

赖晶晶, 兰婷, 王启, 等. 硝化抑制剂对紫色土硝化作用及 N_2O 排放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2019, 38(6): 1420–1428.

LAI Jing-jing, LAN Ting, WANG Qi, et al. Effects of nitrification inhibitors on purple soil nitrification and N_2O emissions[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2019, 38(6): 1420–1428.

硝化抑制剂对紫色土硝化作用及 N_2O 排放的影响

赖晶晶, 兰婷*, 王启, 谭春林, 李梦潇

(四川农业大学资源学院, 成都 611130)

摘要:为探讨硝化抑制剂对紫色土硝化作用及 N_2O 排放的抑制效果,通过室内培养试验,研究在 25 °C, 60% 最大田间持水量条件下,4 种硝化抑制剂[双氰胺(DCD)、3,4-甲基吡唑磷酸盐(DMPP)、2-氯-6-三氯甲基吡啶(Nitrapyrin)、对羟基苯丙酸甲酯(MHPP)]对四川地区石灰性紫色土无机氮含量、硝化速率及 N_2O 产生速率变化特征的影响,并以酸性紫色土作对比。结果表明,与对照处理相比,4 种硝化抑制剂均能抑制两种土壤中 NH_4^+ 向 NO_3^- 的转化,同时降低 N_2O 的排放,但是抑制效果存在差异。其中,对石灰性紫色土硝化速率的抑制效果为 MHPP(93%~193%)>Nitrapyrin(91%~191%)>DMPP(9%~58%)>DCD(6%~14%),对酸性紫色土硝化速率的抑制效果为 MHPP(76%~116%)>Nitrapyrin(62%~109%)>DCD(59%~75%)>DMPP(26%~43%)。硝化抑制剂对石灰性紫色土和酸性紫色土 N_2O 产生总量的抑制效果分别为 46%~76% 和 32%~54%。总体而言,相较 DCD 和 DMPP, Nitrapyrin 和 MHPP 两种硝化抑制剂对供试土壤硝化速率和 N_2O 产生速率均表现出较强的抑制效果。

关键词:硝化作用;硝化抑制剂;紫色土;硝化速率; N_2O 产生速率

中图分类号:X511 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2019)06-1420-09 doi:10.11654/jaes.2018-1203

Effects of nitrification inhibitors on purple soil nitrification and N_2O emissions

LAI Jing-jing, LAN Ting*, WANG Qi, TAN Chun-lin, LI Meng-xiao

(College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China)

Abstract: Calcareous purple soils in the Sichuan Province are characterized by weak nitrogen retention, because of their strong nitrification. In order to investigate the effects of nitrification inhibitors on purple soil nitrification and N_2O emissions, we explored the variability of soil inorganic nitrogen content, nitrification rate, and N_2O production rate. This was done after the addition of nitrification inhibitors[dicyandiamide(DCD), 3, 4-dimethylpyrazole phosphate(DMPP), 2-chloro-6-(trichloro-methyl) pyridine(Nitrapyrin), methyl 3-(4-hydroxyphenyl) propionate(MHPP)] and nitrogen fertilizers to the calcareous and acid purple soils. The calcareous purple soil was compared with an acid purple soil obtained after incubation at 25 °C and with 60% water holding capacity(WHC). Our results showed that four nitrification inhibitors successfully impeded the conversion of NH_4^+ to NO_3^- and reduced the emissions of N_2O for both soils; The inhibitory efficiencies of nitrification inhibitors on the calcareous purple soil nitrification rates were: MHPP(93%~193%)> Nitrapyrin(91%~191%)> DMPP(9%~58%)> DCD(6%~14%), while the efficiencies on the acidic purple soil nitrification rates were: MHPP(76%~116%)> Nitrapyrin(62%~109%)> DCD(59%~75%)> DMPP(26%~43%). The inhibitory effects of nitrification inhibitors on the total N_2O production in the calcareous and acidic purple soils were 46%~76% and 32%~54%, respectively. In summary, Nitrapyrin and MHPP showed strong inhibitory effects, compared with DCD and DMPP, on nitrification and N_2O generation rates of the tested soils. Our results provide a theoretical basis for the field application of nitrification inhibitors to purple soils, encouraging the use of moderate amounts of nitrogen fertilizers, and reducing the environmental risk linked to the use of nitrogen fertilizers.

Keywords: nitrification; nitrification inhibitors; purple soil; nitrification rate; N_2O production rate

收稿日期:2018-09-21 录用日期:2018-12-13

作者简介:赖晶晶(1994—),女,江西赣州人,硕士研究生,主要从事土壤氮素转化及温室气体排放研究。E-mail:Lcici1031@163.com

*通信作者:兰婷 E-mail:ltan@sicau.edu.cn

基金项目:国家重点研发计划项目(2017YFD0200100);国家自然科学基金项目(41501243)

Project supported: The National Key Research and Development Program of China(2017YFD0200100); The National Natural Science Foundation of China(41501243)

硝化作用是土壤微生物将铵盐氧化为硝酸盐并产生氮氧化物的过程,通过与不同氮转化过程的耦联,共同决定着土壤生态系统中的氮平衡^[1]。作为土壤氮循环的中心环节,硝化作用不仅影响植物和土壤微生物对氮素的有效利用程度,而且与过量氮肥投入导致的硝酸盐淋失、土壤酸化、水体污染和温室气体(如氧化亚氮 N₂O)排放等一系列生态环境问题直接相关^[2]。N₂O作为一种温室气体,其增温能力约为 CO₂ 的 298 倍,也是导致臭氧层破坏的主要气体^[3]。目前,全球范围内人为活动造成的 N₂O 排放量有 60%~80% 来自于农业生产,而硝化过程是农业土壤中 N₂O 的主要来源^[4]。

