

引用格式: 杨晓燕, 金辉, 戴璐, 等. 三江源退化高寒草甸土壤代谢产物特征及其与土壤环境因子相关性[J]. 浙江农林大学学报, 2025, 43(X): 1-14. YANG Xiaoyan, JIN Hui, DAI Lu, *et al.* Characteristics of soil metabolites associated with degraded alpine meadow and their correlations with environmental factors in Sanjiangyuan Region[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, 43(X): 1-14.

三江源退化高寒草甸土壤代谢产物特征及其与土壤环境因子相关性

杨晓燕^{1,2}, 金辉², 戴璐³, 黄先成⁴, 陈吉祥¹, 秦波²

(1. 兰州理工大学石油与化工学院, 甘肃兰州 730050; 2. 中国科学院兰州化学物理研究所, 甘肃兰州 730000; 3. 乳山市农业农村事务服务中心, 山东乳山 264511; 4. 威海市文登区农业农村事务服务中心, 山东威海 264400)

摘要: 【目的】探究三江源高寒草甸土壤代谢产物在退化影响下的变化特征、主要代谢通路的变化规律及其与土壤环境因子的相关性, 为高寒草甸退化因子的解析和高寒草甸土壤环境对退化响应机制的研究提供科学依据。【方法】以青海省果洛藏族自治州玛沁县三江源国家公园高寒草甸为研究对象, 通过非靶向代谢组学液相色谱-质谱联用技术 (LC-MS/MS) 研究未退化、轻度退化、中度退化以及重度退化高寒草甸土壤代谢产物特征, 并分析高表达差异代谢物与土壤环境因子相关性。【结果】不同退化程度高寒草甸土壤中共鉴定出 8 451 个土壤代谢物, 其中脂质和类脂分子类最为丰富 (26.81%)。退化显著改变了土壤样本代谢物种类和含量, 重度退化与未退化、轻度退化、中度退化比较组间的显著差异代谢物数量较其他比较组多。筛选出的不同退化高寒草甸土壤表达量 TOP20 标志性代谢物主要包括: 羧酸及其衍生物、脂肪酰基、有机氮化合物、有机氧化合物、戊二烯醇脂质和鞘脂类化合物。亚油酸代谢、ABC 转运途径、磷脂酶 D 信号通路和鞘脂信号通路是不同退化高寒草甸土壤差异代谢物主要富集的代谢通路。冗余分析表明: 不同退化程度高寒草甸土壤代谢物与土壤理化性质和酶活性之间存在显著相关性, 如土壤有机质、含水量、全氮、全磷、pH 和土壤脲酶与土壤代谢物显著相关。【结论】不同退化程度高寒草甸土壤标志性代谢物的种类、差异表达代谢物及主要代谢通路存在较大差异, 且土壤代谢物与土壤有机质、含水量、全氮、全磷、pH 和土壤脲酶等非生物环境因子呈显著相关性。图 6 表 2 参 55

关键词: 高寒草甸; 退化; 非靶向代谢组学; 差异代谢物; 土壤理化性质和酶活性

中图分类号: S714 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2025)00-0001-14

Characteristics of soil metabolites associated with degraded alpine meadow and their correlations with environmental factors in Sanjiangyuan Region

YANG Xiaoyan^{1,2}, JIN Hui², DAI Lu³, HUANG Xiancheng⁴, CHEN Jixiang¹, QIN Bo²

(1. School of Petrochemical Engineering, Lanzhou University of Technology, Lanzhou 730050, Gansu, China; 2. Lanzhou Institute of Chemical Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730030, Gansu, China; 3. Rushan Agricultural and Rural Affairs Service Center, Rushan 265411, Shandong, China; 4. Wendeng Agriculture and Rural

收稿日期: 2025-03-25; 修回日期: 2025-11-08

基金项目: 中央引导地方科技发展资金项目 (24ZYQA043); 中国科学院战略性先导科技专项 (A类) (XDA26020201); 甘肃省知识产权计划资助项目 (24ZSCQG013); 甘肃省科技计划资助项目 (23JRRA604、24JRRA065)

