

# 类黄酮对 AM 真菌孢子萌发和早期生长的影响\*

李 杨<sup>1, 2</sup> 赵 斌<sup>1†</sup>

(1 华中农业大学农业微生物学国家重点实验室, 武汉 430070)

(2 石河子大学生命科学学院, 新疆石河子 832003)

**摘 要** 研究了离体培养条件下 Quercetin, Naringin, Rutin, Umbelliferon, Biochanin A, Zeatin Riboside, Flavanon, Apigenin, Genistein, Fomononetin 等 10 种类黄酮化合物对 *Gigaspora margarita* 和 *Glanus geosporum* 孢子萌发及菌丝发育的影响。结果表明, Quercetin, Rutin 促进 *Gi. margarita* 早期发育, 在  $0.5 \sim 8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  浓度范围, Quercetin 对菌丝生长、菌丝分枝及辅助细胞形成促进作用明显, 菌丝长度、菌丝分枝数及辅助细胞群与对照组相比提高到 2~3 倍, 其他类黄酮对 *Gi. margarita* 孢子早期生长无明显影响。在一定浓度条件下, Fomononetin, Genistein 和 Naringin 促进 *Gl. geosporum* 孢子萌发、菌丝生长及分枝, Apigenin, Flavanon 和 Naringin 刺激次生孢子的形成, 而 Biochanin A 仅促进其孢子萌发。类黄酮对 AM 真菌孢子发育种属差异性影响取决于类黄酮种类及其使用浓度, 不同的类黄酮分别在 AM 真菌孢子萌发、菌丝生长及菌丝分化等不同发育事件中参与作用。研究类黄酮对 AM 真菌早期发育的影响机制有助于理解微生物与植物之间的相互作用。

**关键词** 类黄酮; AM 真菌; 孢子萌发; 菌丝

**中图分类号** Q939.5 **文献标识码** A

丛枝菌根真菌是一类古老的植物共生真菌<sup>[1]</sup>, 与 80% 以上陆生维管植物形成互惠共生体——丛枝菌根 (Arbuscular mycorrhiza, AM), 能促进植物矿质营养吸收, 增强植物对逆境胁迫、病害的抵抗能力, 对植物群落多样性及生态系统维持与稳定有重要影响<sup>[2, 3]</sup>。在 AM 真菌孢子发育及菌根共生体建立等事件中, AM 真菌与宿主植物之间进行着一系列信号分子的交换、识别与应答等分子对话<sup>[4]</sup>。虽然有证据表明宿主植物根浸出液中含有促进 AM 真菌孢子萌发的活性物质<sup>[5]</sup>, 但是迄今为止这种植物源信号分子的化学本质还未被揭示。

类黄酮是一类重要的植物次生代谢物。研究表明, 在菌根形成过程中类黄酮可能充当信号分子促进 AM 真菌孢子早期发育<sup>[6~10]</sup>, 然而也有报道表明类黄酮并非菌根形成的必需因子<sup>[4]</sup>。目前有关类黄酮对 AM 真菌影响的研究多侧重于其对孢子萌发率及芽管菌丝生长的影响, 而对菌丝分枝及次生结构形成的报道较少。本文以 10 种类黄酮化合物为材料, 研究类黄酮对丛枝菌根真菌孢子萌发、菌丝生长、菌丝分枝及分化的影响, 旨在发现类黄酮对真菌早期发育的

影响和作用特点。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

**1.1.1 供试菌种** *Gigaspora margarita* BEG34 (来自法国 NRA, Institut National de la Recherche Agronomique-France), *Glanus geosporum* BGC-GZ01B (来自北京市农林科学院)。

**1.1.2 类黄酮** Quercetin, Naringin, Rutin, Umbelliferon, Biochanin A, Zeatin Riboside, Flavanon, Apigenin, Genistein 和 Fomononetin (均为 Sigma 公司生产), 分别以无水乙醇溶解后用蒸馏水稀释成  $0.4 \text{ mmol L}^{-1}$  母液, 经微孔滤器 ( $0.22 \mu\text{m}$ ) 过滤除菌后备用。

### 1.2 试验设计与方法

**1.2.1 孢子表面消毒** 以湿筛倾析法 (Wet sieving and decanting) 收集孢子, 在奥林巴斯 SZ-CTV 解剖镜下挑取形态颜色一致、细胞质均匀的孢子, 蒸馏水洗 3 次, 经 30% (W/V) 蔗糖密度离心, 蒸馏水漂洗 5 次,

\* 国家自然科学基金项目 (30270051) 和湖北省国际合作重点项目 (2003CA020) 资助

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

作者简介: 李 杨 (1978~), 男, 新疆石河子人, 硕士。E-mail: yglisz@yahoo.com.cn

收稿日期: 2007-04-17; 收到修改稿日期: 2007-07-02

参照文献 [11] 方法, 2% 氯胺 T 吐温 20 混合溶液消毒 10 min, 用混合抗生素 (0.02% 链霉素和 0.01% 硫酸庆大霉素, *W/V*) 溶液中处理 10 ~ 15 min, 用无菌水漂洗 3 次, 4 存放备用。