目前,有关提高氮肥利用率的原理和技术已取得较大进展^[5],其中,施用硝化抑制剂不仅能抑制氮在土壤中的硝化过程,还能减少反硝化作用底物浓度,从而降低 NO₃ 的反硝化损失以及硝化-反硝化过程的 N₂O 产生^[6],被认为是提高氮肥利用率的有效措施之一^[7]。双氰胺(Dicyandiamide, DCD)和 3,4-甲基吡唑磷酸盐(3,4-dimethylpyrazole phosphate, DMPP)是目前广泛应用硝化抑制剂,发展和研究已经较成熟,具有低成本、不易挥发和便于施肥等特点^[8]。通过底物竞争干扰氨氧化微生物,DCD 能抑制 10%~57% 的硝酸盐淋失和 11%~47% 的 N₂O 排放^[9],而文献报道 DMPP 用量仅为 DCD 的 1/10 时,其抑制效果便能高于 DCD^[10]。2-氯-6-三氯甲基吡啶[2-chloro-6-(trichloromethyl)pyridine, Nitrapyrin]以螯合氨氧化酶活性位点的方式抑制硝化作用^[8],施用于美国 100 万 hm² 以上的耕地,其中约 90% 为中西部玉米种植区,硝化抑制率达 18.5%~91.4%^[11],表现出明显的增产效果^[12]。生物硝化抑制剂是近年来发现的具有较强硝化抑制能力的植物根系分泌物,其中高粱根系分泌的对羟基苯丙酸甲酯[Methyl 3-(4-hydroxyphenyl) propionate, MHPP]能通过影响氨氧化微生物酶活性抑制硝化作用^[13],但目前几乎尚未在农业生产中应用,且相关研究还处于起步阶段。然而,其环境友好生态效益使之具有良好的发展潜力和推广意义^[14]。

紫色土是亚热带地区的一种非地带性土壤,在我国广泛分布于长江上游丘陵地区,是中国南方重要的

旱作土壤之一^[15]。由于发育程度浅,紫色土继承了紫色砂页岩疏松且易被侵蚀的特点,温暖湿润的气候条件更使紫色土土壤微生物活性高。四川地区紫色土 pH 值少部分呈中性或酸性,而大部分呈碱性,因此硝化作用和硝酸盐淋溶强烈^[16]。有关各种硝化抑制剂的应用效果和筛选已有较多研究,但除气候环境和农业管理方式以外,土壤类型与硝化抑制剂的作用效果密切相关^[17]。不同土壤含有的氨氧化微生物优势类群不同,而微生物对各种硝化抑制剂的敏感程度及响应也不同,因此硝化抑制剂的作用效果在不同土壤中存在差异^[18]。硝化抑制剂,尤其是生物硝化抑制剂对紫色土硝化过程及 N₂O 产生的作用效果尚未明确。本研究通过开展室内培养试验,探讨 4 种硝化抑制剂(DCD、DMPP、Nitrapyrin、MHPP)对四川地区石灰性紫色土无机氮含量、硝化速率及 N₂O 产生速率变化特征的影响,并以酸性紫色土作对比。以期揭示上述 4 种硝化抑制剂对石灰性紫色土和酸性紫色土的硝化作用及 N₂O 排放的影响,为田间条件下进一步验证及制定减排措施提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试土壤

供试的石灰性紫色土和酸性紫色土于 2018 年 4 月分别采自四川遂宁和四川乐山。遂宁属亚热带季风气候,热量充足,雨量充沛,湿度大且云雾多。无霜期长达 283~300 d,年平均气温为 16.7~17.4 ℃,年平均降水量为 887.3~927.6 mm,年蒸发量为 910.7~1 128.3 mm,土壤类型为石灰性紫色土,发育于侏罗纪中统遂宁组。乐山属中亚热带季风气候,气候湿润,雨量充沛,无霜期长达 300 d 以上,大部分地区年平均降水量在 1000 mm 以上,年平均气温为 16.5~18.0 ℃,土壤类型为酸性紫色土,母质为白垩纪夹关组。供试土壤采自耕地表层土壤(0~20 cm),剔除杂质后过 2 mm 筛,贮存于 4 ℃ 环境下备用,基本理化性质见表 1。

1.2 供试材料

氮肥采用 NH₄Cl(国药集团,优级纯),供试硝化抑制剂分别为:双氰胺(DCD, Solarbio 公司)、3,4-甲基吡唑磷酸盐(DMPP, 西宝生物科技股份有限公司

表 1 供试土壤基本理化性质

Table 1 Properties of the studied soils

土壤类型 Soil type	pH 值	黏粒 Clay(<2 μm)/%	有机质 SOM/g·kg ⁻¹	全氮 TN/g·kg ⁻¹	C/N	CEC/cmole·kg ⁻¹
石灰性紫色土	8.15	30.8	19.91	1.47	7.86	26.25
酸性紫色土	5.10	17.8	16.54	0.97	9.89	7.04

司)、2-氯-6-三氯甲基吡啶(Nitrapyrin, Solarbio 公司, 纯度 98%+)、对羟基苯丙酸甲酯(MHPP, Adamas 公司, 纯度 98%+)。

1.3 试验方法

1.3.1 试验设计

试验分两组:第一组供试土壤为石灰性紫色土(SN),第二组为酸性紫色土(LS)。两组各设5个处理:1个对照处理和4个硝化抑制剂处理,每个处理设置3个重复。即:①CK处理(NH_4Cl);②DCD处理($\text{NH}_4\text{Cl}+\text{DCD}$);③DMPP处理($\text{NH}_4\text{Cl}+\text{DMPP}$);④Nitrapyrin处理($\text{NH}_4\text{Cl}+\text{Nitrapyrin}$);⑤MHPP处理($\text{NH}_4\text{Cl}+\text{MHPP}$)。结合文献中普遍采用的硝化抑制剂浓度^[9,19-20]、厂家推荐用量以及前期预备试验筛选的最佳浓度,设定氮肥和硝化抑制剂的用量,其中,各处理 NH_4Cl 的加入量均为 $50\text{ mg N}\cdot\text{kg}^{-1}$,DCD、DMPP、Nitrapyrin和MHPP的加入量分别为加入 NH_4^+ 量的10%、1%、1%和10%。

采用室内培养试验,称取相当于40 g干土质量的鲜土置于400 mL塑料瓶中,加蒸馏水调节土壤含水量至30%WHC(田间最大持水量), $25\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 恒温避光预培养3 d后,用移液枪逐滴加入相应浓度的 NH_4Cl 溶液和硝化抑制剂溶液2 mL,使之尽可能均匀分布于土壤中。添加蒸馏水调节土壤含水量至60%WHC,轻盖瓶口创造好氧条件,继续在 $25\pm 1\text{ }^\circ\text{C}$ 环境下恒温避光培养。培养期间每日打开瓶盖30 min,更新瓶中气体,并称重加水使土壤含水量保持在目标水平。

