



硒与内生真菌对中华羊茅生长和代谢产物的影响

周连玉^{*}, 焦璐, 巨家升, 马学兰, 蒋霞, 乔枫

青海师范大学生命科学学院, 青海省青藏高原药用动植物资源重点实验室, 青海省青藏高原生物多样性形成机制与综合利用重点实验室, 高原科学与可持续发展研究院, 青海 西宁 810008

摘要: 【目的】探讨亚硒酸钠和内生真菌对中华羊茅生长和代谢产物的影响。【方法】采用气相色谱-质谱联用仪检测中华羊茅两个地理种群带菌(E+)和不带菌(E-)植株地上部分和根系的非靶标代谢产物, 利用单因素方差分析(LSD)显著性统计挖掘处理间的差异性代谢产物。【结果】从地理种群海北(HB)和玉树(YS)植株中分别鉴定出206种和205种化合物, 地上部分和根系中代谢产物存在较大的差异性, 根据显著性统计检验 $P < 0.001$ 分别从地理种群HB地上部分、HB根系、地理种群YS地上部分、YS根系筛选出差异性代谢物27种、42种、40种、33种, 这些差异性代谢物主要是一些含氮化合物、碳水化合物和有机酸。HB地上部分与HB根系共同差异性代谢物9种, YS地上部分与YS根系共同差异性代谢物8种, HB地上部分与YS地上部分共同差异性代谢物5种, HB根系与YS根系共同差异性代谢物14种。地理种群HB内生真菌极显著增加植物地上部分和根系中tyrose含量($P < 0.001$), 加硒促进E+和E-地上部分和根系 α -ketoisocaproic acid含量极显著上升($P < 0.001$), 加硒和内生真菌极显著积累地上部分和根系aspartic acid含量($P < 0.001$)。加硒极显著提高地理种群YS E+和E-地上部分和根系 α -ketoisocaproic acid和acetol含量($P < 0.001$)。【结论】中华羊茅两个地理种群地上部分和根系非极性代谢物存在较大的差异性, 亚硒酸钠和/或内生真菌能提高一些代谢产物的含量。

关键词: 中华羊茅, 地理种群, 内生真菌 *Epichloë* sp., 硒, 代谢分析

硒在植物体内发挥着重要的生理生化作用, 如促生长发育^[1]、改变代谢产物^[2]。最近有研究表明微生物影响植物生长、吸收硒、硒代谢及产生的代谢物^[3-5]。乔亚君等^[6]发现在一定施硒水平

下接种丛枝菌根真菌促进丹参营养和药用成分的积累。

冷季牧草如多年生黑麦草、高羊茅、草地羊茅, 常常感染内生真菌 *Epichloë*^[7-8], 这些内生真

基金项目: 国家自然科学基金地区科学基金(31760697)

*通信作者。E-mail: zly7604@163.com

收稿日期: 2021-02-20; 修回日期: 2021-04-25; 网络出版日期: 2021-09-09

菌的有些种类曾被作为 *Neotyphodium* spp.^[9]。许多禾草-内生真菌共生体的研究表明内生真菌 *Epichloë* 赋予宿主许多益处^[10], 包括促进生长、提高营养吸收能力^[11]、增强对非生物或生物胁迫的抵抗力^[12-15], 而基于代谢组学对禾草-内生真菌共生体互作关系的研究报道并不多见。Rasmussen 等^[16]使用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)检测两种黑麦草在不同氮肥水平下的有机酸、糖醇类、脂肪酸等 66 种代谢产物, 与不带内生真菌 *Epichloë* (E-)植株相比, 带内生真菌 *Epichloë* (E+)植株中有 44 种代谢产物含量在不同氮肥水平下存在差异; 施加高浓度氮肥促进有机酸和脂肪酸含量上升; 内生真菌感染引起植株中某些含氮化合物含量的下降, 而碳水化合物尤其是蔗糖、脂肪酸、有机酸(奎尼酸、莽草酸)和酚类含量增加。Nagabhyru 等^[17]采用离子交换色谱法和液相色谱-质谱联用技术(LC-MS)对干旱胁迫下的 3 个高羊茅株系 E+和 E-进行了研究, 在干旱胁迫 2-3 d, 内生真菌能增加植物地上部分和根系中葡萄糖、果糖、海藻糖、糖醇、脯氨酸和谷氨酸含量, 且内生真菌代谢物甘露醇和黑麦草碱水平也在干旱胁迫下呈上升趋势。

近年来对中华羊茅-内生真菌共生体已进行了多方面的研究, 报道了中华羊茅种群带菌率、菌株的生物学与生理学特性、形态多样性、系统发育关系及生物活性^[18-24]。中华羊茅内生真菌也属于香柱菌(*Epichloë*)^[9,21], 能促进中华羊茅植株生长^[25-26], 并提高抵抗干旱、水涝、低温、盐分、重金属等胁迫的能力^[27-32]。在上述研究的基础上, 本试验就中华羊茅两个地理种群响应亚硒酸钠后其生长指标和代谢产物的变化进行研究, 以期深入理解内生真菌和硒对宿主代谢的影响。

1 材料和方法

1.1 植物材料

分别在青海海北(97°05' E, 36°47' N, 3700 m, HB)和青海玉树(97°08' E, 33°21' N, 3904 m, YS)地方采获中华羊茅植株种子, 4 °C 保存于青海师范大学微生物实验室。

1.2 方法

1.2.1 建立中华羊茅地理种群 E+、E-及处理:

将中华羊茅共生体(E+)种子用甲基托布津处理以获得非共生体(E-)种群^[33]。E+和 E-种子于湿润的滤纸上进行萌发, 然后将幼苗移栽装有灭菌基质(普通土壤:营养土:河砂, 1:1:1, V/V/V)的塑料花盆(上径 16 cm×底径 9 cm×高 11 cm)中。根据植物需水情况进行日常管理。利用苯胺蓝染色检测 4 周龄幼苗的带菌情况^[34], 建立 E+和 E-种群。在花盆中装入 750.0 g 灭菌河沙, 以 E+、E-植株的分蘖进行分株繁殖, 每盆 2 株幼苗, 一个月后以亚硒酸钠浓度为 20 mg/L 的改良营养液[Ca(NO₃)₂ 0.945 g/L, KNO₃ 0.506 g/L, NH₄NO₃ 0.08 g/L, KH₂PO₄ 0.136 g/L, MgSO₄ 0.493 g/L, FeSO₄ 0.0139 g/L, EDTA-Na 0.01865 g/L]作为 Se 处理, 对照组(CK)为改良营养液, 每个处理 10 盆, 每周浇灌 100 mL, 浇灌 7 周后测量生长指标后, 迅速收集样品放入液氮罐中, 贮存于-20 °C, 用于代谢产物分析。

1.2.2 生长指标测定: 取样前测量株高和分蘖数, 将收获的植株分成地上部分和根系, 用清水冲洗根系, 测定根长, 并用游标卡尺测量根直径。

1.2.3 代谢组学样品提取与衍生化方法: 称取样本(10±1) mg 于 1.5 mL 离心管中, 依次加入 450 μL 预冷甲醇(甲醇:水=3:1, V/V)和 10 μL 核糖醇, 涡旋 30 s; 加入钢珠, 35 Hz 研磨仪处理 4 min, 超

声 5 min (冰水浴), 将样品于 4 °C 下 10000 r/min 离心 15 min。将 200 μ L 上清液移至 1.5 mL 离心管中, 每个样本各取 60 μ L 混合成 QC 样本, 在真空浓缩器中干燥提取物。向干燥后的代谢物加入 60 μ L 甲氧胺盐试剂(甲氧胺盐酸盐, 溶于吡啶 20 mg/mL), 轻轻混匀后, 放入烘箱中 80 °C 孵育 30 min; 之后向每个样品中加入 80 μ L BSTFA (含有 1% TMCS, *V/V*), 将混合物 70 °C 孵育 1.5 h; 冷却至室温, 向混合的样本中加入 5 μ L FAMEs (溶于氯仿), 用于 GC-MS 上机分析。

1.2.4 GC-MS 分析及代谢数据比对: Agilent 7890 气相色谱-飞行时间质谱联用仪配有 Agilent DB-5MS 毛细管柱(30 m \times 250 μ m \times 0.25 μ m, J&W Scientific, Folsom, CA, USA)。色谱条件: 柱初温 50 °C, 保持 1 min, 以 10 °C/min 升温速度升至 310 °C, 保持 8 min。载气为高纯氮气, 流速 1 mL/min, 进样量 1.0 μ L, 不分流。质谱条件: EI 离子源, 电离电压 70 eV, 离子源温度 250 °C, 前进样口温度 280 °C, 传输线温度 280 °C, 扫描速率 12.5/s, 溶剂延迟 6.25 min, 质量范围 50–500 amu。

使用 ChromaTOF 软件(V 4.3x, LECO)对质谱数据进行了峰提取、基线矫正、解卷积、峰积分、峰对齐等分析。使用了 LECO-Fiehn Rtx5 数据库对物质进行定性, 包括质谱匹配及保留时间指数匹配。最后去

