

# 类黄酮对 AM 真菌侵染菌丝生长及酶活性的影响\*

董昌金<sup>1,2</sup> 姚发兴<sup>2</sup> 赵 斌<sup>3†</sup>

(1 武汉大学生命科学院, 武汉 430072)

(2 湖北师范学院生物系, 湖北黄石 435002)

(3 华中农业大学农业微生物国家重点实验室, 武汉 430070)

**摘 要** 类黄酮(hesperitin)能显著促进 AM 真菌[*Glomus intraradices* (*G. i*)、*Acaulospora laevis* (*A. l*)、*G. i* + *A. l*]对宿主植物(玉米、棉花)根段的侵染,提高菌丝琥珀酸脱氢酶(Succinate dehydrogenase, SDH)和碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)的活性。当用 15 nmol L<sup>-1</sup>、150 nmol L<sup>-1</sup>、1.5 μmol L<sup>-1</sup>的类黄酮处理时,第 6 周取样,*G. i*对玉米根段的侵染率分别为 76.2%、84.5%、75.8%(对照为 45.9%),菌丝 SDH 酶活性分别为 68.4%、75.9%、67.4%(对照为 40.7%),菌丝 ALP 酶活性分别为 45.8%、51.4%、45.1%(对照为 27.1%);*G. i*对棉花根段的侵染率分别为 85.2%、88.9%、83.8%(对照为 59.8%),菌丝 SDH 酶活性分别为 76.8%、81.2%、75.0%(对照为 53.1%),菌丝 ALP 酶活性分别为 51.2%、53.7%、49.4%(对照为 35.2%)。同时,类黄酮能显著增加土壤中 AM 真菌菌丝的总量,对宿主植物(玉米、棉花)的生物量也有一定的影响。

**关键词** 类黄酮;AM 真菌;侵染;酶活性;菌丝总量

**中图分类号** Q939.5

**文献标识码** A

丛枝菌根(Arbuscular mycorrhiza, AM)真菌能与 80% 以上的陆生植物共生并通过延伸到土壤中的菌丝显著增加植物对 P、Zn、Cu、Fe 等营养元素的吸收,提高植物的抗逆性,同时能减轻某些土传病害<sup>[1-3]</sup>。AM 真菌与宿主植物形成共生关系,其菌丝一端侵入植物根系,在根皮层细胞内形成丛枝(Arbuscule)结构,另一端延伸到土壤中,增加根的吸收面积和长度,越过根系周围的营养匮乏区,从远处吸收营养,同时分泌有机酸可使难溶性的矿物质变为植物能吸收利用的营养物质,通过根外菌丝吸收并转运到植物体内,在丛枝部位与植物进行营养交换<sup>[4]</sup>。许多化学物质对 AM 真菌侵染、菌丝生长及酶活性有显著影响,如除草剂(乙草胺、丁草胺、灵达等)对 AM 真菌菌丝的生长和代谢有毒害作用,能显著抑制 AM 真菌对宿主植物根的侵染、菌丝琥珀酸脱氢酶(Succinate dehydrogenase, SDH)和碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, ALP)的活性,抑制菌丝的生长<sup>[5]</sup>。而部分植物(如豆科植物)根的分泌物类黄酮,能增强植物的保护性,刺激植物生长,并能显著促进根瘤

菌对豆科植物的侵染和结瘤固氮<sup>[6]</sup>。本研究通过人工施用适量的类黄酮物质,观察其对植物生长、AM 真菌侵染、菌丝生长及酶活性的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 植物与 AM 真菌** 以玉米(*Zea mays* L.)和棉花(*Gossypium arboreum* L.)作为供试植物(来自华中农业大学),选籽粒饱满的玉米种子和脱绒的棉花种子,经 2% 次氯酸钠溶液浸泡 5 min 后,用无菌水冲洗 3~5 次,并置于水琼脂平皿内于 25℃ 温箱中催芽。供试 AM 真菌为 *Glomus intraradices* Schenck & Smith (*G. i*)和 *Acaulospora laevis* Gerdemann & Trappe (*A. l*)(法国农业科学院 INRA, Institut National de la Recherche Agronomique-France 提供)。接种剂为植物根段、AM 真菌孢子和根外菌丝等土壤混合物。

