

磷高效转基因水稻全生育期根际土壤磷组分特征差异

曹璇^{1,2}, 臧怀敏¹, 赵云丽³, 修伟明¹, 李刚¹, 杨殿林¹, 刘惠芬², 赵建宁^{1*}

(1. 农业部环境保护科研监测所, 农业部产地环境质量重点实验室/天津市农业环境与农产品安全重点开放实验室, 天津 300191;
2.天津农学院农学与资源环境学院, 天津 300384; 3.天津师范大学生命科学学院, 天津 300387)

摘要:为了解磷高效转基因水稻对土壤无机磷和有机磷形态特征及磷酸酶活性的影响,以两种磷高效转基因水稻OsPT4(磷高效吸收材料)和PHO2(磷高效突变体材料)及其非转基因亲本水稻日本晴为供试材料,采用盆栽试验研究磷高效水稻的种植对根际土壤磷素形态及其有效性的影响。结果表明,水稻OsPT4和PHO2的根干重、生物量和磷素积累量均有不同程度的增加,磷高效转基因水稻OsPT4分蘖期和扬花期根际土壤的有效磷浓度与亲本差异显著;在四个生育期内,磷高效转基因水稻OsPT4和磷高效突变体PHO2根际土壤各个磷形态的含量变化趋势与其亲本日本晴基本一致,OsPT4和PHO2水稻根际土壤无机磷组分含量表现为Ca₁₀-P>O-P>Ca₈-P>Fe-P>Al-P>Ca₂-P,有机磷浓度表现为中活性有机磷>中稳定性有机磷>高稳定性有机磷>活性有机磷,且各时期根际土壤的不同磷形态含量和同期日本晴相比均差异不显著。磷高效转基因水稻材料OsPT4、磷高效突变体水稻材料PHO2根际土壤磷酸酶活性和同期日本晴相比均差异不显著。研究表明磷高效转基因水稻材料OsPT4和磷高效突变体材料PHO2一年期种植对根际土壤的磷素形态和磷酸酶活性的影响不显著。

关键词:水稻;转基因;速效磷;磷素形态;碱性磷酸酶

中图分类号:S153.6 文献标志码:A 文章编号:1672-2043(2015)10-1951-07 doi:10.11654/jaes.2015.10.016

Phosphorus Fractions in Rhizospheric Soil of High-Phosphorus Efficiency Transgenic Rice During Its Growth Period

CAO Xuan^{1,2}, ZANG Huai-min¹, ZHAO Yun-li³, XIU Wei-ming¹, LI Gang¹, YANG Dian-lin¹, LIU Hui-fen², ZHAO jian-ning^{1*}

(1.Agro-Environmental Protection Institute, Ministry of Agriculture; Key Laboratory of Original Agro-environment Quality of Ministry of Agriculture and Tianjin Key Laboratory of Agro-environment and Agro-product Safety, Tianjin 300191, China; 2. Department of Agronomy, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 3. College of Life Sciences, Tianjin Normal University, Tianjin 300387, China)

Abstract: High-phosphorus(P) efficiency rice has great potential to take up phosphorus from soil, which may influence the status of soil phosphorus fractions. We designed an experiment to identify the characteristics of phosphorus fractions in rhizospheric soil of a high-P efficiency transgenic rice during its growth period using japonica rice cultivar *Nipponbare* (CK) and its high-P efficiency transgenic rice (OsPT4) and high-P efficiency mutant (PHO2) as model plants. Alkaline phosphatase activity in rhizospheric soil was also examined. Significant higher root dry weight, biomass and P accumulation were observed in OsPT4 and PHO2 than in CK. PHO2 also had higher phosphorus use efficiency than *Nipponbare* did. Compared with the control, available phosphorus concentrations in rhizospheric soil of OsPT4 was significantly higher at tillering stage, whereas it was significantly lower at heading stage. Phosphorus fractions in OsPT4 and PHO2 rhizospheric soils had no significant difference from those of *Nipponbare* during their growth period. Inorganic P fractions were in order: Ca₁₀-P>O-P>Ca₈-P>Fe-P>Al-P>Ca₂-P. Of organic P fractions, moderate labile organic phosphorus was dominant, followed by resistant organic phosphorus and moderate-resistant organic phosphorus, while labile organic phosphorus was the lowest. No significant difference was observed in the activity of soil alkaline phosphatase between OsPT4 and PHO2 and *Nipponbare* during their growth period. High-P efficiency rice OsPT4 and PHO2 had no significant effects on phosphorus fractions and alkaline phosphatase activity in rhizospheric soil in the first year.

Keywords: rice (*Oryza sativa* L.); transgene; available phosphorus; phosphorus fraction; alkaline phosphatase

收稿日期:2015-04-08

基金项目:国家自然科学基金项目(31301855)

作者简介:曹璇(1990—),女,硕士在读,主要从事作物遗传育种环境研究。E-mail:xuancao_07@163.com

*通信作者:赵建宁 E-mail:zhaojianning@caas.cn

据统计,自1996年以来,全球转基因作物种植面积逐年增长,从1996年的1700万hm²增加到2014年的1.815亿hm²,转基因作物成为近年来应用最为迅速的作物,为农户及消费者带来的利益不言而喻^[1-2]。但与此同时,转基因作物的安全性及对生态环境的影响也日益受到公众的关注。目前,对转基因作物环境安全性评价主要集中在基因漂移、对靶标和非靶标生物的影响及对农业生态环境的影响等方面^[3-4]。

