

抗草甘膦转基因大豆对土壤酶活性及微生物数量的影响

李相全<sup>1</sup>,张忠亮<sup>1</sup>,陶波<sup>1</sup>,邱丽娟<sup>2</sup>

(1. 东北农业大学 农学院,黑龙江 哈尔滨 150030; 2. 中国农业科学院 作物科学研究所,北京 100081)

**摘要:**利用生物学试验方法,对种植抗草甘膦转基因大豆呼交 06-698 及其非转基因亲本蒙豆 12 后的土壤酶活性及土壤微生物数量进行了测定,考察抗草甘膦转基因大豆对土壤生态环境的影响。结果表明:抗草甘膦转基因大豆呼交 06-698 与其亲本非转基因大豆蒙豆 12 在土壤酶活性和微生物数量两方面的变化趋势相似,不同时期土壤酶活性与微生物数量存在差异,同一时期抗草甘膦转基因大豆土壤脱氢酶、脲酶、蔗糖酶活性无显著性差异,土壤细菌数量差异不显著,仅在播种前和苗期抗草甘膦转基因大豆土壤真菌和放线菌数量显著高于非转基因大豆,其它时期土壤真菌和放线菌数量差异不显著。

**关键词:**转基因大豆;脲酶;脱氢酶;蔗糖酶;微生物

**中图分类号:**X53      **文献标识码:**A      **DOI:**10. 11861/j. issn. 1000-9841. 2015. 04. 0648

Effects of Genetic Modified Glyphosate Resistant Soybean on Soil Enzyme Activity and Microorganisms

LI Xiang-quan<sup>1</sup>, ZHANG Zhong-liang<sup>1</sup>, TAO Bo<sup>1</sup>, QIU Li-juan<sup>2</sup>

(1. College of Agriculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China; 2. Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

**Abstract:** The biological experiments was conducted to study soil ecological environment of Round Read soybean. The results showed that: the changes of enzyme activities and microbe quantity were roughly with the same trend in the soil of RRS Hu-jiao06-698 and its parent traditional soybean Mengdou 12. Soil enzyme activities and microbe quantity had certain difference in different growth stages. Compared with non-transgenic soybean treatment, activities of soil enzymes had no significant difference in the same growth stage. And the amount of soil bacteria had also no significant difference in the same growth period. In pre-sowing and seedling stage, the soil fungi and actinomycete of RR soybean were significantly higher than those of cultural soybean.

**Keywords:** Genetically modified soybean; Urease; Dehydrogenase; Sucrase; Microorganism

转基因作物自 1996 年商业化以来,至今已成功发展了 18 年。根据国际农业生物技术应用服务组织 (ISAAA) 2014 年发布报告称,全球 27 个国家超过 1 800 万农民种植转基因作物,种植面积从 1996 年的 170 万 hm<sup>2</sup> 增长到 2013 年的 1.75 亿 hm<sup>2</sup>,其中转基因大豆种植面积达 7 330 万 hm<sup>2</sup>,占全球大豆种植总面积的 77%。种植面积最大的是美国孟山都公司的抗农达大豆“GTS40-3-2”。

由于转基因作物在全球范围内大面积种植,转基因作物的生态安全也逐渐成为关注的热点。人们开始在转基因作物对靶标生物及非目标生物的影响、物种间基因漂流、土壤生态环境及生物学特性变化等方面<sup>[1-3]</sup> 对转基因作物进行生态风险评估,旨在解决转基因作物的安全隐患。现今,国内对转基因作物的相关报道,主要集中在转基因棉花和水稻对土壤生物学特性的影响。范巧兰等<sup>[4]</sup> 对转 *Bt* 棉花的土壤酶活性进行研究,结果表明,不同

