

DOI: 10.11766/trxb202003120113

陆玉芳, 施卫明. 生物硝化抑制剂的研究进展及其农业应用前景[J]. 土壤学报, 2021, 58(3): 545–557.

LU Yufang, SHI Weiming. Progress in Research and Agricultural Application Prospect of Biological Nitrification Inhibitors[J]. Acta Pedologica Sinica, 2021, 58(3): 545–557.

生物硝化抑制剂的研究进展及其农业应用前景*

陆玉芳, 施卫明[†]

(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:在我国农业集约化以及高投入的生产模式下,氮肥利用率较低。相当部分的氮肥以氨(NH₃)、硝酸盐(NO₃⁻)以及温室气体氧化亚氮(N₂O)等形式损失至环境中,造成生产成本增加,并加剧了生态环境污染。硝化作用是土壤氮循环的关键转化过程,与农田氮素损失密切相关。一些植物的根系能产生和分泌抑制硝化作用的物质,被称为生物硝化抑制剂(BNIs),如果加以利用,是一种高效且环境友好的氮素管理对策。系统总结了国内外生物硝化抑制剂研究领域的重要进展,探讨了根系分泌生物硝化抑制剂的意义、物质种类和功能、分泌及作用机制。以往研究仅认为BNIs是自然生态系统中植物适应低氮环境的一种保氮生存机制,主要关注热带牧草和高粱,本文提出了BNIs在高氮投入的农业生态系统中同样重要,以及相当的粮食作物品种具有高BNI活性的观点,并讨论了其在农业中提高氮素利用率和减少环境污染方面的应用前景,为未来BNIs技术及产品的开发、提升农产品品质、及推动现代农业绿色发展提供借鉴。

关键词:生物硝化抑制剂;硝化作用;根系分泌物;氮素利用率;农业绿色发展

中图分类号:S143.1 文献标志码:A

Progress in Research and Agricultural Application Prospect of Biological Nitrification Inhibitors

LU Yufang, SHI Weiming[†]

(State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China)

Abstract: In China, N fertilizer use efficiency (NUE) is quite low as affected by its high-input intensive production mode in agriculture. A considerable portion of the nitrogen fertilizer applied to the cropping systems is lost to the environment as ammonia (NH₃), nitrate (NO₃⁻), and nitrous oxide (N₂O) as greenhouse gas, thus raising agricultural production cost and aggravating environmental pollution. Nitrification is the key transformation process of nitrogen cycling in soil, and is closely related to nitrogen loss in farmland. Some plants can produce and secrete compounds that inhibit nitrification and are called biological

* 国家自然科学基金委中日国际合作项目(31761143015)、江苏省优秀青年基金项目(BK20190108)和山东省重大科技创新工程项目(2019JZZY010701)资助 Supported by the NSFC-JST Project (No. 31761143015), the Natural Science Foundation for Distinguished Young Scholar of Jiangsu Province of China (No. BK20190108) and the Key Research and Development Program of Shandong Province of China (No. 2019JZZY010701)

[†] 通讯作者 Corresponding author, E-mail: wmshi@issas.ac.cn

作者简介:陆玉芳(1987—),女,江苏无锡人,博士,副研究员,主要从事根际对话与氮素管理研究。E-mail: yflu@issas.ac.cn

收稿日期:2020-03-12;收到修改稿日期:2020-06-05;网络首发日期(www.cnki.net):2020-07-28

nitrification inhibitors (BNIs). The use of such BNIs may be an efficient and environment-friendly nitrogen management strategy. Here, a review of recent key developments in the field of biological nitrification inhibitors at home and abroad was presented, elaborating significances, substance types, functions, secretion and mechanism of BNIs secreted by roots. Researches in the past, particularly with focus on tropical pasture grasses and sorghum, held that releasing of BNIs was a nitrogen-preserving survival mechanism plants used to adapt to low-nitrogen environments in natural ecosystems. This paper suggests that BNIs are equally important in the high-N-input agricultural ecosystems and that a certain number of food crop varieties also have high BNI activity. In addition, BNIs that are produced by plants may evolve as specific responses to nitrifying environments. The mechanisms of BNIs secretion under waterlogged and aerobic conditions are quite similar, but differ somewhat, for instance effect of the parts of the root system exposed to NH_4^+ and pH. The hypothetical mechanism that BNIs released from plant cell membranes is proposed, for example, 1, 9-decanediol might be released via the ATP-binding cassette (ABC) transporter or members of the multidrug and toxic compound extrusion (MATE) transporter family. In terms of action targets, BNIs may regulate more ammonia-oxidizing microbial species and enzyme sites than the synthetic nitrification inhibitors (SNIs). Prospects of how to make use of BNIs in improving nitrogen utilization and reducing environmental pollution in agriculture are also discussed, such as high BNI-activity plants (such as pasture)-crop rotation, nitrogen fertilizer synergist, use of BNI traits for crop genetic improvement. For future researches, emphases should be laid on the following aspects: (1) to explore BNI functions and BNIs types in cultivation of important crops, and take into account interaction between BNIs substances; (2) to further reveal mechanism of known BNIs substances inhibiting nitrification, in addition to AOA and AOB, attention should be paid to response of the newly discovered Comammox, including other nitrogen transformation processes such as denitrification, and evaluation of potential loss of ammonia via volatilization caused by BNIs; (3) to investigate key genes and molecular genetic mechanisms regulating BNIs secretion through genome-wide association analysis (GWAS); and (4) to explore effects of BNIs in different soil conditions and with different crops in improving agriculture by field experiments, which hopefully may serve as reference for the developing of future BNIs technologies and products, improving the quality of agricultural produces, and promoting the green development of modern agriculture.

Key words: Biological nitrification inhibitors; Nitrification; Root exudates; Nitrogen use efficiency; Agriculture green development

大量施用氮肥为作物增产做出了巨大贡献, 维持了全世界 70 多亿人口的粮食供应^[1]。在目前产量水平下, 我国三大粮食作物水稻、小麦、玉米每季推荐施氮量范围大致为 $150\sim 250\text{ kg hm}^{-2}$ (以 N 计, 下同)^[2-4], 但我国很多田块的氮肥施用量达到了 $250\sim 350\text{ kg hm}^{-2}$ ^[5]。由于过量施肥和不合理的管理措施^[6], 我国目前主要粮食作物的当季氮肥利用率仅为 $30\%\sim 40\%$ ^[4, 7-8], 明显低于一些发达国家和地区 $40\%\sim 60\%$ 的水平^[9]。根据联合国粮食及农业组织 (FAO) 的统计资料^[10], 我国氮肥年用量为 3 000 万 t, 持续高量的氮肥投入造成农业氮素损失严重, 引发水体富营养化、温室气体排放和土壤酸化等一系列生态环境问题^[11-12]。因此, 如何在现有施肥和生产模式下, 达到提高作物氮素利用率和降

低氮素环境污染的目的^[8, 13], 成为新形势下我国农业发展的重要需求。

这种氮素利用率低和氮污染的困境与氮高度活跃及其转化过程多样有关。在农田生态系统中, 有机氮会通过矿化作用转化为铵态氮 (NH_4^+), 铵态氮会通过硝化作用转化为硝态氮 (NO_3^-), 无机态的 NH_4^+ 和 NO_3^- 容易被植物吸收利用。 NO_3^- 会通过反硝化作用转化成 N_2O 和 N_2 , 也会通过厌氧氨氧化 (Anaerobic ammonium oxidation, Anammox) 和硝酸盐异化还原为铵 (Dissimilatory nitrate reduction to ammonium, DNRA) 过程转化为 N_2 和 NH_4^+ , N_2 再通过生物固氮作用进入土壤转化为氨。然而, 随着氮肥大量施用, 土壤中未被农作物吸收的 NH_4^+ 和 NO_3^- 会损失至环境中, 如硝化作用产生的 NO_3^- 会

随淋溶途径进入水体造成富营养化，硝化和反硝化作用产生的 N_2O 气体会加剧温室效应，此外还会有氨挥发损失^[14]。在现代农业氮循环中，硝化作用与氮素损失和利用密切相关，成为提高氮素利用率和减少氮污染的关键过程^[15-16]。合理抑制硝化作用是高投入条件下走出氮素管理困境的有效途径之一。

