

# 双氰胺在农业生态系统中的应用效果及其影响因素\*

戴宇<sup>1,2</sup> 贺纪正<sup>1</sup> 沈菊培<sup>1\*\*</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院生态环境研究中心城市与区域生态国家重点实验室, 北京 100085; <sup>2</sup>中国科学院大学, 北京 100049)

**摘要** 农业生态系统中较低的氮肥利用率造成了一定的经济损失和环境污染. 双氰胺(DCD)是一种高效并且专性抑制土壤硝化活性的化合物, 可以通过抑制土壤氨氧化微生物的丰度和活性来显著减少土壤中硝态氮的淋失及温室气体 N<sub>2</sub>O 的排放, 而对其他土壤微生物没有显著影响. 影响 DCD 应用效果的主要因素包括土壤温度、pH 值、质地、有机质含量及水分含量等. 近些年随着分子生物学技术在农业生态系统中的应用, 微生物介导的 DCD 硝化抑制机理取得了一系列重要研究成果. 本文主要对 DCD 的酶学作用机理、应用效果及其影响因素等方面进行综述, 并对今后的研究方向作一展望.

**关键词** 硝化抑制剂 双氰胺 作用机理 抑制效果 氮肥利用率

**文章编号** 1001-9332(2014)01-0279-08 **中图分类号** Q142, Q398 **文献标识码** A

## Effects and influence factors of dicyandiamide (DCD) application in agricultural ecosystem.

DAI Yu<sup>1,2</sup>, HE Ji-zheng<sup>1</sup>, SHEN Ju-pe<sup>1</sup> (<sup>1</sup>State Key Laboratory of Urban and Regional Ecology, Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China; <sup>2</sup>University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2014, 25(1): 279-286.

**Abstract:** The low utilization efficiency of nitrogen fertilizer in agricultural ecosystem has caused serious economic and environmental issues. Dicyandiamide (DCD) is a widely used nitrification inhibitor, which can inhibit nitrification via affecting ammonia oxidizing microorganisms with minimal influence on other soil microorganisms, thereby reducing the leaching of nitrate and emission of greenhouse gases. The factors influencing the efficiency of DCD in soil include soil temperature, pH, texture, organic matter, moisture, etc. Recently, the application of molecular methods in agricultural systems has shed new light on the microbial mechanism underlying nitrification inhibition by DCD. In this review, the enzymatic inhibition mechanism, the application effects and their influence factors of DCD were summarized, and the prospects of its application were discussed as well.

**Key words:** nitrification inhibitor; dicyandiamide (DCD); inhibition mechanism; inhibition effect; nitrogen fertilizer efficiency.

20 世纪初, 自哈勃-波希 (Haber-Bosch) 制氮法建立以来, 这一工业固氮的新工艺在过去 100 多年里得到了大力发展, 为农业生产提供了大量氮肥并大幅度地提高了农产品产量<sup>[1]</sup>. 尽管人造氮(N)肥使农业发展受益颇丰, 但其带来的环境问题却在近几十年里越来越严重<sup>[2]</sup>. 过量氮肥在农田土壤中经过土壤微生物的硝化作用转化为硝态氮(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), 容易随着灌溉或雨水淋失, 对地下水或湖泊海洋造成

污染; 进一步由反硝化微生物转化为一系列氮氧化气体(如 N<sub>2</sub>O)排放到大气中, 对全球气候变化带来不利影响. 在世界范围内 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 的淋溶和温室气体 N<sub>2</sub>O 的排放对水体、大气和土壤等环境造成了严重污染<sup>[3]</sup>. 例如, 在欧洲, 农业地区收集到的地下水样中硝态氮浓度有 22% 超过了世界卫生组织饮用水标准(11.3 mg N · L<sup>-1</sup>)<sup>[4]</sup>; 而在中国, 从华北平原收集到的 600 份水井地下水样的硝态氮浓度有 45% 超过了世界卫生组织饮用水标准, 且最高浓度达到 113 mg N · L<sup>-1</sup><sup>[5]</sup>. 此外, 全球每年约有 17.7 Tg N<sub>2</sub>O 排放到大气中<sup>[6]</sup>, 农业生态系统中 N 肥的大量施入

\* 国家自然科学基金项目(41020114001, 41371265)和国家重点实验室重要方向项目(SKLURE2008-1-03)资助.

\*\* 通讯作者. E-mail: jpshe@cees.ac.cn

2013-05-02 收稿, 2013-11-03 接受.

使该过程大大加快,联合国政府间气候变化专门委员会第4次评估报告表明,全球范围内农业排放的 $N_2O$ 总量占人为排放量的60%<sup>[7]</sup>,而在德国农业生态环境中 $N_2O$ 的排放总量占人为排放量的比例已高达67.4%<sup>[8]</sup>.可见,提高农业生产中氮肥的利用效率是目前亟待解决的问题.

为提高氮肥利用率,国内外一直在改进施肥方法、优化配方施肥和加强田间管理等方面进行着大量研究,其中研发缓控释肥料和含氮肥增效剂的稳定肥料日益成为研究热点<sup>[9-10]</sup>.氮肥增效剂是一类进入土壤后能影响土壤生化环境、调节土壤酶活性、影响土壤微生物对氮肥作用、降低氮素损失的化学物质<sup>[10]</sup>.硝化抑制剂(nitrification inhibitor, NI)是氮肥增效剂的一种,它可以在一段时期有效抑制土壤氨氧化微生物活性从而推迟氨的氧化.硝化抑制剂可抑制硝态氮的产生使得土壤中氮主要以铵态氮形式存在,以延长或者调整氮供应时间,防止硝态氮通过反硝化作用损失,从而增加土壤的氮肥利用率<sup>[9]</sup>.常见的几种硝化抑制剂包括:双氰胺(dicyandiamide, DCD)、2-氯-6-(三氯甲基)吡啶(nitrapyrin)、1-甲基吡唑-1-羧酰胺(CMP)、3-甲基吡唑(MP)、4-氨基三唑(AM/AT/ATC)、硫脲(TU)和3,4-二甲基吡唑磷酸盐(DMPP)<sup>[11]</sup>.有关硝化抑制剂的应用研究越来越多,对硝化抑制剂的研究进展也有一些报道,但多偏重于介绍早期硝化抑制剂的应用效果<sup>[11-12]</sup>,从微生物学机制分析双氰胺应用效果和影响因素的研究进展还较少.近些年,国内外有较多使用硝化抑制剂双氰胺来控制土壤氮素损失的相关研究<sup>[13-20]</sup>.本文系统综述硝化抑制剂双氰胺的最新研究成果,为更好地了解和使用双氰胺提供科学依据.

