

不同氮素形态比例条件下接种 AMF 对玉米氮同化关键酶的影响

邓胤, 申鸿, 罗文倩, 郭涛*

(西南大学资源环境学院 重庆 400716)

摘要:以珍珠岩为基质,通过供应3种不同的 $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ 比例营养液,研究了接种丛枝菌根真菌对玉米氮同化关键酶活性的影响。结果看出,与不接种的玉米植株相比,接种 *Glomus intraradices* 和 *Glomus mosseae* 分别在 $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^- = 3:1$ 和 $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^- = 1:3$ 形态下提高了植物叶片的硝酸还原酶活性;接种 AMF 对叶片谷氨酰胺合成酶活性(GS)影响不大,但在 $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^- = 3:1$ 形态下接种3种 AMF 处理均显著提高了根系 GS 活性,相对提高了铵态氮在地下部的同化比例。在铵态氮比例较高时,接种 AMF 的促生效应较好,且 AMF 提高根系 GS 活性作用较大。表明丛枝菌根真菌在促进宿主植物对铵态氮的利用作用较大。

关键词:丛枝菌根真菌;铵态氮;硝态氮;谷氨酰胺合成酶

中图分类号:S513.062;Q949.32

文献标识码:A

文章编号:1008-505X(2009)06-1380-06

Effects of AMF on key enzymes of nitrogen assimilation in maize under different ammonium to nitrate ratios

DENG Yin, SHEN Hong, LUO Wen-qian, GUO Tao*

(College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: The effect of three arbuscular mycorrhizal fungus (AMF) on growth and key enzyme activities of nitrogen assimilation was measured in maize under three different ratios of $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ using perlite as the substance. The results showed that, nitrate reductase activity on maize leaf was enhanced by *Glomus intraradices* and *Glomus mosseae* inoculation when the ratios of $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ were 3:1 and 1:3, respectively. The activity of glutamine synthetase (GS) of maize leaf was not affected significantly by AMF, but all the three AMF inoculation enhanced GS activity of roots and the ratio of ammonium assimilated in roots at $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^- = 3:1$. Under the conditions of high ammonium content, AMF had a significant impact upon plant growth promotion, and root GS activity enhancement, as the result, AMF play an more important role in ammonium utilization of host plants.

Key words: arbuscular mycorrhizal fungi; ammonium; nitrate; glutamine synthetase

丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)是一类能与植物根系形成互惠共生结构—菌根的根际微生物。AMF通过植物的根系获得碳水化合物,而菌根的形成主要促进植物对养分的吸收,特别是磷素的吸收,从而提高植物的抗干旱、盐害、病虫害、重金属污染等能力^[1-2]。

近年来,越来越多的报道指出,接种 AMF 能改善宿主植物的氮素营养状况。丛枝菌根菌丝能吸收、转移相当数量的 NH_4^+-N 和 NO_3^--N 并传递给宿主植物^[3-4];菌丝吸收的氮可占到植株总氮量的 30%^[5]。值得注意的是,菌根真菌有偏好吸收铵态氮的特点^[6-8],这涉及到植物接种 AMF 后有关氮代

收稿日期:2008-09-12 接受日期:2009-04-17

基金项目:国家自然科学基金(40701085);西南大学科研启动基金(SWUB 2006044)资助。

作者简介:邓胤(1984—)男,重庆人,硕士研究生,从事菌根与植物营养方面的研究工作。E-mail: yin.d.1984@163.com

* 通讯作者 E-mail: guotaoshd@yahoo.com.cn

谢酶类的活性变化。植物对于氮素的同化主要是通过 GS - GOGAT 途径完成的,其中硝酸还原酶(Nitrate reductase, NR)和谷氨酰胺合成酶(Glutamine synthetase, GS)是氮素同化中的关键酶,其活性的大小、地上部和根系的分配比例在一定程度上反应了植物利用、同化无机氮的能力^[9]。因此,研究接种丛枝菌根真菌对宿主植物硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶的影响,有助于了解氮进入菌根共生体后的生理代谢机制过程,对理解菌丝吸收利用氮素的机制具有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的 3 个 AM 菌种为: *G. mosseae*、*G. intraradices*、*G. etunicatum* 均来自西南大学植物营养实验室,采用三叶草扩繁,接种剂为含有 AMF 孢子、菌丝片段、侵染根段的河沙。供试玉米品种为渝糯 7 号。试验采用半水培的方法,培养基为珍珠岩,珍珠岩用去离子水反复清洗,晾干后 160℃ 干热灭菌 3h 备用。

