نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار
جلد نهم، شماره چهارم، ۱۳۹۸
۲۵-٤٦
http://ejsms.gau.ac.ir

# اثر بازدارنده ۳ و ۴ دی‌متیل پیرازول فسفات (DMPP) بر نیتراتسازی و فراوانی باکتری‌های نیتراتساز در پنج نوع خاک مختلف

**جمال شیخی[۱]، *حسین میر سید حسینی[۲]، حسن اعتصامی[۳] و عزیز مجیدی[۴]**

[۱]دانشجوی دکتری گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران، [۲]دانشیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران، [۳]استادیار گروه علوم و مهندسی خاک، دانشگاه تهران، [۴]استادیار بخش خاک و آب مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی، آذربایجان غربی

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱۲/۱۵ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۰٦/۱۲

## چکیده

**سابقه و هدف:** کارایی پایین استفاده از کودهای نیتروژن یک مشکل جهانی در تولید محصول است و کشاورزی ایران نیز از این قاعده مستثنی نیست. کودهای نیتروژنی به‌عنوان منبع نیتروژن، در آلودگی خاک، آب و هوای محیط‌زیست تأثیرگذار هستند. نیتراتسازی یک فرایند کلیدی در اکوسیستم‌های کشاورزی است چرا که تبدیل آمونیوم به نیترات می‌تواند منجر به از دست دادن بخش قابل‌توجهی از نیتروژن خاک از طریق آبشویی و یا نیتراتزدایی شود. استفاده از بازدارنده‌های نیتراتسازی همراه کود نیتروژن به‌منظور کنترل این فرایند یکی از راهکارهای کاهش هدرروی نیتروژن است. بنابراین این پژوهش با هدف بررسی اثر بازدارنده ۳ و ٤ دی‌متیل پیرازول فسفات (DMPP) بر میزان نیتراتسازی و درصد بازدارندگی آن در برخی خاک‌های ایران صورت گرفت.

**مواد و روش‌ها:** یک آزمایش گرماگذاری به‌منظور بررسی اثر DMPP بر روند تغییر غلظت نیترات و آمونیوم در فواصل زمانی مختلف و فراوانی باکتری‌های اکسیدکننده آمونیوم (AOB) و نیتریت (NOB) در پنج خاک مختلف انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل بازدارنده نیتراتسازی (NI) در سه سطح (بدون کاربرد نیتروژن و NI، mg/kg ۲۰۰ نیتروژن از منبع سولفات آمونیوم بدون NI و mg/kg ۲۰۰ نیتروژن از منبع سولفات آمونیوم حاوی ۰/۸ درصد NI)، پنج نوع خاک (لوم شنی ۱ با ۰/۵۸ درصد کربن آلی، لوم شنی ۲ با ۰/۳ درصد کربن آلی، لوم با ۰/۷۳ درصد کربن آلی، لوم رسی با ۰/۸۷ درصد کربن آلی و رسی با ۱/٤۷ درصد کربن آلی) و پنج زمان نمونه‌برداری (۰، ۱٤، ۲۸، ٤۲، و ٥٦ روز) بود.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد در همه خاک‌ها کاربرد نیتروژن همراه DMPP نسبت به نیتروژن بدون DMPP اثر معنی‌داری ($P<0.001$) بر کاهش میزان نیتراتسازی داشت به‌طوری‌که میزان آن را به‌طور میانگین ٤٤/۷ درصد کاهش داد. کارایی DMPP در کاهش نیتراتسازی در خاک‌های مورد آزمایش با هم اختلاف معنی‌داری داشت به‌طوری‌که نیتراتسازی در خاک‌های دارای رس و کربن آلی بیش‌تر نسبت به خاک‌های دارای شن بیش‌تر و ماده آلی کم‌تر سریع‌تر اتفاق افتاد. درصد بازدارندگی نیترات بعد از ٥٦ روز گرماگذاری در خاک‌های لوم شنی ۱ و ۲ و لومی

* مسئول مکاتبه: mirseyed@ut.ac.ir

به‌ترتیب ۵۷، ٤٦ و ۱۲ درصد بود ولی برای دو خاک دیگر نزدیک به صفر بود. هم‌چنین یک همبستگی مثبت معنی‌دار بین تعداد باکتری‌های AOB و NOB با غلظت نیترات (r = ۰/٦)، مقدار کربن آلی (r = ۰/۹) و نیتروژن کل خاک (r = ۰/۹) وجود داشت.

**نتیجه‌گیری:** می‌توان بیان نمود که میزان نیترات‌سازی خاک تحت‌تأثیر عواملی مانند بافت و مقدار ماده آلی خاک متفاوت است و کارایی DMPP با برخی ویژگی‌ها مانند درصد رس، محتوای کربن آلی و جمعیت باکتری‌های نیترات‌ساز خاک رابطه عکس دارد.

***واژه‌های کلیدی:*** بازدارنده نیترات‌سازی، باکتری‌های نیترات ساز، راندمان کود، کربن آلی خاک

## مقدمه

نیتروژن (N) یکی از عناصر غذایی ضروری برای تولید محصول است و پس از کربن بیش‌ترین مقدار را در ماده خشک گیاهی شامل می‌شود. کودهای شیمیایی نیتروژنی از عوامل کلیدی در بهبود افزایش عملکرد محصولات کشاورزی در سطح جهان می‌باشند. کودهای نیتروژنی به‌عنوان منبع نیتروژن، دارای کارایی استفاده از نیتروژن (NUE[1]) پایین می‌باشند و در آلودگی خاک و آب و سلامتی محیط زیست تأثیرگذار هستند. در سراسر جهان، NUE برای تولید غلات (گندم، ذرت، برنج، جو، سورگوم، ارزن، جو دو سر، چاودار و غیره) تقریباً کم‌تر از ٤۰ درصد برآورد شده است. بر اساس برآورد ۱۲۰ مگا تن مصرف نیتروژن به معنی از دست دادن بیش از ۱۷ میلیارد دلار در سال در جهان می‌باشد (۳۹). اگرچه بیش‌تر گیاهان قادر به استفاده از هر دو شکل قابل‌دسترس نیتروژن آمونیومی و نیتراتی هستند، شکل دومی شکل غالب مورد استفاده توسط گیاهان است. به‌دلیل تبدیل سریع بیش‌تر نیتروژن آمونیومی به نیترات تحت شرایط مناسب، این عمل عمدتاً اجبار است تا ترجیح. در نتیجه، نیتروژن آمونیومی فقط برای یک دوره محدود از زمان در دسترس گیاهان است و ریشه‌های گیاه به‌طور عمده با نیتروژن نیتراتی به‌عنوان منبع نیتروژن در خاک روبرو می‌شوند (۱۷).

اکسیداسیون زیستی آمونیوم ($NH_4^+$) یا آمونیاک ($NH_3$) به نیترات به‌عنوان فرایند نیترات‌سازی شناخته شده است (۳۳). نیترات‌سازی در خاک‌ها در طی دو مرحله صورت می‌گیرد مرحله اول تبدیل آمونیوم یا آمونیاک به نیتریت ($NO_2^-$) است که بیش‌تر توسط باکتری‌های اتوتروف اجباری از جمله *نیتروزوموناس* صورت می‌گیرد و مرحله دوم تبدیل نیتریت به نیترات ($NO_3^-$) است که بیش‌تر توسط باکتری‌های اتوتروف اجباری از جمله *نیتروباکتر* صورت می‌گیرد (۲۹). در یک اکوسیستم، عوامل فیزیکی، شیمیایی و زیستی مانند مقدار رس، محتوای ماده آلی، pH، رطوبت، دما و جمعیت باکتری‌های نیترات‌ساز بر فرایند نیترات‌سازی خاک تأثیرگذار هستند (۳۳). نیترات‌سازی یک فرایند کلیدی در اکوسیستم‌های کشاورزی است چرا که تبدیل آمونیوم به نیترات می‌تواند منجر به از دست دادن بخش قابل‌توجهی از نیتروژن کشاورزی از طریق آبشویی و یا نیتراتزدایی شود. هدرروی نیتروژن کود به دلایل اقتصادی و خطرات زیست‌محیطی و سلامتی مرتبط با آن نگران‌کننده است که مهم‌ترین آن تجمع اکسیدهای مختلف نیتروژن در اتمسفر و شرکت در تخریب لایه ازن و گرمایش

1- Nitrogen use efficiency

جهانی است (۳). بنابراین نیاز به مهار نیترات‌سازی در جهت حفظ اقتصاد اکوسیستم‌های کشاورزی همواره احساس شده است.

مواد شیمیایی زیادی به‌عنوان بازدارنده‌های نیترات‌سازی (NIs[1]) مورد آزمون و استفاده قرار گرفته‌اند. این مهارکننده‌ها هم سبب افزایش کارایی استفاده از کود نیتروژن شده و هم سبب کاهش قابل‌توجهی از هدرروی ناشی از نیترات‌سازی و نیترات‌زدایی شده‌اند (۱۷ و ۳۲). یکی از مکانیسم‌های حفظ نیتروژن به‌کار برده شده به فرم آمونیومی و کاهش قابلیت دسترسی نیترات به‌منظور جلوگیری از هدرروی آن استفاده از یک بازدارنده نیترات‌سازی همراه با کود می‌باشد.

مطالعات زیادی نشان داده است که بازدارنده‌های نیترات‌سازی از طریق متوقف کردن رشد باکتری‌های اکسیدکننده آمونیوم[2] (AOB) نیترات‌سازی را مهار می‌کنند (۲۰). NIs فعالیت آمونیا مونواکسی ژناز[3] (AMO) را تغییر و سبب تشکیل پلی‌پپتیدها می‌شوند که در نتیجه آن AMO غیرفعال شده و نیترات‌سازی کاهش می‌یابد (۲۳). ۳ و ٤ دی متیل پیرازول فسفات[4] (DMPP) یک مهارکننده نیترات‌سازی با خواص سم‌شناسی محیطی بسیار مطلوب است و چندین مزیت متمایز (مانند کارایی بالای آن در میزان کاربرد خیلی کم و آبشویی نشدن آن) نسبت به دیگر مهارکننده‌های نیترات‌سازی دارد؛ به‌طوری‌که کاربرد ۰/۵ تا ۱/۵ کیلوگرم از این بازدارنده در هکتار برای رسیدن به مهار نیترات‌سازی بهینه کافی است (٤۷ و ۸). پژوهش‌ها نشان داده است که این بازدارنده می‌تواند آبشویی نیترات و تولید گاز $N_2O$ را به‌طور قابل‌توجهی کاهش دهد (۲٦ و ٤٤) و هیچ اثر منفی از این بازدارنده روی ارگانیسم‌های غیرهدف گزارش نشده است (۱٦ و ٤۲).

کارایی بازدارندگی DMPP در خاک‌های کشاورزی و مراتع بسیار متفاوت گزارش شده است. برای مثال مطالعات نشان داده که اثر DMPP بر نیترات‌سازی از سطح بدون تأثیر تا ۲۸/۲ درصد در علف‌زارها (۱۱ و ۱۲)، از سطح بدون تأثیر تا ۲۳/٤ درصد در مراتع (۳۵)، از ۸/٦ تا ٥٦/٦ درصد در سیستم‌های زراعی (۲۰، ۲۷ و ٤۷) و از ۱۳/۸ تا ۱۹/۱ درصد در سیستم‌های تولید سبزیجات (٤۳) متغیر بوده است. متغیرهای محیطی مانند دما و رطوبت به‌طور گسترده‌ای مورد مطالعه قرار گرفته است و به‌عنوان عوامل کلیدی در کنترل کارایی DMPP در بازدارندگی نیترات‌سازی قابل‌ملاحظه می‌باشند (٤، ۲٥ و ۲٦). برخی پژوهشگران نشان داده‌اند که کارایی بازدارنده‌های نیترات‌سازی در کاهش میزان نیترات‌سازی همبستگی بالایی با فراوانی و فعالیت AOB دارد (۳۸). در مقابل پژوهشگران دیگر گزارش نموده‌اند که کارایی بازدارنده‌های نیترات‌سازی به مقدار خیلی بالایی تحت‌تأثیر خصوصیات خاک مانند رس خاک و مقدار ماده آلی قرار دارد (۲٤).