## 1 硝化抑制剂双氰胺的酶学作用机理

双氰胺(DCD)又称二氰二氨或二聚氰胺,是氰胺的二聚体,也是胍的氨基衍生物,于1881年首先通过蒸发氰胺水溶液,由氰胺二聚而成,现以石灰氮为原料生产<sup>[21]</sup>.DCD是重要的有机精细化工原料,广泛用于制作医药、塑料、化工助剂、染料和化肥增效剂等<sup>[22]</sup>.尽管DCD有很广的用途,但作为氮肥的硝化抑制剂则是近几十年才日益受到国内外研究者的关注.与其他硝化抑制剂相比,DCD具有较好的硝化抑制作用,其理化性质稳定,并具有水溶性、弱挥发性、降解完全性、经济高效性等优点<sup>[23]</sup>.

铵态氮肥施入土壤后,在氨氧化微生物的作用

下将 $NH_3$ 氧化为 $NO_2^-$ ,继而生成 $NO_3^-$ .氨氧化过程是硝化作用的关键步骤,也是限速步骤.这一过程早期认为主要由氨氧化细菌(ammonia oxidizing bacteria, AOB)介导<sup>[24]</sup>.随着分子生物学技术的发展,Venter等<sup>[25]</sup>于2004年发现Sargasso海的宏基因组文库中存在新的泉古菌氨单加氧酶基因(*amoA*)序列,这一现象随后在土壤中也被发现<sup>[26]</sup>.此后,第一株泉古菌*Nitrosopumilus maritimus*被成功从海水中分离出来,该菌具有氨单加氧酶基因的所有成员,且以氨为唯一能源进行自养生长;这一发现引起了广泛关注,在随后的几年里越来越多的研究表明,这种具有氨氧化功能的古菌广泛地存在于各种生境中,并将这类微生物称为氨氧化古菌(ammonia oxidizing archaea, AOA)<sup>[24]</sup>,而且在2008年将这类古菌专门归入奇古菌门,属于古菌中的第3个主要类群<sup>[27]</sup>.虽然AOB和AOA均含有氨单加氧酶(ammonia mono-oxygenase, AMO),但AOA中不具有羟胺氧化还原酶(hydroxylamine oxidoreductase, HAO),其可能通过氧化硝酰氢化物(nitroxyl hydride, HNO)将底物氨完全氧化成亚硝酸盐<sup>[28]</sup>.

分子生物学技术的快速发展使得一些研究开始从基因水平关注DCD对微生物数量的影响.在新西兰高氮土壤中,研究发现AOB为土壤硝化过程的主要贡献者,其数量因DCD施用而明显减低,而对AOA*amoA*基因和甲烷氧化菌的丰度均无明显作用<sup>[18,29-32]</sup>.Zhang等<sup>[33]</sup>发现,中国酸性土壤中的氨氧化过程主要由AOA介导,并首次指出DCD可有效降低AOA的数量,而且完全抑制其氧化 $NH_3$ 和固定 $CO_2$ 的活性,对AOB则没有显著影响.杨扬等<sup>[34]</sup>指出,DCD处理可显著减少两种菜地土壤中AOB的丰度,而对细菌16S rRNA和反硝化基因*nirK*的丰度没有显著影响.施用DCD 7年的土壤中细菌和古菌16S rRNA基因丰度也与未施用土壤无显著差异<sup>[35]</sup>.可见,DCD在研究氮循环过程,特别是氨氧化过程的微生物机制方面提供了重要的信息和研究思路.DCD的靶向性很强,对其他微生物并无显著抑制或者毒害作用.

DCD可高效专性抑制氨氧化细菌*Nitrosomonas europaea*,它只是抑制该菌的活性并不将其杀死<sup>[36]</sup>.其抑制机理可能为DCD结构中的氨基( $-NH_2$ )和亚氨基( $=NH$ )具有与 $NH_3$ 相似的结构,其很可能竞争性地结合氨单加氧酶AMO上氧化 $NH_3$ 的活性位点,使其失去吸收和利用 $NH_3$ 的能力<sup>[33,36-37]</sup>;也有报道指出其功能团 $C\equiv N$ 可与菌体呼吸酶中的巯基或重

金属基团发生反应从而抑制其活性<sup>[36]</sup>,更深入的作用机理还有待进一步研究。

大部分研究表明,DCD 在田间建议浓度范围内仅对参与氨氧化过程的微生物具有明显抑制作用,对其他微生物的活性均无显著影响。1980 年,陈松生等<sup>[38]</sup>通过纯菌培养发现,双氰胺  $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  可抑制亚硝酸菌达 40% 以上, $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  抑制率达 91.4%, $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  抑制率为 96.7%, $50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  完全抑制。Tindaon 等<sup>[39]</sup>发现,DCD 对土壤脱氨酶和二甲基亚砷还原酶的平均半数致失活浓度分别高达 5649 和 4032  $\text{mg DCD} \cdot \text{kg}^{-1}$  干土,分别为田间推荐使用浓度的 500 多倍和 400 多倍。Guo 等<sup>[35]</sup>研究表明,虽然经过 7 年 DCD 处理的 3 种土壤微生物生物量碳、微生物生物量氮、蛋白酶活性和脱氨基酶活性在不同土壤间差异显著,但 DCD 在施用的 7 年间对这些微生物相关指标没有显著影响。

