应用生态学报 2013年3月 第24卷 第3期
Chinese Journal of Applied Ecology, Mar. 2013,**24**(3): 861-868

丛枝菌根共生体的氮代谢运输及其生态作用*

李元敬 刘智蕾 何兴元 田春杰**
(中国科学院东北地理与农业生态研究所区域农业中心, 长春 130102)

摘 要 丛枝菌根真菌能与80%的陆生维管植物形成互惠共生关系,共生体的存在对促进植物营养吸收和提高抗逆性具有重要意义.丛枝菌根真菌从宿主植物获取其光合产物碳水化合物的同时,通过外生菌丝吸收各种氮源,有效增强了宿主植物对氮素的吸收,以及氮在植物居群和群落水平上的交流,改善了植物营养代谢,增强了植物应对外界环境胁迫的能力.而共生体对氮的吸收、转运,以及氮从真菌到宿主植物的传输、代谢机制至今仍有许多问题亟待解决.本文综述了当前丛枝菌根共生体中氮传输代谢的主要机制,以及碳、磷对共生体氮传输代谢的影响;从群落和生态系统水平,简要阐述了丛枝菌根真菌在植物中氮分配的作用和对宿主植物的生态学意义,并提出共生体中氮代谢的一些需要深入研究的问题.

关键词 丛枝菌根真菌 氮 代谢途径 生态系统
文章编号 1001-9332(2013)03-0861-08 **中图分类号** Q945.12 **文献标识码** A

Nitrogen metabolism and translocation in arbuscular mycorrhizal symbiote and its ecological implications. LI Yuan-jing, LIU Zhi-lei, HE Xing-yuan, TIAN Chun-jie (*Center of Agriculture, Northeast Institude of Geography and Agroecology, Chinese Academy of Sciences, Changchun* 130102, *China*). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2013, **24**(3): 861-868.

Abstract: Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) can form mutually beneficial relations with more than 80% of vascular plants, and the existence of the symbiote is of significance in promoting the growth and stress tolerance of host plants. AMF can obtain the photosynthate carbohydrates from host plants, and in the meantime, effectively promote the nitrogen (N) uptake by host plants via the absorption of various N sources by mycorrhiza mycelia, resulting in the N exchange at population or community level, the improvement of host plants nutrition and metabolism, and the strengthening of the stress tolerance of host plants. However, there are still in debates in which ways the symbiote absorbs and transfers N and what the mechanisms the N metabolism and translocation from AMF to host plants. This paper reviewed the mechanisms of N metabolism and translocation in the symbiote and the effects of carbon and phosphorous on the N metabolism and translocation. The roles of AMF in the N allocation in host plants and the related ecological significance at community and ecosystem levels were briefly elucidated, and some issues to be further studied on the N metabolism in the symbiote were addressed.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi (AMF); nitrogen; metabolism pathway; ecosystem.

丛枝菌根是自然界中丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)和宿主植物之间形成的最为普遍的一种共生形式,能与80%的陆生维管植物形成共生菌根[1-2].共生体的存在对促进宿主植物营养吸收和提高植物抗逆性具有重要的意义.丛枝菌根真菌可以吸收水和矿质营养(氮、磷、硫以及锌等),并传输给宿主植物;作为回馈,宿主植物将光合作用合成的碳水化合物以己糖的形式输送给AMF作为真菌的碳源[1,3-6].而这种营养物质交换是通过AMF定殖在植物皮层细胞内形成丛枝结构的共生体来完成的[6].这一过程可以有效地控制宿主和真菌之间的养分平衡,达到最佳共生状态.这种共生关系不仅增强了植物营养吸收能力,也提高了植物抵抗生物及非生物胁迫的能力[4,7].

丛枝菌根真菌的根外菌丝(extraradical mycelium, ERM)通过蔓延交错在土壤中形成大量的菌丝

* 中国科学院"百人计划"项目和中国科学院东北地理与农业生态研究所"12·4"项目资助.
** 通讯作者. E-mail: tiancj@neigae.ac.cn
2012-05-01 收稿,2012-12-18 接受.

网,扩大了植物根系的面积范围,能够更加深入地吸收土壤中的营养成分,然后转运给共生体,最后转运至根部利用,有效提高了宿主植物对环境中营养元素的吸收、转运[8-11]. 目前有关 AMF 吸收转运磷的机制已有较多报道,在 AMF 代谢转运磷的机制,尤其在其分子基础和基因调控方面取得了重要的成果[12-14]. 此外,在碳代谢方面,已运用分子生物学、核磁共振及各种生化方法初步探讨了碳在共生体中的流动方式[13,15].

氮作为植物生长的重要营养元素,在自然环境和农田生态系统中,特别是逆境条件下,是植物生长的限制性元素[16]. AMF 同样可以通过根外菌丝吸收环境中的 NO_3^-、NH_4^+和氨基酸,并把吸收的氮转运给植物,增强植物氮营养. 近年来,人们针对 AMF 吸收、转运氮的机制,运用生化、分子等手段对 AM 共生体中氮转运和传递的形态、AM 真菌体内 N 代谢的新途径等进行了大量研究,取得了重要成果[17-22],从而完善了氮代谢模型,加深了对 AMF 转运和代谢氮内在机理的认识. 目前丛枝菌根真菌吸收氮素的研究逐渐引起人们的重视, 成为一个新的研究热点. 一些研究者围绕着丛枝菌根共生体中氮传输的机理机制做了很多工作,但仍有许多问题需要进一步验证. 比如,通过菌根真菌吸收的氮究竟是主要氮源还是辅助氮源,氮代谢与磷代谢及碳代谢的关系及其对宿主植物的生态学意义,以及氮流通在群落、生态系统水平上对物质循环和生态维护的重要意义等.