除 QC 样本中检出率 50%以下或 RSD > 30%的峰。

1.3 统计分析

生长指标数据结果均采用平均值 \pm 标准误差表示。每个代谢物的离子峰响应值与内标响应值进行比较得到相对含量, 导入 SPSS16.0 软件进行主成分分析(PCA), 通过载荷图直观地表达组间的差异, 挖掘一些分类贡献率最大的代谢物。再用 MeV 软件制作热图, 由聚类分析可以获得不同样品或化合物的归类现象。利用单因素方差分析(LSD)显著性统计检验($P < 0.001$)挖掘高度显著的差异代谢物。

2 结果和分析

2.1 硒对中华羊茅地理种群共生体和非共生体生长指标的影响

硒对青海中华羊茅 2 个地理种群(HB 和 YS)农艺性状的影响结果见表 1。株高和根长在中华羊茅地理种群、E+和 E-植株及硒处理之间均差异不明显($P > 0.05$)。而地理种群 HB 经硒处理后 E+植株中分蘖数高于不添加 Se 的地理种群 YS E+和加硒的 E-植株($P < 0.05$), 但同种地理种群 E+和 E-植株中, 硒处理与对照之间分蘖数不存在显著性差异($P > 0.05$)。中华羊茅地理种群 E+和 E-植株根系形态如图 1, 根直径不存在明显差异($P > 0.05$)。

表 1. 硒对中华羊茅共生体和非共生体生长指标的影响

Table 1. Effects of selenium on growth indexes of *F. sinensis* with and without *Epichloë* endophyte

Growth index	Geographical populations and Se treatment							
	CKHBE+	SeHBE+	CKHBE-	SeHBE-	CKYSE+	SeYSE+	CKYSE-	SeYSE-
Plant height/cm	41.83 \pm 1.89a	42.23 \pm 1.66a	39.73 \pm 1.93a	40.20 \pm 1.55a	40.83 \pm 1.44a	39.53 \pm 1.55a	39.53 \pm 2.53a	39.67 \pm 1.72a
Tiller number (plant)	4.33 \pm 0.58ab	4.67 \pm 0.58a	4.33 \pm 0.58ab	3.33 \pm 0.58bc	3.00 \pm 1.00c	3.33 \pm 0.58bc	3.00 \pm 1.00c	3.67 \pm 0.58abc
Root length/cm	12.63 \pm 1.19a	12.77 \pm 1.12a	11.23 \pm 0.25a	11.33 \pm 0.58a	11.43 \pm 0.60a	11.47 \pm 0.84a	11.37 \pm 1.85a	11.63 \pm 1.21a

Non-matching lower case letters in the same line indicated a significant effect of selenium treatment ($P < 0.05$). CKHBE+ and CKHBE- respectively represented HB with and without *Epichloë* endophyte under control; SeHBE+ and SeHBE- respectively represented HB with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment; CKYSE+ and CKYSE- respectively represented YS with and without *Epichloë* endophyte under control; SeYSE+ and SeYSE- respectively represented YS with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment.

2.2 硒对中华羊茅两个地理种群的 E+、E- 植株代谢物的影响

从植物样品中共检测到 484 个峰, 与数据库比对, 分别从中华羊茅地理种群 HB 和 YS 植株中鉴定出的 206 种和 205 种化合物。

2.2.1 中华羊茅地理种群 HB 和 YS 植株地上部分和根系的主成分分析:

利用 PCA 方法, 对中华羊茅地理种群 HB 带菌情况(E+和 E-)、部位(地上部分和根系部分)及硒处理共 8 个样品(每个样品 3 个重复数)进行处理, 提取出 2 个主成分如图 2 所示(图 2-A), 第一主成分所占有的分量为 74.08%, 第二主成分占 15.23%, 基本能反应处理的最大特征。样品明显地分为两类: 根系样品和叶片样品, 说明不同部位代谢产物的表达存在差异。对植物 YS 带菌情况(E+和 E-)、部位(地上部分和根系部分)及硒处理共 8 个样品(每个样品 3 个重复数)进行 PCA 分析, 提取出 2 个主成分结果如图 2-B, 第一主成分和第二主成分所占有的分量分别为 73.63%和 11.87%。地理种群 YS 样品分为根系样



图 1. 中华羊茅地理种群 HB 和 YS 根系

Figure 1. Roots of *F. sinensis* geographical populations HB and YS. CKRHBE+, SeRHBE+, CKRHBE-, SeRHBE-, CKRYSE+, SeRYSE+, CKRYSE- and SeRYSE- were arranged from left to right; CKRHBE+ and CKRHBE- represented HB roots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeRHBE+ and SeRHBE- represented HB roots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively; CKRYSE+ and CKRYSE- represented YS roots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeRYSE+ and SeRYSE- represented YS roots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively.

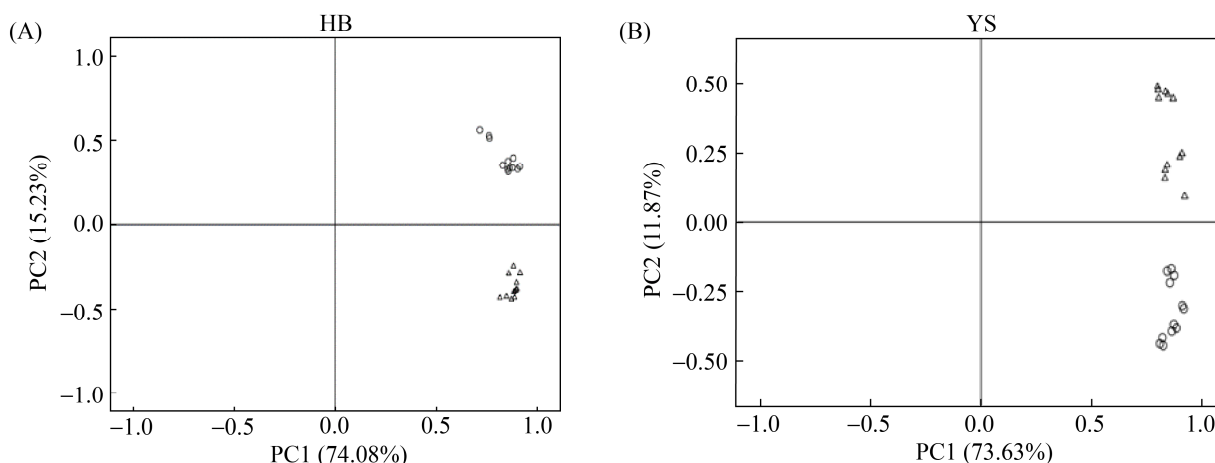


图 2. 中华羊茅地理种群 HB 和 YS 地上部分和根系样品主成分分析(△和○分别代表地上部分和根系样品)

Figure 2. Principal component analysis (PCA) of the shoot and root samples for *F. sinensis* geographical populations HB and YS. △ and ○ represented shoot and root samples, respectively.

品和叶片样品两类,表明两者之间的代谢产物存在差异性,根系样品中 E+和 E-之间也存在差异性,叶片样品中对照与硒处理之间具有差异性。

对地理种群 HB 已确定的 206 种化合物进行主成分分析,提取出 22 个主成分,其中前 2 个主成分累计贡献率为 53.10% (图 3)。在第一主成分上载荷较大的有 methylmalonic acid、maleic acid、serine、2,3-dimethylsuccinic acid、citramalic acid、L-glutamic acid、phenylalanine、(2R,3S)-2-hydroxy-3-isopropylbutanedioic acid、D-alanyl-D-alanine、D-erythronolactone、glutamic acid、ribose、D-arabitol、ribitol、diglycerol、glucose-1-phosphate、2-deoxy-D-glucose、shikimic acid、glucuronic acid、sedoheptulose、4-hydroxycinnamic acid、caffeic acid、galactonic acid、isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside、 β -mannosylglycerate、D-erythro-sphingosine、DL-dihydrosphingosine、2-monopalmitin、galactinol、chlorogenic acid、 α -tocopherol、raffinose 等 32 种化合物。

而对地理种群 YS 已确定的 205 种化合物进行主成分分析,提取出 20 个主成分,其中前 2 个主成分累计贡献率为 51.51% (图 4)。在第一主成分上载荷较大的有 citramalic acid、ribose、diglycerol、dehydroshikimic acid、glucose-1-phosphate、glucuronic acid、sedoheptulose、ascorbate、tyrosine、caffeic acid、galactonic acid、isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside、3,4-dihydrosphingosine、D-erythro-sphingosine、DL-dihydrosphingosine、5-dihydrocortisol,第二主成分上载荷较大的有 2-deoxyuridine、N-cyclohexylformamide、4-acetylbutyric acid、maleamate、N-formyl-L-methionine,仅 β -alanine 在第三主成分载荷较大。

actamicro@im.ac.cn

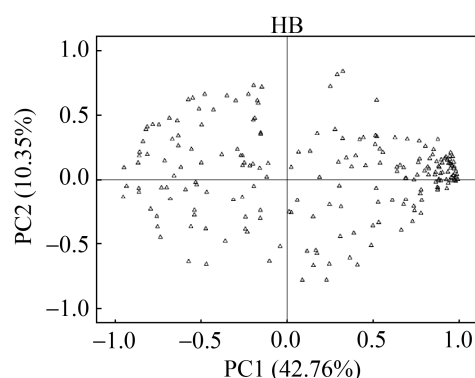


图 3. 中华羊茅地理种群 HB 的 206 种化合物主成分分析

Figure 3. Principal component analysis (PCA) of the 206 metabolites in *F. sinensis* geographical population HB.

