生物硝化抑制剂——一种控制农田氮素流失的新策略*

曾后清[1]　朱毅勇[1†]　王火焰[2]　沈其荣[1]

(1 南京农业大学资源与环境科学学院,南京　210095)

(2 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所),南京　210008)

摘　要　农业生产中氮肥的施用是影响全球氮素循环的一个重要因素,在促进作物增产的同时,也对生态环境产生了重要的影响。由于铵态氮肥在旱地中很容易经过硝化作用转变为硝态氮,其中一小部分为植物所吸收,而大量的硝态氮被淋失,或经反硝化作用进入大气,造成土壤氮素严重损失。自然界中一些植物的根系能够分泌抑制硝化作用的物质,被称为生物硝化抑制剂,因而可以显著提高土壤氮素利用率。本文阐述了有关生物硝化抑制剂的由来、分泌调节、作用机制及其应用潜力,并探讨了其在农业生产中氮素高效管理等方面的应用前景。

关键词　硝化作用;生物硝化抑制剂;氮素利用率

中图分类号　S145.9　　**文献标识码**　A

世界范围内施用的氮肥有近 90% 是 NH_4^+ 的形式(包括尿素),NH_4^+ 在土壤中被带负电的黏土和土壤有机物功能团所吸附[1-2],因而限制了 NH_4^+ 的流失[2]。但是 NH_4^+ 在土壤中很容易被硝化细菌转化成 NO_3^-[3-4],NO_3^- 带负电,不能被土壤所吸附,因此容易淋失[2]。而且,土壤异养细菌在厌氧或部分厌氧条件下(与强降雨、不合理灌溉导致的水涝等有关)通过反硝化作用可将 NO_3^- 转变成气态 N_2 及 N_2O[5-6]。因此,硝化作用是造成农田氮素损失的一个重要途径[7-10]。

研究表明,大量氮肥的施用,在促进粮食生产的同时,也付出了巨大的代价[11-12]。农业系统中的氮肥有近 70% 被损失[13]。目前世界范围内氮肥施用量已达到每年 1 亿 t,据统计,有近 40% 的氮肥因反硝化成 N_2 及 N_2O 而流失到环境中[14]。大气中 N_2O 的浓度呈不断上升的趋势,其上升与人类活动关系极大。作为一种温室气体,每分子 N_2O 使全球变暖的潜力大约是 CO_2 分子的 300 倍[15-16]。大气中 N_2O 浓度的增加不仅加剧了全球温室效应,而且间接破坏臭氧层并导致地表紫外线辐射增强,对环境潜在的破坏愈加严重[17-18]。此外,农业系统中 NO_3^- 的淋失所造成的氮素损失非常严重,而且 NO_3^- 的淋失还严重污染了地下水和地表水[11,19-21]。所有这些氮素损失均与硝化作用密切相关。维持氮素以 NH_4^+ 的形式存在具有提高农业系统中氮素的吸收利用,即使 NH_4^+ 的吸收会带来根际酸化以及植物对氮素的偏好不同[22]。一些氮肥管理策略,比如春施与秋施、基肥与追肥、带施与撒施、深施与表施、液态喷施、尿素叶施等通过调节肥料施用的比率或时间可以减少硝化作用及 NO_3^- 淋失所造成的氮损失,但是上述农业策略大部分均有局限性,往往会增加劳力消耗和实际操作的难度[23]。缓控氮肥与人工合成的化学抑制剂虽然在提高氮素利用率和减少氮素损失上有一定的功效,但价格昂贵以及多数情况下增产不显著限制了其广泛使用。本文对近年来发现的生物硝化抑制剂在控制农田氮素流失方面的重要作用进行了综述。

1　生物硝化抑制剂

硝化抑制剂是一种通过抑制硝化细菌活性起到延缓细菌氧化 NH_4^+ 的化合物。理论上,在 NO_3^- 淋失和反硝化机率高的情况下,减少硝化作用可以提高氮素利用效率[5,24]。尽管有大量的化合物被认为是硝化抑制剂[25-26],但是仅仅几种硝化抑制剂,三

* 国家自然科学基金项目(31172035)和江苏省科技支撑计划(BE2011821)"资助

† 通讯作者,E-mail:yiyong1973@njau.edu.cn

作者简介:曾后清(1986—),男,江西泰和人,博士研究生,主要从事植物营养生理与分子生物学研究。E-mail:zenghouqing@163.com,电话:025-84396114