**1.2.2 培养基配制** 按 Scervino 方法<sup>[12]</sup>, 每种类黄酮设置 3 种浓度处理, 分别加类黄酮母液于 0.8% 水琼脂培养基中, 使每种类黄酮终浓度分别为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$ 、 $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  和  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$ , 同时以含 0.05% 乙醇的水琼脂 (0.8%) 作为空白对照培养基。

**1.2.3 接种与培养** 每个培养皿接种 4 个孢子, 每个处理设 8 个重复, 置恒温培养箱内 25 °C 暗培养 20 d。

**1.2.4 孢子萌发率、菌丝长度测量** 在培养第 7 天检测孢子萌发率, 以孢子芽管菌丝长度达到或大于孢子直径作为萌发标准, 统计萌发孢子数量, 计算孢子萌发率, 其中发生污染的孢子不作统计。在培养第 15 天测量菌丝长度, 参照 Ishi 等的方法<sup>[7]</sup>, 利用奥林巴斯 SZ-CTV 解剖镜连接数码摄像装置进

行摄像, 用 ImageTool 3.0 软件分析影像, 测量芽管菌丝长度, 含有污染孢子的培养皿不作测量。统计菌丝分枝数, 在培养第 20 天测定孢子萌发产生的辅助细胞群 (*Gigaspora margarita*) 及次生孢子 (*Glomus geosporum*) 的数量。

### 1.3 数据处理

所有数据用 SAS8.1 进行方差分析, 采用 Duncan 多重比较分析差异显著性 ( $p = 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 类黄酮对孢子萌发的影响

在供试类黄酮中, Quercetin、Rutin、Umbelliferon 对 *Gi. margarita* 孢子萌发明显影响, 而 Biochanin A、Naringin、Fomnonetin 和 Genistein 只对 *Gl. geosporum* 孢子萌发有显著影响, 表明类黄酮对 AM 真菌孢子萌发的作用具有选择性 (见图 1)。

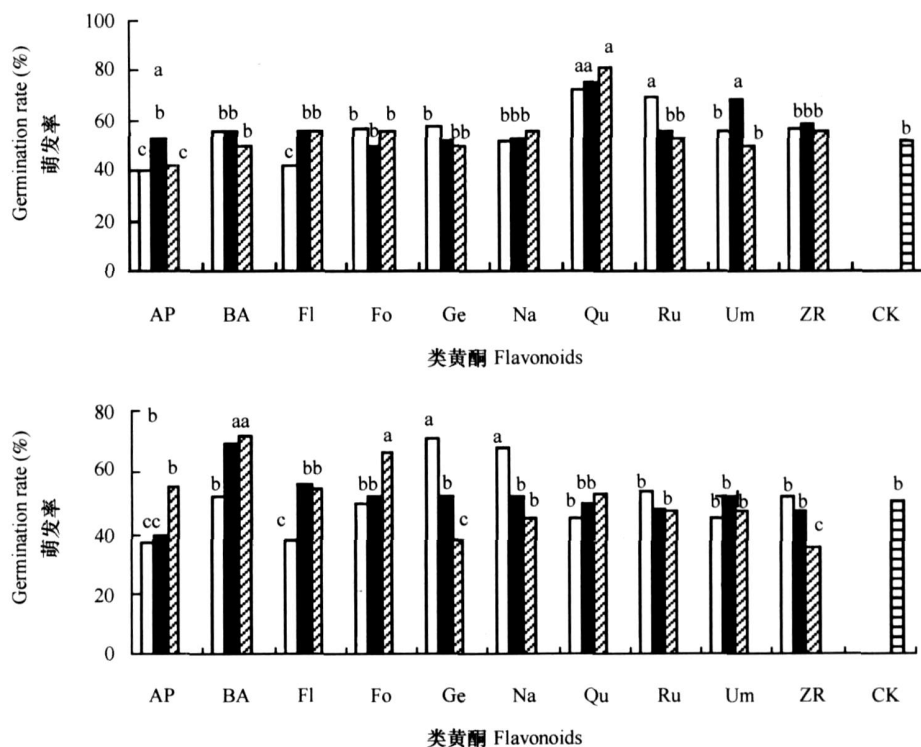


图 1 类黄酮对 *Gigaspora margarita* (a) 和 *Glomus geosporum* (b) 孢子萌发的影响

□  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  ■  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  ▨  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  □ CK, 有相同字母的数据无显著差异 ( $p < 0.05$ )

注: 类黄酮 Apigenin, Biochanin A, Flavanon, Formononetin, Genistein, Naringin, Quercetin, Rutin, Umbelliferon, Zeatin Riboside 依次简称为 Ap, BA, Fl, Fo, Ge, Na, Qu, Ru, Um, ZR, 下同

