

# 白三叶草对接种摩西管柄囊霉的代谢响应

袁贵云<sup>1</sup>, 孙学广<sup>2\*</sup>

(1. 贵州大学 贵州省森林资源与环境研究中心/贵州省高原山地林木培育重点实验室, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州大学 林学院, 贵州 贵阳 550025)

**摘要:**丛枝菌根(AM)真菌作为一类重要的土壤微生物资源,在调节植物生长和代谢方面发挥着重要作用。本文以摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*)、白三叶草(*Trifolium repens*)为试验材料,采用 UPLC-MS/MS 技术研究了 AM 真菌接种对白三叶草代谢物积累的影响,结果表明:(1)摩西管柄囊霉与白三叶草根系能建立良好的共生关系,并显著促进白三叶草生长;(2)从接菌处理的白三叶草茎叶组织中鉴定到代谢物 671 种,以花青素(24.94%)、有机酸及衍生物(19.98%)、脂质(12.66%)、苯丙素(10.67%)的相对含量最高;(3)接种 AM 真菌后共检测到差异代谢物 93 种,其中 52 种上调,41 种下调。作为牧草的重要营养物质,黄酮及其衍生物(包括黄酮类、黄酮、黄酮烷、黄酮醇和异黄酮)中差异代谢物最多,共 22 种,且全部上调。另外,本研究检测到 19 种维生素及衍生物,以核黄素等差异代谢物为主并全部上调表达。以上结果为后续应用 AM 真菌提高牧草产量和品质提供了理论依据。

**关键词:**白三叶草;摩西管柄囊霉;代谢组;黄酮

**中图分类号:**Q946.92 **文献标识码:**A

**文章编号:**1008-0457(2022)05-0021-07

**国际 DOI 编码:**10.15958/j.cnki.sdnyswx.2022.05.004

丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, 简称 AM)真菌作为土壤生态系统中分布最为广泛的真菌类群之一,可以与超过 80% 的陆生植物建立互惠共生关系<sup>[1]</sup>。AM 真菌-植物共生体的形成可通过提高宿主植物对矿质营养的吸收<sup>[2]</sup>,增强宿主植物对不良环境的耐受性<sup>[3-4]</sup>来促进植物生长。

有研究发现,AM 真菌可以直接或间接地调节宿主的代谢活动<sup>[5]</sup>。徐丽娇等<sup>[6]</sup>发现 AM 真菌-玉米共生体可以通过分泌物调控碳磷代谢相关基因的表达,帮助玉米抵御低磷胁迫;李涛等<sup>[7]</sup>发现 AM 真菌可以增加水孔蛋白基因表达,改善植物的水分代谢,增强植物的抗旱能力;于洋等<sup>[8]</sup>研究发现不同 AM 真菌对宿主植物的次生代谢过程及其产物种类、含量的影响存在差异。然而,以往研究主要关注了 AM 真菌对宿主特定代谢物或代谢物类群的影响,有关 AM 真菌对宿主植物代谢组的整体调控仍缺乏认知。

白三叶草(*Trifolium repens*)适应性强,分布广泛,是重要的牧草<sup>[9]</sup>。已有研究表明接种 AM 真菌会通过增强宿主植物养分吸收能力、积累更多的代

谢底物(如蔗糖)或生长调节物质促进白三叶草生长<sup>[10-13]</sup>,但目前有关 AM 真菌对白三叶草代谢的影响还是未知的。基于此,本研究采用 UPLC-MS/MS 技术从代谢组角度研究 AM 真菌接种对白三叶草代谢物积累的影响,以期为 AM 真菌在白三叶草培育中的应用提供参考。

## 1 材料与方法

**丛枝菌根真菌菌剂:**摩西管柄囊霉(*Funneliformis mosseae*) (BGC NM01A),以玉米为宿主扩繁得到,孢子浓度为 84 个/g。白三叶草(海发 Haifa)购自百绿国际草业(北京)有限公司。

### 1.1 试验设计

将白三叶草种子置于浓硫酸(98%)中表面消毒 10 min,随后用无菌水冲洗 3 次。消毒过的种子置于湿滤纸上暗培养,出芽 3 d 后转至装有灭菌石英砂的花盆中培养(浇有 Hoagland 营养液),每盆 1 株,15 d 后进行接种处理。

设置接种(M)和不接种(NM)2个处理,接种处理植株每株接种 5 g 菌剂,不接种处理接种 5 g

收稿日期:2022-01-22;修回日期:2022-03-01

基金项目:国家自然科学基金项目(31971572、31500090);贵州省科技计划项目([2018]5261);贵州大学培育项目([2020]47)

\* 通讯作者:孙学广(1986—),男,博士,教授,主要从事林木与微生物互作生物学研究,E-mail:xgsun@gzu.edu.cn.