收稿日期:2011-08-20;收到修改稿日期:2011-10-25

氯甲基吡啶(nitrapyrin)、双氰胺(DCD, dicyandiamide)和3,4-二甲基吡唑磷酸盐(DMPP,3, 4-dimethylpyrazole phosphate)经过了大田环境详尽的评估[26-28]。这些化学合成抑制剂并没有在农业生产中被广泛采用,主要是因为成本较高,多数情况下增产不显著,缺乏成本效益并且在各种农业气候和土壤环境中的性能不稳定[26],但是其在降低 N_2O 排放的作用还是非常明显[29]。

1.1　生物硝化抑制剂的由来

在自然生态系统中,一些研究者还观察到某些热带草地和森林土壤硝化作用速率缓慢的现象[30]。此外,在硝化作用相对低的一些高级生态系统中占主导地位的植物可以生产抑制硝化细菌活力的有机化合物[31-34]。在所提出的那些硝化抑制化合物中,酚类化合物、生物碱、异硫氰酸酯和萜类化合物备受关注[35-41]。目前,科学家用 BNI(biological nitrification inhibitor)来描述植物根系分泌的对土壤硝化细菌有特定抑制效果的有机分子或化合物及其抑制能力[26,42-44]。在热带草原中,非洲湿生臂形牧草 *B. humidicola* 和 *B. decumbens* 显示出很强的 BNI 能力[45],这两种草类对南非稀树草原低氮的环境有很强的适应能力[46]。另有报道草莓(*Arbutus unedo*)可以抑制土壤硝化作用并减少 N_2O 的排放,这是由于来自残留物的酚类化合物如儿查素(gallocatechin)和儿查酚(catechin)释放到土壤中造成的[47]。在所评估的作物中,高粱显示出显著的 BNI 能力[41],此外水稻也具有一定的 BNI 能力[48],其他谷类作物,包括玉米、小麦和大麦均不具有充分的 BNI 能力[45]。

1.2　植物分泌生物硝化抑制剂的调节机制

研究发现,生物硝化抑制剂(BNIs)的分泌很可能受到某些生理机制的调控。非洲湿生臂形牧草根系分泌 BNIs 与土壤氮水平有关[42],而且还受到氮素形态的影响[49]。以 NO_3^- 为氮源时,BNI 的分泌少,而以 NH_4^+ 为氮源时则大量分泌[49]。由于土壤中 NH_4^+ 的积累会诱导亚硝化细菌活性的增强[50],因此研究者认为,BNIs 分泌增强是植物控制根际硝化作用的一种响应机制[45]。此外,根际 pH 也能影响根系 BNIs 的释放。最近的研究表明(朱毅勇等,未发表结果),如果根际 pH 维持在 7,即使在 NH_4^+ 存在下,也不能检测到 BNIs 的释放。如果根际分泌物收集液的 pH 不受控制,并随之降到 4 左右,高粱根系就能释放大量的 BNIs。根据这些结果,可以推断出当植物生长在轻质土壤,pH 为 6 或更低,BNI 功能可能表现得更好。但是,水培营养液 pH 对 BNI 活性和分泌的影响并未通过以土壤为植物生长介质的试验进行评估,未来值得引起关注。

此外,植物根系 BNIs 的释放被视为一个高度调节的生理功能。根系环境中 NH_4^+ 的存在不光是加快根系 BNIs(或其前体化合物)合成所必需的,也是 BNIs 释放所必需的[43,49]。与 NH_4^+ 吸收有关的生理结果,比如激活质膜质子泵、根际酸化,可以促进高粱根系 BNIs 的释放(朱毅勇等,未发表结果)。此外,BNIs 的释放是一个根系局部发生的现象,似乎仅仅限于那些浸泡在 NH_4^+ 下的根系,而非整个根系[43]。土壤有机氮矿化或通过氮肥,如尿素或硫酸铵的施用获得的土壤 NH_4^+ 可以增强硝化细菌的活性[50]。NH_4^+ 对 BNIs 合成和释放的调节作用表明了其在保护 NH_4^+ 免受硝化细菌作用中的一个可能的适应机制[49]。