作者简介: 杨晓燕 (ORCID: 0000-0003-0020-2633), 从事植物化学生态学研究, E-mail: yangxiaoy@licp.cas.cn。通信作者: 陈吉祥 (ORCID: 0000-0003-2032-8727), 博士, 教授, 从事寒旱区环境微生物资源及应用、工业废水生物治理新技术等研究。E-mail: chenjixiang@lut.edu.cn; 秦波 (ORCID: 0000-0003-4500-1931), 博士, 研究员, 从事植物化学生态学研究。E-mail: bqin@licp.cas.cn

Affairs Service Center, Weihai 264400, Shandong, China)

Abstract: [Objective] This study examines soil metabolite variations in degraded alpine meadows of the Three-River Source region, identifies key metabolic pathway shifts, and assesses their correlations with soil environmental factors. The findings provide scientific insights into degradation drivers and soil ecological responses. [Method] This study focuses on alpine meadows in Sanjiangyuan National Park, Maqin County, Guoluo Tibetan Autonomous Prefecture, Qinghai Province. It uses untargeted LC-MS/MS metabolomics to analyze soil metabolites across a degradation gradient, including non-degraded, lightly degraded, moderately degraded, and severely degraded meadows. The study also examines correlations between key differentially expressed metabolites and soil environmental factors. [Result] A total of 8 451 metabolites were identified, with lipids and lipid-like molecules being the most abundant (26.81%). Soil degradation significantly altered metabolite types and contents, with the most significant differences observed between heavily degraded and other meadow types. The top 20 signature metabolites included carboxylic acids, fatty acyls, organic nitrogen compounds, and sphingolipids. Key metabolic pathways affected were linoleic acid metabolism, ABC transporters, phospholipase D signaling, and sphingolipid signaling. Redundancy analysis revealed significant correlations between soil metabolites and environmental factors such as organic matter, water content, total nitrogen, total phosphorus, pH, and urease activity. [Conclusion] The types of signature metabolites, differentially expressed metabolites, and major metabolic pathways in alpine meadow soils varied significantly across degradation levels. These variations were hypothesized to correlate strongly with changes in environmental factors such as soil organic matter, water content, total nitrogen, total phosphorus, pH, and soil urease. [Ch, 6 fig. 2 tab. 55 ref.]

Key words: alpine meadows; degradation; non-targeted metabolomics; differential metabolites; soil physicochemical properties and enzyme activity

三江源素有“中华水塔”^[1]之称,在涵养水源、保护生物多样性、固定碳素等方面有重要的生态价值^[2]。然而近年来受全球气候变化和人类过度活动等影响,三江源高寒草甸普遍退化,甚至部分优良草地逐步退化为次生裸地或“黑土滩”^[3],引发了物种多样性减少、水源涵养功能下降及毒杂草入侵等一系列生态问题^[4],严重制约当地畜牧业可持续发展^[2]。因此,解析三江源高寒草甸恢复限制因子及研发生态恢复技术是目前亟待解决的关键问题^[5]。

草地退化是植被、土壤以及能流共同退化的生态逆向演替过程结果^[6]。土壤代谢物是土壤中植物根系分泌、微生物自身内源性代谢物释放及对环境物质的代谢分解产生的重要小分子物质,是植物-土壤-微生物共同作用的结果^[7],在植物生长、营养平衡、物质交换和能量转化、生物化学循环等过程起关键作用^[8],是评价土壤质量的重要指标,也能直接反映土壤退化状况^[9]。因此,研究土壤代谢物可为明确土壤-植物-微生物交互反馈作用的重要因素和信号分子提供物质基础^[10]。土壤退化是草地生态系统退化的核心,整合土壤非生物因素(理化指标、酶活性、土壤代谢物等)和生物因素(土壤微生物群落组成及功能)研究,可以更加全面地了解草地退化程度^[11-12]。

现有研究主要关注退化草地植物群落及群落特征^[13-14]、土壤理化因子^[2,6]、土壤养分^[15]、酶活性^[16]、微生物多样性以及部分指标相关性^[17]等,发现随着草地退化的加剧,土壤抗侵蚀能力、有机质、全氮及速效钾含量呈先增加后降低的趋势,土壤酶活性(土壤脲酶活性)、植被生物量及土壤微生物数量(真菌数量)显著下降;同时,退化通过地上生物量、土壤含水量、pH、总有机碳、全氮、铵态氮、速效磷和全钾含量及有效氮磷比等环境因子显著驱动土壤微生物格局和功能改变^[18-20]。然而,草地生态系统尤其退化高寒草甸土壤系统的代谢组学研究相对匮乏。马源^[10]研究发现:祁连山东缘退化显著影响了优势植物分泌的代谢物种类和含量,酚类和有机酸等化合物为适应生存环境的变化而释放的主要化学物质。白炜等^[21]发现:增温显著改变高寒沼泽草甸根际土壤蔗糖酶和纤维素酶活性,改变了根际土壤代谢物组成

