

于姣姣,殷丹阳,李莹,等.生物炭对土壤磷素循环影响机制研究进展[J].江苏农业科学,2017,45(18):17-21.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.18.004

生物炭对土壤磷素循环影响机制研究进展

于姣姣^{1,2},殷丹阳^{1,2},李莹^{1,2},周垂帆^{1,2}

(1. 福建农林大学林学院,福建福州 350002; 2. 国家林业局杉木工程技术研究中心,福建福州 350002)

摘要:土壤全磷含量较高而有效磷含量不足,是限制全球农业可持续发展的重要因素。生物炭作为一种新型的土壤改良剂,成为近年来研究的热点,是由于生物炭具备特殊的性质,施入土壤后会对土壤中磷的化学行为产生重要影响。鉴于此,结合国内外已有的研究成果和最新的进展,从不同条件下制备生物炭的磷素特征及其对土壤磷素吸附解吸、土壤酸碱度、磷素形态转化、土壤磷酸酶及微生物等的影响机制几个方面综述了国内外对生物炭影响土壤磷素有效性的研究现状,提出了目前在生物炭对土壤磷素影响的研究中存在的一些问题以及今后研究的热点,以期为增加土壤磷素的有效性、提高农作物的生产力、减少土壤中磷素流失对环境的污染,以及为生物炭在土壤环境中的管理应用提供理论资料,对解决世界农业生产中所引起的资源、环境和经济问题具有一定意义。

关键词:生物炭;吸附解吸;酸碱度;磷酸酶;微生物;磷素有效性

中图分类号: S156.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)18-0017-04

磷(P)是植物生长发育的必需元素,由于土壤对磷的强烈化学固定作用,致使土壤磷素多以铁磷酸盐(Fe-P)、铝磷酸盐(Al-P)和闭蓄态磷(O-P)等难溶态存在,即使土壤全磷含量高,而植物可吸收利用的有效磷含量低,因此,土壤有效磷不足一直是限制全球农业产量的重要因素。为提高地力、增加作物生产量,农业上常通过施用大量磷肥以满足作物对磷素的需求,而由此导致的积累态磷会通过地表径流、土体淋失进入水环境,造成水体富营养化等严重的环境问题,近年来日益引起研究者的重视。同时,由于自然界中磷是不可再生资源,充分合理地利用现有磷素资源对保持磷素循环平衡具有重要意义。因此,如何减缓地力衰退,特别是解决磷素有效性低下,维持作物长期生产力问题,减少磷素流失,成为当今世界农业科学最为关注的问题。近年来,众多的研究表明,生物炭(biochar)的出现为这些问题的解决提供了新的思路和策略。

生物炭是黑炭(black carbon)的一种类型,是由生物质在限氧条件下经 300~700℃热解,使木质素、纤维素和半纤维素中的短链含碳物质逐渐发生脱氢、脱氧作用而产生的一类高度芳香化富碳物质^[1],其原料主要来源于城市、农业和林业废弃物。生物炭比表面积大、孔隙多、稳定性强,施入土壤后可提高对养分的吸附,增加土壤碳汇,延长肥效和固持营养元素^[2-3]。由于生物炭在土壤改良、肥效增加及污染修复等方面前景良好而在农业上引起广泛关注^[4-5]。特别是近几年来,国内外众多研究证实,向土壤中施加生物炭可减少土壤中磷素的固定,促进土壤中难溶态磷的活化作用,影响土壤中

磷素的形态分级。这些都使得生物炭在土壤磷素改善方面具有得天独厚的潜力。鉴于此,本研究对生物炭自身的磷素特征、对土壤磷素有效性的影响机制等方面的研究成果进行综述,旨在为有效提高植物对土壤磷素的利用效率、提高植物生产量提供理论依据,同时也能为减少大量施用磷肥造成的环境问题提供借鉴,这对解决世界农业生产中所引起的资源、环境和经济问题具有一定意义。