1.3　生物硝化抑制剂的种类及作用机制

尽管 BNI 的现象在 20 世纪 60 年代早期已基于大田经验研究结果第一次提出,但与 BNI 活性有关的化合物直到最近才得到阐述[26]。一种使用重组亚硝化单胞细菌(*Nitrosomonas europaea*)的生物发光方法被用来检测根系分泌的硝化抑制剂活性(即 BNI 活性)[42,51]。重组的菌株 *N. europaea* 携带一个含有 *Vibrio harveyi luxAB* 基因的表达载体,并在分析时的 30s 时间内产生一个明显的双峰值发光模式[42]。生物发光的强度与亚硝酸的产生成线性的函数关系[42],所测试的样品比如根系分泌物、土壤和植物提取物的抑制效果就可以用 ATU 的单位来表述。这个方法经过最近不断的改进,现在可以检测和比较不同作物 BNI 的能力[42]。通过这种方法,几个属于不同化学基团的硝化抑制剂已被成功的分离和鉴定(图 1)[39-43]。

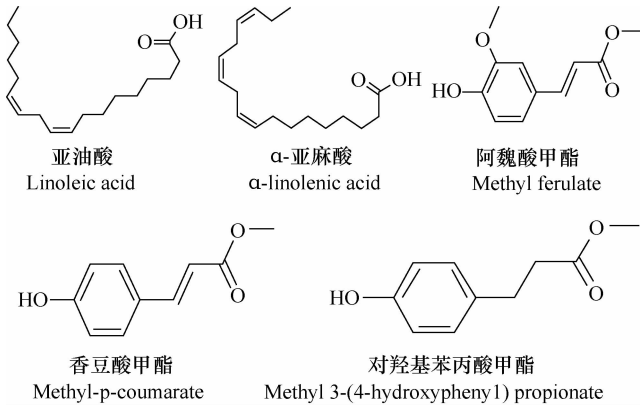
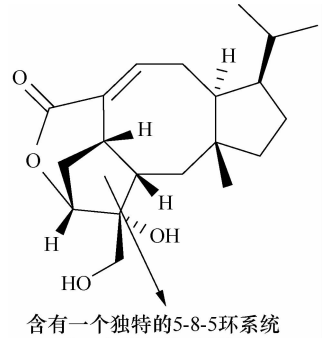


图 1　植物体具有 BNI 活性的化合物的化学结构式[39-43]

Fig. 1　Chemical structures of the compounds reported to have BNI activity in plants[39-43]

非洲湿生臂形牧草 *B. humidicola* 中含有 BNI 活性的化合物已经鉴定为:非饱和自由脂肪酸、亚油酸和 α-亚麻酸[40]。亚油酸和 α-亚麻酸可能具有抑制硝化所需的结构和链长。这两种 BNI 化合物很可能会同时抑制氨单加氧酶(ammonia monooxygenase, AMO)和羟胺还原酶(hydroxylamine oxidoreductase, HAO),这两种酶催化 *Nitrosomonas* 铵氧化过程中的基本反应[40]。当亚油酸和 α-亚麻酸加入到土壤中,硝化作用在连续几个月内均受到抑制[40]。此外,BNIs 还可以扰乱 HAO 到辅酶(ubiquinone)和细胞色素(cytochrome)的电子传递途径,而这个途径对 *Nitrosomonas* 的代谢功能极为重要[44];而人工合成的硝化抑制剂 AT、三氯甲基吡啶和 DCD 只通过抑制 *Nitrosomonas* AMO 酶的途径来抑制硝化作用[49,52]。