پاسخ به این سوال که آیا خصوصیات خاک مانند بافت و کربن آلی کارایی بازدارنده نیترات‌سازی DMPP را تا چه اندازه تحت‌تأثیر قرار می‌دهد، نامشخص است. از این‌رو هدف از این مطالعه بررسی اثر ویژگی‌های بافت و کربن آلی خاک بر کارایی DMPP و رابطه آن با جمعیت AOB و NOB بود. فرضیه‌های مورد آزمایش شامل: (۱) کارایی DMPP در خاک‌های دارای رس و کربن آلی بیش‌تر پایین‌تر است و (۲) افزایش فراوانی AOB و NOB کارایی DMPP را کاهش می‌دهد.

1- Nitrification Inhibitors
2- Ammonium-oxidizing bacteria
3- Ammonia monooxygenase
4- 3,4- Dimethylpyrazole phosphate

## مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر بازدارنده نیترات‌سازی DMPP بر روند تبدیل آمونیوم به نیترات در خاک‌های با بافت و کربن آلی مختلف، یک آزمایش گرماگذاری[1] به‌مدت ٥٦ روز در گرمخانه[2] در گروه علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح بازدارنده (بدون کاربرد بازدارنده و نیتروژن، mg/kg ۲۰۰ نیتروژن از منبع سولفات آمونیوم بدون بازدارنده، mg/kg ۲۰۰ نیتروژن از منبع سولفات آمونیوم حاوی ۰/۸ درصد DMPP)، پنج نوع خاک (لوم شنی ۱ با ۰/۵۸ درصد کربن آلی ($SL1\text{-}O.C_{0.58}$)، لوم شنی ۲ با ۰/۳ درصد کربن آلی ($SL2\text{-}O.C_{0.3}$)، لوم با ۰/۷۳ درصد کربن آلی ($L\text{-}O.C_{0.73}$)، لوم رسی با ۰/۸۷ درصد کربن آلی ($CL\text{-}O.C_{0.87}$) و رسی با ۱/٤۷ درصد کربن آلی ($C\text{-}O.C_{1.47}$)) و پنج زمان نمونه‌برداری (۰، ١٤، ۲۸، ٤۲ و ٥٦ روز) بود.

**نمونه‌برداری خاک و اندازه‌گیری ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک:** برای انجام این آزمایش خاک‌های موردنظر (جدول ۱) به مقدار کافی از افق سطحی (صفر تا ۲۰ سانتی‌متری) جمع‌آوری و پس از هوا خشک کردن و عبور از الک ۲ میلی‌متری، برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی (جدول ۱) آن مثل بافت به روش هیدرومتری (۱۳)، قابلیت هدایت الکتریکی در عصاره اشباع با هدایت‌سنج الکتریکی (۳۳)، واکنش خاک در خمیر اشباع به‌وسیله الکترود شیشه‌ای (٤۱)، ظرفیت زراعی به‌وسیله صفحات فشاری، کربن آلی به روش اکسیداسیون با اسید کرومیک و سپس تیترکردن با فروس آمونیوم سولفات (۲۸)، کربنات کلسیم معادل به روش خنثی کردن با اسید کلریدریک (۳۰) ظرفیت تبادل کاتیونی خاک به روش جانشینی کاتیون‌ها با استات سدیم (٤۱)، آمونیوم قابل تبادل و نیترات به روش رنگ‌سنجی (۱٥) و نیتروژن کل خاک به روش کلدال (۹) تعیین گردید. هم‌چنین جمعیت باکتری‌های نیترات‌ساز اتوتروف نیز شمارش شد (۳٦).

**گرماگذاری خاک و اندازه‌گیری آمونیوم و نیترات:** پس از وزن کردن نمونه‌های ٤۰۰ گرمی از خاک‌های هوا- خشک، تیمارهای بازدارنده مربوطه به‌صورت جداگانه به‌طور یکنواخت در داخل کیسه‌های نایلونی با خاک مخلوط شدند. مخلوط حاصل برای هر تیمار جداگانه به ظروف پلی‌اتیلنی cm ۱۰×۸×۱۰ انتقال یافت و در یک دوره ٥٦ روزه تحت دمای ۲٥ درجه سانتی‌گراد و رطوبت ۷۰ درصد ظرفیت زراعی به‌صورت گرماگذاری قرار داده شدند. دهانه ظروف به‌وسیله ورقه‌های نایلونی دارای تعداد منافذ مساوی بسته شدند تا از تبخیر شدید رطوبت از نمونه‌ها در طول مدت گرماگذاری جلوگیری شود. در طول زمان گرماگذاری در زمان‌های ۰، ١٤، ۲۸، ٤۲، و ٥٦ روز بعد از شروع دوره گرماگذاری از هر کدام از تیمارهای آزمایشی به‌وسیله استوانه نمونه‌برداری مخصوص حدود ۱۰ گرم خاک نمونه‌برداری‌شده و سپس نمونه‌ها با کلرید پتاسیم ۲ مولار عصاره‌گیری شدند. پس از صاف کردن عصاره‌ها مقدار آمونیوم به روش رنگ‌سنجی با استفاده از واکنش برتلوت و نیترات نمونه‌ها نیز به روش رنگ‌سنجی با استفاده از سالسیلیک اسید توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (UV 2100) اندازه‌گیری شدند (۱٥ و ۱). به‌طور خلاصه، برای اندازه‌گیری آمونیوم مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده یا محلول استاندارد در لوله آزمایش ریخته شد و ٥ میلی‌لیتر واکشنگر رنگ (شامل سدیم سالسیلات، سدیم سیترات، سدیم تارتارات، و سدیم نیتروپروسید) اضافه شد. سپس بعد از ۱٥ دقیقه ٥ میلی‌لیتر هیدروکلریت قلیایی (شامل سدیم هیدروکسید و سدیم هیپوکلریت) اضافه شد و به خوبی مخلوط شدند. بعد از یک ساعت نمونه‌ها در طول موج ٦٦۰

1- Incubation
2- Incubator

نانومتر قرائت شدند. غلظت آمونیوم با استفاده از معادله رگرسیون خطی غلظت استانداردها در مقابل میزان جذب به‌دست آمد. هم‌چنین برای اندازه‌گیری نیترات مقدار ۰/۵ میلی‌لیتر از عصاره تهیه شده یا محلول استاندارد در لوله آزمایش ریخته شد و ۱ میلی‌لیتر از مخلوط سالسیلیک اسید ۵ درصد (با نسبت ۵ به ۹۵ سالسیلیک اسید به اسید سولفوریک) به لوله آزمایش اضافه شد. سپس بعد از ۳۰ دقیقه ٤ میلی‌لیتر از محلول سدیم هیدروکسید ٤ مولار به مخلوط اضافه شد و بعد از یک ساعت نمونه‌ها در طول موج ٤١٠ نانومتر قرائت شدند. غلظت نیترات با استفاده از معادله رگرسیون خطی غلظت استانداردها در مقابل میزان جذب به‌دست آمد.

**جدول ۱- برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک‌های مورد استفاده در آزمایش.**

**Table 1. Some physical and chemical properties of the soils used in the experiment.**

| ویژگی خاک<br>soil properties | نوع خاک<br>soil type | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | SL1 | SL2 | L | CL | C |
| محل نمونه‌برداری<br>Sampling site | کرج<br>Karaj | رباط‌کریم<br>Robat karim | کرج<br>Karaj | کرج<br>Karaj | نقده<br>Naghadeh |
| نوع کاربری<br>Land use | پارک جنگلی<br>Forest park | زمین بایر<br>Barren land | پارک جنگلی<br>Forest park | پارک جنگلی<br>Forest park | کشتزار گندم<br>Wheat field |
| ذرات خاک (%)<br>Soil particle (%) | | | | | |
| Caly | 11 | 11 | 13 | 28 | 49 |
| Silt | 30 | 24 | 38 | 42 | 40 |
| Sand | 59 | 65 | 49 | 30 | 11 |
| بافت خاک<br>Soil texture | لوم شنی<br>Sandy loam | لوم شنی<br>Sandy loam | لوم<br>Loam | لوم رسی<br>Clay loam | رسی<br>Clay |
| pH | 7.6 | 7.8 | 7.6 | 7.7 | 8 |
| EC (dS/m) | 0.68 | 1.16 | 0.7 | 0.78 | 1.18 |
| ظرفیت زراعی (درصد وزنی)<br>Field Capacity (mass percent) | 18.56 | 16.5 | 25.2 | 31.3 | 35.6 |
| کربن آلی (%)<br>Organic carbon (%) | 0.58 | 0.3 | 0.73 | 0.87 | 1.47 |
| کربنات کلسیم معادل (%)<br>CCE (%) | 8.4 | 10.6 | 9.5 | 12.1 | 17.4 |
| $NH_4^+$ (mg $kg^{-1}$) | 4.9 | 3.3 | 4.8 | 11.2 | 19.5 |
| $NO_3^-$ (mg $kg^{-1}$) | 8.5 | 5.5 | 9.9 | 13.7 | 26.3 |
| نیتروژن کل (g $kg^{-1}$)<br>Total nitrogen | 0.41 | 0.25 | 0.53 | 0.67 | 1 |
| ظرفیت تبادل کاتیونی<br>Cation exchange capacity | 10.8 | 9.2 | 12.2 | 15.4 | 21.3 |
| AOB<br>(log MPN/ g of soil) | 4.375 | 4.367 | 4.451 | 5.398 | 6.415 |
| NOB<br>(log MPN/ g of soil) | 4.079 | 4.155 | 4.113 | 5.127 | 5.748 |

*SL1: لوم شنی ۱ با کربن آلی ۰/۵۸ درصد؛ SL2: لوم شنی ۲ با کربن آلی ۰/۳ درصد؛ L: لوم با کربن آلی ۰/۷۳ درصد؛ CL: لوم رسی با کربن آلی ۰/۸۷ درصد؛ C: رسی با کربن آلی ۱/٤۷ درصد.

SL1: Sandy loam 1 contains of 0.58% organic carbon (O.C); SL2: Sandy loam 2 contains of 0.3% O.C; L: Loam contains of 0.73% O.C; CL: Clay loam contains of 0.87% O.C; C: Clay contains of 1.47% O.C.

**محاسبه میزان نیترات‌سازی و درصد بازدارندگی نیترات‌سازی:** میزان نیترات‌سازی ($n$) و درصد بازدارندگی نیترات‌سازی ($NI$) با رابطه‌های زیر محاسبه شد (۱۰ و ۳۱):

$$n\ (\text{mg N kg}^{-1}\ \text{soil day}^{-1}) = (NO_3\text{-}N_{t2} - NO_3\text{-}N_{t1})/\ (D_{t2} - D_{t1})$$

$$NI\% = (n_{control} - n_i)\ /n_{control} \times 100$$

که در آن‌ها $NO_3\text{-}N_{t2}$ مقدار نیترات در خاک در زمان ۲، $NO_3\text{-}N_{t1}$ مقدار نیترات در خاک در زمان ۱، $D_{t2}$ تعداد روزها از شروع گرماگذاری تا زمان ۲، $D_{t1}$ تعداد روزها از شروع گرماگذاری تا زمان ۱، $n_{control}$ میزان نیترات‌سازی تیمار شاهد و $n_i$ میزان نیترات‌سازی بازدارنده به‌کار برده شده می‌باشد.

