DOI: 10.5846/stxb201506241283
张亮,王晓娟,王强,王茜,张云飞,金樑.同位素示踪技术在丛枝菌根真菌生态学研究中的应用.生态学报,2016,36(10): - .
Zhang L, Wang X J, Wang Q, Wang Q, Zhang Y F, Jin L.The role of the isotope tracer technique in ecological research of arbuscular mycorrhizal fungi. Acta Ecologica Sinica,2016,36(10): - .

同位素示踪技术在丛枝菌根真菌生态学研究中的应用

张　亮[1],王晓娟[2],王　强[1],王　茜[1],张云飞[2],金　樑[2]
1 兰州大学 草地农业生态系统国家重点实验室 草地农业科技学院, 兰州　730020
2 上海自然博物馆 自然史研究中心,上海科技馆, 上海　200127

摘要:丛枝菌根(arbuscular mycorrhizal,AM)真菌是生态系统中重要的土壤微生物之一。AM 真菌菌丝体网络是由 AM 真菌菌丝体在土壤生态系统中连接两株或两株以上植物根系所形成的菌丝体网络。随着菌根学研究的深入,如何直观的揭示 AM 真菌的生态学功能已经成为相关领域关注的热点问题。研究发现,利用同位素示踪技术可以开展 AM 真菌与宿主植物对土壤矿质营养的吸收、转运等方面的研究,以及菌丝体网络对不同宿主植物之间营养物质的分配研究和 AM 真菌在生态系统生态学中的功能研究。基于此,为了阐明同位素示踪技术在 AM 真菌研究中的价值,本文围绕菌根学最新研究进展,系统回顾了利用同位素示踪技术探究 AM 共生体对不同元素吸收和转运的机制、同位素示踪技术在 AM 真菌菌丝体网络研究中的价值和利用同位素示踪技术研究 AM 真菌在生态系统中的功能,为 AM 真菌生态学功能的研究提供理论基础,并对本领域未来的研究方向和应用前景进行展望。

关键词:丛枝菌根真菌;丛枝菌根网络;生态系统;同位素示踪技术;吸收和转运机制

The role of the isotope tracer technique in ecological research of arbuscular mycorrhizal fungi

ZHANG Liang[1], WANG Xiaojuan[2], WANG Qiang[1], WANG Qian[1], ZHANG Yunfei[2], JIN Liang[2]
1 *State Key Laboratory of Grassland Agro-Ecosystem, School of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou* 730020, *China*
2 *Natural History Research Center, Shanghai Natural History Museum, Shanghai Science & Technology Museum, Shanghai* 200127, *China*

Abstract: Arbuscular mycorrhizal (AM) fungi are one of the most important soil microorganisms in terrestrial ecosystems. The arbuscular mycorrhizal network is formed by extraradical mycelium of AM fungi that connect two or more plant roots within the soil system. How to discover the roles of AM fungi in soil ecosystems has been a major focus of ecological research. It has been found that isotope tracer technique could be used for research on AM fungi and its role in nutrient absorption and transportation from soil to host plants. The isotope tracer technique could also be used to identify the mycorrhizal network distribution between different host plants, and to study the role of AM fungi in the ecosystem. To illustrate the value of the isotope tracer technique in AM fungi research, our study combined the latest research findings in the field of mycorrhizal ecology with the present findings and focused on: 1) the application of the isotope tracer technique in exploring the mechanisms of absorption and transportation of different elements in AM symbionts; 2) the value of the isotope tracer technique in arbuscular mycorrhizal network studies; 3) the use of the isotope tracer technique to study the roles of AM fungi in the ecosystem. Thus, the aim of this review was to provide a theoretical basis for, and to predict future prospects of the use of the isotope tracer technique in AM fungi research.

基金项目:国家自然科学基金项目(31270558); 上海科技馆引进高层次人才科研启动经费资助
收稿日期:2015-06-24;　　**修订日期**:2015-10-29
* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: jinliang@ sstm.org.cn

Key Words: arbuscular mycorrhizal fungi; arbuscular mycorrhizal network; ecosystem; isotope tracer technique; mechanism of absorption and transportation

AM 真菌是陆地生态系统中的重要组成部分,可以与大约 80%陆生高等植物的根系形成互惠共生体。AM 菌根共生体可以提高宿主植物对土壤矿质营养元素的吸收,促进植物的生长发育[1]。AM 真菌菌丝体通过连接两株或两株以上植物根系形成丛枝菌根网络(arbuscular mycorrhizal network,AMN),从而调节植物之间营养物质的分配和对资源的竞争[2]。通过 AMN,植物之间可以相互传递水分、矿质营养、化感物质,甚至信号物质等[3]。

随着菌根学研究的深入,当前的菌根生态学研究已经从个体、种群水平向群落和生态系统生态学方向发展,如何直观的揭示 AM 真菌的生态学功能已经成为相关领域关注的热点问题。研究发现,利用同位素示踪技术可以开展 AM 真菌与宿主植物对土壤矿质营养的吸收、转运等方面的研究。如利用^{32}P 或^{33}P 示踪技术研究发现菌根途径在植物吸收 P 元素过程中起到非常重要的作用。与非菌根营养植物相比,菌根营养植物在接种 AM 真菌后可以促进植物吸收更多的 P 元素,并将其转运给宿主植物利用[4]。另一方面,利用同位素示踪技术可以开展菌丝体网络对不同宿主植物之间营养物质的分配研究。在植物群落中,利用同位素示踪技术研究表明 AMN 在植物之间营养物质分配和资源竞争中发挥了重要的调节作用[5-6],而且也可以利用同位素示踪技术开展 AM 真菌在生态系统生态学中的功能研究。如利用^{15}N 和^{13}C 研究发现 AMN 可以促进生态系统中的 C 循环和 N 循环[7]。基于此,为了阐明同位素示踪技术在 AM 菌根生态学研究中的价值与功能,本研究拟围绕同位素示踪技术在菌根生态学领域已经取得的成果进行综述,以期为揭示 AM 真菌的生态学功能提供理论依据。

1 AM 共生体对不同营养元素吸收和转运的机制

目前,有关 AM 真菌的研究多关注其对宿主植物生长的促生效应,其中 AM 真菌菌丝体网络对营养元素的吸收和转运在菌根营养植物吸收土壤矿质营养中占有重要地位。AM 真菌与植物之间形成互惠共生的依据是营养的双向运输。植物供给 AM 真菌光合产物,而 AM 真菌可以促进宿主植物根系提高对土壤中低浓度、移动性弱的营养元素的吸收,尤其是 P 元素[8]。利用同位素示踪技术研究证实,AM 真菌菌丝体能够从土壤中获取营养物质(如 N、P、K 等),并将其转运给宿主植物以供其生长利用[9]。