时期、不同棉花品种、不同种类的土壤酶均会影响酶的活性。董莲华等<sup>[5]</sup> 指出以转 *Bt* + *CpTI* 基因抗虫棉及非转基因亲本棉花石远 321 土壤中总细菌数量随棉花生长的不同时期没有显著差异,但氨氧化细菌数量发生了显著变化。与此同时,宋亚娜等<sup>[6]</sup> 得出在水稻各生育期内,除齐穗期转基因稻科丰 8 号田的土壤酸性磷酸酶活性显著高于其受体非转基因稻明恢 86 外,转基因稻科丰 8 号、Ⅱ优科丰 8 号的土壤酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和脲酶活性与对应非转基因稻明恢 86、Ⅱ优明恢 86 间均无显著差异。陈晓雯等<sup>[7]</sup> 则指出转基因水稻仅在生长发育旺盛期对土壤细菌数量有显著影响,且不同品种转基因水稻土壤微生物间的遗传距离大于转基因水稻与对照间土壤微生物的距离。而转基因大豆作为全球主要种植的转基因作物,研究却相对较少。张艳秋等<sup>[8]</sup> 得出成熟期大豆土壤脲酶活性、铵态氮含量变化随大豆品种的不同而异。陶波等<sup>[9]</sup> 也指

收稿日期:2014-02-18  
基金项目:转基因生物新品种培育重大专项(2013ZX08004-001)。  
第一作者简介:李相全(1989-),男,硕士,主要从事除草剂应用技术研究。E-mail:18646649654@163.com。  
通讯作者:陶波(1963-),男,教授,博导,主要从事除草剂生物化学及应用技术。E-mail:botaol@163.com。

出在转基因大豆在出苗后 0 ~ 90 d 大多数时间内,转基因大豆土壤脲酶活性显著高于非转基因大豆。同时,陶波等<sup>[10]</sup>利用相同的材料对抗草甘膦转基因大豆根际与非根际土壤微生物数量也进行了研究,指出在 0 ~ 90 d 内抗草甘膦转基因大豆对土壤微生物数量影响差异显著。周杰等<sup>[11]</sup>则从分子角度研究抗盐碱地转基因大豆,指出其对土壤中固氮微生物的多样性影响不显著。大豆在不同生育时期,土壤酶活性和微生物数量变化很大,而目前对田间大豆发育过程中土壤生物学特性变化的相关报道还未见到。本文以国内自主育成的抗草甘膦转基因大豆及其受体亲本为试材,对大豆各生育时期的土壤酶活性及微生物数量变化情况进行探究,以期为我国转基因大豆产业化提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试大豆品种为抗草甘膦转基因大豆呼交06-698和非转基因大豆蒙豆 12,由中国农业科学院作物科学研究所提供。在吉林省公主岭市转基因大豆实验田进行,土壤有机质 0.84%,全氮 0.88 g·kg<sup>-1</sup>,速效钾 109.72 mg·kg<sup>-1</sup>,速效磷 34.79 mg·kg<sup>-1</sup>, pH7.21。

### 1.2 试验设计

采用随机区组设计,转基因大豆和非转基因大豆两个处理,3 次重复,10 行区,行长 20 m,株距 10 cm。分别于播种前、苗期、分枝期、盛花期、成熟期取大豆窄行土样,一部分保存在 4℃ 冰箱,一部分土壤晾干、磨碎、过筛、保存,用于土壤酶及土壤微生物数量的分析。

### 1.3 测定项目与方法

1.3.1 土壤酶活性 利用 3,5-二硝基水杨酸法对土壤蔗糖酶进行测定<sup>[12]</sup>;利用靛酚比色法对脲酶进行测定<sup>[12]</sup>;利用 TTC 分光光度法对土壤脱氢酶进行测定<sup>[12]</sup>。土壤酶活性测定全部采用过 1 mm 筛的风干土壤,每种活性测定时均做标准曲线和无土对照、无基质对照试验。

1.3.2 土壤微生物数量 用无菌水制备土壤菌悬液,采用逐级稀释的方法,以 10 倍为一个梯度进行稀释。真菌稀释倍数为 10<sup>-4</sup>,放线菌稀释倍数为 10<sup>-5</sup>,细菌稀释倍数为 10<sup>-6</sup>。真菌采用孟加拉红培养基;放线菌采用改良高氏 1 号培养基;细菌采用牛肉膏蛋白胨琼脂培养基。利用涂布平板法对 3 种微生物数量进行测定。

### 1.4 数据分析

数据经 Excel 2007 整理后,应用 SAS 9.1 软件进行方差分析,采用 Duacan's 测验方法进行 5% 水

平差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗草甘膦转基因大豆对土壤酶活性的影响

2.1.1 土壤脱氢酶 由图 1a 可知,转基因大豆及其受体亲本非转基因大豆土壤脱氢酶活性变化趋势相似,呈现降升降的波动趋势,在分枝期土壤脱氢酶的活性达到最低值。不同时期土壤脱氢酶活性波动较大,存在一定的差异;同一时期转基因大豆与其受体土壤脱氢酶活性无显著性差异。这说明转基因大豆与其受体亲本非转基因大豆的表现是一致的,对土壤脱氢酶活性的影响无显著差异。