## 2 硝化抑制剂双氰胺的应用效果

### 2.1 对土壤硝酸盐淋溶和氧化亚氮排放的影响

农田生态系统中氮肥的过量施用带来了一系列严重的环境问题,其中土壤硝酸盐的淋溶损失和氧化亚氮的过量排放对环境造成的危害尤为突出<sup>[3,12]</sup>。通过使用 DCD 作为硝化抑制剂来控制硝酸盐的淋溶和氧化亚氮的排放,取得了良好的效果。新西兰林肯大学 Di 等<sup>[13-17,20,29]</sup>通过十多年的系统研究发现,向添加高浓度氮肥的新西兰放牧草地土壤中喷施水溶态的 DCD 可减少 42% ~ 83% 的硝酸盐淋失,而且可降低 40% ~ 82% 的  $\text{N}_2\text{O}$  总排放量(表 1),DCD 对硝酸盐淋失和  $\text{N}_2\text{O}$  总排放量的平均抑制率分别达 61% 和 67%,抑制效果显著。DCD 对硝酸盐淋失和  $\text{N}_2\text{O}$  总排放量的抑制能力受氮肥和 DCD 的用量<sup>[16-17]</sup>、使用季节<sup>[13,40]</sup>、土壤种类<sup>[20,29]</sup> 和降水

表 1 DCD 不同用量对新西兰放牧草地土壤  $\text{NO}_3^-$ -N 淋溶和  $\text{N}_2\text{O}$  总排放的影响

Table 1 Impact of different DCD application rates on  $\text{NO}_3^-$ -N leaching and  $\text{N}_2\text{O}$  emission from grazed pasture soils in New Zealand

施氮量 N application rate ( $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ )	DCD 用量 DCD application rate ( $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ )	季节 Season	土壤类型 Soil type	硝态氮 $\text{NO}_3^-$ -N		氧化亚氮 $\text{N}_2\text{O}$		文献 Reference
				淋溶量 Leaching amount ( $\text{kg N} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ )	DCD 的抑制率 Reduction of $\text{NO}_3^-$ -N leaching by DCD (%)	总排放量 Total emission ( $\text{kg N} \cdot \text{hm}^{-2}$ )	DCD 的抑制率 Reduction of $\text{N}_2\text{O}$ -N emission by DCD (%)	
1200	75	秋季 Autumn	石粉质壤土	502	76	a)	-	[13]
	45	春季 Spring	Stony silt loam soil	397	42	46.0(4) <sup>b)</sup>	82	
	20	秋季 Autumn		-	-	26.7(6)	76	[14]
	47.5	春季 Spring		-	-	18.0(3)	78	
	20	秋季 Autumn	细砂壤土 Fine sandy loam soil	134	68	-	-	[15]
	15、20、30	秋季 Autumn	石粉质壤土 Stony silt loam soil	-	-	23.1(3)	65、70、73	[16]
	20	春季 Spring		-	-	31.0(6)	73	
	20	秋季 Autumn	细砂壤土 Fine sandy loam soil	-	-	37.4(3)	61	
	20	秋季 Autumn	新砂质壤土 Recent sandy loam soil	122.9、 67.7 <sup>c)</sup>	71、56	-	-	[29]
300、700、1000	20	秋季 Autumn	石粉质壤土 Stony silt loam soil	59.7、188.1、 254.9	83、60、 45	-	-	[17]
1000	20	秋季 Autumn	石粉质壤土 Stony silt loam soil	-	-	8.7(5)	67	[20]
	10	春季 Spring	浮石砂土 Pumice sand soil	-	-	1.0(2)	69	
0、1000	10	夏季 Summer	细砂壤土	-	-	0.2、7.8(4)	70、40	[40]
	10	冬季 Winter	Fine sandy loam soil	-	-	0.5、 12.7(5)	61、67	

a) 没有相关数据 No data; b) 括号里为  $\text{N}_2\text{O}$  总排放量的统计时长(月) The time period (month) in the brackets is used for calculating the total  $\text{N}_2\text{O}$ -N emission; c) 两个不同的降水量处理(1260、2145 mm)对应的淋溶量 The leaching amount corresponding to two different rainfall treatments (1260 and 2145 mm).

量<sup>[29]</sup>等因素影响(表1). 一般而言,在放牧草地系统中,DCD与牛尿同时施用,与施用牛尿后5 d再喷施DCD<sup>[41]</sup>相比,同时施用对 $\text{NH}_3$ 挥发、 $\text{N}_2\text{O}$ 排放和 $\text{NO}_3^-$ 淋失的抑制效果更好;也有研究发现,施用牛尿10 d后再喷施DCD,其抑制效果与两者同时施用相比无显著差异<sup>[16]</sup>. De Klein等<sup>[42]</sup>发现,DCD在同一地区连续施用4或5年后,其对牛尿排泄区土壤 $\text{N}_2\text{O}$ 排放的抑制效果仍然很好,而DCD对土壤 $\text{N}_2\text{O}$ 排放因子 $\text{EF}_3$ ( $\text{N}_2\text{O}$ 排放量占所施尿素的百分比)的抑制率在首次施用DCD的区域和连续4年施用DCD的区域分别为70%和61%. 此外,DCD还能有效减少小麦、水稻、玉米和蔬菜等作物生产过程中土壤硝酸盐的淋溶损失和氧化亚氮的排放. Boeckx等<sup>[43]</sup>通过室内盆栽小麦和水稻后发现,相对于仅施尿素的处理,添加DCD可减少小麦旱作土壤22%的 $\text{N}_2\text{O}$ 总排放量,还可减少水稻土壤47%的 $\text{N}_2\text{O}$ 总排放量. Ding等<sup>[44]</sup>通过玉米田间试验发现,DCD的添加能够减少土壤39%的 $\text{N}_2\text{O}$ 总排放量. 另有研究表明,辣椒、苋菜和小萝卜轮作的两种土壤中添加DCD后,其硝酸盐淋溶量分别降低59%和36%, $\text{N}_2\text{O}$ 总排放量分别降低68%和62%<sup>[45]</sup>.