1 不同条件制备的生物炭磷素特征

通常来说,制备生物炭的原材料(木屑、秸秆、禽畜粪便和其他废料)以及温度不同,对生物炭中磷素特征的影响很大。高温热解会破坏生物炭中的长链有机物,使其向形成短链有机物的方向发展,同时该过程必然会改变存在于长链有机物中的磷素形态^[6]。Uchimiya 等对不同热解温度(350、500、650、800℃)下棉花籽壳和禽粪生物炭进行研究表明,棉花籽壳、禽粪中的肌醇六磷酸盐在 350℃时开始向形成正磷酸盐、焦磷酸盐的方向转变;当热解温度 ≥ 500 ℃时,禽粪生物炭中焦磷酸盐逐渐消失,正磷酸盐成为唯一的磷素形态;而棉花籽壳生物炭中的正磷酸盐、焦磷酸盐在整个热解过程中始终存在^[7]。金熠等研究发现,当热解温度为 25~300℃时,猪粪生物炭中磷酸单酯区域的磷化合物迅速减少,肌醇六磷酸盐向焦磷酸盐方向转变;当热解温度为 300~600℃时,只存在正磷酸盐、焦磷酸盐;当温度达到 700℃时,只剩下正磷酸盐,可能以 Ca-P 的形式成为唯一的磷素形态^[1]。武玉研究发现,随着热解温度的升高,生物炭中水洗磷(H_2O-Pi)含量先增加后减少,活性无机磷($NaHCO_3-Pi$)含量在 300℃或 400℃时最高,中等活性无机磷($NaOH-Pi$)、活性有机磷($NaHCO_3-Po$)、中等活性有机磷($NaOH-Po$)含量减少、磷灰石型磷($HCl-Pi$)含量增加,正磷酸盐先增加后减少,焦磷酸盐减少,有机磷的含量急剧下降,说明随着炭化温度的升高,生物炭中易被植物吸收利用的磷素向难以被利用的磷素转化,低温裂解的生物炭有利于增加磷素的有效性^[8]。小麦

收稿日期:2017-02-22

基金项目:国家自然科学基金(编号:31400465);中国博士后科学基金(编号:2015M570550);福建省自然科学基金(编号:2015J05050)。

作者简介:于姣姣(1993—),女,湖南永州人,硕士研究生,主要从事磷素形态转化及流失控制研究。E-mail:1036983589@qq.com。

通信作者:周垂帆,博士,硕士生导师,主要从事人工林土壤改良研究。E-mail:zhouchufan@163.com。

中有机磷成分因热解而逐渐消失,正磷酸盐和焦磷酸盐含量却增加,说明在热裂解过程中生物质中有机磷主要向正磷酸盐和焦磷酸盐方向转化;随着热解温度的升高,花生、玉米生物炭中正磷酸盐含量下降,有机磷单酯、焦磷酸盐含量上升,可能是由于低温使得含磷的复杂有机物分解出有机磷,而正磷酸盐脱水使得焦磷酸盐含量增加^[8]。从上述研究结果可以看出,制备生物炭的原材料以及温度的不同,对生物炭中磷素特征的影响很大。

2 生物炭对土壤磷素吸附解吸的影响机制

生物炭影响磷素的循环和有效性可以通过改变土壤中磷素的吸附和解吸来实现,但是研究结果存在差异性。Hale 等研究发现,生物炭对磷素没有吸附能力^[9],而 Chintala 等的研究结果^[10]却相反。施于土壤的生物炭由于比表面积大、孔隙多,对土壤的理化性质影响较大,可显著影响土壤的空间结构、通透性、孔隙度、呼吸作用、保持水肥的能力、微生物及养分含量等。生物炭通过比表面积、阳离子交换量和吸附作用向植物提供养分,以满足其生长发育。研究证明,生物炭对土壤磷素的吸附能力因生物质原材料、炭化温度和时间、粒径与 pH 值等条件的不同而不同。在一定温度范围内,随着炭化温度的升高以及土壤中生物炭施加量的增加,土壤对磷素的吸附能力提高^[11]。马锋锋等研究发现,在中性偏酸性环境中,随着 pH 值升高,牛粪生物炭对土壤磷素的吸附量增加,当 pH 值为 7~10 时相反,pH 值 > 10 时对磷素的吸附量又缓慢增加^[12]。代银分等研究发现,在碱性环境中生物炭对磷素的吸附率与 pH 值具有相同的变化趋势^[13]。郎印海等研究发现,施加柚皮生物炭能有效抑制土壤对磷的吸附,可能是因为施加柚皮生物炭能促进土壤中磷的活化,降低有效磷的淋失,此外生物炭还能通过影响土壤中阳离子活性或者改变微生物的活性间接影响磷素的有效性和吸附^[11]。