当前我国农业生产面临着增肥不增产、土壤养分过量累积、化肥施用过量和养分利用效率下降等重大问题。因此,提高作物产量和养分利用效率是我国农业可持续发展的关键^[5]。氮磷钾养分吸收、转运、同化和循环再利用等过程机制的研究及相关功能基因的克隆、功能分析和转化,最终获得养分高效利用的转基因作物已成为国内外研究的热点^[6-9]。

磷是作物生长发育和产量形成过程中必需的大量元素之一。土壤中含有较多的磷元素,但绝大多数不能被作物直接吸收利用^[10],可被直接吸收利用的可溶性正磷酸盐含量一般都很低,通常小于10 μmol·L⁻¹^[11-12];另外,磷在土壤中移动性很差,作物根系一般只能吸收距根表面1~2 mm以内的有效磷。这就造成了普遍性的土壤缺磷现象^[13]。前人研究发现土壤的磷素循环对土壤磷流失有重要作用^[14],土壤中的磷素循环主要是围绕着植物、土壤和微生物三者进行,植物根系分泌物在土壤磷素的循环转化中起着重要作用^[15]。磷高效水稻在获取土壤磷素的过程中可能会打破原有土壤磷素的平衡,进而影响不同磷形态的组成^[16]。

水稻是我国乃至世界的主要粮食作物,随着人口的增加、耕地面积的减少和人们生活水平的迅速提高,生产高产优质的水稻已成为农业生产关注的重要问题^[17]。水稻的养分吸收尤其是磷素吸收极大地受到土壤有效磷的制约,因而磷高效转基因水稻以其对土壤磷素的高效吸收利用优势受到植物营养学家和遗传育种学家的广泛关注。南京农业大学将克隆的水稻*Ph1*家族成员*OsPT4*基因转入日本晴而创制的超表达材料实现了水稻磷素的高效吸收,与对照相比,在水培正常供磷条件下该材料苗期地下部全磷含量平均增加10%~20%,地上部平均增加36%~50%,在低磷条件下苗期地下部平均增加8%~15%,地上部平均增加15%~30%^[18];磷高效突变体材料*PHO2*是编码*OsLTN1*基因发生无义突变产生的磷高效吸收材料,该材料在不添加磷素的水培条件下苗期地上部的磷

含量较亲本日本晴高,地下部较对照低^[19-21]。磷高效转基因水稻因其特有的磷素高效吸收和转运能力可以在土壤有效磷浓度较低的情况下吸收到更多的磷素,从而满足作物的正常生长发育。

由于土壤磷库长期处在一个动态的平衡状态,而磷高效转基因水稻对土壤磷素的高效吸收是否会对土壤磷形态转化及其有效性存在潜在的影响还不得而知。目前,有关磷高效吸收转基因作物对土壤磷形态及有效性影响的研究相关报道较少。本文采用盆栽试验研究在不施磷条件下磷高效转基因水稻全生育期土壤磷素形态的变异情况,为探寻磷高效水稻对土壤中不同形态磷素的利用特征,探明磷高效水稻高效吸收利用磷素机理及科学评价磷高效转基因水稻的土壤安全性提供相关技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

供试水稻品种:日本晴(CK)、磷高效吸收转基因材料*OsPT4*和磷高效突变体材料*PHO2*,试验材料均由南京农业大学资源与环境学院植物营养分子生物学实验室提供。

供试土壤:采自天津市武清区常规水稻田,基本理化性质为:pH 8.23,有机质20 g·kg⁻¹,全氮0.89 g·kg⁻¹,全磷1.1 g·kg⁻¹,速效磷19.63 mg·kg⁻¹。

1.2 试验设计与处理

试验在农业部环境保护科研监测所网室内进行。采用不透明塑料桶(直径30 cm,高35 cm),土壤自然风干,捶碎,剔除石块,磨碎,过筛(2 mm孔径),每桶装土19.5 kg。种植前每桶施N 100 mg·kg⁻¹(CO(NH₂)₂)、K₂O 100 mg·kg⁻¹(K₂SO₄)作为基肥,播种前一周将CO(NH₂)₂、K₂SO₄以水溶液的形式混入土壤。另外,50 mg·kg⁻¹ N作为追肥,不施用磷肥。

水稻种子用5%的次氯酸钠溶液消毒5 min,然后用去离子水冲洗3次。在育苗盘播5粒水稻种子,待3叶期(播种后20 d)时,每塑料桶中移3株苗,每个水稻材料种植6桶。试验中浇水量及管理条件均保持一致。分别于分蘖期(播种后50 d)、幼穗分化期(播种后80 d)、抽穗扬花期(播种后110 d)、灌浆成熟期采样(播种后140 d),用取土器紧贴根部采集土壤作为根际土壤,剔除碎根,风干,研磨过筛后备用。成熟期将整桶土倒出,取出水稻植株,用自来水冲洗其根部,再用蒸馏水洗净,吸水纸擦干,分为根、茎、叶、穗4个部分。在105 ℃下杀青30 min,再将温度降到65 ℃烘

干至恒重,称重后粉碎测定含磷量。

1.3 测定项目及方法

植株样品磷浓度采用 $H_2SO_4-H_2O_2$ 消煮-钼锑抗比色法测定^[20],用干物重与磷浓度($g\cdot kg^{-1}$)之积的总和计算植株磷积累量。土壤有效磷含量采用 $0.5\text{ mol}\cdot L^{-1}NaHCO_3$ 提取,钼锑抗比色法测定^[22]。