利用化学合成硝化抑制剂 (Synthetic nitrification inhibitors, SNIs) 是减少氮流失风险和提高氮肥利用率的一项重要措施，在生产实践中得到了较普遍的应用。目前在农业上广泛应用的 SNIs 有 3 种：(1) 双氰胺 (Dicyandiamide, DCD)，(2) 3,4-二甲基吡唑磷酸盐 (3,4-dimethylpyrazole phosphate, DMPP)，(3) 2-氯-6-三氯甲基吡啶 (2-chloro-6-trichloromethyl pyridine, Nitrapyrin)。通过 Meta 数据分析发现，SNIs 和尿素同时使用能显著减少 48% 的 NO_3^- 淋溶，44% 的 N_2O 排放^[17-18]，同时增加 7.5% 的作物产量和 12.9% 的氮素利用率 (Nitrogen use efficiency, NUE)^[19]。SNIs 的有益效果受环境因子 (如土壤 pH、质地、温度) 和农艺管理措施 (如灌溉和氮肥用量) 的影响^[19]。由于能在农业生产中规模应用的 SNIs 品种非常有限，且多为化工产品，其应用不仅会增加农业生产成本，还可能对环境和食品安全造成潜在威胁^[20-21]。因此，在我国现代农业绿色发展的要求下，有必要寻求控制硝化作用的环境友好替代方案。本文针对生物硝化抑制剂在提高氮素利用率和减少氮环境污染方面的研究进展及其重要作用进行了系统总结。

1 生物硝化抑制剂在生态系统中的意义

2006 年，日本国际农林水产业研究中心 Subbarao 高级研究员正式提出了“生物硝化抑制作用 (Biological nitrification inhibition, BNI)”的概念，它是指植物根系产生和分泌能抑制土壤硝化作用物质的能力；植物根系产生和分泌的抑制硝化作用的物质，则称为生物硝化抑制剂 (Biological

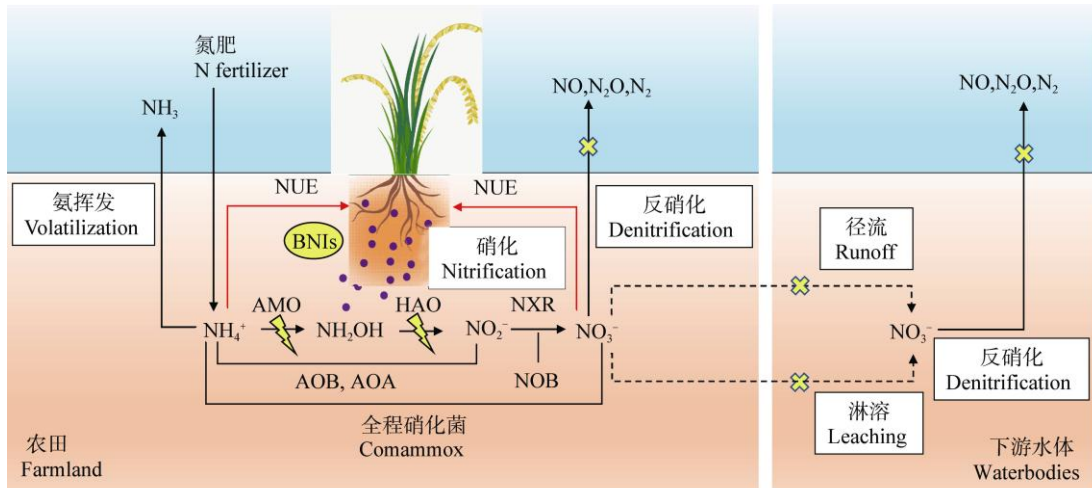
nitrification inhibitors, BNIs)^[22]。事实上，早在 20 世纪六七十年代，研究人员就发现在森林和草地生态系统中，包括树木、灌木、草、草药和苔藓等植物组织中有 BNI 活性^[23-24]，从而推测根系分泌的 BNIs 是驱动生态系统演替的关键机制。

研究普遍发现，在氮营养缺乏的环境中生长的植物通常具有 BNI 活性。短梗苞茅 (*Hyparrhenia diplandra*) 和非洲湿身臂形草 (*Brachiaria humidicola*) 这两种热带草受到的关注较多，田间试验表明它们生长的土壤硝化潜势和硝酸盐含量低^[25-28]。Subbarao 等^[29] 随后通过生物化学发光法发现 *Brachiaria humidicola* 的根系具有最强的 BNI 活性。Janke 等^[30] 指出澳大利亚当地物种木槿 (*Hibiscus splendens*) 和刺茄 (*Solanum elaeagnifolium*) 的根系分泌物具有 BNI 活性，而它们正是生长在氮素养分缺乏的贫瘠土壤中。最近，研究人员在硝化速率低的温带森林树木欧洲云杉 (*Picea abies*) 和高加索冷杉 (*Abies nordmanniana*) 组织中也发现了 BNI 功能^[31]。可见，BNIs 可能是植物适应低氮环境的一种保氮生存机制^[25, 29]。

与自然生态系统以及传统农业耕作体系相比，现代高投入农业生产体系土壤的硝化作用迅速，硝化速率增加了数倍^[32]，BNIs 对于农田土壤硝化过程的调控值得关注。一些早期研究表明，适应高氮环境的植物 BNI 能力通常较弱。在牧草中，黍属 (*Panicum* spp.) 相对于臂形草属 (*Brachiaria* spp.) 更适应高氮环境，其根系 BNI 活性较弱^[29]；在大田作物中，适应低氮投入的高粱 (*Sorghum bicolor*) 根系分泌物有显著的 BNI 能力，而在高氮环境生长的水稻 (*Oryza sativa* L.)、小麦 (*Triticum aestivum*) 和玉米 (*Zea mays* L.) 却无硝化抑制活性^[29]。但是相关的研究涉及的作物品种并不多，仅关注了粮食作物的单个品种，这很有可能忽视了 BNI 在三大粮食作物中的重要作用。最近 O'Sullivan 等^[33] 对 98 种基因型小麦的调查研究，推翻了基于单一品种小麦几乎不具有 BNI 或无 BNI 的观点。该研究表明，目前使用的几种地方品种和两个商业品种的根系分泌物均具有显著的 BNI 活性。此外，BNI 在硝化

作用弱的水作植物中不重要的观点也很快被扭转。Pariasca Tanaka 等^[34]在一项对 36 种水稻基因型根系分泌物的研究中发现约有半数品种具有明显的 BNI 作用。施卫明研究员课题组通过 19 种水稻基因型的筛选实验表明, 籼稻和粳稻的根系分泌物均具有较强的 BNI 活性, 进一步通过根系分泌物精细分离和气相色谱-质谱联用 (GC-MS) 鉴定技术, 首次明确了水稻分泌的 BNI 物质是 1,9-癸二醇^[35]。

尽管目前尚未有证据表明玉米具有 BNI 功能, 然而在玉米广阔的遗传资源背景下过早地排除其 BNI 功能还为时尚早^[14]。鉴于水稻、小麦和玉米等粮食作物的氮肥投入强度和经济价值, 对作物 BNI 的研究将对氮肥减施增效具有重要意义。可见, BNI 在高量氮投入的农业中同样能发挥一定作用, 具有减少农田氮素流失和提高作物氮素利用的潜能^[14, 36] (图 1)。



注: NUE: 氮素利用率; AOB: 氨氧化细菌; AOA: 氨氧化古菌; NOB: 亚硝酸盐氧化菌; AMO: 氨单加氧酶; HAO: 羟胺氧化酶; NXR: 亚硝酸盐氧化还原酶。Note: NUE: nitrogen use efficiency; AOB: ammonia-oxidizing bacteria; AOA: ammonia-oxidizing archaea; NOB: nitrite oxidizing bacteria; AMO: ammonia monooxygenase; HAO: hydroxylamine oxidoreductase; NXR: nitrite oxidoreductase.