Fig. 1 Effect of flavonoids on spore germination of *Gigaspora margarita* (a) and *Glomus geosporum* (b)

□  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  ■  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  ▨  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  □ CK, same letters indicate no significant differences ( $p < 0.05$ )

Note: Flavonoid apigenin, biochanin A, flavanone, formononetin, genistein, naringin, quercetin, rutin, umbelliferon, zeatin riboside are abbreviated to Ap, BA, Fl, Fo, Ge, Na, Qu, Ru, Um and ZR respectively. The same as follow

类黄酮对 AM 真菌孢子萌发的影响与其浓度相关。例如 Quercetin 和 Biochanin A, 随着其浓度升高, *Gi. margarita* 孢子萌发率呈上升趋势, Biochanin A 浓度为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, *Gl. geosponum* 孢子萌发率 52%, 与对照无显著差异, 当浓度为  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, 孢子萌发率达 72.5%, 显著高于对照组萌发率, 表现明显促进效应; 而 Rutin, Genistein, Naringin 浓度升高, 相应真菌孢子萌发率下降, 当 Rutin 浓度为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, *Gi. margarita* 孢子萌发率达 72.5%, 显著高于对照, 当浓度为  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, 萌发率降至 53.2%, 与对照无明显差异; 当 Genistein 浓度为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  和  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, *Gl. geosponum* 孢子萌发率达 73.5% 和 38.2%, 与对照有显著差异, 当浓度为  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, 萌发率为

50.6%, 与对照无明显差异。结果还表明, 相同浓度的同种类黄酮对不同 AM 真菌有不同的影响, 例如, Apigenin 浓度为  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时抑制 *Gi. margarita* 孢子萌发, 而对 *Gl. geosponum* 孢子萌发无明显影响; 当浓度为  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, 对 *Gi. margarita* 孢子萌发无显著作用, 而对 *Gl. geosponum* 孢子萌发稍有抑制。

### 2.2 类黄酮对芽管菌丝生长的影响

在供试类黄酮中, Apigenin、Flavanon、Umbelliferon 对两种 AM 真菌芽管菌丝生长均无影响, Quercetin、Rutin 和 Zeatin Riboside 专一对 *Gi. margarita* 菌丝生长有显著作用, 而 Biochanin A、Naringin 及 Fommononetin 对 *Gl. geosponum* 菌丝生长有显著影响 (见图 2)。

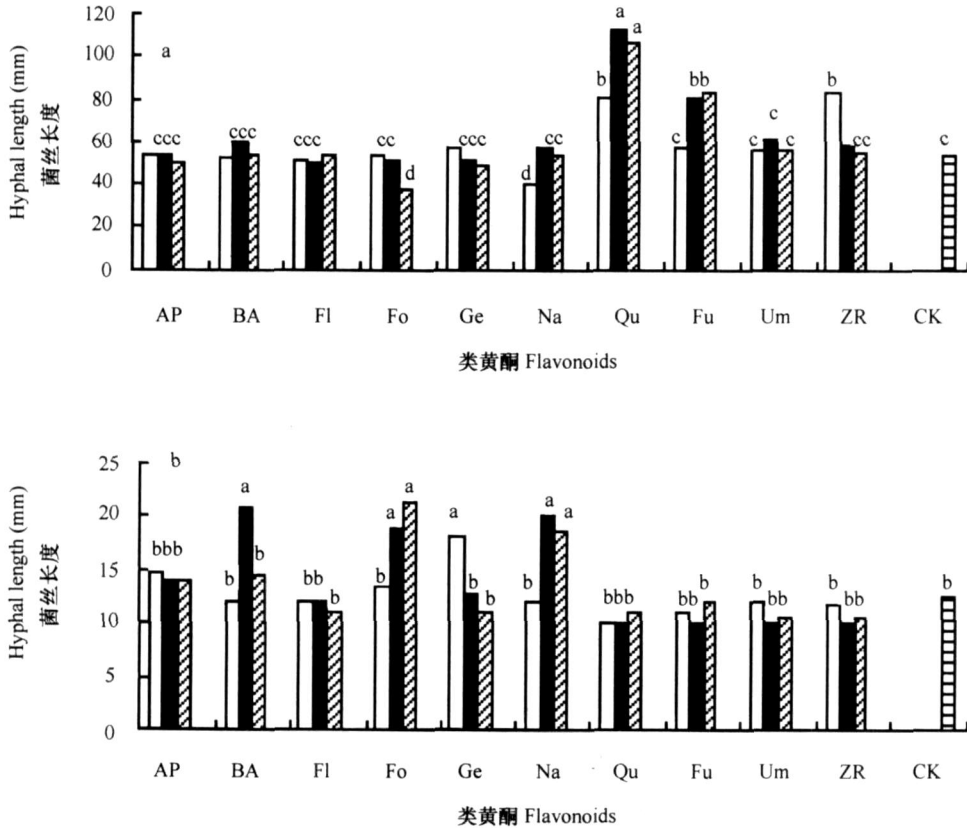


图 2 类黄酮对 *Gigaspora margarita* (a) 和 *Glomus geosporum* (b) 菌丝生长的影响

□  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  ■  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  ▨  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  □ CK, 相同字母的数据无显著差异 ( $p < 0.05$ )