土壤无机磷的组分:用 $0.25\text{ mol}\cdot L^{-1}NaHCO_3$ 浸提 Ca_2-P ,继而用 $0.5\text{ mol}\cdot L^{-1}CH_3COONH_4$ 浸提 Ca_8-P ,用 $0.5\text{ mol}\cdot L^{-1}NH_4F$ 浸提 $Al-P$,用 $0.1\text{ mol}\cdot L^{-1}NaOH+0.1\text{ mol}\cdot L^{-1}(1/2Na_2CO_3)$ 浸提 $Fe-P$,用 $0.3\text{ mol}\cdot L^{-1}(Na_3C_6H_5O_7\cdot 2H_2O)+Na_2S_2O_4$ 浸提 $O-P$,用 $0.25\text{ mol}\cdot L^{-1}H_2SO_4$ 浸提 $Ca_{10}-P$ ^[22]。

土壤有机磷的组分:活性有机磷为 $0.5\text{ mol}\cdot L^{-1}NaHCO_3$ 提取的有机磷,中活性有机磷为 $1.0\text{ mol}\cdot L^{-1}H_2SO_4+0.5\text{ mol}\cdot L^{-1}NaOH$ 提取的有机磷,中稳定性有机磷为富里酸磷,高稳定性有机磷为胡敏酸磷^[22]。

土壤碱性磷酸酶活性采用磷酸苯二钠比色法测定,以2 h后 100 g 土壤中 P_2O_5 的毫克数表示^[23]。

1.4 数据分析

采用 SPSS13.0 和 Excel 2010 进行数据处理和图表绘制,用 Duncan 法进行显著分析。

2 结果与分析

2.1 磷高效转基因水稻的生物量特征

成熟期 OsPT4 的根干重、生物量均显著高于 CK 和 PHO2(表 1)。OsPT4 和 PHO2 的磷素积累量分别高出 CK 处理 13.10% 和 40.64%,其中 PHO2 的磷素积累量和 CK 呈显著差异。

2.2 根际土壤有效磷含量

分蘖期水稻 OsPT4 根际土壤的有效磷含量为 $55.28\text{ mg}\cdot kg^{-1}$,均显著高于 PHO2 和 CK,但 PHO2 和

表 1 磷高效转基因水稻生物量及磷素积累量的差异

Table 1 Difference in total biomass and phosphorus accumulation of different high-P efficiency rice plants

株系 Variety	成熟期 Maturity stage		
	根干重/g·株 ⁻¹ Root DW	生物量/g·株 ⁻¹ Dry Weight	磷素积累量/mg·株 ⁻¹ P accumulation
OsPT4	$5.46\pm 1.25\text{a}$	$22.15\pm 2.23\text{a}$	$60.53\pm 9.48\text{b}$
PHO2	$4.18\pm 0.61\text{b}$	$19.57\pm 2.24\text{b}$	$75.27\pm 11.40\text{a}$
CK	$3.56\pm 0.29\text{b}$	$18.35\pm 1.34\text{b}$	$53.52\pm 12.74\text{b}$

注:数据以平均值±标准差表示;同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Data were mean±SD ($n=6$). Different lower case letters within a column mean significant difference at 0.05 level. The same below.

CK 间无显著差异(图 1)。抽穗扬花期水稻 OsPT4 和 PHO2 根际土壤的有效磷含量分别为 27.56 、 $30.17\text{ mg}\cdot kg^{-1}$,其中 OsPT4 显著低于 CK,而 PHO2 与 CK 无显著性差异。幼穗分化期和灌浆成熟期各水稻间无显著性差异。

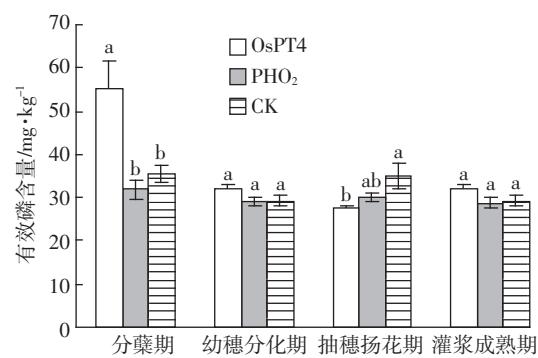
2.3 根际土壤无机磷组分含量

2.3.1 Ca_2-P 、 Ca_8-P 及 $Ca_{10}-P$ 含量差异

在水稻生长的四个生育期内,3 个水稻材料根际土壤的 Ca_2-P 含量随着生长时期的推进均呈先下降后上升的趋势,磷高效转基因水稻材料 OsPT4、磷高效突变体水稻材料 PHO2 根际土壤的 Ca_2-P 含量和同期日本晴相比差异均不显著($P<0.05$,图 2a)。水稻根际土壤的 Ca_8-P 含量随着生长时期的推进均呈先下降后上升的趋势,分蘖期最高,抽穗扬花期最低。同期的根际土壤 Ca_8-P 含量三者之间差异均不显著($P<0.05$,图 2b)。水稻根际土壤的 $Ca_{10}-P$ 含量随着生长时期的推进先下降再上升,最后缓慢下降,3 种水稻的变化趋势一致,OsPT4 和 PHO2 根际土壤的 Ca_2-P 含量与同期日本晴相比差异均不显著(图 2c)。