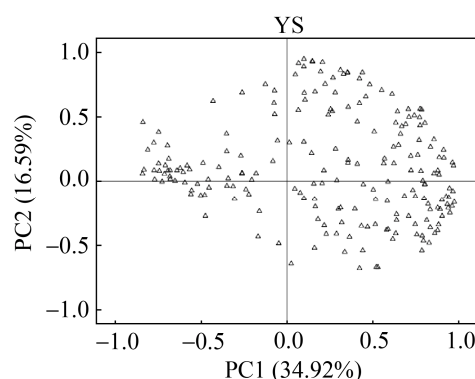


图 4. 中华羊茅地理种群 YS 的 205 种化合物主成分分析

Figure 4. Principal component analysis (PCA) of the 205 metabolites in *F. sinensis* geographical population YS.

2.2.2 中华羊茅地理种群 HB 和 YS 植株地上部分和根系的聚类分析: 地理种群 HB 聚类分析分为两大类(图 5): 一大类包括 113 种化合物,其中又分成 31 种和 82 种(分为 50 种和 32 种); 另一大类有 93 种化合物,其中又分为 39 种和 54 种。样品聚类情况与 PCA 结果相同,分为叶片样品和根系样品两类。

地理种群 YS 聚类分析分为三类(图 6): 5 种化合物聚为一类,9 种化合物聚为另一类,还有

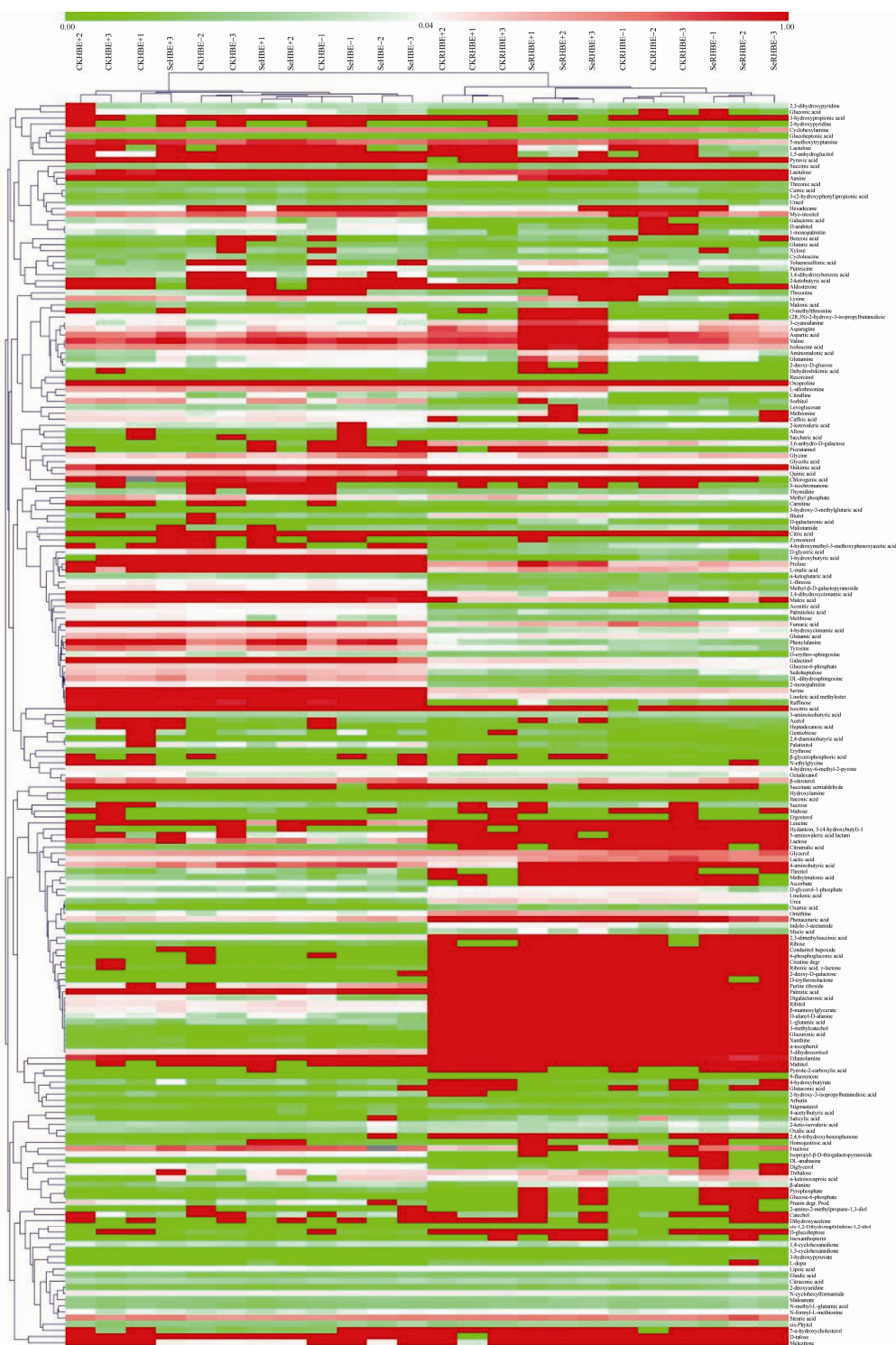


图 5. 中华羊茅地理种群 HB 代谢水平热图

Figure 5. Heatmap of metabolite levels in *F. sinensis* geographical population HB. CKHBE+ and CKHBE- represented HB shoots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeHBE+ and SeHBE- represented HB shoots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment respectively; CKRHBE+ and CKRHBE- represented HB roots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeRHBE+ and SeRHBE- represented HB roots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment respectively; 1, 2 and 3 represented the repetition number of sample.

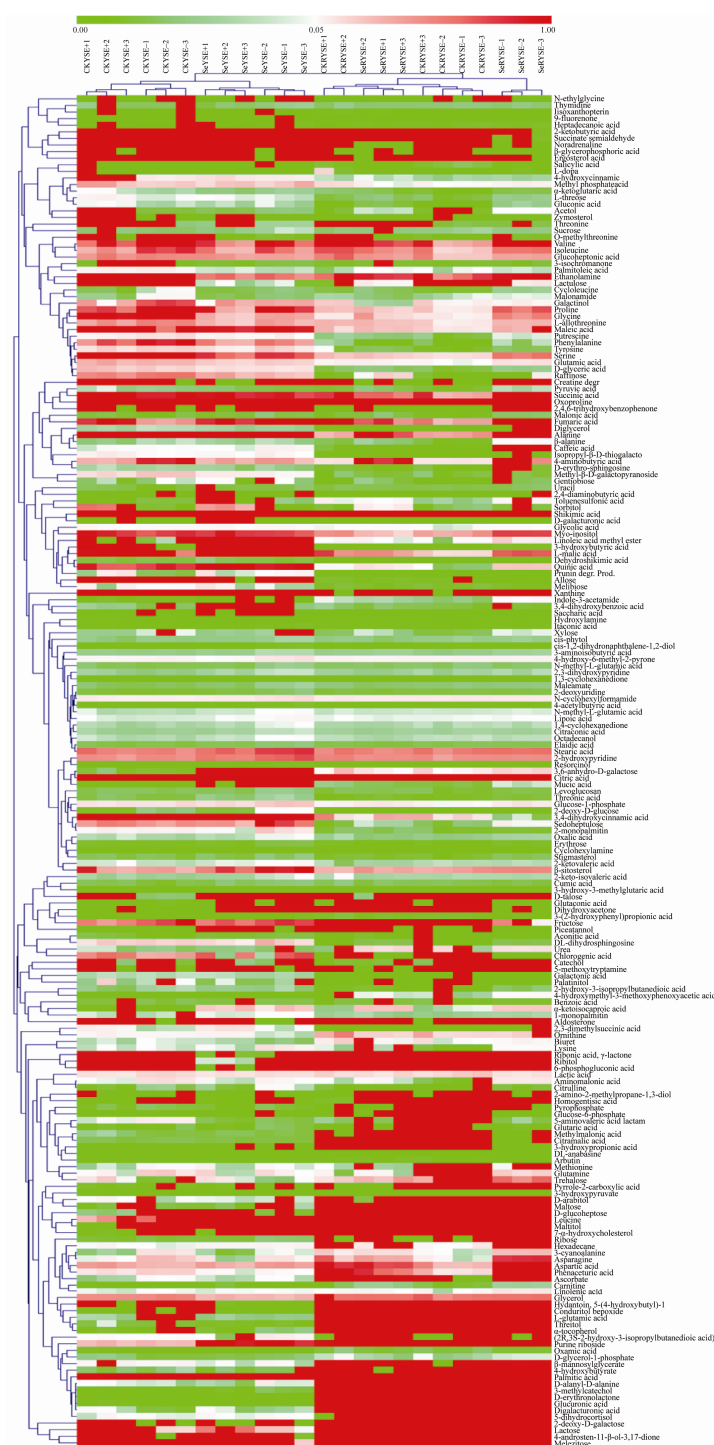


图 6. 中华羊茅地理种群 YS 代谢水平热图

Figure 6. Heatmap of metabolite levels in *F. sinensis* geographical population YS. CKYSE+ and CKYSE– represented YS shoots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeYSE+ and SeYSE– represented YS shoots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively; CKRYSE+ and CKRYSE– represented YS roots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeRYSE+ and SeRYSE– represented YS roots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively; 1, 2 and 3 represented the repetition number of sample.