**شمارش جمعیت باکتری‌های نیترات‌ساز اتوتروف:** برای شمارش باکتری‌های نیترات‌ساز اتوتروف از خاک مرطوب تیمارهای مورد مطالعه معادل ۱۰ گرم خاک آون خشک به ۹۰ میلی‌لیتر بافر استریل شده (کربنات پتاسیم یک درصد) در درون ظروف شیشه‌ای ۲۵۰ میلی‌لیتری اضافه نموده و به‌مدت ۳۰ دقیقه با سرعت ۵۰ دور در دقیقه روی شیکر قرار داده شدند تا ذرات خاک از هم جدا شوند. سپس از این سوسپانسیون (رقت $10^{-1}$) نمونه‌های خاک با رقت‌های متوالی ($10^{-2}$تا $10^{-8}$) تهیه و برای شمارش باکتری‌های اکسیدکننده آمونیوم در محیط کشت‌های دارای سولفات آمونیوم و برای شمارش باکتری‌های اکسیدکننده نیتریت در محیط کشت‌های دارای نیتریت سدیم کشت شدند. از روش بیش‌ترین تعداد احتمال سه‌تایی برای شمارش تعداد باکتری‌ها استفاده شد. لوله‌ها در دمای ۲۵ تا ۳۰ درجه سانتی‌گراد و در تاریکی در گرمخانه به‌مدت ۸ هفته کشت شدند. برای ارزیابی اکسیداسیون سولفات آمونیوم و نیتریت سدیم از معرف‌های گریس- ایلوسوای و آزمون نقطه‌ای نیتریت استفاده شد و تعداد باکتری‌ها در هر گرم خاک از نمونه خاک با استفاده از جدول MPN تعیین شدند (۳٦).

**آنالیز آماری:** داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از نرم‌افزاهای SAS و SPSS تجزیه و تحلیل شد. تجزیه واریانس (ANOVA) داده‌ها برای پارامترهای اندازه‌گیری‌شده دارای زمان (نیترات و آمونیوم) به‌صورت طرح فاکتوریل- اسپلیت پلات و برای پارامترهای اندازه‌گیری‌شده بدون زمان به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام شد. مقایسه میانگین‌ها با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. روند تغییرات زمانی تبدیل آمونیوم به نیترات در آزمایش برای تیمارهای مختلف در قالب نمودار توسط نرم‌افزار Excel انجام شد.

## نتایج

**تغییر غلظت آمونیوم و نیترات خاک با زمان:** نتایج جدول تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اثر برهمکنش بازدارنده نیترات‌سازی، نوع خاک و زمان بر تغییرات آمونیوم و نیترات در خاک از لحاظ آماری معنی‌دار ($P<۰/۰۰۱$) بود. در تیمارهای شاهد غلظت آمونیوم قابل‌تبادل خاک به‌جز خاک رسی ($C\text{-}O.C_{1.47}$) که با زمان افزایش یافت، در سایر خاک‌ها در طول دوره گرماگذاری تقریباً بدون تغییر یا دارای تغییرات کمی بود (شکل ۱). در تیمارهای دارای سولفات آمونیوم (بدون DMPP) غلظت آمونیوم با افزایش زمان در طول دوره گرماگذاری کاهش یافت ولی روند تغییر غلظت آمونیوم در خاک‌های مختلف با هم متفاوت بود. تغییرات آمونیوم با زمان در تیمارهای دارای سولفات آمونیوم و DMPP نشان داد که در همه خاک‌ها غلظت آمونیوم نسبت به تیمارهای دارای سولفات آمونیوم به تنهایی به‌طور معنی‌دار ($P<۰/۰۰۱$) بالاتر بود ولی روند تغییر آمونیوم در این خاک‌ها با هم اختلاف داشت. در مقایسه بین خاک‌ها در تیمارهای دارای سولفات آمونیوم و DMPP، غلظت آمونیوم در تمام دوره گرماگذاری در هر دو خاک لوم

شنی نسبت به خاک‌های دیگر بالاتر بود. بعد از ٥٦ روز پس از گرماگذاری در خاک‌های $SL1\text{-}O.C_{0.58}$، $Sl2\text{-}O.C_{0.3}$ و $L\text{-}O.C_{0.73}$ غلظت آمونیوم به‌ترتیب ١١٤، ٩٢ و ٣٠/٧ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک نسبت به تیمارهای دارای سولفات آمونیوم بدون DMPP بالاتر بود، در حالی‌که در خاک‌های لوم رسی و رسی پس از ٥٦ روز گرماگذاری غلظت آمونیوم با سطح شاهد تقریباً برابر شد (شکل ١).

تغییر نیترات با زمان (شکل ٢) نشان داد که غلظت نیترات در تیمار شاهد (بدون کاربرد سولفات آمونیوم و بازدارنده) در همه خاک‌ها در طول زمان گرماگذاری، به‌جز خاک رسی، بدون تغییر یا دارای تغییرات کمی بود. در خاک $C\text{-}O.C_{1.47}$ افزایش نیترات با زمان در تیمار شاهد می‌تواند نشان‌دهنده اکسید شدن آمونیوم مشتق شده از معدنی‌شدن N آلی بومی باشد. اضافه نمودن سولفات آمونیوم به‌طور معنی‌داری غلظت نیترات را در خاک‌ها افزایش داد ولی روند تغییر در خاک‌ها با هم متفاوت بود. در همه خاک‌ها بازدارنده DMPP بر فرآیند تبدیل آمونیوم به نیترات اثر معنی‌داری داشته است ($P<$٠/٠٠١) و غلظت نیترات در تیمارهای دارای DMPP نسبت به تیمارهای بدون کاربرد این بازدارنده پایین‌تر بود و این نشان‌دهنده اثر DMPP بر روند نیترات‌سازی می‌باشد. در مقایسه بین خاک‌ها غلظت نیترات در تمام دوره گرماگذاری در هر دو خاک لوم شنی پایین‌تر و در خاک رسی دارای بالاترین مقدار بود و بعد از ٥٦ روز پس از گرماگذاری غلظت نیترات در خاک‌های لوم رسی و رسی در تیمارهای دارای بازدارنده نیترات‌سازی با سطح شاهد برابر شده است (شکل ٢).

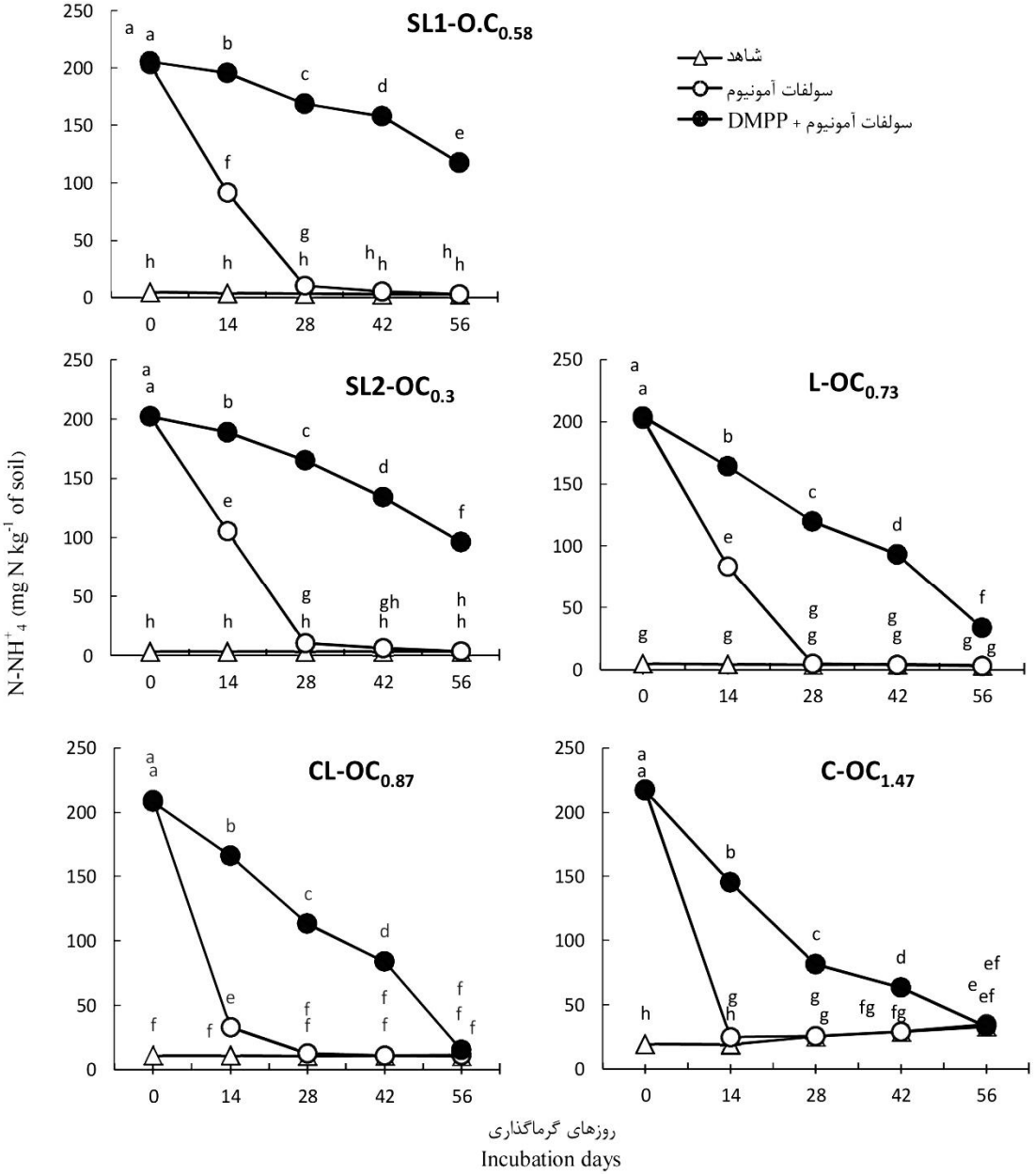
**جدول ٢- تجزیه واریانس اثر نوع خاک و بازدارنده بر تغییرات آمونیوم و نیترات با زمان.**

**Table 2. Analysis of variance the effect of soil and inhibitor on ammonium and nitrate with time.**

| منابع تغییر Source | درجه آزادی DF | میانگین مربعات Mean Square | |
|---|---|---|---|
| | | آمونیوم Ammonium | نیترات Nitrate |
| بازدارنده Inhibitor | 2 | 297695.68*** | 395764*** |
| خاک Soil | 4 | 2752.858*** | 25633.01*** |
| بازدارنده × خاک Inhibitor × Soil | 8 | 4782.31*** | 4684.831*** |
| خطا (بازدارنده × خاک) Error (Inhibitor × Soil) | 30 | 8.9433 | 10.9038 |
| زمان Time | 4 | 91989.3*** | 102165.7*** |
| بازدارنده × زمان Inhibitors × Time | 8 | 32473*** | 32455.71*** |
| خاک × زمان Soil × Time | 16 | 731.9242*** | 857.6239*** |
| بازدارنده × خاک × زمان Inhibitor × Soil × Time | 32 | 910.6168*** | 994.1809*** |
| خطای باقی‌مانده (زمان) Residual error (Time) | 120 | 6.42 | 11.305 |
| ضریب تغییرات Coefficient of Variation | | 3.686 | 3.839 |