**1.1.2 类黄酮** 3',5,7-三羟-4'-甲氧基黄烷酮(hesperitin, Sigma 公司生产)。类黄酮用 50% 甲醇

\* 国家自然科学基金项目(30270051)和湖北省教育厅重点研究项目(2004D001)资助

† 通讯作者, E-mail: binzhao@mail.hzau.edu.cn

作者简介:董昌金(1963~),男,湖北黄石人,教授,博士,主要从事 AM 真菌生理生化与分子生物学研究,现为武汉大学生命科学院博士后。E-mail: dongchangjin2005@163.com, Tel: 027-87871744

收稿日期:2005-01-25;收到修改稿日期:2005-05-10

溶解后,用蒸馏水稀释成  $15 \mu\text{mol L}^{-1}$  的母液。

## 1.2 盆栽试验

采集 10 cm 以下的田间耕作土 (pH 7.2, 有机质  $10.3 \text{ g kg}^{-1}$ , 全 N  $0.84 \text{ g kg}^{-1}$ , Olsen-P  $0.27 \text{ mg kg}^{-1}$ , 速效 K  $92.3 \text{ mg kg}^{-1}$ ), 晒干后过筛, 并与河砂 1:1 (V/V) 混合均匀。经两次高压蒸汽灭菌 ( $126^\circ\text{C}$  各 1 h) 后备用。

每盆装灭菌土 600 g, 接种量为 3% (W/W)。在盆栽钵的下层装入灭菌土壤至 70% 的高度时, 平铺一层 AM 真菌接种剂, 再覆盖灭菌土, 每盆种入 1 株已发芽的玉米或棉花种子, 共分 2 组: 对照组和处理组。对照组包括不接 AM 真菌对照和不浇类黄酮对照; 处理组包括接种 AM 真菌处理 (① *G. i.*; ② *A. l.*; ③ *G. i.* + *A. l.*) 和浇类黄酮处理 (①  $15 \text{ nmol L}^{-1}$ ; ②  $150 \text{ nmol L}^{-1}$ ; ③  $1.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ )。各 3 个重复。对照组浇蒸馏水, 处理组在第 1 周和第 3 周每盆分别浇 200 ml 相应浓度的类黄酮溶液。20 ~  $28^\circ\text{C}$  培养, 每天光照 12 h, 并浇适量的蒸馏水。

## 1.3 玉米、棉花的生物量和 AM 真菌根段侵染率测定

播种后第 6 周取样, 植物生物量和地下根的重量以干重进行统计。采用 Trouvelot 等的方法<sup>[7]</sup>, 任选一部分新鲜根段切成 1 cm 长后用 1% KOH 溶液  $121^\circ\text{C}$  加热透明 30 min, 水洗, 并置于 0.05% (W/V) 的台盼兰 (Trypan blue) 染色液中于  $28^\circ\text{C}$  下染色过夜。蒸馏水冲洗后取样镜检, 并计算 AM 真菌的根段感染率。

## 1.4 AM 真菌菌丝 SDH 和 ALP 酶活性染色

取样时在冰上操作, 任意称取 0.5 g 1 cm 长的新鲜植物根样, 用透明液 [ $20 \text{ ml } 0.05 \text{ mol L}^{-1}$  三羟甲基氨基甲烷柠檬酸缓冲液 (Tris/citric acid, pH 9.2),  $50 \text{ mg ml}^{-1}$  山梨醇 (sorbitol),  $15 \text{ units ml}^{-1}$  纤维素酶