向土壤中施加生物炭后,吸附在水铁矿上的磷解吸能力增强,从而使得氧化铁上磷的吸附减少^[14]。由于生物炭对磷素进行的是物理吸附,被吸附的磷容易被淋溶损失,所以其吸附的磷在连续 4 次浸提解吸后,解吸磷浓度趋于 0^[13]。葛顺峰等研究发现,施加玉米秸秆生物炭能明显降低土壤磷素的淋溶损失^[15]。李江舟等认为,添加生物炭有效抑制了植烟土壤磷素的淋溶损失,可能是由于向植烟土壤添加生物炭后其 pH 值升高,促进了土壤磷素的固定,说明生物炭对土壤中磷酸盐及可溶性有机磷具有强烈的吸附、固定作用^[16]。施入改性生物炭后,潮褐土有效磷的淋失量显著降低^[17];与此相反,Doydora 等研究发现,酸化的松木屑和花生壳生物炭对土壤中磷素的淋溶损失无影响^[18]。土壤中施用生物炭后,红壤、水稻土对磷素的吸附无明显影响,可能是由于固持在土壤中的磷素被释放,而施加的生物炭所含的磷素被土壤吸附;潮褐土、潮土在不同比例的生物炭处理条件下对磷素的吸附作用具有不同的影响,可能是因为生物炭的存在能促进弱碱性土壤对磷素的吸附,同时生物炭的灰分能降低弱碱性土壤对磷素的吸附能力^[19]。综上所述,不同类型的生物炭对不同类型土壤中磷素的吸附解吸影响具有较大差异。

3 生物炭对土壤酸碱度的影响机制

一般而言,土壤磷的有效性受 pH 值影响,土壤 pH 值低

是有效磷含量不足的重要原因之一,酸性土壤 pH 值升高或者碱性土壤 pH 值降低都会提高土壤磷素的有效性^[16]。土壤和生物炭本身的理化性质影响了施加生物炭的土壤的 pH 值,使其 pH 值升高或降低均有可能^[20],进而影响土壤中磷素的有效性。大量研究表明,生物炭可以提高酸性土壤的 pH 值,相反,关于生物炭降低碱性土壤的 pH 值则很少有研究证明^[21]。武玉研究发现,施加生物炭对酸性土壤、碱性土壤 pH 值变化的影响均不明显^[8]。朱盼等认为,可能是因为生物炭呈碱性,施入酸性红壤后有利于提高其 pH 值而降低酸度^[22]。Masulili 等推测,由于生物炭灰分中所含的元素如钾(K)、钙(Ca)、镁(Mg)等多呈可溶态,使得酸性土壤的盐基饱和度提高,从而使得土壤中 H⁺ 和交换性 Al³⁺ 的水平降低,土壤 pH 值升高^[23]。高温裂解产生的生物炭的灰分高,能有效抑制生物炭中的酸性物质挥发,使得其 pH 值更高,施入土壤能提高土壤的 pH 值^[24]。才吉卓玛研究发现,在生物炭处理条件下,红壤的 pH 值增加 0.11~0.74,水稻土的 pH 值增加 0.43~1.20,但是潮褐土、潮土的 pH 值变化相对较小^[19]。雷海迪等研究发现,添加生物炭使得土壤 pH 值提高了 9.4%~12.7%^[25],刘玉学等同样发现,向土壤中添加生物炭能使土壤 pH 值显著提高,这些研究均表明生物炭可以提高酸性土壤的 pH 值^[26~27]。由于热裂解温度越高,产生的生物炭 pH 值越大,施入酸性土壤对其改良效果越好^[28~29],而酸性土壤中 pH 值增加,使得吸附在铁铝氧化物上的磷素溶解,从而减少了磷素在土壤中的固定^[19],所以在改良酸性土壤、提高土壤磷素有效性中,高温生产的生物炭比低温生产的生物炭效果更佳。由上述研究结果可以看出,生物炭能有效解决土壤酸化、盐基离子损失等问题,进而在一定程度上提高土壤磷素的有效性。

4 生物炭对土壤磷素转化的影响机制

土壤中的磷素主要有无机磷和有机磷 2 种,水溶态的无机磷可以直接被植物吸收利用,而有机磷则需要矿化后才能被吸收利用。土壤有机态磷主要包括植素类、核酸类、磷酸酯类和其他有机磷化合物,如磷酸肌醇、磷脂、核酸、少量的磷蛋白和磷酸糖及微生物态磷等;土壤无机磷主要包括原生含磷矿物、次生无机磷酸盐和磷酸根离子,有矿物态(磷酸钙盐:Ca-P,磷酸铁盐:Fe-P,磷酸铝盐:Al-P 和闭蓄态磷:O-P)、水溶态和吸附态(以 H₂PO₄⁻ 和 HPO₄²⁻ 为主,PO₄³⁻ 很少)3 种形态^[30]。而 Hedley 等直接将土壤中的磷素分为植物可以利用的磷(H₂O 或 NaHCO₃ 提取态)、钙结合态无机磷(HCl 提取态)、铁铝氧化物结合态无机磷(NaOH 提取态)以及不稳定和稳定的有机磷^[31]。