1.1 AM 真菌吸收、转运 P 元素

由于植物根际土壤中 P 元素的移动性较差,植物根系只能吸收根毛到达区域的 P,造成该土壤微区域中 P 元素的匮乏。AM 真菌和宿主植物形成菌根共生体,扩大宿主植物根系的吸收范围。研究发现 AM 真菌菌丝体可以扩散至距离植物根系至少 11 cm 处的土壤区域[10]。Smith 等[8]利用^{32}P 示踪技术研究 AM 真菌根外菌丝体对土壤中 P 元素的吸收和转运,发现 AM 真菌菌丝体可以生长穿过营养匮乏区,进而可以吸收较远处的 P 元素。^{32}P 示踪技术在白车轴草(*Trifolium repens*)实验中也证实 AM 真菌显著促进宿主植物对 P 元素的吸收,其机理是由于 AM 真菌增强了根系细胞膜表面 P 转运蛋白的活性[11]。Ardakani 等[11]利用^{32}P 示踪技术研究不同 AM 真菌种类和不同小麦品种对小麦植株吸收营养元素的影响,发现菌根共生体吸收效率越高,小麦获取的^{32}P 越多。AM 真菌能够促进植物对土壤中 P 元素的吸收,但土壤中 P 元素的含量显著影响 AM 真菌与植物之间的互作:当土壤中可溶性 P 含量稀少时,植物通过菌根共生体而获益;当土壤中可溶性 P 含量丰富时,植物依赖自身的根系即可吸收到充足的 P 营养,导致从 AM 真菌共生体处获取的 P 元素减少或不提供 P 元素。同时 AM 真菌作为专性共生微生物,仍需从宿主植物处获取光合产物,导致 AM 真菌对宿主植物的种间关系转变为中性效应或抑制效应[12]。

随着相邻植物根系对土壤中 P 元素的消耗造成根系直接吸收土壤中 P 元素的量减少[8],由菌根途径吸收的 P 元素在植物体内 P 营养中起到重要作用。菌根植物可以通过根系表皮和根毛直接吸收 P 元素,或者

通过 AM 真菌的根外菌丝吸收。同位素示踪技术研究菌根共生体对 P 的吸收机制,发现菌根植物吸收过程包括植物根系直接吸收途径和菌根途径[4]。根系直接吸收过程主要是在根系表皮和根毛中高亲和力磷酸转运蛋白的作用下对磷酸盐进行吸收、转运。菌根途径主要位于根毛区,通过 AM 真菌根外菌丝体中高亲和力磷酸转运蛋白将土壤中的 P 以磷酸盐颗粒形式吸收到根外菌丝体内,受电化学势梯度的制约,在根外菌丝体内将磷酸盐转化为带负电荷的多聚磷酸盐,再将其转移到根内菌丝体中。多聚磷酸盐在根内菌丝体中转化为磷酸盐,随后将其转运释放到根系细胞间,通过质外体途径进行转运,最后在 H^+-ATPases 酶和磷酸转运蛋白的共同作用下将磷酸盐转运入根系皮层细胞,进入生理生化代谢循环(图 1)。

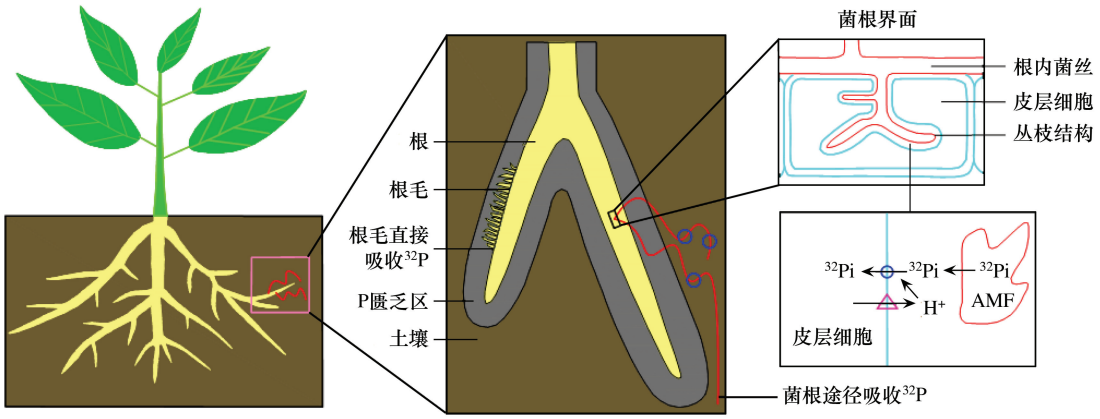

图 1　菌根营养植物根系直接或通过 AM 共生体吸收^{32}P 的过程示意图

Fig.1　The process of root uptake^{32}P directly or through AM symbionts in mycotrophic plant roots

图中蓝色圆圈表示磷酸转运蛋白;洋红色三角形表示 H^+-ATPases 酶;红色曲线条表示 AM 真菌菌丝;菌根界面表示根内菌丝在皮层细胞中形成的丛枝结构和 AM 共生体对^{32}P 的转运过程。植物根系快速吸收土壤中的 P 元素,造成靠近根系土壤区域为 P 匮乏区,而 AM 真菌菌丝体可以穿过 P 匮乏区吸收距离植物根系较远处的 P 元素

1.2　AM 真菌吸收转运 N 元素

AM 真菌菌丝体可以吸收土壤中的有机氮或者无机氮。由于 NH_4^+ 和 NO_3^- 可以在土壤中扩散和质流,当前对 AM 真菌吸收 N 元素矿质营养并将其转运给宿主植物根系的观点,与植物根系直接吸收 N 元素之间的关系尚存在争议[1, 13]。研究发现 AM 真菌根外菌丝体可以从根际土壤中吸收铵态氮(NH_4^+)和硝态氮(NO_3^-),并且 AM 真菌可以吸收氨基酸,并将吸收的 N 元素转运给宿主植物[14-15]。

同位素示踪技术研究证实 AM 真菌可以吸收土壤中不同形态的 N 元素,包括有机 N 和无机 N[16]。Frey 等[17]利用同位素示踪技术,采用分室培养系统研究发现 AM 真菌菌丝体吸收转运给宿主植物的 N 元素最高可达到植物总吸收 N 量的 30%。同位素示踪技术不仅证实 AM 真菌可以吸收转运土壤中的 N 元素,而且可以确定 AM 真菌供给宿主植物根系 N 元素的量。