鉴于此,本文综述了 AMF 共生体中的氮传输模型,主要运输途径,AMF 对氮的吸收、运转和代谢特点,以及碳、磷等对氮代谢的影响. 同时,从群落和生态系统的水平着眼,简述丛枝菌根真菌对宿主植物的生态学意义,该方面研究存在的问题及今后的工作建议.

1 氮代谢模型及运输途径

1.1 氮吸收、转运、代谢模型

菌根植物可以通过植物根系和 AMF 根外菌丝吸收氮素,其中菌丝吸收氮素占植物总氮的 30% 左右,说明菌丝体可能存在一套氮代谢系统. 早期研究发现,菌丝体内存在大量游离氨基酸. Smith 等[23]认为,氨基酸或者氨基化合物可能是 AMF 向植物传递的氮形态. Bago 等[15]在此基础上提出了丛枝菌根共生体中氮从真菌到植物的运输机制的假设. 这一假设是以特定氨基酸-精氨酸(Arg)为核心的. 随后,大量分子的、生化的,以及代谢的证据不断支持和完善这一模型[24-25],特别是近期的丛枝菌根真菌氮代谢途径上关键基因的克隆鉴定、定量表达,以及在^{15}N标记基础上的共生体中氮代谢通量分析等研究在很大程度上完善了这一模型(图 1)[20]. 该模型的基本内容是:土壤中的无机氮(包括硝态氮和铵态氮)被菌根真菌蔓延在土壤中的外生菌丝吸收以后,在外生菌丝中首先转化为精氨酸,精氨酸从外生菌丝运输到着生在宿主植物细胞内部的内生菌丝(intraradical mycelium, IRM)中,在内生菌丝中再发生从有机到无机形式的氮转化而释放出铵态氮,最终传输给宿主植物细胞供其利用. Jin 等[21-22]进一步完善了该模型,提出了精氨酸在传输过程中的双向运转可能.

图 1 是菌根真菌共生体中氮素吸收、代谢和运转模型[20]. 根外菌丝吸收土壤中不同形态的氮素,并通过一系列代谢转化反应生成精氨酸,精氨酸沿着根外菌丝进入根内菌丝中分解释放出无机氮,无机氮穿过根内菌丝进入宿主植株根系,继而被宿主利用[20-22].

1.2 氮代谢的主要运输途径

基于大量试验数据,氮在丛枝菌根共生体中传

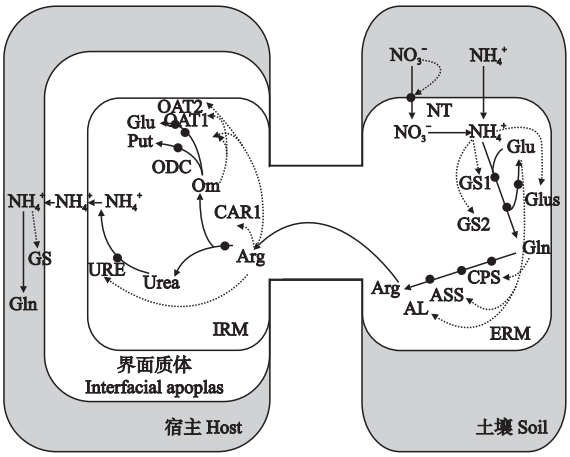

图 1 丛枝菌根共生体中氮的吸收、代谢和运输模型[20]

Fig. 1 Working model of N uptake, metabolism and transfer in the AM symbiosis[20].

IRM:根内菌丝 Intraradical mycelium; ERM:根外菌丝 Extraradical mycelium; Glu:谷氨酸 Glutamic acid; Gln:谷氨酰胺 Glutamine; Arg:精氨酸 Arginine; Orn:鸟氨酸 Ornithine; Put:腐胺 Putrescine; Urea:尿素 Urea; NT:硝酸盐离子泵 Nitrate transporter; GS:谷氨酰胺合成酶 Glutamine synthetase; GluS: 谷氨酸合酶 Glutamate synthase; CPS:氨基甲酰磷酸合成酶 Carbamoyl-phosphate synthase; ASS:精氨基琥珀酸合成酶 Argininosuccinate synthase; AL:精氨酸代琥珀酸裂解酶 Argininosuccinate lyase; CAR:精氨酸酶 Arginase; ODC:鸟氨酸脱羧酶 Ornithine decarboxylase; OAT:鸟氨酸氨基转移酶 Ornithine aminotransferase; URE:脲酶 Urease. 黑圆点代表代谢途径相关基因 Black dots are metabolism related genes,虚线箭头代表与关键基因表达相关的代谢调控 Dotted arrow are metabolism regulation related crucial genes expression.

输的基本模型已经确立. 这是一个无机-有机-无机的转变过程[15]. 从土壤中吸收的无机氮(氨态氮或硝态氮)首先在真菌的作用下转化成有机的氨基酸——精氨酸(Arg),并在菌丝体内运输,运输到内生菌丝后释放出无机氮(铵态氮)给宿主植物细胞,完成了传氮去碳的传递过程[20,24-25]. 在这一过程中涉及了很多参与氮代谢的功能基因和酶. 目前在丛枝菌根共生体中已经获得 20 多个氮代谢相关基因(表 1),这些基因的鉴定更好地说明了氮的吸收代谢转运途径,特别是菌根真菌根内球囊酶(*Glomus intraradices*)中大量的功能基因的表达分析和酶活性的测定,以及氨态氮、硝态氮运输离子泵的鉴定,在极大程度上促进了对氮传输机制的理解[20,24,26-28]. 此外,在另外一种丛枝菌根真菌摩西球内囊霉(*Glomus mossae*)中也鉴定出了谷氨酰胺合成酶和氨基酸透性酶[29-30]. 这为比较相近种间的运输机制奠定了基础.