1.2 试验设计

试验在西南大学植物营养培养室内进行。设 2 个因素,即不同形态氮素比例的营养液处理和接种处理。营养液处理包含 3 种不同形态氮素比例,在总氮浓度不变(4 mmol/L)的基础上设铵态氮:硝态氮(以下以 A:N 表示)分别为 3:1、1:1、1:3,每种氮素形态比例营养液水平下又分别设 3 个接种不同菌根真菌的处理及一个不接种的对照,重复 4 次,共计 $3 \times 4 \times 4 = 48$ 盆。

玉米种子用 10% 的 H_2O_2 消毒 10 min, 25℃ 暗室催芽,待发芽后选择 3 粒播入容积约 2.5 L 的塑料盆。盆中装珍珠岩 2 L、接种剂 200 g,接种剂预先播于种子下方的珍珠岩中,并与珍珠岩混匀;不接种对照用等质量的灭菌河沙取代并加 10 mL 的菌种滤液保持根际微生物区系的一致。出苗 2 d 后保留生长一致的植株 2 株。

试验用营养液为修改后的 LANS 营养液。其组成大量元素(mmol/L)为 NH_4NO_3 2, NaH_2PO_4 0.094, Na_2HPO_4 0.006, K_2SO_4 1, $CaCl_2$ 2, $MgSO_4$ 0.75; 微量元素(μ mol/L)为 H_3BO_3 69, $CuSO_4$ 1.7, $ZnSO_4$ 1.2, $MnSO_4$ 10.4, $NaMoO_4$ 0.13, $Fe-EDTA$ 0.3。其中以 NH_4Cl 和 KNO_3 取代原营养液的 NH_4NO_3 , 使 $NH_4^+ : NO_3^-$ 分别为 3:1, 1:1, 1:3, 保持总氮浓度在 4 mmol/L 不变,调节营养液 pH 值为 6.0。装盆时每盆施加 1/10 强度的

营养液 350 mL, 7 d 后改为半强度营养液, 13 d 后开始投加全强度 LANS 营养液。每天称重并补加营养液,保持珍珠岩的持水量为最大持水量的 70% 左右。

1.3 收获及测定

于播种后 60 d 收获,收获前 6 d 测定植株中部功能叶中的硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶的活性。收获时分为地上部和根系,根系洗净后剪成 1 cm 长的根段并混匀,取 1 g 用于测定侵染强度、丛枝丰度,另取 0.5 g 用于谷氨酰胺合成酶活性的测定。剩余样品 105℃ 杀青 30 min, 70℃ 烘干 3 d 用于测定生物量、全氮、全磷。

植株全氮采用凯氏定氮法,全磷采用钒钼黄比色法测定。硝酸还原酶的测定采用离体法^[10],活性单位以每克鲜重每小时反应生成的亚硝态氮的微克数表示;谷氨酰胺合成酶的测定采用 Cren 和 Hirel 的方法^[11],并用 γ -monohydroxamate 作标准曲线,活性单位以每克鲜重每小时反应生成的 γ -monohydroxamate 的微摩尔数表示。

用于侵染率测定的根样先用曲利苯蓝染色,再随机选取 30 条根段于显微镜下观测,按 Trouvelof^[12] 等描述的方法将根段侵染强度分为 6 个等级,丛枝丰度分为 4 个等级,统计并计算根系菌根侵染强度及根系丛枝丰度。

试验数据应用 SAS 软件(Version 8.02; SAS Institute, Cary, NC)进行二因素统计分析,并检验各处理平均值间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 菌根真菌侵染状况

接种处理侵染强度和根系丛枝丰度(表 1)看出,所有接种处理的侵染强度均在 45% 以上,形成了良好的菌根共生结构,不接种处理未发现 AMF 的侵染。不同氮素形态比例处理对根段侵染强度和丛枝丰度影响差异不显著。*G. etunicatum* 的侵染强度和丛枝丰度在各种氮素形态比例下均为最高,平均值分别为 75.4% 和 52.7%。