2.3.2 $Al-P$ 、 $Fe-P$ 及 $O-P$ 含量差异

在水稻生长的四个生育期内,水稻根际土壤的 $Al-P$ 含量随着生长时期的推进均呈先上升再下降的趋势(图 2d),磷高效转基因水稻材料 OsPT4、磷高效突变体水稻材料 PHO2 根际土壤的 $Al-P$ 含量和同期日本晴相比均差异不显著($P<0.05$)。水稻根际土壤的 $Fe-P$ 含量随着生长时期的推进均呈先下降再升高的趋势(图 2e),三种水稻同期根际土壤的 $Fe-P$ 含量无显著性差异。水稻根际土壤的 $O-P$ 含量随着生长时期的推进均呈逐渐下降后升高的趋势



不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同

Different lower case letters mean significant difference at 0.05 level. The same below

图 1 不同生育期磷高效转基因水稻根际土壤有效磷含量

Figure 1 Available phosphorus content in rhizospheric soils of different high-P efficiency rice plants at different growth stages

(图2f),同时期三种水稻的根际土壤的O-P含量均无显著性差异。

2.4 根际土壤有机磷组分含量

在水稻生长的整个生育期内,水稻根际土壤的活性有机磷含量随着生长时期的推进均呈先上升后下降的趋势(图3a)。磷高效转基因水稻材料OsPT4、磷高效突变体水稻材料PHO2根际土壤的活性有机磷含量和同期日本晴相比均差异不显著($P<0.05$)。水稻根际土壤的中活性有机磷含量随着生长时期的推进趋势各不相同(图3b),但三种水稻同期根际土壤的中活性有机磷含量无显著性差异。各水稻根际土壤的中稳定性有机磷和高稳定性有机磷的含量随着生长时期的推进均呈逐渐下降再升高后下降的趋势(图3c、图3d),同时期三种水稻根际土壤的中稳定性有机磷和

高稳定性有机磷的含量也均无显著性差异。

2.5 根际土壤磷酸酶活性

在水稻生长的四个生育期内,磷高效水稻OsPT4和PHO2根际土壤磷酸酶活性随着生长时期的推进均呈先上升后下降的趋势(图4)。在分蘖期、抽穗扬花期和灌浆成熟期,磷高效转基因水稻材料OsPT4、磷高效突变体水稻材料PHO2和日本晴相比,根际土壤碱性磷酸酶活性均无显著差异。但在幼穗分化期磷高效转基因水稻材料OsPT4的根际土壤碱性磷酸酶活性显著高于PHO2。