研究发现,土壤中磷素主要通过沉淀和溶解、吸附和解吸、矿化和固定来转化^[21]。土壤磷素的有效性及其形态转化受生物炭的类型、添加量以及土壤类型等的影响,总体来说,向土壤中施加生物炭会不同程度地提高土壤磷素的有效性。由于向土壤中施加生物炭影响土壤中磷素的有效性及其形态转化,而生物炭对土壤磷素转化影响的原因主要有以下几点:(1)生物炭灰分中的 Mg、Ca、P、硫(S)、K 在土壤中以盐基离子的形态存在,能影响土壤中有效态磷素的转化;(2)生物炭能提高酸性土壤的 pH 值,而 pH 值对土壤溶液中离子强度、

种类有影响,因此决定了土壤固相中的磷素形态;(3)生物炭能够结合有效磷含量低的土壤中的 Al^{3+} 、 Fe^{3+} ,使土壤中闭蓄态磷向有效态磷方向转化^[19,32]。才吉卓玛等研究发现,施用生物炭能促进土壤中有效态磷的转化,使得土壤中闭蓄态磷(Olsen-P)含量显著增加,可能是生物炭制备过程中灰分中含有磷素造成的^[19,33]。倪杰强发现,棉花秸秆、玉米穗轴和鸡粪生物炭均可提高土壤全磷、有效磷和水溶性磷含量,其中对水溶性磷含量提高最明显^[21]。金熠向水稻土中施加猪粪生物炭,发现增施 1.5% 猪粪生物炭的 2 种水稻土中,正磷酸盐、焦磷酸盐的含量均增加,而磷酸单酯的含量却降低^[1]。

大量的研究发现,向土壤中施加生物炭对土壤不同磷素形态含量的影响与生物炭和土壤种类有很大关系。Deluca 等发现,生物炭加剧了土壤难溶性钙磷酸盐(Ca-P)的形成,使得酸性土壤磷素有效性提高,但对中性或碱性土壤磷素的有效性基本无影响^[32]。在碱性土壤中施加绿肥生物炭使得其有效磷含量显著增加^[34]。Hass 等发现,鸡粪生物炭施入土壤能够增加酸性土壤中溶解性 PO_4^{3-} 含量^[35]。武玉向酸性土壤中施加生物炭表明,培养初期能增加除 NaHCO_3 -Pi 外各形态磷的含量,培养后期生物炭加强了对 H_2O -Pi、 NaOH -Pi 的正激发效应,减弱了 NaHCO_3 -Pi 的负激发效应,对 NaHCO_3 -Po 的激发效应由正转为负,说明施加生物炭促进酸性土壤中 H_2O -Pi、 NaOH -Pi、 NaHCO_3 -Pi 的生成,促使 NaHCO_3 -Po 转化为无机磷;向碱性土壤中施加生物炭,培养初期对除 NaHCO_3 -Pi、 HCl -Pi 之外的各形态磷大致有个负激发作用,培养后期生物炭对 H_2O -Pi、 NaOH -Po 的负激发效应转化为正激发效应,对 NaHCO_3 -Po 的负激发效应减弱,对 NaOH -Pi 的负激发作用增强,对 HCl -Pi 的正激发效应减弱,说明施加生物炭有利于土壤中 H_2O -Pi、 NaOH -Po、 NaHCO_3 -Po 的生成,促进碱性土壤中的 NaOH -Pi、 HCl -Pi 向其他形态磷转化^[8]。Mukherjee 等推测,生物炭可能通过其中的阳离子桥键作用来影响土壤磷素的有效性^[36]。此外,生物炭还可通过吸附一些螯合剂(酚酸、氨基酸、蛋白质、碳水化合物等)间接影响土壤磷素的有效性。除此之外,生物炭既可以作为外源添加物提高土壤有效态磷素含量,也能够促进酸性土壤中外源磷的有效性^[19]。