(cellulase) 和  $15 \text{ units ml}^{-1}$  果胶酶 (pectinase)] 室温下透明 2 h, 冰水冲洗后立即进行组织化学染色, SDH 采用 Smith 等的方法<sup>[8]</sup>, ALP 采用 Tisserant 等的方法进行酶活性染色<sup>[9]</sup>。SDH 染色液为  $0.2 \text{ mol L}^{-1}$  三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液 (Tris/HCl, pH 7.4) 5 ml、 $5 \text{ mmol L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$  2 ml、 $4 \text{ mg ml}^{-1}$  氮蓝四唑 (Nitro-blue tetrazonium, NBT) 5 ml、 $2.5 \text{ mol L}^{-1}$  琥珀酸钠 (Na-succinate) 2 ml 和水 6 ml; ALP 染色液为  $0.05 \text{ mol L}^{-1}$  三羟甲基氨基甲烷柠檬酸缓冲液 (Tris/citric, pH 9.2) 18 ml、 $1 \text{ mg ml}^{-1}$   $\alpha$ -磷酸萘酯 ( $\alpha$ -naphthyl acid phosphate) 20 ml、 $1 \text{ mg ml}^{-1}$  坚牢兰 RR 盐 (Fast blue RR salt) 20 ml、 $0.5 \text{ mg ml}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$  1 ml 和  $0.8 \text{ mg ml}^{-1}$   $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  1 ml。每一样品任取 30 个 1 cm 长的染色根段分别进行 SDH 或 ALP 酶活性观察。显微镜下镜检, SDH 为紫黑色颗粒, ALP 为深棕色颗粒。

## 1.5 土壤中 AM 真菌菌丝总量的测定

第 6 周用打孔器在盆栽钵的不同地点进行取样、混匀、晾干。称取 2 g 土壤样品, 测量其中所含 AM 真菌菌丝的总量。2 g 土壤样品中的 AM 真菌菌丝用 240 目的筛网进行抽提, 多次清洗后, 用台盼兰进行 TB 染色, 菌丝总长度用网格交叉法 (A modified line intersect method) 在显微镜下进行测量<sup>[10]</sup>。

## 1.6 统计分析

所有数据运用 SAS 软件在  $p = 0.05$  水平上进行差异显著性分析。

# 2 结果与分析

## 2.1 类黄酮对植物生物量的影响

类黄酮对玉米和棉花的地上部生物量和地下根的重量 (干重) 分别见表 1。

表 1 类黄酮对接种 AM 真菌的植物地上部和根系的影响<sup>1)</sup>

Table 1 Impact of hesperitin on root and aerial part of plants inoculated with AM fungi

处理 Treatment	地上部生物量 Biomass of aerial part (g)				根重 Dry weight of root (g)			
	CK	<i>G. i.</i>	<i>A. l.</i>	<i>G. i.</i> + <i>A. l.</i>	CK	<i>G. i.</i>	<i>A. l.</i>	<i>G. i.</i> + <i>A. l.</i>
玉米 Maize								
0 (CK)	4.7a	6.5a	6.9a	6.7a	1.7a	2.4a	2.5a	2.5a
$15 \text{ nmol L}^{-1}$	4.8a	12.6b	11.1bc	10.8c	1.8a	4.8b	4.0c	4.8c
$150 \text{ nmol L}^{-1}$	4.5a	13.7b	11.8cd	13.1b	1.7a	5.2b	6.4b	6.5b
$1.5 \mu\text{mol L}^{-1}$	5.0a	12.4b	10.7b	10.1c	1.9a	4.6b	3.8c	4.2cd
棉花 Cotton								
0 (CK)	1.5a	2.5a	2.4a	2.5a	0.5a	0.8a	0.7a	0.8a
$15 \text{ nmol L}^{-1}$	1.6a	3.6b	3.0c	3.3cd	0.6a	1.3bc	1.2b	1.5bc
$150 \text{ nmol L}^{-1}$	1.7a	3.7b	3.4b	3.9b	0.6a	1.5b	1.4b	1.8b
$1.5 \mu\text{mol L}^{-1}$	1.4a	3.3bc	3.2bc	3.4cd	0.5a	1.1c	1.1b	1.3c

1) SAS 检验: 表中数据代表 3 个重复的平均值, 同一列数据, 相同的字母差异性不显著 SAS' test: the data represent mean values of 3 replicates, and values in each column followed by the same letter do not differ significantly ( $p = 0.05$ )