## 2.2 对作物产量和品质的影响

过量施用氮肥会造成作物产量和品质下降,其中作物对硝酸盐的过量吸收最引人关注. 作物硝酸盐超标不仅对其本身造成危害或品质下降,还会通过食物链被人畜吸收,带来直接或者潜在的健康风险<sup>[46]</sup>. 大量研究证实,硝化抑制剂DCD的施用可显著提高作物产量,并能一定程度改善作物品质,提高其食用的安全性(表2). 有研究发现,将DCD与高浓度牛尿共施可显著提高牧草产量,增幅高达42%,而且DCD能显著提高牧草的氮吸收量,最多可达46%<sup>[47]</sup>. 这说明DCD可将大部分氮肥保持在土壤中供牧草生长和吸收,显著提高了氮肥的利用率<sup>[15,17,47]</sup>. 虽然DCD可提高牧草对土壤氮素的吸收,但其并不能影响牧草中硝酸盐的含量,相反DCD可显著抑制牧草对硝态氮的吸收,抑制率高达87%<sup>[47-48]</sup>. 这主要是因为DCD可抑制土壤中铵态氮氧化成硝态氮<sup>[36]</sup>,大幅度降低了土壤中硝态氮浓度;另一方面,牧草在低温时更偏向于吸收铵态氮,属于喜铵作物<sup>[49-50]</sup>,这也使其总氮吸收量因为铵态氮的增加而增加,而硝态氮含量下降. 此外,DCD对牧草氮素和其他养分含量无显著影响的情况下,牧草干质量的增加是其对这些营养元素总吸收量增加的主要原因<sup>[48]</sup>. DCD对水稻、玉米和小白菜的生长

表2 DCD不同用量对作物产量和品质的影响

Table 2 Impact of different DCD application rates on the yield and quality of crops

施氮量 N application rate ( $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ )	DCD施用量 DCD application rate ( $\text{kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ )	土壤类型 Soil type	作物 Crop	作物产量 (干质量) Crop yield (DM)	增产率 Increase rate (%)	对作物营养元素吸收和 品质的影响 Effects of crop nutrient uptake and quality	参考文献 Reference
1200	平均60	石粉质壤土 Stony silt loam soil	牧草 Pastures	平均 11.0 t $\text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$	平均36	平均提高15%的氮吸收量	[13]
	20	细砂壤土 Fine sandy loam soil	牧草 Pastures	15.3 t $\text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$	33	提高39%的氮吸收量	[15]
	20 <sup>a)</sup>	粉砂壤土 Silt loam soil	牧草 Pastures	11.6、10.0、 13.3、14.9 t $\text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$	30、24、36、 24	平均提高N、Ca、Mg和K 27%、23%、24%和29%的吸 收量;对干物质质量、蛋白质含 量、碳水化合物含量以及兆 焦耳值无显著影响,显著降 低其 $\text{NO}_3^-$ -N含量	[48]
300、700、1000	20	石粉质壤土 Stony silt loam soil	牧草 Pastures	10.8、13.9、 19.7 t $\text{hm}^{-2}$	19、35、18	分别提高33%、43%和 33%的氮吸收量	[17]
1050	20 <sup>b)</sup>	砂质壤土 Sandy loam soil	牧草 Pastures	18.1、19.1 t $\text{hm}^{-2}$	39、42	分别提高60%和46%的氮 总吸收量;分别降低牧草 $\text{NO}_3^-$ -N含量54%和87%	[47]
825	8、16、24、 32	水田 Paddy soil	水稻 Rice	8.1 t $\text{hm}^{-2}$	12、14、13、 13	平均提高水稻每穴穗数和 每穗粒数7%和2%	
450	16.5、 33.0、49.5	旱田 Dryland soil	玉米 Maize	9.2 t $\text{hm}^{-2}$	3、7、5	平均提高玉米穗重和穗粒 重5%和11%	[51]
2.24 <sup>c)</sup>	0.314 <sup>c)</sup>	灰黄泥菜园土 Gray yellow clayed garden soil	小白菜 Cabbage	44.1 g $\text{pot}^{-1}$	29	提高38%的氮吸收量;降低 植株硝酸盐含量	[52]

a) 2002—2003, 2003—2004, 2004—2005, 2005—2006 连续4年的试验数据 Data from four consecutive years (from 2002—2003 to 2005—2006); b) 5月和8月两次施肥的试验数据 Data from two different application months of May and August; c) 单位为 $\text{g} \cdot \text{pot}^{-1}$  The units were  $\text{g} \cdot \text{pot}^{-1}$ .

也有促进作用<sup>[51-52]</sup>,不仅能够提高产量,而且可以通过增加穗数、穗质量或氮吸收量等方式来提高品质。此外,Cui等<sup>[45]</sup>报道,DCD可显著增加黄棕壤土中辣椒和小萝卜的产量,并且可以显著增加黄棕壤土中辣椒果实、苋菜、小萝卜及小萝卜叶片的总氮含量,还可以显著增加潮土中辣椒植株、苋菜、小萝卜叶片的总氮含量。以上研究表明,DCD作为硝化抑制剂在不同农业生态系统中已得到一定程度的应用,同时可提高作物产量并改善作物品质。另外,也有少量报道指出DCD对作物产量或品质没有显著影响<sup>[40,53-54]</sup>,这可能与氮肥和DCD施用量、土壤类型、气候条件以及作物种类等因素有关,其原因还有待深入研究,以探明不同土壤和气候条件下DCD的作用效果,从而优化DCD的施用条件。