及网络结构，且与酶活性高度相关。因此，研究退化草地土壤代谢产物特征及其与环境因子的相关性，可为高寒草甸退化的关键过程的解析及草地土壤环境的信息与物质互换协同机制研究提供理论依据^[12]。

非靶向代谢组学 (NTM) 通过对小分子量代谢产物进行定性与定量分析，直接准确地映射土壤及相关生物体的生理状态，是研究生物学样本的相似性、聚类及差异的重要方法。超高效液相色谱与高分辨率质谱联用技术 (UHPLC-LC-MS/MS) 因分离性强、灵敏度高，广泛用于分析植物体内及根际土壤代谢产物并预测其可能的代谢途径和机制^[22]。近年来土壤代谢组学在对土壤微生物研究的应用日趋广泛，通过识别代谢途径中的生化中间产物，提高对土壤生物过程的理解及预测能力^[23]，已成为当前研究的热点。张小芳等^[24]研究表明：混播草地能刺激植物分泌更多的有益土壤代谢物 (如海藻糖和缬氨酸)，通过招募类诺卡氏重塑细菌群落并促进生态系统健康；程锦春等^[25]研究表明：青藏高原药用植物红景天 *Rhodiola rosea*、珠芽蓼 *Polygonum viviparum* 和瑞香狼毒 *Stellera chamaejasme* 的根际土壤标志代谢物与其药效成分密切相关，其代谢途径是生物合成活性次生代谢产物以适应高寒生态环境的重要基础。

为了系统阐释不同退化程度的高寒草甸土壤代谢产物差异特征，厘清土壤代谢产物与土壤环境非生物因子的相关性，本研究聚焦青海省果洛藏族自治州玛沁县三江源国家公园不同退化程度的高寒草甸，解析土壤代谢物的组成和差异代谢产物特征，探明与退化相关的标志性土壤代谢产物及其关键代谢富集通路，并揭示影响土壤代谢物的关键环境驱动因子。

1 材料和方法

1.1 研究区概况

研究区位于青海省果洛藏族自治州玛沁县大武镇 (34°27'N, 100°13'E)，海拔为 3 740.0 m，主要土壤类型为高山草甸土。属于典型的高原大陆性气候，昼夜温差大，年均气温-3.9 °C，年降水量 513.2~542.9 mm，多集中在 6—9 月，年蒸发量为 2 471.6 mm，牧草生长时间约为 156 d，全年无绝对无霜期^[6]。当地草地类型为高寒嵩草草甸，研究区以小嵩草 *Kobresia pygmaea*、矮嵩草 *Kobresia humilis*、针茅 *Stipa* sp. 为建群种，同时伴有大量鹅绒委陵菜 *Potentilla anserina*、细叶亚菊 *Ajania tenuifolia* 和铁棒锤 *Aconitum pendulum* 等毒杂草^[26]。根据天然草地退化等分级指标 (GB19377—2003) 和文献^[27] 的方法，在植物生长旺盛期根据优势植物、群落、毒杂草、盖度等数据，将高寒草甸分为未退化草甸 (none degradation meadow, NDM)、轻度退化草甸 (light degradation meadow, LDM)、中度退化草甸 (moderate degradation meadow, MDM) 以及重度退化草甸 (severe degradation meadow, SDM)^[28](表 1)。

1.2 样品采集

于 2020 年 8 月中上旬植物生长旺盛期，按随机取样法进行采样。每个退化区域设 3 个 30 m×30 m 随机采样区，每个采样区域内随机设置 5 个 1 m×1 m 重复样方。在样方内记录植物种类、物种数、群落总盖度和高度，采用刈割法测定植被群落地上部生物量。去除草地表面凋落物层后每个小样方分别挖取 1 个 0.15 m×0.15 m×0.20 m (长×宽×高) 的土块，采用抖落法^[7] 收集土壤，将每个退化样地中 5 个土壤样本均匀混合为 1 个复合土样，共计 12 个土样。将每个土样分为 3 份：一份测定土壤含水量；一份土样