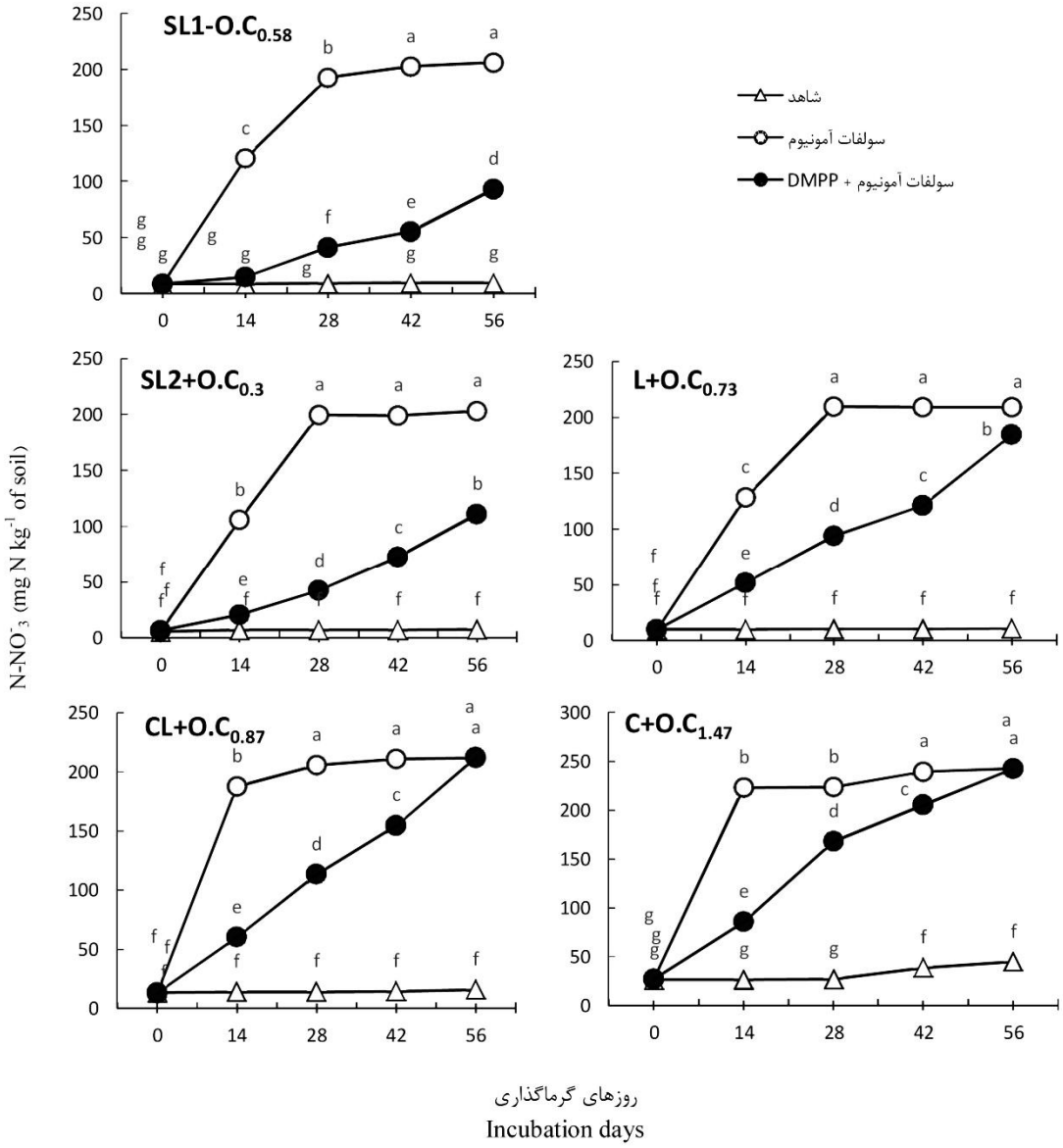
***، ** و * به‌ترتیب در سطح ٠/١، ١ و ٥ درصد معنی‌دار است.

***, ** and * significant at 0.1, 1% and 5% probability levels, respectively.




**شکل ۱- اثر بازدارنده DMPP بر روند تغییر غلظت آمونیوم با زمان در خاک‌های مختلف (SL1-O.C$_{0.58}$: سیلت لوم ۱ با کربن آلی ۰/۵۸ درصد؛ SL2-O.C$_{0.3}$: سیلت لوم ۲ با کربن آلی ۰/۳ درصد؛ L-O.C$_{0.73}$: لوم با کربن آلی ۰/۷۳ درصد؛ CL-O.C$_{0.87}$: لوم رسی با کربن آلی ۰/۸۷ درصد؛ C-O.C$_{1.47}$: رسی با کربن آلی ۱/٤۷ درصد).**

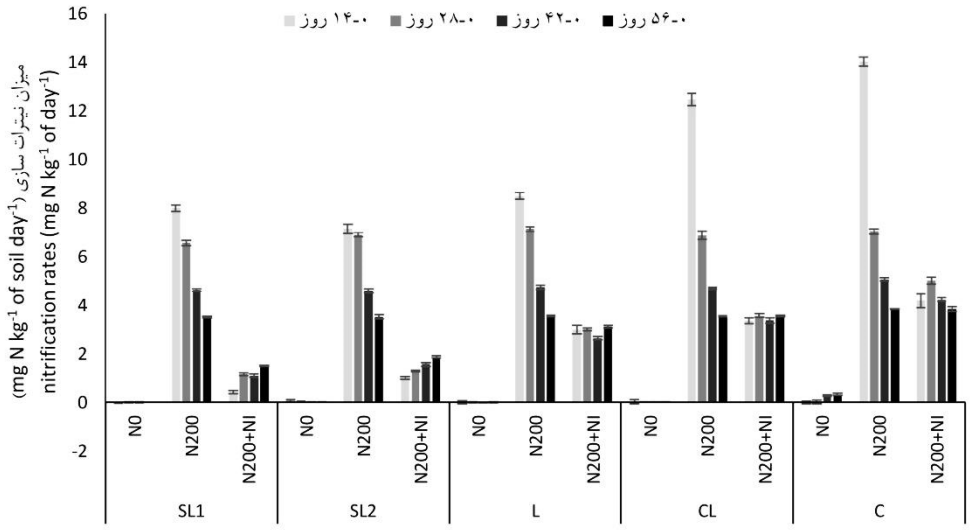
**Figure 1. The effect of inhibitor DMPP on ammonium concentration changes with time in different soils (SL1-O.C$_{0.58}$: Sandy loam 1 contains of 0.58% organic carbon (O.C); SL2-O.C$_{0.3}$: Sandy loam 2 contains of 0.3% O.C; L-O.C$_{0.73}$: Loam contains of 0.73% O.C; CL-$_{0.87}$: Clay loam contains of 0.87% O.C; C-O.C$_{1.47}$: Clay contains of 1.47% O.C).**




**شکل ۲- اثر بازدارنده DMPP بر روند تغییر غلظت نیترات با زمان در خاک‌های مختلف (SL1-O.C$_{0.58}$: سیلت لوم ۱ با کربن آلی ۰/۵۸ درصد؛ SL2-O.C$_{0.3}$: سیلت لوم ۲ با کربن آلی ۰/۳ درصد؛ L-O.C$_{0.73}$: لوم با کربن آلی ۰/۷۳ درصد؛ CL-O.C$_{0.87}$: لوم رسی با کربن آلی ۰/۸۷ درصد؛ C-O.C$_{1.47}$: رسی با کربن آلی ۱/٤۷ درصد).**

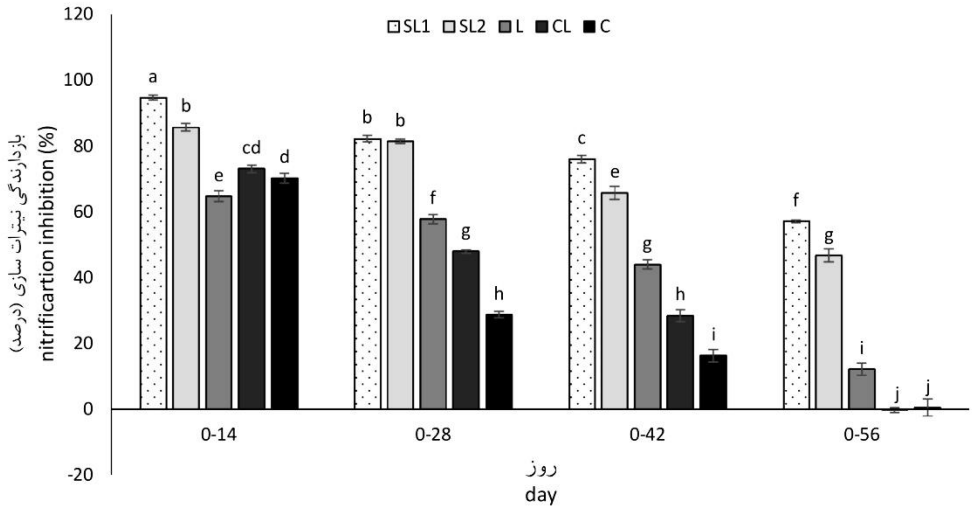
**Figure 2. The effect of inhibitor DMPP on nitrate concentration changes with time in different soils (SL1-O.C$_{0.58}$: Sandy loam 1 contains of 0.58% organic carbon (O.C); SL2-O.C$_{0.3}$: Sandy loam 2 contains of 0.3% O.C; L-O.C$_{0.73}$: Loam contains of 0.73% O.C; CL-$_{0.87}$: Clay loam contains of 0.87% O.C; C-O.C$_{1.47}$: Clay contains of 1.47% O.C).**

**میزان نیترات‌سازی و درصد بازدارندگی نیترات‌سازی:** نتایج نشان داد که بالاترین میزان نیترات‌سازی در زمان ١٤ روز بعد از شروع گرماگذاری در خاک رسی در تیمار دارای کاربرد سولفات آمونیوم بدون بازدارنده و کم‌ترین میزان نیترات‌سازی در تیمار شاهد (بدون کاربرد سولفات آمونیوم و بازدارنده) در خاک لوم شنی اتفاق افتاده است (شکل ۳). در تمامی خاک‌ها میزان نیترات‌سازی در زمان صفر تا ١٤ روز بعد از گرماگذاری در تیمار دارای سولفات آمونیوم بدون بازدارنده بیش‌ترین مقدار را داشته است. کاربرد بازدارنده نیترات‌سازی DMPP همراه با سولفات آمونیوم در همه خاک‌ها میزان نیترات‌سازی را نسبت به تیمارهای دارای سولفات آمونیوم بدون کاربرد بازدارنده به‌طور معنی‌داری ($P<۰/۰۰۱$) کاهش داده است. میزان نیترات‌سازی در تیمارهای دارای سولفات آمونیوم همراه بازدارنده در خاک‌های لوم شنی کم‌ترین و در خاک رسی بیش‌ترین مقدار را داشت (شکل ۳). با توجه به این نتایج (شکل ٤) در هر دو خاک لوم شنی درصد بازدارندگی نیترات‌سازی در تمام طول گرماگذاری نسبت به خاک‌های دیگر بالاترین مقدار را داشته است و بعد از ٥٦ روز بعد از شروع گرماگذاری درصد بازدارندگی در خاک‌های لوم شنی ۱، لوم شنی ۲ و لومی به‌ترتیب ٥٧، ٤٦ و ۱۲ درصد است و برای دو خاک دیگر درصد بازدارندگی نزدیک به صفر است.