图 1 生物硝化抑制剂 (BNIs) 在现代农业中提高氮素利用率和减少氮素污染的作用

Fig. 1 Role of biological nitrification inhibitors (BNIs) in increasing NUE and reducing nitrogen pollution in the modern agriculture

2 根系分泌生物硝化抑制剂的种类与功能

2.1 生物硝化抑制剂的种类

尽管目前已明确了草类、树木和作物等根系分泌物的 BNI 活性, 但对具体起作用的关键 BNI 物质了解甚少, 而只有真正揭开它们的面纱, 才能有的放矢地服务于农业生产。早期对于 BNI 化学物质的识别局限于植物组织或土壤提取物^[37-39], 而不是根系分泌物, 其中原因之一可能是根系分泌物含量低、易分解、干扰物质多, 收集和分离难度较大。

然而相对于植物组织提取物, 根系主动分泌的 BNI 更可能具有 BNI 作用^[33], 挖掘根系分泌物中的 BNI 物质将更有意义。近十年来, 随着根系分泌物收集、分离和鉴定技术的快速发展, 已从高粱、湿身臂形草和水稻的根系分泌物中发现了 5 种 BNI (表 1)。

2008 年, 从高粱一个高 BNI 活性品种 *Sorghum bicolor* 根系分泌物中发现了第一种 BNI——对羟基苯丙酸甲酯 (methyl 3-(4-hydroxyphenyl)propionate, MHPP), 该苯丙酸类物质具有中等的 BNI 活性^[39]。随后, Subbarao 等^[40]又从高粱中发现了 2 种 BNI, 分别是亲水性组分中发现的黄酮类化合物樱花素 (Sakuranetin), 以及从疏水性组分中发现的苯醌类

化合物高粱酮 (Sorgoleone), 该物质对高粱根系分泌物 BNI 活性具有主导作用。该团队 2009 年还从 *Brachiaria humidicola* 根系分泌物中发现了一种环状二萜物质, 命名为臂形草内酯 (Brachialactone) [41], 它是湿身臂形草根分泌物中的 BNI 主导物质, 贡献率达 60%~90%。最新的一种根系分泌 BNIs 来自国内施卫明研究员团队, 他们从水稻中发现了脂肪醇类化合物 1,9-癸二醇 (1,9-Decanediol), 这是三大粮食作物中发现的首个 BNIs, 相比于已知的 BNIs 物质抑制活性处于中等水平, 但效果显著优于已在农牧业生产中普遍应用的 DCD [35]。

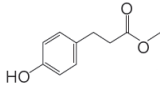
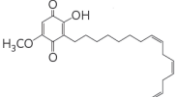
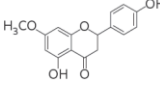
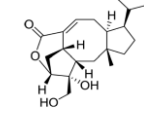
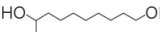
然而, 上述 BNIs 物质的功能验证是在单个欧洲

亚硝化单胞菌 (*Nitrosomonas europaea*) 的纯培养体系中进行的, 在复杂土壤体系中的效果尚有待考证 [32]。研究发现, 臂形草 [36]、水稻 [33] 和小麦多个品种 [34] 根系分泌物总组分 BNI 活性在纯菌培养和土壤体系下的效果一致, 这为后期从作物遗传群体中筛选高 BNI 活性品种提供了重要依据。对于具体 BNIs 化学物质, 来自臂形草的臂形草内酯由于化学标准品难获得, 尚无证据证明其在土壤中的效果 [41]。高粱 BNIs MHPP 和高粱酮在中性土壤中表现出显著的抑制效应 [40, 42, 44], 而亲水性物质樱花素添加至土壤后却失去了活性 [40]。最新研究还证实, 水稻源 1,9-

癸

表 1 根系分泌生物硝化抑制剂的种类和效果

Table 1 Types and effects of biological nitrification inhibitors exuded from roots

根系分泌 BNIs BNIs exuded from roots	结构式 Structure	物质种类 Compound type	土壤效果 Effect in soil	土壤类型 Soil type	参考文献 Reference
对羟基苯丙酸甲酯 Methyl 3- (4-hydroxyphenyl) propionate (MHPP)		苯丙酸类 Phenylpropanoid	+	火山灰土 (pH 6.0) Volcanic ash soil (pH 6.0)	[40, 44]
高粱酮 Sorgoleone		苯醌类 Benzoquinone	+	火山灰土 (pH 6.0) Volcanic ash soil (pH 6.0)	[40]
樱花素 Sakuranetin		黄酮类 Flavanone	-	火山灰土 (pH 6.0) Volcanic ash soil (pH 6.0)	[40]
臂形草内酯 Brachialactone		环二萜类 Cyclic diterpene	?	?	[41]
1,9-癸二醇 1,9-Decanediol		脂肪醇 Fatty alcohol	+	潮土 (pH 7.9) Fluvo-aquic soil (pH 7.9) 水稻土 (pH 6.2) Paddy soil (pH 6.2) 红壤 (pH 4.3) Red soil (pH 4.3)	[43]

注: BNIs 添加至土壤中有抑制效果 (+), 无抑制效果 (-) 或效果不明 (?). Note: the efficiency of BNIs added to soils varies from efficient (+), to non-efficient (-) or unknown (?).

二醇对我国三种典型农田土壤 (碱性潮土、中性水稻土和酸性红壤) 硝化活性均有显著抑制作用 [44]。未来

单个 BNIs 物质的功能验证建议考察其在不同土壤类型下的效果。

高粱根系分泌物中具有疏水性 BNIs 和亲水性 BNIs 共存的现象,表明 BNIs 在作用方式上可能是空间分离的,疏水性、迁移能力弱的 BNIs 在根际占主导,而亲水性的物质能扩散至根系较远的距离起作用^[40]。此外,在土壤环境中具有独特生化活性的不同 BNIs 共存时,可能会发生叠加和协同作用^[44-45],这通常是纯菌株体系下的生物活性研究忽略的。这一一定程度上能解释根系分泌物总组分在土壤中有 BNI 活性,而单个 BNIs 无显著效果的现象,可能与不同 BNIs 之间的时空协同效应有关,值得进一步关注。

2.2 生物硝化抑制剂的功能

植物产生 BNIs 是对硝化环境的特定响应,还是它们具有多种的生化功能,抑制硝化作用仅是巧合的副作用?事实上,植物产生和分泌的 BNIs 具有很多氮代谢以外的功能,例如,湿身臂形草叶中的关键 BNIs 物质 α -亚麻酸是植物细胞膜的主要成分^[46],高粱根系分泌的高粱酮是一种常见的化感物质和除草剂^[47]。然而, O'Sullivan 等^[33]认为如果化合物从根部主动分泌,而不是通过随机过程(如凋落物分解和膜渗漏)释放,更可能具有特定的 BNI 作用。他们发现在小麦不同品种组织与根系分泌物中 BNIs 的活性无显著相关性,表明不同 BNIs 具有功能特异性和独立性。Pariasca Tanaka 等^[34]也提出水稻分泌 BNIs 是一个膜调节的过程而不是被动的非特异性组织渗漏过程。

根系 BNIs 的分泌通常受根际环境因子的特异诱导。研究发现,根系在接触 NH_4^+ 时有一个快速和明显的 BNIs 分泌,而接触 NO_3^- 后却无响应。这个现象在湿身臂形草^[41],高粱^[39]、小麦野生近缘物种大赖草^[46]和水稻^[48]中均加以了证实,增强了人们对 BNIs 具有特定功能的信心。而且,在高粱中发现这种诱导与根细胞中质膜(PM) H^+ -ATPases 的活性及 NH_3 同化有关^[49-50]。此外,在水稻中发现根际良好的通气情况有利于水稻分泌更多 1,9-癸二醇(图 2),研究人员猜想根系分泌 BNIs 和根系泌氧这两个对硝化作用一正一反的生物学过程可能共同调控根际硝化强度^[48],维持合理铵硝比,从而有利于水稻的氮素吸收和生长^[51]。更有趣的是,在水稻中还发现根际亚硝化细菌的存在能特异刺激 1,9-癸二醇的分泌(图 2),而反硝化细菌却无此诱导效应^[48]。而硝化细菌对 1,9-癸二醇的特异诱导可能与微生物分泌的群体感应(QS)信号分子有关(陆玉芳等,未发表数据),进一步表明 BNIs 可能是植物-微生物根际互动中的特定化学信号物质。而且,19 个水稻品种根系分泌物的 BNI 活性、1,9-癸二醇含量与铵态氮利用和偏好正相关^[35]。上述研究均说明了植物根系感应到有利于硝化环境的因子后,能主动分泌 BNIs 的特定信号物质,调控根际硝化强度至适宜范围内。