192 种聚成一类, 其中又分成 40 种、90 种、48 种及 14 种 4 类。样品聚类情况与 PCA 结果相同, 分为叶片样品和根系样品两大类。

2.2.3 中华羊茅地理种群 HB 和 YS 地上部分和根系的代谢产物变化情况: 中华羊茅地理种群 HB 代谢产物比值结果见表 2。共生体(E+)与非共生体(E-)相比较, 对照和硒处理后地上部分中化合物相对含量高的所占百分比分别为 57.77%和 49.03%, 此化合物含量高的百分比高于化合物含量低的百分比; 而根系中化合物相对含量低的占比高于化合物相对含量高的百分比。与对照相比, 施加亚硒酸钠提高 E+和 E-地上部分代谢产物含量; 亚硒酸钠对 E+和 E-根系影响不一致, 硒促进 E+植株中根系产生含量高的代谢物, 相反, 降低 E-植株中根系代谢产物的含量。相同处理下地上部分代谢产物与根系代谢产物之比值大于 1 的百分比高于两者之比值小于 1 的百分比, 说明地上部分积累的代谢产物含量较高。

从表 3 中华羊茅地理种群 YS 代谢产物比值

可知, E+与 E-植株相比较, 对照地上部分和对照根系中化合物相对含量高的所占百分比分别为 46.34%和 53.66%, 高于化合物含量低的百分比; 而施加硒地上部分和根系化合物相对含量高的占比少于化合物相对含量高的百分比。与不加硒相比, 施加亚硒酸钠提高 E-地上部分和根系代谢产物含量; 相反, 亚硒酸钠降低 E+地上部分和根系代谢产物的含量。相同处理下地上部分代谢产物与根系代谢产物之比值大于 1 的百分比高于两者之比值小于 1 的百分比, 说明地上部分积累更多的代谢产物。

2.2.4 中华羊茅地理种群 HB 和 YS 地上部分和根系的显著性分析: 分别对地理种群 HB 地上部分或根系 206 种化合物在处理间进行了各个代谢物相对含量的显著性分析, 发现地上部分 82 种化合物相对含量在处理之间存在显著($P < 0.05$)或极显著($P < 0.01$)差异, 根据高度显著 $P < 0.001$ 值来筛选差异代谢物, 得出有 27 种差异代谢物(图 7); 根系有 99 种代谢产物相对含量在处理之

表 2. 中华羊茅地理种群 HB 代谢产物比值百分数

Table 2. Percentages of compound ratio for *F. sinensis* geographical population HB

Ratio	Percentage of ratio above 1/%	Percentage of ratio below 1/%	Percentage of undetect compound/%
CKHBE+/CKHBE-	57.77	33.98	8.25
CKRHBE+/CKRHBE-	37.86	43.69	8.45
SeHBE+/SeHBE-	49.03	44.66	6.31
SeRHBE+/SeRHBE-	39.81	42.23	17.96
SeHBE+/CKHBE+	47.57	47.09	5.34
SeHBE-/CKHBE-	56.31	35.44	8.25
SeRHBE+/CKRHBE+	47.09	34.95	17.96
SeRHBE-/CKRHBE-	32.04	49.51	15.45
CKHBE+/CKRHBE+	45.63	34.47	19.90
SeHBE+/SeRHBE+	42.72	37.38	19.90
CKHBE-/CKRHBE-	41.75	39.81	8.45
SeHBE-/SeRHBE-	45.63	35.92	18.45

CKHBE+ and CKHBE- represented HB shoots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeHBE+ and SeHBE- represented HB shoots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively; CKRHBE+ and CKRHBE- represented HB roots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeRHBE+ and SeRHBE- represented HB roots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively.

表 3. 中华羊茅地理种群 YS 代谢产物比值百分数

Table 3. Percentages of compound ratio for *F. sinensis* geographical population YS

Ratio	Percentage of ratio above 1/%	Percentage of ratio below 1/%	Percentage of undetect compound/%
CKYSE+/CKYSE-	46.34	43.41	10.24
CKRYSE+/CKRYSE-	53.66	21.95	24.39
SeYSE+/SeYSE-	24.39	66.34	14.15
SeRYSE+/SeRYSE-	21.46	59.02	19.51
SeYSE+/CKYSE+	37.56	51.71	10.73
SeYSE-/CKYSE-	51.71	38.05	10.24
SeRYSE+/CKRYSE+	32.68	48.29	19.02
SeRYSE-/CKRYSE-	52.68	22.93	24.39
CKYSE+/CKRHBE+	41.95	39.02	19.02
SeYSE+/SeRHBE+	43.90	36.59	19.51
CKYSE-/CKRYSE-	40.98	35.13	23.90
SeYSE-/SeRYSE-	47.80	32.20	20.00

CKYSE+ and CKYSE- represented YS shoots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeYSE+ and SeYSE- represented YS shoots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively; CKRYSE+ and CKRYSE- represented YS roots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeRYSE+ and SeRYSE- represented YS roots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively.

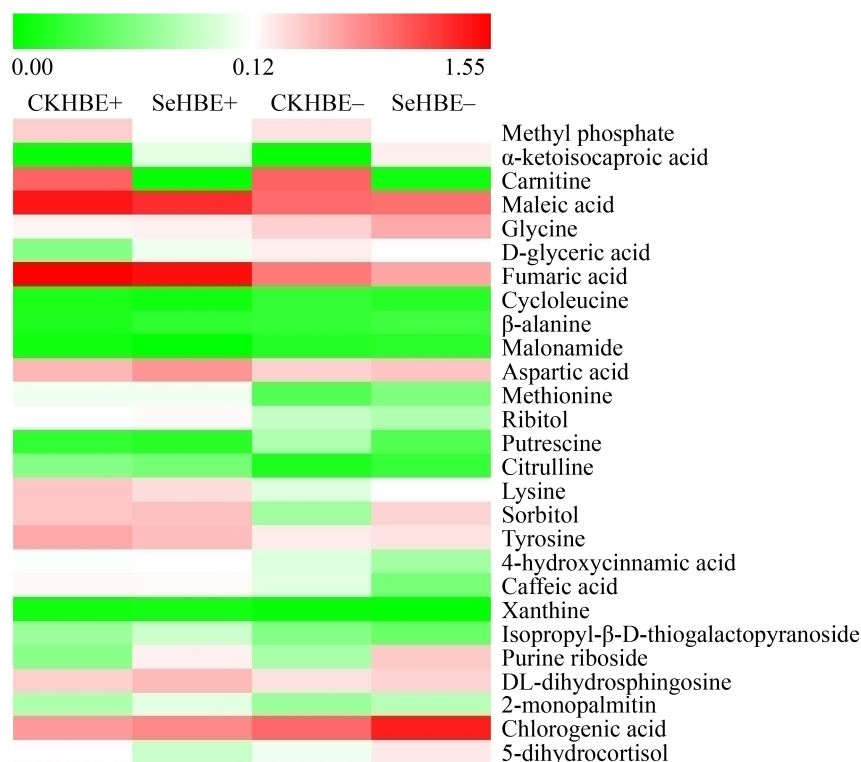


图 7. 地理种群 HB 地上部分差异代谢物

Figure 7. Marked metabolites from shoots of geographical population HB. CKHBE+ and CKHBE- represented HB shoots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeHBE+ and SeHBE- represented HB shoots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively.

间存在显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)差异, 根据高度显著 $P<0.001$ 值来筛选差异代谢物, 得出有 42 种差异代谢物(图 8)。就地上部分 27 种差异代谢物, 其中地理种群 HB E+植株在施加硒或不加硒条件下有 12 种化合物(methionine、lysine、tyrosine、citrulline、maleic acid、fumaric acid、ribitol、sorbitol、4-hydroxycinnamic acid、caffeic acid、xanthine、isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside)

含量极显著高于施加硒或不加硒的 E-植株 ($P<0.001$); 相反, 有 3 种代谢物(glycine、cycloleucine、malonamide)在 E+植株中含量极显著低于 E-植株($P<0.001$)。硒处理的 E+和 E-植株地上部分有 3 种化合物(α -ketoisocaproic acid、carnitine、purine riboside)极显著高于对照 E+和 E-植株($P<0.001$), 而仅化合物 methyl phosphate 含量在对照 E+和 E-植株中极显著多于加硒 E+和