**شکل ۳- اثر بازدارنده DMPP بر میزان نیترات‌سازی در خاک‌های مختلف (SL1: سیلت لوم با کربن آلی ۰/۵۸ درصد؛ SL2: سیلت لوم با کربن آلی ۰/۳ درصد؛ L: لوم با کربن آلی ۰/۷۳ درصد؛ CL: لوم رسی با کربن آلی ۰/۸۷ درصد؛ C: رسی با کربن آلی ۱/٤۷ درصد؛ N0: بدون کاربرد نیتروژن؛ N200: ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتروژن؛ N200+NI: ۲۰۰ میلی‌گرم نیتروژن بر کیلوگرم حاوی بازدارنده نیترات‌سازی). خطوط عمودی بیان‌کننده خطای استاندارد میانگین هر تیمار می‌باشد (n=۳).**

**Figure 3. The effect of inhibitor DMPP on nitrification rate in different soils (SL1: Sandy loam 1 contains of 0.58% organic carbon (O.C); SL2: Sandy loam 2 contains of 0.3% O.C; L: Loam contains of 0.73% O.C; CL: Clay loam contains of 0.87% O.C; C: Clay contains of 1.47% O.C; N0: without N application; N200: 200 mg/kg N; N200+NI: 200 mg/kg N containing nitrification inhibition). Vertical bars represent the standard error of the mean of each treatment (n=3).**




**شکل ٤- اثر بازدارنده DMPP بر درصد بازدارندگی نیترات‌سازی در خاک‌های مختلف (SL1: سیلت لوم با کربن آلی ۰/۵۸ درصد؛ SL2: سیلت لوم با کربن آلی ۰/۳ درصد؛ L: لوم با کربن آلی ۰/۷۳ درصد؛ CL: لوم رسی با کربن آلی ۰/۸۷ درصد؛ C: رسی با کربن آلی ۱/٤۷ درصد). خطوط عمودی بیان‌کننده خطای استاندارد میانگین هر تیمار می باشد (n=۳) و حروف کوچک مشترک در هر نمودار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آماری با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.**

**Figure 4. The effect of inhibitor DMPP on nitrification inhibition in different soils (SL1: Sandy loam 1 contains of 0.58% organic carbon (O.C); SL2: Sandy loam 2 contains of 0.3% O.C; L: Loam contains of 0.73% O.C; CL: Clay loam contains of 0.87% O.C; C: Clay contains of 1.47% O.C). Vertical bars represent the standard error of the mean of each treatment (n=3) and the same small letters are not significantly different in figure according to Tukey test at P≤0.05.**

**نیتروژن کل خاک:** نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر بازدارنده و نیز نوع خاک بر نیتروژن کل (TN) خاک پس از اتمام دوره گرماگذاری معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها (جدول ٤) نشان داد که خاک‌ها اختلاف معنی‌داری (P<۰/۰۵) با هم داشتند و بیش‌ترین مقدار TN در خاک رسی و کم‌ترین آن در خاک لوم شنی ۲ مشاهده شد. کاربرد سولفات آمونیوم میانگین TN را نسبت به سطح شاهد افزایش داد ولی DMPP اثر معنی‌داری نداشت.

**جدول ۳- تجزیه واریانس اثر نوع خاک و بازدارنده بر نیتروژن کل خاک و جمعیت باکتری‌های نیترات‌ساز.**

**Table 3. Analysis of variance the effect of soil type and nitrification on total soil nitrogen and nitrifier bacterial abundance.**

| منابع تغییر Source | درجه آزادی DF | میانگین مربعات Mean Square | | |
|---|---|---|---|---|
| | | نیتروژن کل Total N | فراوانی AOB AOB abundance | فراوانی NOB NOB abundance |
| بازدارنده Inhibitor | 2 | $0.840181^{***}$ | $7.3375992^{***}$ | $5.24834028^{***}$ |
| خاک Soil | 4 | $0.002576^{*}$ | $0.18915975^{***}$ | $0.25727936^{***}$ |
| بازدارنده × خاک Inhibitor × Soil | 8 | $0.00009778^{ns}$ | $0.00233035^{ns}$ | $0.00404466^{ns}$ |

***، ** و * به‌ترتیب در سطح ۰/۱، ۱ و ۵ درصد معنی‌دار و ns نشان‌دهنده عدم معنی‌داری است.

** ,*** and * significant at 0.1, 1% and 5% probability levels, respectively.

**جدول ٤- اثر بازدارنده DMPP بر نیتروژن کل (درصد) خاک‌های مختلف.**

**Table 4. The effect of inhibitor DMPP on total nitrogen (%) in different soils.**

| Mean | نوع خاک Soil type | | | | | بازدارنده Inhibitor |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | C | CL | L | SL2 | SL1 | |
| $0.062^{B}$ | $0.1083^{b}$ | $0.0706^{c}$ | $0.0566^{d}$ | $0.0290^{f}$ | $0.0453^{e*}$ | N0 |
| $0.0642^{A}$ | $0.1113^{a}$ | $0.0723^{c}$ | $0.0596^{d}$ | $0.0300^{f}$ | $0.0470^{e}$ | N200 |
| $0.0643^{A}$ | $0.1120^{a}$ | $0.0730^{c}$ | $0.0596^{d}$ | $0.0303^{f}$ | $0.0472^{e}$ | N200+NI |
| | $0.1105^{A}$ | $0.0720^{B}$ | $0.0586^{C}$ | $0.0297^{E}$ | $0.0465^{D}$ | Mean |

* اعدادی که در هر ردیف یا ستون در یک حرف کوچک یا در یک حرف بزرگ مشترک می‌باشند از لحاظ آماری با آزمون توکی در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند. SL1: سیلت لوم با کربن آلی ۰/۵۸ درصد؛ SL2: سیلت لوم با کربن آلی ۰/۳ درصد؛ L: لوم با کربن آلی ۰/۷۳ درصد؛ CL: لوم رسی با کربن آلی ۰/۸۷ درصد؛ C: رسی با کربن آلی ۱/٤۷ درصد. N0: بدون کاربرد نیتروژن؛ N200: ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتروژن؛ N200+NI: ۲۰۰ میلی‌گرم نیتروژن بر کیلوگرم حاوی بازدارنده نیترات‌سازی.

* Values followed by the same small or capital letters are not significantly different within rows or columns according to Tukey test at P≤ 0.05. SL1: Sandy loam 1 contains of 0.58% organic carbon (O.C); SL2: Sandy loam 2 contains of 0.3% O.C; L: Loam contains of 0.73% O.C; CL: Clay loam contains of 0.87% O.C; C: Clay contains of 1.47% O.C. N0: without N application; N200: 200 mg/kg N; N200+NI: 200 mg/kg N containing nitrification inhibition.

**جدول ۵- جمعیت باکتری‌های اکسیدکننده آمونیوم (AOB) و نیتریت (NOB) (log MPN $g^{-1}$ of soil) در خاک‌های مختلف.**

**Table 5. Population of ammonium (AOB) and nitrite (NOB) (log MPN $g^{-1}$ of soil) oxidizer bacteria in different soils.**

| نوع خاک Soil type | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| C | CL | L | SL2 | SL1 | |
| $6.541^{A}$ | $5.558^{B}$ | $4.555^{C}$ | $4.523^{CD}$ | $4.507^{D*}$ | AOB |
| $5.890^{A}$ | $5.315^{B}$ | $4.307^{C}$ | $4.245^{D}$ | $4.228^{D}$ | NOB |

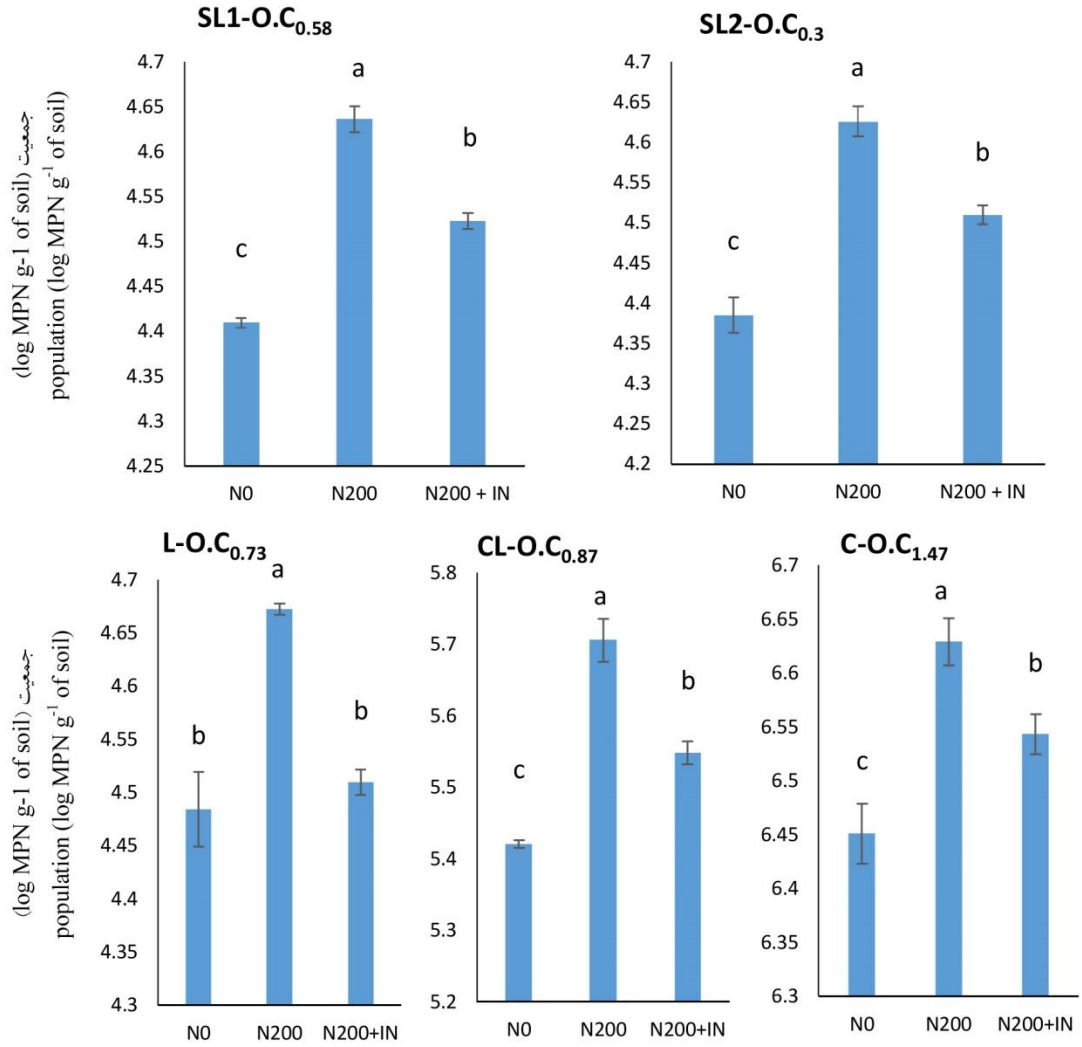
* اعدادی که در هر ردیف در یک حرف بزرگ مشترک می‌باشند از لحاظ آماری با آزمون توکی در سطح ۵ درصد تفاوت معنی‌داری ندارند. SL1: سیلت لوم با کربن آلی ۰/۵۸ درصد؛ SL2: سیلت لوم با کربن آلی ۰/۳ درصد؛ L: لوم با کربن آلی ۰/۷۳ درصد؛ CL: لوم رسی با کربن آلی ۰/۸۷ درصد؛ C: رسی با کربن آلی ۱/٤۷ درصد.

* Values followed by the same capital letters are not significantly different within rows according to Tukey test at P≤0.05. SL1: Sandy loam 1 contains of 0.58% organic carbon (O.C); SL2: Sandy loam 2 contains of 0.3% O.C; L: Loam contains of 0.73% O.C; CL: Clay loam contains of 0.87% O.C; C: Clay contains of 1.47% O.C.

**جمعیت باکتری‌های اکسیدکننده آمونیوم و نیتریت:** با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) اثر DMPP و نیز اثر نوع خاک بر جمعیت باکتری‌های اکسیده‌کننده آمونیوم (AOB) و نیتریت (NOB) پس از اتمام دوره گرماگذاری ٥٦ روزه معنی‌دار بود. مقایسه میانگین‌ها (جدول ٥) نشان داد که کم‌ترین و بیش‌ترین جمعیت AOB و NOB به‌ترتیب در خاک‌های لوم شنی و رسی مشاهده شد. کاربرد سولفات آمونیوم جمعیت AOB را در خاک‌های لوم شنی ۱، لوم شنی ۲، لومی، لوم رسی و رسی به‌ترتیب ٦٨، ٧٤، ٥٣، ٩٤، و ٥١ درصد نسبت به تیمارهای شاهد (بدون کاربرد سولفات آمونیوم) به‌طور معنی‌داری افزایش داد (شکل ٥). هم‌چنین جمعیت NOB در این خاک‌ها با کاربرد سولفات آمونیوم بدون بازدارنده به‌طور معنی‌دار افزایش یافت (شکل ٦). کاربرد سولفات آمونیوم دارای DMPP نسبت به تیمار دارای سولفات آمونیوم (بدون DMPP) جمعیت AOB را در خاک‌های لوم شنی ۱، لوم شنی ۲، لومی، لوم رسی و رسی به‌ترتیب ۲۳، ۲۳، ۳۱، ۳۰، و ۱۸ درصد به‌طور معنی‌داری کاهش داد اما اثر معنی‌داری بر جمعیت NOB نداشت.