表 1 样地基本情况

Table 1 Characteristics of basic information

样地	海拔/m	经纬度	优势物种	盖度/%	高度/cm	地上生物量/ (g·m ⁻²)	地下生物量/ (g·m ⁻²)
未退化草甸 (NDM)	3 940	34°21'23"N 100°29'13"E	线叶嵩草、高山嵩草、 矮嵩草、干生苔草	91.89±1.69 a	21.35±1.32 a	717.59±88.14 b	3 051.60±236.31 a
轻度退化草甸 (LDM)	3 960	34°21'20"N 100°28'47"E	线叶嵩草、高山嵩草、 异针茅、珠芽蓼	76.50±4.67 b	18.63±2.36 b	887.31±20.13 a	2 278.52±114.11 b
中度退化草甸 (MDM)	3 950	34°21'39"N 100°27'40"E	线叶嵩草、高山嵩草、矮嵩草、 鹅绒委陵菜、黄帚橐吾	63.48±7.05 c	17.32±2.59 b	551.29±30.34 c	1 620.87±78.38 c
重度退化草甸 (SDM)	3 950	34°21'10"N 100°28'48"E	线叶嵩草、高山嵩草、矮嵩草、 黄帚橐吾、细叶亚菊、铁棒锤	30.50±9.88 d	3.16±0.08 c	448.54±84.62 c	1 261.17±25.74 d

说明：线叶嵩草 *Kobresia capillifolia*，高山嵩草 *Kobresia pygmaea*，干生苔草 *Carex aridula*，异针茅 *Stipa aliena*，珠芽蓼 *Polygonum viviparum*，黄帚橐吾 *Ligularia virgaurea*。

过 1.00 mm 和 0.25 mm 土筛后进行土壤理化性质及酶活性分析;另一份分别取 5 g 左右的新鲜土壤样品,液氮速冻 15 min, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用于土壤代谢物检测分析。

1.3 土壤理化性质分析及土壤酶活性测定

土壤理化性质和酶活性的测定均参照 JIN 等^[27,29]的测定方法。土壤 pH 采用电位法,土壤含水量 (SMC) 采用烘干法,土壤有机质 (SOM) 采用重铬酸钾外加热法,土壤全氮 (TN) 采用凯氏定氮法,全磷 (TP) 和速效磷 (AP) 采用钼锑抗显色法,全钾 (TK) 和速效钾 (AK) 采用火焰光度法,土壤硝态氮 (NN) 采用氯化钾浸提-靛酚蓝比色法。土壤脲酶 (UE) 活性采用苯酚钠-次氯酸钠比色法,中性磷酸酶 (NP) 采用磷酸苯二钠比色法,蔗糖酶 (SC) 采用 3,5-二硝基水杨酸显色法。

1.4 代谢组样品前处理

称取不同样本新鲜土壤各 0.50 g,土壤样品前处理的方法参考文献^[25]。另外,每个样本分别移取 20 μL 上清液,混合后作为质控样品 (QC) 进样时在样本队列的前中后插入^[30-31]。

1.5 色谱条件

采用 Nexera UPLC 超高效液相串联系统,联用 QExactive 高分辨质谱仪对样品成分进行分析鉴定。ACQUITY UPLC BEH C18 色谱柱 (100.0 mm \times 2.1 mm, 1.7 μm)。流动相 A 为体积分数为 0.1% 的甲酸, B 为(A) 体积分数为 0.1% 甲酸乙腈。梯度洗脱: 0.01min, 5%B; 1.5min, 5%B; 3min, 30%B; 7min, 60%B; 9min, 90%B; 11 min, 100%B; 12 min, 100%B; 15 min, 5%B, 百分数皆为体积分数。自动进样器温度为 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$,柱温为 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$,体积流量为 $0.35\text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量为 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。

1.6 质谱条件

采用正负离子扫描模式采集样品质谱信号,扫描的选择范围为 60~900 m/z,正负离子电离均使用电喷雾离子源 (ESI),正离子模式电压为 3.5 kV,负离子模式电压为 3.1 kV,鞘气流速为 30 arb,辅助气流速为 10 arb,毛细管温度为 $320\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.7 数据处理