3 讨论

转基因作物释放的生态风险之一就是对土壤生态系统环境和功能的影响。研究表明,转基因植物在田间

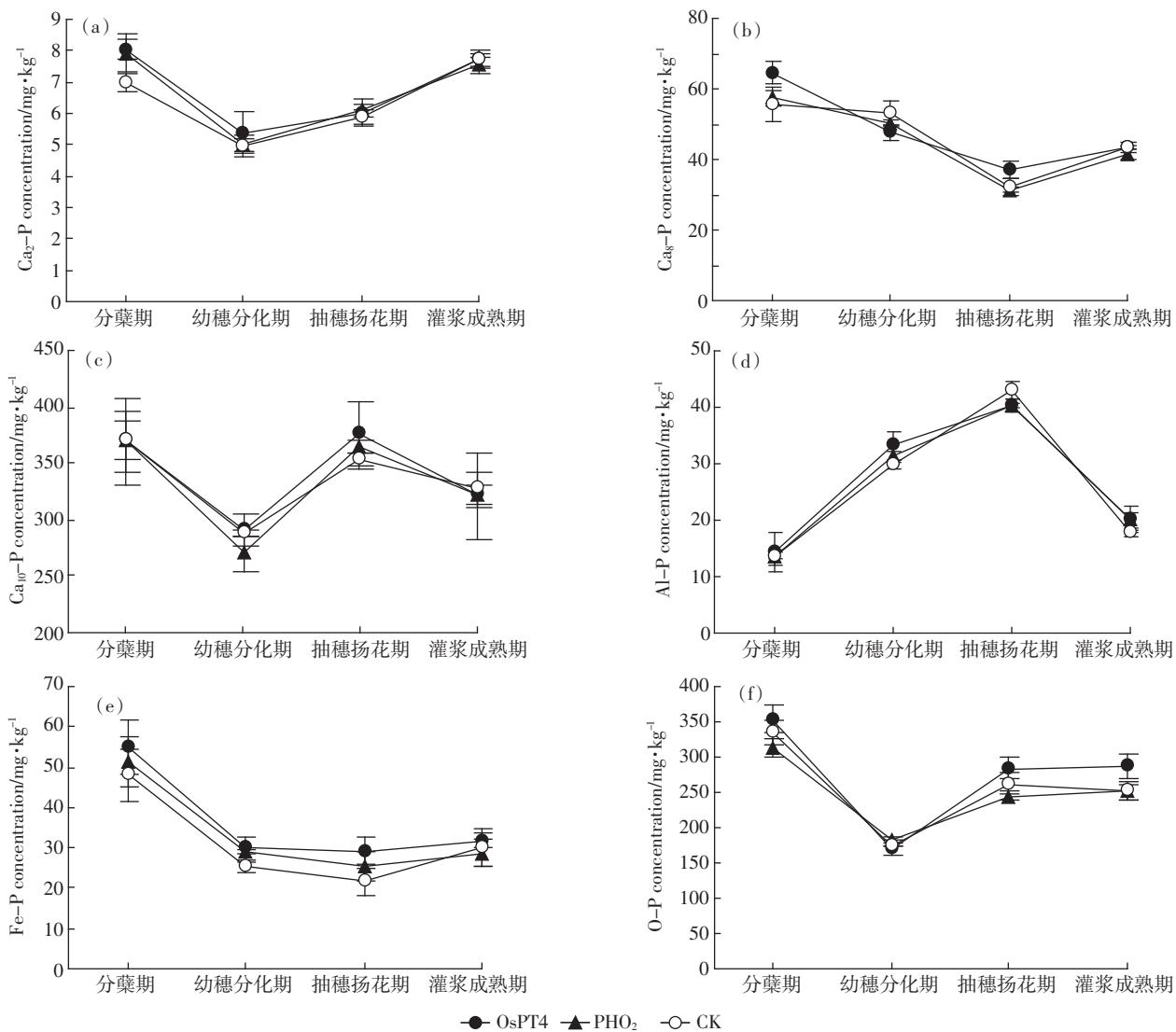


图2 不同生育期磷高效转基因水稻根际土壤无机磷含量

Figure 2 Inorganic phosphorus fractions in rhizospheric soils of different high-P efficiency rice plants at different growth stages

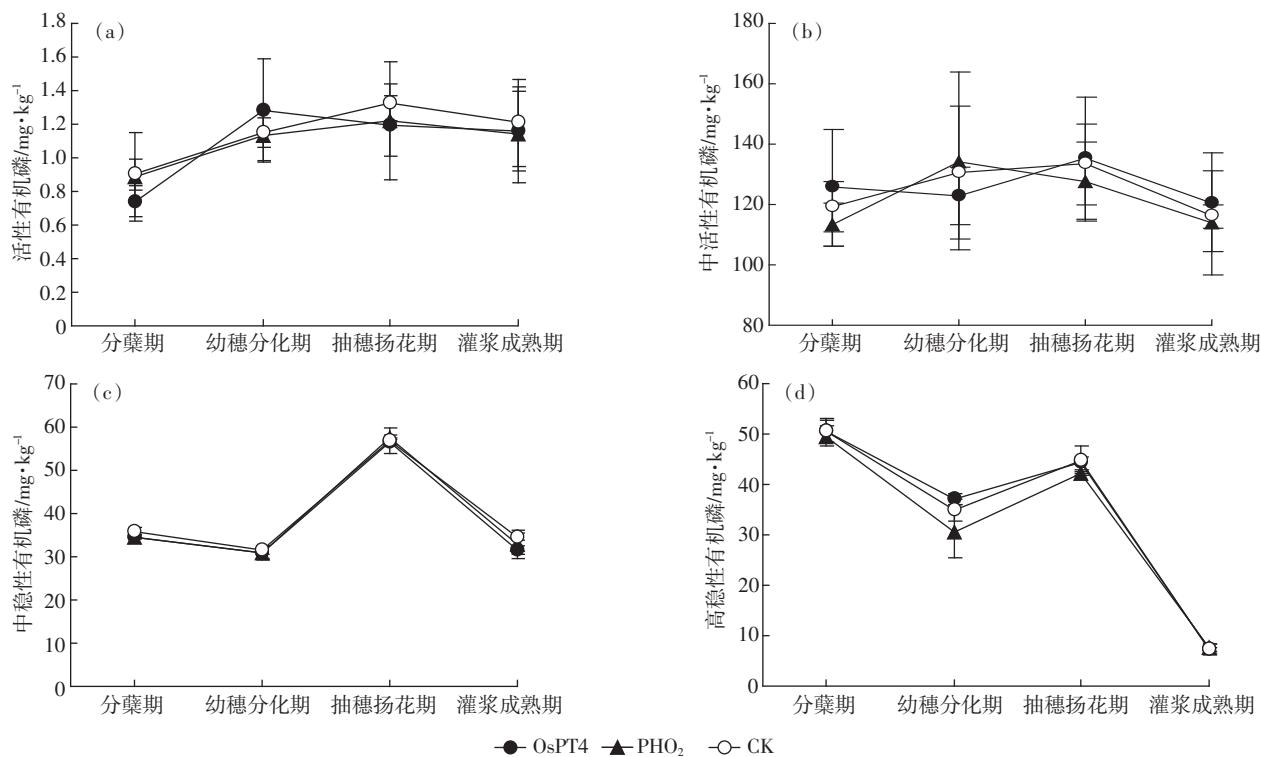


图3 不同生育期磷高效转基因水稻根际土壤有机磷含量

Figure 3 Organic phosphorus fractions in rhizospheric soils of different high-P efficiency rice plants at different growth stages

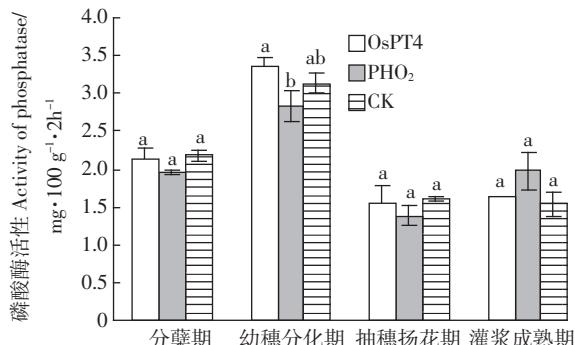


图4 不同生育期磷高效转基因水稻根际土壤磷酸酶活性

Figure 4 Alkaline phosphatase activity in rhizospheric soils of different high-P efficiency rice plants at different growth stages