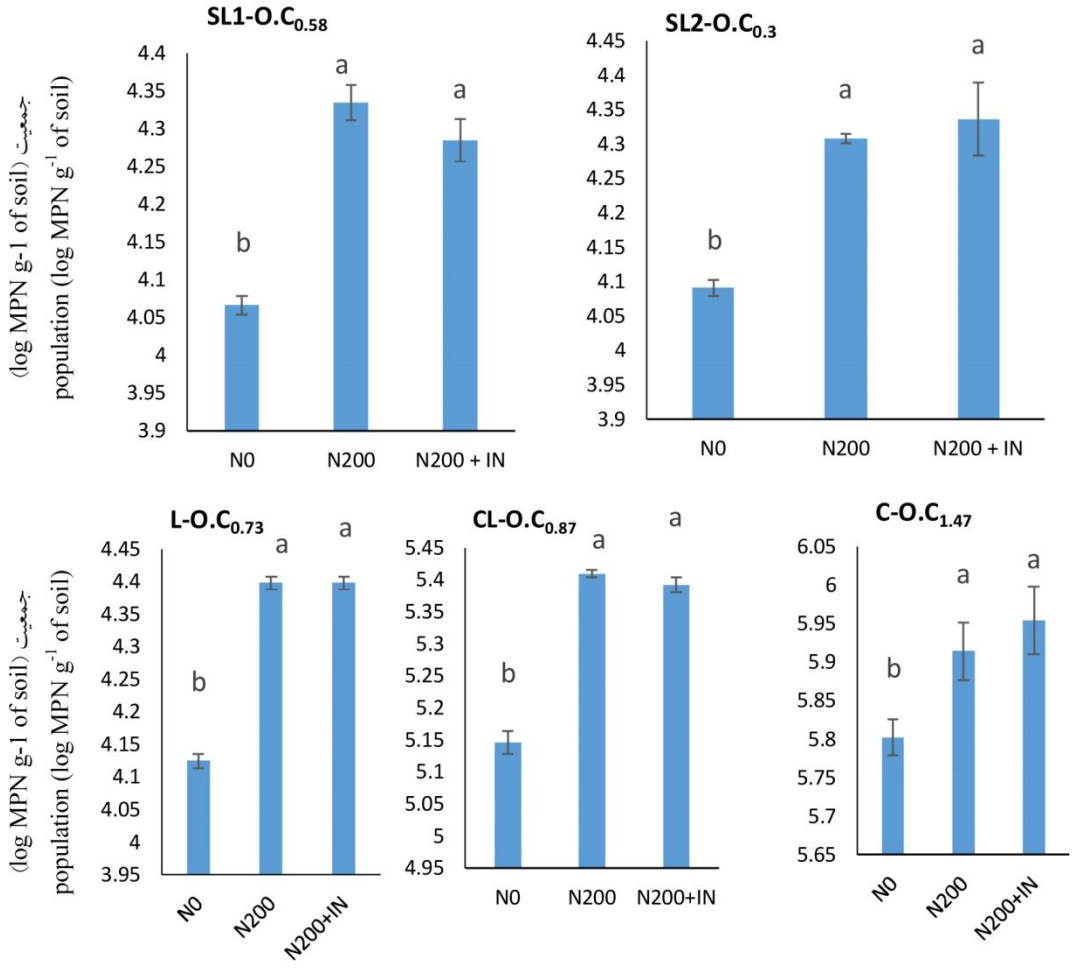
## بحث

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که فرایند نیترات‌سازی خاک تحت‌تأثیر نوع بافت خاک و میزان کربن آلی می‌تواند متفاوت باشد به‌طوری‌که در خاک‌های دارای ماده آلی کم‌تر و شن بیش‌تر میزان نیترات‌سازی کم‌تر و در خاک‌های دارای کربن آلی و رس بیش‌تر میزان نیترات‌سازی بیش‌تر بود. همچنین آنالیز همبستگی (جدول ٦) نشان داد که یک همبستگی مثبت معنی‌دار ($P<0/05$) بین میزان نیترات‌سازی خاک و کربن آلی (٠/٥٦)، نیتروژن کل (٠/٥٧)، درصد رس خاک (٠/٥٥) و باکتری‌های AOB و NOB وجود دارد. آلاخ و همکاران (١٩٩٦) و کومار و همکاران (٢٠٠٧) نشان دادند که بیش‌ترین مقدار نیترات‌سازی در خاک با بافت ریزتر نسبت به بافت درشت‌تر صورت گرفته است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد (٢ و ١٨). هم‌چنین با نتایج آزمایش بنگینگ و همکاران (٢٠١٥) که یک رابطه مثبت بین مقدار ماده آلی خاک و میزان نیترات‌سازی گزارش نمودند همخوانی دارد (٥). یوراکاوا و همکاران (٢٠١٦) با همبستگی مثبت معنی‌داری ($P<0/01$) که بین میزان نیترات‌سازی خالص خاک و کربن کل خاک (٠/٥١) و نیتروژن کل خاک (٠/٦١) به‌دست آوردند ماده آلی را به‌عنوان مهم‌ترین عامل در میزان نیترات‌سازی خاک برای خاک‌های جنگلی ژاپن معرفی نمودند (٤٣).




شکل ۵- اثر بازدارنده نیترات‌سازی DMPP بر جمعیت باکتری‌های اکسیدکننده آمونیوم (AOB) در در خاک‌های مختلف (**SL1-O.C$_{0.58}$**: سیلت لوم ۱ با کربن آلی ۰/۵۸ درصد؛ **SL2-O.C$_{0.3}$**: سیلت لوم ۲ با کربن آلی ۰/۳ درصد؛ **L-O.C$_{0.73}$**: لوم با کربن آلی ۰/۷۳ درصد؛ **CL-O.C$_{0.87}$**: لوم رسی با کربن آلی ۰/۸۷ درصد؛ **C-O.C$_{1.47}$**: رسی با کربن آلی ۱/٤۷ درصد؛ **N0**: بدون کاربرد نیتروژن؛ **N200**: ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتروژن؛ **N200+NI**: ۲۰۰ میلی‌گرم نیتروژن بر کیلوگرم حاوی بازدارنده نیترات‌سازی). حروف کوچک مشترک در هر نمودار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آماری با آزمون توکی در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

**Figure 5. The effect of nitrification inhibitor DMPP on population of ammonium oxidizer bacteria (AOB) in different soils (SL1-O.C$_{0.58}$: Sandy loam 1 contains of 0.58% organic carbon (O.C); SL2-O.C$_{0.3}$: Sandy loam 2 contains of 0.3% O.C; L-O.C$_{0.73}$: Loam contains of 0.73% O.C; CL-$_{0.87}$: Clay loam contains of 0.87% O.C; C-O.C$_{1.47}$: Clay contains of 1.47% O.C; N0: without N application; N200: 200 mg/kg N; N200+NI: 200 mg/kg N containing nitrification inhibition). Vertical bars represent the standard error of the mean of each treatment (n=3) and the same small letters are not significantly different in figure according to Tukey test at P≤0.05.**




شکل ٦- اثر بازدارنده نیترات‌سازی (DMPP) بر جمعیت باکتری‌های اکسیدکننده نیتریت (NOB) در در خاک‌های مختلف (**SL1SL1-O.C$_{0.58}$**: سیلت لوم ۱ با کربن آلی ۰/۵۸ درصد؛ **SL2-O.C$_{0.3}$**: سیلت لوم ۲ با کربن آلی ۰/۳ درصد؛ **L-O.C$_{0.73}$**: لوم با کربن آلی ۰/۷۳ درصد؛ **CL-O.C$_{0.87}$**: لوم رسی با کربن آلی ۰/۸۷ درصد؛ **C-O.C$_{1.47}$**: رسی با کربن آلی ۱/٤۷ درصد؛ **AS**: سولفات آمونیوم؛ **N0**: بدون کاربرد نیتروژن؛ **N200: 200** میلی‌گرم بر کیلوگرم نیتروژن؛ **N200+NI: 200** میلی‌گرم نیتروژن بر کیلوگرم حاوی بازدارنده نیترات‌سازی). حروف کوچک مشترک در هر نمودار نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار از لحاظ آماری با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد می‌باشد.

**Figure 6. The effect of nitrification inhibitor DMPP on population of nitrite oxidizer bacteria (NOB) in different soils (SL1-O.C0.58: Sandy loam 1 contains of 0.58% organic carbon (O.C); SL2-O.C0.3: Sandy loam 2 contains of 0.3% O.C; L-O.C0.73: Loam contains of 0.73% O.C; CL-0.87: Clay loam contains of 0.87% O.C; C-O.C1.47: Clay contains of 1.47% O.C; N0: without N application; N200: 200 mg/kg N; N200+NI: 200 mg/kg N containing nitrification inhibition). Vertical bars represent the standard error of the mean of each treatment (n=3) and the same small letters are not significantly different in figure according to Tukey test at P≤0.05.**

نتایج این پژوهش نشان داد که کاربرد DMPP یک نقش بازدارندگی معنی‌داری در خاک‌ها با بافت و کربن آلی متفاوت داشته است به‌طوری‌که کاربرد DMPP همراه با سولفات آمونیوم نسبت به سولفات آمونیوم به تنهایی در همه خاک‌های مورد آزمایش روند تبدیل آمونیوم به نیترات را در طول دوره گرماگذاری ٥٦ روزه کند نمود ولی روند تغییرات در خاک‌های مختلف متفاوت بود. اثر ویژگی‌های خاک بر کارایی DMPP ابتدا توسط برس و همکاران (۲۰۰۸) از طریق یک آزمایش گرماگذاری کوتاه‌مدت موردمطالعه قرار گرفت که نشان دادند که خصوصیات بافتی خاک به‌ویژه نسبت رس از عوامل مهم در ارتباط با جذب سطحی DMPP بود (۷). آنالیز همبستگی (جدول ۷) نشان داد که یک همبستگی منفی معنی‌دار (P<۰/۰۱) بین درصد بازدارندگی نیترات‌سازی و درصد رس خاک وجود داشت که نشان‌دهنده این است که اثرات بازدارندگی DMPP بر میزان نیترات‌سازی در خاک‌های دارای رس کم‌تر (لوم شنی)، بالاتر بود که در یافته‌های حاصل از سایر آزمایش‌ها این موضوع مورد تأیید قرار گرفته است (۷ و ۳۷). شاید دلیل آن جذب شدن DMPP توسط ترکیبات خاک و کاهش قابلیت دسترسی مقدار DMPP برای بازدارندگی نیترات‌سازی باشد (۳۲). با این وجود در آزمایش حاضر ١٤ روز بعد از گرماگذاری کاربرد DMPP میزان نیترات‌سازی را در خاک‌های $SL1\text{-}O.C_{0.58}$، $SL2\text{-}O.C_{0.3}$، $L\text{-}O.C_{0.73}$، $CL\text{-}O.C_{0.87}$ و $C\text{-}O.C_{1.47}$ به‌ترتیب ۹٥، ٨٦، ٦٥، ۷۳، و ۷۰ درصد کاهش داد و ٥٦ روز بعد از گرماگذاری میزان بازدارندگی نیترات‌سازی برای دو خاک لوم شنی به‌طور متوسط نزدیک به ٥۰ درصد بود و در خاک لومی ۱۲ درصد و در خاک لوم رسی و رسی نزدیک به صفر بود (شکل ٤).