2.1.2 土壤脲酶 由图 1b 可知,转基因大豆及其受体亲本非转基因大豆土壤脲酶活性变化趋势相似,呈现升降升的波动趋势,在分枝期土壤脲酶活性最低。不同时期土壤脲酶活性波动较大,存在一定的差异;同一时期转基因大豆土壤脲酶活性略低于非转基因大豆,但未达显著性差异,这说明转基因大豆对土壤脲酶活性的影响与其受体亲本一致。

2.1.3 土壤蔗糖酶 由图 1c 可知,转基因大豆及其受体亲本非转基因大豆土壤蔗糖酶活性的变化趋势相似,即先降低再升高,播种前土壤蔗糖酶活性最高,盛花期土壤蔗糖酶活性最低。不同时期土壤蔗糖酶活性波动较大,存在一定的差异;同一时期转基因大豆与非转基因大豆土壤蔗糖酶活性互有高低,但差异不显著,这说明转基因大豆对土壤蔗糖酶活性的影响与其受体无明显差异。

### 2.2 抗草甘膦转基因大豆对土壤微生物数量的影响

2.2.1 土壤真菌 由图 2a 可知,转基因大豆及其受体亲本非转基因大豆土壤真菌数量的变化趋势相似,呈现先上升后下降的趋势,播种前土壤真菌数量最低,盛花期土壤真菌数量达到最大值。不同时期土壤真菌数量变化波动较大,存在一定的差异;同一时期转基因大豆土壤真菌数量均不同程度的低于非转基因大豆,但仅在播种前和苗期存在显著性差异,这说明转基因大豆在大豆生长初期对土壤真菌数量有一定影响,但从整个生长期来看,两种大豆对土壤真菌数量的影响无明显差异。

2.2.2 土壤细菌 由图 2b 可知,转基因大豆及其受体亲本非转基因大豆土壤细菌数量的变化趋势相似,呈现升高降低趋势交替进行(升高-降低-升高-降低),在苗期和盛花期细菌数量较高,在分枝期细菌数量较低。不同时期土壤细菌数量变化波动较大,存在一定的差异;同一时期转基因大豆及其受体亲本非转基因大豆土壤细菌数量互有高

低,但达不到显著性差异,这说明两种大豆对土壤细菌数量的影响差异不明显。

2.2.3 土壤放线菌 由图2c可知,转基因大豆及其受体亲本非转基因大豆土壤放线菌数量的变化趋势相似,呈降低趋势,在成熟期达到最低值。不同时期土壤放线菌数量变化波动较大,存在一定的

差异;同一时期转基因大豆土壤放线菌数量均不同程度的低于非转基因大豆,但仅在播种前和苗期存在显著性差异,这说明转基因大豆在大豆生长初期对土壤放线菌的繁殖有一定的抑制作用,但从整个生长期来看,两种大豆对土壤放线菌数量的影响并无明显差异。