### 3 双氰胺应用效果的影响因素

#### 3.1 土壤温度

土壤温度通过影响DCD的降解速率来影响其硝化抑制效果及有效抑制时间。大量研究表明,随着温度升高DCD的降解常数增大,分解也随之加快,挥发损失增多。Guiraud和Marol<sup>[55]</sup>发现,15℃以下DCD的硝化抑制率高达80%,其抑制效果可持续6个月,而随着温度的升高其抑制效果显著降低。有研究表明,8℃下,DCD的半衰期为111~116 d,而温度增加到20℃时,其半衰期则降为18~25 d<sup>[56]</sup>。史云峰等<sup>[57]</sup>研究DCD在砖红壤中硝化抑制效果时发现,培养温度由10℃升高到30℃,硝化抑制作用持续时间由90 d下降为30 d。还有一些研究发现,DCD在秋季和冬季施用其抑制效果比在春季和夏季好<sup>[13,20,40]</sup>,这主要是由不同季节温度不同引起的,春夏平均气温高于秋冬,而且秋冬两季的气候条件更有利于土壤硝态氮淋失和N<sub>2</sub>O排放,为DCD更好地发挥作用提供了机会。

#### 3.2 土壤pH值

土壤pH值与DCD关系密切,相互影响,pH值对DCD抑制效果的影响较复杂。一般来说,pH值高的地方AOB活性强<sup>[18]</sup>,土壤硝化活性高,更有利于DCD发挥作用。同时,DCD的添加能够使土壤中氮素以NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N形式保留很长一段时间,从而使土壤pH值升高<sup>[58]</sup>。然而铵态氮形式的氮在土壤中大量存在易导致氮素以氨气形式挥发损失,且氨挥发在碱性土壤中更易发生<sup>[59]</sup>,从而降低了DCD的应用效果。Kim等<sup>[60]</sup>对1970—2010年间21篇文献中的46组数据进行统计分析,发现添加DCD后土壤氮

素以NH<sub>3</sub>形式挥发损失主要与土壤pH值和阳离子交换量(CEC)相关,pH值越高或CEC越低,NH<sub>3</sub>挥发量越大;他们收集的部分数据还表明,DCD对土壤NH<sub>3</sub>挥发无显著影响甚至可以减少土壤NH<sub>3</sub>挥发。史云峰等<sup>[57]</sup>发现,土壤pH值越低,DCD的硝化抑制效果越好且其抑制时间也越长。Zhang等<sup>[61]</sup>研究表明,在pH<2或pH>5的情况下DCD容易被吸附,从而有利于其在土壤中存留,起到延长抑制时间的作用。他们指出,DCD分子在土壤溶液中大部分以中性形式存在,在酸性条件下可被H<sup>+</sup>质子转化成DCD<sup>+</sup>,从而易被土壤中的有机质或硅质粘粒吸附;在碱性条件下可在OH<sup>-</sup>存在的情况下发生酸中和反应转化为DCD<sup>-</sup>,从而易被土壤中的金属氧化物吸附。

#### 3.3 土壤质地和有机质含量

不同土壤质地对DCD应用效果的影响也需要综合考虑。一般而言,在细质地土壤上,由于氮损失相对较小,且微生物含量丰富有利于DCD降解,因而DCD的作用不明显;而粗质地土壤利于氧气和雨水交换,从而易导致氮素以N<sub>2</sub>O或硝态氮形式损失,这时施用DCD则可有效保持氮肥<sup>[20]</sup>。一些研究表明,土壤中添加秸秆等有机质能显著降低DCD的硝化抑制效果<sup>[57]</sup>,甚至导致氮素大量挥发损失<sup>[59]</sup>。

另一方面,土壤有机质和粘粒含量高有利于DCD的吸附和固定,从而延长其使用时间。Zhang等<sup>[61]</sup>研究表明,森林草原土的有机质、阳离子交换量(CEC)及金属氧化物含量均高于另一种棕壤土,前者在不同pH梯度下对DCD的吸附能力明显高于后者。Singh等<sup>[62]</sup>报道,3种不同类型的土壤中DCD降解速率随土壤粉粒含量的降低而升高,且DCD对N<sub>2</sub>O的抑制率在粉粒含量最高的粉砂壤土中最强,其他两种土壤为砂粒含量较高的砂质壤土。因此需要综合考虑土壤质地对DCD的影响,来优化其应用效果。

#### 3.4 土壤水分和氧气含量

土壤水分和氧气含量不仅可通过影响土壤中氮循环相关微生物的活性间接影响DCD的应用效果,还能通过影响DCD在土壤中的存留时间及降解速率直接影响其应用效果。高降水量会降低DCD对土壤硝态氮淋溶的抑制率,这可能是由于水分含量高导致土壤中氧气含量少,从而抑制氨氧化过程,促进反硝化过程,使氮素更多以N<sub>2</sub>O的形式损失<sup>[29]</sup>。此外,在1140和2280 mm·a<sup>-1</sup>两种降水量处理下3种土壤淋溶液年排放量为422~1292 mm,DCD的淋

失量占施用量的比例为12%~46%<sup>[63]</sup>.可见高降水量会使DCD从土壤中淋失,从而减少其抑制效果并可能对地下水造成污染.史云峰等<sup>[57]</sup>发现,高含水量会降低DCD的抑制效果,并指出土壤含水量为12%时,硝化抑制作用可持续90d,而当含水量增至24%时,其抑制效果只能持续60d.

### 3.5 其他因素

影响DCD应用效果的因素还包括DCD施用量、氮肥种类、作物种类以及栽培管理措施等.一般来说,DCD的硝化抑制效果随其施用量和施用次数的增加而增加<sup>[13-14,16]</sup>.此外,一定范围内,DCD的抑制效果随氮肥施用浓度的增加而增加<sup>[32]</sup>.为了使DCD的硝化抑制效果更佳,其施用量一般为10~30 kg·hm<sup>-2</sup><sup>[15,23]</sup>.在新西兰草地生态系统中DCD的施用量推荐为10 kg·hm<sup>-2</sup>,于春季和秋季各施1次<sup>[15,17,29]</sup>.DCD在铵肥中的应用效果高于其在硝基肥中的应用效果<sup>[64]</sup>,一般建议选用尿素作为氮肥与DCD配施.氮源对DCD抑制效果的影响,可能与不同形态的氮肥施入土壤后引起的土壤pH值及土壤氮素硝化速率变化有关.不同作物对氮形态的喜好不同,由于DCD抑制铵态氮转化为硝态氮,因而相对于喜硝作物而言,DCD对喜铵作物的应用效果会更好<sup>[65]</sup>.DCD和氮肥的施肥方式及施肥时间<sup>[41]</sup>等栽培管理措施对DCD的应用效果影响显著.与常规固体播撒方法相比,喷施水溶态的尿素<sup>[59]</sup>和DCD<sup>[48]</sup>可以提高氮肥的利用率,减少环境污染.