灭菌(121 °C, 30 min)过的菌剂。每处理 14 株,其中 5 株用于生物量测定,其余植株用于代谢组分析(仅茎叶部分)及侵染率测定。

盆栽置于人工气候箱中培养(光照/黑暗: 14 h/10 h;光照强度 12 000 lx;温度 25 °C),定期补水和霍格兰营养液,90 d 后收样。

### 1.2 生物量及 AM 真菌侵染率测定

随机选取 5 株白三叶草用于生物量测定。从根茎连接处将植株剪开,分别测定茎叶及根系鲜重,同时换算根茎比。随后参照 Koske 等<sup>[14]</sup>的方法将根系进行透明、酸化及染色处理。侵染率测定方法参照 Sun 等<sup>[15]</sup>的方法。

### 1.3 代谢组分析

分别剪取剩余植物的茎叶组织,每 3 株三叶草茎叶混为 1 个样品(n=3)。

对样品进行真空冷冻干燥,随后用球磨机研磨至粉末状,混匀后称取 100 mg 粉末加入 1.0 mL 提取液(70% 甲醇),4 °C 过夜浸提。离心,取上清用微孔滤膜过滤后用于 UPLC-MS/MS 分析(交由迈维代谢分析)。

利用软件 Analyst1.6.3 处理质谱数据。基于迈维代谢自建数据库 MWDB 及代谢物信息公共数据库,根据二级谱信息进行物质定性。代谢物定量利用三重四级杆质谱的多反应监测模式分析完成。

根据(O)PLS-DA 模型变量的变量权重值(variable importance for the projection, VIP)辅助筛选差异积累代谢物。代谢物在对照组和实验组中差异为 2 倍以上或 0.5 倍以下,同时 VIP 值 $\geq 1$ ,则认为差异显著。利用 KEGG 数据库对差异代谢物进行注释及通路富集。

### 1.4 数据处理

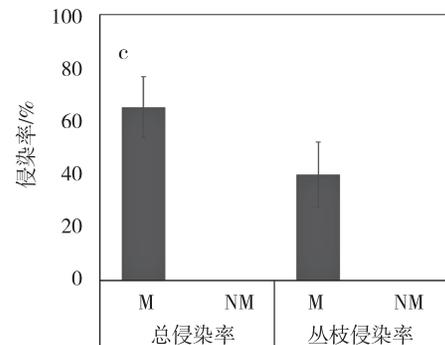
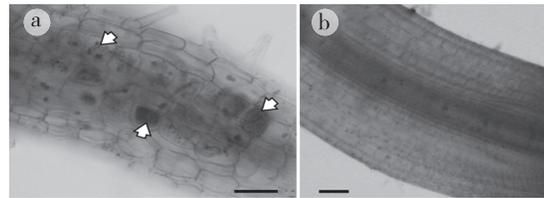
使用 Microsoft Excel 2019 对侵染率及生物量数据进行整理,使用 IBM SPSS statistics 25.0 进行数据的显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 白三叶草菌根侵染情况及生物量

接种后 3 个月,摩西管柄囊霉与白三叶草根系

形成了良好的共生关系,根系内可见大量菌丝和丛枝结构,未接种处理则无菌根形成(图 1)。接种摩西管柄囊霉促进了白三叶草生长,其根系和茎叶生物量均显著高于未接种处理( $P < 0.05$ )(表 1)。但接种处理未显著改变根茎比。



注:a 为接种处理;b 为未接种处理;白色箭头指示为丛枝结构,标尺=20 $\mu\text{m}$ ;c 为侵染率。

图 1 摩西管柄囊霉对白三叶草根系的侵染情况

Fig. 1 Infestation of the root system of *T. repens* by *F. mosseae*

### 2.2 接种摩西管柄囊霉对白三叶草代谢的影响

采用 UPLC-MS/MS 技术共从白三叶草茎叶组织中鉴定到代谢物 671 种,分属氨基酸及衍生物(81 种)、苯丙素(46 种)、醇类(15 种)、多酚(7 种)、酚胺(5 种)、核苷酸及衍生物(53 种)、花青素(23 种)、黄酮(68 种)、黄酮醇(31 种)、黄酮类(23 种)、黄烷酮(15 种)、醌类(2 种)、生物碱(29 种)、糖类(19 种)、萜类(22 种)、维生素及衍生物(19 种)、异黄酮(14 种)、吲哚及衍生物(4 种)、有机酸及衍生物(93 种)、原花青素(1 种)、甾体(5 种)、脂质(71 种)、其他(25 种)等类别,其中以花青素(24.94%)、有机酸及衍生物(19.98%)、脂质(12.66%)、苯丙素(10.67%)的相对含量最高(图 2-a;此处相对含量值为所有样品中对应物质相对含量的均值)。