Fig. 2 Effect of flavonoids on hyphal growth of *Gigaspora margarita* (a) and *Glomus geosporum* (b)

□  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  ■  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  ▨  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  □ CK, same letters indicate no significant differences ( $p < 0.05$ )

在不同浓度条件下类黄酮对菌丝生长有不同的影响。随着 Rutin 和 Fommononetin 浓度升高, 相应真菌菌丝长度增长, 当 Fommononetin 浓度为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, *Gl. geosponum* 菌丝长达 13.4 mm, 与对

照无显著差异, 当浓度为  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  或  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时菌丝长度分别为 18.7 mm 和 21.5 mm, 与对照有显著差异; 而 Zeatin Riboside 作用特点正相反, 当 Zeatin Riboside 浓度为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, *Gi.*

*margarita* 菌丝长 83.0 mm, 显著促进菌丝生长, 当浓度为  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, 菌丝长 60.0 mm, 对菌丝生长无显著影响; 当 Biochanin A 浓度为  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, *Gl. geosporum* 菌丝长度为 21.5 mm, 促进菌丝生长效果显著, 而在其他浓度条件下, 对菌丝生长无影响。相同浓度条件下同种类黄酮对不同 AM 真菌菌丝生长的影响有差异, 例如当 Naringin 浓度为  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  和  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, *Gl. geosporum* 菌丝长度为 20.2 mm 和 18.6 mm, 对菌丝生长促进作用显著, 而对 *Gi. margarita* 菌丝长度无显著影响, 表明类黄酮对不同 AM 真菌作用的选择性。

试验结果表明, 类黄酮对孢子萌发和菌丝生长的影响不同。当浓度为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  和  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, Umbelliferon 促进 *Gi. margarita* 孢子萌发, 但对其菌丝生长无明显影响, 低浓度的 Naringin 促进 *Gl. geosporum* 孢子萌发, 中、高浓度时促进菌丝生长。Quercetin 对 *Gi. margarita* 孢子萌发和芽管菌丝生长均有促进作用, 当浓度为  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, 菌丝长度约为对照的 2 倍, 孢子萌发率约为对照的 1.6 倍, 可见 Quercetin 对 *Gi. margarita* 菌丝生长的影响较对孢子萌发的影响大。

### 2.3 类黄酮对菌丝分枝的影响

Quercetin, Rutin 和 Umbelliferon 对 *Gi. margarita*

*ta* 菌丝产生分枝有显著影响, Naringin、Fomononetin 和 Genistein 则对 *Gl. geosporum* 菌丝产生分枝有显著影响, 而其他类黄酮对两种真菌菌丝分枝无影响 (见图 3), 体现了类黄酮的菌种专一性作用特点。类黄酮对菌丝分枝的影响因浓度变化还表现出不同特点, 其中 Quercetin、Rutin 浓度升高 *Gi. margarita* 菌丝分枝数增加, 当 Rutin 浓度为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  时菌丝分枝数为 8.5, 与对照无显著差异, 当浓度为  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时菌丝分枝数提高约 2 倍, 与对照差异显著; 某些类黄酮对菌丝分枝数的影响随着浓度升高而减弱, 当 Fomononetin 浓度为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, *Gl. geosporum* 菌丝分枝数达 10.4, 显著高于对照, 当浓度为  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, 菌丝分枝数达 6.5, 与对照无明显差异。此外, 相同浓度条件下类黄酮对不同 AM 真菌影响不同, 当 Umbelliferon 浓度为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  时 *Gi. margarita* 菌丝分枝数达 13.5, 显著高于对照值 6.9; 而对于 *Gl. geosporum* 菌丝分枝的产生无显著作用。 $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  的 Genistein 不影响 *Gi. margarita* 菌丝产生分枝, 而促进 *Gl. geosporum* 菌丝分枝, 分枝数达 10.6, 显著高于对照值。结果表明类黄酮对不同 AM 真菌菌丝分枝的影响有差异性, 与其作用浓度有关。