2.2 植株生物量

表 1 还看出,植株地上部和根系干重在 A:N = 3:1 条件下达到最大值,显著高于其它 2 个供氮比例。接种不同丛枝菌根真菌对玉米生物量的影响不同,表现为在 A:N = 3:1 条件下,接种 *G. intraradices* 和 *G. mosseae* 比不接种对照显著提高了植株地上部生物量,分别提高 17.5% 和 27.0%;接

种 *G. etunicatum* 也有提高地上部干重的趋势。而随着铵态氮比例的下降,硝态氮比例的上升,接种处理对植株地上部生物量的促生效应呈现逐渐降低的趋势。在 A:N=1:3 条件下,接种与不接种处理地上部干重均无差异。接种处理显著影响了根系的生物

量,在 A:N=1:3 条件下,所有接种处理的根系生物量均显著高于不接种处理,接种 *G. etunicatum* 对根系生物量的促生效果最为显著,平均提高了 53.5%。

表 1 不同氮素形态比例处理下接种 AMF 的玉米地上部、根系干重及菌根真菌侵染强度和根系丛枝丰度
Table 1 Shoot dry weight, root dry weight, frequency of mycorrhiza in the root system and arbuscule abundance of non-mycorrhizal and mycorrhizal maize plants under different $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ ratio

氮素形态比例 N forms ratio	接种处理 Mycorrhizal status	地上部干重 Shoot DW (g/plant)	根系干重 Root DW (g/plant)	根系侵染强度(%) Frequency of mycorrhiza in root	根系丛枝丰度(%) Arbuscule abundance in root
A:N=3:1	Non-mycorrhizal	5.53 c	1.17 b	nd	nd
	<i>G. intraradices</i>	6.50 ab	1.33 ab	48 b	31 b
	<i>G. mosseae</i>	7.02 a	1.50 ab	45 b	27 b
	<i>G. etunicatum</i>	5.78 bcA	1.58 aA	75 aA	52 aA
A:N=1:1	Non-mycorrhizal	4.91 b	0.88 b	nd	nd
	<i>G. intraradices</i>	6.47 a	1.27 a	51 b	35 b
	<i>G. mosseae</i>	5.16 b	1.12 ab	48 b	34 b
	<i>G. etunicatum</i>	5.70 abB	1.40 aB	79 aA	55 aA
A:N=1:3	Non-mycorrhizal	5.34 a	0.79 b	nd	nd
	<i>G. intraradices</i>	5.54 a	1.41 a	62 b	42 ab
	<i>G. mosseae</i>	5.69 a	1.28 a	54 b	35 b
	<i>G. etunicatum</i>	5.37 aB	1.38 aB	73 aA	51 aA

注:A:N表示 $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$;nd表示无菌根真菌侵染。同一列数值后不同小写字母表示同一氮素形态处理下不同接种处理间差异达5%显著水平;不同大写字母表示3个不同氮素形态处理间差异达5%水平显著,下同。

Note:A:N denotes $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$; nd indicate not determined, no colonization observed. Within each column, values followed by different letters within a N form treatment are significant at 5% level, and different capital letter denote the mean values for different N forms treatments are significant at 5% level. The same symbols are used for table 2.

2.3 植株氮、磷营养状况

A:N=1:3 处理显著降低了植株地上部和根系的氮含量,仅为 A:N=3:1 时的 82.1% 和 74.8%。植株的吸氮量有随铵态氮比例的下降而下降的趋势(表 2)。接种处理对植株地上部氮含量的影响差异不显著,但在 A:N=3:1 条件下接种 *G. etunicatum* 显著提高了根系的氮含量。接种 *G. mosseae* 的玉米地上部吸氮量在 A:N=3:1 处理时显著高于其它 A:N 处理。而接种 *G. etunicatum* 的玉米根系吸氮量在所有供氮比例下均显著高于对照处理,与对照相比平均高出 68.2%。

植株地上部、根系的磷含量和吸磷量有随着铵态氮比例的下降而下降的趋势(表 2)。在本试验条件下,接种处理对植株地上部磷含量和吸磷量未产生显著影响。在 A:N=3:1 条件下,接种 3 种 AMF 的植株根系磷含量和吸磷量均显著高于不接种的植

株,其中接种 *G. etunicatum* 的植株根系磷含量和吸磷量分别比不接种提高了 60.6%、115.5%;接种 *G. etunicatum* 在所有供氮比例下均显著提高了玉米根系吸磷量。