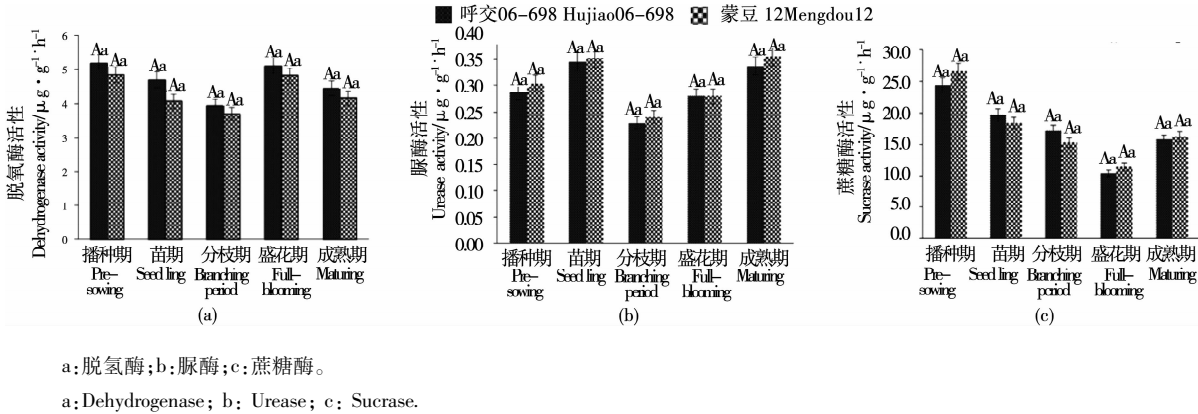


图1 不同时期抗草甘膦转基因大豆及其受体亲本土壤酶活性的变化

Fig. 1 Changes of RR soybean and its receptor parent soybean at different growth periods on soil enzyme activity

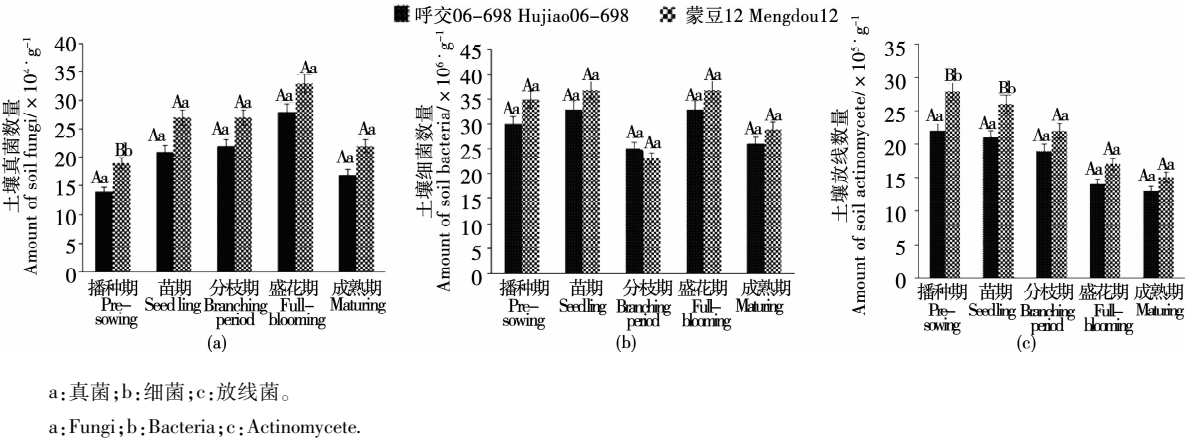


图2 不同时期抗草甘膦转基因大豆及其受体亲本土壤微生物数量的变化

Fig. 2 Changes of RR soybean and its receptor parent soybean at different growth periods on soil microbe quantity

3 结论与讨论

土壤是生态系统中物质循环和能量转化过程的重要场所,转基因作物通过基因表达,以根系分泌物或植株残体,对土壤生物化学特性产生影响。而土壤酶和微生物是研究土壤生物化学特性的重要指标,其中土壤酶对土壤有机物分解和养分循环具有重要的催化作用<sup>[13]</sup>,它参与土壤中的能量转移,与土壤环境质量及作物生产力有着密切联系。土壤脲酶活性与微生物数量、有机质和速效氮含量息息相关,土壤脱氢酶更可以反映处理体系中微生物的量及其对有机物的降解能力<sup>[14]</sup>。而土壤微生物作为另一个重要指标,更是保持农田生态系统的基础,其多样性变化直接影响农田生态系统的稳定性。因此,对转基因作物对土壤生物化学特性的影响研究,应从两方面同时着手。

3.1 土壤酶活性变化分析

本文以国内自主育成的抗草甘膦转基因大豆为试材,对不同时期的土壤酶活性进行测定。结果表明,不同时期转基因大豆与其受体亲本非转基因大豆土壤酶活性变化趋势一致,不同生长期之间土壤酶活性存在一定差异,但同一时期转基因大豆对土壤酶活性与其亲本无明显差异,这与吴凡等<sup>[15]</sup>得出的结论相似,其通过连续两年盛花期对转入 *AtPAP15* 基因大豆株系土壤酶活性进行测定,结果显示,转入 *AtPAP15* 基因大豆株系对土壤酸性磷酸酶、过氧化氢酶、蔗糖酶和脲酶的活性均未产生明显影响。但两季之间除脲酶外,其余3种土壤酶的活性差异显著。同时,乔崎等<sup>[16]</sup>也指出在室内正常水分管理下,VE、R1、R4时期转 *DREB3* 基因抗旱大豆对土壤脲酶活性无显著影响。但在干旱胁迫下,转基因抗旱大豆和非转基因大豆在VE和R1期土