采用 UNIFI 1.8.1 软件采集原始数据后经 Progenesis Q1 v2.3 软件 (Nonlinear Dynamics, Newcastle, 英国) 预处理。采用 The Human Metabolome Database (HMDB)、Lipidmaps v2.3 和 METLIN 数据库以及自建库对含有二级质谱数据的峰进行物质鉴定和注释。删除组内缺失值均 $>40\%$ 的离子峰,得到代谢物数据矩阵。采用 SIMCA-P 14.1 软件进行多元统计分析,统计分析采用主成分分析 (PCA)、偏最小二乘判别 (PLS-DA)、正交偏最小二乘判别 (OPLS-DA)[第 1 主成分的变量权重值 (VIP > 1)] 和 Student's *t* 检验 ($P < 0.05$) 和变异倍数分析相结合的办法,来筛选差异代谢物。利用 R 软件对 VIP 前 50 的差异代谢物的表达量进行层次聚类分析,绘制火山图对 *P* 和 fold change 值进行可视化,以筛选显著差异代谢物。利用京都基因和基因组百科全书 (KEGG) ID 对显著性差异表达代谢物 ($P < 0.05$) 进行通路富集分析,并 R 软件绘制气泡图以可视化显著富集的代谢通路^[32]。采用 Canoco 5.0 对不同退化高寒草甸土壤样本标志代谢物与环境因子进行冗余分析 (RDA),以揭示二者间的相关性。

2 结果与分析

2.1 不同退化高寒草甸土壤理化性质和酶活性变化

由表 2 可见:三江源地区不同退化程度下高寒草甸土壤 pH 为 6.39~7.34,随着高寒草甸退化程度增加而升高,MDM 的土壤 pH 显著高于其他草甸 ($P < 0.05$)。相反,随着草甸退化程度的增加,SMC 和 SOM 质量分数显著下降 ($P < 0.05$),其中 SDM 最低。TN、TP、NN 和 AP 质量分数呈急剧下降后上升趋势,MDM 中最低 ($P < 0.05$)。AK 质量分数呈先升高后下降的趋势,在 LDM 中最高。同时,不同退化程度草甸下 SC 活性无显著差异,在 MDM 中活性最低。UE 活性随着草甸退化的增加呈先升高后降低的趋势,在 LDM 中最高。NP 活性呈先下降后升高的趋势,在 MDM 中活性最低。

2.2 不同退化高寒草甸土壤样品 PCA 和 OPLS-DA 结果

根据不同退化程度高寒草甸土壤样品的 PCA 结果可知:QC 样本相对聚集 (图 1),表明本研究获得的代谢组学数据变异性小,数据具有较强的稳定性和重现性。同时,不同样本间明显分离,表明主成分分析对不同样本区分效果较好,不同退化高寒草甸土壤代谢物组成及含量存在明显差异。根据 OPLS-DA

表 2 样地土壤理化性质

样地	pH	土壤含水量 (SMC)/%	有机质(OM)/(g·kg ⁻¹)	全氮(TN)/(g·kg ⁻¹)	全磷(TP)/(g·kg ⁻¹)	硝态氮(NN)/(mg·kg ⁻¹)
NDM	6.39±0.08 d	45.15±1.28 a	177.70±6.58 a	11.75±0.20 a	1.23±0.02 a	8.49±1.36 a
LDM	6.84±0.03 c	41.37±2.13 a	154.22±0.24 b	9.79±0.03 b	0.92±0.02 b	6.90±0.44 b
MDM	7.68±0.02 a	21.32±1.12 b	93.55±0.68 c	4.97±0.08 d	0.74±0.02 c	3.90±0.47 d
SDM	7.34±0.03 b	21.16±0.98 b	84.07±1.52 c	5.46±0.10 c	0.81±0.02 b	5.01±0.31 c