各处理分别在加入 NH_4Cl 和硝化抑制剂溶液后的1、2、3、4、5、7、10、14 d进行气体样品采集,每次采集气样前密闭塑料瓶8 h,用20 mL注射器反复抽提瓶内气体5次混匀气体然后取20 mL气体样品注入18.5 mL真空瓶,用于测定 N_2O 浓度。气体采集之后,从各处理中随机取出3个塑料瓶进行破坏性取样,加入200 mL $2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的KCl溶液, $25\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $250\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 下振荡1 h后过滤,测定过滤液中 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 浓度。

1.3.2 测定方法

土壤基本理化性质采用常规方法测定^[21]。过滤液中的 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 浓度采用全自动间断化学分析仪(DeChem-Tech.Gmbh, CleverChem 380, Germany)测定。气体 N_2O 浓度用安捷伦气相色谱仪(Agilent 7890A, Agilent Technologies, Inc., USA)测定。色谱柱为80/100目的Porapak填充柱,进样口、柱温和检测器温度分别为100、65 $^\circ\text{C}$ 和300 $^\circ\text{C}$ 。载气为亚甲烷

(95%氩气+5%甲烷),流速为 $40\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ 。标准气体由中国国家标准物质中心提供。

1.3.3 计算公式

土壤氮硝化速率:

$$R_N = \frac{(\text{NO}_3^- - \text{N})_t - (\text{NO}_3^- - \text{N})_0}{t}$$

式中: R_N 为硝化速率, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$; t 为间隔时间,h; $(\text{NO}_3^- - \text{N})_0$ 和 $(\text{NO}_3^- - \text{N})_t$ 分别为0、 t 时的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。平均硝化速率根据时间加权计算得出。

土壤 N_2O 产生速率:

$$F = \rho \times \frac{V}{W} \times \frac{\Delta c}{\Delta t} \times \frac{273}{273 + T}$$

式中: F 为 N_2O 产生速率, $\mu\text{g N}_2\text{O}-\text{N}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$; ρ 为标准状态下 N_2O 的密度, $1.25\text{ kg}\cdot\text{m}^{-3}$; V 为塑料瓶内有效空间的体积, m^3 ; W 为干土的质量,kg; Δc 为采气前后瓶内 N_2O 气体的浓度差, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; Δt 为间隔时间,h; T 为培养时瓶内温度, $^\circ\text{C}$ 。气体的平均产生速率根据时间加权计算得出。

硝化抑制剂对硝化速率或 N_2O 产生总量的抑制率:

$$I_R = \frac{A_{\text{CK}} - A_X}{A_{\text{CK}}} \times 100\%$$

式中: I_R 为抑制剂对硝化速率或 N_2O 产生总量的抑制率,%; A_{CK} 和 A_X 分别为对照处理和各抑制剂处理土壤的硝化速率或 N_2O 产生总量, $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}/\mu\text{g N}_2\text{O}-\text{N}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。 N_2O 产生总量根据各时间段气体的平均产生速率进行时间加权计算得出。

1.4 数据分析

数据采用SPSS 22.0软件进行统计与分析,其中,不同硝化抑制剂处理氮硝化速率和 N_2O 产生速率的差异比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和Tukey检验。图表用Origin 9.0和Excel制作。

2 结果与分析

2.1 不同硝化抑制剂处理下土壤无机氮含量变化特征

加入氮肥和各硝化抑制剂后,两种土壤中 NH_4^+-N 含量随着培养时间的延长均呈现下降的趋势,但下降程度受土壤性质和硝化抑制剂影响而有所差异(图1a和图1b)。其中,石灰性紫色土CK处理 NH_4^+ 含量至培养第4 d已被消耗99%,消耗速度快于相应酸性紫色土的CK处理。与CK处理相比,硝化抑制剂DCD和DMPP的加入并未显著抑制石灰性土壤 NH_4^+-N 的消耗速度(图1a),而Nitrapyrin和MHPP处理在培养至第10 d时对石灰性紫色土中 NH_4^+-N 的消耗表现出

显著抑制($P<0.05$),但抑制效果随培养时间再延长而不显著($P>0.05$)。酸性紫色土中,与CK处理相比,各硝化抑制剂处理在培养0~3 d期间未明显抑制 NH_4^+-N 的消耗,但是,CK处理的土壤 NH_4^+-N 含量在培养第3 d后始终低于其余各硝化抑制剂处理(图1b)。其中,Nitrapyrin处理在培养前4 d相较其余硝化抑制剂处理表现出对 NH_4^+ 消耗的较强抑制效果,而MHPP处理在第4 d后的抑制作用显著高于其余各处理($P<0.05$)。

石灰性紫色土中(图1c),CK和DCD处理土壤的 NO_3^-N 含量在第2~3 d显著升高($P<0.05$),DMPP处理也持续升高,Nitrapyrin和MHPP处理先小幅度升高后从第5 d开始下降,最终两者 NO_3^-N 含量的降幅均为39%。酸性紫色土中,各处理土壤 NO_3^-N 含量在培养的前5 d无明显变化,只保持小幅度升高(图1d),5 d后CK及DCD、DMPP处理 NO_3^-N 含量显著升高($P<0.05$),而Nitrapyrin和MHPP处理持续下降,直至培养结束。

2.2 不同硝化抑制剂处理下土壤硝化速率变化特征

从表2可以看出,CK和DCD处理的土壤氮硝化速率在石灰性紫色土上第2~3 d时段达到最高值,CK

处理的酸性紫色土硝化速率在第4~5 d时段最高,DCD处理的酸性紫色土以及DMPP处理的两种紫色土硝化速率均在培养期各时间段内无显著差异($P>0.05$)。Nitrapyrin和MHPP处理在两种紫色土中的硝化速率都在第0~1 d时段达到最高值,后持续降低至负值。通过时间加权计算得出第0~14 d各处理下的平均硝化速率。其中,石灰性紫色土CK和DCD、DMPP处理的平均硝化速率显著高于Nitrapyrin和MHPP处理($P<0.05$)。酸性紫色土中,CK处理的平均硝化速率显著高于其余各处理,而DCD和DMPP处理间无显著差异,Nitrapyrin和MHPP处理均显著低于其余各处理($P<0.05$)且两者间无显著差异($P>0.05$)。