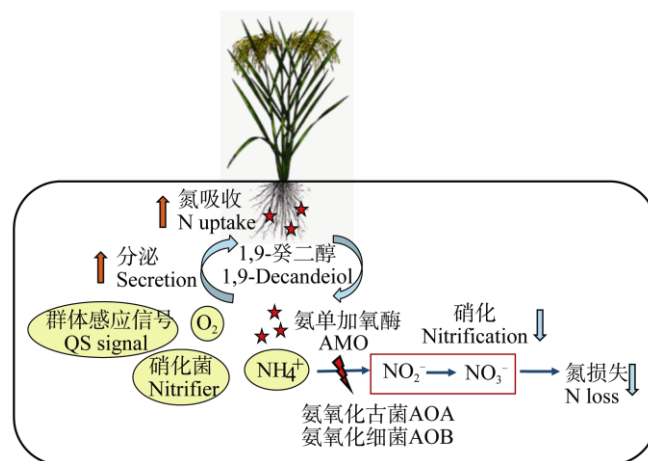


图 2 水稻根系分泌 BNIs 1,9-癸二醇与根际环境的相互作用

Fig. 2 Interaction between releasing of BNIs 1,9-decanediol from rice roots and rhizosphere environment

BNIs 受环境特异诱导产生后,还存在着功能分配的特点,即 BNIs 在根际除了抑制微生物硝化过程外,还可能在土壤-植物-微生物互作系统起其他信号作用。以高粱分泌的 BNIs 物质 MHPP 为例,中国科学院西双版纳热带植物园徐进研究员团队发现了 MHPP 对根构型塑造的信号调控功能^[52]。MHPP 主要通过干扰一氧化氮/活性氧 (NO/ROS) 的生长素信号途径,从而抑制 *Arabidopsis thaliana* 根尖分生区细胞分裂及主根伸长^[52]。值得注意的是, NH_4^+ 通常能增加侧根形成,因此,高粱根系可能在感应到硝化环境中 NH_4^+ 后,分泌特定 BNIs MHPP 来调控 BNI 活性及根系发育,从而影响植物生长^[14]。然而,该假设有待在高粱中进一步验证。

3 生物硝化抑制剂的分泌与作用机制

3.1 生物硝化抑制剂的分泌机制

植物 BNIs 的合成和分泌主要受根际氮素有效性的调控。如上文提到的,根际氮形态对 BNIs 的分泌具有重要影响,供 NH_4^+ 能显著促进植物分泌 BNIs,而在 NO_3^- -N 环境中的植株几乎不分泌 BNIs^[39, 41, 46, 48]。此外, BNIs 的分泌还受根际 NH_4^+ 浓度的影响。在 $0\sim 1 \text{ mmol L}^{-1}$ NH_4^+ 时,高粱 BNIs 分泌量随 NH_4^+ 浓度增加而显著增强,但当 NH_4^+ 大于 1 mmol L^{-1} 时, BNIs 的分泌不再提高^[50],在水稻中也发现了类似的结果^[48]。而且,最新的研究还发现,根际良好的通气情况和硝化细菌能促进水稻分泌更多 1,9-癸二醇,而反硝化细菌却无此诱导效应^[48],这表明水稻根系 BNIs 与硝化细菌之间存在着化学信号交流,但具体的信号互作机制尚缺乏研究。总体而言, BNIs 似乎受到有利于硝化环境的影响因子诱导。

此外,在高粱和热带牧草等旱作植物中, BNIs 仅在暴露于 NH_4^+ 的部位分泌^[49]。但在水作植物水稻中, NH_4^+ 的诱导效应不仅局限于接触部位,局部供 NH_4^+ 能激发整株根系 1,9-癸二醇的分泌^[48]。这种差

异可能与作物生长的环境条件和生物学特性有关。当根系局部感应到 NH_4^+ , 长期生长在淹水条件下或者酸性土壤中的水稻等作物,会积极调动其他途径加强 NH_4^+ 吸收以及促进喜铵机制的进行,防止根际 NH_4^+ 被氧化,植物根系对 NH_4^+ 的局部响应依赖于整株植物内部和外部铵信号的协作^[53-54]。可见,旱作植物和水作植物根系分泌 BNIs 的机制具有一定相似性,也存在着诸多差异,未来 BNIs 研究中值得注意。

在更微观水平上,目前在 BNIs 从根系分泌的分子转运机制方面也取得了一定进展。由于化学性质的差异,亲水性 BNIs 和疏水性 BNIs 的相关分子机制有所不同。亲水性 BNIs 属于阴离子物质,很可能通过阴离子通道释放^[49]。质膜 H^+ -ATP 酶对高粱亲水性 BNIs (MHPP) 的分泌起了重要作用,且与根系细胞中 NH_4^+ 吸收和同化密切相关^[49-50]。最近通过对三种基因型高粱的分析,进一步证实根际 NH_4^+ ($\leq 1.0 \text{ mmol L}^{-1}$) 和低 pH 促进了根系质膜 H^+ -ATP 酶活性,并通过电压依赖性的阴离子通道将带负电荷的亲水性 BNIs 转运出质膜^[55]。该研究同时也指出,高粱疏水性 BNIs 的分泌与根际 pH 关系不明显,与高粱的基因型有关。Hybridsorgo 基因型中疏水性 BNIs 的分泌不随 pH 变化,但在 PVK801 和 296B 基因型中却随 pH 升高而增强,这表明高粱疏水性 BNIs 的分泌可能依赖于其他膜转运过程。在水稻中, Zhang 等^[48]却发现疏水性 1,9-癸二醇的分泌同样受根际低 pH 的诱导。这也是水作植物水稻相比旱作植物高粱的另一个分泌机制差异。

作为一种中性不带电的脂肪醇类化合物, 1,9-癸二醇在细胞中不易受到离子极化作用,可能会通过腺苷三磷酸结合盒 (ABC) 转运蛋白或多药和有毒化合物排出家族 (MATE) 转运蛋白进行转运。值得注意的是, ABC 转运蛋白已被证明可介导根系分泌物的释放,如脂肪酸和黄酮类物质^[56],而 1,9-癸二醇属于脂肪酸衍生物,樱花素与黄酮属于同一

化学物质类别。Badri 等^[57]利用拟南芥突变体材料直接证明脂肪酸类化合物 3-羟基-顺-4,6,8,10-四烯酸受 ABC 转运蛋白转运。这项研究同时也指出同一种化合物可由不同的转运蛋白转运,如反向转运蛋白 MATE 转运蛋白,而一些 BNI 可能正是通过该蛋白家族成员释放的,如黄酮类物质^[58]。这两类转运蛋白是否真正参与了 BNI 的分泌尚有待进一步证明,但已知的根系分泌物从植物细胞膜的转运与释放途径能为 BNI 的分泌机制提供理论参考。自由扩散和囊泡运输是另外两种常见的根系分泌物转运途径^[56]。BNI 物质分子量较大,具有电荷或极性,且很多 BNI (如高粱酮)具有潜在的细胞毒性,通过自由扩散转运的可能性不大^[8]。根系分泌的高分子量物质通常涉及囊泡运输途径,如高粱酮,通过超微结构分析在高粱根毛中发现细胞富含囊泡^[59]。然而,高粱酮分泌的具体分子机制目前尚不清楚,是否还有其他 BNI 如臂形草内酯,通过类似过程释放也有待进一步研究。根据以上结果,本文提出了根系分泌 BNI 由植物细胞膜释放的机制假说(图 3)。

3.2 生物硝化抑制剂的作用机制

氨氧化是氨(NH_3)氧化为亚硝酸盐(NO_2^-)的生物学过程,被认为是硝化作用的限速步骤,由氨氧化细菌(Ammonia-oxidizing bacteria, AOB)、氨氧化古菌(Ammonia-oxidizing archaea, AOA)和