مک‌ژئو و همکاران (٢٤) یک همبستگی قوی بین مقدار ماده آلی، N کل، C کل و درصد رس خاک و کارایی بازدارنده نیترات‌سازی گزارش نمودند و نشان دادند که تنها درصد رس خاک در کارایی بازدارنده تأثیر ندارد بلکه نوع کانی رسی نیز در این مورد دخیل است (٢٤). در این مطالعه ماده آلی در سه خاک لومی، لوم رسی و رسی نسبت به دو خاک لوم شنی بالاتر بود و همین ممکن است عامل این باشد که درصد بازدارندگی نیترات‌سازی در خاک‌های لوم شنی نسبت به خاک‌های دیگر بالاتر باشد که با نتایج شی و همکاران (٢٠١٦a) مطابقت دارد. مارسدن و همکاران (٢٠١٦) گزارش نمودند که جذب DMPP در خاک دارای مقدار ماده آلی بیش‌تر بالاتر بود (۳۷ و ۲۲).

آنالیز همبستگی (جدول ٦) آشکار نمود که فراوانی AOB و NOB با غلظت نیترات خاک همبستگی معنی‌داری نشان داده است که برای AOB و NOB مقادیر r به‌ترتیب برابر ۰/٦۷ و ۰/٦٦ (P<۰/۰۰۱) بود. هم‌چنین در این آزمایش یک همبستگی معنی‌دار بین جمعیت AOB و O.C خاک با r برابر ۰/۹ (P<۰/۰۰۱) و فراوانی AOB و نیتروژن کل خاک با r برابر ۰/۹ (P<۰/۰۰۱) وجود داشت. شی و همکاران (٢٠١٦a) یک همبستگی معنی‌دار بین فراوانی AOB و غلظت نیترات خاک و هان و همکاران (۲۰۱۷) نیز یک همبستگی مثبت بین فراوانی AOB و پتانسیل نیترات‌سازی خاک گزارش نمودند (١٤ و ۳۷).

در ارتباط با ارگانیسم‌های کنترل‌کننده نیترات‌سازی، کاربرد DMPP همراه سولفات آمونیوم جمعیت AOB و NOB را در مقایسه با سطح شاهد (بدون کاربرد کود و بازدارنده) افزایش داد ولی در مقایسه با سطح دارای کود سولفات آمونیوم بدون DMPP جمعیت AOB را کاهش داد در حالی‌که اثر معنی‌داری بر جمعیت NOB نداشت. اکسیداسیون آمونیوم اولین مرحله نیترات‌سازی است که در آن

آمونیوم توسط AOB به نیتریت اکسید می‌شود. بازدارنده‌های نیترات‌سازی می‌توانند اکسیداسیون باکتریایی آمونیوم به نیتریت را در خاک از طریق کاهش فعالیت آمونیا مونو اکسی‌ژناز (AMO) به تأخیر بیندازند. با این وجود DMPP بر اکسیداسیون نیتریت به نیترات تأثیر معنی‌داری نداشته است (۱۹). بنابراین مکانیسم اصلی بازدارندگی نیترات‌سازی توسط DMPP بازداشتن اکسیداسیون آمونیوم است نه بازداشتن اکسیداسیون نیتریت. در واقع این بازدارنده اثر معنی‌داری بر میکروارگانیسم‌های غیر هدف ندارد (٤٢). در این زمینه کونگ و همکاران (۲۰۱٦) بیان نمودند که کاربرد DMPP در سطح ۱۰ برابر بیش‌تر از میزان پیشنهاد شده (۰/۵ تا ۱/۵ کیلوگرم در هکتار) نیز اثر معنی‌داری بر جمعیت و فعالیت میکروارگانیسم‌های غیر هدف نداشته است (١٦). هم‌چنین ورتز و همکاران (۲۰۱۲) نشان داد که کاربرد کودهای نیتروژن‌دار شامل منوآمونیوم فسفات و اوره جمعیت باکتری‌های اکسیدکننده نیتریت مانند نیتروباکتر را افزایش دادند (٤٥).

**جدول ٦- همبستگی بین میزان نیترات‌سازی (٥٦-۰ روز)، غلظت نیترات ($N\text{-}NO_3^-$)، نیتروژن کل (TN)، کربن آلی (O.C)، درصد رس (clay) و جمعیت باکتری‌های AOB و NOB خاک.**

**Table 6. Correlation between nitrification rate (0-56 day), nitrate concentration ($NO_3^-$-N), total N (TN), organic carbon (O.C), clay% and AOB and NOB bacterial population of soil.**

| NOB | AOB | clay | O.C | TN | $N\text{-}NO_3^-$ | نیترات‌سازی Nitrification | نیترات‌سازی nitrification |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| $0.56^{*}$ | $0.59^{**}$ | $0.55^{*}$ | $0.56^{*}$ | $0.57^{**}$ | $0.99^{***}$ | 1 | |
| $0.66^{***}$ | $0.67^{***}$ | $0.65^{***}$ | $0.66^{***}$ | $0.67^{***}$ | 1 | $0.99^{***}$ | $N\text{-}NO_3^-$ |
| $0.92^{***}$ | $0.93^{***}$ | $0.95^{***}$ | $0.99^{***}$ | 1 | $0.67^{***}$ | $0.57^{**}$ | TN |
| $0.91^{***}$ | $0.93^{***}$ | $0.95^{***}$ | 1 | $0.99^{***}$ | $0.66^{***}$ | $0.56^{*}$ | O.C |
| $0.97^{***}$ | $0.99^{***}$ | 1 | $0.95^{***}$ | $0.95^{***}$ | $0.65^{***}$ | $0.55^{*}$ | clay |
| $0.98^{***}$ | 1 | $0.99^{***}$ | $0.93^{***}$ | $0.93^{***}$ | $0.67^{***}$ | $0.59^{**}$ | AOB |
| 1 | $0.98^{***}$ | $0.97^{***}$ | $0.91^{***}$ | $0.92^{***}$ | $0.66^{**}*$ | $0.56^{*}$ | NOB |

***، ** و * به‌ترتیب در سطح ۰/۱، ۱ و ۵ درصد معنی‌دار است.

***, ** and * significant at 0.1, 1% and 5% probability levels, respectively.

**جدول ۷- همبستگی بین میزان نیترات‌سازی و بازدارندگی نیترات‌سازی (٥٦-۰) در تیمارهای دارای DMPP با غلظت نیترات ($N\text{-}NO_3^-$)، نیتروژن کل (TN)، کربن آلی (O.C)، درصد رس (clay) و جمعیت باکتری‌های AOB و NOB خاک.**

**Table 7. Correlation between nitrification rate and nitrification inhibition (0-56 day) at treatments includes nitrate concentration ($NO_3^-$-N), total N (TN), organic carbon (O.C), clay% and AOB and NOB bacterial population of soil.**

| NOB | AOB | clay | O.C | TN | $N\text{-}NO_3^-$ | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| $0.83^{***}$ | $0.78^{**}$ | $0.79^{**}$ | $0.81^{***}$ | $0.84^{***}$ | $0.99^{***}$ | میزان نیترات‌سازی Nitrification rate |
| $-0.78^{**}$ | $-0.71^{**}$ | $-0.73^{**}$ | $-0.75^{**}$ | $-0.78^{**}$ | $-0.97^{***}$ | درصد بازدارندگی Nitrification inhibition |

***، ** و * به‌ترتیب در سطح ۰/۱، ۱ و ۵ درصد معنی‌دار است.

***, ** and * significant at 0.1, 1% and 5% probability levels, respectively.

## نتیجه‌گیری کلی

کارایی DMPP در کاهش نیترات‌سازی در خاک‌های دارای شن بیش‌تر و ماده آلی کم‌تر بالاتر بود که نشان‌دهنده اهمیت مقدار رس خاک و محتوای ماده آلی در این زمینه است. شمارش باکتری‌های نیترات‌ساز اتوتروف در آزمایش حاضر نشان داد که DMPP با کاهش جمعیت باکتری‌های AOB یک نقش بازدارندگی مهم در ارتباط با نیترات‌سازی بازی می‌کند با این‌حال اثر معنی‌داری بر باکتری‌های NOB نداشت. به‌منظور استفاده عملی از این بازدارنده توسط کشاورزان انجام مطالعات بیش‌تری تحت شرایط مزرعه‌ای در ارتباط با کارایی DMPP و ویژگی‌های مختلف خاک و شرایط آب و هوایی توصیه می‌شود.

## سپاسگزاری

از گروه علوم و مهندسی خاک و پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی و بخش آب و خاک آن به‌خاطر فراهم نمودن امکانات و ایجاد تسهیلات لازم برای انجام این پژوهش، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

## منابع

1. Alef, K., and Nannipieri, P. 1995. Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Academic Press. 576p.
2. Aulakh, M.S., Singh, K., Singh, B., and Doran, J.W. 1996. Kinetics of nitrification under upland and flooded soils of varying texture. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 27: 9-10. 2079-2089.
3. Azam, F., and Farooq, S. 2003. Nitrification inhibition in soil and ecosystem functioning - an overview. Pak. J. Biol. Sci. 6: 528-535.
4. Azam, F., Benckiser, G., Müller, C., and Ottow, J.C.G. 2001. Release, movement and recovery of 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP), ammonium and nitrate from stabilized nitrogen fertilizer granules in a silty clay soil under laboratory conditions. Biology and Fertility of Soils. 34: 118-125.
5. Banning, N.C., Maccarone, L.D., Fisk, L.M., and Murphy, D.V. 2015. Ammonia-oxidising bacteria not archaea dominate nitrification activity in semi-arid agricultural soil. http://www.nature.com/scientificreports. Scientific Reports. 5: 1-8.
6. Barth, G., Tucher, S.V., and Schmidhalter, U. 2001. Influence of soil parameters on the effect of 3,4-dimethylpyrazole-phosphate as a nitrification inhibitor. Biology and Fertility of Soils. 34: 98-102.
7. Barth, G., Tucher, S.V., and Schmidhalter, U. 2008. Effectiveness of 3,4- dimethylpyrazole phosphate as nitrification inhibitor in soil as influenced by inhibitor concentration, application form, and soil matrix potential. Pedosphere. 18: 378-385.
8. Beeckman, F., Motte, H., and Beeckman, T. 2018. Nitrification in agricultural soils: impact, actors and mitigation. Current opinion in Biotechnology. 50: 166-173.
9. Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-total. In: D.L. Sparks (ed.). Methods of soil analysis. Part 3. Chemical Methods. Soil Science Society of America. Madison, WI. Pp: 1085-1121.
10. Crawford, D.M., and Chalk, P.M. 1992. Mineralization and immobilization of soil and fertilizer nitrogen with nitrification inhibitors and solvents. Soil Biology Biochemistry. 24: 559-568.
11. Di, H.J., and Cameron, K.C. 2012. How does the application of different nitrification inhibitors affect nitrous oxide emissions and nitrate leaching from cow urine in grazed pastures? Soil Use and Management. 28: 54-61.
12. Fangueiro, D., Fernandes, A., Coutinho, J., Moreira, N., and Trindade, H. 2009. Influence of two nitrification inhibitors (DCD and DMPP) on annual ryegrass yield and soil mineral N dynamics after