1.2.1　AM 真菌对无机 N 的吸收转运

利用$^{15}NH_4^+$ 或者$^{15}NO_3^-$ 示踪技术,采用分室培养系统研究发现菌根植物转运^{15}N 高于无菌根植物。Johansen 等[18]研究发现 AM 真菌菌丝体吸收转运给黄瓜的 N 元素占植物总吸收 N 量的 0.6%—10%。Mäder 等[19]进一步发现通过菌根途径吸收转运给宿主番茄的 N 元素可达植物体总 N 的 42%。由于在这些试验中没有完全抑制 N 元素在分室之间的大量流动和扩散,因此不能区分宿主植物体内 N 元素的增加是由于 AM 真菌菌丝体的吸收作用所提供?还是由于 AM 真菌侵染引起宿主植物根系生长改变而造成的间接吸收作用?或者是由于宿主植物根系的直接吸收作用?近年来,利用空气隔板分室培养装置和^{15}N 示踪技术,在排除 N 元素在土壤中通过质流和扩散等途径移动的条件下,研究 AM 真菌根外菌丝体对 N 元素的吸收作用。在葫萝卜根系质粒离体培养(Ri-T-DNA-transformed carrot roots)条件下,利用^{15}N 示踪技术研究发现 AM 真菌根内球

囊霉(*Glomus intraradices*)的根外菌丝能够吸收铵态 N($^{15}NH_4^+$),并将其转运给宿主植物根系,但不能转运硝态 N($^{15}NO_3^-$)[20]。此外,也有一些研究获得了不同的结果,如 Govindarajulu 等[21]在根器官培养条件下,利用^{15}N标记 NH_4^+ 或者 NO_3^- 作为 N 源,发现 AM 真菌可以吸收铵态 N 和硝态 N。

采用分室培养系统,发现摩西球囊霉(*Glomus mosseae*)侵染芹菜后菌丝室内^{15}N转运给芹菜的量比未接种 AM 真菌的芹菜更多;而且当土壤中的 N 元素被强烈吸附于粘土矿物、仅以少量的铵态 N 形式存在时,AM 真菌对植物吸收 N 元素起到重要作用[10]。此外,利用^{15}N示踪技术研究 AM 真菌孢子中的 N 来源,证实 AM 真菌孢子中的 N 源大部分是从土壤中获得,少量 N 源通过根系分泌物获取[22]。

1.2.2 AM 真菌对有机 N 的吸收转运

有机 N 占土壤总 N 的绝大部分,研究发现 AM 真菌能够利用土壤中的有机 N。如 Jin 等[23]研究证实在单菌培养条件下根内球囊霉(*Glomus intraradices*)的根外菌丝体可以吸收精氨酸。采用^{15}N示踪技术,研究发现与不接种植物相比,菌根植物能更有效地吸收一些简单的有机态 N 元素,如氨基酸[24]。

利用同位素示踪技术研究表明,AM 真菌可以从复杂的有机 N 中吸收 N 元素。Leigh 等[25]将磨碎的植物地上部材料作为有机物质添加到菌丝室中,采用^{13}C和^{15}N示踪技术研究 AM 真菌能否分解有机 N? 结果发现植物通过 AM 真菌共生体可以获取^{15}N,但 AM 真菌没有转运^{13}C,表明有机 N 没有被 AM 真菌菌丝体吸收转运给宿主植物[25]。Hodge 等[26]研究发现 AM 共生体提高了土壤中有机物质(植物叶片)的分解,通过 AM 共生体从有机物质中获取的^{15}N占有机物质中总 N 量的 72%,但获取的这部分^{15}N仅仅占植物总 N 量的 7%。利用^{15}N标记磨碎的黑麦草地上部材料作为有机物质,研究 AM 真菌菌丝体对有机物质中 N 元素的吸收转运,采用三分室培养系统研究发现 AM 真菌菌丝体进入有机物质分室中的菌丝体数量超过未接种植物分室中的菌丝体数量。此外,接种室中植物^{15}N含量占有机物质中总 N 量的 15%,而对照组接种植物分室中的植物^{15}N含量仅为 5%,表明接种 AM 真菌后植物获得的额外 N 元素是由 AM 真菌菌丝体转运给宿主植物[26]。Hodge 等[27]研究发现 AM 真菌菌丝体可以获取有机物质中的^{15}N,并且与有机物质中菌丝体的增殖有关,但 AM 真菌菌丝体中没有^{13}C富集。说明 AM 真菌获取的是无机态 N,而不是有机态 N,可能是由于 AM 真菌没有腐生能力,不能分解有机物质。Smith 等[1]研究发现 AM 共生体与外生菌根、欧石兰类菌根不同,AM 真菌没有参与有机质中 N 的分解,但 AM 真菌可以促进将矿化的无机 N 转运给宿主植物。

1.2.3 AM 真菌对 N 元素的吸收转运机制

根内球囊霉(*G. intraradices*)的根外菌丝中含有谷氨酰胺合成酶和谷氨酸合成酶,目前已经成功地从摩西球囊霉(*G. mosseae*)中分离出谷氨酰胺合成酶并完成对其全部 cDNA 编码,同时还对根内球囊霉(*G. intraradices*)中谷氨酰胺合成酶的部分 cDNA 进行了编码。AM 真菌菌丝中富含氨基酸,其中主要的氨基酸包括天冬酰胺、精氨酸、谷氨酸、谷氨酰胺,表明 AM 真菌可以将从土壤中吸收的不同形态的 N 元素进行转化,以氨基酸的形式进行运输[27]。采用同位素示踪技术研究丛枝菌根共生体对 N 元素的转运机制,Jin 等[23]利用气相色谱法/质谱法、高性能液相色谱法和^{15}N示踪技术发现 AM 真菌在根外菌丝体内通过硝酸还原酶(nitrate reductase)以及谷氨酰胺合成酶/谷氨酸合成酶(glutamine synthetase/glutamate synthase)途径将吸收的不同形态的 N 元素同化,并经尿素循环过程形成精氨酸。精氨酸是根外菌丝体内主要的游离氨基酸,N 元素以精氨酸的形式从根外菌丝体传递到根内菌丝体。根内菌丝体中精氨酸经尿素循环及精氨酸分解酶分解形成鸟氨酸和尿素,尿素经脲酶分解释放出 NH_4^+。最后在根内菌丝和根系界面将 NH_4^+ 释放到质外体途径,最终转运到植物根系皮层细胞,合成宿主植物所需的氨基酸、蛋白质、核苷酸。

1.3 AM 共生体与 C 元素的分配

同位素示踪技术研究发现宿主植物可以为 AM 真菌分配 C 元素。Lekberg 等[28]利用$^{13}CO_2$标记仙女菊根姑草(*Hypochoeris radicata*),研究发现在冰冻的气候条件下植物可以将大约 30%的光合产物(C)分配给 AM 真菌。Fitter[29]研究发现植物可以为 AM 真菌供给 C 元素,并且经过 AM 真菌菌丝体将^{13}C释放到根际土壤区域。分析其原因是由于宿主植物供给 AM 真菌 C 元素营养是为了其自身可以通过 AM 真菌菌丝体的反馈作