表 1 白三叶草生物量

Tab. 1 Biomass of *T. repens*

处理	根系鲜重/g	茎叶鲜重/g	总鲜重/g	根茎比
NM	2.41 $\pm$ 0.44a	6.17 $\pm$ 0.69a	8.57 $\pm$ 0.87a	0.39 $\pm$ 0.08a
M	4.82 $\pm$ 0.69b	12.99 $\pm$ 3.24b	17.82 $\pm$ 3.39b	0.39 $\pm$ 0.11a

注:同列不同小写字母代表数据间差异显著( $P < 0.05$ ),n=5。

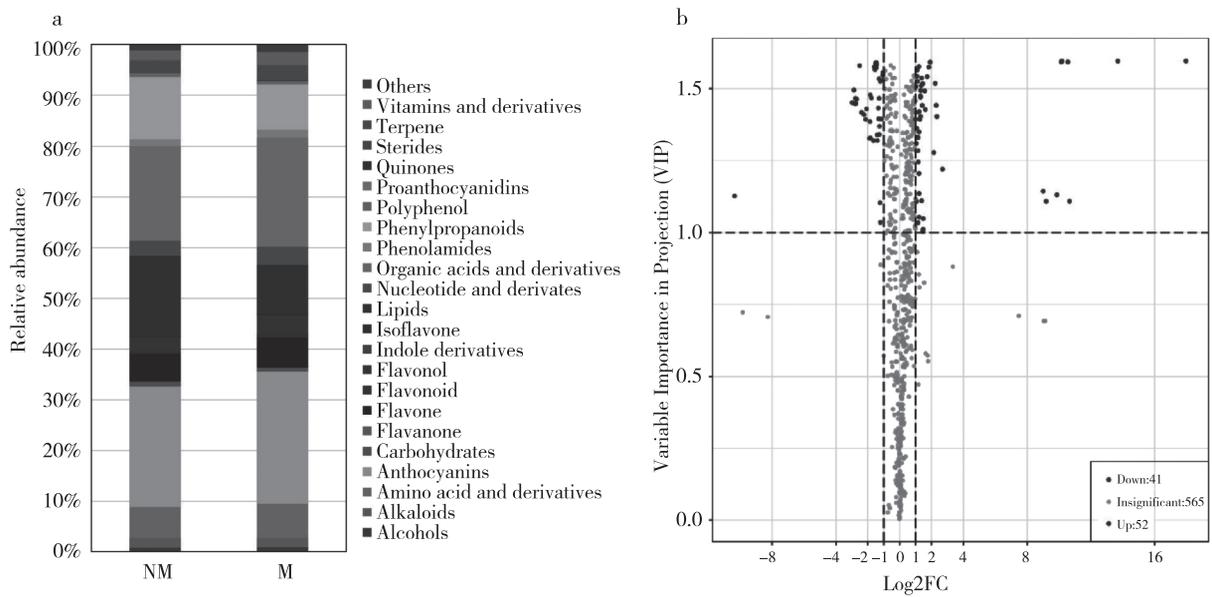


图 2 不同接种处理下白三叶草茎叶组织代谢物组成(a)及差异代谢物数量(b)  
Fig. 2 Metabolite composition (a) and differential metabolite quantity (b) in stem and leaf tissues of *T. repens* under different inoculation treatments

表 2 差异积累代谢物 (M/NM)  
Tab. 2 Differential accumulation of metabolites (M/NM)