2.4 植物氮代谢酶的活性

在 A:N=3:1 处理下,接种 *G. intraradices* 的植株叶片 NR 活性最高,与不接种处理相比,活性提高了 78%,但随着铵态氮比例的下降,接种 *G. intraradices* 的植株叶片 NR 活性呈下降趋势,接种 *G. etunicatum* 的植株叶片 NR 活性呈相反趋势。接种 *G. mosseae* 的植株在所有供氮形态比例下 NR 活性均与 CK 差异不显著(图 1)。

不同氮素形态比例处理下接种 AMF 玉米的叶和根的 GS 活性(图 2)看出,A:N=1:3 处理比其它氮素形态比例处理显著降低了植株叶片和根系 GS 活性。供氮 A:N=1:1 和 A:N=1:3 时,接种处理对

表 2 不同氮素形态比例处理下接种 AMF 的玉米氮含量、吸氮量、磷含量和吸磷量
Table 2 N Concentration, N uptake, P Concentration and P uptake of non-mycorrhizal and mycorrhizal maize plants under different $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ ratio

接种处理 Mycorrhizal status	氮含量(%) N concentration		吸氮量(mg/plant) N uptake		磷含量(g/kg) P concentration		吸磷量(mg/plant) P uptake	
	地上部 Shoot	根系 Root	地上部 Shoot	根系 Root	地上部 Shoot	根系 Root	地上部 Shoot	根系 Root
	A:N = 3:1							
Non-mycorrhizal	1.24 a	1.54 b	68.5 bc	18.2 b	1.39 a	0.99 c	7.67 a	1.16 c
<i>G. intraradices</i>	1.17 a	1.75 ab	76.2 ab	23.2 b	1.39 a	1.35 ab	9.03 a	1.78 b
<i>G. mosseae</i>	1.16 a	1.61 ab	80.9 a	23.8 ab	1.39 a	1.27 b	9.65 a	1.90 b
<i>G. etunicatum</i>	1.07a AB	1.88 aA	61.6 cA	29.3 aA	1.56 aA	1.59 aA	8.93 aA	2.50 aA
A:N = 1:1								
Non-mycorrhizal	1.26 a	1.65 ab	61.8 a	14.3 c	1.34 a	1.43 ab	6.60 b	1.25 b
<i>G. intraradices</i>	1.10 a	1.36 b	70.3 a	17.4 bc	1.37 a	1.17 b	8.73 a	1.49 b
<i>G. mosseae</i>	1.23 a	1.88 a	62.8 a	20.8 ab	1.58 a	1.54 ab	8.08 a	1.74 b
<i>G. etunicatum</i>	1.20 aA	1.75 aA	68.4 aB	24.1 aB	1.36 a A	1.69 aA	7.77 abB	2.30 aA
A:N = 1:3								
Non-mycorrhizal	1.06 a	1.59 a	56.3 a	12.3 b	1.06 a	0.90 ab	5.68 a	0.71 c
<i>G. intraradices</i>	1.13 a	1.52 a	62.1 a	21.6 a	1.26 a	1.32 a	6.97 a	1.81 a
<i>G. mosseae</i>	1.05 a	1.20 b	60.1 a	15.2 b	1.19 a	0.83 b	6.85 a	1.03 bc
<i>G. etunicatum</i>	1.08 aB	1.59 aB	57.2 aC	21.6 aB	1.28 aB	1.04 abB	6.77 aC	1.45 abB

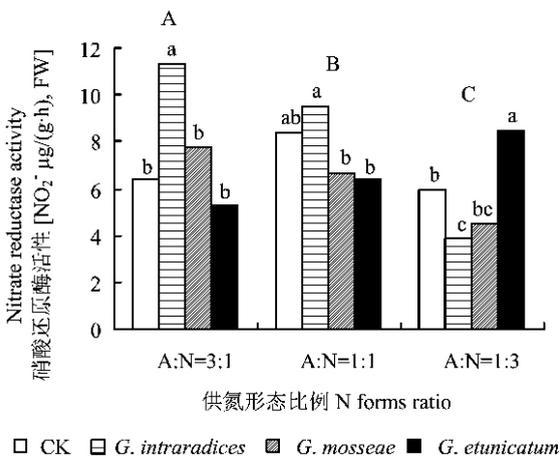


图 1 不同氮素形态比例处理下接种 AMF 的玉米叶片硝酸还原酶活性

Fig. 1 Nitrate reductase activity of non-mycorrhizal and mycorrhizal in maize leaves under different $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ ratio

[注(Note):同一供氮比例上不同小写字母表示差异达 5% 显著水平;不同大写字母表示不同供氮比例间差异达 5% 显著水平,下同. Different small letters in column within each N form and different capital letters for different N forms are significant at 5% level. The same symbols are used for Fig. 2.]