表 1 中,与对照相比,类黄酮对未接种 AM 真菌的植物(玉米和棉花)的生物量没有显著影响。第 6 周取样,对于接种 AM 真菌的植物,施用类黄酮(15 nmol L<sup>-1</sup>、150 nmol L<sup>-1</sup>和 1.5 μmol L<sup>-1</sup>)和未施用类黄酮的对照(0 nmol L<sup>-1</sup>)相比,植物的生物量有显著差异,尤以 150 nmol L<sup>-1</sup>类黄酮处理组植物的增产效果最好(如接种 *G. i* + *A. l* 的玉米植株,0、15 nmol L<sup>-1</sup>、150 nmol L<sup>-1</sup>、1.5 μmol L<sup>-1</sup>类黄酮处理的生物量分别为 6.7 g、10.8 g、13.1 g 和 10.1 g)。表中类黄酮对接种 AM 真菌的植物根系的影响类似于类黄酮对接种 AM 真菌的植物地上部生物量的影响。

## 2.2 类黄酮对 AM 真菌根段侵染率的影响

AM 真菌对玉米和棉花根段的侵染率通过对台盼兰(Trypan blue)染色后的根段镜检而获得,见表 2。

表 2 类黄酮对 AM 真菌侵染率的影响<sup>1)</sup>

Table 2 Impact of hesperitin on infection rates of AM fungi (%)

处理 Treatment	玉米 Maize			棉花 Cotton		
	<i>G. i</i>	<i>A. l</i>	<i>G. i</i> + <i>A. l</i>	<i>G. i</i>	<i>A. l</i>	<i>G. i</i> + <i>A. l</i>
0 (CK)	45.9e	37.3f	41.6ef	59.8e	46.7f	50.2f
15 nmol L <sup>-1</sup>	76.2bc	67.8d	70.3cd	85.2ab	74.4d	77.8cd
150 nmol L <sup>-1</sup>	84.5a	72.2bcd	78.1ab	88.9a	77.8cd	81.1bc
1.5 μmol L <sup>-1</sup>	75.8bc	66.7d	71.0bcd	83.8b	75.6d	78.5cd

1) SAS 检验:表中数据代表 3 个重复的平均值,同一列数据,相同的字母差异性不显著 SAS'test: the data represent mean values of 3 replicates, and values in each column followed by the same letter do not differ significantly ( $p = 0.05$ )

从表 2 看出,类黄酮能显著增加 AM 真菌(*G. i*、*A. l*、*G. i* + *A. l*)对植物(玉米和棉花)根段的侵染。而类黄酮(hesperitin)不同浓度(15 nmol L<sup>-1</sup>、150 nmol L<sup>-1</sup>、1.5 μmol L<sup>-1</sup>)处理间,AM 真菌对玉米和棉花根段侵染率基本上无显著差异(150 nmol L<sup>-1</sup>类黄酮处理 *G. i* 除外)。

## 2.3 类黄酮对 AM 真菌菌丝 SDH 和 ALP 酶活性的影响

类黄酮对 AM 真菌菌丝 SDH 和 ALP 酶活性的影响,其统计分析结果见表 3。

表 3 中,与对照相比,类黄酮各浓度(15 nmol L<sup>-1</sup>、150 nmol L<sup>-1</sup>、1.5 μmol L<sup>-1</sup>)均能够显著提高 AM 真菌(*G. i*、*A. l*、*G. i* + *A. l*)菌丝 SDH 酶的活性。除 150 nmol L<sup>-1</sup>类黄酮处理 *G. i* 外(如 15 nmol L<sup>-1</sup>、150 nmol L<sup>-1</sup>、1.5 μmol L<sup>-1</sup>浓度处理, *G. i* 侵染玉米根段菌丝 SDH 酶活性有显著差异,分别为 68.4%、75.9%和 67.4%),类黄酮(hesperitin)不同浓