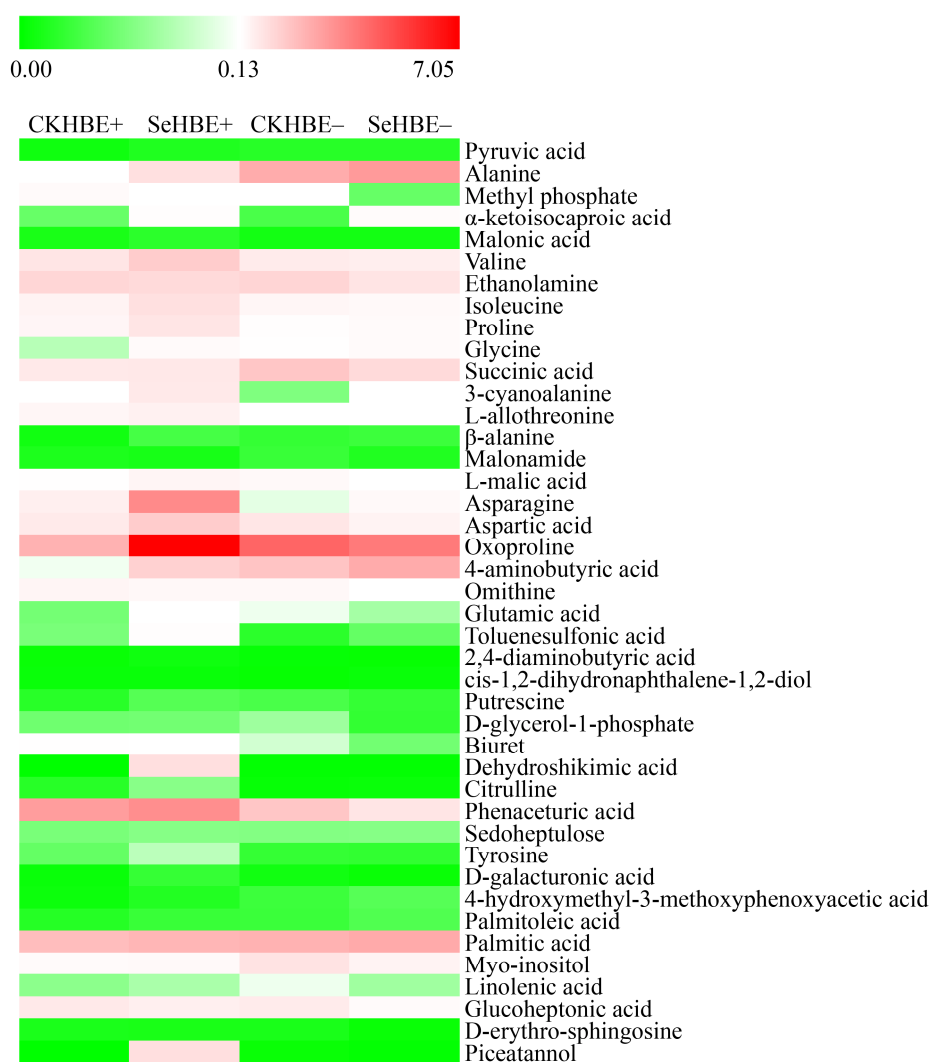


图 8. 地理种群 HB 根系差异代谢物

Figure 8. Marked metabolites from roots of geographical population HB. CKRHBE+ and CKRHBE- represented HB roots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeRHBE+ and SeRHBE- represented HB roots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively.

E-植株($P<0.001$)。施加硒 E+植株地上部分有 3 种化合物 aspartic acid、DL-dihydrosphingosine、2-monopalmitin 丰度极显著超过施加硒的 E-和对照组植株($P<0.001$)，有 3 种化合物 β -alanine、chlorogenic acid、5-dihydrocortisol 在加硒处理的 E-植株中含量极显著高于加硒 E+和对照组植株($P<0.001$)。

HB 根系 42 种差异代谢物变化情况受植株带菌、加硒条件的作用。E+植株在加硒和对照条件下根系中有 5 种化合物(asparagine、tyrosine、L-allothreonine、biuret、phenaceturic acid)含量极显著大于加硒和对照的 E-植株($P<0.001$)，但有 7 种化合物含量(alanine、4-aminobutyric acid、pyruvic acid、succinic acid、dehydroshikimic acid、piceatannol、4-hydroxymethyl-3-methoxyphenoxyacetic acid)在加硒和对照条件下 E-植株根系中极显著多于在加硒和对照条件下 E+植株根系($P<0.001$)。加硒促进 E+和 E-植株极显著地积累 glycine、 α -ketoisocaproic acid 化合物水平($P<0.001$)；相反，不加硒的 E+和 E-植株极显著地积累 glucoheptonic acid 和 ethanolamine 含量($P<0.001$)。E+植株根系在施加硒后有(valine、isoleucine、proline、 β -alanine、aspartic acid、citrulline、oxoproline、3-cyanoalanine、malonic acid、D-galacturonic acid、L-malic acid、2,4-diaminobutyric acid、toluenesulfonic acid) 13 种化合物含量极显著超过其他处理($P<0.001$)，E+植株加硒后 glutamic acid 和 putrescine 化合物含量极显著超过对照 E+植株和硒处理 E-植株($P<0.001$)。在 E-植株中加硒处理的根系产生 palmitoleic acid 和 palmitic acid 含量极显著超过其他组($P<0.001$)。

分别对地理种群 YS 地上部分或根系 205 种化合物在处理间进行了各个代谢物相对含量的显著性分析，发现地上部分 115 种化合物相对含量在处理之间存在显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)差异，根据极显著 $P<0.001$ 值来筛选差异代谢物，得出有 50 种差异代谢物(图 9)；根系有 81 种代谢产物相对含量在处理之间存在显著($P<0.05$)或极显著($P<0.01$)差异，根据极显著 $P<0.001$ 值来筛选差异代谢物，得出有 33 种差异代谢物(图 10)。

地理种群 YS 地上部分 40 种差异代谢物变化与植物带菌、硒处理有关。E+植株在加硒和对照条件下地上部分中有 2 种化合物 3-cyanoalanine、2-deoxy-D-glucose 极显著低于加硒和对照的 E-植株($P<0.001$)，而化合物 2,3-dimethylsuccinic acid 在加硒和对照 E+植株中含量极显著高于加硒和对照的 E-植株($P<0.001$)。加硒促进 E+和 E-植株极显著地积累 4 种化合物的含量(α -ketoisocaproic acid、citric acid、acetol、purine riboside) ($P<0.001$)；但对照 E+和 E-植株有 9 种化合物含量(glycine、serine、ethanolamine、3-hydroxypropionic acid、raffinose、glycerol、methyl- β -D-galactopyranoside、phenaceturic acid、mucic acid)极显著多于加硒组($P<0.001$)。YS 地上部分 E-植株在施加硒后有 14 种化合物(3-aminoisobutyric acid、4-aminobutyric acid、ribose、D-talose、 α -tocopherol、erythrose、N-methyl-L-glutamic acid、octadecanol、3-methylcatechol、2-hydroxypyridine、2,3-dihydroxypyridine、1,3-cyclohexanedione、4-hydroxy-6-methyl-2-pyrone、cis-1,2-Dihydronaphthalene-1,2-diol)极显著高于其他组($P<0.001$)，化合物 aconitic acid 在加硒

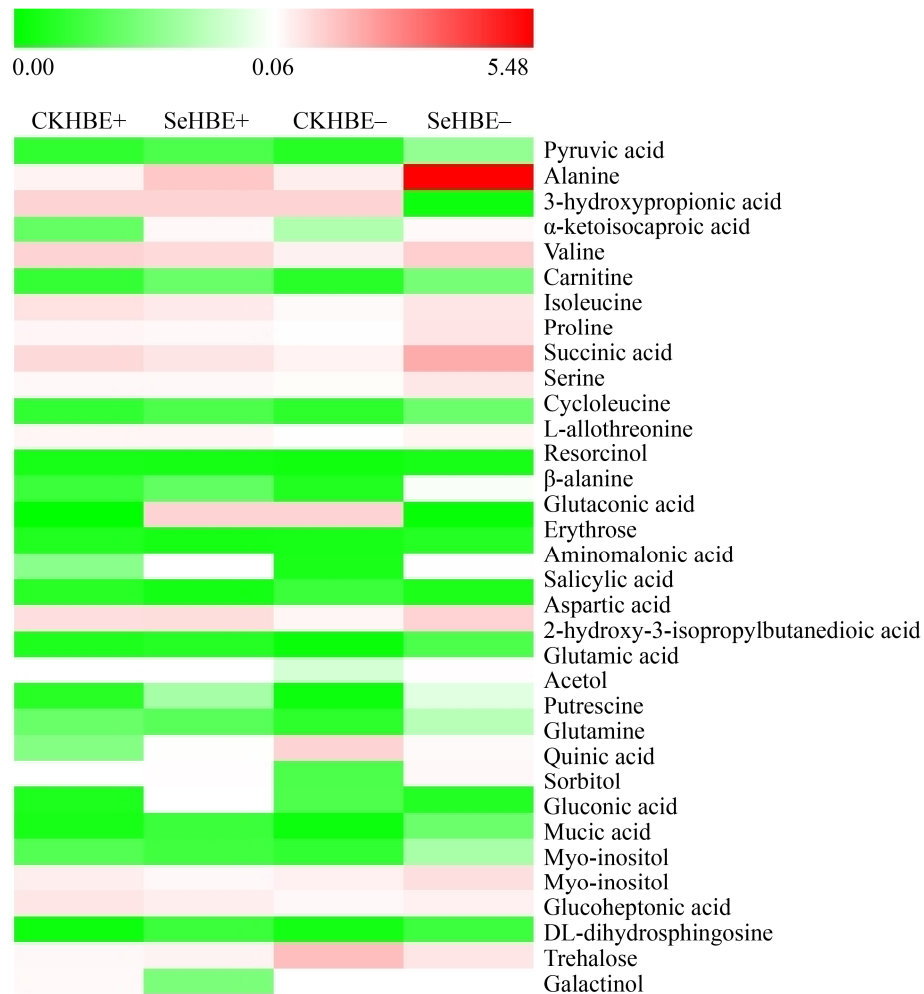


图 9. 地理种群 YS 地上部分差异代谢物

Figure 9. Marked metabolites from shoots of geographical population YS. CKYSE+ and CKYSE- represented YS shoots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeYSE+ and SeYSE- represented YS shoots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively.