种植可通过根茬、残枝落叶、根系分泌物、花粉等途径，直接或间接影响土壤营养元素转化相关过程^[24-27]。

吴娜^[18]等发现磷高效转基因水稻材料 OsPT4 在水培条件下，苗期干重及全磷含量与对照相比均有显著增加。另有研究发现，磷高效突变体材料 PHO2 在不添加磷素的水培条件下苗期地上部分的磷含量较亲本日本晴显著增加^[19]。张浩等^[16,28-29]研究表明，磷高效品种较低效品种能够形成较多的生物量和单株磷积累量，具有较强的干物质形成能力，是磷高效材料筛选和评价的首选指标。林文雄等^[30]研究表明，高的磷吸

收效率主要是由于根系生长旺盛所致。本研究也发现在土培不施磷条件下磷高效水稻材料 OsPT4 和 PHO2 的根干重、总干重、磷素积累量均高于日本晴。这说明磷高效转基因水稻材料 OsPT4 和磷高效突变体材料 PHO2 可以增加植株对磷的吸收，且呈现出旺盛的生长趋势，同时也证明根干重、总干重及磷积累量等是磷高效水稻材料筛选和评价的首选指标^[28-30]。

蔡秋燕等^[31]发现磷高效基因型野生大麦根际有效磷含量显著高于磷低效基因型，吴凡等^[32]发现转 AtPAP15 基因大豆根际土壤速效磷含量与受体在同一时期均无显著性差异。本研究发现磷高效转基因水稻 OsPT4 在分蘖期促进磷素向速效态的转化，而在分化期抑制磷素向速效态的转化。这可能是 OsPT4 在低磷浓度下，就能满足自身的生长需要，造成土壤中有效磷的积累。PHO2 的种植对根际土壤的速效磷含量几乎没有影响。在不施磷条件下，3 种水稻根际土壤无机磷组分浓度表现为 Ca₁₀-P>O-P>Ca₈-P>Fe-P>Al-P>Ca₂-P，与石灰性土壤的 Ca₁₀-P、Ca₂-P 的浓度分别为最高和最低一致^[33]。前人研究发现在不施加磷肥的盆栽试验中，磷高效基因型野生大麦在拔节期根际土壤中有机磷各组分含量为中活性有机磷>中稳定性有机磷、高稳定性有机磷>活性有机磷，且根际土壤中

$\text{Ca}_2\text{-P}$ 、 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 、 $\text{Ca}_{10}\text{-P}$ 、 O-P , 高稳定性有机磷、中稳定性有机磷和活性有机磷含量与低效基因型大麦均无显著性差异^[30]。本研究也发现, 水稻生长的4个时期内, OsPT4和PHO2的根际土壤 $\text{Ca}_2\text{-P}$ 、 $\text{Ca}_8\text{-P}$ 、 $\text{Ca}_{10}\text{-P}$ 、 Al-P 、 Fe-P 、 O-P , 高稳定性有机磷、中稳定性有机磷、中活性有机磷和活性有机磷含量与其亲本日本晴相比均无显著性差异, 且各个磷形态的含量变化趋势与日本晴基本一致。张锡州等^[16]的研究也表明紫潮砂泥土上种植不同磷效率小麦根际土壤的磷分级特征无差异, 说明短期内磷高效植物材料不会对土壤中无机磷和有机磷组分造成影响。据报道, 根际分泌磷酸酶有利于提高土壤中磷的生物有效性, 磷酸酶能将复杂的有机磷化合物水解成为植物可吸收利用的正磷酸盐^[34]。乌兰图雅等^[35]研究发现土壤酶活性和速效养分含量受转双价基因棉的影响较小, 吴凡等^[32]发现转 *AtPAP15* 基因大豆的种植对根际土壤的磷酸酶活性无影响。本研究发现磷高效转基因水稻OsPT4、磷高效突变体水稻PHO2和亲本对照日本晴四个时期的磷酸酶活性因时期不同而异, 但同时期内OsPT4和PHO2与日本晴相比根际土壤碱性磷酸酶活性均无显著性差异。

值得注意的是, 本文只是在盆栽条件下对转基因水稻OsPT4和PHO2种植对土壤无机磷和有机磷形态特征及磷酸酶活性的影响进行了初步研究, 旨在为其风险评价提供理论依据。目前国内外针对转基因作物释放对土壤生态系统的影响已开展了一系列研究^[16,36-37], 转基因作物在环境中的释放所带来的影响很难说是否只是一种短暂的效应。因此, 要综合评价OsPT4和PHO2的种植对土壤磷素形态的影响仍需通过不同施磷水平的长期田间试验进一步阐明。

4 结论

(1) 磷高效转基因水稻OsPT4和磷高效突变体水稻PHO2的根干重、生物量、磷素积累量均高于日本晴。

(2) 水稻OsPT4根际土壤的有效磷含量分蘖期显著高于CK, 抽穗扬花期显著低于CK。

(3) 在水稻生育期内, OsPT4和PHO2根际土壤各个磷形态的含量变化趋势与其对照日本晴一致, 均无显著差异。OsPT4和PHO2根际土壤无机磷组分浓度表现为 $\text{Ca}_{10}\text{-P} > \text{O-P} > \text{Ca}_8\text{-P} > \text{Fe-P} > \text{Al-P} > \text{Ca}_2\text{-P}$, 有机磷浓度表现为中活性有机磷>中稳定性有机磷>高稳定性有机磷>活性有机磷。