2　丛枝菌根共生体中氮的传输和代谢机理

2.1　丛枝菌根共生体中氮的吸收、同化

菌根真菌通过外生菌丝从土壤中吸收无机氮(或者有机氮),并在外生菌丝中实现从氮的无机形式到有机形式的转变. 作为真菌从土壤中吸收氮的第一步反应,真菌的硝态氮、铵态氮运输离子泵的第一反应是:随着环境中氮浓度的变化而在转录水平上发生相应的变化. 在根内球囊霉中发现、鉴定了一个硝酸根离子泵,其转录水平上的基因表达会随着外界硝酸盐水平的提高而上调,并且对硝酸根有着高度的亲和性[20]. 此外,在此真菌中也发现、鉴定了 1 个参与铵离子吸收的、高亲和性的铵离子泵[27]. 理论上,无论是植物还是真菌对矿质元素的吸收都会有高度亲和性和低度亲和性的离子泵同时参与,因而可以预期,在真菌中很有可能存在参与氮吸收的低度亲和性的离子泵.

除此之外,丛枝菌根真菌还可以直接从环境中吸收有机氮(如氨基酸)[25],或者通过分解有机物来获得氮源,并把其储藏在菌丝体中[33]. 例如,在摩西球内囊霉中已经鉴定出了一个参与脯氨酸(Pro)运输的透性酶 GmosAAP1,而且该酶对脯氨酸的运输方式与pH及能量的多少息息相关,其转录水平会

表 1　丛枝菌根共生体中已经鉴定的氮代谢基因(包括来自于植物和真菌)
Table 1　Nitrogen metabolism genes identified in the arbuscular macorrhizal symbiosis (including plants and fungi)

基因 Genes	来源物种 Resources	主要发现 Main findings
硝酸还原酶 Nitrate reductase	根内球囊霉、玉米 *Glomus intraradices*, *Zea mays*	在 AM 着生的根部,由硝酸还原酶代谢的亚硝酸的生成主要依靠辅酶 NADPH; 菌根真菌的硝酸还原酶的转录主要是发生在丛枝而不是泡囊[26]
谷氨酰胺合成酶 Glutamine synthetase	摩西球内囊霉、根内球囊酶 *G. mosseae*, *G. intraradices*	不同的氮处理对谷氨酰胺合成酶的调控主要发生在转录后水平,而不是转录水平[29]
谷氨酰胺合成酶 Glutamine synthetase	胡萝卜 *Daucus carota*	鉴定了来自胡萝卜的 3 个谷氨酰胺合成酶片段[31]
谷氨酸合酶、铵离子泵、脲酶辅助蛋白 Glutamate synthase, ammonium transporter, urease accessory protein	根内球囊霉 *G. intraradices*	基因表达支持了同化的氮首先转化为精氨酸,然后在真菌内部实现转移,并在植物细胞内释放铵态氮[21]
铵离子泵 Ammonium transporter	根内球囊霉 *G. intraradices*	GintAMT1 参与了菌根真菌从环境中吸收铵态氮[27]
氨基酸透性酶 Amino acid permease	摩西球内囊霉 *G. mosseae*	GmosAAP1 在氨基酸获得的第一步起着主要作用,特别是对脯氨酸[30]
精氨酸酶、谷氨酰胺合成酶、鸟氨酸氨基转移酶、精氨琥珀酸合成酶、铵离子泵 Arginase, Glutamine synthetase, Ornithine aminotransferase, Argininosuccinate synthase, Ammonium transporter	根内球囊酶、苜蓿 *G. intraradices*, *Medicaga truncatula*	根据短序列片段设计 RT-PCR 引物,并以此检测转录水平,包括在真菌根内球囊酶和宿主植物苜蓿[28]
铵离子泵 Ammonium transporter	百脉根 *Lotus japonicus*	该离子泵在宿主细胞内部与真菌菌丝的空隙处结合铵离子,并在植物植物细胞质内释放 NH_3[32]
谷氨酰胺合成酶 1,2、精氨琥珀酸合成酶、鸟氨酸氨基转移酶 1、精氨酸酶、鸟氨酸脱羧酶、脲酶、谷氨酸合酶、甲酰磷酸合成酶谷氨酰胺链、精氨琥珀酸裂解酶 Glutamine synthetase 1,2, argininosuccinate synthase, ornithine aminotransferase 1, arginase, ornithine decarboxylase, urease, glutamate synthase, carbamoyl-phosphate synthase, arginosuccinate lyase	根内球囊霉 *G. intraradices*	通过真菌实现的氮同化能够触发外生菌丝、内生菌丝以及宿主植物本身的氮代谢基因的表达[20]

随着周围环境中氨基酸含量的增加而上调[30]. 对于其他可以直接从土壤中吸收的氨基酸来说,真菌中也可能存在着相应的氨基酸透性酶,如精氨酸透性酶[25].