壤脲酶活性显著降低,且转基因大豆土壤脲酶活性显著低于非转基因大豆。一系列研究试验表明,不同年份、不同生长条件对转基因大豆土壤酶活性存在影响,而本文主要从大豆不同的生育时期研究,对土壤酶活性变化做出一个系统评价,得出转基因大豆在一个生育期内自然条件下对土壤酶活性与其亲本相比无显著差异。这对了解转基因大豆整个生育期土壤酶的变化,提供了一个直观的概念。但长时间种植转基因品种是否会对土壤酶产生影响,仍需要进一步研究。

3.2 土壤微生物数量变化分析

土壤微生物是土壤养分及土壤质量的重要指标,它参与土壤中很多营养元素的转化过程,是表征土壤生态系统稳定性的主要参数。本试验对抗草甘膦转基因大豆农田主要微生物种群数量变化进行测定,得出在大豆整个生育期抗草甘膦转基因大豆及其受体亲本非转基因大豆土壤微生物数量变化趋势相似,不同时期之间土壤微生物数量存在差异,同一时期抗草甘膦转基因大豆对土壤细菌数量无明显影响,仅在播种前和苗期转基因大豆土壤真菌和放线菌数量显著低于非转基因大豆,其它时期二者差异不显著。从整个生育期出发,抗草甘膦转基因大豆对农田主要微生物数量无明显影响。这与本试验对土壤酶活性测定的结果相似,并且土壤微生物数量在大豆生长期变化趋势与土壤脲酶和脱氢酶活性变化趋势相似,这说明土壤微生物数量变化在一定程度上也反映了土壤酶活性的大小,二者相辅相成。

刘佳等<sup>[17]</sup>指出在花期抗草甘膦转基因大豆显著抑制了土壤放线菌和细菌的繁殖,促进了土壤真菌的繁殖,这与本试验结果存在差异。而吕晓波等<sup>[18]</sup>指出从花期至成熟期抗草甘膦转基因大豆对土壤真菌数量无明显影响,但显著降低了土壤放线菌、细菌、氨化和硝化细菌数量。参阅国内外相关研究,发现转基因作物主要通过植株根系的分泌产物对土壤环境产生影响<sup>[19-21]</sup>,导致土壤微生物生存环境发生改变<sup>[22-23]</sup>,从而影响到微生物种群数量及多样性<sup>[24]</sup>,这是一个复杂的过程,受并且受多种因素所制约。本文通过与前人的研究对比发现,转入同一基因的大豆品种土壤微生物数量因生长环境、受体、可培养菌种类的不同而产生差异。因此,为全面解析转基因大豆农田生态环境的变化,应从多种手段,多个角度出发,对大豆的整个生育周期进行长时间的系统研究。

参考文献

[1] 聂呈荣,王建武,骆世明. 转基因植物对农业生物多样性的影

响[J]. 应用生态学报,2003,14(8):1369-1373. (Nie C R, Wang J W, Luo S M. Effect of transgenic plants on biodiversity of agroecosystem[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2003,14(8):1369-1373. )

[2] 沈法富,韩秀兰,范术丽. 转 *Bt* 基因抗虫棉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 F F, Han X L, Fan S L. 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. )

[3] Romeis J, Battini M, Bigler F. Transgenic wheat with enhanced fungal resistance causes no effects *Folsomia canadia* (*Collembola Isotomidae*) [J]. Pedobiologia,2003,47:141-147.