物质	物质类别	VIP 值	倍数变化	上调/下调
L-(+)-赖氨酸	氨基酸及衍生物	1.59	0.37	下调
同型丝氨酸	氨基酸及衍生物	1.54	2.60	上调
L-天冬酰胺	氨基酸及衍生物	1.59	3.77	上调
L-鸟氨酸	氨基酸及衍生物	1.44	2.67	上调
阿魏酸	苯丙素	1.56	0.49	下调
异阿魏酸	苯丙素	1.55	0.48	下调
芥子酸	苯丙素	1.52	0.43	下调
3,4-二羟基肉桂酸	苯丙素	1.04	0.43	下调
高香草酸	苯丙素	1.14	512	上调
美迪紫檀素	苯丙素	1.03	2.21	上调
香豆醛	苯丙素	1.59	1496	上调
1,5-酞-D-山梨糖醇	醇类	1.40	0.40	下调
D-甘露醇	醇类	1.47	2.47	上调
腺苷 3'-单磷酸	核苷酸及衍生物	1.53	0.49	下调
尿苷 5'-二磷酸葡萄糖	核苷酸及衍生物	1.33	0.27	下调
鸟苷 5'-单磷酸	核苷酸及衍生物	1.37	0.42	下调
2'-脱氧肌苷-5'-磷酸	核苷酸及衍生物	1.43	0.40	下调
烟酰胺腺嘌呤二核苷	核苷酸及衍生物	1.43	0.24	下调
鸟苷单磷酸	核苷酸及衍生物	1.32	0.38	下调
烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸	核苷酸及衍生物	1.53	0.41	下调
鸟苷 3',5'-环-磷酸	核苷酸及衍生物	1.34	0.38	下调
尿苷二磷酸葡萄糖	核苷酸及衍生物	1.58	0.33	下调
尿苷 5'-二磷酸葡萄糖二钠盐	核苷酸及衍生物	1.57	0.34	下调
2-脱氧肌苷	核苷酸及衍生物	1.47	2.47	上调
2-脱氧腺苷	核苷酸及衍生物	1.49	2.49	上调
假尿苷	核苷酸及衍生物	1.54	2.12	上调
阿糖肌苷	核苷酸及衍生物	1.39	2.41	上调
2-脱氧核糖 1-磷酸	其它	1.47	0.29	下调
6-磷酸葡萄糖二钠	其它	1.57	0.36	下调
古洛糖酸内酯	其它	1.60	13 185	上调
L-肉碱	生物碱	1.48	0.28	下调
2-羟基褪黑素	生物碱	1.13	0.00	下调
大麦芽肌碱 B	生物碱	1.57	3.56	上调
毒死蜱	生物碱	1.33	2.10	上调
常山乙素	生物碱	1.52	4.68	上调

续表 2

物质	物质类别	VIP 值	倍数变化	上调/下调
N-甲基野靛碱	生物碱	1.58	2.31	上调
L-岩藻糖	糖类	1.47	0.41	下调
D-葡萄糖-6-磷酸	糖类	1.59	0.35	下调
D-果糖-6-磷酸	糖类	1.58	0.36	下调
葡萄糖-1-磷酸	糖类	1.59	0.35	下调
D-果糖-6-磷酸二钠盐	糖类	1.59	0.36	下调
磷酸	有机酸及衍生物	1.58	0.18	下调
4-羟基-3-甲氧基扁桃酸	有机酸及衍生物	1.60	1152	上调
奎宁酸 O-葡萄糖醛酸	有机酸及衍生物	1.60	254 074	上调
天竺葵色素苷	花青素	1.51	2.54	上调