(4) 磷高效水稻OsPT4和磷高效突变体水稻PHO2

根际土壤的磷酸酶活性随着生长时期的推进均呈先上升后下降的趋势。OsPT4和PHO2水稻材料根际土壤的磷酸酶活性和同期日本晴相比均差异不显著。

参考文献:

- [1] 张成, 刘定富, 易先达. 全球转基因作物商业化进展及现状分析[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(14): 2819-2823.
ZHANG Cheng, LIU Ding-fu, YI Xian-da. Global status and progress of commercialized transgenic crops[J]. *Hubei Agricultural Sciences*, 2011, 50(14): 2819-2823.
- [2] James C. 2014年全球生物技术/转基因作物商业化发展态势[J]. 中国生物工程杂志, 2015, 35(1): 1-14.
James C. Global biotech/GM crops commercialization development situation in 2014[J]. *China Biotechnology*, 2015, 35(1): 1-14.
- [3] Jia S R. Environmental risk assessment of GM crops: Progress in risk assessment[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2004, 37(2): 175-187.
- [4] Lu B R, Xia H. Environmental biosafety of transgenic plants: Research and assessment of transgene escape and its potential ecological impacts [J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2011, 23(2): 186-194.
- [5] Zhang F S, Cui Z L, Wang J Q, et al. Current status of soil and plant nutrient management in China and improvement strategies[J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2007, 24(6): 687-694.
- [6] Yan X L, Wu P, Ling H Q, et al. Plant nutriomics in China: An overview[J]. *Annals of Botany*, 2006, 98(3): 473-482.
- [7] Hirel B, Gouis J L, Ney B, et al. The challenge of improving nitrogen use efficiency in crop plants: Towards a more central role for genetic variability and quantitative genetics within integrated approaches[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2007, 58(9): 2369-2387.
- [8] Shenoy V V, Kalagudi G M. Enhancing plant phosphorus use efficiency for sustainable cropping[J]. *Biotechnology Advances*, 2005, 23(7/8): 501-513.
- [9] Rengel Z, Damon P M. Crops and genotypes differ in efficiency of potassium uptake and use[J]. *Physiologia Plantarum*, 2008, 133(4): 624-636.
- [10] 王艳玲, 王杰, 赵兰坡, 等. 黑土无机磷形态及其有效性研究[J]. 水土保持学报, 2004, 18(3): 85-89.
WANG Yan-ling, WANG Jie, ZHAO Lan-po, et al. Study on forms of inorganic phosphates and their usefulness in black soils in Jilin Province[J]. *Journal of Soil and Water Conservation*, 2004, 18(3): 85-89.
- [11] Bielecki R L. Phosphate pools, phosphate transport, and phosphate availability[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1973, 24: 225-252.
- [12] Schachtman D P, Reid R J, Aylong S M. Phosphorus uptake by plants: From soil to cell[J]. *Plant Physiology*, 1998, 116: 447-453.
- [13] Gregory P J, Hinsinger P. New approaches to studying chemical and physical changes in the rhizosphere: An overview[J]. *Plant and Soil*, 1999, 211: 1-9.
- [14] 杨珏, 阮晓红. 土壤磷素循环及其对土壤磷流失的影响[J]. 土壤与环境, 2001, 10(3): 256-258.
YANG Jue, RUAN Xiao-hong. Soil circulation of phosphorus and its effects on the soil loss of phosphorus[J]. *Soil and Environmental Sciences*, 2001, 10(3): 256-258.