硝酸盐被外生菌丝吸收后,会在菌丝体内实现从硝态氮到铵态氮的第一步转化. 其中两个关键酶——硝酸还原酶和亚硝酸还原酶在这一过程中起着重要作用. Guescini 等[34]在外生菌根真菌 *Tuber borchii* 中发现并鉴定出了硝酸和亚硝酸还原酶. Kaldorf 等[26]在根内球囊霉中发现了硝酸还原酶的部分序列片段,并基于该片段做了基因表达的分析. 从硝态氮转化而来或者从土壤中直接吸收的铵态氮,再经过谷氨酰胺合成酶和谷氨酸合成酶(GS/GOGAT)的联合作用,转化成有机的氨基酸. 此外,需要 NAD(P)参与的谷氨酸脱氢酶途径也可能在这一转化过程中起着重要的作用,但目前还需要更为直接的证据加以证明.

Breuninger 等[29]发现,在根内球囊霉和摩西球内囊霉中,谷氨酰胺合成酶的调控发生在转录水平上. Tian 等[20]进一步证实, 根内球囊霉中存在的谷氨酰胺合成酶只是一个基因家族中的一员,并定义为 GiGS1. 该基因与另一个家族成员 GiGS2 一起发挥着功效,并在不同的氮浓度下,通过转录水平上的调控来实现二者之间的协调配合. 这两个基因之间功能上的分工和互补,在基因表达和酶动力学分析中也得到了验证. 同时,酶活分析也表明,两个酶对底物谷氨酸都具有较低的 K_m 值,意味着 GS/GOGAT 途径在较低的氮浓度条件下也能发挥作用[20].

2.2 丛枝菌根共生体中氮的代谢和转运

无机氮在外生菌丝中同化为有机氮,继而转化成精氨酸,并以精氨酸的形式传送到内生菌丝中. 在内生菌丝中,精氨酸首先通过鸟氨酸循环的分解途径释放 NH_4^+ 和鸟氨酸,NH_4^+ 再通过 AMT 蛋白迅速地转移给植物根细胞,保持根内菌丝中低水平的 NH_4^+,而参与转移的碳在内生菌丝中以某一形态返回外生菌丝,继续参与代谢,释放出的 NH_4^+ 转移给植物供其生长. 这是氮在共生体中传输的第二步. 在此过程中,GS-GOGAT 途径和鸟氨酸循环的联合作用保障了氮素在菌丝和根系之间的持续转移. 精氨酸作为鸟氨酸循环中的重要中间产物,能在外生菌丝和内生菌丝之间快速地转变为其他形态,通过酶的催化快速地转化分解,进而释放 NH_4^+,而以无机氮 NH_4^+ 的形态向宿主提供氮能控制碳的流出,节省了碳的消耗. 这对 AMF 自身也有很重要的意义. 而氮的同化和 NH_4^+ 的释放过程单靠 GS-GOGAT 途径是无法实现的.

在真菌根内球囊霉参与氮代谢的主要途径——脲循环中,除了鸟氨酸氨甲酰-转氨酶尚未报道之外,其他关键酶都已经鉴定. 利用实时定量 PCR 技术证明,在外生菌丝中,精氨酸合成途径上的基因会随着谷氨酰胺或谷氨酸的积累而表达水平上调. 相反,在内生菌丝中参与精氨酸分解的基因(包括精氨酸酶、脲酶和鸟氨酸氨基转移酶,以及鸟氨酸脱羧酶)会随着精氨酸从外生菌丝到内生菌丝的不断运输而表达下调[20]. 这进一步证实了共生体中以精氨酸为中心的从外生菌丝到内生菌丝的氮的转运,尽管在内生菌丝中形成的鸟氨酸的最终去向还需要探明.

丛枝菌根真菌着生在宿主细胞内的丛枝、泡囊和植物皮层细胞之间的空隙是氮在两者之间传输的重要区域[35]. 真菌的铵离子泵会把铵态氮托运到此空隙[19,23],然后植物的铵离子泵发挥作用,把植物和真菌共生质体界面处的 NH_4^+ 转运到植物细胞内部,然后再在植物细胞内释放出铵态氮[27,34]. 氮代谢的调控由不同的信号途径联合发挥作用,这与磷吸收的调控模式相类似[36]. 着生在植物细胞内的真菌菌丝中的氮代谢基因,其表达水平的调控不但与细胞内积累的氮的多少有关,也与代谢途径中的一些中间产物有关[20]. 此外,与酿酒酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)相比,菌根真菌的氮代谢物调控方式(NMC)在丛枝菌根外生菌丝中明显不同. 高浓度的精氨酸没有下调精氨酸合成基因的表达,反而提高了其表达水平;而在酿酒酵母中,其结果是下调的. 这意味着丛枝菌根真菌中的代谢物调控可能与宿主植物的分泌物或者其他化学产物的参与相关,也可能是植物和真菌之间氮利用率的不同所致[37].

3 丛枝菌根共生体氮代谢与碳、磷代谢的交互作用

AM 真菌通过与宿主植物的营养交换形成互惠共生关系,AMF 外生菌丝吸收氮、磷等营养物质传输给宿主植物,而 AMF 不能进行光合作用,宿主植物将碳水化合物传递给 AMF. 通过这种碳氮交互作用,宿主植物通过光合作用,使空气中更多的碳固定在植物和真菌中;宿主植物向 AMF 传输的碳以脂质体三酰基甘油的形式储存在泡囊中,三酰基甘油再沿着菌丝由内生菌丝向外生菌丝运输,为外生菌丝提供碳源,而 AMF 在利用碳源增强菌根生长的同时,促进了植物对土壤氮等营养物质的吸收. 有研究

表明，AM 共生体中氮的吸收转运是由宿主植物运输给真菌的碳流引发的[38]. 提高空气中的 CO_2 分压，可以促进 AM 真菌对土壤氮的吸收，从而改善植物寄主的氮素营养[39]. Olsson 等[40]研究表明，菌根真菌的氮水平决定了真菌碳流量的分配. 由此可见，虽然 AMF 与植株的碳氮交互作用存在分歧，但 AMF 氮代谢和碳代谢有着密切联系，真菌和植物间的碳、氮交互关系控制着二者的营养传递.