近年来新发现的全程硝化菌(Complete ammonia oxidizer, Comammox)主导。AOB 是高氮投入下的中性和碱性土壤环境中硝化作用的主要驱动者^[60],而 AOA 由于对底物 NH_3 的亲合力更高,在低氮和强酸性土壤环境中占主导^[61]。基于基因组序列,Comammox 似乎具有广泛的代谢通用性,因此可能在多种环境中具有竞争力^[62]。三者生态位的分化可能是由于它们在氨氧化途径中的进化差异导致的^[63]。氨单加氧酶(Ammonia monooxygenase, AMO)和羟胺氧化还原酶(Hydroxylamine oxidoreductase, HAO)是 AOB、AOA 和 Comammox 进行氨氧化的关键酶。AOB 的 AMO 三聚体膜结合蛋白由 amoA、amoB 和 amoC 3 个亚基组成,其中 amoA 是 AMO 的活性多肽位点。相对于 AOB, AOA 的氨氧化途径尚不清晰,但基因组分析表明 AOA 具有编码 3 个亚基的独特同源基因,且体内包含 ORF38 或 amoX 基因,可能会编码第四个 AMO 亚基^[64];此外, AOA 的 SamoB 活性位点不保守,且缺少编码 HAO 基因。与 AOB 相似,Comammox 含有编码 AMO 和 HAO 的 amo 和 hao 基因,但与 AOB 不同的是,Comammox 仅有一个 amoCAB 启动子区域,有 2 个其他的 amoC 基因,但总体上与 AOB 关系最密切。

目前在农业上广泛使用的 SNIs (DCD, nitrapyrin 和 DMPP),主要作为竞争性底物或金属螯合剂结合

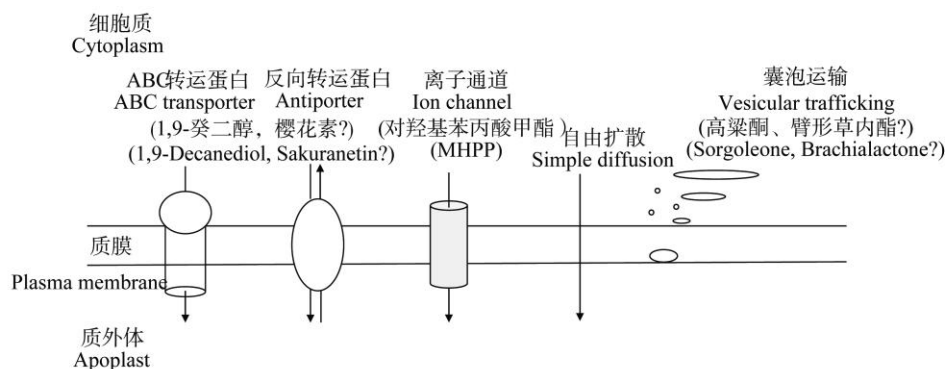


图 3 根系分泌生物硝化抑制剂由植物细胞膜释放的机制假说图

Fig. 3 Diagram of the hypothesized mechanisms of root exudation of BNI through the plant cell membrane

amoB 亚基的活性位点 Cu 起抑制作用^[65]。Nitrapyrin 还能作为 amoB 的替代底物,其产物将对氨氧化产

生不可逆的影响^[66]。但 BNI 在生化层面的作用方式尚缺乏研究。在菌株纯培养体系下,DCD 和

nitrapyrin 仅能作用于 AMO, 却对 HAO 无效果^[39, 41], 而大多数根系分泌的 BNIs (臂形草内酯、高粱酮和樱花素) 却能同时抑制 *Nitrosomonas europaea* AMO 和 HAO 的活性^[14, 41] (表 2), 包括 *Brachiaria humidicola* 地上部组织中发现的亚麻酸和亚油酸^[38]。而且, 臂形草、小麦近缘种和高粱的根系分泌物总组分也能同时抑制 AMO 和 HAO 的活性^[39, 41, 45]。由此可见, BNIs 可能较 SNIs 调控更多的硝化酶位点。

在调控硝化微生物种类方面, 化学合成硝化抑制剂 DCD、nitrapyrin 和 DMPP 大多数情况下仅对 AOB 有显著抑制, 对 AOA 基本无抑制作用^[67], 这可能与 AOA 中 amoB 亚基空间结构与 AOB 不同有关。大量研究表明, 植物分泌 BNIs 似乎能作用于更多的氨氧化微生物种类。例如, Subbarao 等^[41]通过田间实验发现, 种植高 BNI 活性的臂形草能同时抑制 AOA 和 AOB 丰度。Byrnes 等^[68]和 Nuñez 等^[69]也陆续证明臂形草根分泌物能作用于 AOA。在 BNIs 化学物质单独添加的研究中, Nardi 等^[44]证明 BNIs 物质 MHPP 能同时抑制土壤 AOB 和 AOA 丰度。Lu 等^[43]利用土壤培养实验发现 1,9-癸二醇添加能显著抑制三种农田土壤潮土、水稻土和红壤的 AOA 和 AOB *amoA* 基因丰度。Sarr 等^[70]利用盆栽实验发现高粱酮对土壤 AOA 丰度有显著抑制。可见, BNIs 具有同时抑制 AOB 和 AOA 的潜力。最新研究还明确了森林杉树凋落物对硝化细菌 (NOB) 硝化杆菌属 (*Nitrobacter*) 的调控作用^[31]。除了 AOB 和 AOA, 后续研究建议同时关注 Comammox 和 NOB 对 BNIs 的响应。

氨氧化微生物对不同类型硝化抑制剂敏感性的

表 2 主要生物硝化抑制剂和化学合成硝化抑制剂的作用机制

Table 2 Mechanism of the main biological nitrification inhibitors and chemical nitrification inhibitors

类别 Category	物质名称 Compound	来源 Origin	氨氧化微生物 Ammonium oxidizers		硝化酶 Enzymatic pathways		参考文献 Reference
			AOB	AOA	AMO	HAO	

变化可能是由于 AMO 酶或氨氧化途径的差异, 以及细胞差异引起的^[67]。鉴于 AOA 和 Comammox 对硝化作用的重要贡献, 目前仅对 AOB 有效果的 SNIs 有待升级。大多数情况下 DCD 和 DMPP 等 SNIs 仅在 AOB 占主导的中性和碱性土壤中发挥作用, 而能同时调控 AOA 和 AOB 的 BNIs 潜在应用范围将更广泛, 特别是在 AOA 占主导的酸性土壤上^[43], 这是 BNIs 相比于 SNIs 的优势之一。事实上, 除了能抑制 AOB, 能更广谱地调控 AOA 和 Comammox 的 BNIs 在土壤中的效果可能会更加持久^[16]。而且, BNIs (或 BNIs 混合物) 能作用于不同的氨氧化途径或氨氧化微生物种类, 降低环境中硝化微生物对硝化抑制剂的抗性^[16]。此外, BNIs 在实际土壤-植物系统中还具有时空持续、精准释放的特点, 这是其优于 SNIs 的另一大优势, 而 SNIs 在土壤中有效期普遍较短。

4 生物硝化抑制剂在农业生产上的应用前景

BNIs 环境友好, 在农业上具有温室气体减排、氮素增效和作物丰产的潜力^[14, 72], 但目前尚缺乏 BNIs 的田间实际应用研究。研究人员多年来一直在探寻高效利用 BNI 功能的方法, 其中种植高 BNI 活性的植物或直接覆盖牧草组织是减少农业环境中 N₂O 排放和提高氮素利用率的有效途径之一。最经典的例子来自 Subbarao 等^[41]哥伦比亚热带国际农

exudates	高粱酮	高粱	?	++	+	+	[40, 70]
	Sorgoleone	<i>Sorghum bicolor</i>					
	樱花素	高粱	?	?	+	+	[40]
	Sakuranetin	<i>Sorghum bicolor</i>					
	臂形草内酯	湿身臂形草	?	?	+	+	[41]
	Brachialactone	<i>Brachiaria humidicola</i>					
	1,9-癸二醇	水稻	+++	+++	+	-	[35, 43]
	1,9-Decanediol	<i>Oryza sativa</i>					
	双氰胺 (DCD)	商业合成	+	-	+	-	[39-40]
	Dicyandiamide (DCD)	Synthetic					
商业化的 SNIs	3,4-二甲基吡唑磷酸盐 (DMPP)	商业合成	+++	-	+	-	[71]
	3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP)	Synthetic					
Commercial SNIs	2-氯-6-三氯甲基吡啶 (Nitrapyrin)	商业合成	+++	+	+	-	[41, 67]
	2-chloro-6-trichloromethyl pyridine (Nitrapyrin)	Synthetic					

注：BNIs 对 AOB 和 AOA 的效果从高效抑制 (+++) 到无抑制效果 (-) 或效果不明 (?)；BNIs 对 AMO 和 HAO 酶作用途径有抑制 (+) 或无抑制 (-)；AOB：氨氧化细菌；AOA：氨氧化古菌；AMO：氨单加氧酶；HAO：羟胺氧化酶。Note：BNIs vary in effect on AOB and AOA varies from highly efficient (+++) to non-efficient (-) or unknown (?); in effect on AMO and HAO enzymes from positive inhibitory effect (+) to none (-). AOB stands for ammonia-oxidizing bacteria; AOA for ammonia-oxidizing archaea; AMO for ammonia monooxygenase and HAO for hydroxylamine oxidoreductase.