甲基基金圣草黄素 8-C-己糖苷	黄酮	1.11	1611	上调
金圣草黄素 6-C-戊糖基-O-芸香糖苷	黄酮	1.52	2.72	上调
金圣草黄素 7-O-芸香糖苷	黄酮	1.28	2.20	上调
紫柳素	黄酮	1.35	2.32	上调
异鼠李素 O-乙酰己糖苷	黄酮醇	1.39	2.00	上调
山奈酚	黄酮醇	1.05	2.79	上调
扁蓄苷	黄酮醇	1.36	2.09	上调
山奈酚 3-O-芸香糖苷	黄酮醇	1.28	4.42	上调
二氢杨梅素	黄酮醇	1.49	2.96	上调
绣线菊甙	黄酮醇	1.51	2.01	上调
三叶豆甙	黄酮醇	1.21	2.32	上调
维斯体素	黄酮类	1.14	2.33	上调
高良姜素	黄酮类	1.05	2.33	上调
异槲皮苷	黄酮类	1.31	2.06	上调
葛根素	黄酮类	1.11	2.61	上调
柚皮素	黄烷酮	1.42	2.02	上调
橙皮素 5-O-葡萄糖苷	黄烷酮	1.33	2.23	上调
柚皮苷查尔酮	黄烷酮	1.25	2.25	上调
芒柄花素	异黄酮	1.40	5.06	上调
染料木素	异黄酮	1.44	4.90	上调
染料木苷	异黄酮	1.13	929	上调
芒柄花苷	异黄酮	1.52	2.16	上调
葫芦素 D	萜类	1.40	2.48	上调
人参皂苷	萜类	1.59	1128	上调
茯苓酸	萜类	1.11	584	上调
核黄素	维生素及衍生物	1.54	3.31	上调
泛酰巯基乙胺	维生素及衍生物	1.56	2.13	上调
溶血磷脂酰胆碱 16:1(2n 异构)	脂质	1.47	0.15	下调
溶血磷脂酰乙醇胺 18:1(2n 异构)	脂质	1.45	0.13	下调
溶血磷脂酰胆碱 18:1(2n 异构)	脂质	1.45	0.15	下调
溶血磷脂酰胆碱 16:2	脂质	1.41	0.21	下调
溶血磷脂酰乙醇胺 14:0	脂质	1.33	0.28	下调
溶血磷脂酰胆碱 18:3(2n 异构)	脂质	1.46	0.16	下调
溶血磷脂酰胆碱 14:0	脂质	1.32	0.32	下调
溶血磷脂酰胆碱 18:2(2n 异构)	脂质	1.42	0.19	下调
溶血磷脂酰乙醇胺 18:2(2n 异构)	脂质	1.34	0.41	下调
溶血磷脂酰乙醇胺 18:0(2n 异构)	脂质	1.10	0.43	下调
溶血磷脂酰胆碱 18:0(2n 异构)	脂质	1.45	0.14	下调
溶血磷脂酰乙醇胺 18:1	脂质	1.39	0.45	下调
溶血磷脂酰胆碱 20:4	脂质	1.50	0.14	下调
溶血磷脂酰胆碱 14:0(2n 异构)	脂质	1.39	0.28	下调
溶血磷脂酰胆碱 20:1(2n 异构)	脂质	1.39	0.23	下调
十三烷内脂	脂质	1.11	2.08	上调
单酰甘油酯二糖(18:2)异构	脂质	1.00	2.74	上调
单酰甘油酯二糖(18:2)异构	脂质	1.01	2.78	上调
单酰甘油酯(酰基 18:4)异构	脂质	1.22	6.45	上调
十八碳二烯-6-炔酸	脂质	1.43	3.06	上调
9-羟基十八碳三烯酸	脂质	1.42	2.34	上调