磷是植物生长发育的必需营养元素之一. AMF 外生菌丝可以将无机磷转化为多聚磷酸盐，以多聚磷酸盐(polyP)的形式运输到内生菌丝中. 内生菌丝中的 polyP 通过水解释放无机磷(Pi)到菌根细胞中，进而将 Pi 传递给宿主植物. 而多聚磷水解释放的能量，增强了氮代谢载体精氨酸从外生菌丝到内生菌丝的转运. 尽管多聚磷 polyP 中被电离的磷离子不需要 Arg^+ 的作用[41]，但是并不能排除精氨酸和磷的结合作用以及二者的协同运输，因为精氨酸很容易在相同摩尔无机磷或短链的多聚磷酸盐溶液中溶解. 试验表明，AMF 能够显著提高宿主植物对土壤磷的吸收，增加植物氮素营养[42]. 但高磷条件抑制了 AM 真菌菌根的形成和 ERM 的伸长，使 AMF 外生菌丝对外源氮的吸收能力下降，降低了内生菌丝向宿主植物传递氮的能力，从而影响 AM 真菌的整个氮代谢途径.

无论在自然还是受干扰条件下，菌根真菌对宿主植物的侵染率都与氮、磷的水平相关[43]. 通常，营养缺乏条件下，菌根真菌的生长和发育更容易获得不同程度的提高[44]. 例如，当磷素供应不足时，菌根真菌对宿主植物氮吸收的促进效果最为显著. 菌根真菌的菌丝的生理、形态会受到外界无机氮源的多少和种类的影响. 同时，根际微生物或者根系分泌物，以及一些次生代谢产物也在菌根真菌的生长和发育过程中起着重要的调节作用[45]. 这意味着菌根真菌对宿主植物氮吸收的影响不但与外界氮源有关，也与菌根真菌自身的种类，以及根际伴生菌的种类和数量有关. 因此，根据不同的立地条件，结合宿主植物的种类，鉴定相应的菌根真菌及其伴生菌，对促进丛枝菌根共生体在农业生产中的应用具有重要的意义.

4　丛枝菌根促进植物之间氮转移

AMF 可以通过菌根网络与植物形成共生体，改善植物个体营养[46]，增强宿主应对外界胁迫的能力[47]. 而植物根系间通过 AM 真菌的根外菌丝形成的连接植物的菌丝桥，为不同植物间养分的转移提供了一条直接途径. 菌根通过菌丝可以将某种植物多余的氮、磷运输到其周围的植物. 由此可见，菌根真菌的存在对宿主植物个体的氮吸收发挥着作用，而且对加强居群、群落水平上的植物间的氮交流也发挥着功效. 例如，由于大量菌丝体的纽带作用，氮可以从固氮豆科树木上传送到相邻的草本植物或作物上，其传递的氮量可以达到草类植物含氮总量的 2.5%[48-49]. 不同植物间氮的转移取决于彼此间氮的源-库的动态平衡[49]，而这一传输也会通过氮的再分配调整植物间营养平衡，改变植株种群的竞争能力，反过来影响植被特征. 同理，除了氮之外，菌根真菌网络也可以看作是磷、碳及其他营养元素的储存库. 而这些营养元素的多少又会通过影响菌根真菌的数量和种类(即多样性)，实现群落水平上的营养元素再分配的调节，进而影响到植物种内和种间的竞争[50]. 不同土壤条件以及不同碳、氮水平条件下菌丝体的丰富程度，也间接地说明菌根真菌参与了生态系统中氮的再分配[51]. AMF 在氮和磷的吸收上具有重要意义. 菌根的氮营养效应也表明了在自然生态系统中，AMF 菌丝桥在植物间养分传递及生态系统养分循环中的重要作用.

5　丛枝菌根真菌在植物氮代谢过程中的生态作用

目前，AMF 共生体的氮运输代谢机制研究不断深入，其在宿主植物氮循环过程中的生态作用也愈发重要. AMF 与植物共生形成共生体. 在植物个体水平上，AMF 通过与植物共生形成的菌根网络增强氮代谢，改善植物营养；在种群水平和生态系统中，AMF 通过错综复杂的菌根网络改变植物间的营养平衡，驱动土壤营养循环[52]，影响植物间的竞争关系[53]，使物种生态位发生位移，并最终导致生态系统水平上的变化. 因此，其在植物种群建立、群落竞争、物种多样性，以及群路空间分布格局中均具有重要的调节作用[54-55]，对整个生态系统产生重要的影响.