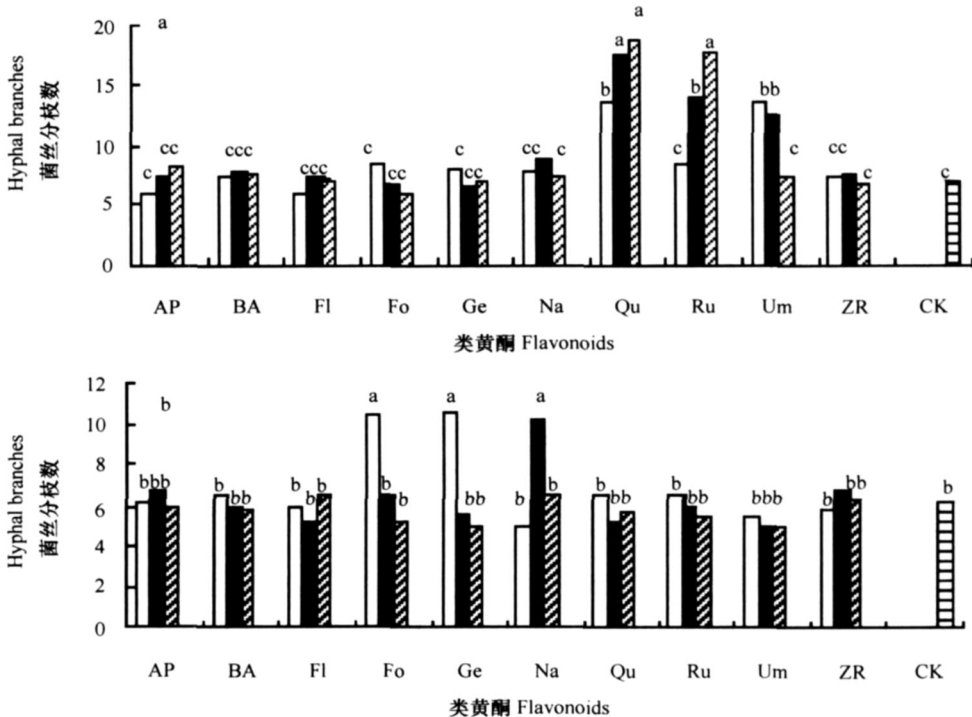


图 3 类黄酮对 *Gigaspora margarita* (a) 和 *Glomus geosporum* (b) 菌丝分枝的影响

□  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  ■  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  ▨  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  □ CK, 相同字母数据无显著差异 ( $p < 0.05$ )

Fig. 3 Effect of flavonoids on hyphal branching of *Gigaspora margarita* (a) and *Glomus geosporum* (b)

□  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  ■  $2.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  ▨  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  □ CK, same letters indicate no significant differences ( $p < 0.05$ )

在试验浓度条件下, Quercetin促进 *Gi. margarita* 菌丝分枝数达到对照组相应值的 2~3倍, 较对孢子萌发和菌丝生长的促进影响大, 表明 Quercetin对孢子萌发、菌丝生长、分枝等不同事件的影响程度是不同的。Umbelliferon对 *Gi. margarita* 孢子萌发、菌丝分枝有显著影响, 而对菌丝生长无显著作用。Biochanin A促进 *Gl. geosponum* 孢子萌发及菌丝生长, 对其菌丝分枝却无明显作用, 说明不同类黄酮分别在不同发育事件中参与作用。

#### 2.4 类黄酮对辅助细胞和次生孢子形成的影响

AM真菌在一定发育时期菌丝分化产生某些特化结构, 如 *Gi. margarita* 分化产生辅助细胞(图4a), 而 *Gl. geosponum* 产生次生孢子(图4b)。类黄酮影响 AM真菌菌丝分化, 在多种类黄酮中, 除在 Biochanin A、Fommononetin和 Umbelliferon等处理组均未观测到次生结构产生以外, 其他类黄酮对不同 AM真菌次生结构的形成有选择性影响, Quercetin、Rutin专一促进 *Gi. margarita* 菌丝产生辅助细胞, 而 Apigenin、Flavanon和 Naringin只对 *Gl. geosponum* 产生次生孢子有明显影响(见图5)。

随着浓度变化, 类黄酮表现不同的作用, Quercetin、Flavanon浓度增大促进相应真菌菌丝产生次生结构, 当 Quercetin浓度为  $0.5 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, *Gi. margarita* 产生辅助细胞群数与对照无显著差异, 当浓度为  $8.0 \mu\text{mol L}^{-1}$  时, 辅助细胞群数约为对照的3倍; 而 Rutin、Apigenin作用浓度越高, AM真菌形成的辅助细胞群或次生孢子越少; Quercetin在不同浓度水平均促进 *Gi. margarita* 辅助细胞群的产生, 而对 *Gl. geosponum* 次生孢子的形成无影响或抑制, 反映了类黄酮对不同真菌的作用存在差异。

由试验结果可知, Quercetin、Rutin对 *Gi. margarita* 孢子萌发、芽管菌丝生长、菌丝分枝以及辅助细胞的形成均有显著影响, Umbelliferon促进孢子萌发及菌丝分枝, 而对菌丝生长无显著作用。在 *Gl. geosponum* 孢子发育事件中, Fommononetin、Genistein和 Naringin促进菌丝生长菌丝分枝, Biochanin A促进孢子萌发, Flavanon、Apigenin和 Naringin对次生孢子的形成有明显影响, 表明不同发育事件中不同类黄酮分别参与作用。