目前已发现非洲湿生臂形牧草 *B. humidicola* 产生的一种更重要的硝化抑制剂,并命名为"brachialactone",它是一种环二萜;这种化合物含有一个双环戊二烯[a,d]环辛烷骨架(5-8-5 环系统),带有一个桥接五元环之一和八元环的γ内酯环(图 2)[43]。类似的,三环萜类化合物(ophiobolanes and fusicoccanes)在真菌和植物中均有发现[53-54]。Fusicoccane-类型的环二萜是从香叶基二磷酸经过萜环化酶催化的两步环化作用经生物合成而来[54]。用纯 *N. europaea* 菌体的分析发现 brachialactone(臂形草内酯)的浓度范围在 1.3 ~ 13.3 $\mu molL^{-1}$之间时与体外的硝化抑制结果呈线性关系[43]。在与两种广泛使用的人工合成硝化抑制剂三氯甲基吡啶(nitrapyrin)或双氰胺(dicyandiamide)(三氯甲基吡啶 ED80 为 5.8 $\mu molL^{-1}$,双氰胺的为 2200 $\mu molL^{-1}$)比较时,Brachialactone ED_{80} 为 10.6 $\mu molL^{-1}$,因此应该看作一种强有力的硝化抑制剂。这种热带牧草根系分泌的硝化抑制活性有近 60% ~90% 均是来自于 brachialactone[43]。此外,从高粱根系分泌物中鉴定出 MHPP(methyl 3-(4-hydroxyphenyl) propionate)为硝化抑制剂,是根系分泌物中抑制活性的一部分[41]。根系分泌物中的化感物质是植物与其他生物进行化学通讯的信息物质,具有多种功能,如除草、杀虫、改良土壤、抑制土壤硝化作用、固氮和增强氮肥有效性等[55]。黄益宗等[56]的研究结果表明,化感物质会对土壤硝化作用产生抑制作用,可能是因为化感物质通过影响土壤微生物抑制了土壤硝化作用。高粱等植物根系分泌的生物硝化抑制剂基本上均属于化感物质,在一定浓度上会可能会对作物生长有抑制作用,并且可能改变土壤生物的种群结构[55]。然而,这些植物根系所分泌的生物硝化抑制剂对物种多样性、遗传多样性及生态系统多样性中的种群生态、土壤生境和生态系统功能等是否会产生影响仍需进一步研究,深入发掘抑制硝化作用的化感物质也显得非常必要。



含有一个独特的5-8-5环系统
和γ-内酯环的三环帖
A tricyclic terphenoil with a unique
5-8-5 ring system and a γ-lacton ring

图 2 *B. humidicola* 根系分泌物中分离的主要硝化抑制剂 brachialactone 的化学结构式[43]

Fig. 2 Chemical structure of brachialactone, the major nitrfication inhibitor isolated from the root exudates of *B. humidicola*[43]

1.4 生物硝化抑制剂的大田应用实例

在哥伦比亚帕尔米加地区热带农业国际中心(Centro Internacional de Agricultura Tropical, CIAT)进行的大田研究表明,建立三年的非洲湿生臂形牧草 *B. humidicola* 的试验小区中由于硝化细菌群体数量很低(AO 细菌与 AO 古细菌),土壤铵氧化率下降了 90%[43]。这些热带牧草根系的抑制功能似乎主要针对性的抑制硝化细菌的活性,而非土壤微生物活性。从铵氧化细菌和铵氧化古菌群体数量的评估结果来看,在田间小区种植 *B. humidicola* 的三年期间,土壤硝化细菌活性下降了 90%,但是总土壤细菌数量并没有受到显著的影响[43]。从这三年田间 N_2O 排放的连续监测结果来看,根系 BNI 能力与 N_2O 的排放也存在负相关的关系。这说明生物硝化抑制剂不仅能控制土壤硝化作用,而且还间接地降低了反硝化作用,在农业生产上具有较好的应用前景。高粱、水稻和野生型小麦等作物均显示出一定水平的 BNI 能力[41,45,48],但有关这些作物的生物硝化抑制剂大田试验仍未见报道。

1.5 作物与牧草 BNI 功能遗传改良的潜能

基因型的差异是用传统育种方法遗传改良任何特征的前提条件。两种非洲湿生臂形牧草 *B. humidicola* 和 *Hyparrhenia diplandra*(高硝化和低硝化

的表型)的结果表明硝化作用既可以被促进也可以被抑制,取决于生态型,这暗示了这些热带牧草对土壤硝化作用的抑制效果可能在很大程度上受遗传特征控制[57]。这些效应(比如影响土壤硝化作用的能力)通过它们的生长和生物产量反映出来[58],并且在群体的不同个体之间水平差异很大。大田作物——高粱,其根系 BNI 能力也显示出了显著的基因型差异[44]。

在栽培小麦中,初步的结果表明其没有显著的 BNI 效能[42],然而野生型小麦(*L. racemosus*)的根系含有较高的 BNI 能力[52]。野生小麦根系分泌的抑制剂可以有效的抑制土壤硝化作用60d 以上[52]。通过与栽培小麦杂交得到的染色体添加株系,用以试验后发现与高 BNI 能力有关的基因位于染色体 Lr#n,并且可以成功的导入到栽培小麦并在其中表达[52]。这些结果表明培育根系含有充足 BNI 能力的下一代小麦栽培品种成为可能[52]。