石灰性紫色土中,DCD处理对硝化速率的抑制率在0~3 d期间为14%,而后保持在6%不变;DMPP处理的抑制率随培养时间的延长由58%降至9%;Nitrapyrin和MHPP处理的抑制率则在第0~3 d期间分别达到91%和93%后不断升高。酸性紫色土中,在0~3 d时各处理对硝化速率的抑制率均为负值,整个培养期DCD和DMPP处理抑制率分别为59%和41%,高于在石灰性紫色土中的抑制率。而Nitrapyrin和MHPP处理的抑制率在两种土壤中均高于DCD和

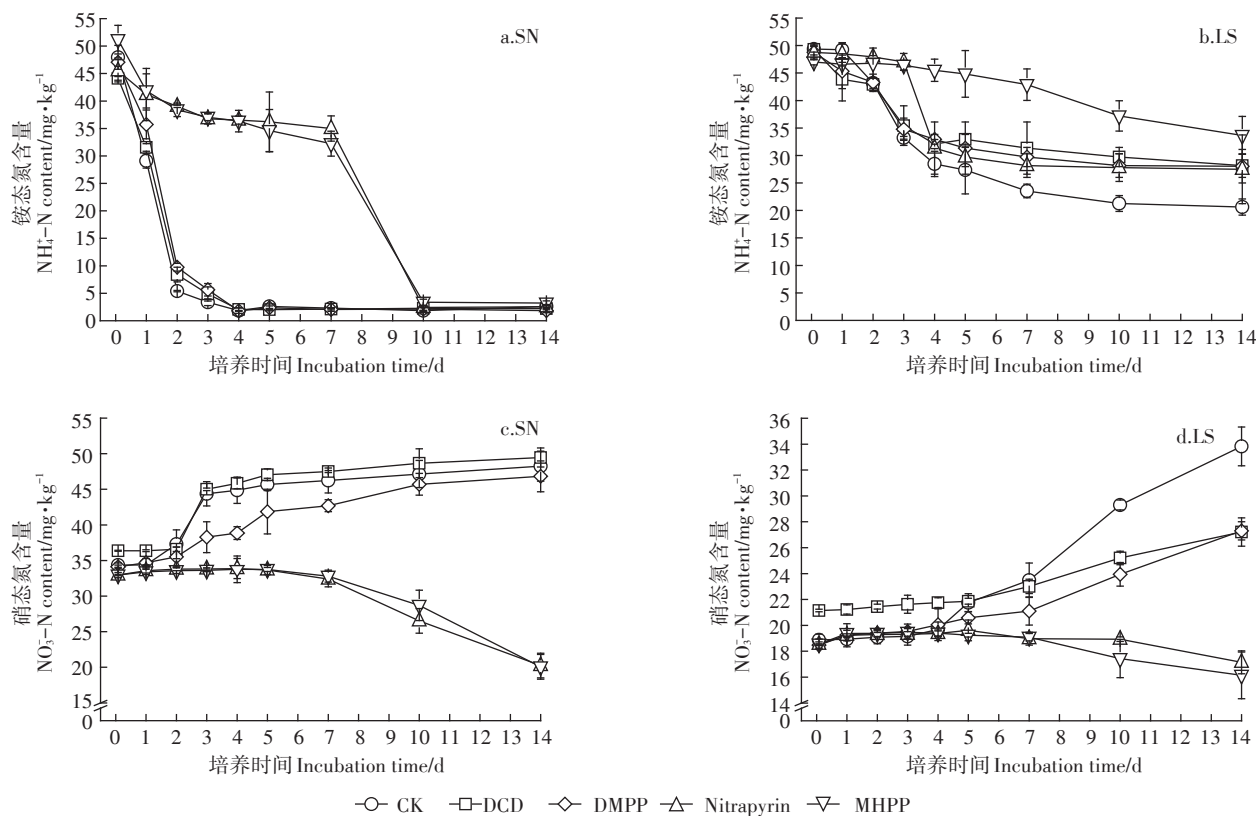


图1 各处理土壤 NH_4^+-N 、 NO_3^-N 含量的变化

Figure 1 Evolution of soil NH_4^+-N and NO_3^-N content in different treatments

表2 不同时间段各处理下的土壤硝化速率及其硝化抑制率

Table 2 Soil nitrification rate and inhibitory efficiency of nitrification inhibition in different treatments during different incubation periods

土壤类型 Soil type		时间段 Incubation periods/d	CK	DCD	DMPP	Nitrapyrin	MHPP
石灰性 紫色土	硝化速率/ mg N·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	0~1	0.02±0.04c	0.02±0.14c	0.62±0.65a	0.69±0.38a	0.48±0.40a
		1~2	2.90±2.02b	0.21±0.31c	0.81±1.39a	0.21±0.20ab	0.18±0.41a
		2~3	7.09±1.70a	8.41±0.18a	2.77±2.17a	0.01±0.18ab	0.05±0.19ab
		3~4	0.50±1.85c	0.85±0.76bc	0.59±0.90a	0.07±1.41ab	0.13±1.87a
		4~5	0.82±0.87bc	1.19±0.83b	3.00±3.13a	-0.20±0.65ab	-0.02±0.28ab
		5~7	0.28±0.88c	0.23±0.07c	0.42±0.42a	-0.64±0.54bc	-0.47±0.42ab
		7~10	0.30±0.64c	0.39±0.68bc	1.00±0.51a	-1.96±0.57d	-1.37±0.71bc
		10~14	0.28±0.53c	0.20±0.33c	0.28±0.54a	-1.57±0.43cd	-2.16±0.43c
		0~14	1.00±2.03A	0.94±2.16A	0.91±1.31A	-0.91±1.03B	-0.93±1.13B
	抑制率/%	0~3		14	58	91	93
		0~5		6	32	94	93
		0~7		6	28	105	101
		0~14		6	9	191	193
酸性 紫色土	硝化速率/ mg N·kg ⁻¹ ·d ⁻¹	0~1	0.05±0.14c	0.09±0.39a	0.85±0.10a	0.76±0.97a	0.90±0.26a
		1~2	0.15±0.50c	0.22±0.18a	0.14±0.26a	0.06±0.16ab	0.01±0.28bc
		2~3	0.08±0.68c	0.18±0.69a	0.13±0.57a	0.02±0.20ab	0.07±0.29b
		3~4	0.53±0.57bc	0.13±0.38a	0.53±1.22a	0.06±0.20ab	-0.06±0.25bc
		4~5	2.06±0.70a	0.11±0.23a	0.53±0.47a	0.24±0.81ab	-0.16±0.14bc
		5~7	0.87±0.66bc	0.57±0.28a	0.26±0.54a	-0.32±0.25b	-0.08±0.14bc
		7~10	1.94±0.13a	0.73±0.17a	0.94±0.30a	-0.01±0.06ab	-0.55±0.49c
		10~14	1.13±0.37ab	0.50±0.27a	0.84±0.17a	-0.45±0.22b	-0.33±0.45bc
		0~14	1.07±0.79A	0.44±0.35B	0.63±0.50B	-0.10±0.46C	-0.17±2.03C
	抑制率/%	0~3		-78	-284	-184	-232
		0~5		75	26	62	76
		0~7		60	43	90	88
		0~14		59	41	109	116