度处理间 AM 真菌菌丝 SDH 酶活性无显著性差异。类黄酮对 AM 真菌菌丝 ALP 酶活性的影响如同类黄酮对菌丝 SDH 酶活性的影响,即与对照相比,类黄酮显著提高 AM 真菌菌丝 ALP 酶的活性,但同一种类黄酮不同浓度处理间,AM 真菌菌丝 ALP 酶的活性无显著差异(150 nmol L<sup>-1</sup>类黄酮对 *G. i* 的处理除外)。

表 3 类黄酮对 AM 真菌菌丝 SDH 和 ALP 酶活性的影响<sup>1)</sup>

Table 3 Impact of hesperitin on SDH and ALP enzyme activity of AM fungal hyphae (%)

处理 Treatment	玉米 Maize			棉花 Cotton		
	<i>G. i</i>	<i>A. l</i>	<i>G. i</i> + <i>A. l</i>	<i>G. i</i>	<i>A. l</i>	<i>G. i</i> + <i>A. l</i>
SDH 酶活性 SDH enzyme activity						
0 (CK)	40.7e	33.2f	36.6ef	53.1f	41.5g	44.9g
15 nmol L <sup>-1</sup>	68.4bc	60.8d	63.0cd	76.8b	66.9e	69.9de
150 nmol L <sup>-1</sup>	75.9a	65.0bcd	69.2b	81.2a	70.1de	72.9cd
1.5 μmol L <sup>-1</sup>	67.4bc	59.7d	63.6bcd	75.0bc	68.1e	70.2de
ALP 酶活性 ALP enzyme activity						
0 (CK)	27.1e	22.2f	24.2ef	35.2g	27.9h	30.0h
15 nmol L <sup>-1</sup>	45.8bc	41.0d	42.3cd	51.2ab	44.6f	46.6cde
150 nmol L <sup>-1</sup>	51.4a	43.1bcd	46.8b	53.7a	46.1def	48.1cd
1.5 μmol L <sup>-1</sup>	45.1bc	40.2d	42.3cd	49.4bc	45.3ef	47.5cde

1) SAS 检验:表中数据代表 3 个重复的平均值,同一列数据,相同的字母差异性不显著 SAS'test: the data represent mean values of 3 replicates, and values in each column followed by the same letter do not differ significantly ( $p = 0.05$ )

## 2.4 类黄酮对土壤中 AM 真菌菌丝总量的影响

AM 真菌菌丝总量见表 4。从表 4 看出,类黄酮显著增加土壤中 AM 真菌(*G. i*、*A. l*、*G. i* + *A. l*)菌丝的总量。而类黄酮(hesperitin)不同浓度(15 nmol L<sup>-1</sup>、150 nmol L<sup>-1</sup>、1.5 μmol L<sup>-1</sup>)处理间,2 g 土壤样品中 AM 真菌菌丝的总量无显著差异(150 nmol L<sup>-1</sup>类黄酮对 *G. i* 的处理除外)。

表 4 土壤样品中 AM 真菌菌丝总长度<sup>1)</sup>

Table 4 Total length of AM fungal hyphae in 2 g of soil samples (cm)

处理 Treatment	玉米 Maize			棉花 Cotton		
	<i>G. i</i>	<i>A. l</i>	<i>G. i</i> + <i>A. l</i>	<i>G. i</i>	<i>A. l</i>	<i>G. i</i> + <i>A. l</i>
0 (CK)	730d	649e	715d	684e	598f	629f
15 nmol L <sup>-1</sup>	969b	854c	946b	867b	772d	786d
150 nmol L <sup>-1</sup>	1 074a	865c	945b	922a	797d	847bc
1.5 μmol L <sup>-1</sup>	963b	845c	930b	875b	776d	810cd

1) SAS 检验:表中数据代表 3 个重复的平均值,同一列数据,相同的字母差异性不显著 SAS'test: the data represent mean values of 3 replicates, and values in each column followed by the same letter do not differ significantly ( $p = 0.05$ )