- [15] Tadano T, Sakai H. Secretion of acid phosphatase by the roots of several crop species under phosphorus-deficient conditions[J]. *Soil Sci Plant Nutr*, 1991, 37(1): 129–140.
- [16] 张锡洲, 阳显斌, 李廷轩, 等. 不同磷效率小麦对磷的吸收及根际土壤磷组分特征差异[J]. 中国农业科学, 2012, 45(15): 3083–3092.
ZHANG Xi-zhou, YANG Xian-bin, LI Ting-xuan, et al. Characteristics of phosphorus uptake and phosphorus fractions in the rhizosphere among different phosphorus efficiency wheat cultivars[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(15): 3083–3092.
- [17] 朱德峰, 张玉屏, 陈惠哲. 2011年国内外水稻产业及技术发展概述[J]. 中国稻米, 2012, 18(1): 15–18.
ZHE De-feng, ZHANG Yu-ping, CHEN Hui-zhe. Overview of rice industry and technology both at home and abroad in 2011[J]. *China Rice*, 2012, 18(1): 15–18.
- [18] 吴娜. 水稻磷转运蛋白OsPT4的生理功能鉴定[D]. 南京:南京农业大学, 2011.
WU Na. Physiological functional identification of rice phosphate transporter OsPT4[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2011.
- [19] Hu B, Zhu C, Li F, et al. LEAF TIP NECROSIS1 plays a pivotal role in the regulation of multiple phosphate starvation responses in rice [J]. *Plant Physiology*, 2011, 156(3): 1101–1115.
- [20] Aung K, Lin S I, Wu CC, et al. *Pho2*, a phosphate overaccumulator, is caused by a nonsense mutation in a microRNA399 target gene[J]. *Plant Physiology*, 2006, 141(3): 1000–1011.
- [21] Chiou T J, Aung K, Lin S I, et al. Regulation of phosphate homeostasis by microRNA in *Arabidopsis*[J]. *Plant Cell*, 2006, 18(2): 412–421.
- [22] 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京:中国农业科技出版社, 2000.
LU Ru-kun. Analysis of soil agrochemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000.
- [23] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社, 1986.
GUAN Song-yin. Soil enzyme and the methods about the study of soil enzyme[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1986.
- [24] Wang Z H, Ye Q F, Shu Q Y, et al. Impact of root exudates from transgenic plants on soil micro-ecosystems[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2002, 13(3): 373–375.
- [25] Dunfield K E, Germida J J. Impact of genetically modified crops on soil- and plant-associated microbial communities[J]. *Journal of Environmental Quality*, 2004, 33(3): 806–815.
- [26] Wang H Z, Xu J M, Xie Z M. Residues of transgenic plants in soil and impact on soil organisms[J]. *Soils*, 2005, 37(4): 370–374.
- [27] 沈法富, 韩秀兰, 范术丽. 转Bt基因抗虫棉根际微生物区系和细菌生理群多样性的变化[J]. 生态学报, 2004, 24(3): 432–437.
SHEN Fa-fu, HAN Xiu-lan, FAN Shu-li. Changes in microbial flora and bacterial physiological group diversity in rhizosphere soil of transgenic Bt cotton[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2004, 24(3): 432–437.
- [28] 张浩, 曾亚文, 杜娟, 等. 云南水稻地方品种磷高效种质的筛选及生态分布规律研究[J]. 植物遗传资源学报, 2007, 8(4): 442–446, 480.
ZHANG Hao, ZENG Ya-wen, DU Juan, et al. Screening and ecogeographic distribution for high-phosphorus efficiency germplasms of Yunnan Rice Landraces (*Oryza sativa* L.)[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2007, 8(4): 442–446, 480.
- [29] 刘亚, 李自超, 米国华, 等. 水稻耐低磷种质的筛选与鉴定[J]. 作物学报, 2005, 31, 238–242.
LIU Ya, LI Zi-Chao, MI Guo-Hua, et al. Screening and identification for tolerance to low-phosphorus stress of rice germplasm (*Oryza sativa* L.)[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2005, 31, 238–242.
- [30] 林文雄, 石秋梅, 郭玉春, 等. 水稻磷效率差异的生理生化特性[J]. 应用与环境生物学报, 2003, 9(6): 578–583.
LIN Wen-xiong, SHI Qiu-mei, GUO Yu-chun, et al. Physio-biochemical characters of haracters of P-haracters of P-efficient differences in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2003, 9(6): 578–583.
- [31] 蔡秋燕, 张锡洲, 李廷轩, 等. 不同磷源对磷高效利用野生大麦根际土壤磷组分的影响[J]. 应用生态学报, 2014, 25(11): 3207–3214.
CAI Qiu-yan, ZHANG Xi-zhou, LI Ting-xuan, et al. Effects of phosphorus sources on phosphorus fractions in rhizosphere soil of wild barley genotypes with high phosphorus utilization efficiency[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2014, 25(11): 3207–3214.
- [32] 吴凡, 林桂潮, 吴坚文, 等. 转AtPAP15基因大豆种植对根际土壤养分及酶活性的影响[J]. 土壤学报, 2014, 50(3): 600–608.
WU Fan, LIN Gui-chao, WU Jian-wen, et al. Effects of planting AtPAP15 transgenic soybeans transgenic soybeans on soil nutrients and enzyme activities in rhizosphere[J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2014, 50(3): 600–608.
- [33] Shariatmadari H, Shirvani M, Dehghan R A. Availability of organic and inorganic phosphorus fractions to wheat in toposequences of calcareous soils[J]. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 2007, 38: 2601–2617.
- [34] Zhang H W, Huang Y, Ye X S, et al. Analysis of the contribution of acid phosphatase to P efficiency in *Brassica napus* under low phosphorus conditions[J]. *Science China Life Sciences*, 2010, 53(6): 709–717.
- [35] 乌兰图雅, 李刚, 赵建宁, 等. 不同生育期转双价(Bt+CpTI)基因抗虫棉根际土壤酶活性和养分含量变化[J]. 生态学杂志, 2012, 31(7): 1733–1737.
WULAN Tu-ya, LI Gang, ZHAO Jian-ning, et al. Changes of enzyme activities and available nutrients in rhizosphere soil of transgenic Bt+CpTI cotton during its growth period[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2012, 31(7): 1733–1737.
- [36] Fang M, Motavalli P P, Kremer R J, et al. Assessing changes in soil microbial communities and carbon mineralization in Bt and non-Bt corn residue-amended soils[J]. *Applied Soil Ecology*, 2007, 37(1/2): 150–160.
- [37] 娜布其, 红雨, 杨殿林, 等. 利用根箱法解析转双价(Bt+CpTI)基因棉花对土壤微生物数量及细菌多样性的影响[J]. 棉花学报, 2011, 23(2): 160–166.
NA Bu-qi, Hong Yu, Yang Dian-lin, et al. Effects of transgenic Bt+CpTI cotton on the soil microbial amount and bacterial diversity by rhizobox method[J]. *Cotton Science*, 2011, 23(2): 160–166.