野生小麦 *L. racemosus* BNI 的高能力特性可以在栽培小麦的染色体添加系中表现,这为进一步探究将 BNI 位点导入到优良小麦品种提供了机会。因为小麦使用了全球氮输出总量的近三分之一之多[13],将高 BNI 能力导入到栽培小麦可能会对减少全球小麦生产系统中氮素的淋失产生重大的影响。然而添加系中这条外来的染色体还带有很多不可取的性状位点,这些将会导致谷物产量的减少。这是一个负面的连锁累赘,普遍出现在优良品种与野生近缘种或其他外来种质的杂交产品中,也包括早几代的回交。因此,将野生小麦 *L. racemosus* 中仅仅含有控制 BNI 性状的有利等位基因的一小片段转移到栽培小麦中就成了必要,这可以将与基因渗入有关的负面连锁累赘尽量降低。

2　未来展望

用 Haber-Bosch 工艺大规模的工业化生产固态氮肥是绿色革命的主要驱动力,也是过去五十年粮食生产翻番的主要因素。当前,每年向农业系统投入的固定氮(大约 15 000 万 t)超过了自然系统所固定氮素的总和(大约每年 10 000 万 t)[11,15,59]。在当前农业生产体系下,很大比例的氮肥要经过硝化作用[60-62],导致活性氮流失到环境中。这对生态系统以及人类健康产生一个负面的级联效应[10,14]。

开发植物天然形成的 BNI 功能以抑制土壤硝化作用,是提高粮食和饲料生产过程中氮素利用效率的一个重要方向。通过合理的间作与轮作栽培方式,或利用现代遗传学与分子生物学方法,改良作物的 BNI 潜能。在 *Brachiaria* spp 中发现的 BNI 能力的显著变异性[49],可能为培育、改良和发展低硝化的牧草生产体系提供帮助。将来自野生小麦(*Leymus racemosus*)的高 BNI 能力导入到栽培小麦会是未来可见的一个选择。通过分子和遗传途径开发其他农作物的 BNI 功能以期提高氮素利用效率也将成为可能。此外,利用已发现的生物硝化抑制剂改良或更新现有的化学合成硝化抑制剂产品也是今后研究的一个重要方向。

致谢:感谢日本国际农林研究中心作物生产与环境部的 Guntur V. Subbarao 博士在本文写作过程中提供的意见和建议。感谢日本国际农林研究中心 JIRCAS Visiting Research Fellowship 的支持。

参 考 文 献

[1] Sahrawat K L. Effects of nitrification inhibitors on nitrogen transformations other than nitrification in soil. Adv Agron, 1989, 42: 279—309

[2] Amberger A. Efficient management of nitrogen fertilization in modern cropping systems//Fragoso M A C, van Beusichem M L. Optimization of plant nutrition. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1989

[3] Matson P A, McDowell W H, Townsend A R, et al. The globalization of N deposition: Ecosystem consequences in tropical environments. Biogeochemistry, 1999, 46: 67—83

[4] Strong W M, Cooper J E. Application of anhydrous ammonia or urea during the follow period for winter cereals on the Darling Downs, Queensland. I. Effect of time of application on soil mineral N at sowing. Aust J Soil Res, 1992, 30: 695—709

[5] Bremner J M, Breitenbeck G A, Blackmer A M. Effect of nitrapyrin on emission of nitrous oxide from soils fertilized with anhydrous ammonia. Geophys Res Lett, 1981, 8: 353—356

[6] Mosier A R, Duxbury J M, Freney J R, et al. Nitrous oxide emissions from agricultural fields: Assessment, measurement and mitigation. Plant Soil, 1996, 181: 95—108

[7] 朱兆良. 农田中氮肥的损失与对策. 土壤与环境, 2000, 9(1): 1-6. Zhu Z L. Loss of fertilizer N from plants-soil system and the strategies and techniques for its reduction(In Chinese). Soil and Environmental Sciences, 2000, 9(1): 1—6

[8] 武志杰, 史云峰, 陈利军. 硝化抑制作用机理研究进展. 土壤通报, 2008, 39(4): 962—970. Wu Z J, Shi Y F, Chen L J. Research progress of the mechanisms of nitrification inhibition (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 2008, 39(4): 962—970