### 3 讨论

1) 宿主植物(紫云英、玉米)根分泌物对 *Glomus etunicatum*、*Glomus mosseae* 和 *Glomus constrictum* 孢子萌发有促进作用<sup>[11]</sup>;从苜蓿中自然释放的类黄酮能促进 *G. etunicatum* 和 *G. macrocarpum* 孢子萌发、菌丝伸长和分枝<sup>[12]</sup>。Gianinazzi-pearson 等体外人工应用三类黄酮(apigenin、naringenin 和 hesperitin,  $0.15 \sim 1.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ )明显促进 *Gigaspora margarita* 孢子萌发和菌丝的伸长<sup>[13]</sup>。

2) 在根瘤菌与豆科植物的共生作用中,类黄酮能调节根瘤菌“nod”基因的活性,促进根瘤菌结瘤固氮<sup>[6]</sup>。本研究中,当在玉米和棉花根周围施加适量的类黄酮(hesperitin)时,类黄酮能明显促进 AM 真菌 *G. i.*、*A. l.*、*G. i.* + *A. l.* 对宿主植物根段的侵染,提高 AM 真菌菌丝 SDH 和 ALP 酶的活性,对宿主植物生物量的提高也有一定的影响,其原因可能是人工施用适量的类黄酮对 AM 真菌趋化和侵染宿主植物的根系形成共生体起强化信号分子作用(宿主植物根分泌物中本身就含有少量的类黄酮生长刺激物质),同时,能调节 AM 真菌与宿主植物共生基因的活性,促进丛枝菌根共生体的形成、菌丝的生长及酶活性的提高。

3) 适量类黄酮(hesperitin)的施用,能显著提高 AM 真菌对宿主植物根系的侵染,增加土壤中 AM 真菌(*G. i.*、*A. l.*、*G. i.* + *A. l.*)菌丝的总量,可增加宿主植物对土壤中 P、Zn、Cu 等营养元素的吸收<sup>[14,15]</sup>。三种浓度( $15 \text{ nmol L}^{-1}$ 、 $150 \text{ nmol L}^{-1}$ 、 $1.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ )的类黄酮处理间,尤以  $150 \text{ nmol L}^{-1}$  类黄酮的促进作用更为显著。

4) 用网格交叉法测定土壤样品中 AM 真菌菌丝的总量,除 AM 真菌菌丝外,还可能有少量其他真菌菌丝。这是因为尽管供试土壤已灭菌,又浇蒸馏水,但由于是开放式培养,空气中少量杂菌(如霉菌等)孢子难免会掉到土壤表面而萌发,由于台盼兰染色不能区分 AM 真菌菌丝与其他真菌菌丝,所以,严格地说,测定出的菌丝总长度应该是土壤中所有真菌菌丝的总长度。

### 参考文献

[1] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal Symbiosis. 2nd Ed. London:

Academic Press, 1997. 1 ~ 605

- [2] Lovato P, Schuepp H, Trouvelot A, et al. Application of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in orchard and ornamental plants. In: Varma A, Hock B. eds. Mycorrhiza: Structure, Molecular Biology and Biotechnology. Heidelberg: Springer Press, 1995. 443 ~ 464
- [3] Allen M F. Ecology of Mycorrhizae. London: Cambridge University Press, 1991. 135 ~ 148
- [4] Cooper K M, Tinker P B. Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. New Phytol., 1978, 81:43 ~ 52
- [5] 董昌金,赵斌. 几种玉米大田除草剂对 AM 真菌侵染及其酶活性的影响. 土壤学报, 2004, 41(5):750 ~ 755. Dong C J, Zhao B. Impact of herbicides on infection and hyphal enzyme activity of AM fungus (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 2004, 41(5): 750 ~ 755
- [6] Fisher R F, Long S R. Rhizobium-plant signal exchange. Nature, 1992, 357:655 ~ 660
- [7] Trouvelot A, Kough J L, Gianinazzi-pearson V. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un systeme racinaire. Recherche de methods d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-pearson V, Gianinazzi S. eds. Physiology and Genetical Aspects of Mycorrhizae. Paris: INRA Press, 1986. 217 ~ 221
- [8] Smith S E, Gianinazzi-pearson V. Phosphate uptake and vesicular-arbuscular activity in mycorrhizal *Allium cepa* L.: Effect of photon irradiance and phosphate nutrition. Aust. J. Plant Physiol., 1990, 17:177 ~ 188
- [9] Tisserant B, Gianinazzi-pearson V, Gianinazzi S, et al. In planta histochemical staining of fungal alkaline phosphatase activity for analysis of efficient arbuscular mycorrhizal infection. Mycol. Res., 1993, 97:245 ~ 250
- [10] Tennant D. A test of a modified line intersect method of estimating root length. J. Ecol., 1975, 63:995 ~ 1 001
- [11] 董昌金,郑世学,赵斌. 球囊霉属几种 AM 真菌孢子表面消毒与萌发的研究. 菌物系统, 2003, 22(3):410 ~ 416. Dong C J, Zheng S X, Zhao B. The study for surface-sterilization and germination of *Glomus* spores (In Chinese). Mycosystema, 2003, 22(3): 410 ~ 416
- [12] Siu M, Tsai S M, Donald A, et al. Flavonoids released naturally from alfalfa promote development of symbiotic *Glomus* spores *in vitro*. Appl. Environ. Microbiol., 1991, 57: 1 485 ~ 1 488
- [13] Gianinazzi-pearson V, Branzanti B, Gianinazzi S. *In vitro* enhancement of spore germination and early hyphal growth of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus by host root exudates and plant flavonoids. Symbiosis, 1989,7:243 ~ 255
- [14] 李晓林,曹一平. VA 菌根吸收矿质营养的机理. 土壤, 1993, 25:274 ~ 277. Li X L, Cao Y P. The mechanism of VA mycorrhiza absorb nutrition (In Chinese). Soils, 1993, 25:274 ~ 277
- [15] 李晓林,张俊伶. VA 菌根与矿质营养. 土壤学报, 1994, 31(增刊):38 ~ 45. Li X L, Zhang J L. VA mycorrhiza and mineral nutrition (In Chinese). Acta Pedologica Sinica, 1994, 31 (Suppl.): 38 ~ 45

## IMPACT OF HESPERITIN ON INFECTION HYPHAL GROWTH AND ENZYME ACTIVITY OF AM FUNGUS

Dong Changjin<sup>1,2</sup> Yao Faxing<sup>2</sup> Zhao Bin<sup>3†</sup>

(1 College of Life Science, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

(2 Department of Biology, Hubei Normal University, Huangshi, Hubei 435002, China)

(3 State Key Laboratory of Agricultural Microbiology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

**Abstract** In a pot experiment, it was found that host infection rates, and activities of hyphal SDH (succinate dehydrogenase) and ALP (alkaline phosphatase) enzymes of *Glomus intraradices* (*G. i*), *Acaulospora laevis* (*A. l*) and *G. i* + *A. l* were significantly enhanced by hesperitin. After treatment with 15 nmol L<sup>-1</sup>, 150 nmol L<sup>-1</sup>, and 1.5 μmol L<sup>-1</sup> hesperitin, respectively, samples of maize and cotton roots were collected for test at the 6th week. Results of the tests showed that with the maize roots, the *G. i* infection rates were 76.2%, 84.5% and 75.8% (the control was 45.9%), hyphal SDH activity of *G. i* were 68.4%, 75.9% and 67.4% (the control was 40.7%), and hyphal ALP activity of *G. i* were 45.8%, 51.4% and 45.1% (the control was 27.1%), respectively. And with the cotton roots, the *G. i* infection rates were 85.2%, 88.9% and 83.8% (the control was 59.8%), hyphal SDH activity were 76.8%, 81.2% and 75.0% (the control was 53.1%), hyphal ALP activity were 51.2%, 53.7% and 49.4% (the control was 35.2%), respectively. And hesperitin could increase significantly total amount of hyphae of AM fungus in the soil. The biomass of maize and cotton could also be affected by hesperitin.

**Key words** Hesperitin; AM fungus; Infection; Enzyme activity; Total amount of hyphae