接种处理改变了白三叶草茎叶代谢物的积累。与未接种处理相比,接种 AM 真菌后共检测到差异代谢物 93 种,其中 52 种上调,41 种下调(图 2-b)。差异代谢物中以黄酮类及衍生物(包括黄酮类、黄酮、黄酮烷、黄酮醇和异黄酮)最多,共 22 种,且全

部上调。下调代谢物则以脂质(15 种)和核苷酸及衍生物(10 种)最多(表 2)。KEGG 注释结果显示,差异代谢物主要参与淀粉和蔗糖代谢、异黄酮生物合成、醛固酮合成及分泌、嘌呤代谢等生物学过程(图 3)。

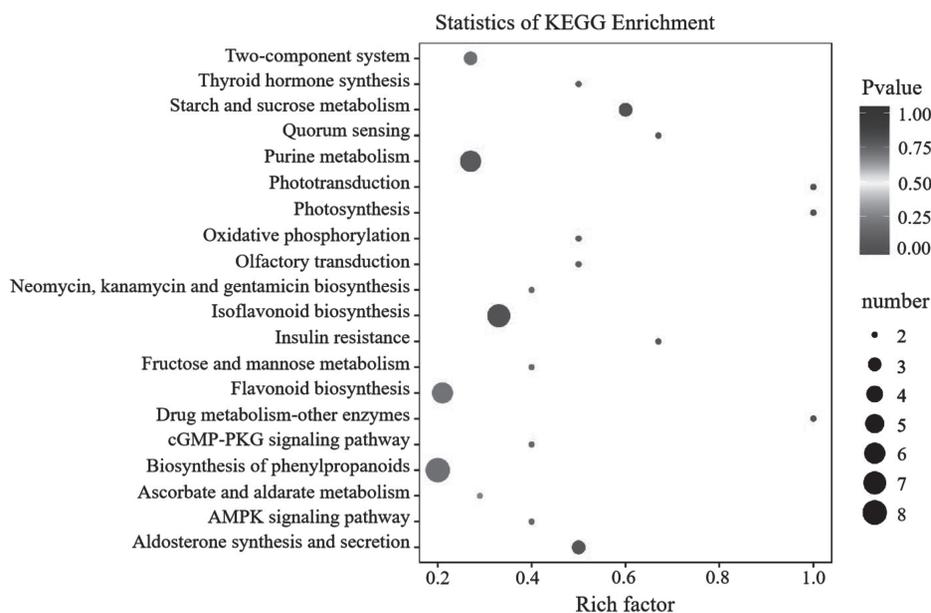


图3 差异代谢物 KEGG 富集结果

Fig. 3 KEGG enrichment results of differential metabolites

### 3 结论与讨论

本研究发现,接种摩西管柄囊霉显著促进了白三叶草生长,这与以往的研究结果相似<sup>[11,16-19]</sup>。AM 真菌对宿主植物的促生效应可能与其能改善宿主植物的营养状况,增强宿主植物对 P、N 等养分的吸收效率有关<sup>[20-21]</sup>。

已有研究表明,AM 的形成可改变宿主代谢物的积累。贺学礼等<sup>[22]</sup>研究发现在适宜的水肥条件下接种 AM 真菌会显著提高丹参(*Salvia miltiorrhiza*)植株的酮含量。韩冰洋等<sup>[23]</sup>发现接种 AM 真菌对长果颈黄芪(*Astragalus englerianus*)根系中的黄酮类和皂苷类成分含量有显著影响,并指出接种 AM 真菌是一种能有效提高植物黄酮类成分含量的方法。Welling 等<sup>[24]</sup>、Kapoor 等<sup>[25]</sup>分别对 AM 真菌影响植物萜类化合物积累的机制进行了综述,进一步论证了 AM 真菌-植物共生影响了植物中萜类化合物的生产,他们推测这些萜类化合物可能对植物生长有重要作用。本研究同样发现接种 AM 真菌后可增加代谢物的积累。本研究检测到黄酮、异黄酮等 52 种上调表达的差异代谢物,其主要参与淀粉和蔗糖代谢、异黄酮生物合成等生理过程,可能在调节植物生长、植物防御<sup>[26-28]</sup>等方面起重要作用。

黄酮类及衍生物是一类植物根系重要的代谢产物,有研究发现其可作为菌根共生体建立过程中的信号物质<sup>[29]</sup>,对孢子萌发、菌丝生长、菌根真菌的侵染等有促进作用<sup>[30-31]</sup>。同时,该类物质(特别是异黄酮类物质)是衡量牧草营养价值的重要指标<sup>[32]</sup>。本研究发现接种 AM 真菌后的白三叶草会积累更多的黄酮类及衍生物(含异黄酮),表明 AM 真菌可提高白三叶草的营养价值。

有机酸是植物常见的次生代谢物种类,其可以经酸化、螯合、离子交换或还原等途径将根系难溶性养分转化成易被植物吸收的有效成分<sup>[33]</sup>,如难溶性磷<sup>[34]</sup>,促进植物生长发育。本研究中有有机酸及衍生物(19.98%)相对含量较高,仅次于花青素(24.94%),且其上调比例高于下调比例,表明接种 AM 真菌可能提高了白三叶草对土壤中难以吸收的矿质营养的获取能力。

维生素及衍生物在植物体的生命活动中发挥着重要作用。已有研究证实核黄素(Riboflavin, VB<sub>2</sub>)等在促进植物体生长、调节次生代谢产物的生物合成等方面有重要作用<sup>[35-36]</sup>,本研究中观测到的 AM 真菌对白三叶草的促生效应可能与核黄素等差异代谢物质积累增加有关。另外,核黄素及其衍生物(如 FMN 和 FAD)是植物光合作用、能量生成和氧化还原代谢过程中必不可少的组成部

分<sup>[37]</sup>,韩金龙等<sup>[38]</sup>发现杜梨(*Pyrus betulaefolia*)叶片的抗氧化酶活性和抗氧化物质含量增加,主要与核黄素参与的活性氧代谢相关。本研究中检测到的核黄素处于上调表达,表明接种 AM 真菌可能会增强白三叶草体内的抗氧化酶活性并促进营养物质的积累。

综上,本研究发现 AM 真菌可促进白三叶草生长并可调节其代谢,接种后白三叶草积累了更多的黄酮类、维生素及衍生物等具有营养价值的代谢物,这对后续牧草生产中施用 AM 真菌来增产增效有重要指导意义。

(责任编辑:胡吉凤)