菌根与宿主植物共生体形成过程与环境中的氮有关[56-57]，而固氮的根瘤则是在宿主植物菌根共生体基础之上形成的. 对于菌根菌和固氮菌来说，尽管在宿主范围上不同，但它们之间共享着一定的分子机制[58]. 某些宿主植物特定的遗传基因无论是对菌根共生还是根瘤共生都有着重要的调控功能. 比如，固氮菌根植物百脉根(*Lotus corniculatus*)中的两种质体蛋白 CASTOR 和 POLLUX，在菌根真菌和固氮

菌的侵染并进入植物细胞的过程中都发挥着关键性的作用[59]. 对于固氮菌来说,在根瘤的形成过程中,磷和硫是两个关键的营养元素,对根瘤的发育和固氮能力至关重要. 而丛枝菌根与植物形成的共生体增强营养吸收,保证了根瘤菌所需的矿质元素[60]. 这在一定程度上促进了固氮菌和菌根植物尽可能地形成联合共生[58]. 而丛枝菌根与根瘤菌协同进化关系在丛枝菌根真菌、固氮菌和宿主植物之间的协调作用,以及整个生态系统的氮循环过程中具有重要作用.

总之,AMF 与植物形成的菌根共生体在生态系统中广泛分布. 作为生态系统的重要组成部分,AMF 的种群丰度影响着植物种群丰富度、群落多样性和群落结构,AMF 菌丝体通过建立植物种间的联系,调节着生态系统中氮素等的营养循环,而 AMF 多样性及其与根际微生物的拮抗或竞争,同样直接或间接地影响着植物群落多样性和生态系统功能.

6 问题与展望

目前,AM 真菌共生体中氮的代谢和运输传递的分子机制已经取得了重大的进展. 利用分子、生化等手段对氮的吸收和代谢的研究,揭示了氮的吸收特点、转运载体,以及氮同化分解的新途径,使氮代谢模型得到补充和完善,加深了对 AMF 转运代谢氮的内在机理的认识. 越来越多的研究关注菌根真菌对宿主植物的生态作用,及其在自然、农田生态系统中的应用. 但是目前仍然有一些问题需要进一步研究,主要包括:1)精氨酸是如何转运的? 从无机氮到有机氨基酸(精氨酸)的转化,进而再转化为无机的铵态氮的过程,是菌根共生体中氮传输和代谢的主要变化. 但在丛枝菌根共生体氮的运输中,精氨酸是以怎样的方式实现从外生菌丝到内生菌丝的运转,目前还不是很明了. 有证据表明,精氨酸的运转是和多聚磷绑定到一起的,而多聚磷可以在泡囊或者液泡中自由移动. 但两者的协同运输机制直到目前还不是很清楚. 2)除了精氨酸以外,还有其他形式的氮参与运输吗? 尽管试验证明,精氨酸在外生菌丝中占有绝对的丰度,^{15}N 标记试验也证实了它的确是转运过程中的主要有机氮[25]. 也有证据表明,硝态氮也可以直接从外生菌丝传输到内生菌丝,并且可能在内生菌丝中进一步被真菌的硝酸、亚硝酸还原酶还原为氨态氮,或者被硝酸离子泵直接托运给宿主植物细胞供其利用. 但是硝态氮的直接运输所占的比重,以及运输到内生菌丝中的硝态氮的最终命运如何(还原、转化还是储存),还需要进一步的论证. 此外,氨也可以通过自由扩散或是铵离子泵的运送直接从外生菌丝运输到内生菌丝,进而传输给植物皮层细胞[61]. 然而,还没有直接的证据来验证氨从外生菌丝到内生菌丝的直接运输,以及这种运输的可能比重. 总而言之,除了精氨酸为主导的氮运输方式外,其他的运输方式所占的比例以及在不同条件下的可能性还需要进一步探索. 第三,氮、磷和碳之间的交互作用如何? 虽然氮、磷和碳之间相互作用影响着共生体中的营养传递,但其交互作用及控制营养传递机理仍需深入探讨,而且 AMF 在吸收氮素和影响植物种间营养交流传递过程的信号转导途径还不清楚,其在生态系统中氮循环的作用也不明了. 这些都需要进一步的试验来论证.

近年来,随着 RNA 干扰和定向诱导基因组局部突变等反向遗传学技术的成熟,以及激光捕获显微技术的利用,有效促进了共生细胞中的特定基因表达的分析. 与此同时,各种模式植物基因组测序工作的展开、越来越多的植物氮代谢基因突变体的利用,也会对共生体中的氮传输机理研究起到重要的促进作用.

参考文献

[1] Campos-Soriano L, Sequndo BS. New insights into the signaling pathways controlling defense gene expression in rice roots during the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Signaling & Behavior*, 2011, **6**: 553-557

[2] He XH, Duan YH, Chen YL, *et al.* A 60-year journey of mycorrhizal research in China: Past, present and future directions. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**: 1374-1398

[3] Zhao S-Q (赵淑清), Tian C-J (田春杰), He X-Y (何兴元). Mycorrhizal research on nitrogen-fixing plants. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2000, **11**(2): 306-310 (in Chinese)

[4] Pozo MJ, Azcón-Aguilar C. Unraveling mycorrhiza induced resistance. *Current Opinion in Plant Biology*, 2007, **10**: 393-398

[5] Parniske M. Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 2008, **6**: 763-775

[6] Bonfante P, Genre A. Mechanisms underlying beneficial plant-fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nature Communications*, 2010, **1**: 48-52

[7] Zhao P-J (赵平娟), An F (安 锋), Tang M (唐明). Effects of arbuscular mycorrhiza fungi on drought resistance of *Forsythia suspensa*. *Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), 2007, **27**(2): 396-399 (in Chinese)

[8] Wu Q-S (吴强盛), Xia R-X (夏仁学), Hu Z-J (胡

正嘉). Effects of arbuscular mycorrhiza on drought tolerance of *Poncirus trifoliata*. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2005, **16**(3): 459-463 (in Chinese)