[4] 范巧兰,陈耕,李永山,等. 转 *Bt* 基因棉花对土壤酶活性的影响[J]. 农学学报,2013,3(1):32-35. (Fan Q L, Chen G, Li Y S, et al. Effects of transgenic *Bt* cotton on soil enzymes [J]. Journal of Agriculture, 2013,3(1):32-35. )

[5] 董莲华,孟盈,王晶. 转 *Bt* + *CpTI* 基因棉花对土壤细菌及氨氧化细菌数量的影响[J]. 微生物学报,2014,54(3):309-318. (Dong L H, Meng Y, Wang J. Effects of transgenic *Bt* + *CpTI* cotton on rhizosphere bacteria and ammonia oxidizing bacteria population[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2014,54(3):309-318. )

[6] 宋亚娜,苏军,陈睿,等. 转 *cry1Ac/cpti* 基因水稻对土壤酶活性和养分有效性的影响[J]. 生物安全学报,2011,20(3):243-248. (Song Y N, Su J, Chen R, et al. Effect of *cry1Ac/cpti* transgenic rice on enzyme activity and nutrient availability in paddy soil [J]. Journal of Biosafety, 2011,20(3):243-248. )

[7] 陈晓雯,林胜,尤民生,等. 转基因水稻对土壤微生物群落结构及功能的影响[J]. 生物安全学报,2011,20(2):151-159. (Chen X W, Lin S, You M S, et al. Effects of transgenic rice on the structure and function of soil microbial communities[J]. Journal of Biosafety, 2011,20(2):151-159. )

[8] 章秋艳,李刚,杨志国,等. 转基因大豆种植对根际土壤酶活性和养分的影响[J]. 中国油料作物学报,2014,36(3):409-413. (Zhang Y Q, Li G, Yang Z G, et al. Effects of transgenic soybean on enzyme activities and nutrients in rhizosphere soil[J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2014,36(3):409-413. )

[9] 陶波,蒋凌雪,沈晓峰,等. 抗草甘膦转基因大豆对和非土壤酶活性的影响[J]. 作物杂志,2011(1):45-49. (Tao B, Jiang L X, Shen X F, at al. Effects of genetic modified glyphosate resistant soybean on soil enzyme es activities in rhizosphere and non-rhizosphere[J]. Crops, 2011(1):45-49. )

[10] 陶波,蒋凌雪,沈晓峰,等. 抗草甘膦转基因大豆对和非土壤可培养菌的影响[J]. 东北农业大学学报,2011,42(1):10-16. (Tao B, Jiang L X, Shen X F, at al. Effect of genetic modified glyphosate resistant soybean on soil culturable microorganisms in rhizosphere and non-rhizosphere[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2011,42(1):10-16. )

[11] 周洁,于崧,王珊珊,等. 抗盐碱转基因大豆对根际土壤固氮细菌多样性的影响[J]. 大豆科学,2013,32(6):801-805. (Zhou J, Yu S, Wang S S, et al. Effects of salinization resistance transgenic soybeans on rhizosphere soil nitrogen-fixing bacterial diversity[J]. Soybean Science, 2013,32(6):801-805. )

[12] 关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京:农业出版社,1986:274-340. (Guan S Y. Soil enzyme and its research method[M].

Beijing: Agricultural Press, 1986;274-340)

[13] Liu W, Lua H H, Wua W X, et al. Transgenic Bt rice does not affect enzyme activities and microbial composition in the rhizosphere during crop development[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2008, 40: 475-486.

[14] 黄代中,肖文娟,刘云兵,等. 浅水湖泊沉积物脱氢酶活性的测定及其生态学意义[J]. 湖泊科学,2009,21(3):345-350. (Huang D Z, Xiao W J, Liu Y B, et al. Determination of dehydrogenase activity in sediment of shallow lakes and its ecological significance[J]. Journal of Lake Science, 2009, 21(3): 345-350.)

[15] 吴凡,林桂潮,吴坚文,等. 转 *AtPAP15* 基因大豆种植对土壤养分及酶活性的影响[J]. 土壤学报,2013,50(3):600-608. (Wu F, Lin G C, Wu J W, et al. Effects of planting *AtPAP15* transgenic on soil nutrients and enzyme activities in rhizosphere [J]. Acta Pedologica Sinica, 2013,50(3):600-608.)

[16] 乔琦,丁伟,李新海,等. 转基因抗旱大豆对土壤酶活性的影响[J]. 东北农业大学学报,2010,41(12):11-14. (Qiao Q, Ding W, Li X H, et al. Effect of transgenic drought resistant soybean on soil enzyme activity[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2010,41(12):11-14.)

[17] 刘佳,刘志华,徐广惠,等. 抗草甘膦转基因大豆 (RRS) 对微生物和土壤氮素转化的影响[J]. 农业环境科学学报,2010,29(7):1341-1345. (Liu J, Liu Z H, Xu G H, et al. Effects of roundup ready soybean (RRS) on microorganisms and nitrogen transformation in the rhizospheric soil[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2010,29(7):1341-1345.)