[9] 闫湘, 金继运, 何萍, 等. 提高肥料利用率技术研究进展. 中国农业科学, 2008, 41(2): 450—459. Yan X, Jin J Y, He

P, et al. Recent advances in technology of increasing fertilizer use efficiency(In Chinese). Scientica Agricultura Sinica, 2008, 41(2): 450—459

[10] Schlesinger W H. On the fate of anthropogenic nitrogen. Proc Nat Acad Sci USA, 2009, 106: 203—208

[11] Tilman D, Fargione J, Wolff B, et al. Forecasting agriculturally driven global environmental change. Science, 2001, 292: 281—284

[12] Hungate B A, Dukes J S, Shaw M R, et al. Nitrogen and climate change. Science, 2003, 302: 1 512—1 513

[13] Raun W R, Johnson G V. Improving nitrogen use efficiency for cereal production. Agron J, 1999, 91: 357—363

[14] Erisman J W, Sutton M A, Galloway J, et al. How a century of ammonia synthesis changed the world. Nature Geoscience, 2008, 1: 636—639

[15] Kroeze C. Nitrous oxide and global warming. Sci Total Environ, 1994, 142: 193—209

[16] IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change). Climate change: The scientific basis// Houghton J, Ding Y, Griggs D, et al. Third Assessment Report of the IPCC. Cambridge Univ Press, UK, 2001: 81

[17] 黄树辉, 吕军. 农田土壤 N_2O 排放研究进展. 土壤通报, 2004, 35 (4): 516—522. Huang S H, Lü J. Research progress in nitrous oxide emissions from agricultural soil (In Chinese). Chinese Journal of Soil Science, 2004, 35 (4): 516—522

[18] 王彩绒, 田霄鸿, 李生秀. 土壤中氧化亚氮的产生及减少排放量的措施. 土壤与环境, 2001, 10(2): 143—148. Wang C R, Tian X H, Li S X. Nitrous oxide emissions from soils and strategy for reducing N_2O emission(In Chinese), Soil and Environmental Sciences, 2001, 10(2): 143—148

[19] Vitousek P M, Aber J D, Howarth W, et al. Human alteration of the global nitrogen cycle: Sources and consequences. Ecol Appl, 1997, 7: 737—750

[20] 胡克林, 李保国, 黄元仿, 等. 农田尺度下土体硝酸盐淋失的随机模拟及其风险性评价. 土壤学报, 2005, 42(6): 909—915. Hu K L, Li B G, Huang Y F, et al. Stochastic simulation and risk assessment of nitrate leaching at field scale (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2005, 42(6): 909—915

[21] 汪涛, 朱波, 罗专溪, 等. 紫色土坡耕地硝酸盐流失过程与特征研究. 土壤学报, 2010, 47(5): 962—970. Wang T, Zhu B, Luo Z X, et al. Nitrate loss from sloping cropland of purple soil(In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2010, 47(5): 962—970

[22] Zhu Y, Di T, Xu G, et al. Adaptation of plasma membrane H^+-ATPase of rice roots to low pH as related to ammonium nutrition. Plant Cell Environ, 2009, 32: 1 428—1 440

[23] Dinnes D L, Karlen D L, Jaynes D B, et al. Nitrogen management strategies to reduce nitrate leaching in tile drained Mid-Western soils. Agron J, 2002, 94: 153—171

[24] Rodgers G A. Nitrification inhibitors in agriculture. J Environ Sci Health A, 1986, 21: 701—722

[25] McCarty G W. Modes of action of nitrification inhibitors. Biol Fertil Soils, 1999, 29: 1—9

[26] Subbarao G V, Ito O, Sahrawat K L, et al. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems - Challenges and opportunities. Crit Rev Plant Sci, 2006, 25: 303—335

[27] Weiske A, Benckiser G, Ottow J C G. Effect of new nitrification inhibitor DMPP in comparison to DCD on nitrous oxide (N_2O) emissions and methane (CH_4) oxidation during 3 years of repeated applications in field experiments. Nutr Cycl Agroecosys, 2001, 60: 57—64

[28] Di H J, Cameron K C. 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 Manage, 2002, 18: 395—403

[29] 李香兰, 徐华, 蔡祖聪. 氢醌、双氰胺组合影响稻田甲烷和氧化亚氮排放研究进展. 土壤学报, 2009, 46 (5): 917—924. Li X L, Xu H, Cai Z C. Effect of combined use of hydroquinone and dicyandiamide on CH_4 and N_2O emissions from rice paddy field: A review (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2009, 46 (5): 917—924