注:同一列不同小写字母表示同一处理下土壤在各时间段之间的硝化速率差异显著($P<0.05$);时间段0~14 d的硝化速率为各时间段的硝化速率经时间加权计算的平均值,该行不同大写字母表示各处理间土壤的硝化速率差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$) in the nitrification rate between different incubation periods under the same treatment. The nitrification rate of 0~14 d in the incubation period was the average value of the nitrification rate in each incubation period through time weighted calculation. In this line, different capital letters indicate significant differences ($P<0.05$) in the nitrification rate of 0~14 d in the incubation period between different treatments.

DMPP处理,且在石灰性紫色土中的抑制率高于酸性紫色土。

2.3 不同硝化抑制剂处理下土壤 N₂O 排放速率变化特征

从图 2a 可以看出,石灰性紫色土中,CK 处理 N₂O 的排放峰出现在第 1 d 和第 7 d。DCD 和 DMPP 处理的 N₂O 产生速率在第 1~4 d 小于 CK 处理但大于 Nitrapyrin 和 MHPP 处理,其 N₂O 排放在第 5 d 达到峰值且显著高于其他处理($P<0.05$)。Nitrapyrin 和 MHPP 处理 N₂O 产生速率的变化趋势相似,在培养第 0~5 d 期间均保持较低水平,而在第 7 d 达到其最高值后又持

续下降。酸性紫色土中,各处理 N₂O 产生速率均在第 1 d 达到最高值,且以 CK 处理速率最高,DCD 处理最低(图 2b),随后培养期内 CK 处理分别在第 3 d 和第 10 d 出现排放峰。与 CK 处理相比,各硝化抑制剂处理 N₂O 产生速率均在较低水平范围波动,整个培养期内,以 Nitrapyrin 和 MHPP 处理 N₂O 产生速率最低,且二者间无显著差异($P>0.05$)。

2.4 N₂O 平均产生速率及硝化抑制剂对 N₂O 产生总量的抑制率

通过对各处理整个培养期的 N₂O 产生速率进行时间加权,得出 N₂O 平均产生速率。结果表明,石灰

性紫色土和酸性紫色土中,CK处理的平均N₂O产生速率分别为244.11、46.37 mg N₂O-N·kg⁻¹·h⁻¹,添加硝化抑制剂不同程度降低了两种供试土壤中N₂O的排放。其中,均以Nitrapyrin和MHPP处理降低效果最明显(图3a)。两者在石灰性紫色土中分别抑制了70%和76%的N₂O产生总量,其中MHPP处理显著高于DCD和DMPP和处理,DCD的抑制效果最低,为46%(图3b)。酸性紫色土中,各硝化抑制剂处理对N₂O产生的抑制率为32%~54%,且各硝化抑制剂处理间无显著性差异($P>0.05$)。

3 讨论

3.1 硝化抑制剂对硝化过程的影响

本研究加入氮肥和各硝化抑制剂处理后土壤NH₄⁺-N含量降低而NO₃⁻-N含量升高,表明NH₄⁺-N经

硝化作用氧化为NO₃⁻-N。文献报道土壤pH值越高硝化作用越强,NH₄⁺在碱性土中的稳定性低于酸性土^[22],这可能是本研究中石灰性紫色土NH₄⁺-N含量消耗速率明显高于酸性紫色土的原因。不同硝化抑制剂处理下两种土壤NH₄⁺消耗速度和NO₃⁻产生速度均低于CK处理,可见4种硝化抑制剂均能减缓两种土壤中NH₄⁺向NO₃⁻的转化。其中,Nitrapyrin和MHPP在两种土壤中对土壤硝化速率的抑制率均高于DCD和DMPP。尽管有研究表明DMPP对硝化作用的抑制效果好于DCD^[23],但是,Chen等^[20]的研究表明,DCD和DMPP对土壤净硝化速率的抑制率分别为60%和66%(硝化抑制剂使用剂量与本研究一致),二者无明显差异,这与本研究结果相似。Nitrapyrin和MHPP在两种土壤中都表现出对硝化作用和N₂O产生的较高抑制率,但Nitrapyrin处理在酸性紫色土中的优势只