样地	速效磷(AP)/(mg·kg ⁻¹)	速效钾(AK)/(mg·kg ⁻¹)	蔗糖酶(SC)/(mg·g ⁻¹ ·d ⁻¹)	脲酶(UE)/(μg·g ⁻¹ ·d ⁻¹)	中性磷酸酶(NP)/(mg·g ⁻¹ ·d ⁻¹)
NDM	0.57±0.03 a	168.91±3.86 b	130.53±2.27 a	1 142.39±147.17 c	3.42±0.06 a
LDM	0.55±0.08 ab	208.37±3.72 a	128.27±2.38 a	1 758.94±60.26 a	3.22±0.99 ab
MDM	0.31±0.01 ab	145.14±4.20 c	121.39±2.17 a	1 704.23±28.71 a	2.87±0.82 c
SDM	0.36±0.06 b	138.37±6.83 d	126.19±2.13 a	1 414.22±155.38 b	3.16±0.43 b

说明：同列不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

模型的得分散点图(图 2), 表明组内差异较小。模型参数中 R^2Y 、 R^2X 、 Q^2 均接近于 1, 说明分析数据稳定可靠。根据 OPLS-DA 置换检验随机模型(次数 $n=200$), 可知模型未发生过拟合(图 2), R^2Y 均大于 0.99, Q^2 均大于 0.96, 说明该模型可以很好地区分样品。

2.3 不同退化高寒草甸土壤样本代谢物组分分析

采用 LC-MS 测定, 正离子模式下共鉴定出 5 784 种代谢物, 负离子模式下 2 667 种代谢物, 根据 KEGG 共鉴定出代谢物 8 451 种。代谢物主要包括脂质和类脂分子类(26.81%)、有机酸及其衍生物(7.73%)、有机氧化合物(6.44%)、有机杂环化合物(5.93%)、苯丙烷类和聚酮类(5.82%)和苯类化合物(4.45%), 且代谢物中大部分为次生代谢物(图 3A)。

4 个不同退化程度土壤中代谢物组成和含量存在显著差异(图 3B)。NDM 样地中代谢物共有 1 758 种, 主要组成有菊粉二糖(6.46%)、海葱皂苷元(2.80%)和 3-[(5-甲基-2-咪喃基)甲基]-1H-吡咯(2.37%); LDM 样地中代谢物共有 1 411 种, 主要组成有菊粉二糖(6.10%)、海葱皂苷元(6.03%)和 3-[(5-甲基-2-咪喃基)甲基]-1H-吡咯(4.08%); MDM 样地中代谢物共有 1 327 种, 主要组成有乌头碱(9.95%)、海葱皂苷元(4.13%)和菊粉二糖(4.09%); SDM 样地中代谢物共有 1 224 种, 主要组成有乌头碱(12.06%)、绣线菊碱 A(5.05%)和 8',10'-二羟基二氢麦角胺(4.42%)。

2.4 不同退化高寒草甸土壤样本差异代谢物的火山图分析

如图 4 所示: 随三江源高寒草甸退化程度增加, 各比较组间上调差异代谢物数量高于下调差异代谢物, 尤其是 SDM 比 NDM、LDM 和 MDM 的土壤中差异代谢物种类多, 其中, SDM 和 NDM 中显著上调的代谢物数量比下调代谢物数量高 450 种, SDM 和 LDM 中显著上调的代谢物数量比下调代谢物数量高 429 种, SDM 和 MDM 显著上调的代谢物数量比下调代谢物数量高 381 种(附表 1)。

2.5 不同退化高寒草甸土壤样本标志代谢物筛选

为进一步确定不同退化高寒草甸土壤代谢物的差异, 分别筛选了不同样本比较组表达量前 20 的差异代谢物(附图 1~4)。NDM 中 TOP20 的代谢物中正离子模式下有 14 种(10 种显著上调, 4 种显著下调), 负离子模式下有 6 种(2 种显著上调, 4 种显著下调), 这些代谢物多属于甾醇脂类、吡咯类、嘌呤核苷类、羧酸及其衍生物和脂肪酰基类化合物; LDM 中 TOP20 的代谢物中正离子模式下有 16 种(14 种

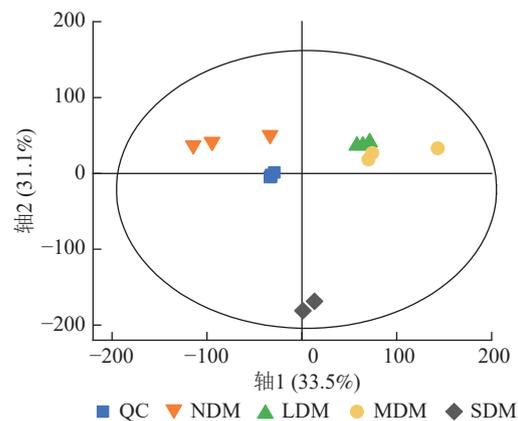


图 1 各组样本和 QC 样本 PCA 得分图

Figure 1 PCA scores plot of metabolites in all experimental samples and QC samples