5 生物炭对土壤磷酸酶及微生物的影响机制

土壤中许多微生物包括细菌、真菌和放线菌等,这些具有解磷能力的微生物能够通过产生质子和有机酸溶解土壤不溶态无机磷,或通过分泌磷酸酶水解有机磷,将土壤中的难溶态磷转化为有效态磷,向土壤中施加生物炭可以通过影响微生物多样性和活性从而改变质子和有机酸的分泌,扰动土壤磷酸酶活性等,从而影响土壤磷素的转化。土壤磷酸酶是一种适应性酶,是土壤质量的生物学指标,主要作用是催化土壤中有机磷的矿化,其活性因土壤理化性质的不同而不同,而生物炭在很大程度上能改善土壤理化性质。目前普遍认为,植物根际区微生物及土壤原生动物主要分泌酸性磷酸单酯酶;而土壤细菌、真菌及其他区系微生物只分泌碱性磷酸单酯酶^[37]。才吉卓玛研究发现,生物炭能抑制红壤、水稻土、潮褐土和潮土的土壤磷酸酶活性,特别是对南方酸性土壤中磷酸酶活性的抑制作用较明显,可能与其施用过程中带入土壤中

的灰分有关,当与外源磷配施时抑制作用降低^[19]。金熠等研究表明,增施猪粪生物炭对水稻土壤的酸性磷酸单酯酶活性有抑制作用,同时也能改变碱性磷酸单酯酶活性^[1]。Zhang 等发现,增施生物炭可提高土壤酸性磷酸酶活性^[38]。由于 pH 值对土壤磷酸酶活性有很大影响^[39],而将生物炭施入土壤后导致土壤 pH 值升高,从而改变土壤磷酸酶活性^[40]。

生物炭能有效促进土壤微生物对土壤磷素的溶解、矿化以及固持作用,从而提高土壤有效态磷的含量^[41]。向土壤中施加生物炭对微生物生存环境有影响,生物炭中的孔隙为土壤微生物提供充足的栖息场所,进而使得微生物数量及活性增加^[42]。生物炭的吸附特性能将细菌吸附到其表面,使细菌避免受到土壤淋洗的影响^[43]。除此之外,生物炭还能为微生物提供其所需要的养分^[44]。因此,向土壤中施加生物炭能增加土壤微生物活性,使土壤中细菌、真菌、放线菌等微生物的磷脂脂肪酸(PLFA)含量增加^[45],改变微生物种群结构。金熠研究发现,向水稻田土壤中增施 1.5% 猪粪生物炭显著改变了土壤微生物的群落结构,增加了土壤微生物群落的复杂程度,水稻田中细菌、真菌的磷脂脂肪酸含量以及革兰氏阴性菌、好氧细菌的含量均增加,可能与增施生物炭会增加土壤孔隙度从而提高土壤富氧能力有关^[1]。有研究表明,生物炭对不同微生物群的影响不同,玉米秆生物炭使得土壤中的微生物群落减少^[46]。雷海迪等研究发现,添加杉木凋落物生物炭使得土壤中革兰氏阳性细菌和放线菌数量增加,而革兰氏阴性细菌数量减少^[25]。

综上所述,生物炭通过影响土壤磷酸酶活性以及微生物的群落结构进而影响土壤中磷素的有效性,对磷素循环具有重要作用,因此,生物炭在调控生态系统中养分循环方面具有良好的应用前景。

6 展望

近年来,生物炭成为农业与环境科学领域的研究热点。向土壤中施加的生物炭能通过对自身有机磷的矿化作用来提高土壤磷素的有效性,促进土壤中的难溶态磷转化成植物可利用的可溶态磷,提高植物对土壤磷素的吸收利用效率。目前国内外学者主要围绕生物炭本身的特性、改善土壤理化性质、促进土壤磷素的有效性、提高作物产量、减少环境污染、减轻温室效应等方面开展了研究工作,并取得了一些进展,丰富了在该领域的研究。但是,今后在很多方面还需要进行更加广泛和深入研究,例如,关于生物炭对土壤磷素有效性和流失风险的影响和作用机制缺乏全面系统的理论体系,生物炭对外源磷在不同类型土壤中磷素有效性和流失风险的影响研究不够深入。同时,虽然大多数研究证明生物炭在土壤改良、增加土壤磷素有效性、提高植物对土壤磷素的利用率方面有积极作用,但是由于生物炭在土壤中的残留时间较长,关于生物炭对生态环境的长期影响研究不足,理论体系不够完善,今后应更多地研究施加生物炭对土壤中磷素循环的长期影响,同时需要对以上多个方面进行深入研究和详尽的探讨。