[30] Sylvester-Bradley R, Mosquera D, Mendez J E. Inhibition of nitrate accumulation in tropical grassland soils: Effects of nitrogen fertilization and soil disturbance. J Soil Sci, 1988, 39: 407—416

[31] Jordan C F, Todd R L, Escalante G. Nitrogen conservation in a tropical rain forest. Oecologia, 1979, 39: 123—128

[32] Donaldson J M, Henderson G S. Nitrification potential of secondary-succession upland oak forests: I. Mineralization and nitrification during laboratory incubations. Soil Sci Soc Am J, 1990, 54: 892—897

[33] Donaldson J M, Henderson G S. Nitrification potential of secondary-succession upland oak forests. II. Regulation of ammonium-oxidizing bacteria populations. Soil Sci Soc Am J, 1990, 54: 898—902

[34] Courtney K J, Ward B B, Langenheim J H. The effect of coastal redwood monoterpenes on *Nitrosomonas europaea*. Am J Bot (Suppl), 1991, 78: 144—145

[35] Putnam A R. Allelochemicals from plants as herbicides. Weed Technol, 1988, 2: 510—518

[36] Choesin D N, Boerner R E J. Allyl isothiocyanate release and the allelopathic potential of *Brassica napus* (Brassicaceae). Am J Bot, 1991, 78: 1 083—1 090

[37] Bending G D, Lincoln S D. Inhibition of soil nitrifying bacteria communities and their activities by glucosinolate hydrolysis products. Soil Biol Biochem, 2000, 32: 1 261—1 269

[38] Bertin C, Yang X, Weston L A. The role of root exudates and allelochemicals in the rhizosphere. Plant Soil, 2003, 256: 67—83

[39] Gopalakrishnan S, Subbarao G V, Nakahara K, et al. Nitrification inhibitors from the root tissues of *Brachiaria humidicola*, a tropical grass. J Agric Food Chem, 2007, 55: 1 385—1 388

[40] Subbarao G V, Nakahara K, Ishikawa T, et al. Free fatty acids from the pasture grass *Brachiaria humidicola* and one of their methyl esters as indicators of nitrification. Plant Soil, 2008, 313: 89—99

[41] Zakir H A K M, Subbarao G V, Pearse S J, 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*). New Phytol, 2008, 180: 442—451

[42] Subbarao G V, Ishikawa T, Ito O, et al. A bioluminescence assay to detect nitrification inhibitors released from plant roots: A case study with *Brachiaria humidicola*. Plant Soil, 2006, 288: 101—112

[43] Subbarao G V, Nakahara K, Hurtado M P, et al. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures. Proc Nat Acad Sci (USA), 2009, 106: 17 302—17 307

[44] Subbarao G V, Kishii M, Nakahara K, et al. Biological nitrification inhibition (BNI) -Is there potential for genetic interventions in the Triticeae? Breeding Science, 2009, 59: 529—545

[45] Subbarao G V, Rondon M, Ito O, et al. Biological nitrification inhibition (BNI)-Is it a widespread phenomenon? Plant Soil, 2007, 294: 5—18

[46] Miles J W, do Valle C B, Rao I M, et al. Brachiaria-grasses// Moser L, Burson B, Sollenberger L E. Warm-season (C_4) grasses. ASA-CSSA-SSA, Madison, WI, USA. 2004: 745—783

[47] Castaldi S, Carfora A, Fiorentino A, et al. Inhibition of net nitrification activity in a Mediterranean woodland: Possible role of chemicals produced by *Arbutus unedo*. Plant Soil, 2009, 315: 273—283

[48] TanakaJ P, Nardi P, Wissuwa M. Nitrification inhibition activity, a novel trait in root exudates of rice. AoB Plants, 2010, 2010: plq014, doi:10.1093/aobpla/plq014

[49] Subbarao G V, Wang H Y, Ito O, et al. NH_4^+ triggers the synthesis and release of biological nitrification inhibition compounds in *Brachiaria humidicola* roots. Plant Soil, 2007, 290: 245—257

[50] Woldendorp J W, Laanbroek H J. Activity of nitrifiers in relation to nitrogen nutrition of plants in natural ecosystems. Plant Soil, 1989, 115: 217—228