用获取土壤中的矿质营养[30]。

AM 真菌不仅为宿主植物供给矿质营养,而且可以为土壤中的微生物群落分配 C 源。利用$^{13}CO_2$标记法研究 AM 共生体中 C 的流动过程,发现 AM 真菌菌丝体提供了一个快速、重要的 C 流动途径,AM 真菌将 C 从植物体中分配给土壤和大气环境[31]。利用纳米级二次离子质谱分析法和稳定同位素分析法可以探究菌根植物对^{13}C 的分配过程。Kaiser 等[32]利用$^{13}CO_2$标记小麦(*Triticum aestivum*)研究光合同化的 C 通过菌根植物根系分泌给根际土壤微生物的过程,发现光合产物在菌根植物根系内转运分配时根系韧皮部细胞内和 AM 真菌根内菌丝体内富集大量的^{13}C,并且研究发现菌根植物根系将光合产物分泌给土壤的过程既有 AM 真菌根外菌丝体的分泌,也有植物根系的直接分泌过程。与根系直接分泌^{13}C 相比,通过 AM 真菌途径分泌到土壤中的大部分光合产物均能被土壤中的不同微生物利用,表明 AM 真菌可以将植物的光合产物分泌到土壤中扮演重要的作用[32]。然而,Shahzad 等[33]利用^{13}C 示踪技术研究植物根系分泌物、AM 真菌和根际凋落物对根际效应的影响,发现 AM 真菌侵染植物根系后对根际效应影响不显著,根系分泌物主要促进土壤有机质的矿化。根系分泌物诱导根际效应,但未增加土壤微生物的生物量,而根际凋落物可以增加土壤微生物的生物量。由于 AM 真菌在响应植物土壤营养变化中扮演重要作用,AM 真菌对根际效应没有显著的影响可能是由于土壤中有效营养不同而导致。Kaiser 等[32]研究光合产物通过菌根的分配过程,发现将 NH_4^+ 添加到菌丝室后植物^{13}C 分配到菌丝室的量显著增加,以供给土壤微生物利用,从而有利于根际土壤中有益微生物的富集。

1.4　AM 真菌对其他元素的选择性吸收

AM 真菌菌丝体可以吸收和转运必需营养,而有关 AM 真菌对非必需元素的响应性研究较少。利用必需元素^{33}P 和非必需元素^{233}U 开展 AM 真菌对不同元素的吸收转运机制研究,发现 AM 真菌对不同元素具有不同的吸收策略,AM 真菌菌丝体吸收必需元素的量远大于非必需元素的量。另一方面,AM 真菌菌丝体自身存在有效的机制可以抑制对非必需元素^{233}U 的吸收和转移,并且 AM 真菌菌丝体对非必需元素具有较强的隔离功能[34]。这一研究结果与 Rufyikiri 等[35]研究 AM 真菌减少植物吸收重金属元素,缓解重金属毒害的作用一致。AM 真菌菌丝体对非必需元素的吸收和转运远低于必需元素。接种摩西球囊霉(*G. mosseae*)研究 AM 真菌菌丝体对^{32}P、^{65}Zn、^{35}S 的吸收转运,发现 AM 真菌对^{32}P 吸收转运效率最高,而对^{65}Zn 效率非常低[36]。Bago 等[37]研究 AM 真菌对不同元素吸收的差异性,发现 AM 真菌菌丝体内可以产生复杂的代谢过程调控其对不同元素的吸收。

AM 真菌可以吸收土壤环境中的重金属元素,Entry 等[38]利用^{137}Cs 和^{90}Sr 示踪技术研究发现摩西球囊霉(*G. mosseae*)或者根内球囊霉(*G. intraradices*)能够吸收^{137}Cs 和^{90}Sr 等有害元素,减轻其对土壤环境的危害。Zaefarian 等[39]利用同位素示踪技术研究菌根植物对土壤中重金属元素的吸收,发现紫花苜蓿(*Medicago sativa* L.)和摩西球囊霉(*G. mosseae*)形成的 AM 共生体能够高效地吸收 Co 元素和 Pb 元素,可以对重金属污染土壤进行修复,表明接种 AM 真菌可以作为修复和改造放射性同位素污染地区的一种低成本策略。

2　同位素示踪技术在菌丝体网络研究中的价值

AM 真菌菌丝体网络可以接受植物分配的 C 元素,也可以从土壤中吸收矿质营养,促进地下资源的分配。Pietikäinen 等[40]研究发现 AMN 增加植物对营养的竞争和分配。植物个体通过 AMN 分配地下资源,由此产生资源竞争或资源共享,进而调节植物之间的营养流动[41]。目前利用同位素示踪技术研究 AMN 在地下资源分配和植物之间营养物质的流动日趋增多,发现 AMN 可以在菌根植物之间转运营养物质(P、N、C)和水分[42]。

2.1　同位素示踪技术在地下资源调节中的应用

在植物群落中,当 AM 真菌形成的菌丝体网络连接同种或者异种植物时,AMN 将吸收到的营养物质依据不同植物对养分的需求程度进行分配。利用同位素示踪技术研究表明 AMN 进行地下资源分配存在一定的分配模式。如 Walder 等[43]研究菌丝体网络在亚麻(*Linum usitatissimum*)和高粱(*Sorghum bicolor*)混合种植群

落中的地下资源分配模式,发现亚麻供给 AM 真菌很少的 C 元素营养,但通过菌丝体网络获得的^{15}N 和^{33}P 比例却高达 94%,从而促进亚麻生长。高粱虽然供给 AM 真菌大量的 C 元素,但 AM 真菌菌丝体网络供给高粱的^{15}N 和^{33}P 却很少[43]。Lekberg 等[30]研究发现植物供给 AMN 充足的^{13}C,促进了 AM 真菌将吸收的^{32}P 转运给宿主植物。与转运光合产物和矿质营养元素类似,同位素示踪技术研究证实水分也可以通过地下 AMN 在植物之间进行传输。如 Egerton-Warburton 等[44]利用同位素示踪技术研究发现 AMN 可以在植物之间传递水分,并且通过菌丝体网络转运的水分对处于干旱胁迫条件下植物的生存具有重要的作用。

AMN 在维持植物群落稳定性方面也发挥了重要作用。利用同位素示踪技术研究证实通过菌丝体网络,植物之间可以相互转运地下资源,使营养物质在不同植物之间能够迅速的传输,从而实现地下资源的合理分配[41, 43]。