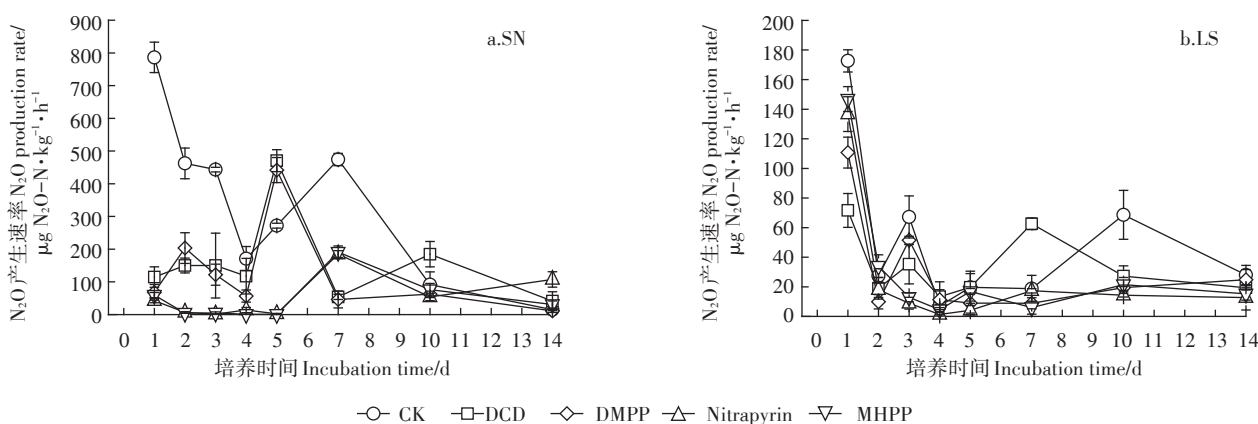
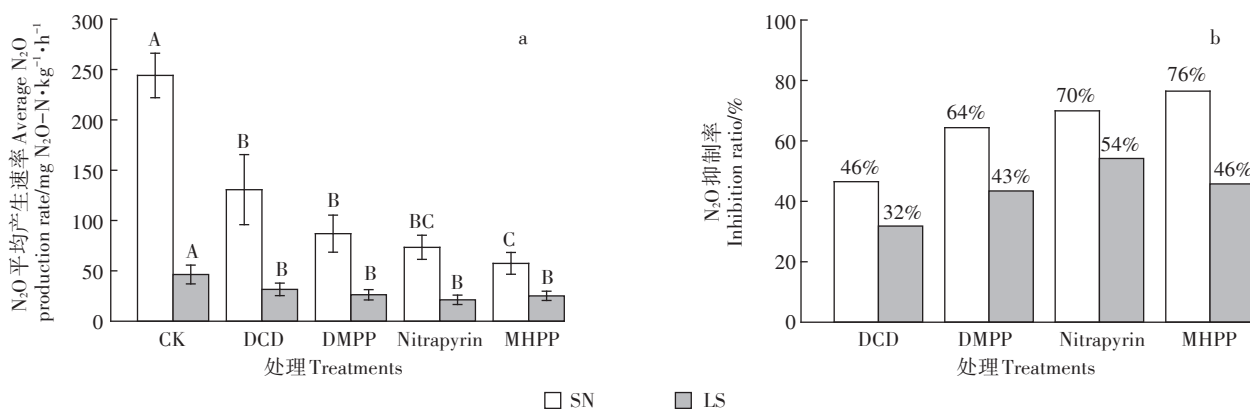


图2 各处理土壤N₂O产生速率的变化

Figure 2 Evolution of soil N₂O production rate in different treatments



不同大写字母表示相同土壤、不同处理间N₂O平均产生速率的差异显著($P<0.05$)

Different capital letters indicate significant differences ($P<0.05$) in the average of soil N₂O production rate between different treatments in the same soil

图3 各处理土壤N₂O平均产生速率及硝化抑制剂对N₂O产生总量的抑制率

Figure 3 The average of soil N₂O production rate and the inhibitory efficiency of nitrification inhibition on total N₂O production in different treatments

表现在培养前3 d,这可能与挥发和分解有关^[24]。而MHPP作为一种弱的有机酸,在碱性环境中易解离成阴离子^[25]。Nardi等^[19]的研究发现MHPP加入土壤后仅在第3~7 d对 NH_4^+ 有固定作用,且微生物在第3 d即开始分解MHPP。如果在田间条件下,植物根系能够持续分泌生物硝化抑制剂,那么比起易挥发或易分解的合成硝化抑制剂,生物硝化抑制剂在作用时间上显然更占优势^[26]。

Nitrapyrin和MHPP处理的土壤 NO_3^- -N含量在培养后期下降且硝化速率降为负值,这不仅是因为硝化抑制剂对硝化作用的抑制降低了 NO_3^- 的产生,还与土壤中 NO_3^- 的消耗密切相关。 NO_3^- 的消耗过程包括反硝化作用、无机氮的微生物同化、非生物固定等^[27]。吴晓荣等^[28]的研究认为,Nitrapyrin可能因为其含有易分解的碳源,能直接为反硝化细菌提供能量和电子,促进反硝化作用而使土壤 NO_3^- -N浓度下降。前人报道^[24]硝化抑制剂Nitrapyrin能够大幅降低硝化作用强度,但可能增加 NH_4^+ 通过 NH_3 的挥发途径损失,尤其是碱性土壤。因此,Nitrapyrin还可能增加 NH_4^+ 通过 NH_3 挥发的损失,从而减少硝化作用底物进而减少 NO_3^- 的产生^[29]。同样的,MHPP作为生物硝化抑制剂不仅能降低 NO_3^- -N的产生量,其本身67%的较高含碳量可能在培养后期 NH_4^+ 浓度较低时促进反硝化作用,而导致 NO_3^- -N消耗量增加。

3.2 硝化抑制剂对 N_2O 产生的影响

在微生物的参与下,土壤中产生 N_2O 的途径主要包括自养硝化、异养硝化、生物反硝化、硝化细菌反硝化、硝态氮异化还原成铵等^[30]。施肥和耕作方式、水分和通气状况、有机碳和氮等众多因素都能影响 N_2O 的产生和排放^[31]。大量文献报道,在氧气充足的条件下,硝化作用是 N_2O 产生的主要途径;在兼性厌氧条件下,硝化细菌反硝化作用的发生会增加 N_2O 产生;在厌氧条件下,反硝化作用主导 N_2O 的产生^[32~34]。Well等^[34]研究了3个不同温带土壤 N_2O 的产生过程,发现在土壤含水量为39%~87%WFPS的壤质黏土中,土壤排放的 N_2O 有84%~91%来自自养硝化过程。在本研究的好氧环境和水分条件下, N_2O 可能主要通过硝化作用产生^[35]。因此,硝化抑制剂可通过抑制氨氧化微生物的活性,延缓 NH_4^+ -N向 NO_3^- -N的转化,直接降低 N_2O 硝化作用产生^[36]。同时,硝化作用被抑制使得作为反硝化底物的 NO_3^- 产生量减少,进而影响反硝化作用产生 N_2O ^[37]。然而,本研究中硝化抑制剂未能完全抑制供试土壤 N_2O 的排放,这可能一是由于硝化

抑制剂只能抑制自养硝化作用,而不能抑制异养硝化作用,因而不能对硝化作用产生完全抑制^[38];二是 N_2O 的产生途径,除硝化和反硝化作用外,异养硝化、硝化细菌反硝化等过程,均能产生 N_2O 。此外,不同硝化抑制剂间抑制效果存在差异,这可能还与硝化抑制剂本身特性有关^[39]。