由于生物炭自身的特性、土壤理化性质以及各种环境因素和人为因素的不同,向土壤中施加生物炭,使得生物炭对土壤中磷素产生影响过程十分复杂。目前主要是在酸性土壤上进行生物炭对土壤磷素有效性方面的研究,而对碱性土壤的

研究报道很少,研究结果也不一致,缺少大规模试验和统计数据来支撑,亟待加强生物炭对不同类型土壤中磷素有效性及形态转化作用机制方面的理论和技术研究。

参考文献:

- [1]金 熠. 增施猪粪及猪粪生物炭对稻田土壤磷素迁移转化的影响[D]. 杭州:浙江大学,2016.
- [2]Sohi S P, Krull E, Lopez - Capel E, et al. Chapter 2 - A review of biochar and its use and function in soil[J]. *Advances in Agronomy*, 2010, 105: 47 - 82.
- [3]Lehmann J. A handful of carbon[J]. *Nature*, 2007, 447 (7141) : 143 - 144.
- [4]黄 剑,张庆忠,杜章留,等. 施用生物炭对农田生态系统影响的研究进展[J]. *中国农业气象*, 2012, 33(2) : 232 - 239.
- [5]Zhang Q Z, Wang Y D, Wu Y F, et al. Effects of biochar amendment on soil thermal conductivity, reflectance, and temperature[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2013, 77(5) : 1478 - 1487.
- [6]Cimò G, Kucerik J, Berns A E, et al. Effect of heating time and temperature on the chemical characteristics of biochar from poultry manure[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62 (8) : 1912 - 1918.
- [7]Uchimiya M, Hiradate S. Pyrolysis temperature - dependent changes in dissolved phosphorus speciation of plant and manure biochars[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2014, 62 (8) : 1802 - 1809.
- [8]武 玉. 生物炭对土壤中磷的形态转化以及有效性的影响[D]. 北京:中国科学院大学,2015.
- [9]Hale S E, Alling V, Martinsen V, et al. The sorption and desorption of phosphate - P, ammonium - N and nitrate - N in cacao shell and corn cob biochars[J]. *Chemosphere*, 2013, 91(11) : 1612 - 1619.
- [10]Chintala R, Schumacher T E, McDonald L M, et al. Phosphorus sorption and availability from biochars and soil/biochar mixtures[J]. *Clean - Soil Air Water*, 2014, 42(5) : 626 - 634.
- [11]郎印海,王 慧,刘 伟. 柚皮生物炭对土壤中磷吸附能力的影响[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2015, 45(4) : 78 - 84.
- [12]马锋锋,赵保卫,钟金魁,等. 牛粪生物炭对磷的吸附特性及其影响因素研究[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(4) : 1156 - 1163.
- [13]代银分,李永梅,范茂攀,等. 不同原料生物炭对磷的吸附——解吸能力及其对土壤磷吸附解析的影响[J]. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 2016, 36(5) : 345 - 351.
- [14]Cui H J, Wang M K, Fu M L, et al. Enhancing phosphorus availability in phosphorus - fertilized zones by reducing phosphate adsorbed on ferrihydrite using rice straw - derived biochar[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2011, 11(7) : 1135 - 1141.
- [15]葛顺峰,周 乐,门永阁,等. 添加不同碳源对苹果园土壤氮磷淋溶损失的影响[J]. *水土保持学报*, 2013, 27(2) : 31 - 35.
- [16]李江舟,姜翼来,张立猛,等. 不同生物炭添加量下植烟土壤养分的淋失[J]. *植物营养与肥料学报*, 2015, 21(4) : 1075 - 1080.
- [17]李际会,吕国华,白文波,等. 改性生物炭的吸附作用及其对土壤硝态氮和有效磷淋失的影响[J]. *中国农业气象*, 2012, 33(2) : 220 - 225.
- [18]Doydora S A, Cabrera M L, Das K C, et al. Release of nitrogen and phosphorus from poultry litter amended with acidified biochar[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2011, 8(5) : 1491 - 1502.