[51] Iizumi T, Mizumoto M, Nakamura K. A bioluminescence assay using *Nitrosomonas europaea* for rapid and sensitive detection of nitrification inhibitors. Appl Environ Microbiol, 1998, 64: 3 656—3 662

[52] Subbarao G V, Ban T, Masahiro K, et al. Can biological nitrification inhibition (BNI) genes from perennial *Leymus racemosus* (*Triticeae*) combat nitrification in wheat farming? Plant Soil, 2007, 299: 55—64

[53] Muromtsev G S, Voblikova V D, Kobrina N S, et al. Occurrence of Fusicoccanes in plants and fungi. J Plant Growth Regul, 1994, 13: 39—49

[54] Toyomasu T, Tsukahara M, Kaneko A, et al. Fusicoccins are biosynthesized by an unusual chimera diterpene synthase in fungi. Proc Nat Acad Sci (USA), 2007, 104: 3 084—3 088

[55] 梁文举，张晓珂，姜勇，等. 根分泌的化感物质及其对土壤生物产生的影响. 地球科学进展，2005，20 (3)：330—337. Liang W J, Zhang X K, Jiang Y, et al. Allelochemicals from root exudates and their effects on soil biota (In Chinese). Advances in Earth Science, 2005, 20 (3): 330—337

[56] 黄益宗，张福珠，刘淑琴，等. 化感物质对土壤 N_2O 释放影响的研究. 环境科学学报，1999，19(5)：478— 482. Huang Y Z, Zhang F Z, Liu S Q, et al. Effect of allelochemicals on N_2O emission from soil (In Chinese). Acta Scientiae Circumstantiae, 1999, 19(5): 478—482

[57] Lata J C, Degrange V, Raynaud X, et al. Grass populations control nitrification in savanna soils. Funct Ecol, 2004, 18: 605—611

[58] Lata J C, Guillaume K, Degrange V, et al. Relationships between root density of the African grass *Hyparrhenia diplandra* and nitrification at the decimetric scale: An inhibition-stimulation balance hypothesis. Proc Royal Soc London ser B, 2000, 267: 595—600

[59] Liu J, You L, Amini M, et al. A high resolution assessment on global nitrogen flows in cropland. Proc Nat Acad Sci (USA), 2010, 107: 8 035—8 040

[60] Northup P R, Zengshou Y, Dahlgren R A, et al. Polyphenol control of nitrogen release from pine litter. Nature, 1995, 377: 227—229

[61] Nasholm T, Ekblad A, Nordin A, et al. Boreal forest plants take up organic nitrogen. Nature, 1998, 392: 914—916

[62] 张玉树，丁洪，秦胜金. 农业生态系统中氮素反硝化作用与 N_2O 排放研究进展. 中国农学通报，2010，26(6)：253—259. Zhang Y S, Ding H, Qin S J. Progress in the studies of nitrogen denitrification and N_2O emission in agro-ecosystem (In Chinese). Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(6): 253—259

BIOLOGICAL NITRIFICATION INHIBITOR—A NEW STRATEGY FOR CONTROLLING NITROGEN LOSS FROM FARMLAND

Zeng Houqing[1] Zhu Yiyong[1†] Wang Huoyan[2] Shen Qirong[1]

(1 *College of Resources and Environmental Sciences*, *Nanjing Agricultural University*, *Nanjing* 210095, *China*)

(2 *Institute of Soil Science*, *Chinese Academy of Sciences*, *Nanjing* 210008, *China*)

Abstract Application of nitrogen fertilizers in agricultural systems is one of the most important factors influencing the global nitrogen cycle. Nitrogen fertilizers can improve crop production, but also have much influence on ecological environment. Nitrogen fertilizers in ammonium form (NH_4^+) is easily transferred into nitrate form (NO_3^-) in dry land by nitrification. However, only a small portion of the formed NO_3^- can be taken up by plants, while a large amount will be leached or released into the air through denitrification, which results in severe nitrogen loss. In nature some plants can excrete through their roots some compounds that have the function of inhibiting nitrification and thus can be characterized as biological nitrification inhibitor (BNI), which may significantly improve nitrogen use efficiency in soil. This review illustrates the origin, excretion and regulation of the substances, mechanisms of their function and potential of their application, and also discusses prospects of their application to high efficiency management of nitrogen in agricultural systems.

Key words Nitrification; Biological nitrification inhibitor (BNI); Nitrogen use efficiency