业中心的 3 年田间实验，与大豆或对照试验小区相比，种植高 BNI 活性的臂形草试验小区抑制了 90% 的 N_2O 排放。Byrnes 等^[68]将高 BNI 活性热带牧草 *B. humidicola* (CIAT 679) 组织覆盖至土壤牛尿斑块后，发现 N_2O 排放较低 BNI 活性的牧草 *B. hybrid* ‘Mulato’ 减少了 60%。BNI 的田间应用也逐渐拓展至蔬菜和粮食作物上。Zhang 等^[73]通过 2 年的蔬菜田间试验，发现与 BNI 效应强的高粱轮作后，菜地 N_2O 排放量降低了 18.1%，高于 Nitrapyrin 处理下的 16.5%，而且蔬菜的氮素利用率提高了 6.7%，产量增加了 $10.3 \text{ t hm}^{-2} \text{ a}^{-1}$ 。Karwat 等^[74]在牧草-玉米轮作田间实验中发现种植高 BNI 活性牧草后显著提高了后茬玉米的氮素利用率和产量。因此，这种高 BNI 活性植物（如牧草）与其他作物轮作的农艺措施有

望向农民推广应用。

此外，BNIs 物质作为新型的氮肥增效剂具有一定的产业化前景，然而这方面的研究正处于初级阶段。在一项 MHPP 对秸秆和牛粪堆肥减排的野外研究中，人们发现 0.6% MHPP 能减少 N_2O 排放达 62.39%^[75]。Lu 等^[43]通过室内培养实验提供了 BNIs 1,9-癸二醇减少农田土壤 N_2O 排放量的证据，明确 1,9-癸二醇对三种农田土壤 N_2O 平均减排为 48%，特别是在酸性红壤上高达 90%，效果显著优于 DCD，这可能与 1,9-癸二醇对 AOA 丰度和群落结构的有效抑制有关。Sun 等^[35]结合 19 个水稻品种室内水培和 ^{15}N 同位素示踪实验，发现水稻 BNI 活性、1,9-癸二醇含量与水稻铵态氮吸收正相关，表明 1,9-癸二醇有提高作物氮素利用的潜力。目前迫切需要

研究 1,9-癸二醇等 BNI 物质的田间增效减排效果。

利用 BNI 性状进行作物遗传改良是提高作物氮素利用率的一条新途径。近年来研究人员一直尝试解析调控 BNI 活性和 BNI 分泌的关键基因。不同品种热带牧草、高粱、小麦和水稻的根系分泌物 BNI 活性存在显著变异^[33-34, 42, 45]。在高粱中,其分泌的 BNI 物质高粱酮含量具有显著的品种差异性^[42]。在水稻中也发现 19 个水稻品种根系分泌的 1,9-癸二醇与 BNI 活性呈显著正相关^[35]。这些结果为进一步通过遗传学方法克隆控制 BNI 活性或 BNI 分泌的关键基因位点提供了理论依据。在粮食作物中, Subbarao 等^[45]在前期发现小麦的一个野生近缘物种 *L. racemosus* 具有较高的 BNI 能力基础上,利用 QTL 技术将控制 BNI 活性的遗传位点定位于 *Lr#n* 染色体,并通过远缘杂交技术成功导入小麦栽培品种中。澳大利亚 O'Sullivan 团队^[33]在大量小麦地方品种中发现了 BNI 活性,增加了将 BNI 功能引入现代小麦品种的潜力。而且,该团队还进一步发现在澳大利亚西南部广泛生长的现代小麦品种 Wyalkatchem 具有中等的 BNI 活性,表明有必要将现代作物品种的测试范围扩大,进一步简化育种过程。在水稻中,研究人员也明确了现代水稻品种根系分泌物的 BNI 活性存在遗传变异,并采用全基因组关联分析(Genome wide association study, GWAS)确定了调控水稻 BNI 活性的遗传位点(施卫明等,未发表数据)。

5 研究展望

尽管 BNI 的研究目前处于起步阶段,但在过去的十年中已取得了相当多的进展:从臂形草、高粱和水稻根系分泌物中 BNI 物质的鉴定,到从现代小麦和水稻品种中发现了 BNI 活性,并揭示了 BNI 与氮素利用率的密切关系^[35]。然而,为了更好地应对当今高投入条件下农业的氮素困境,满足农业氮素管理的需求,有必要进一步开发 BNI 在根内-根际-土壤系统中的重要功能,诸多关于 BNI 的基

础和应用研究值得深入:(1)继续探索重要农作物的 BNI 功能和 BNI 物质类型,并兼顾 BNI 物质之间的互作关系;(2)进一步探索已知 BNI 物质抑制硝化的作用机理,除了氨氧化微生物 AOA 与 AOB,还应关注新发现的 Comammox 对 BNI 的响应,包括其他氮转化过程如反硝化,而 BNI 引起的氨挥发潜在损失也有待评估;(3)随着分子生物学 GWAS 等先进技术的应用,结合国内外广泛的现代作物种质资源,未来将有望在调控 BNI 和 BNI 分泌的关键基因及其分子遗传机制方面取得突破,为作物遗传育种提供新的思路与理论依据;(4)在农业生产上,应尽快开展 BNI 的田间实验,探究 BNI 在不同土壤条件下和不同作物中的增效减排效果,同时尝试开发基于 BNI 的新型稳定性肥料产品,并在田间进行效果评估。

基于 BNI 的新型肥料属于环境友好型产品,未来有望部分替代化学合成硝化抑制剂,特别在有机农业中有较广阔的应用前景,将对提升农产品品质安全,增强我国农产品的国际竞争力具有重大意义。同时,开发 BNI 技术和产品也将有利于提升农产品的经济附加值,推动现代农业绿色、高效和可持续发展。

参考文献 (References)

- [1] Erisman J W, Sutton M A, Galloway J N, et al. How a century of ammonia synthesis changed the world[J]. *Nature Geoscience*, 2008, 1 (10): 636—639.
- [2] Zhang F S, Chen X P, Chen Q et al. Fertilizer application guideline for main crops of China [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2009. [张福锁, 陈新平, 陈清, 等. 中国主要作物施肥指南[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2009.]
- [3] Zhang F S, Cui Z L, Chen X P, et al. Integrated nutrient management for food security and environmental quality in China[J] *Advances in Agronomy*, 2012, 116: 1—40.
- [4] Yu F, Shi W M. Nitrogen use efficiencies of major grain crops in China in recent 10 years[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2015, 52 (6): 1311—1324. [于飞, 施卫明. 近 10 年中国大陆主要粮食作物氮肥利用率分析[J]. *土壤学报*, 2015, 52 (6): 1311—1324.]
- [5] Ju X T, Gu B J. Status-quo, problem and trend of nitrogen fertilization in China[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer*, 2014, 20 (4): 783—795. [巨晓棠, 谷保静.