的 E-植株的含量极显著超过加硒 E+植株和对照 E-植株($P<0.001$), 加硒 E+植株中化合物 ribitol 和 4-hydroxycinnamic acid 含量极显著超过其他组($P<0.001$)。

植物带菌和硒处理影响着地理种群 YS 根系 33 种差异代谢物的变化。加硒促进 E+和 E-植株极显著地积累 9 种化合物(alanine、 β -alanine、cycloleucine、pyruvic acid、 α -ketoisocaproic acid、carnitine、DL-dihydrosphingosine、acetol、gluconic

acid) ($P<0.001$), 但对照 E+和 E-植株仅 salicylic acid 化合物含量极显著高于加硒组($P<0.001$)。YS E-植株根系在施加硒后有 15 种化合物(valine、proline、serine、glutamine、2-hydroxy-3-isopropylbutanedioic acid、glutamic acid、putrescine、aminomalonic acid、3-hydroxypropionic acid、succinic acid、quinic acid、mucic acid、glutaconic acid、myo-inositol)极显著超过其他组($P<0.001$), 化合物 sorbitol 在加硒的 E+植株含量极显著高

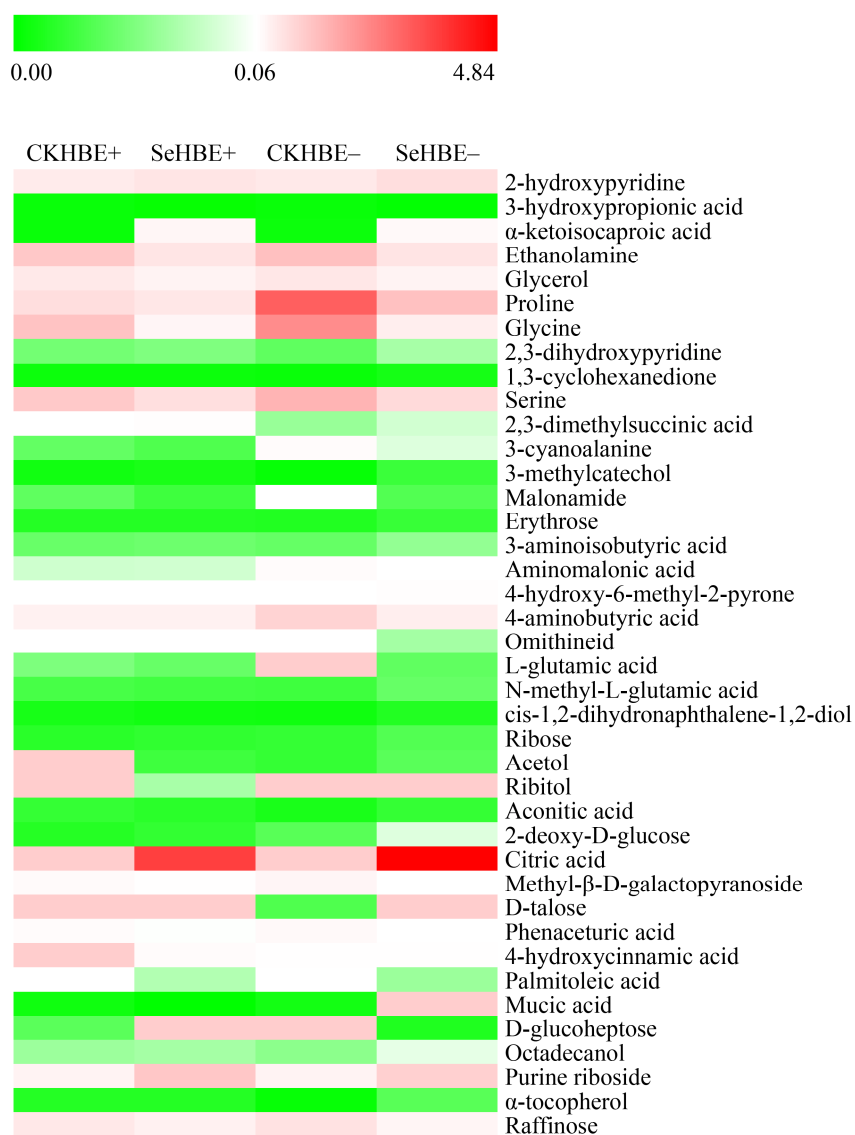


图 10. 地理种群 YS 根系差异代谢物

Figure 10. Marked metabolites from roots of geographical population YS. CKRYSE+ and CKRYSE- represented YS roots with and without *Epichloë* endophyte under control, respectively; SeRYSE+ and SeRYSE- represented YS roots with and without *Epichloë* endophyte under Se treatment, respectively.

于其他组，化合物 erythrose 在加硒的 E-植株的含量极显著多于加硒 E+和对照 E-植株($P < 0.001$)，E-植株中化合物 trehalose 含量极显著大于对照 E+和加硒 E+植株。

2.2.5 比较中华羊茅地理种群 HB 和 YS 植株地上部分和根系的差异性代谢物：从图 7 和图 8 可

知 HB 植株地上部分和根系共同差异代谢物有 9 种：methyl phosphate、 α -ketoisocaproic acid、glycine、 β -alanine、malonamide、aspartic acid、putrescine、citrulline、tyrosine。图 9 和图 10 表明 YS 植株地上部分和根系具有 8 种共同差异代谢物：3-hydroxypropionic acid、 α -ketoisocaproic

acid、proline、serine、erythrose、aminomalonic acid、acetol、mucic acid。

根据图 7 HB 植株地上部分和图 9 YS 植株地上部分差异代谢物, 发现两者共同的差异代谢物有 5 种: α -ketoisocaproic acid、glycine、malonamide、ribitol、purine riboside。由图 8 和图 10 可知, HB 植株根系和 YS 植株根系共同差异代谢物有 14 种: pyruvic acid、alanine、 α -ketoisocaproic acid、valine、isoleucine、proline、succinic acid、L-allothreonine、 β -alanine、aspartic acid、glutamic acid、putrescine、myo-inositol、glucoheptonic acid。

3 讨论和结论

中华羊茅的生长状况受带菌情况、矿质成分处理以及地理种群等多方面的影响^[27,32]。王凯等^[27]在温室中种植来源于青海、四川的 6 个中华羊茅地理种群, 通过测量发现内生真菌对部分地理种群中华羊茅的株高、分蘖影响不一致。王美宁等^[32]分别采用 ZnCl₂ (500 mg/L)或 CdCl₂ (100 mg/L)处理中华羊茅 E+和 E-植株, 结果表明, 与对照相比施加 Zn 能显著增加 E+和 E-植株的株高, 而添加 Cd 显著抑制其生长($P<0.05$); 两种处理对中华羊茅分蘖能力作用有差别, Zn 处理对中华羊茅 E+和 E-植株分蘖数的影响不明显; Cd 处理明显促进 E+产生分蘖数, 但抑制 E-植株分蘖能力($P<0.05$)。本试验发现硒处理对 2 个地理种群 E+和 E-植株株高、根长、根直径均没有显著影响; 地理种群 HB 经硒处理后 E+植株中分蘖数高于硒处理 E-植株、不添加 Se 的 YS E+和 E-植株($P<0.05$)。

Lee 等^[35]研究表明, 添加不同浓度的硒酸钠

使花椰菜总氨基酸和谷氨酰胺得到提高; Tian 等^[2]采用 GC-MS 技术检测花椰菜应答硒(100 $\mu\text{mol/L}$)的代谢产物, 发现施加硒酸钠促进 serine、D-erythronolactone、melezitose、tyrosine、glucose-6-phosphate、 β -alanine、S-carboxymethylcysteine、D-fructose 1,6-bisphosphate 含量上升, 而降低 D-glyceric acid、succinic acid、citric acid、L-malic acid、D-talose、threonine、O-acetylserine 的含量。Hoewyk 等^[36]从转录组学方面研究拟南芥响应硒胁迫后根系和地上部分基因表达差异, 发现 340 个基因表达量明显下调, 而有 553 个基因表达量增加, 这些上调的基因掺入信号转导(钙信号、乙烯、茉莉酸)、转录因子、调控蛋白、胁迫相关蛋白(热激蛋白)、硫吸收与转运、氨基酸合成、碳水化合物合成等多种代谢途径。本研究结果表明差异性代谢物变化受中华羊茅地理种群、带菌情况、组织部位、加硒条件等因素影响。与不带菌植株相比, 硒处理提高了地理种群 HB 带菌植株地上部分中多种非靶标代谢产物的相对含量(表 2)。施加硒促使 2 个地理种群(HB 和 YS)地上部分和根系中某些差异性代谢物发生极显著的上升或降低变化。HB 经硒处理后 E+和 E-植株地上部分中 α -ketoisocaproic acid、carnitine、purine riboside 的含量极显著上升($P<0.001$), 而 methyl phosphate 的含量极显著降低($P<0.001$); E+和 E-植株根系中 glycine 和 α -ketoisocaproic acid 含量极显著积累($P<0.001$), 而 glucoheptonic acid 和 ethanolamine 含量极显著减少($P<0.001$)。硒处理有利于 YS E+和 E-植株地上部分 α -ketoisocaproic acid、citric acid、acetol 和 purine riboside 的累积($P<0.001$), 但不利于 9 种化合物的累积 (glycine、serine、ethanolamine、