2.2 同位素示踪技术在不同植物之间营养物质分配调控中的应用

利用同位素示踪技术研究发现植物根系之间形成的菌丝体网络可以转运营养物质。Ren 等[45]采用分室培养法,利用 20 μm 孔径的尼龙网将 PVC 盒隔成菌丝室和根系室,菌丝室中种植水稻(*Oryza sativa*)和接种摩西球囊霉(*G. mosseae*),根系室间种水稻或者西瓜(*Citrullus lanatus*),利用$^{14}CO_2$标记菌丝室中的植物,结果表明通过 AMN 可以将^{14}C 转运给根系室中的水稻或者西瓜。利用$^{14}CO_2$标记植物叶片研究美洲猪牙花(*Erythronium americanum*)和糖槭(*Acer saccharum*)之间形成菌丝体网络的功能,发现$^{14}CO_2$标记美洲猪牙花叶片后,不仅在糖槭的地上部含有^{14}C,也在糖槭的根系中发现^{14}C,表明 AMN 可以将^{14}C 从供体植物转运给受体植物[42],AMN 在不同植物之间 C 转运方面具有重要作用。Fitter 等[46]研究发现 AM 真菌将^{13}C 转运给受体植物的根系与以上研究结果相一致。稳定同位素分析法证实,大多数无叶绿体的异养型植物可以通过 AMN 获取^{13}C,或者间接地从邻近自养型植物中获取营养元素[47]。

同位素示踪技术也可应用于 AMN 在供体植物和受体植物之间的营养分配研究。虽然 Jalonen 等[48]报道 N 元素很少通过菌根网络进行转运。但其他研究表明 AMN 在不同植株之间对^{15}N 的转运起到重要作用[49]。利用^{15}N 标记供体植物,研究受体植物中的 N 的丰度,结果发现 AMN 可以为受体植物转运大量的 N 元素[50]。Mikkelsen 等[8]利用^{32}P 作为示踪剂,研究 AM 真菌菌丝体融合对 AMN 转运 P 元素的影响,发现 P 元素可以在单一 AM 真菌菌丝体中转运,并且同种 AM 真菌菌丝体融合形成的 AMN 可以将^{32}P 转运给受体植物,而不同种类 AM 真菌菌丝体之间很难发生菌丝体融合。同位素示踪技术也应用于 AMN 在成株植物和幼苗之间对营养物质的竞争研究,如利用^{32}P 同位素研究发现根内球囊霉形成的菌丝体网络可以增加番茄(*Solanum lycopersicon*)幼苗和黄瓜(*Cucumis sativus*)成株之间对 P 元素的竞争,黄瓜获得大量的 P 元素,而番茄幼苗获取的 P 元素不足,导致番茄幼苗生长受抑制;通过刈割黄瓜成株地上部分可以缓解番茄幼苗的缺 P 症状,表明 AMN 可以将 AM 真菌菌丝体中的 P 元素转运给成株植物,而很少转运给幼苗,其原因是成株黄瓜可以为 AM 真菌提供大量的 C 元素[51]。

利用同位素示踪技术研究证实 AM 真菌的根外菌丝为宿主植物提供大部分的矿质营养物质。但是当宿主植物的基本需求获得满足之后,AM 真菌的促生作用可扩展到整个植物群落,从而导致竞争力强的植物减少对营养物质的获取,而竞争力弱的植物增大对营养物质的获取,进而对植物群落多样性的稳定和种类组成产生作用[6]。一般而言,植物幼苗生长初期容易受到资源限制的影响,通过 AMN 使其与周围植株连接起来,从而有助于幼苗的建植。当植物幼苗接种 AM 真菌后,其建植、存活的机会将大大增加,有助于维持生态系统的植物多样性。

3 利用同位素示踪技术研究 AM 真菌在生态系统中的功能

AM 真菌是连接植物根系与土壤的重要桥梁,AM 真菌根外菌丝体在植物根系之间形成菌丝桥,从而实现植物间 C、N、P 等矿质营养和信息的单向或双向传递[52]。同时 AM 真菌分泌的球囊霉素是生态系统中重要有机物质之一,以及球囊霉素对维持土壤结构具有重要的功能[53]。利用同位素示踪技术研究证实 AM 真菌

在生态系统 C 循环和 N 循环中发挥了重要作用[7, 54]。

3.1　碳同位素示踪技术探究 AM 真菌在 C 循环中的作用

AM 真菌获取宿主植物的光合产物,其分泌的球囊霉素具有较高的碳含量,说明 AM 真菌具有很强的碳汇能力。土壤有机碳是生态系统中的重要组成成分,AM 真菌分泌的球囊霉素有利于土壤有机碳的形成[53]。因此 AM 真菌的生物量和分泌到土壤中的代谢产物可以影响土壤的碳平衡。^{13}C 稳定性同位素探针揭示了 AM 真菌参与 C 循环[55]。利用^{14}C 示踪技术研究发现在土壤和植物界面中 AM 真菌对碳循环扮演重要角色,并且 AM 真菌在调节生物圈和大气层之间^{14}C 循环中发挥重要作用。另外 AM 真菌还可分泌酸性磷酸酶和碱性磷酸酶,进一步加强土壤团聚体的形成,促进土壤碳循环。此外,AM 真菌将获得的大量碳源通过呼吸作用释放到大气中,维持生态系统中的 C 循环[56]。

研究发现,土壤中的 AM 真菌根外菌丝可以快速周转,高周转率意味着 AM 真菌在全球碳循环中发挥重要作用[54]。利用^{14}C 示踪技术研究发现 AM 真菌菌丝体在一周之内周转一次[56]。AM 真菌菌丝体快速的周转率与土壤中有机质的形成和有机聚合体的分解息息相关[56]。Gamper 等[57]研究发现$^{14}CO_2$升高导致土壤中 AM 真菌对 C 的周转率上升,这一过程可能与 AM 真菌对 N 或者 P 的代谢利用具有相关性。因此,AM 真菌在营养物质代谢中的任何变化都将对 C 循环产生显著作用。

3.2　氮同位素示踪技术研究 AM 真菌在 N 循环中的作用

土壤中 N 循环是由一系列土壤微生物驱动的过程,利用同位素示踪技术研究表明 AM 真菌直接或者间接地影响土壤生态系统中的 N 循环。^{15}N 示踪技术表明,AMN 能够促进不同植物之间 N 元素的传输,并且 N 元素矿质营养在丛枝菌根共生体中的传输过程经历了一个“无机—有机—无机”的转变过程[18, 49],主要由 AM 真菌中的 2 个铵盐转运蛋白基因调控,转运蛋白基因属于 Mep/Amt 多基因家族的 AMT1、AMT2、AMT3 类型[58]。这一过程是 N 循环过程的重要组成部分,直接影响 N 循环。^{15}N 和^{13}C 标记植物根系凋落物,结合分子技术研究发现 AM 真菌主要吸收无机态的 N 元素,生态系统中 N 的输出是由 AM 真菌调节土壤微生物群落和凋落物分解过程的一种潜在机制调控[7]。AM 真菌调节^{15}N 在供体植物和受体植物之间传递[50],从而影响植物生长和竞争,进而维持生态系统稳定性。

利用^{15}N 和^{13}C 示踪技术研究发现 AM 真菌对 N 元素的获取能力很强,并且 AM 真菌生物量占土壤微生物生物量的 5%—10%[27]。研究发现 AM 真菌根外菌丝体具有较高的 N 含量,AM 真菌本身代表了土壤中的一个 N 库类型[26-27]。另外,考虑到 AM 真菌在全球范围分布的广泛性[27],以及 AM 真菌根外菌丝体能够迅速分解、转化[56],说明 AM 真菌在 N 循环中扮演着重要作用。