[9] Tong R-J (仝瑞建), Yang X-H (杨晓红), Li D-Y (李东彦). Effects of interspecies difference of arbuscular mycorrhizal fungi on *Citrus grandis* cv. Changshou Shatian You seedlings vegetative growth and mineral contents. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2006, **17**(7): 1229-1233 (in Chinese)

[10] Sun Y (孙 玥), Quan X-K (全先奎), Jia S-X (贾淑霞), *et al*. Effects of nitrogen fertilization on ectomycorrhizal infection of first order roots and root morphology of *Larix gmelinii* plantation. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2007, **18**(8): 1727-1732 (in Chinese)

[11] Liu J (刘 洁), Liu J (刘 静), Jin H-R (金海如). Advancement in arbuscular mycorrhizal fungi's N and C metabolism. *Journal of Microbiology* (微生物学杂志), 2011, **31**(6): 70-75 (in Chinese)

[12] Javot H, Pumplin N, Harrison MJ. Phosphate in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Transport properties and regulatory roles. *Plant, Cell and Environment*, 2007, **30**: 310-322

[13] Landis FC, Fraser LH, A new model of carbon and phosphorus transfers in arbuscular mycorrhizas. *New Phytologist*, 2007, **177**: 466-479

[14] Wang S-G (王曙光), Lin X-G (林先贵), Shi Y-Q (施亚琴). Effects of arbuscular mycorrhiza on resistance of plants to environmental stress. *Chinese Journal of Ecology* (生态学杂志), 2001, **20**(3): 27-30 (in Chinese)

[15] Bago B, Pfeffer PE, Shachar-Hill Y. Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhiza. *Plant Physiology*, 2000, **124**: 949-957

[16] Jackson LE, Burger M, Cavagnaro TR. Roots, nitrogen transformations, and ecosystem services. *Annual Review of Plant Biology*, 2008, **59**: 341-363

[17] Govindarajulu M, Pfeffer PE, Jin HR, *et al*. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature*, 2005, **435**: 819-823

[18] Jin HR, Pfeffer PE, Douds DD, *et al*. The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 2005, **168**: 687-696

[19] Cruz C, Egsgaard H, Trujillo C, *et al*. Enzymatic evidence for the key role of arginine in nitrogen translocation by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Physiology*, 2007, **144**: 782-792

[20] Tian CJ, Kasiborski B, Koul R, *et al*. Regulation of the nitrogen transfer pathway in the arbuscular mycorrhizal symbiosis: Gene characterization and the coordination of expression with nitrogen flux. *Plant Physiology*, 2010, **153**:1175-87

[21] Jin HR. Arginine bi-directional translocation and breakdown into ornithine along the arbuscular mycorrhizal mycelium. *Science China Life Sciences*, 2009, **52**: 381-389

[22] Jin HR, Liu J, Liu J, *et al*. Forms of nitrogen uptake, translocation, and transfer via arbuscular mycorrhizal fungi: A review. *Science China Life Sciences*, 2012, **55**: 355-364

[23] Smith SE, Gianinazzi-Pearson V, Koide R, *et al*. Nutrient transport in mycorrhizas: Structure, physiology, and consequences for efficiency of the symbiosis. *Plant and Soil*, 1994, **159**: 103-113

[24] Govindarajulu M, Pfeffer PE, Jin HR, *et al* . Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature*, 2005, **435**: 819-823

[25] Jin H, Pfeffer PE, Dou ds DD, *et al*. The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. *New Phytologist*, 2005, **168**: 687-696

[26] Kaldorf M, Schmelzer E, Bothe H. Expression of maize and fungal nitrate reductase genes in the arbuscular mycorrhiza. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 1998, **11**: 439-448

[27] López-Pedrosa A, González-Guerrero M, Valderas A, *et al*. GintAMT1 encodes a functional high-affinity ammonium transporter that is expressed in the extraradical mycelium of *Glomus intraradices*. *Fungal Genetics and Biology*, 2006, **43**: 102-110

[28] Gomez SK, Javot H, Deewatthanawong P, *et al*. Medicago truncatula and *Glomus intraradices* gene expression in cortical cells harboring arbuscules in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *BMC Plant Biology*, 2009, **9**: 10

[29] Breuninger M, Trujillo CG, Serrano E, *et al*. Different nitrogen sources modulate activity but not expression of glutamine synthetase in arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Genetics and Biology*, 2004, **41**: 542-552

[30] Cappellazzo G, Lanfranco L, Fitz M, *et al*. Characterization of an amino acid permease from the endomycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Plant Physiology*, 2008, **147**: 429-437

[31] Higashi K, Shiota H, Kamada H. Patterns of expression of the genes for glutamine synthetase isoforms during somatic and zygotic embryogenesis in carrot. *Plant and Cell Physiology*, 1998, **39**: 418-424

[32] Guether M, Neuhauser B, Balestrini R, *et al*. A mycorrhizal-specific ammonium transporter from *Lotus japonicus* acquires nitrogen released by arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Physiology*, 2009, **150**: 73-83

[33] Hodge A, Fitter AH. Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, **107**: 13754-13759

[34] Guescini M, Zeppa S, Pierleoni R, *et al*. The expression profile of the *Tuber borchii* nitrite reductase suggests its positive contribution to host plant nitrogen nutrition. *Current Genetics*, 2007, **51**: 31-41

[35] Pumplin N, Harrison MJ. Live-cell imaging reveals periarbuscular membrane domains and organelle location

in *Medicago truncatula* roots during arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Plant Physiology*, 2009, **151**: 809-819