### 3 讨论

AM真菌必须依赖宿主植物完成生活史, 其孢子萌发却可不依赖宿主植物的存在。离体培养条

件下, 孢子萌发能力主要取决于孢子生理状态和遗传特性, 类黄酮等环境因素可影响孢子萌发进程。Béard等报道, *Gi. margarita* 在无类黄酮但含 2%  $\text{CO}_2$  条件下离体培养孢子萌发率可达 80%~100%<sup>[8]</sup>, 而本试验中空白对照 *Gi. margarita* 孢子萌发率仅为 51.5%, 可能是培养条件以及观测时间不同所致。

在无宿主条件下, AM真菌孢子产生的芽管菌丝生长到一定时期即停止生长。不同类黄酮能刺激或抑制孢子萌发及菌丝生长或无明显影响, 其作用因真菌种属不同而有差异。有研究报道, 黄酮 Hesperitin、Naringenin和 黄酮醇 Morin、Quercetin促进 *Gi. margarita* 菌丝生长, 异黄酮 Fommononetin和 Biochanin A促进 *Glonus* sp. 菌丝生长<sup>[13]</sup>。Scervino等<sup>[12]</sup>证实 Kaempferol刺激 *Gi. rosea* 菌丝生长, 但抑制 *Gi. margarita* 菌丝生长, 表明类黄酮 Kaempferol的作用有种属特异性特点。Chabot等<sup>[14]</sup>认为类黄酮对 AM真菌差异性的影响与类黄酮分子结构有关。本研究证实类黄酮对不同 AM真菌有种属专一性的作用, 类黄酮不但影响孢子萌发和菌丝生长, 且影响菌丝分枝及次生结构的分化。Quercetin、Rutin促进 *Gi. margarita* 孢子萌发、菌丝生长和分枝, Quercetin刺激其辅助细胞的产生, 而 Flavanon、Apigenin在较低浓度条件下对其孢子萌发稍抑制。而 Naringin、Fommononetin和 Genistein促进 *Gl. geosponum* 孢子萌发, Biochanin A、Naringin促进其菌丝生长, Apigenin、Flavanon和 Naringin刺激其次生孢子的分化。类黄酮对 AM真菌孢子早期发育的影响与类黄酮种类相关, 也与其浓度相关。不同的类黄酮分别在 AM真菌孢子萌发、菌丝生长及菌丝分化等不同发育事件中参与作用。由于目前 AM真菌不能纯培养及研究手段的局限, 类黄酮对 AM真菌孢子发育的作用及分子机制尚未研究清楚, 还有待于进一步研究。

虽然 AM真菌无宿主专一性, 但是 AM真菌与植物之间存在一定相互选择性, 这与植物类黄酮对 AM真菌的种属专一性影响相一致。在自然环境中, 不同植物分泌的类黄酮化合物组成及含量有差异, 且随着植物生理代谢状态变化而发生变化, 多种类黄酮复合作用可能通过影响 AM真菌孢子发育而影响 AM真菌群落种属构成。不过目前相关报道较少, 有待于进一步研究证实。Scervino等<sup>[15]</sup>发现被 AM真菌侵染及未被侵染的白花三叶草的根分泌类黄酮种类组成有差异, 从中分离的类

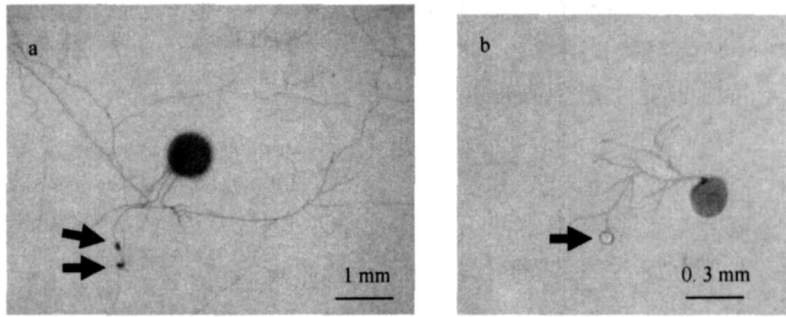


图 4 AM 真菌菌丝分化结构 (a. *Gigaspora margarita*, 箭头所示辅助细胞群, 放大倍数: 20 × ; b. *Glomus geosporum*, 箭头所示次生孢子, 放大倍数: 40 × )

Fig. 4 Hyphal differentiation of AM fungi ( a. *Gigaspora margarita*, arrows showed cluster of auxiliary cells, magnification: 20 × ; b. *Glomus geosporum*, arrow showed secondary spore, magnification: 40 × )

