 1261-1269.
- [36] Yang J B, Li X C, Xu L, et al. Influence of the nitrification inhibitor DMPP on the community composition of ammonia-oxidizing bacteria at microsites with increasing distance from the fertilizer zone[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49: 23-30.
- [37] Irigoyen I, Muro J, Azpilikueta M, et al. Ammonium oxidation kinetics in the presence of nitrification inhibitors DCD and DMPP at various temperatures[J]. *Australian Journal of Soil Research*, 2003, 4(6): 1177-1183.
- [38] Zaman M, Sagga S, Blennerhassett J D, et al. Effect of urease and nitrification inhibitors on N transformation, gaseous emissions of ammonia and nitrous oxide, pasture yield and N uptake in grazed pasture system [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2009, 41: 1270-1280.
- [39] Kleineidam K, Košmrlj K, Kublik S, et al. Influence of the nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on ammonia-oxidizing bacteria and archaea in rhizosphere and bulk soil[J]. *Chemosphere*, 2011, 84: 182-186.
- [40] Li H, Liang X Q, Chen Y X, et al. Effect of nitrification inhibitor DMPP on nitrogen leaching, nitrifying organisms, and enzyme activities in a rice-oilseed rape cropping system[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20: 149-155.
- [41] Crutzen P J. Effects of nitrogen fertilizers and combustion on the stratospheric ozone layer[J]. *Ambio*, 1977, 6: 112-117.

- [42] Hadi A, Jumadi O, Inubushi K, et al. Mitigation options for N₂O emission from a corn field in Kalimantan Indonesia[J]. *Soil Science and Plant Nutrition*, 2008, 54: 644–649.
- [43] Weiske A, Benckiser G, Herbert T, et al. Influence of the nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) in comparison to dicyandiamide (DCD) on nitrous oxide emissions, carbon dioxide fluxes and methane oxidation during 3 years of repeated application in field experiments[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 34: 109–117.
- [44] Menéndez S, Barrenab I, Setienb I, et al. Efficiency of nitrification inhibitor DMPP to reduce nitrous oxide emissions under different temperature and moisture conditions [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 53: 82–89.
- [45] Weiske A, Benckiser G, Ottow J C G. The new nitrification inhibitor DMPP: Effects on gaseous emissions (N₂O, CO₂, CH₄) from soil under field conditions[J]. *Developments in Plant and Soil Sciences*, 2002, 92: 766–767.
- [46] Dittert K, Bol R, Chadwick D, et al. Nitrous oxide emissions from injected ¹⁵N-labelled cattle slurry into grassland soil as affected by DMPP nitrification inhibitor[J]. *Developments in Plant and Soil Sciences*, 2002, 92: 768–769.
- [47] 沈真实, 许超, 汤海涛, 等. DMPP 施用的环境效应、影响因素及其机理研究[J]. *湖南农业科学*, 2011(8): 71–76.
SHEN Zhen-shi, XU Chao, TANG Hai-tao, et al. Environmental effects, influencing factors and mechanism of DMPP application[J]. *Human Agricultural Sciences*, 2011(8): 71–76.
- [48] Pereira J, Fangueiro D, Chadwich D R, et al. Effect of cattle slurry pretreatment by separation and addition of nitrification inhibitors on gaseous emissions and N dynamics: A laboratory study[J]. *Chemosphere*, 2010, 79: 620–627.
- [49] Hatch D, Trindade H, Cardenas L, et al. Laboratory study of the effects of two nitrification inhibitors on greenhouse gas emissions from a slurry-treated arable soil: Impact of diurnal temperature cycle[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2005, 41: 225–232.
- [50] Linzmeier W, Gutser R, Schmidhalter U. Nitrous oxide emission from soils and from a nitrogen-15-labelled fertilizer with the new nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP)[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 34: 103–108.
- [51] Azam F, Müller C. Effect of 3, 4-dimethylpyrazole phosphate on some microbial processes in soil[J]. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 2010, 8(4): 606–613.
- [52] Macadam X M B, del Prado A, Merino P, et al. Dicyandiamide and 3, 4-dimethylpyrazole phosphate decrease N₂O emissions from grassland but dicyandiamide produces deleterious effects in clover[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2003, 160: 1517–1523.
- [53] Merino P, Menendez S, Pinto M, et al. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate reduces nitrous oxide emissions from grassland after slurry application [J]. *Soil Use and Management*, 2005, 21(1): 53–57.
- [54] Menéndez S, Barrena I, Setien I, et al. Efficiency of nitrification inhibitor DMPP to reduce nitrous oxide emissions under different temperature and moisture conditions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2012, 53: 82–89.
- [55] Menéndez S, Merino P, Pinto M, et al. Effect of N-(butyl)thiophosphoric thiophosphoric triamide and 3, 4-dimethylpyrazole phosphate on gaseous emissions from grasslands under different soil water contents [J]. *Journal of Environmental Quality*, 2009, 38: 27–35.