目前,大部分硝化抑制剂主要通过抑制自养硝化过程降低土壤中 NO_3^- 的积累以及减少 N_2O 排放^[40],对异养微生物的作用并不明显。而有研究表明,酸性土壤中异养硝化对 N_2O 排放的贡献远高于自养硝化作用^[41],因此,这可能是本研究中硝化抑制剂对酸性紫色土中 N_2O 产生速率的抑制效果弱于石灰性紫色土的原因。Zaman等^[42]的研究报道了DCD能减少37%的 N_2O 排放,但同时也增加了29%的 NH_3 排放量。赵颖等^[43]的研究结果表明添加所施氮量0.25%的Nitrapyrin对石灰性紫色土的 N_2O 累积排放量抑制程度达62%,与本研究70%的抑制率接近,但Nitrapyrin同样也可能造成氨气排放^[44]。本研究Nitrapyrin和MHPP对 N_2O 产生的抑制效果高于DCD和DMPP,作为同样有较高抑制率的MHPP,其生产应用和环境风险还缺乏经验,但目前对生物硝化抑制剂的研究正不断取得进展。在不同的气候环境和土壤性质下,考虑实际条件并结合作物特征对施肥方案进行调控,硝化抑制剂才能发挥其最大的农业效益。由于本研究基于室内培养试验,因此在解释田间现象时尚存在一定局限性,将来还需进行田间试验加以验证。

4 结论

(1)4种硝化抑制剂的加入均能有效抑制两种土壤中 NH_4^+ -N向 NO_3^- -N的转化,同时降低 N_2O 的排放,但是不同硝化抑制剂的抑制效果存在差异。

(2)各硝化抑制剂对石灰性紫色土硝化速率的抑制效果为MHPP(93%~193%)>Nitrapyrin(91%~191%)>DMPP(9%~58%)>DCD(6%~14%),对酸性紫色土硝化速率的抑制效果为MHPP(76%~116%)>Nitrapyrin(62%~109%)>DCD(59%~75%)>DMPP(26%~43%)。

(3)硝化抑制剂对石灰性紫色土和酸性紫色土 N_2O 产生总量的抑制效果分别为46%~76%和32%~54%。

(4)相较DCD和DMPP,Nitrapyrin和MHPP两种硝化抑制剂对供试土壤硝化速率和 N_2O 产生速率均表现出较强的抑制效果。

参考文献:

- [1] Coskun D, Britto D T, Shi W, et al. Nitrogen transformations in modern agriculture and the role of biological nitrification inhibition[J]. *Nature Plants*, 2017, 3(6):17074.
- [2] Fowler D, Coyle M, Skiba U, et al. The global nitrogen cycle in the twenty-first century[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 2013, 368(1621):20130164.
- [3] Turner P A, Griffis T J, Lee X, et al. Indirect nitrous oxide emissions from streams within the US Corn Belt scale with stream order[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(32):9839-9843.
- [4] Linquist B. An agronomic assessment of greenhouse gas emissions from major cereal crops[J]. *Global Change Biology*, 2015, 18(1):194-209.
- [5] 朱兆良. 农田中氮肥的损失与对策[J]. *生态环境学报*, 2000, 9(1):1-6.
ZHU Zhao-liang. Loss of fertilizer N from plants-soil system and the strategies and techniques for its reduction[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2000, 9(1):1-6.
- [6] Wu D, Senbayram M, Well R, et al. Nitrification inhibitors mitigate N₂O emissions more effectively under straw-induced conditions favoring denitrification[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, 104:197-207.
- [7] Wang S, Shan J, Xia Y, et al. Different effects of biochar and a nitrification inhibitor application on paddy soil denitrification: A field experiment over two consecutive rice-growing seasons[J]. *Science of the Total Environment*, 2017, 593/594:347-356.
- [8] 张苗苗, 沈菊培, 贺纪正, 等. 硝化抑制剂的微生物抑制机理及其应用[J]. *农业环境科学学报*, 2014, 33(11):2077-2083.
ZHANG Miao-miao, SHEN Ju-pei, HE Ji-zheng, et al. Microbial mechanisms of nitrification inhibitors and their application[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2014, 33(11):2077-2083.
- [9] Lan T, Han Y, Roelcke M, et al. Effects of the nitrification inhibitor dicyandiamide(DCD) on gross N transformation rates and mitigating N₂O emission in paddy soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2013, 67:174-182.
- [10] Di H J, Cameron K C. How does the application of different nitrification inhibitors affect nitrous oxide emissions and nitrate leaching from cow urine in grazed pastures[J]. *Soil Use and Management*, 2012, 28(1):54-61.
- [11] 顾 艳, 吴良欢, 刘彦伶, 等. 氯甲基吡啶剂型对土壤硝化的抑制效果初步研究[J]. *农业环境科学学报*, 2013, 32(2):251-258.
GU Yan, WU Liang-huan, LIU Yan-ling, et al. A preliminary study on the inhibitory effect of nitrpyrin formulations on soil nitrification[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2013, 32(2):251-258.
- [12] Habibullah H, Nelson K A, Motavalli P P. Assessing management of nitrpyrin with urea ammonium nitrate fertilizer on corn yield and soil nitrogen in a poorly-drained claypan soil[J]. *Journal of Agricultural Science*, 2017, 9(11):17-29.
- [13] Coskun D, Britto D T, Shi W, et al. How plant root exudates shape the nitrogen cycle[J]. *Trends in Plant Science*, 2017, 22(8):661-673.
- [14] Sun L, Lu Y, Yu F, et al. Biological nitrification inhibition by rice root exudates and its relationship with nitrogen-use efficiency[J]. *New Phytologist*, 2016, 212(3):646-656.
- [15] Wang J, Zhu B, Zhang J, et al. Mechanisms of soil N dynamics following long-term application of organic fertilizers to subtropical rain-fed purple soil in China[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 91(13):222-231.
- [16] Li Q, Luo Y, Wang C, et al. Spatiotemporal variations and factors affecting soil nitrogen in the purple hilly area of southwest China during the 1980s and the 2010s[J]. *Science of the Total Environment*, 2016, 547:173-181.
- [17] Zhang J, Cai Z, Müller C. Terrestrial N cycling associated with climate and plant-specific N preferences: A review[J]. *European Journal of Soil Science*, 2018, 69(3):488-501.
- [18] Breeckman F, Motte H, Breeckman T. Nitrification in agricultural soils: Impact, actors and mitigation[J]. *Current Opinion in Biotechnology*, 2018, 50:166-173.
- [19] Nardi P, Akutsu M, Pariasca-Tanaka J, et al. Effect of methyl 3-(4-hydroxyphenyl) propionate, a Sorghum root exudate, on N dynamic, potential nitrification activity and abundance of ammonia-oxidizing bacteria and archaea[J]. *Plant & Soil*, 2013, 367(1/2):627-637.
- [20] Chen Q, Qi L, Bi Q, et al. Comparative effects of 3, 4-dimethylpyrazole phosphate(DMPP) and dicyandiamide(DCD) on ammonia-oxidizing bacteria and archaea in a vegetable soil[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2015, 99(1):477-487.
- [21] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社, 2000.
LU Ru-kun. Soil agro-chemical analyses[M]. Beijing:China Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [22] Jiang X, Hou X, Zhou X, et al. pH regulates key players of nitrification in paddy soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 81:9-16.
- [23] 刘 涛, 梁永超, 褚贵新, 等. 三种硝化抑制剂在石灰性土壤中的应用效果比较[J]. *土壤*, 2011, 43(5):758-762.
LIU Tao, LIANG Yong-chao, CHU Gui-xin, et al. Effect comparison of three different types of nitrification inhibitors(DCD, DMPP and Nitrpyrin) in calcareous soils[J]. *Soils*, 2011, 43(5):758-762.
- [24] 孙海军, 闵 炬, 施卫明, 等. 硝化抑制剂影响小麦产量、N₂O与NH₃排放的研究[J]. *土壤*, 2017, 49(5):876-881.
SUN Hai-jun, MIN Ju, SHI Wei-ming, et al. Effects of nitrification inhibitor application on wheat grain yield, N₂O emission and NH₃ volatilization[J]. *Soils*, 2017, 49(5):876-881.
- [25] Zakir H, Subbarao G V, Pearse S, et al. Detection, isolation and characterization of a root-exuded compound, methyl 3-(4-hydroxyphenyl) propionate, responsible for biological nitrification inhibition by sorghum (*Sorghum bicolor*)[J]. *New Phytologist*, 2008, 180(2):442-451.
- [26] Subbarao G V, Yoshihashi T, Worthington M, et al. Suppression of soil nitrification by plants[J]. *Plant Science*, 2015, 233:155-164.
- [27] 周立祥, 黄峰源, 王世梅. 好氧反硝化菌的分离及其在土壤氮素转化过程中的作用[J]. *土壤学报*, 2006, 43(3):430-435.
ZHOU Li-xiang, HUANG Feng-yuan, WANG Shi-mei. Isolation of aerobic denitrifiers and their roles in soil nitrogen transformation[J].