3-hydroxypropionic acid、raffinose、glycerol、methyl- β -D-galactopyranoside、phenaceturic acid、mucic acid ($P < 0.001$); YS E+和 E-植株根系中有 9 种化合物含量极显著增加(alanine、 β -alanine、cycloleucine、pyruvic acid、 α -ketoisocaproic acid、carnitine、DL-dihydrosphingosine、acetol、gluconic acid, $P < 0.001$), 仅 salicylic acid 含量受到极显著抑制($P < 0.001$)。

地理种群和内生真菌影响着中华羊茅植株的营养成分。通过研究 6 个地理种群中华羊茅带菌植株与不带菌植株的粗蛋白和粗脂肪含量, 发现 2 个地理种群 E+植株粗脂肪和粗蛋白含量均显著多于 E-植株($P < 0.05$); 3 个地理种群带菌植株粗脂肪含量显著高于不带菌植株($P < 0.05$), 其他 3 个地理种群带菌植株粗脂肪与不带菌植株无显著差异($P > 0.05$); 3 个地理种群 E+植株粗蛋白含量明显超过 E-植株($P < 0.05$), 而 2 个地理种群 E+植株粗蛋白明显低于 E-植株($P < 0.05$)^[27]。基于代谢组学对禾草-内生真菌共生体互作关系的研究, 证明了内生真菌能改变植物体内含氮化合物、碳水化合物、有机酸和脂肪酸等代谢产物的水平^[16-17]。本研究发现内生真菌提高地理种群 HB 和 YS 植株地上部分中多种非靶标代谢产物的相对含量(表 2, 表 3)对 2 个地理种群地上部分和根系差异性代谢物变化有高度显著影响。在硒处理或对照条件下带菌 HB 植株地上部分有 12 种化合物(methionine、lysine、tyrosine、citrulline、maleic acid、fumaric acid、ribitol、sorbitol、4-hydroxycinnamic acid、caffeic acid、isopropyl- β -D-thiogalactopyranoside、xanthine)的含量极显著高于不带菌植株($P < 0.001$), 但带菌植株有 3 种代谢物(glycine、cycloleucine、malonamide)的含

量极显著低于不带菌植株($P < 0.001$); 带菌植株根系有 5 种化合物(asparagine、tyrosine、L-allothreonine、biuret、phenaceturic acid)的含量极显著高于 E-植株($P < 0.001$), 然而带菌植株根系 7 种化合物(alanine、4-aminobutyric acid、pyruvic acid、succinic acid、dehydroshikimic acid、piceatannol、4-hydroxymethyl-3-methoxyphenoxyacetic acid)的含量极显著低于不带菌植株($P < 0.001$)。内生真菌对 YS 植株的差异代谢物影响与 HB 不一致, 与 E-植株相比, 在加硒和对照条件下带菌植株根系中 3-cyanoalanine 和 2-deoxy-D-glucose 含量极显著增加($P < 0.001$), 而 2,3-dimethylsuccinic acid 的含量极显著降低($P < 0.001$)。

综上所述, 中华羊茅 2 个地理种群应答硒处理后地上部分和根系非靶标代谢产物和差异性代谢物存在一定的差异性, 内生真菌和/或硒处理能提高地上部分一些非靶标代谢产物或差异性代谢物含量, 以此来改良中华羊茅牧草品质, 为开发富硒牧草提供科学依据。

参 考 文 献

- [1] Li ZY, Guo SY, Li L. Bioeffects of selenite on the growth of *Spirulina platensis* and its biotransformation. *Bioresource Technology*, 2003, 89(2): 171-176.
- [2] Tian M, Xu XY, Liu FX, Fan X, Pan SY. Untargeted metabolomics reveals predominant alterations in primary metabolites of broccoli sprouts in response to pre-harvest selenium treatment. *Food Research International*, 2018, 111: 205-211.
- [3] Yasin M, El-Mehdawi AF, Pilon-Smits EAH, Faisal M. Selenium-fortified wheat: potential of microbes for biofortification of selenium and other essential nutrients. *International Journal of Phytoremediation*, 2015, 17(8): 777-786.
- [4] Durán P, Acuña JJ, Gianfreda L, Azcón R, Funes-Collado V, Mora ML. Endophytic selenobacteria as new inocula for

- selenium biofortification. *Applied Soil Ecology*, 2015, 96: 319–326.
- [5] Tognon GB, Sanmartín C, Alcolea V, Cuquel FL, Goicoechea N. Mycorrhizal inoculation and/or selenium application affect postharvest performance of snapdragon flowers. *Plant Growth Regulation*, 2016, 78: 389–400.
- [6] Qiao YJ, Gao Y, Lan DD, Liang J, Li JH. Effect of AM fungi and selenium content on seeding quality of *Salvia miltiorrhiza* Bge. *Medical Research and Education*, 2015, 32(2): 1–5. (in Chinese)
乔亚君, 高颖, 兰丹丹, 梁洁, 李建恒. 接种 AM 真菌和喷施硒对丹参幼苗的影响. *医学研究与教育*, 2015, 32(2): 1–5.
- [7] Christensen MJ, Leuchtman A, Rowan DD, Tapper BA. Taxonomy of *Acremonium* endophytes of tall fescue (*Festuca arundinacea*), meadow fescue (*Festuca pratensis*) and perennial ryegrass (*Lolium perenne*). *Mycological Research*, 1993, 97(9): 1083–1092.
- [8] Christensen MJ, Bennett RJ, Schmid J. Growth of *Epichloë/Neotyphodium* and p-endophytes in leaves of *Lolium* and *Festuca* grasses. *Mycological Research*, 2002, 106(1): 93–106.
- [9] Leuchtman A, Bacon CW, Schardl CL, White JF, Tadych M. Nomenclatural realignment of *Neotyphodium* species with genus *Epichloë*. *Mycologia*, 2014, 106(2): 202–215.
- [10] Johnson LJ, de Bonth ACM, Briggs LR, Caradus JR, Finch SC, Fleetwood DJ, Fletcher LR, Hume DE, Johnson RD, Popay AJ, Tapper BA, Simpson WR, Voisey CR, Card SD. The exploitation of epichloae endophytes for agricultural benefit. *Fungal Diversity*, 2013, 60(1): 171–188.
- [11] Song ML, Chai Q, Li XZ, Yao X, Li CJ, Christensen MJ, Nan ZB. An asexual *Epichloë* endophyte modifies the nutrient stoichiometry of wild barley (*Hordeum brevisubulatum*) under salt stress. *Plant Soil*, 2015, 387(1/2): 153–165.
- [12] Song ML, Li XZ, Saikkonen K, Li CJ, Nan ZB. An asexual *Epichloë* endophyte enhances waterlogging tolerance of *Hordeum brevisubulatum*. *Fungal Ecology*, 2015, 13: 44–52.
- [13] Hesse U, Schöberlein W, Wittenmayer L, Förster K, Warnstorff K, Diepenbrock W, Merbach W. Effects of *Neotyphodium* endophytes on growth, reproduction and drought-stress tolerance of three *Lolium perenne* L. genotypes. *Grass and Forage Science*, 2003, 58(4): 407–415.
- [14] Tian P, Nan ZB, Li CJ, Spangenberg G. Effect of the endophyte *Neotyphodium lolii* on susceptibility and host physiological response of perennial ryegrass to fungal pathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 2008, 122(4): 593–602.
- [15] Vignale MV, Novas MV, Astiz-Gassó MM, Iannone LJ. *Epichloë* endophytes confer resistance to the smut *Ustilago bullata* in the wild grass *Bromus auleticus* (Trin.). *Biological Control*, 2013, 67(1): 1–7.
- [16] Rasmussen S, Parsons AJ, Fraser K, Xue H, Newman JA. Metabolic profiles of *Lolium perenne* are differentially affected by nitrogen supply, carbohydrate content, and fungal endophyte infection. *Plant Physiology*, 2008, 146(3): 1440–1453.
- [17] Nagabhyru P, Dinkins RD, Wood CL, Bacon CW, Schardl CL. Tall fescue endophyte effects on tolerance to water-deficit stress. *BMC Plant Biology*, 2013, 13(1): 127.
- [18] Jin WJ, Li CJ, Nan ZB. Biological and physiological characteristics of *Neotyphodium* endophyte symbiotic with *Festuca sinensis*. *Mycosystema*, 2009, 28(3): 363–369. (in Chinese)
金文进, 李春杰, 南志标. 中华羊茅内生真菌 *Neotyphodium* sp. 生物学与生理学特性的研究. *菌物学报*, 2009, 28(3): 363–369.
- [19] Yang Y, Chen N, Li CJ. The morphological diversity of endophytic fungus in *Festuca sinensis* in Gansu Province. *Pratacultural Science*, 2011, 28(2): 273–278. (in Chinese)
杨洋, 陈娜, 李春杰. 甘肃中华羊茅内生真菌形态多样性. *草业科学*, 2011, 28(2): 273–278.
- [20] Huang Y, Wang JJ, Xu WB, Tian P. Analysis of actin sequences from *Epichloë* endophyte in *Festuca sinensis*. *Acta Prataculturae Sinica*, 2016, 25(9): 125–131. (in Chinese)
旷宇, 汪建军, 许文博, 田沛. 中华羊茅 *Epichloë* 内生真菌的 actin 序列分析. *草业学报*, 2016, 25(9): 125–131.
- [21] Tian P, Xu WB, Li CJ, Song H, Wang MN, Schardl CL, Nan ZB. Phylogenetic relationship and taxonomy of a hybrid *Epichloë* species symbiotic with *Festuca sinensis*. *Mycological Progress*, 2020, 19(10): 1069–1081.
- [22] Zhou LY, Wang WN, Zhong S, Pengmao DJ, Ma XL, Luo QY. Effect of fermentation liquid of *Epichloë* isolated from *Festuca sinensis* on physiological characteristics of grass. *Northern Horticulture*, 2018, 14: 72–76. (in Chinese)
周连玉, 王文妮, 钟松, 鹏毛德吉, 马学兰, 罗巧玉. 中华羊茅内生真菌发酵液对牧草生理特性的影响. *北方园艺*, 2018, 14: 72–76.