- 我国农田氮肥施用现状、问题及趋势[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20 (4): 783—795.]
- [6] Cheng Y , Zhang J B , Cai Z C . Key role of matching of crop-specific N preference , soil N transformation and climate conditions in soil N nutrient management[J]. *Acta Pedologica Sinica* , 2019 , 56 (3): 507—515. [程谊, 张金波, 蔡祖聪. 气候-土壤-作物之间氮形态契合在氮肥管理中的关键作用[J]. 土壤学报, 2019, 56 (3): 507—515.]
- [7] Zhu Z L . Research on soil nitrogen in China[J]. *Acta Pedologica Sinica* , 2008 , 45 (5): 778—783. [朱兆良. 中国土壤氮素研究[J]. 土壤学报, 2008, 45 (5): 778—783.]
- [8] Yan X Y , Xia L L , Ti C P . Win-win nitrogen management practices for improving crop yield and environmental sustainability[J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences* , 2018 , 33 (2): 177—183. [颜晓元, 夏龙, 递超普. 面向作物产量和环境双赢的氮肥施用策略[J]. 中国科学院院刊, 2018, 33 (2): 177—183.]
- [9] Ladha J K , Pathak H , Krupnik T J , et al . Efficiency of fertilizer nitrogen in cereal production : retrospects and prospects[J]. *Advances in Agronomy* , 2005 , 87 : 85—156.
- [10] FAO . FAOSTAT : FAO Statistical Databases [DB/OL]. [http : //www.fao.org/faostat/en/#data/RFN](http://www.fao.org/faostat/en/#data/RFN)
- [11] Galloway J N , Townsend A R , Erisman J W , et al . Transformation of the nitrogen cycle : Recent trends , questions , and potential solutions[J]. *Science* , 2008 , 320 (5878): 889—892.
- [12] Raza S , Miao N , Wang P Z , et al . Dramatic loss of inorganic carbon by nitrogen-induced soil acidification in Chinese croplands[J]. *Global Change Biology* , 2020 , 26 (6): 3738—3751.
- [13] Cai Z C , Yan X Y , Zhu Z L . A great challenge to solve nitrogen pollution from intensive agriculture[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizer* , 2014 , 20 (1): 1—6. [蔡祖聪, 颜晓元, 朱兆良. 立足于解决高投入条件下的氮污染问题[J]. 植物营养与肥料学报, 2014, 20 (1): 1—6.]
- [14] Coskun D , Britto D T , Shi W M , et al . Nitrogen transformations in modern agriculture and the role of biological nitrification inhibition[J]. *Nature Plants* , 2017 , 3 (6): 17074.
- [15] Subbarao G V , Ito O , Sahrawat K L , et al . Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems—challenges and opportunities[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences* , 2006 , 25 (4): 303—335.
- [16] Beeckman F , Motte H , Beeckman T . Nitrification in agricultural soils : Impact , actors and mitigation[J]. *Current Opinion in Biotechnology* , 2018 , 50 : 166—173.
- [17] Burzaco J P , Ciampitti I A , Vyn T J . Nitrapyrin impacts on maize yield and nitrogen use efficiency with spring-applied nitrogen : Field studies vs. meta-analysis comparison[J]. *Agronomy Journal* , 2014 , 106 (2): 753—760.
- [18] Qiao C L , Liu L L , Hu S J , et al . How inhibiting nitrification affects nitrogen cycle and reduces environmental impacts of anthropogenic nitrogen input[J]. *Global Change Biology* , 2015 , 21 (3): 1249—1257.
- [19] 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 : 136—144.
- [20] Sun H J , Min J , Shi W M , et al . Effects of nitrification inhibitor on rice production and ammonia volatilization in paddy rice field[J]. *Soils* , 2015 , 47 (6): 1027—1033. [孙海军, 闵炬, 施卫明, 等. 硝化抑制剂施用对水稻产量与氨挥发的影响[J]. 土壤, 2015, 47 (6): 1027—1033.]
- [21] Woodward E E , Hladik M L , Kolpin D W . Nitrapyrin in streams : The first study documenting off-field transport of a nitrogen stabilizer compound[J]. *Environmental Science & Technology Letters* , 2016 , 3 (11): 387—392.
- [22] 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*[J]. *Plant and Soil* , 2006 , 288 (1/2): 101—112.
- [23] Munro P E . Inhibition of nitrifiers by grass root extracts[J]. *The Journal of Applied Ecology* , 1966 , 3 (2): 231.
- [24] Rice E L , Pancholy S K . Inhibition of nitrification by *Climax* ecosystems[J]. *American Journal of Botany* , 1972 , 59 (10): 1033—1040.
- [25] Lata J C , Degrange V , Raynaud X , et al . Grass populations control nitrification in savanna soils[J]. *Functional Ecology* , 2004 , 18 (4): 605—611.
- [26] Boudsocq S , Lata J C , Mathieu J , et al . Modelling approach to analyse the effects of nitrification inhibition on primary production[J]. *Functional Ecology* , 2009 , 23 (1): 220—230.
- [27] Sylvester-Bradley R , Mosquera D , Méndez J E . Inhibition of nitrate accumulation in tropical grassland soils : Effect of nitrogen fertilization and soil disturbance[J]. *European Journal of Soil Science* , 1988 , 39 (3): 407-416.
- [28] Ishikawa T , Subbarao G V , Ito O , et al . Suppression of nitrification and nitrous oxide emission by the tropical grass *Brachiaria humidicola*[J]. *Plant and Soil* , 2003 , 255 (1): 413—419.
- [29] Subbarao G V , Rondon M , Ito O , et al . Biological nitrification inhibition (BNI) —is it a widespread phenomenon?[J]. *Plant and Soil* , 2007 , 294 (1/2): 5—18.
- [30] Janke C K , Wendling L A , Fujinuma R . Biological nitrification inhibition by root exudates of native species , *Hibiscus splendens* and *Solanum echinatum*[J]. *PeerJ* , 2018 , 6 : e4960. [https : //doi.org/10.7717/peerj.4960](https://doi.org/10.7717/peerj.4960).