- [19]才吉卓玛. 生物炭对不同类型土壤中磷有效性的影响研究[D]. 北京:中国农业科学院,2013.
- [20]饶 霜,卢 阳,黄 飞,等. 生物炭对土壤微生物的影响研究进展[J]. *生态与农村环境学报*, 2016, 32(1) : 53 - 59.
- [21]倪杰强. 不同生物炭对滴灌棉田土壤磷素及磷肥利用率影响[D]. 石河子:石河子大学,2015.
- [22]朱 盼,应介官,彭抒昂,等. 模拟降水条件下生物炭对酸性红壤理化性质的影响[J]. *中国农业科学*, 2015, 48(5) : 1035 - 1040.
- [23]Masulili A, Utomo W H, Ms S. Rice husk biochar for rice based cropping system in acid soil 1. The characteristics of rice husk biochar and its influence on the properties of acid sulfate soils and rice growth in West Kalimantan, Indonesia [J]. *Journal of Agricultural Science*, 2010, 2(1) : 39.
- [24]Yip K, Tian F J, Hayashi J I, et al. Effect of alkali and alkaline earth metallic species on biochar reactivity and syngas compositions during steam gasification[J]. *Energy & Fuels*, 2010, 24(1) : 173 - 181.
- [25]雷海迪,尹云峰,刘 岩,等. 杉木凋落物及其生物炭对土壤微生物群落结构的影响[J]. *土壤学报*, 2016, 53(3) : 790 - 799.
- [26]刘玉学,王耀锋,吕豪豪,等. 生物质炭化还田对稻田温室气体排放及土壤理化性质的影响[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(8) : 2166 - 2172.
- [27]Prayogo C, Jones J E, Baeyens J, et al. Impact of biochar on mineralisation of C and N from soil and willow litter and its relationship with microbial community biomass and structure[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2014, 50(4) : 695 - 702.
- [28]Yuan J H, Xu R K, Zhang H. The forms of alkalis in the biochar produced from crop residues at different temperatures [J]. *Bioresource Technology*, 2011, 102(3) : 3488 - 3497.
- [29]Novak J M, Frederick J R, Bauer P J, et al. Rebuilding organic carbon contents in coastal plain soils using conservation tillage systems[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 2009, 73(2) : 622 - 629.
- [30]孙桂芳,金继运,石元亮. 土壤磷素形态及其生物有效性研究进展[J]. *中国土壤与肥料*, 2011(2) : 1 - 9.
- [31]Hedley M J, Stewart J, Chauhan B. Changes in inorganic and organic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations[J]. *Soil Science Society of America Journal*, 1982, 46(5) : 970 - 976.
- [32]Deluca T H, Gundale M J, MacKenzie M D, et al. Biochar effects on soil nutrient transformations [J]. *Biochar for environmental management: Science, technology and implementation*, 2015, 2: 421 - 454.
- [33]Uzoma K C, Inoue M, Andry H, et al. Effect of cow manure biochar on maize productivity under sandy soil condition[J]. *Soil Use and Management*, 2011, 27(2) : 205 - 212.
- [34]Galvez A, Sinicco T, Cayuela M L, et al. Short term effects of bioenergy by - products on soil C and N dynamics, nutrient availability and biochemical properties[J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 2012, 160(SI) : 3 - 14.
- [35]Hass A, Gonzalez J M, Lima I M, et al. Chicken manure biochar as