3.3　同位素自然丰度法探究 AM 真菌在 C、N 循环中的功能

^{15}N 和^{13}C 自然丰度法($\delta^{15}N$ 和 $\delta^{13}C$)不仅可以研究生物体中的营养流动和代谢途径[59]。而且利用同位素自然丰度法可以研究丛枝菌根共生体之间的营养分配。Courty 等[60]利用 N、C 同位素自然丰度法研究 AM 真菌和宿主植物之间对 C、N 同位素分配的不同模式,发现 AM 真菌孢子中^{13}C 同位素的丰度低于宿主植物茎叶中^{13}C 同位素的丰度,但是 AM 真菌孢子中^{15}N 丰度高于宿主植物茎叶中的^{15}N 丰度。不同菌根共生体中 AM 真菌菌株中脂肪酸 C16:1ω5 和 AM 真菌孢子中的 C 同位素组成是显著变化的,证实 AM 真菌和宿主植物之间的相互作用影响 AM 真菌共生体中的同位素丰度。

植物和土壤中的 $\delta^{13}C$ 和 $\delta^{15}N$ 值是评定不同生态系统中植物对营养元素的吸收模式和反映生态系统中碳氮循环的有效指标[61]。利用 $\delta^{13}C$ 法可以测定 AM 真菌对土壤碳循环及土壤重要有机碳组分转化的影响。与无菌根植物相比较,AM 真菌改变了其 C_3 宿主植物^{13}C 丰度[62],而 Fonseca 等[63]研究发现幼套球囊霉(*Glomus etunicatum*)不会诱导宿主植物高粱^{13}C 的富集,主要是由于 AM 真菌没有腐生能力造成的。利用稳定性同位素质谱仪测定样品中$^{13}C/^{12}C$ 比值,通过与标准碳同位素比值之差获得 $\delta^{13}C$ 值,表明 AM 真菌对生态系统中碳循环的调节能力。采用 $\delta^{13}C$ 法研究农田生态系统作物—土壤—大气连续体中^{13}C 的变化规律,发现 AM 真菌促进土壤有机碳的累积及其分解转化过程[54, 56],调节碳循环过程。

$\delta^{15}N$ 法可以反映生态系统中 N 的输入、输出和 N 同位素分馏过程[59]。AM 真菌通过与腐生真菌和细菌竞争 N 元素而影响土壤中的 N 有效性,并且 AM 真菌可以同化无机 N 和有机 N,增加了植物 $\delta^{15}N$ 值[64]。AM 真菌调节生态系统中的 N 损失率是通过影响腐生真菌和细菌作用下的硝化作用和反硝化作用而造成的。Hobbie 等[64]研究 AM 真菌和其他土壤微生物之间的共同作用对植物和土壤中 $\delta^{15}N$ 值的影响,发现 AM 真菌可以调节生态系统中的 N 损失率,并且 $\delta^{15}N$ 值受气候条件的影响。AM 真菌调节植物群落,以及植物和土壤生态系统中的 N 流动,减少生态系统中 N 的损失,增加植物和土壤 $\delta^{15}N$ 值[60],从而调控生态系统中的 N 循环过程。

4 展望

综上所述,自同位素示踪技术应用于菌根学领域以来,利用该技术研究 AM 真菌的生态学功能已经成为菌根学研究的热点之一。同位素示踪技术是研究 AM 真菌吸收转运矿质元素的一项专用技术。该技术的应用为 AM 真菌在植物群落中的功能研究提供了一条有效途径。然而,利用同位素示踪技术研究 AM 真菌生态功能尚有如下问题亟待解决:

1)利用^{15}N 示踪技术研究发现 AM 真菌不是直接分解有机物质,而是 AM 真菌与土壤中其他分解者之间的相互作用对 AM 真菌吸收有机物质中的 N 起决定性作用[16]。但是,在这一吸收转运过程中尚没有考虑到 AM 真菌菌丝体对 N 的储藏,低估了菌根途径的作用。结合^{15}N 示踪技术研究 AM 真菌吸收转运的 N 元素是否在植物吸收总 N 量中起生理上的显著作用? 菌根侵染是否改变植物根系功能? 是未来菌根学研究的热点问题之一。

2)13C 示踪技术研究发现 AM 真菌菌丝体和植物根系两种途径将植物光合产物分配到土壤微生物群落,其差异性表明菌丝际 C 释放比根际 C 释放的光合产物更能被土壤微生物利用[32]。但是尚未鉴定出转运的光合产物是否从植物根系到 AM 真菌? 也没有证据支持根内菌丝体内富集的光合产物是从周围根系细胞获取。虽然利用^{14}C 示踪技术研究发现 AM 真菌菌丝体网络在调节植物群落中扮演潜在的重要作用,但菌根网络在自然界中的基本生理机能了解尚少。菌丝体网络在植物之间 C 元素营养交换是否具有均一性,也尚未明确。因此,需要结合^{13}C 标记法进一步研究菌根植物分泌光合产物的过程,以及利用^{14}C 示踪技术研究 C 元素在 AM 真菌菌丝体网络中的转运机制。

3)利用^{32}P 和^{15}N 研究发现 AMN 在植物群落地下资源的分配中扮演重要角色,影响地下资源的有效性[43, 65]。考虑到植物和 AM 真菌群落在自然生态系统中扮演的重要作用,有必要利用^{15}N 示踪技术研究增加土壤资源有效性导致群落变化产生的生态后果,该结果将有助于预测全球生态变化的影响,例如营养沉积和大气雾霾。

4)14C 示踪技术研究发现 AM 真菌对土壤有机碳的形成具有重要作用[56],但在生态系统 C 循环过程中,AM 真菌对 C 同位素分馏的影响机理尚未明确。AM 真菌和其他土壤微生物都可以影响 N 循环[60],到底哪一种作用占据主导地位,还是两者的共同作用调控 N 循环也尚未明确。因此,在全球变化背景下,尚需结合同位素自然丰度法进一步研究 AM 真菌对生态系统中 C、N 循环的影响。

参考文献(References):

[1] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal Symbiosis. 3rd ed. London, UK: Academic Press Ltd, 2008.

[2] Simard S W. The foundational role of mycorrhizal networks in self-organization of interior Douglas-fir forests. Forest Ecology and Management, 2009, 258: 95-107.

[3] Babikova Z, Gilbert L, Bruce T J A, Birkett M, Caulfield J C, Woodcock C, Pickett J A, Johnson D. Underground signals carried through common mycelial networks warn neighbouring plants of aphid attack. Ecology Letters, 2013, 16(7): 835-843.

[4] Smith S E, Smith F A. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. Plant Biology, 2011, 62: 227-250.