[36] Harrison MJ. Development of the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Current Opinion in Plant Biology*, 1998, **4**: 360-365

[37] ter Schure EG, van Riel NAW, Verrips CT. The role of ammonia metabolism in nitrogen catabolite repression in *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Microbiology Reviews*, 2000, **24**: 67-83

[38] Fellbaum CR, Gachomo EW, Beesetty Y, *et al*. Carbon availability triggers fungal nitrogen uptake and transport in arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, **109**: 2666-2671

[39] Gamper H, Hartwig UA, Leuchtmann A. Mycorrhizas improve nitrogen nutrition of *Trifolium repens* after 8 yr of selection under elevated atmospheric CO_2 partial pressure. *New Phytologist*, 2005, **167**: 531-542

[40] Olsson PA, Burleigh SH, Van Aarle IM. The influence of external nitrogen on carbon allocation to *Glomus intraradices* in monoxenic arbuscular mycorrhiza. *New Phytologist*, 2005, **168**: 677-686

[41] Smith SE, Smith FA. Roles of Arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: New paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology*, 2011, **62**: 227-250

[42] Ezawa T, Smith SE, Smith FA. Differentiation of polyphosphate metabolism between the extr- and intraradical hyphase of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 2001, **149**: 555-563

[43] Javelle A, Andre B, Marini AM, *et al*. High-affinity ammonium transporters and nitrogen sensing in mycorrhizas. *Molecular Micorbiology*, 2003, **47**: 411-430

[44] Jackson LF, Miller D, Smith SE. Arbuscular mycorrhizal colonization and growth of wild and cultivated lettuce in response to nitrogen and phosphorus. *Scientia Horticulturae*, 2001, **94**: 205-218

[45] Gryndler M, Hrselová H, Cajthaml T, *et al*. Influence of soil organic matter decomposition on arbuscular mycorrhizal fungi in terms of asymbiotic hyphal growth and root colonization. *Mycorrhiza*, 2009, **19**: 255-266

[46] Leigh J, Hodge A, Fitter AH. Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. *New Phytologist*, 2008, **181**: 199-207

[47] Cartmill AD, Valdez-Aguilar LA, Bryan DL, *et al*. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance tolerance of vinca to high alkalinity in irrigation water. *Scientia Horticulturae*, 2008, **115**: 275-284

[48] Sierra J, Nygren P. Transfer of N fixed by a legume tree to the associated grass in a tropical silvopastoral system. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, **38**: 1893-1903

[49] Jalonen R, Nygren P, Sierra J. Transfer of nitrogen from a tropical legume tree to an associated fodder grass *via* root exudation and common mycelial networks. *Plant, Cell and Environment*, 2009, **32**: 1366-1376

[50] Frey-Klett P, Garbaye J, Tarkka M. The mycorrhiza helper bacteria revisited. *New Phytologist*, 2007, **176**: 22-36

[51] Wilson GW, Rice CW, Rillig MC, *et al*. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: Results from long-term field experiments. *Ecology Letters*, 2009, **12**: 452-461

[52] Hodge A, Fitter AH. Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycohhizal fungi from organic material has implications for N cycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, **107**: 13754-13759

[53] Liang Y (梁 宇), Guo L-D (郭良栋), Ma K-P (马克平). The role of mycorrhizal fungi in ecosystems. *Acta Phytoecologica Sinica* (植物生态学报), 2002, **26** (6): 739-745 (in Chinese)

[54] van der Heijden MGA, Horton TR. Socialism in soil? The importance of mycorrhizal fungal networks for facilitation in natural ecosystems. *Journal of Ecology*, 2009, **297**: 1139-1150

[55] Liu Y-J (刘永俊), Zheng H (郑 红), He L (何雷), *et al*. Seasonal variation and related affecting factors of arbuscular mycorrhizal fungi in *Carrcgana korshinskii* roots. *Chinese Journal of Applied Ecology* (应用生态学报), 2009, **20**(5): 1085-1091 (in Chinese)

[56] Provorov NA, Borisov, AY, Tikhonovich IA. Developmental genetics and evolution of symbiotic structures in nitrogen-fixing nodules and arbuscular mycorrhiza. *Journal of Theoretical Biology*, 2002, **214**: 215-232

[57] Parniske M. Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews*, 2008, **6**: 763-775

[58] Wang S-H (王树和), Wang C (王 昶), W X-J (王晓娟), *et al*. Molecular basics of tripartite symbiosis formed by rhizobia, arbuscular mycorrhizal (AM) fungi and legumes. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology* (应用与环境生物学报), 2008, **14** (5): 721-725 (in Chinese)

[59] Imaizumi-Anrakun H, Takeda N, Charpentier M, *et al*. Plastid proteins crucial for symbiotic fungal and bacterial entry into plant roots. *Nature*, 2005, **433**: 527-531

[60] Liu W-K (刘文科), Feng G (冯 固), Li X-L (李晓林). Effects of inoculation with different AM isolates on the maize growth and P uptake in acidic soil. *Chinese Journal of Eco-agriculture* (中国生态农业学报), 2006, **14**(2): 116-118 (in Chinese)

[61] Chalot M, Blaudez D, Brun A. Ammonia: A candidate for nitrogen transfer at the mycorrhizal interface. *Trends in Plant Science*, 2006, **11**: 263-266

作者简介 李元敬,男,1983 年生,硕士. 主要从事微生物代谢、土壤微生物与植物营养方面的研究. E-mail: liyuanjing@neigae.ac.cn

责任编辑 李凤琴