[18] 吕晓波,王宏燕,刘琦,等. 抗草甘膦转基因大豆 (RRS) 在黑土生态系统种植的安全性研究[J]. 大豆科学,2009,28(2):

260-265. (Lyu X B, Wang H Y, Liu Q, et al. Biosafety of roundup ready soybean(RRS) planted in black soil ecosystem[J]. Soybean Science, 2009,28(2):260-265.)

[19] 袁红旭,张建中,郭建夫,等. 种植转双价抗真菌基因水稻对微生物群落及酶活性的影响[J]. 土壤学报,2005,42(1):122-126. (Yuan H X, Zhang J Z, Guo J F, et al. Activities of microbes and enzymes in soil after growing transgenic rice with two extra anti-fungus genes[J]. Acta Pedologica Sinica, 2005,42(1): 122-126.)

[20] 万小羽,梁永超,李忠佩,等. 种植转 *Bt* 基因棉对土壤生物活性的影响[J]. 生态学报,2007,27(12):5414-5420. (Wan X Y, Liang Y C, Li Z P, et al. Effect of planting transgenic *Bt* cotton on soil enzymatic and microbial activities[J]. Acta Ecologica sinica, 2007,27(12):5414-5420.)

[21] Jepson P C, Croft B A, Pratt G E. Test systems to determine the ecological risks posed by toxin release from bacillus thuringiensis genes in crop plants[J]. Molecular Ecology,2008,3(1):81-89.

[22] Oger P, Petit A, Dessaux Y. Genetically engineered plants producing opines alter their biological environment[J]. Nature Biotechnology, 1997, 15(4):369-372.

[23] Northcott G L, Jones K C. Experimental approaches and analytical techniques for determining organic compound bound residues in soil and sediment[J]. Environmental Pollution, 2000, 108(1): 19-43.

[24] Kremer J R, Means E N, Kim S. Glyphosate affects soybean root exudation and rhizosphere micro-organisms[J]. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 2005, 85(15): 1165-1174.

(上接第 647 页)

[19] 吴明才,肖昌珍,郑普英. 大豆磷素营养研究[J]. 中国农业科学, 1999, 32(3):59-65. (Wu M C, Xiao C Z, Zheng P Y. Study on the physiological function of phosphorus to soybean[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1999, 32(3):59-65.)

[20] 丁娇. 长期施肥对大豆固氮能力的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2013: 8-10. (Ding J. Effect of long-term fertilization on nitrogen fixation ability of soybean[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2013: 8-10.)

[21] 姚玉波. 大豆根瘤固氮特性与影响因素的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2012: 48-56. (Yao Y B. Study on characteristics of nodule nitrogen fixation and influencing factors of soybean [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2012: 48-56.)

[22] Israel D W. Investigation of the role of phosphorus in symbiotic dinitrogen fixation[J]. Plant Physiology, 1987, 84(3):835-840.

[23] Gahoonia T S, Nielsen N E, Lyshede O B. Phosphorus (P) acquisition of cereal cultivars in the field at three levels of P fertilization[J]. Plant and Soil, 1999, 211(2):269-281.

[24] 兰忠明,林新坚,张伟光,等. 缺磷对紫云英根系分泌物产生及难溶性磷活化的影响[J]. 中国农业科学, 2012, 45(8): 1521-1531. (Lan Z M, Lin X J, Zhang W G, et al. Effect of P deficiency on the emergence of *Astragalus* L. root exudates and mobilization of sparingly soluble phosphorus [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2012, 45(8):1521-1531.)

[25] 张振海,陈琰,韩胜芳,等. 低磷胁迫对大豆根系生长特性及分泌  $H^+$  和有机酸的影响[J]. 中国油料作物学报, 2011, 33(2):135-140. (Zhang Z H, Chen Y, Han S F, et al. Effect of P deficiency stress on soybean root system and its secretion of  $H^+$  and organic acid [J]. Chinese Journal of Oil Crop Sciences, 2011, 33(2):135-140.)

[26] Branscheid A, Sieh D, Pant B D, et al. Expression pattern suggests a role of MiR399 in the regulation of the cellular response to local Pi increase during arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2010, 23: 915-926.