- Acta Pedologica Sinica*, 2006, 43(3):430-435.
- [28] 吴晓荣, 张蓓蓓, 余云飞, 等. 硝化抑制剂对典型茶园土壤尿素硝化过程的影响[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(10):2063-2070.
WU Xiao-rong, ZHANG Bei-bei, YU Yun-fei, et al. Effects of nitrification inhibitors on nitrification rate of urea in four typical tea soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(10):2063-2070.
- [29] Ren B, Zhang J, Dong S, et al. Nitrapyrin improves grain yield and nitrogen use efficiency of summer maize waterlogged in the field[J]. *Agronomy Journal*, 2016, 109(1):185-192.
- [30] Wolf I, Russow R. Different pathways of formation of N_2O , N_2 and NO in black earth soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2000, 32(2):229-239.
- [31] Klaus B B, Baggs E M, Michael D, et al. Nitrous oxide emissions from soils: How well do we understand the processes and their controls?[J]. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 2013, 368(1621):20130122.
- [32] Wu D, Laura M, Salvador C, et al. Effect of nitrification inhibitor on N_2O , NO and N_2 emissions under different soil moisture levels in a permanent grassland soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2017, 113:153-160.
- [33] Wang Z, Meng Y, Zhu-Barker X, et al. et al. Responses of nitrification and ammonia oxidizers to a range of background and adjusted pH in purple soils[J]. *Geoderma*, 2019, 334:9-14.
- [34] Well R, Kurganova I, Gerenyu V, et al. Isotopomer signatures of soil-emitted N_2O under different moisture conditions: A microcosm study with arable loess soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2006, 38(9):2923-2933.
- [35] Zhou Z, Shi X, Zheng Y, et al. Abundance and community structure of ammonia-oxidizing bacteria and archaea in purple soil under long-term fertilization[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2014, 60(1):24-33.
- [36] Kumar R, Parmar B S, Walia S, et al. Nitrification inhibitors: Classes and its use in nitrification management[M]/Rakshit A. Singh H B, Sen A. Nutrient Use Efficiency from Basics to Advances. Berlin: Springer, 2015:103-122.
- [37] Kim D G, Roudier P. The effect of nitrification inhibitors on soil ammonia emissions in nitrogen managed soils: A meta-analysis[J]. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2012, 93(1):51-64.
- [38] Abalos D, Jeffery S, Sanz-Cobena A, et al. Meta-analysis of the effect of urease and nitrification inhibitors on crop productivity and nitrogen use efficiency[J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2014, 189(2):136-144.
- [39] 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(2):79-84.
- [40] Zhang J, Müller C, Cai Z. Heterotrophic nitrification of organic N and its contribution to nitrous oxide emissions in soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2015, 84:199-209.
- [41] Li Y, Stephen J, Graeme W, et al. Nitrification and nitrifiers in acidic soils[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2018, 116:290-301.
- [42] Zaman M, Saggarr 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 & Biochemistry*, 2009, 41(6):1270-1280.
- [43] 赵颖, 张金波, 蔡祖聪. 添加硝化抑制剂、秸秆及生物炭对亚热带农田土壤 N_2O 排放的影响[J]. 农业环境科学学报, 2018, 37(5):1023-1034.
ZHAO Ying, ZHANG Jin-bo, CAI Zu-cong. Effects of nitrification inhibitor, crop residues, and biochar applications on N_2O emissions by subtropical agricultural soils[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2018, 37(5):1023-1034.
- [44] 杨柳青, 季加敏, 巨晓棠. 硝化/脲酶抑制剂对石灰性潮土 N_2O 减排效果及氮素转化的比较[J]. 农业环境科学学报, 2017, 36(3):605-612.
YANG Liu-qing, JI Jia-min, JU Xiao-tang. Effects of nitrification/urease inhibitors on mitigating N_2O emission and transformation of N from calcareous fluvo-aquic soil[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2017, 36(3):605-612.