[5] Mikkelsen B L, Rosendahl S, Jakobsen I. Underground resource allocation between individual networks of mycorrhizal fungi. New Phytologist, 2008, 180(4): 890-898.

[6] Simard S W, Beiler K J, Bingham M A, Deslippe J R, Philip L J, Teste F P. Mycorrhizal networks: mechanisms, ecology and modelling. Fungal Biology Reviews, 2012, 26(1): 39-60.

[7] Nuccio E E, Hodge A, Pett-Ridge J, Herman D J, Weber P K, Firestone M K. An arbuscular mycorrhizal fungus significantly modifies the soil bacterial community and nitrogen cycling during litter decomposition. Environmental Microbiology, 2013, 15(6): 1870-1881.

[8] Smith S E, Smith F A, Jakobsen I. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. Plant Physiology, 2003, 133(1): 16-20.

[9] Ryan M H, Tibbett M, Edmonds-Tibbett T, Suriyagoda L D B, Lambers H. Carbon trading for phosphorus gain: the balance between rhizosphere carboxylates and arbuscular mycorrhizal symbiosis in plant phosphorus acquisition. Plant, Cell & Environment, 2012, 35(12): 2170-2180.

[10] Johansen A, Jakobsen I, Jensen E S. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L.3. Hyphal transport of ^{32}P and ^{15}N. New Phytologist, 1993, 124(1): 61-68.

[11] Ardakani M R, Rejali F, Daei G, Teimuri S, Fathollahi H, Miransari M. ^{32}P Isotope to determine the efficiency of mycorrhizal wheat symbiosis subjected to saline water. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2013, 44(22): 3317-3326.

[12] Yang G W, Liu N, Lu W J, Wang S, Kan H M, Zhang Y J, Xu L, Chen Y L. The interaction between arbuscular mycorrhizal fungi and soil phosphorus availability influences plant community productivity and ecosystem stability. Journal of Ecology, 2014, 102(4): 1072-1082.

[13] Jensen E S. Barley uptake of N deposited in the rhizosphere of associated field pea. Soil Biology and Biochemistry, 1996, 28(2): 159-168.

[14] Vázquez M, Barea J, Azcón R. Impact of soil nitrogen concentration on *Glomus* spp. -*Sinorhizobium* interactions as affecting growing, nitrate reductase activity and protein content of *Medicago sativa*. Biology and Fertility of Soils, 2001, 34(1): 57-63.

[15] Li H, Wang C, Li X L, Christie P, Dou Z X, Zhang J L, Xiang D. Impact of the earthworm *Aporrectodea trapezoides* and the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* on ^{15}N uptake by maize from wheat straw. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49(3): 263-271.

[16] Hodge A, Storer K. Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. Plant and Soil, 2015, 386(1/2): 1-19.

[17] Frey B, Schüepp H. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. New Phytologist, 1993, 124(2): 221-230.

[18] Johansen A, Jakobsen I, Jensen E S. Hyphal transport of ^{15}N-labelled nitrogen by a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus and its effect on depletion of inorganic soil N. New Phytoiogist, 1992, 122(2): 281-288.

[19] Mäder P, Vierheilig H, Streitwolf-Engel R, Boller T, Frey B, Christie P, Wiemken A. Transport of ^{15}N from a soil compartment separated by a polytetrafluoroethylene membrane to plant roots via the hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. New Phytologist, 2000, 146(1): 155-161.

[20] Hawkins H J, Johansen A, George E. Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi. Plant and Soil, 2000, 226(2): 275-285.

[21] Govindarajulu M, Pfeffer P E, Jin H, Abubaker J, Douds D D, Allen J W, Bücking H, Lammers P J, Shachar-Hill Y. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. Nature, 2005, 435(7043): 819-823.

[22] Nakano A, Takahashi K, Koide R T, Kimura M. Determination of the nitrogen source for arbuscular mycorrhizal fungi by ^{15}N application to soil and plants. Mycorrhiza, 2001, 10(6): 267-273.

[23] Jin H, Pfeffer P E, Douds D D, Piotrowski E, Lammers P J, Shachar-Hill Y. The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis. New Phytoiogist, 2005, 168(3): 687-696.

[24] Cliquet J B, Murray P J, Boucaud J. Effect of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus fasciculatum* on the uptake of amino nitrogen by *Lolium perenne*. New Phytologist, 1997, 137(2): 345-349.

[25] Leigh J, Hodge A, Fitter A H. Arbuscular mycorrhizal fungi can transfer substantial amounts of nitrogen to their host plant from organic material. New Phytologist, 2008, 181(1): 199-207.

[26] Hodge A, Campbell C D, Fitter A H. An arbuscular mycorrhizal fungus accelerates decomposition and acquires nitrogen directly from organic material. Nature, 2001, 413(6853): 297-299.

[27] Hodge A, Fitter A H. 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(31): 13754-13759.

[28] Lekberg Y, Rosendahl S, Michelsen A, Olsson P A. Seasonal carbon allocation to arbuscular mycorrhizal fungi assessed by microscopic examination, stable isotope probing and fatty acid analysis. Plant and Soil, 2013, 368(1/2): 547-555.

[29] Fitter A H. What is the link between carbon and phosphorus fluxes in arbuscular mycorrhizas? a null hypothesis for symbiotic function. New Phytologist, 2006, 172(1): 3-6.

[30] Lekberg Y, Hammer E C, Olsson P A. Plants as resource islands and storage units-adopting the mycocentric view of arbuscular mycorrhizal networks. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 74(2): 336-345.

[31] Johnson D, Leake J R, Ostle N, Ineson P, Read D J. *In situ* $^{13}CO_2$ pulse-labelling of upland grassland demonstrates a rapid pathway of carbon flux from arbuscular mycorrhizal mycelia to the soil. New Phytologist, 2002, 153(2): 327-334.

[32] Kaiser C, Kilburn M R, Clode P L, Fuchslueger L, Koranda M, Cliff J B, Solaiman Z M, Murphy D V. Exploring the transfer of recent plant photosynthates to soil microbes: mycorrhizal pathway vs direct root exudation. New Phytologist, 2015, 205(4): 1537-1551.

[33] Shahzad T, Chenu C, Genet P, Barot S, Perveen N, Mougin C, Fontaine S. Contribution of exudates, arbuscular mycorrhizal fungi and litter depositions to the rhizosphere priming effect induced by grassland species. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 80: 146-155.

[34] Rufyikiri G, Declerck S, Thiry Y. Comparison of ^{233}U and ^{33}P uptake and translocation by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* in root organ culture conditions. Mycorrhiza, 2004, 14(3): 203-207.

[35] Rufyikiri G, Declerck S, Dufey J E, Delvaux B. Arbuscular mycorrhizal fungi might alleviate aluminium toxicity in banana plants. New Phytologist, 2000, 148(2): 343-352.