徐继法,徐 艳,赵吉强,等. CRISPR/Cas9 系统及其在单子叶植物中的应用[J]. 江苏农业科学,2017,45(18):21-24.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.18.005

CRISPR/Cas9 系统及其在单子叶植物中的应用

徐继法,徐 艳,赵吉强,陈 磊,郭善利,宋建成
(烟台大学生命科学学院,山东烟台 264005)

摘要:CRISPR/Cas9 系统作为第 3 代人工核酸内切酶,已经成为继锌指核酸内切酶(zinc finger endonuclease,简称 ZFNs)和类转录激活因子效应物核酸酶(transcription activator-like effector nuclease,简称 TALENs)之后的新型高效定点的基因组编辑新技术。作为新型的基因编辑技术,CRISPR/Cas9 系统拥有突变效率高、构建简单、花费成本低等特点,自其出现之后,受到广泛关注且得到迅速发展,给植物基因组研究和遗传育种带来革命性的变革。目前,该技术已经在多种单子叶植物中实现了基因组定点精确编辑,包括水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)、玉米(*Zea mays*)等单子叶植物。

关键词:CRISPR/Cas9 系统;基因编辑技术;单子叶植物;植物基因组;遗传育种

中图分类号:Q789 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)18-0021-04

基因组编辑技术是指将目的基因整合到宿主基因的特定靶位点上,从而达到特异性的改造生物基因组 DNA,是基因功能研究的重要方法。基因组编辑技术通过构建人工核酸内切酶将基因组靶位点双链 DNA 片段特异性切割开断裂(double strand broken,简称 DSB),继而使细胞内非同源末端连接(non-homologous end joining,简称 NHEJ)和同源重组(homologous recombination,简称 HR)这 2 种修复机制激活,断

裂 DNA 片段得到修复,使该位点出现插入和缺失以及同源片段重组,此过程不仅可以使基因发生突变也可实现同源重组,可以说真正实现了对基因的编辑。目前,能对基因实现定点精确编辑的技术主要有锌指核酸酶(zinc-finger nucleases,简称 ZFNs)^[1-2]、转录激活因子样效应物核酸酶(transcription activator like effector nucleases,简称 TALENs)^[3-4]、成簇的规律的间隔的短的回文重复序列和相关蛋白(clustered regularly interspaced short palindromic repeats/CRISPR-associated protein,简称 CRISPR/Cas9)^[5-6]。

CRISPR/Cas9 系统与应用方面与 ZFNs、TALENs 相比具有巨大的优势,载体构建操作简单,对每 1 个基因靶位点修饰只需合成 1 个靶标 sgRNA,就能顺利实现对基因组精确定点编辑,而 ZFNs、TALENs 的编辑操作则相对繁琐复杂^[7-8];此外,CRISPR/Cas9 系统还拥有试验周期短、成本花费低、易于

收稿日期:2016-04-24

基金项目:国家自然科学基金(编号:3137616);山东省自然科学基金(编号:ZR2011CM044、ZR2011CM006)。

作者简介:徐继法(1987—),男,山东枣庄人,硕士,研究方向为植物分子发育生物学。E-mail:dongfengxjf@163.com。

通信作者:宋建成,博士,硕士生导师,研究方向为植物分子发育生物学。E-mail:jesong88@yahoo.com。

liming and nutrient source for acid Appalachian soil[J]. Journal of Environmental Quality,2012,41(4):1096-1106.

[36] Mukherjee A, Zimmerman A R, Harris W. Surface chemistry variations among a series of laboratory-produced biochars[J]. Geoderma,2011,163(3/4):247-255.

[37] Zhang A M, Chen Z H, Zhang G N, et al. Soil phosphorus composition determined by P-31 NMR spectroscopy and relative phosphatase activities influenced by land use[J]. European Journal of Soil Biology,2012,52:73-77.

[38] Zhang Y, Chen L, Zhang Y, et al. Examining the effects of biochar application on soil phosphorus levels and phosphatase activities with visible and fluorescence spectroscopy[J]. Spectrosc Spect Anal, 2016,36(7):2325-2329.

[39] Colvan S, Syers J, O'Donnell A. Effect of long-term fertiliser use on acid and alkaline phosphomonoesterase and phosphodiesterase activities in managed grassland[J]. Biology and Fertility of Soils, 2001,34(4):258-263.

[40] 赵 军,耿增超,张 雯,等. 生物炭及炭基硝酸铵肥料对土壤酶活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),

2015,43(9):123-130.

[41] 王 宁,焦晓燕,武爱莲,等. 生物炭对土壤磷、钾养分影响研究进展[J]. 山西农业科学,2016,44(9):1402-1405,1420.

[42] Quilliam R S, Glanville H C, Wade S C, et al. Life in the 'charosphere'-does biochar in agricultural soil provide a significant habitat for microorganisms? [J]. Soil Biology & Biochemistry, 2013,65(6):287-293.

[43] Pietikäinen J, Kiikkilä O, Fritze H. Charcoal as a habitat for microbes and its effect on the microbial community of the underlying humus[J]. Oikos,2000,89(2):231-242.

[44] Farrell M, Kuhn T K, Macdonald L M, et al. Microbial utilisation of biochar-derived carbon[J]. The Science of the Total Environment, 2013,465(6):288-297.

[45] Muhammad N, Dai Z M, Xiao K C, et al. Changes in microbial community structure due to biochars generated from different feedstocks and their relationships with soil chemical properties[J]. Geoderma,2014,226-227(1):270-278.

[46] 郝 艳. 生物炭对农田土壤微生物生态的影响分析[J]. 南方农业,2016,10(17):91,94.