- [23] Zhou LY, Zhong S, Duo HM, Qiao F. Antimicrobial activity and composition of volatile substance of *Epichloë* sp. endophyte isolated from *Festuca sinensis*. *Nature Produce Research and Development*, 2019, 31(9): 1543–1551. (in Chinese)
周连玉, 钟松, 朵红梅, 乔枫. 中华羊茅内生真菌 *Epichloë* sp. 挥发性物质的抑菌活性及成分分析. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(9): 1543–1551.
- [24] Zhou LY, Zhang XX, Li CJ, Christensen MJ, Nan ZB. Antifungal activity and phytochemical investigation of the asexual endophyte of *Epichloë* sp. from *Festuca sinensis*. *Science China Life Sciences*, 2015, 58(8): 821–826.
- [25] Tian P, Kuang Y, Lin WH, Wang JJ, Nan ZB. Shoot morphology and alkaloid content of *Epichloë* endophyte–*Festuca sinensis* associations. *Crop and Pasture Science*, 2018, 69(4): 430–438.
- [26] Zhou LY, Zhang S, Gengzhou CR, Luo QY. Effect of *Epichloë* on seeding growth of *Festuca sinensis* under salt stress. *Northern Horticulture*, 2016, 9: 65–68. (in Chinese)
周连玉, 张帅, 更周才让, 罗巧玉. 盐胁迫下内生真菌感染对中华羊茅幼苗生长的影响. *北方园艺*, 2016, 9: 65–68.
- [27] Wang K, Wang WL, Wang HB, Pei TY, Dong X, Lin WH, Tian P. Effects of *Epichloë* endophyte on the growth and nutritional quality of different geographic populations of *Festuca sinensis*. *Pratacultural Science*, 2020, 37(3): 522–531. (in Chinese)
王凯, 王伟林, 王豪邦, 裴天悦, 董鑫, 蔺伟虎, 田沛. 内生真菌对不同地理种群中华羊茅生长及营养品质的影响. *草业科学*, 2020, 37(3): 522–531.
- [28] Peng QQ, Li CJ, Song ML, Nan ZB. Effects of seed hydropriming on growth of *Festuca sinensis* infected with *Neotyphodium* endophyte. *Fungal Ecology*, 2013, 6(1): 83–91.
- [29] Wang JJ, Zhou YP, Lin WH, Li MM, Wang MN, Wang ZG, Kuang Y, Tian P. Effect of an *Epichloë* endophyte on adaptability to water stress in *Festuca sinensis*. *Fungal Ecology*, 2017, 30: 39–47.
- [30] Zhou LY, Li CJ, Zhang XX, Johnson R, Bao GS, Yao X, Chai Q. Effects of cold shocked *Epichloë* infected *Festuca sinensis* on ergot alkaloid accumulation. *Fungal Ecology*, 2015, 14: 99–104.
- [31] Zhou L, Li C, White JF, Johnson RD. Synergism between calcium nitrate applications and fungal endophytes to increase sugar concentration in *Festuca sinensis* under cold stress. *PeerJ*, 2021, 9: e10568.
- [32] Wang MN, Lin WH, Ma BH, Li MM, Tian P. Effect of endophyte infection on growth and endogenous hormones of *Festuca sinensis* under Zn and Cd treatments. *Pratacultural Science*, 2019, 36(9): 2250–2258. (in Chinese)
王美宁, 蔺伟虎, 马碧花, 李苗苗, 田沛. Zn 和 Cd 处理下内生真菌对中华羊茅生长及内源激素的影响. *草业科学*, 2019, 36(9): 2250–2258.
- [33] Yao X, Li XZ, Zhu XX, Li CJ. Effects of two fungicides on *Neotyphodium* seed-borne fungal endophyte of *Festuca sinensis*. *Pratacultural Science*, 2013, 30(10): 1517–1522. (in Chinese)
姚祥, 李秀璋, 朱小晓, 李春杰. 两种杀菌剂对中华羊茅种传内生真菌的影响. *草业科学*, 2013, 30(10): 1517–1522.
- [34] Li CJ, Nan ZB, Liu Y, Paul VH, Dapprich PD. Methodology of endophyte detection of drunken horse grass (*Achnatherum inebrians*). *Edible Fungi of China*, 2008, 27(suppl): 105–108. (in Chinese)
李春杰, 南志标, 刘勇, Paul VH, Dapprich PD. 醉马草内生真菌检测方法的研究. *中国食用菌*, 2008, 27(增刊): 105–108.
- [35] Lee J, Finley JW, Harnly JM. Effect of selenium fertilizer on free amino acid composition of broccoli (*Brassica oleracea* Cv. Majestic) determined by gas chromatography with fame ionization and mass selective detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2005, 53(23): 9105–9111.
- [36] Hoewyk DV, Takahashi H, Inoue E, Hess A, Tamaoki M, Pilon-Smit EAH. Transcriptome analyses give insights into selenium-stress responses and selenium tolerance mechanisms in *Arabidopsis*. *Physiologia Plantarum*, 2008, 132(2): 236–253.

Effects of Se and *Epichloë* endophyte on the growth and metabolic compounds of *Festuca sinensis*

Lianyu Zhou^{*}, Lu Jiao, Jiasheng Ju, Xuelan Ma, Xia Jiang, Feng Qiao

Key Laboratory of Medicinal Plant and Animal Resources of the Qinghai-Tibetan Plateau in Qinghai Province, Qinghai Province Key Laboratory of Biodiversity Formation Mechanism and Comprehensive Utilization of Qinghai-Tibetan Plateau, Academy of Plateau Science and Sustainability, School of Life Sciences, Qinghai Normal University, Xining 810008, Qinghai Province, China

Abstract: [Objective] To investigate the effects of Na₂SeO₃ and *Epichloë* sp. on *Festuca sinensis*, we studied the growth indexes and metabolic compounds. [Methods] By using gas chromatography-mass spectrometer, we detected the metabolic compounds of the shoots and roots of *F. sinensis* two geographical populations with and without *Epichloë* endophyte, and metabolite differences were determined among treatments using LSD test. [Results] Geographical populations Haibei (HB) and Yushu (YS) respectively had 206 metabolites and 205 metabolites. There were significant differences in metabolites between shoots and roots. Geographical population HB shoots, HB roots, YS shoots and YS roots, respectively showed 27, 42, 40 and 33 marked metabolites using LSD ($P < 0.001$). These marked metabolites were some nitrogen compounds, carbohydrates and organic acids. 9, 8, 5 and 14 common marked metabolites were respectively found between HB shoots and roots, between YS shoots and roots, between HB and YS shoots, and between HB and YS roots. *Epichloë* endophyte caused a highly significant increase in tyrosine for geographical population HB shoots and roots ($P < 0.001$). Selenium induced highly significant increases in α -ketoisocaproic acid in HB E⁺ and E⁻ shoots and roots ($P < 0.001$). There were highly significant increases of aspartic acid for HB shoots and roots by interaction of the Se and *Epichloë* endophyte ($P < 0.001$). In addition, selenium treatment highly significantly increased α -ketoisocaproic acid and acetol for shoots and roots in geographical population YS E⁺ and E⁻ ($P < 0.001$). [Conclusion] There were significant differences in metabolites of the shoots and roots of two geographical populations. *Epichloë* endophyte infection and/or selenium treatment can increase the concentrations of some compounds.

Keywords: *Festuca sinensis*, geographical population, *Epichloë* endophyte, selenium, metabolite analysis

(本文责编: 李磊)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (31760697)

^{*}Corresponding author. E-mail: zly7604@163.com

Received: 20 February 2021; Revised: 25 April 2021; Published online: 9 September 2021