综上所述,DCD在硝态氮易淋失、反硝化强烈而质地粗的土壤中的施用效果显著;而在强碱性土壤、温度高、蒸发量大的环境中,其应用效果较差,甚至造成不好的影响.因此,要根据气候、土壤、植物种类等实际情况合理和科学地使用DCD,这样才能使DCD发挥最好的功效.

## 4 展 望

世界各国对硝化抑制剂双氰胺已进行了一些研究,但其在农业生产上的应用还远远不够,主要在新西兰得到了集约化的推广和使用.为了更好地利用DCD提高氮肥利用率并减少氮肥对环境的污染,需要从以下几方面加强研究:1)虽然双氰胺被认为是低毒或无毒的物质,但其在食品(如牛奶)中缺乏国际公认的最低浓度标准.需要加快其国际标准的制定和公示,以便在全球范围内推广使用;2)DCD对土壤硝化作用的抑制机理并没有一个明确的解释,应使用基因组学和蛋白质组学的新理论和新方法进

一步研究DCD的硝化抑制机理,为其应用提供更详尽准确的理论支持;3)DCD的施用可能会引起部分土壤氮素以氨气的形式挥发损失,对于DCD施用土壤氨挥发过程的影响因素尚不明确,应该加强这方面的研究,为更好地控制土壤氨挥发提供技术支持;4)DCD的价格较高,应该优化其生产工艺,降低其生产成本,让其更容易在发展中国家推广应用并创造更大的经济和环境效益.总之,对DCD开展更全面、更深入的调查和研究,通过了解其应用效果和抑制机理,并挖掘其应用潜能和应用范围,可以为其在农业生态系统中的推广和使用提供理论依据和技术支持.

### 参考文献

- [1] Galloway JN, Townsend AR, Erisman JW, *et al.* Transformation of the nitrogen cycle: Recent trends, questions, and potential solutions. *Science*, 2008, **320**: 889-892
- [2] Sutton MA, Reis S, Bahl KB. Reactive nitrogen in agroecosystems: Integration with greenhouse gas interactions. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2009, **133**: 135-138
- [3] Schlesinger WH. On the fate of anthropogenic nitrogen. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, **106**: 203-208
- [4] Schiedek T, Beier M, Ehardt G. An integrative method to quantify contaminant fluxes in the groundwater of urban areas. *Journal of Soils and Sediments*, 2007, **7**: 261-269
- [5] Zhang W, Tian Z, Zhang N, *et al.* Nitrate pollution of groundwater in northern China. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 1996, **59**: 223-231
- [6] Wuebbles DJ. Nitrous oxide: No laughing matter. *Science*, 2009, **326**: 56-57
- [7] IPCC. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Contribution of Working Groups I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change. Geneva, Switzerland: IPCC Secretariat, 2007
- [8] Möller K, Stinner W. Effects of different manuring systems with and without biogas digestion on soil mineral nitrogen content and on gaseous nitrogen losses (ammonia, nitrous oxides). *European Journal of Agronomy*, 2009, **30**: 1-16
- [9] Trenkel ME. Controlled-release and Stabilized Fertilizers in Agriculture. Paris: International Fertilizer Industry Association, 1997
- [10] He W-M (何威明), Bao W-K (保万魁), Wang X (王旭). Research advances on nitrogen fertilizer synergist and its effect evaluation. *Soils and Fertilizers Sciences in China* (中国土壤与肥料), 2011(3): 1-7 (in Chinese)
- [11] Sun A-W (孙爱文), Shi Y-L (石元亮), Zhang D-S (张德生), *et al.* Application of nitrification-urease inhibitors in agriculture. *Chinese Journal of Soil Science* (土壤通报), 2004, **35**(3): 357-361 (in Chinese)