玉米叶片 GS 活性未产生显著影响;但在 A:N = 1:3 处理下接种 *G. intraradices* 和 *G. mosseae* 的叶片 GS

活性低于不接种的处理。值得注意的是,在 A:N = 3:1 处理下所有接种处理的根系 GS 活性均显著高于不接种处理,接种 *G. intraradices* 时,GS 活性提高了 78%,而菌种间的差异不显著。

植株谷氨酰胺合成酶总活性(地上部和地下部酶活性之和)反应了整个植物的 GS 活性差异及在地上部和根系的配比情况^[13]。图 2 还看出,接种处理普遍提高了玉米根系 GS 活性的比例(供氮 A:N = 1:1 时接种 *G. intraradices* 时除外),A:N = 3:1 供氮条件下,接种 AMF 对玉米根系 GS 活性比例约是不接种的 2 倍,这说明接种 AMF 促进了更多的铵态氮在根系内被同化。 NH_4^+ 的同化需要大量的碳水化合物作为骨架,而 AMF 的专性共生特点使碳水化合物更多地向根系转移,在满足 AMF 构建自身结构的同时,又可在一定程度上保证 NH_4^+ 同化的正常进行。

3 讨论

本研究以珍珠岩为基质的半液培方式,既能解决氧气供应问题导致的真菌生长受抑制的现象,还能有效地控制基质中的营养成分,防止用土壤为基质的培养条件下铵态氮的硝化^[14]。试验结果显示,

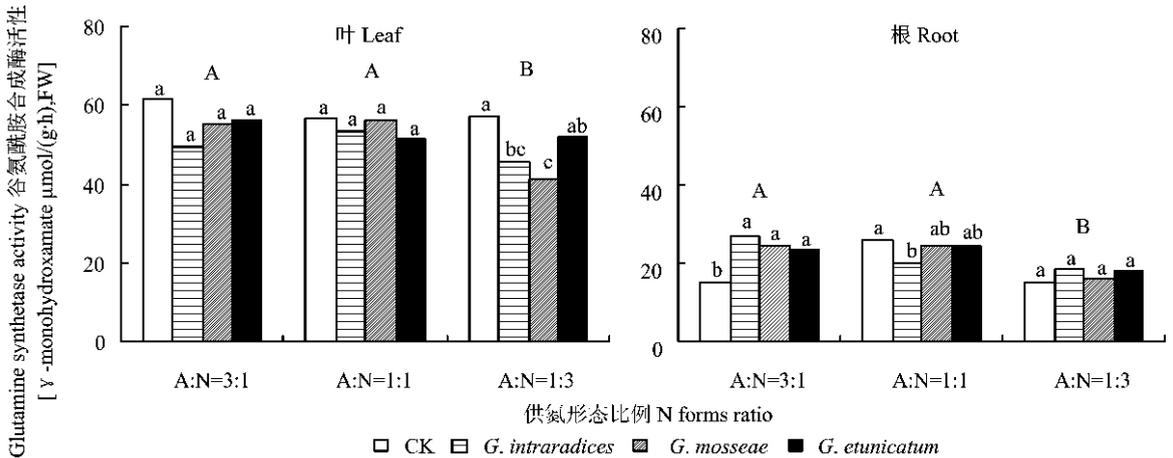


图2 不同氮素形态比例处理下接种 AMF 的玉米叶片和根系谷氨酰胺合成酶活性

Fig.2 Glutamine synthetase activity of non-mycorrhizal and mycorrhizal in maize leaves and roots under different $\text{NH}_4^+:\text{NO}_3^-$ ratio