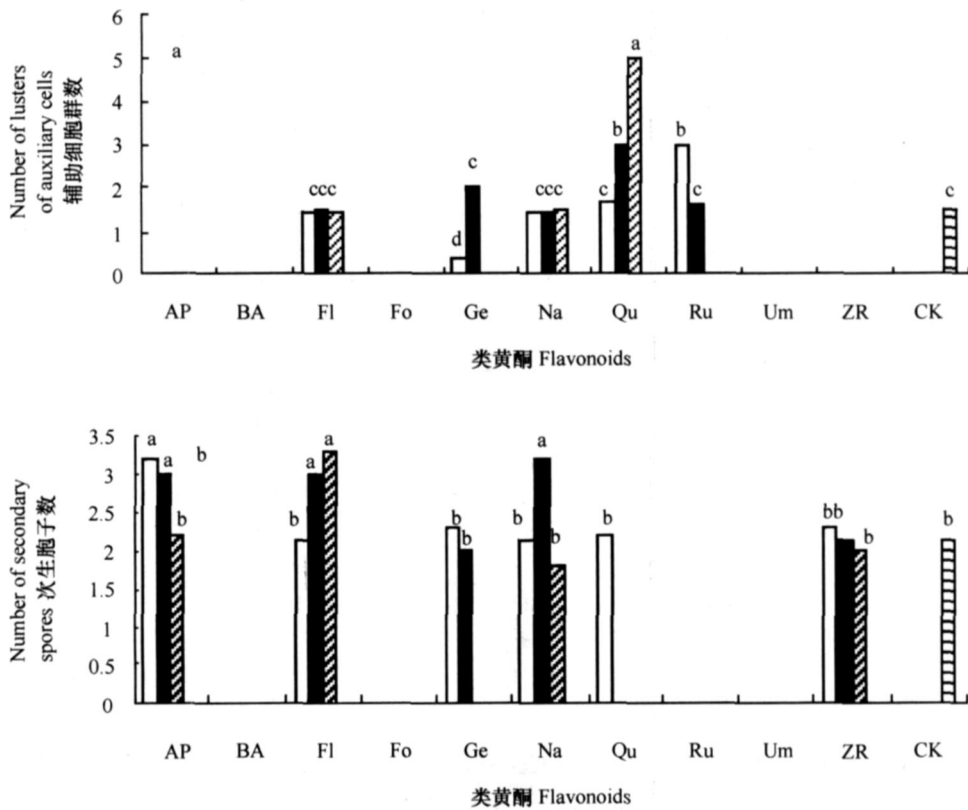


图 5 类黄酮对辅助细胞群 (*Gigaspora margarita* (a)) 和次生孢子 (*Glomus geosporum* (b)) 形成的影响

□ 0.5 μmol L<sup>-1</sup> ■ 2.0 μmol L<sup>-1</sup> ▨ 8.0 μmol L<sup>-1</sup> □ CK, 相同字母的数据无显著差异 ( $p < 0.05$ )

Fig. 5 Effect of flavonoids on formation of cluster of auxiliary cells (*Gigaspora margarita* (a)) and secondary spore (*Glomus geosporum* (b))

□ 0.5 μmol L<sup>-1</sup> ■ 2.0 μmol L<sup>-1</sup> ▨ 8.0 μmol L<sup>-1</sup> □ CK, same letters indicate no significant differences ( $p < 0.05$ )

黄酮对 *Gigaspora* 和 *Glomus* 属真菌孢子萌发及菌丝生长和分化作用均有差异,暗示类黄酮可能作为信号分子参与反馈调节 AM 真菌侵染及菌根建立过程。除了类黄酮以外,自然环境中还存在其他能促进 AM 真菌发育的活性物质,最近 Akiyama 等<sup>[16]</sup>从百脉根分离了一种倍半萜(烯)化合物(5-deoxy-

strigol)能显著刺激 AM 真菌菌丝分枝。

植物来源活性物质影响自然生态环境 AM 真菌生长发育。在农田土壤中引入这些相关活性物质以刺激土著 AM 真菌生长及发育,是菌根生物技术应用的重要方式之一。Davies 等报道,在酸性缺磷农田中施入类黄酮 Fomononetin 显著提高土著 AM

真菌活力和作物产量<sup>[17]</sup>。随着对 AM 真菌发育相关活性物质及分子机理研究认识的日益深入,菌根生物技术必将在现代可持续农业生产中有广阔应用前景。