incorporation with cattle slurry. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 40: 3387-3398.
13. Gee, G.W., and Bauder, J.W. 1986. Particle-size analysis. P 383-410. In: A. Klute (ed.). Methods of Soil Analysis. Part 1. Physical and mineralogical methods, Soil Science society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI.
14. Han, J., Shi, J., Zeng, L., Xu, J., and Wu, L. 2017. Impacts of continuous excessive fertilization on soil potential nitrification activity and nitrifying microbial community dynamics in greenhouse system. J. Soil Sed. 17: 471-480.
15. Keeney, D.R., and Nelson, D.W. 1982. Nitrogen-inorganic forms. P 643-698. In: A.L. Page (eds). Methods of Soil Analysis. Part 2. American Society of Agronomy. Madison, WI. USA.
16. Kong, X., Duan, Y., Schramm, A., Eriksen, J., and Petersen, S.O. 2016. 3,4- Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) reduces activity of ammonia oxidizers without adverse effects on non-target soil microorganisms and functions. Applied Soil Ecology. 105: 67-75.
17. Kumar, R., Parmar, B.S., Walia, S., and Saha, S. 2015. Nitrification inhibitors: classes and its use in nitrification management. P 103-122. In: Nutrient use efficiency: from basics to advances. (eds: Amitava Rakshit, Harikesh Bahadur Singh and Avijit Sen). Springer India.
18. Kumar, U., Kumar, V., and Pal Singh, J. 2007. Effect of different factors on hydrolysis and nitrification of urea in soils. Archives of Agronomy and Soil Science. 53: 2. 173-182.
19. Li, H., Liang, X., Chen, Y., Lian, Y., Tian, G., and Ni, W. 2008. Effect of nitrification inhibitor DMPP on nitrogen leaching, nitrifying organisms, and enzyme activities in a rice-oilseed rape cropping system. J. Environ. Sci. China. 20: 149-155.
20. Liu, C., Wang, K., and Zheng, X. 2013. Effects of nitrification inhibitors (DCD and DMPP) on nitrous oxide emission, crop yield and nitrogen uptake in a wheat-maize cropping system. Biogeosciences Discussions. 10: 711-737.
21. Liu, R., Hayden, H., Suter, H., and He, J. 2015. The effect of nitrification inhibitors in reducing nitrification and the ammonia oxidizer population in three contrasting soils. J. Soil Sed. 15: 1113-1118.
22. Marsden, K.A., Marín-Martínez, A.J., Vallejo, A., Hill, P.W., Jones, D.L., and Chadwick, D.R. 2016. The mobility of nitrification inhibitors under simulated ruminant urine deposition and rainfall: a comparison between DCD and DMPP. Biology and Fertility of Soils. 52: 491-503.
23. McCarty, G.W., and Bremner, J.M. 1989. Inhibition of nitrification in soil by heterocyclic nitrogen compounds. Biology and Fertility of Soils. 8: 204-211.
24. McGeough, K.L., Watson, C.J., Müller, C., Laughlin, R.J., and Chadwick, D.R. 2016. Evidence that the efficacy of the nitrification inhibitor dicyandiamide (DCD) is affected by soil properties in UK soils. Soil Biology and Biochemistry. 94: 222-232.
25. Menéndez, S., Merino, P., Pinto, M., Gonzalez-Murua, C., and Estavillo, J.M. 2009. Effect of N-(n-butyl) thiophosphoric triamide and 3,4- dimethylpyrazole phosphate on gaseous emissions from grasslands under different soil water contents. J. Environ. Qual. 38: 27-35.
26. Menéndez, S., Barrena, I., Setiena, I., González-Murua, C., and Estavillo, J.M. 2012. Efficiency of nitrification inhibitor DMPP to reduce nitrous oxide emissions under different temperature and moisture conditions. Soil Biology and Biochemistry. 53: 82-89.
27. Migliorati, M.D.A., Scheer, C., Grace, P.R., Rowlings, D.W., Bell, M., and McGree, J. 2014. Influence of different nitrogen rates and DMPP nitrification inhibitor on annual $N_2O$ emissions from a subtropical wheat–maize cropping system. Agriculture Ecosystem and Environment. 186: 33-43.

28. Nelson, D.W., and Sommers, L.E. 1996. Total carbon, organic carbon, and organic matter. P 961-1010. In: D.L. Sparks (ed.). Methods of Soil Analysis part 3: Chemical methods, Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, WI.
29. Norton, J.M., and Stark, J.M. 2011. Regulation and measurement of nitrification in terrestrial systems. P 343-368. In: M.G. Klotz. (ed.). Methods in enzymology, Vol 486. Academic Press, Burlington .
30. Loeppert, R.H., and Suarez, D.L. 1996. Carbonate and gypsum. P 437-474. In: D.L. Sparks (ed.). Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical methods, Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison. WI.
31. Opokua, A., Chavesb, B., and De Neve, S. 2014. Neem seed oil: a potent nitrification inhibitor to control nitrate leaching after incorporation of crop residues. Biological Agriculture and Horticulture. 30: 3. 145-152.
32. Recio, J., Vallejo, A., Le-Noë, J., Garnier, J., García-Marco, S., Álvarez, J.M., and Sanz-Coben, A. 2018. The effect of nitrification inhibitors on $NH_3$ and $N_2O$ emissions in highly N fertilized irrigated Mediterranean cropping systems. Science of the Total Environment. 636: 427-436.
33. Rhoades, J.D. 1996. Salinity: electrical conductivity and total dissolved solids, P 417-435. In: D.L. Sparks (ed.). Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison. WI.
34. Roco, M.M., and Blu, R.O. 2006. Evaluation of the nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate in two Chilean soils. J. Plant Nutr. 29: 521-534.
35. Sahrawat, K.L. 2008. Factors Affecting Nitrification in Soils. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 39: 1436-1446.
36. Schmidt, E.L., and Belser, L.W. 1982. Autotrophic nitrifying bacteria. P 159-177. In: A.L. Page (ed.). Methods of soil analysis, Part 2: Microbiological and biochemical properties. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison, W.I.
37. Shi, X.Z., Hu, H.W., He, J.Z., Chen, D.L., and Suter, H. 2016a. Effects of 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on nitrification and the abundance and community composition of soil ammonia oxidizers in three land uses. Biology and Fertility of Soils. 52: 927-939.
38. Shi, X.Z., Hu, H.W., He, J.Z., Chen, D.L., and Suter, H. 2016b. Effects of the nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on nitrification and nitrifiers in two contrasting agricultural soils. Applied Environmental Microbiology. 15; 82: 17. 5236-48.
39. Subbarao, G.V., Ito, O., Sahrawat, K.L., Berry, W.L., Nakahara, K., Ishikawa, T., Watanabe, T., Suenaga, K., Rondon, M., and Rao, I.M. 2006. Scope and strategies for regulation of nitrification in agricultural systems challenges and opportunities. Critical Reviews in Plant Sciences. 25: 303-335.
40. Summer, M.E., and Miller, W.P. 1996. Cation exchange capacity and exchange coefficient. P 1201-1230. In: D.L. Sparks (ed.). Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, WI.
41. Thomas, G.W. 1996. Soil pH and soil acidity. P 475-490. In: D.L. Sparks (ed.). Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical methods. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison. WI.
42. Tindaon, F., Benckiser, G., and Ottow, J.C.G. 2012. Evaluation of ecological doses of the nitrification inhibitors 3,4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) and 4-chloromethylpyrazole (ClMP) in comparison to dicyandiamide (DCD) in their effects on dehydrogenase and dimethyl sulfoxide reductase activity in soils. Biology and Fertility of Soils. 48: 643-650.

43. Urakawa, R., Ohte, N., Shibata, H., Isobe, K., Tateno, R., Oda, T., Hishi, T., Fukushima, K., Inagaki, Y., Hirai, K., Oyanagi, N., Nakata, M., Toda, H., Kenta, T., Kuroiwam, M., Watanabe, T., Fukuzawa, K., Tokuchi, N., Ugawa, S., Enoki, T., Nakanishi, A., Saigusa, N., Yamao, Y., and Kotani, A. 2016. Factors contributing to soil nitrogen mineralization and nitrification rates of forest soils in the Japanese archipelago. Forest Ecology Management. 361: 382-396.
44. Weiske, A., Bnckiser, G., Herbert, T., and Ottow, J. 2001. Influence of the nitrification inhibitor 3, 4-dimethylpyrazole phosphate (DMPP) in comparison to dicyandiamide (DCD) on nitrous oxide emissions, carbon dioxide fluxes and methane oxidation during 3 years of repeated application in field experiments. Biology and Fertility of Soils. 34: 109-117.
45. Wertz, S., Leigh, A.K.K., and Grayston, S.J. 2012. Effects of long-term fertilization of forest soils on potential nitrification and on the abundance and community structure of ammonia oxidizers and nitrite oxidizers. FEMS Microbiol Ecology. 79: 142-154.
46. Xu, C., Wu, L.H., Ju, X.T., and Zhang, F.S. 2005. Role of nitrification inhibitor DMPP (3,4-dimethylpyrazole phosphate) in $NO_3^-$-N accumulation in greengrocery (*Brassica campestris* L. spp. chinensis) and vegetable soil. J. Environ. Sci. China. 17: 81-83.
47. Zerulla, W., Barth, T., Dressel, J., Erhardt, K., von Loquenghien, H., Pasda, K., Radle, M.G., and Wissemeier, A.H. 2001. 3,4-Dimethylpyrazole phosphate: a new nitrification inhibitor for agriculture and horticulture. Biology and Fertility of Soils. 34: 79-84.

*J. of Soil Management and Sustainable Production, Vol. 9(4), 2020*
*http://ejsms.gau.ac.ir*

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

# Nitrification and abundance of nitrifier bacterial as effected by inhibitor 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) in five different soils

**J. Sheikhi[1], *H. Mirseyed Hosseini[2], H. Etesami[3] and A. Majidi[4]**

[1]Ph.D. Student, Dept. of Soil Science and Engineering, Tehran University, [2]Associate Prof., Dept. of Soil Science and Engineering, Tehran University, [3]Assistant Prof., Dept. of Soil Science and Engineering, Tehran University, [4]Assistant Prof. of Soil and Water Department of Agricultural Research and Education and Natural Resource Center of West Azerbaijan

Received: 03.06.2019; Accepted: 09.03.2019

**Abstract**

**Background and Objectives:** Low nitrogen use efficiency (NUE) is a global problem in crop production, and agriculture of Iran is not exempt in this regard. Nitrogen (N) fertilizers as a source of nitrogen can be very effective in water, soil and air environmental pollution. Nitrification is a key process in agricultural ecosystems since it results in changes of ammonium to nitrate and eventually loss of considerable amounts of soil nitrogen through leaching and denitrification. The application of nitrification inhibitors (NI) together with nitrogen fertilizers is a strategy to reduce N losses. Thus, the objective of this study were to evaluate the effect of inhibitor 3,4-Dimethylpyrazole phosphate (DMPP) on nitrification rates and nitrification inhibition percentage in some soils of Iran containing representing differences in organic matter content and texture.

**Materials and Methods:** An incubation experiment was conducted to evaluate the effect of DMPP on nitrate and ammonium concentration changes in different times and abundance of ammonium (AOB) and nitrite (NOB) oxidizer bacteria in five soils with different texture and organic carbon (O.C). The treatments of experiment included NI at three levels (without N and NI, 200 mg/kg N as ammonium sulfate without NI and 200 mg/kg N as ammonium sulfate containing 0.8 % NI), five soil types (sandy loam 1 with 0.58% O.C, sandy loam 2 with 0.3% O.C, loam with 0.73% O.C, clay loam with 0.87% O.C, clay with 1.47% O.C), and five sampling times (0, 14, 28, 42, and 56 day).

**Results:** The results showed that application of N containing DMPP compared to N without DMPP in all soils had significant effect ($P<0.001$) on reducing nitrification, which was reduced 44.7% on average. DMPP efficiency on nitrification inhibition in experimented soils had significant difference, indicating that nitrification occurs rapidly in soils containing more clay and O.C compared to soils with more sand and low O.C. Nitrification inhibition percentage after 56 day incubation in SL1, SL2 and L were 57%, 46% and 12%, but in two other soils were about zero. Also there were a positive significant correlation between abundance of AOB and NOB with nitrate concentration ($r = 0.6$), O.C content ($r = 0.9$) and total soil N ($r = 0.9$).

**Conclusions:** Soil nitrification rate are different under influence of factors like soil textural properties and soil O.C content, and DMPP efficiency had inverse relationship with some soil properties including clay%, O.C content and nitrifier bacterial population.

***Keywords:*** Fertilizer efficiency, Nitrification inhibition, Nitrifier bacterial, Soil organic carbon

* Corresponding Author; Email: mirseyed@ut.ac.ir