- [56] Chen D L, Suter H C, Islam A, et al. Influence of nitrification inhibitors on nitrification and nitrous oxide (N₂O) emission from a clay loam soil fertilized with urea[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2010, 42: 660–664.
- [57] 俞巧钢, 符建荣. 含 DMPP 抑制剂尿素的氨挥发特性及阻控对策研究[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(4): 744–748.
YU Qiao-gang, FU Jian-rong. Research on ammonia volatilization loss character of urea with DMPP addition and its controlling strategy [J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(4): 744–748.
- [58] San Francisco S, Urrutia O, Martin V. Efficiency of urease and nitrification inhibitors in reducing ammonia volatilization from diverse nitrogen fertilizers applied to different soil types and wheat straw mulching[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2011, 91(9): 1569–1575.
- [59] Lou L G, Itoh S, Zhang Q W, et al. Leaching behavior of nitrogen in a long-term experiment on rice under different N management system[J]. *Environmental Monitoring & Assessment*, 2011, 117(1): 141–150.
- [60] Karen W, Schrijver D A, Jeroen S, et al. Soil inorganic N leaching in edges of different forest types subject to high N deposition loads[J]. *Ecosystems*, 2011, 14(5): 818–834.
- [61] Di H J, Cameron K C. Reducing environmental impacts of agriculture by using a fine particle suspension nitrification inhibitor to decrease nitrate leaching from grazed pastures[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2005, 109(314): 202–212.
- [62] Yu Q, Ye X, Chen Y, et al. Influences of nitrification inhibitor 3, 4-dimethyl pyrazole phosphate on nitrogen and soil salt-ion leaching[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2008, 20: 304–308.
- [63] Yu Q G., Chen Y X, Ye X, et al. Influence of the DMPP(3, 4-dimethyl pyrazole phosphate) on nitrogen transformation and leaching in multi-layer soil columns[J]. *Chemosphere*, 2007, 69: 825–831.
- [64] Chaves B, Opoku A, Neve S D, et al. Influence of DCD and DMPP on soil N dynamics after incorporation of vegetable crop residues[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2006, 43: 62–68.
- [65] Wu S F, Wu L H, Shi Q W, et al. Effects of a new nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on nitrate and potassium leaching in two soils[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2007, 19: 841–847.
- [66] 俞巧钢, 符建荣, 马军伟, 等. DMPP 对菜地土壤氮素径流损失的影响[J]. *环境科学*, 2009, 30(3): 870–874.
YU Qiao-gang, FU Jian-rong, MA Jun-wei, et al. Effect of DMPP on inorganic nitrogen runoff loss from vegetable soil[J]. *Environmental Science*, 2009, 30(3): 870–874.
- [67] Pasda G, Hähndel R, Zerulla W. The new nitrification inhibitor DMPP (ENTECC): Effects on yield and quality of agricultural and horticultural crops[M]//Horst W J, Schenk M K, Bürkert A. Plant nutrition: food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied Research. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001: 758–759.
- [68] Carrasco I, Villar J M. Field evaluation of DMPP as a nitrification in-

- hibitor in the area irrigated by the Canal d'Urgell(Northeast Spain)[M]//Horst W J, Schenk M K, Bürkert A. Plant Nutrition—Food Security and Sustainability of Agro-ecosystems through basic and applied research. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001: 764–765.
- [69] Pasda G. The new nitrification inhibitor DMPP (ENTEC): Effects on yield and quality of agricultural and horticultural crops[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 34(2): 85–97.
- [70] 伍少福, 吴良欢, 尹一萌, 等. 含硝化抑制剂复合肥对西瓜黄瓜产量和营养品质的影响[J]. 农业环境科学学报, 2006, 25(6): 1432–1435.
- WU Shao-fu, WU Liang-huan, YIN Yi-meng, et al. Effects of compound fertilizer with nitrification inhibitor on the yield and nutritional quality of watermelon and cucumber[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2006, 25(6): 1432–1435.
- [71] 伍少福, 吴良欢, 尹一萌, 等. 含硝化抑制剂 DMPP 复合肥对日光温室芹菜生长和营养品质的影响[J]. 应用生态学报, 2007, 18(2): 383–388.
- WU Shao-fu, WU Liang-huan, YIN Yi-meng, et al. Effects of DMPP-compound fertilizer on greenhouse celery growth and nutritional quality [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2007, 18(2): 383–388.
- [72] Xu C, Wu L H, Zhang L M, et al. Role of nitrification inhibitor DMPP (3, 4-dimethylpyrazole Phosphate) in NO_3^- accumulation in greengrocery (*Brassica campestris* L. ssp. *chinenses*) and vegetable soil [J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2005, 17(1): 81–83.