- [12] Huang Y-Z (黄益宗), Feng Z-W (冯宗炜), Wang X-K (王效科), *et al.* Research progress of nitrification inhibitors applied in agriculture. *Chinese Journal of Soil Science* (土壤通报), 2002, **33**(4): 310-315 (in Chinese)
- [13] Di HJ, Cameron KC. The use of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), to decrease nitrate leaching and nitrous oxide emissions in a simulated grazed and irrigated grassland. *Soil Use and Management*, 2002, **18**: 395-403
- [14] Di HJ, Cameron KC. Mitigation of nitrous oxide emissions in spray-irrigated grazed grassland by treating the soil with dicyandiamide, a nitrification inhibitor. *Soil Use and Management*, 2003, **19**: 284-290
- [15] Di HJ, Cameron KC. Reducing environmental impacts of agriculture by using a fine particle suspension nitrification inhibitor to decrease nitrate leaching from grazed pastures. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2005, **109**: 202-212
- [16] Di HJ, Cameron KC. Nitrous oxide emissions from two dairy pasture soils as affected by different rates of a fine particle suspension nitrification inhibitor, dicyandiamide. *Biology and Fertility of Soils*, 2006, **42**: 472-480
- [17] Di HJ, Cameron KC. Nitrate leaching losses and pasture yields as affected by different rates of animal urine nitrogen returns and application of a nitrification inhibitor: A lysimeter study. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2007, **79**: 281-290
- [18] Di HJ, Cameron KC, Shen JP, *et al.* Nitrification driven by bacteria and not archaea in nitrogen-rich grassland soils. *Nature Geoscience*, 2009, **2**: 621-624
- [19] Di HJ, Cameron KC, Shen JP, *et al.* Ammonia-oxidizing bacteria and archaea grow under contrasting soil nitrogen conditions. *FEMS Microbiology Ecology*, 2010, **72**: 386-394
- [20] Di HJ, Cameron KC, Sherlock RR. Comparison of the effectiveness of a nitrification inhibitor, dicyandiamide, in reducing nitrous oxide emissions in four different soils under different climatic and management conditions. *Soil Use and Management*, 2007, **23**: 1-9
- [21] Zhou J-P (周靖平), Jin N-Z (金念祖). The dicyandiamide and its determination. *Chinese Journal of Health Laboratory Technology* (中国卫生检验杂志), 2007, **17**(10): 1921-1922 (in Chinese)
- [22] Hu P-Z (胡培忠). The dicyandiamide and its downstream products. *Chemical Engineering Design* (化工设计), 1997, **7**(2): 57-60 (in Chinese)
- [23] Li X-L (李香兰), Xu H (徐华), Cai Z-C (蔡祖聪). Effect of combined use of hydroquinone and dicyandiamide on CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O emissions from rice paddy field: A review. *Acta Pedologica Sinica* (土壤学报), 2009, **46**(5): 917-924 (in Chinese)
- [24] He J-Z (贺纪正), Zhang L-M (张丽梅). Advances in ammonia-oxidizing microorganisms and global nitrogen cycle. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2009, **29**(1): 406-415 (in Chinese)
- [25] Venter JC, Remington K, Heidelberg JF, *et al.* Environmental genome shotgun sequencing of the Sargasso Sea. *Science*, 2004, **304**: 66-74
- [26] Leininger S, Urich T, Schloter M, *et al.* Archaea predominate among ammonia-oxidizing prokaryotes in soils. *Nature*, 2006, **442**: 806-809
- [27] Zhang L-M (张丽梅), He J-Z (贺纪正). A novel archaeal phylum: Thaumarchaeota: A review. *Acta Microbiologica Sinica* (微生物学报), 2012, **52**(4): 411-421 (in Chinese)
- [28] Walker C, De La Torre J, Klotz M, *et al.* *Nitrosopumilus maritimus* genome reveals unique mechanisms for nitrification and autotrophy in globally distributed marine crenarchaea. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, **107**: 8818-8823
- [29] Di HJ, Cameron KC, Shen JP, *et al.* A lysimeter study of nitrate leaching from grazed grassland as affected by a nitrification inhibitor, dicyandiamide, and relationships with ammonia oxidizing bacteria and archaea. *Soil Use and Management*, 2009, **25**: 454-461
- [30] Di HJ, Cameron KC, Shen JP, *et al.* Methanotroph abundance not affected by applications of animal urine and a nitrification inhibitor, dicyandiamide, in six grazed grassland soils. *Journal of Soils and Sediments*, 2011, **11**: 432-439
- [31] O'callaghan M, Gerard EM, Carter PE, *et al.* Effect of the nitrification inhibitor dicyandiamide (DCD) on microbial communities in a pasture soil amended with bovine urine. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, **42**: 1425-1436
- [32] Dai Y, Di HJ, Cameron KC, *et al.* Effects of nitrogen application rate and a nitrification inhibitor dicyandiamide on ammonia oxidizers and N<sub>2</sub>O emissions in a grazed pasture soil. *Science of the Total Environment*, 2013, **465**: 125-135
- [33] Zhang LM, Hu HW, Shen JP, *et al.* Ammonia-oxidizing archaea have more important role than ammonia-oxidizing bacteria in ammonia oxidation of strongly acidic soils. *The ISME Journal*, 2012, **6**: 1032-1045
- [34] Yang Y (杨扬), Meng D-L (孟德龙), Qin H-L (秦红灵), *et al.* Mechanism of nitrification inhibitor on nitrogen-transformation bacteria in vegetable soil. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报), 2012, **32**(21): 6803-6810 (in Chinese)
- [35] Guo YJ, Di HJ, Cameron KC, *et al.* Effect of 7-year application of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), on soil microbial biomass, protease and deaminase activities, and the abundance of bacteria and archaea in pasture soils. *Journal of Soils and Sediments*, 2013, **13**: 753-759
- [36] Amberger A. Research on dicyandiamide as a nitrification inhibitor and future outlook. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 1989, **20**: 1933-1955
- [37] Zacherl B, Amberger A. Effect of the nitrification inhibitors dicyandiamide, nitrapyrin and thiourea on *Nitrosomonas europaea*. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 1990, **22**: 37-44
- [38] Chen S-S (陈松生), Li H-Z (李惠珍), Cai F-J (蔡方井). Effect of dicyandiamide as nitrogen fertilizer synergist on soil microbes. *Journal of Fujian Normal University (Natural Science)* (福建师范大学学报·自然科学版), 1980(2): 103-106 (in Chinese)
- [39] Tindaon F, Benckiser G, Ottow JC. Evaluation of ecological doses of the nitrification inhibitors 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) and 4-chloromethylpyrazole (CIMP) in comparison to dicyandiamide