[36] Cooper K M, Tinker P B. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. II. Uptake and translocation of phosphorus, zinc and sulphur. New Phytologist, 1978, 81(1): 43-52.

[37] Bago B, Pfeffer P E, Zipfel W, Lammers P, Shachar-Hill Y. Tracking metabolism and imaging transport in arbuscular mycorrhizal fungi. Metabolism and transport in AM fungi. Plant and Soil, 2002, 244(1/2): 189-197.

[38] Entry J A, Watrud L S, Reeves M. Accumulation of ^{137}Cs and ^{90}Sr from contaminated soil by three grass species inoculated with mycorrhizal fungi. Environmental Pollution, 1999, 104(3): 449-457.

[39] Zaefarian F, Rezvani M, Ardakani M R, Rejali F, Miransari M. Impact of mycorrhizae formation on the phosphorus and heavy-metal uptake of alfalfa. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 2013, 44(8): 1340-1352.

[40] Pietikäinen A, Kytöviita M -M. Defoliation changes mycorrhizal benefit and competitive interactions between seedlings and adult plants. Journal of Ecology, 2007, 95(4): 639-647.

[41] Bever J D, Dickie I A, Facelli E, Facelli J M, Klironomos J, Moora M, Rilliq M C, Stock W D, Tibbet M, Zobel M. Rooting theories of plant community ecology in microbial interactions. Trends in Ecology & Evolution, 2010, 25(8): 468-478.

[42] Lerat S, Gauci R, Catford J G, Vierheiling H, Piché Y, Lapointe L. ^{14}C transfer between the spring ephemeral *Erythronium americanum* andsugar maple saplings via arbuscular mycorrhizal fungi in natural stands. Oecologia, 2002, 132(2): 181-187.

[43] Walder F, Niemann H, Natarajan M, Lehmann M F, Boller T, Wiemken A. Mycorrhizal networks: common goods of plants shared under unequal terms of trade. Plant Physiology, 2012, 159(2): 789-797.

[44] Egerton-Warburton L M, Querejeta J I, Allen M F. Common mycorrhizal networks provide a potential pathway for the transfer of hydraulically lifted water between plants. Journal of Experimental Botany, 2007, 58(6): 1473-1483.

[45] Ren L X, Lou Y S, Zhang N, Zhu X D, Hao W Y, Sun S B, Shen Q R, Xu G H. Role of arbuscular mycorrhizal network in carbon and phosphorus transfer between plants. Biology and Fertility of Soils, 2013, 49(1): 3-11.

[46] Fitter A H, Graves J D, Watkins N K, Robinson D, Scrimgeour C. Carbon transfer between plants and its control in networks of arbuscular mycorrhizas. Functional Ecology, 1998, 12(3): 406-412.

[47] Courty P E, Walder F, Boller T, Ineichen K, Wiemken A, Rousteau A, Selosse M A. Carbon and nitrogen metabolism in mycorrhizal networks and mycoheterotrophic plants of tropical forests: a stable isotope analysis. Plant Physiology, 2011, 156(2): 952-961.

[48] Jalonen R, Nyqren 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 & Environment, 2009, 32(10): 1366-1376.

[49] Johansen A, Finlay R D, Olsson P A. Nitrogen metabolism of external hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. New Phytologist, 1996, 133(4): 705-712.

[50] Teste F P, Veneklaas E J, Dixon K W, Lambers H. Is nitrogen transfer among plants enhanced by contrasting nutrient-acquisition strategies? Plant, Cell and Environment, 2015, 38: 50-60.

[51] Merrild M P, Ambus P, Rosendahl S, Jakobsen I. Common arbuscular mycorrhizal networks amplify competition for phosphorus between seedlings and established plants. New Phytologist, 2013, 200(1): 229-240.

[52] Read D. Mycorrhizal fungi: the ties that bind. Nature, 1997, 388(6642): 517-518.

[53] Read D J, Perez-Moreno J. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems-a journey towards relevance? New Phytologist, 2003, 157(3): 475-492.

[54] Staddon P L, Ramsey C B, Ostle N, Ineson P, Fitter A H. Rapid turnover of hyphae of mycorrhizal fungi determined by AMS microanalysis of ^{14}C. Science, 2003, 300(5622): 1138-1140.

[55] Vandenkoornhuyse P, Mahé S, Ineson P Staddon P, Ostle N, Cliquet J B, Francez A J, Fitter A H, Young J P W. Active root-inhabiting microbes identified by rapid incorporation of plant-derived carbon into RNA. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104(43): 16970-16975.

[56] Zhu Y G, Miller R M. Carbon cycling by arbuscular mycorrhizal fungi in soil-plant systems. Trends in Plant Science, 2003, 8(9): 407-409.

[57] Gamper H, Hartwig U A, 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(2): 531-542.

[58] Pérez-Tienda J, Testillano P S, Balestrini R, Fiorilli V, Azcón-Aguilar C, Ferrol N. GintAMT2, a new member of the ammonium transporter family in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. Fungal Genetics and Biology, 2011, 48(11): 1044-1055.

[59] Dawson T E, Mambelli S, Plamboeck A H, Templer P H, Tu K P. Stable isotopes in plant ecology. Annual Review of Ecology and Systematics, 2002, 33: 507-559.

[60] Courty P E, Doubkov P, Calabrese S, Niemann H, Lehmann M F, Vosátka M, Selosse M A. Species-dependent partitioning of C and N stable isotopes between arbuscular mycorrhizal fungi and their C_3 and C_4 hosts. Soil Biology and Biochemistry, 2015, 82: 52-61.

[61] Cheng S L, Fang H J, Yu G R, Zhu T H, Zheng J J. Foliar and soil ^{15}N natural abundances provide field evidence on nitrogen dynamics in temperate and boreal forest ecosystems. Plant and Soil, 2010, 337(1/2): 285-297.

[62] Querejeta J I, Barea J M, Allen M F, Caravaca F, RoldánA. Differential response of $\delta^{13}C$ and water use efficiency to arbuscular mycorrhizal infection in two aridland woody plant species. Oecologia, 2003, 135(4): 510-515.

[63] Fonseca H M, Berbara R L, Daft M J. Shoot $\delta^{15}N$ and $\delta^{13}C$ values of non-host *Brassica rapa* change when exposed to ± *Glomus etunicatum* inoculum and three levels of phosphorus and nitrogen. Mycorrhiza, 2001, 11(3): 151-158.

[64] Hobbie E A, H agberg P. Nitrogen isotopes link mycorrhizal fungi and plants to nitrogen dynamics. New Phytologist, 2012, 196(2): 367-382.

[65] Liu Y J, Mao L, Li J Y, Shi G X, Jiang S J, Ma X J, An L Z, Du G Z, Feng H Y. Resource availability differentially drives community assemblages of plants and their root-associated arbuscular mycorrhizal fungi. Plant and Soil, 2015, 386(1/2): 341-355.