- [73] Xu C, Wu L H, Ju X T, et al. Effects of nitrogen fertilizer with nitrification inhibitor DMPP (3, 4-dimethylpyrazole phosphate) on nitrate accumulation and quality of cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *pekinensis*) [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2004, 3(8): 622–626.
- [74] Barth G, Tucher S V, Schmidhalter U. Effectiveness of 3, 4-dimethylpyrazole phosphate as nitrification inhibitor in soil as influenced by inhibitor concentration, application form, and soil matrix potential[J]. *Pedosphere*, 2008, 18(3): 378–385.
- [75] 殷建祯, 俞巧钢, 符建荣, 等. 不同 DMPP 添加水平对土壤有机氮素转化的影响[J]. 水土保持学报, 2012, 26(6): 111–115.
- YIN Jian-zhen, YU Qiao-gang, FU Jian-rong, et al. Influence of different DMPP addition level on organic nitrogen transformation in the soil[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2012, 26(6): 111–115.
- [76] Barth G, Tucher S V, Schmidhalter U. Influence of soil parameters on the efficiency of the new nitrification inhibitor DMPP[M]//Horst W J, Schenk M K, Bürkert A. Plant nutrition: Food security and sustainability of agro-ecosystems through basic and applied research. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2001: 756–757.
- [77] 薛妍, 武志杰, 张丽莉, 等. 土壤含水量、pH 及有机质对 DMPP 硝化抑制效果的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(10): 2663–2669.
- XUE Yan, WU Zhi-jie, ZHANG Li-li, et al. Inhibitory effect of DMPP on soil nitrification as affected by soil moisture content, pH and organic matter[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(10): 2663–2669.
- [78] Schnürer J, Clarholm M, Rosswall T. Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic matter contents[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1985, 17: 611–618.
- [79] Abbès C, Parent LE, Karam A. Nitrification of ammoniated peat and ammonium sulfate in mineral soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1994, 26: 1041–1051.
- [80] Zhu W X, Wang W W. Does soil organic matter variation affect the retention of NH_4^+ and NO_3^- in forest ecosystems? [J]. *Forest Ecology and Management*, 2011, 261: 675–682.
- [81] 崔桂芳, 关连珠, 孙琳, 等. 有机质含量对棕壤表面电荷及 NH_4^+ 的吸附解吸特性的影响[J]. 土壤肥料, 2006(1): 17–20.
- CUI Gui-fan, GUAN Lian-zhu, SUN Lin, et al. Effect of organic matter content on surface electric charge and NH_4^+ adsorption desorption characteristics in brown soil[J]. *Soils and Fertilizers*, 2006(1): 17–20.
- [82] Jia Z J, Conrad R. Bacteria rather than archaea dominate microbial ammonia oxidation in an agricultural soil[J]. *Environmental Microbiology*, 2009, 11: 1658–1671.
- [83] Wessén E, Nyberg K, Jansson J K, et al. Responses of bacterial and archaeal ammonia oxidizers to soil organic and fertilizer amendments under long-term management[J]. *Applied Soil Ecology*, 2010, 45: 193–200.
- [84] 崔敏, 冉炜, 沈其荣. 水溶性有机质对土壤硝化作用过程的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2006, 33(3): 45–50.
- CUI Min, RAN Wei, SHEN Qi-rong. Effects of dissolved organic matter on nitrification in soil[J]. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2006, 33(3): 45–50.
- [85] Krümmel A, Harms H. Effect of organic matter on growth and cell yield of ammonia-oxidizing bacteria[J]. *Archives of Microbiology*, 1982, 133: 50–54.
- [86] Fettweis U, Mittelstaedt W, Schimansky C, et al. Lysimeter experiments on the translocation of the carbon-14-labelled nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) in a gleyic cambisol[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2001, 34: 126–130.
- [87] Klemetsson L, Svensson B H, Rosswall T. Relationships between soil moisture content and nitrous oxide production during nitrification and denitrification[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 1988, 6: 106–111.
- [88] 石美, 张妹婷, 沈锋, 等. 石灰性土壤中不同硝化抑制剂的抑制效果及其对亚硝态氮累积的影响[J]. 中国农业科学, 2011, 44(3): 500–506.
- SHI Mei, ZHANG Mei-ting, SHEN Feng, et al. Effects of nitrification inhibitors on nitrification inhibition and nitrite accumulation in calcareous soil[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2011, 44(3): 500–506.
- [89] Zaman M, Nguyen M L. How application timings of urease and nitrification inhibitors affect N losses from urine patches in pastoral system [J]. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 2012, 156: 37–48.
- [90] Hadas A, Feigenbaum S, Feigin A, et al. Nitrification rates in profiles of differently managed soil types[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1986, 50: 633–639.
- [91] Pommerening-Röser A, Koops H P. Environmental pH as an important factor for the distribution of urease positive ammonia-oxidizing bacteria [J]. *Microbiology Research*, 2005, 160: 27–35.