- (DCD) in their effects on dehydrogenase and dimethyl sulfoxide reductase activity in soils. *Biology and Fertility of Soils*, 2012, **48**: 643–650
- [40] Qiu W, Di HJ, Cameron KC, *et al.* Nitrous oxide emissions from animal urine as affected by season and a nitrification inhibitor dicyandiamide. *Journal of Soils and Sediments*, 2010, **10**: 1229–1235
- [41] Zaman M, Nguyen ML. How application timings of urease and nitrification inhibitors affect N losses from urine patches in pastoral system. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 2012, **156**: 37–48
- [42] De Klein CAM, Cameron KC, Di HJ, *et al.* Repeated annual use of the nitrification inhibitor dicyandiamide (DCD) does not alter its effectiveness in reducing N<sub>2</sub>O emissions from cow urine. *Animal Feed Science and Technology*, 2011, **166/167**: 480–491
- [43] Boeckx P, Xu X, Van Cleemput O. Mitigation of N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> emission from rice and wheat cropping systems using dicyandiamide and hydroquinone. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2005, **72**: 41–49
- [44] Ding WX, Hongyan YY, Cai ZC. Impact of urease and nitrification inhibitors on nitrous oxide emissions from fluvo-aquic soil in the North China Plain. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, **47**: 91–99
- [45] Cui M, Sun X, Hu C, *et al.* Effective mitigation of nitrate leaching and nitrous oxide emissions in intensive vegetable production systems using a nitrification inhibitor, dicyandiamide. *Journal of Soils and Sediments*, 2011, **11**: 722–730
- [46] Wu S-F (伍少福), Wu L-H (吴良欢), Shi Q-W (石其伟). Research progress of nitrification inhibitors on decreasing vegetable nitrate accumulation and its affecting factors. *Chinese Journal of Soil Science* (土壤通报), 2006, **37**(6): 1236–1242 (in Chinese)
- [47] Moir JL, Malcolm BJ, Cameron KC, *et al.* The effect of dicyandiamide on pasture nitrate concentration, yield and N offtake under high N loading in winter and spring. *Grass and Forage Science*, 2012, **67**: 391–402
- [48] Moir JL, Cameron KC, Di HJ. Effects of the nitrification inhibitor dicyandiamide on soil mineral N, pasture yield, nutrient uptake and pasture quality in a grazed pasture system. *Soil Use and Management*, 2007, **23**: 111–120
- [49] Griffith SM, Streeter DJ. Nitrate and ammonium nutrition in ryegrass: Changes in growth and chemical composition under hydroponic conditions. *Journal of Plant Nutrition*, 1994, **17**: 71–81
- [50] Gherardi LA, Sala OE, Yahdjian L. Preference for different inorganic nitrogen forms among plant functional types and species of the Patagonian steppe. *Oecologia*, 2013, **173**: 1075–1081
- [51] Liu J-L (柳金来), Song J-J (宋继娟), Liu R-Q (刘荣清), *et al.* Effect of applying DCD to nitrogen fertilizer on yield performance. *Journal of Jilin Agricultural Sciences* (吉林农业科学), 2003, **28**(4): 36–39 (in Chinese)
- [52] Huang D-F (黄东风), Li W-H (李卫华), Qiu X-X (邱孝煊), *et al.* Effect of nitrate inhibitors on endogenous nitrate metabolism in Chinese cabbage. *Chinese Journal of Eco-Agriculture* (中国生态农业学报), 2012, **20**(1): 28–33 (in Chinese)
- [53] Henning SW, Branham BE, Mulvaney RL. Response of turfgrass to urea-based fertilizers formulated to reduce ammonia volatilization and nitrate conversion. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, **49**: 51–60
- [54] Kawakami EM, Oosterhuis DM, Snider JL, *et al.* Physiological and yield responses of field-grown cotton to application of urea with the urease inhibitor NBPT and the nitrification inhibitor DCD. *European Journal of Agronomy*, 2012, **43**: 147–154
- [55] Guiraud G, Marol C. Influence of temperature on mineralization kinetics with a nitrification inhibitor (mixture of dicyandiamide and ammonium thiosulphate). *Biology and Fertility of Soils*, 1992, **13**: 1–5
- [56] Di HJ, Cameron KC. Effects of temperature and application rate of a nitrification inhibitor, dicyandiamide (DCD), on nitrification rate and microbial biomass in a grazed pasture soil. *Australian Journal of Soil Research*, 2004, **42**: 927–932
- [57] Shi Y-F (史云峰), Zhao M-Q (赵牧秋), Zhang L-L (张丽莉). Research on the factors affecting nitrification inhibition of dicyandiamide (DCD) in latosol. *Journal of Anhui Agricultural Sciences* (安徽农业科学), 2011, **39**(33): 20437–20440 (in Chinese)
- [58] Mao J, Xu RK, Li JY, *et al.* Dicyandiamide enhances liming potential of two legume materials when incubated with an acid Ultisol. *Soil Biology and Biochemistry*, 2010, **42**: 1632–1635
- [59] Mahmood T, Ali R, Latif Z, *et al.* Dicyandiamide increases the fertilizer N loss from an alkaline calcareous soil treated with <sup>15</sup>N-labelled urea under warm climate and under different crops. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, **47**: 619–631
- [60] Kim DG, Saggarr S, Roudier P. The effect of nitrification inhibitors on soil ammonia emissions in nitrogen managed soils: A meta-analysis. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 2012, **93**: 51–64
- [61] Zhang HJ, Wu ZJ, Zhou QX. Dicyandiamide sorption-desorption behavior on soils and peat humus. *Pedosphere*, 2004, **14**: 395–399
- [62] Singh J, Saggarr S, Giltrap D, *et al.* Decomposition of dicyandiamide (DCD) in three contrasting soils and its effect on nitrous oxide emission, soil respiratory activity, and microbial biomass: An incubation study. *Soil Research*, 2008, **46**: 517–525
- [63] Shepherd M, Wyatt J, Welten B. Effect of soil type and rainfall on dicyandiamide concentrations in drainage from lysimeters. *Soil Research*, 2012, **50**: 67–75
- [64] Velthof G, Oenema O, Postma R, *et al.* Effects of type and amount of applied nitrogen fertilizer on nitrous oxide fluxes from intensively managed grassland. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 1996, **46**: 257–267
- [65] Hu Y-Q (胡永全), Zhu Z-L (朱振林), Hu Q (胡清). Lime Nitrogen and Its Derivatives. Beijing: Chemical Industry Press, 2007 (in Chinese)

作者简介 戴宇,男,1984年生,博士研究生。主要从事土壤碳氮转化相关微生物研究。E-mail: setwei07162002@aliyun.com

责任编辑 张凤丽