## 参考文献

- [ 1 ] Redecker D, Kodner R, Graham L E. Glomalean fungi from the Ordovician. *Science*, 2000, 289: 1 920 ~ 1 921
- [ 2 ] 李晓林,冯固. 丛枝菌根生态生理. 北京: 华文出版社, 2001. 1 ~ 358. Li X L, Feng G eds. *Ecology and Physiology of Arbuscular Mycorrhiza* (In Chinese). Beijing: Huawen Press, 2001. 1 ~ 358
- [ 3 ] 盖京苹,冯固,李晓林. 丛枝菌根真菌的生物多样性研究进展. *土壤*, 2005, 37(3): 236 ~ 242. Gai J P, Feng G, Li X L. Review of researches on biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi (In Chinese). *Soils*, 2005, 37(3): 236 ~ 242
- [ 4 ] Paszkowski U. A journey through signaling in arbuscular mycorrhizal symbioses 2006. *New Phytol*, 2006, 172: 35 ~ 46
- [ 5 ] B éard G, Kosuta S, Tamasbukht M, et al. Partner communication in the arbuscular mycorrhizal interaction. *Can. J. Bot.*, 2004, 82: 1 186 ~ 1 197
- [ 6 ] 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
- [ 7 ] Ishii T, Narutaki A, Sawada K, et al. Growth stimulatory substances for vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in Bahia grass root. *Plant and Soil*, 1997, 196: 301 ~ 304
- [ 8 ] B éard G, Douds D D, Pfeffer P E. Extensive in vitro hyphal growth of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in presence of CO<sub>2</sub> and flavonols. *Appl Environ Microbiol*, 1992, 58(3): 821 ~ 825
- [ 9 ] Siqueira J O, Safir G R, Nair M G. Stimulation of vesicular-arbuscular mycorrhiza formation and growth of white clover by flavonoid compounds. *New Phytol*, 1991, 118: 87 ~ 93
- [ 10 ] 董昌金,姚发兴,赵斌. 类黄酮对 AM 真菌侵染菌丝生长及酶活性的影响. *土壤学报*, 2006, 43(3): 473 ~ 477. Dong C J, Yao F X, Zhao B. Impact of hesperitin on infection hyphal growth and enzyme activity of AM fungus (In Chinese). *Acta Pedologica Sinica*, 2006, 43(3): 473 ~ 477
- [ 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 ] Scervino J M, Ponce M A, Erra-bassells R, et al. Flavonoids exhibit fungal species and genus specific effects on the presymbiotic growth of *Gigaspora* and *Glomus*. *Mycology Research*, 2005, 109(7): 789 ~ 794
- [ 13 ] Nair M G, Safir G R, Siqueira J O. Isolation and identification of vesicular-arbuscular mycorrhiza stimulatory compounds from clover roots. *Appl Environ Microbiol*, 1991, 57: 434 ~ 439
- [ 14 ] Chabot S, Belrhilid R, Chenevert R, et al. Hyphal growth promotion in vitro of the VA mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* Becker & Hall by the activity of structurally specific flavonoids. *New Phytol*, 1992, 122: 461 ~ 467
- [ 15 ] Scervino J M, Ponce M A, Erra-bassells R, et al. Flavonoids exclusively present in mycorrhizal roots white clover exhibit a different effect on arbuscular mycorrhizal fungi than flavonoids exclusively present in non mycorrhizal roots of white clover. *J. Plant Interation*, 2005, 1(1): 15 ~ 22
- [ 16 ] Akiyama K, Matsuzaki K I, Hayashi H. Plant sesquiterpenes induce hyphal branching in arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature*, 2005, 435: 824 ~ 827
- [ 17 ] Davies J F T, Calderon C M, Human Z, et al. Influence of a flavonoid (fomononetin) on mycorrhizal activity and potato crop productivity in the highlands of Peru. *Scientia Horticulturae*, 2005, 106: 318 ~ 329

## EFFECT OF FLAVONOIDS ON SPORE GERMINATION AND PRE-SYMBIOTIC GROWTH OF AM FUNGI IN VITRO

Li Yang<sup>1, 2</sup> Zhao Bin<sup>1†</sup>

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

(2 College of Life Science, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003, China)

**Abstract** The aim of the present work is to study effect of flavonoid on pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi cultured *in vitro*. Effects of flavonoid compounds (quercetin, naringin, rutin, umbelliferon, biochanin A, zeatin riboside, flavanon, apigenin, genistein and fomononetin) on spore germination, hyphal growth and hyphal differentiation of arbuscular mycorrhizal fungi *Gigaspora margarita* and *Glomus geosporum* were examined. Results show that quercetin and rutin stimulated spore germination and hyphal development of *Gi margarita*, and quercetin, ranging between 0.5  $\mu\text{mol L}^{-1}$  and 8  $\mu\text{mol L}^{-1}$ , significantly promoted hyphal growth, hyphal branching and formation of clusters of auxiliary cells, increasing hyphal length, number of hyphal branches and clusters of auxiliary cells by two or three times as com-

pared with the control group, while the other types of flavonoids showed little effect on pre-symbiotic growth of *Gi margarita*. Appropriate in concentration, formononetin, genistein and naringin, stimulated had positive effect on spore germination, hyphal growth and hyphal branching of *Gl geosporum*, and apigenin, flavanone and naringin did formation of secondary spores. Biochanin A merely had some stimulating effect on spore germination of *Gl Geosporum*. Variation of the effect of flavonoids on development of arbuscular mycorrhizal spores depends on type and concentration of flavonoid compounds involved, and different flavonoids play different roles in promoting spore germination, hyphal growth and hyphal branching and formation of secondary spores at pre-symbiotic growth stage of the AM fungi. To study mechanism of flavonoids influencing pre-symbiotic development of AM fungi will help understand interactions between microbe and Plant.

**Key words** Flavonoid; AM fungus; Spore germination; Hyphae