## 参 考 文 献:

- [1] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal symbiosis[M]. London: Academic Press, 2008.
- [2] Grunwald U, Guo W B, Fischer K, et al. Overlapping expression patterns and differential transcript levels of phosphate transporter genes in arbuscular mycorrhizal, Pi-fertilised and phytohormone-treated *Medicago truncatula* roots[J]. *Planta*, 2009, 229(5): 1023-1034.
- [3] Gianinazzi S, Gollotte A, Binet M N, et al. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services[J]. *Mycorrhiza*, 2010, 20(8): 519-530.
- [4] 卢鑫萍, 杜茜, 闫永利, 等. 盐渍化土壤根际微生物群落及土壤因子对 AM 真菌的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32(13): 4071-4078.
- [5] Yadav K, Aggarwal A, Singh N. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) induced acclimatization, growth enhancement and colchicine content of micropropagated *Gloriosa superba* L. plantlets[J]. *Industrial Crops & Products*, 2013, 45: 88-93.
- [6] 徐丽娇, 姜雪莲, 郝志鹏, 等. 丛枝菌根通过调节碳磷代谢相关基因的表达增强植物对低磷胁迫的适应性[J]. *植物生态学报*, 2017, 41(8): 815-825.
- [7] 李涛, 陈保冬. 丛枝菌根真菌通过上调根系及自身水孔蛋白基因表达提高玉米抗旱性[J]. *植物生态学报*, 2012, 36(9): 973-981.
- [8] 于洋, 于涛, 王洋, 等. 接种后共培养时间对丛枝菌根喜树幼苗喜树碱含量的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32(5): 1370-1377.
- [9] 卢艳敏, 苏长青, 李会芬. 不同盐胁迫对白三叶种子萌发及幼苗生长的影响[J]. *草业学报*, 2013, 22(4): 123-129.
- [10] 陈梅梅, 陈保冬, 王新军, 等. 不同磷水平土壤接种丛枝菌根真菌对植物生长和养分吸收的影响[J]. *生态学报*, 2009, 29(4): 1980-1986.
- [11] 王晓英, 王冬梅, 陈保冬, 等. 丛枝菌根真菌群落对白三叶草生长的影响[J]. *生态学报*, 2010, 30(6): 1456-1462.
- [12] Xie M M, Zou Y N, Wu Q S, et al. Single or dual inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobia regulates plant growth and nitrogen acquisition in white clover[J]. *Plant, Soil and Environment*, 2020, 66(6): 287-294.
- [13] 吴强盛, 袁芳英, 费永俊, 等. 丛枝菌根真菌对白三叶根系构型和糖含量的影响[J]. *草业学报*, 2014, 23(1): 199-204.
- [14] Koske R E, Gemma J N A. Modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas[J]. *Mycological Research*, 1989, 92(4): 486-488.
- [15] Sun X G, Tang M. Comparison of four routinely used methods for assessing root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Botany*, 2012, 90(11): 1073-1083.
- [16] Sahodaran N K, Arun A K, Ray J G. Native arbuscular mycorrhizal fungal isolates (*Funneliformis mosseae* and *Glomus microcarpum*) improve plant height and nutritional status of banana plants[J]. *Experimental Agriculture*, 2019, 55(6): 1-10.
- [17] 张菲, 邹英宁, 吴强盛. AM 真菌摩西管柄囊霉对干旱胁迫下枳抗氧化酶基因表达的影响[J]. *菌物学报*, 2019, 38(11): 2043-2050.
- [18] Shi S M, Luo X, Wen M, et al. *Funneliformis mosseae* improves growth and nutrient accumulation in wheat by facilitating soil nutrient uptake under elevated CO<sub>2</sub> at daytime, not nighttime[J]. *Journal of Fungi*, 2021, 7(6): 458.
- [19] 游义红, 李博, 李明锐, 等. 重金属污染胁迫下接种 AMF 对玉米生长和镉铅含量的影响[J]. *山地农业生物学报*, 2019, 38(3): 38-45.
- [20] 金樑, 孙莉, 王强, 等. AM 真菌在草原生态系统中的功能[J]. *生态学报*, 2016, 36(3): 873-882.
- [21] 王强, 王茜, 王晓娟, 等. AM 真菌在有机农业发展中的机遇[J]. *生态学报*, 2016, 36(1): 11-21.
- [22] 贺学礼, 马丽, 孟静静, 等. 不同水肥条件下 AM 真菌对丹参幼苗生长和营养成分的影响[J]. *生态学报*, 2012, 32(18): 5721-5728.
- [23] 韩冰洋, 李贤坤, 董相, 等. AM 真菌对长果颈黄芪生物量及次生代谢产物的影响[J]. *西北农业学报*, 2013, 22(12): 153-158.
- [24] Welling M T, Liu L, Rose T J, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi: effects on plant terpenoid accumulation[J]. *Plant Biology*, 2016, 18(4): 552-562.