- [31] Laffite A , Florio A , Andrianarisoa K S , et al. Biological inhibition of soil nitrification by forest tree species affects *Nitrobacter* populations[J]. *Environmental Microbiology* , 2020 , 22 (3) : 1141—1153.
- [32] Subbarao G V , Yoshihashi T , Worthington M , et al. Suppression of soil nitrification by plants[J]. *Plant Science* , 2015 , 233 : 155—164.
- [33] O'Sullivan C A , Fillery I R P , Roper M M , et al. Identification of several wheat landraces with biological nitrification inhibition capacity[J]. *Plant and Soil* , 2016 , 404 (1/2) : 61—74.
- [34] Pariasca Tanaka J , Nardi P , Wissuwa M. Nitrification inhibition activity , a novel trait in root exudates of rice[J]. *AoB PLANTS* , 2010. [https : //doi.org/10.1093/aobpla/plq014](https://doi.org/10.1093/aobpla/plq014).
- [35] Sun L , Lu Y F , Yu F W , et al. Biological nitrification inhibition by rice root exudates and its relationship with nitrogen-use efficiency[J]. *New Phytologist* , 2016 , 212 (3) : 646—656.
- [36] Zeng H Q , Zhu Y Y , Wang H Y , et al. Biological nitrification inhibitor-A new strategy for controlling nitrogen loss from farmland[J]. *Acta Pedologica Sinica* , 2012 , 49 (2) : 382—388. [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.]
- [37] Gopalakrishnan S , Subbarao G V , Nakahara K , et al. Nitrification inhibitors from the root tissues of *Brachiaria humidicola* , a tropical grass[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 2007 , 55 (4) : 1385—1388.
- [38] 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 inhibitors of nitrification[J]. *Plant and Soil* , 2008 , 313 (1/2) : 89—99.
- [39] 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*) [J]. *New Phytologist* , 2008 , 180 (2) : 442—451.
- [40] Subbarao G V , Nakahara K , Ishikawa T , et al. Biological nitrification inhibition (BNI) activity in *Sorghum* and its characterization[J]. *Plant and Soil* , 2013 , 366 (1/2) : 243—259.
- [41] Subbarao G V , Nakahara K , Hurtado M P , et al. Evidence for biological nitrification inhibition in *Brachiaria* pastures[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* , 2009 , 106 (41) : 17302—17307.
- [42] Tesfamariam T , Yoshinaga H , Deshpande S P , et al. Biological nitrification inhibition in *Sorghum* : The role of sorgoleone production[J]. *Plant and Soil* , 2014 , 379 (1/2) : 325—335.
- [43] Lu Y F , Zhang X N , Jiang J F , et al. Effects of the biological nitrification inhibitor 1 , 9-decanediol on nitrification and ammonia oxidizers in three agricultural soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry* , 2019 , 129 : 48—59.
- [44] 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 and Soil* , 2013 , 367 (1/2) : 627—637.
- [45] Subbarao G V , Tomohiro B , Masahiro K , et al. Can biological nitrification inhibition (BNI) genes from perennial *Leymus racemosus* (Triticeae) combat nitrification in wheat farming? [J]. *Plant and Soil* , 2007 , 299 (1/2) : 55—64.
- [46] McConn M , Browse J. The critical requirement for linolenic acid is pollen development , not photosynthesis , in an *Arabidopsis mutant* [J]. *The Plant Cell* , 1996 , 8 (3) : 403—416.
- [47] Dayan F E , Rimando A M , Pan Z Q , et al. Sorgoleone[J]. *Phytochemistry* , 2010 , 71 (10) : 1032—1039.
- [48] Zhang X N , Lu Y F , Yang T , et al. Factors influencing the release of the biological nitrification inhibitor 1 , 9-decanediol from rice (*Oryza sativa* L.) roots[J]. *Plant and Soil* , 2019 , 436 (1/2) : 253—265.
- [49] Zhu Y Y , Zeng H Q , Shen Q R , et al. Interplay among NH_4^+ uptake , rhizosphere pH and plasma membrane H^+ -ATPase determine the release of BNIs in *Sorghum* roots—possible mechanisms and underlying hypothesis[J]. *Plant and Soil* , 2012 , 358 (1/2) : 131—141.
- [50] Zeng H Q , Di T J , Zhu Y Y , et al. Transcriptional response of plasma membrane H^+ -ATPase genes to ammonium nutrition and its functional link to the release of biological nitrification inhibitors from *Sorghum* roots[J]. *Plant and Soil* , 2016 , 398 (1/2) : 301—312.
- [51] Kronzucker H J , Glass A D M , Siddiqi M Y , et al. Comparative kinetic analysis of ammonium and nitrate acquisition by tropical lowland rice : Implications for rice cultivation and yield potential[J]. *New Phytologist* , 2000 , 145 (3) : 471—476.
- [52] Liu Y Y , Wang R L , Zhang P , et al. The nitrification inhibitor methyl 3-(4-hydroxyphenyl) propionate modulates root development by interfering with auxin signaling via the NO/ROS pathway[J]. *Plant Physiology* , 2016 , 171 (3) : 1686—1703.
- [53] Liu Y , von Wirén N. Ammonium as a signal for physiological and morphological responses in plants[J]. *Journal of Experimental Botany* , 2017 , 68 (10) : 2581—2592.
- [54] Zhang Y , Zhang M C , Zhu Y Y , et al. The mechanism of biological nitrification inhibitor released by *Sorghum* under different nitrogen sources[J]. *Soils* , 2012 , 44 (6) : 982—986. [张莹, 张明超, 朱毅勇, 等. 高粱在不同氮

- 源处理下分泌生物硝化抑制剂的差异[J]. 土壤, 2012, 44 (6): 982—986.]
- [55] Di T J , Afzal M R , Yoshihashi T , et al. Further insights into underlying mechanisms for the release of biological nitrification inhibitors from *Sorghum* roots[J]. Plant and Soil , 2018 , 423 (1/2): 99—110.
- [56] Badri D V , Vivanco J M. Regulation and function of root exudates[J]. Plant , Cell & Environment , 2009 , 32 (6): 666—681.
- [57] Badri D V , Loyola-Vargas V M , Broeckling C D , et al. Altered profile of secondary metabolites in the root exudates of *Arabidopsis* ATP-binding cassette transporter mutants[J]. Plant Physiology , 2008 , 146 (2): 762—771.
- [58] Weston L A , Ryan P R , Watt M. Mechanisms for cellular transport and release of allelochemicals from plant roots into the rhizosphere[J]. Journal of Experimental Botany , 2012 , 63 (9): 3445—3454.
- [59] Czarnota M A , Paul R N , Weston L A , et al. Anatomy of sorgoleone-secreting root hairs of *Sorghum* species[J]. International Journal of Plant Sciences , 2003 , 164 (6): 861—866.
- [60] Xia W W , Zhang C X , Zeng X W , et al. Autotrophic growth of nitrifying community in an agricultural soil[J]. The ISME Journal , 2011 , 5 (7): 1226—1236.
- [61] Zhang L M , Hu H W , Shen J P , et al. *Ammonia*-oxidizing archaea have more important role than *ammonia*-oxidizing bacteria in *ammonia* oxidation of strongly acidic soils[J]. The ISME Journal , 2012 , 6 (5): 1032—1045.
- [62] Kits K D , Sedlacek C J , Lebedeva E V , et al. Kinetic analysis of a complete nitrifier reveals an oligotrophic lifestyle[J]. Nature , 2017 , 549 (7671): 269—272.
- [63] Prosser J I , Nicol G W. Archaeal and bacterial *ammonia*-oxidisers in soil : The quest for niche specialisation and differentiation[J]. Trends in Microbiology , 2012 , 20 (11): 523—531.
- [64] Kerou M , Offre P , Valledor L , et al. Proteomics and comparative genomics of *Nitrososphaera viennensis* reveal the core genome and adaptations of archaeal *ammonia* oxidizers[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America , 2016 , 113 (49): E7937-E7946. <https://doi.org/10.1073/pnas.1601212113>.
- [65] McCarty G W. Modes of action of nitrification inhibitors[J]. Biology and Fertility of Soils , 1999 , 29 (1): 1—9.
- [66] Vannelli T , Hooper A B. Oxidation of nitrapyrin to 6-chloropicolinic acid by the *ammonia*-oxidizing bacterium *Nitrosomonas europaea*[J]. Applied and Environmental Microbiology , 1992 , 58 (7): 2321—2325.
- [67] Shen T L , Stieglmeier M , Dai J L , et al. Responses of the terrestrial *ammonia*-oxidizing archaeon *Ca. Nitrososphaera viennensis* and the *ammonia*-oxidizing bacterium *Nitrospira multififormis* to nitrification inhibitors[J]. FEMS Microbiology Letters , 2013 , 344 (2): 121—129.
- [68] Byrnes R C , Nuñez J , Arenas L , et al. Biological nitrification inhibition by *Brachiaria* grasses mitigates soil nitrous oxide emissions from bovine urine patches[J]. Soil Biology and Biochemistry , 2017 , 107 : 156—163.
- [69] Nuñez J , Arevalo A , Karwat H , et al. Biological nitrification inhibition activity in a soil-grown biparental population of the forage grass , *Brachiaria humidicola*[J]. Plant and Soil , 2018 , 426 (1/2): 401—411.
- [70] Sarr P S , Ando Y , Nakamura S , et al. Sorgoleone release from *Sorghum* roots shapes the composition of nitrifying populations , total bacteria , and Archaea and determines the level of nitrification[J]. Biology and Fertility of Soils , 2020 , 56 (2): 145—166.
- [71] 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.
- [72] Subbarao G V , Arango J , Masahiro K , et al. Genetic mitigation strategies to tackle agricultural GHG emissions : The case for biological nitrification inhibition technology[J]. Plant Science , 2017 , 262 : 165—168.
- [73] Zhang M Q , Fan C H , Li Q L , et al. A 2-yr field assessment of the effects of chemical and biological nitrification inhibitors on nitrous oxide emissions and nitrogen use efficiency in an intensively managed vegetable cropping system[J]. Agriculture , Ecosystems & Environment , 2015 , 201 : 43—50.
- [74] Karwat H , Moreta D , Arango J , et al. Residual effect of BNI by *Brachiaria humidicola* pasture on nitrogen recovery and grain yield of subsequent maize[J]. Plant and Soil , 2017 , 420 (1/2): 389—406.
- [75] Ren L T. Effect of biological nitrification inhibitor on nitrogen fixation and emission reduction in straw and dairy manure composting[J]. Applied Ecology and Environmental Research , 2019 , 17 (5): 11289—11301.

(责任编辑 : 陈荣府)