所有接种处理的侵染强度都在 45% 以上,根系丛枝丰度平均为 40%,表明 AMF 均与玉米形成了良好共生体,建立了共生关系,能进行物质交换和信息传递。 NO_3^- 的还原和 NH_3 的同化是在叶片和根中进行,硝酸还原酶和谷氨酰胺合成酶是催化两个过程的关键酶。本试验条件下,玉米叶片 GS 活性在各个供氮条件下接种处理间的变化不大,这与 GS 的功能有关。叶片中的 GS 并不仅限于参与氮的代谢,GS 的另一个作用是参与光呼吸中释放 NH_3 的再同化,其释放速率有时高出无机氮同化的几倍^[15]。由于氮的跨质膜渗透前伴随有质子的释放^[16],而地上部消化质子的能力有限,所以吸收的铵很大部分是在根中被同化,再以氨基酸和酰胺的形式运往地上部^[17]。因此根系 GS 活性更能反应植物同化氮的能力^[18]。

本研究结果表明,根系 GS 活性在 A:N=3:1 条件下所有接种处理均高于对照,这与 Rosario^[13]等人的研究结果相同。接种 AMF 对玉米 GS 活性的影响可能有两方面作用,一是碳水化合物分配的改变。在 GS-GOGAT 途径中, NH_3 同化的持续进行依赖大量的碳架^[19],显然 NR、GS 活性的发挥与碳水化合物的供应有一定的联系,接种 AMF 可能改变了植物光合产物的分配,即更多的由地上部向根系转移(突出表现在高浓度的铵态氮条件下),同时为根系 GS-GOGAT 途径提供了大量碳架,影响了 GS 活性的分配,这种分配结果主要是由菌根真菌的营养类型—异养型决定的。二是 AMF 细胞内具有 NR 和 GS 活性。Manjula 等^[20]发现,AMF 根外菌丝能将吸收的无机氮同化为以精氨酸为主的形式向根内菌丝转

移,并通过检测根外菌丝中的 GS 的 mRNA 水平证明 AMF 存在 GS-GOGAT 途径这一说法。Breuninger 等^[21]的研究发现,GS 在 AMF 的每个生命阶段都被组成表达,且提供单一的铵态氮源比单一的确态氮源 GS 活性更高。菌根真菌细胞内 GS 活性在整个根系中所占比例不容忽视,很大程度上影响了接种处理根系的 GS 活性,这与本试验在铵态氮含量高的情况下接种处理根系 GS 活性偏高的结果类似。

在 A:N=3:1 的条件下接种 *G. intraradices* 和 *G. mosseae* 对玉米生长有较好的促进作用,比不接种处理显著提高了地上部生物量、吸氮量,对根系 GS 活性的提高更为明显,这也反应了接种 AMF 的促生机制与宿主植物的氮营养状况改善有关。AMF 有偏好不同形态氮素营养液的特点。Yoko 和 Katsuya^[22]以玉米为宿主植物在采用¹⁵N 标记的隔板分室试验中发现,菌丝对 NH_4^+ 的吸收高出 NO_3^- 约 10 倍;而本研究中,在铵态氮比例较高的条件下接种 AMF 对玉米生长的促生作用较好。因此接种丛枝菌根真菌在促进玉米对铵态氮的利用上可能意义更大。

有研究指出,接种 AMF 对植物酶活性的提高主要是与此类酶需求的磷酸盐供应的增加有关^[23],认为是接种 AMF 改善植物磷素营养带来的间接作用^[24]。本试验接种 AMF 的玉米地上部磷含量变化不大,而接种 *G. intraradices* 和 *G. etunicatum* 分别在 A:N 为 3:1 和 1:3 的条件下提高了叶片 NR 活性,显然与菌种差异所得出的研究结果不一致。因此,接种 AMF 对氮代谢酶活性的提高不能简单地归结为磷酸盐供应的改变。

在 A:N = 3:1 时,接种 AMF 对玉米的促生效应最显著,对酶活性的影响也较大。说明随着外界铵态氮比例的上升,AMF 能通过增加玉米根系 GS 活性使玉米能吸收利用更多的铵态氮,有利于菌根促生效应的实现。另外,酶活性的大小与外界铵态氮和硝态氮浓度及植物与菌根真菌的组合有关,进一步说明 AMF 对植物氮代谢酶活性的影响必须要考虑生物量、氮磷状况、氮源、菌种、植物、培养条件等综合因素。

参 考 文 献:

- [1] 李晓林,冯固. 丛枝菌根生态生理[M]. 北京: 华文出版社, 2001.
Li X L, Feng G. Ecology and physiology of VA mycorrhizae [M]. Beijing: Huawen Press, 2001.
- [2] 刘润进,陈应龙. 菌根学[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
Liu R J, Cheng Y L. Mycorrhology [M]. Beijing: Science Press, 2007.
- [3] Hawkins H, Anders J, Eckhard G. Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Plant Soil, 2000, 226: 275-285.
- [4] Toussaint J P, St-Arnaud M, Charest C. Nitrogen transfer and assimilation between the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* Schenck & Smith and Ri T-DNA roots of *Daucus carota* L. in an in vitro compartmented system [J]. Can. J. Microbiol., 2004, 50: 251-260.
- [5] Frey B, Schuepp H. Acquisition of nitrogen by external hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Zea mays* L. [J]. New Phytol., 1993, 124: 221-230.
- [6] Lidia C Y, Allen E B. Response to ammonium and nitrate by a mycorrhizal annual invasive grass and native shrub in southern California [J]. Am. J. Bot., 2001, 88(8): 1430-1436.
- [7] Bago B, Vierheilig H, Piché Y, Azcón-Aguilar C. Nitrate depletion and pH changes induced by the extraradical mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown in monoxenic culture [J]. New Phytol., 1996, 133: 273-280.
- [8] Hawkins H J, Johansen A, George E. Uptake and transport of organic and inorganic nitrogen by arbuscular mycorrhizal fungi [J]. J. Plant Soil, 2000, 226: 275-285.
- [9] Yan G, Ma F, Li W *et al.* Research on glutamate synthase activity in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) under different levels of nitrogen [J]. J. NEAU, 1998, 5(1): 5-11.
- [10] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000. 125-128.
- Li H S. Principle and technology on experiments of plant physiology and biochemistry [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000. 125-128.
- [11] Cren M, Hirel B. Glutamine synthetase in higher plant: regulation of gene and protein expression from the organ to the cell [J]. Plant Cell Physiol., 1999, 40: 1187-1193.
- [12] Trouvelot A, Kough J L, Gianinazzi-Pearson V. Physiological and genetical aspects of mycorrhizae [A]. Gianinazzi-Pearson V, Gianinazzi S (Eds.). Mycorrhizae: Physiology and genetics [M]. Paris: INRA Press, 1986. 217-221.
- [13] Rosa R. Activity of nitrate reductase and glutamine synthetase in shoot and root of mycorrhizal *Allium cepa* effect of drought stress [J]. Plant Sci., 1998, 133: 1-8.
- [14] Barber S A. Soil nutrient bioavailability (2nd Ed) [M]. New York: John Wiley and Sons, 1995.
- [15] Mifflin B J. Aminotransferases in higher plants [J]. Biochem. Plants, 1980, 5: 329-357.
- [16] Mengel K, Kirkby E A. Principles of plant nutrition (4th Ed) [M]. Worblaufen Bern: International Potash Inst., 1987.
- [17] Raven J R. Nitrogen assimilation and transport in vascular land plants in relation to intracellular pH regulation [J]. Exper. Bot., 2002, 58: 769-792.
- [18] Kaldorf M, Schmelzer E, Bothe H. Expression of maize and fungal nitrate reductase genes in arbuscular mycorrhiza [J]. Mol. Plant-Microbe Inter., 1998, 11: 439-448.
- [19] Smith S E. Mycorrhizas of autotrophic higher plants [J]. Biol. Rev., 1980, 55: 475-510.
- [20] Manjula G, Philip E P, Hairu J *et al.* Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis [J]. Nature, 2005, 435: 819-823.
- [21] Breuning M, Trujillo C G, Serrano E *et al.* Different nitrogen sources modulate activity but not expression of glutamine synthetase in arbuscular mycorrhizal fungi [J]. Fung. Gen. Biol., 2004, 41: 542-552.
- [22] Yoko T, Katsuya Y. Nitrogen delivery to maize via mycorrhizal hyphae depends on the form of N supplied [J]. Plant Cell Environ., 2005, 28: 1247-1254.
- [23] Hageman R H, Reed A J. Nitrate reductase from higher plants [J]. J. Met. Enzymol., 1980, 49: 270-280.
- [24] 江龙,李竹玫,黄建国,等. AM 真菌对烟苗生长及某些生理指标的影响 [J]. 植物营养与肥料学报, 2008, 14(1): 156-161.
Jiang L, Li Z M, Huang J G *et al.* Influences of arbuscular mycorrhizal fungi on growth and selected physiological indices of tobacco seedlings [J]. Plant Nutr. Fert. Sci., 2008, 14(1): 156-161.