- [25] Kapoor R, Anand G, Gupta P, et al. Insight into the mechanisms of enhanced production of valuable terpenoids by arbuscular mycorrhiza[J]. *Phytochemistry Reviews*, 2017, 16(4):677-692.
- [26] Grotewold E. The genetics and biochemistry of floral pigments[J]. *Annual Review of Plant Biology*, 2006, 57(1):761-780.
- [27] Pusztahelyi T, Holb I J, Pócsi I. Secondary metabolites in fungus-plant interactions[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6:573.
- [28] 张诗行,刘艳红. 东北红豆杉幼苗黄酮类化合物含量变化及其对气候因子的响应[J]. *生态学杂志*, 2020, 39(1):73-81.
- [29] Larose G, Chenevert R, Moutoglis P, et al. Flavonoid levels in roots of *Medicago sativa* are modulated by the developmental stage of the symbiosis and the root colonizing arbuscular mycorrhizal fungus[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2002, 159(12):1329-1339.
- [30] 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*[J]. *Mycological Research*, 2005, 109(7):789-794.
- [31] Scervino J M, Ponce M A, Erra-Bassells R, et al. The effect of flavones and flavonols on colonization of tomato plants by arbuscular mycorrhizal fungi of the genera *Gigaspora* and *Glomus*[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2007, 53(6):702.
- [32] 吴金霞,陈彦龙,何近刚,等. 生物技术在牧草品质改良中的应用[J]. *草业学报*, 2007(1):1-9.
- [33] 孙晨瑜,曾燕红,马俊卿,等. 丛枝菌根真菌对黄花蒿生长和根系分泌物化学组成的影响[J]. *热带作物学报*, 2020, 41(9):1831-1837.
- [34] Dinkelaker B, Romheld V, Marschner H. Citric acid excretion and precipitation of calcium citrate in the rhizosphere of white lupin (*Lupinus albus* L.) [J]. *Plant, Cell & Environment*, 1989, 12(3):285-292.
- [35] 杨雪. 核黄素调节的活性氧信号影响植物防卫反应的初步研究[D]. 南京:南京农业大学,2008.
- [36] 别枫桥,韩怡来,刘铁鹰,等. 人参中核黄素激酶基因的克隆与原核表达[J]. *中草药*, 2018, 49(8):1884-1889.
- [37] Sandoval F J, Zhang Y, Roje S. Flavin nucleotide metabolism in plants: monofunctional enzymes synthesize fad in plastids [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2008, 283(45):30890-30900.
- [38] 韩金龙,李慧,蔺经,等. 核黄素对盐胁迫下杜梨叶片抗氧化系统的影响[J]. *江苏农业学报*, 2015, 31(4):893-898.

## Metabolic Response of *Trifolium repens* to *Funneliformis mosseae* Inoculation

Yuan Guiyun<sup>1</sup>, Sun Xueguang<sup>2\*</sup>

(1. Institute for Forest Resources & Environment of Guizhou, Key Laboratory of Forest Cultivation in Plateau Mountain of Guizhou Province, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China; 2. College of Forestry, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

**Abstract:** As an important class of soil microbial resources, arbuscular mycorrhiza (AM) fungi play an important role in regulating plant growth and plant metabolism. In this paper, the effect of AM fungal inoculation on metabolite accumulation of *Trifolium repens* was investigated by UPLC-MS/MS technique using *Funneliformis mosseae* and *T. repens* as experimental materials. The results showed that: 1) *F. mosseae* could establish a good symbiotic relationship with the root system of *T. repens* and significantly promoted the growth of *T. repens*; 2) 671 metabolites were identified from the stem and leaf tissues of *T. repens* treated with the inoculum, and the relative contents of anthocyanins (24.94%), organic acids and derivatives (19.98%), lipids (12.66%) and phenylpropanoids (10.67%) were the highest; 3) A total of 93 differential metabolites were detected after inoculation with AM fungi, of which 52 were up-regulated and 41 were down-regulated. As important nutrients of herbage, there were 22 differentially metabolites in flavonoids and their derivatives (including flavones, flavonoids, flavanones, flavonols and isoflavones), all of which were up-regulated. In addition, 19 vitamins and derivatives were detected in this study, with riboflavin and other differential metabolites as the main and all up-regulated expression. These results provided theoretical basis for the subsequent application of AM fungi to improve the yield and quality of herbage.

**Keywords:** *Trifolium repens*; *Funneliformis mosseae*; metabolome; flavonoids