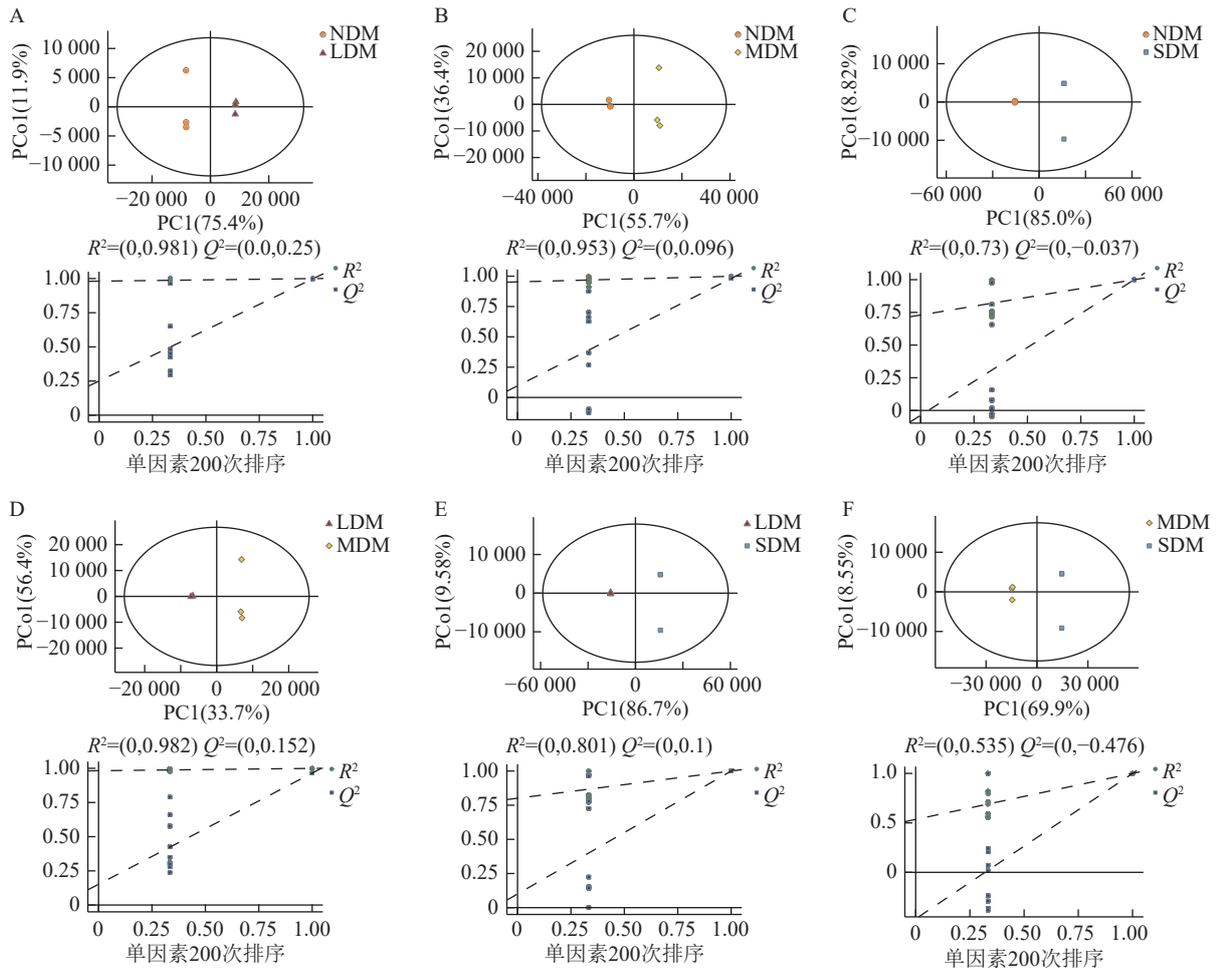


图2 OPLS-DA 得分图和置换检验

Figure 2 OPLS-DA score and displacement test

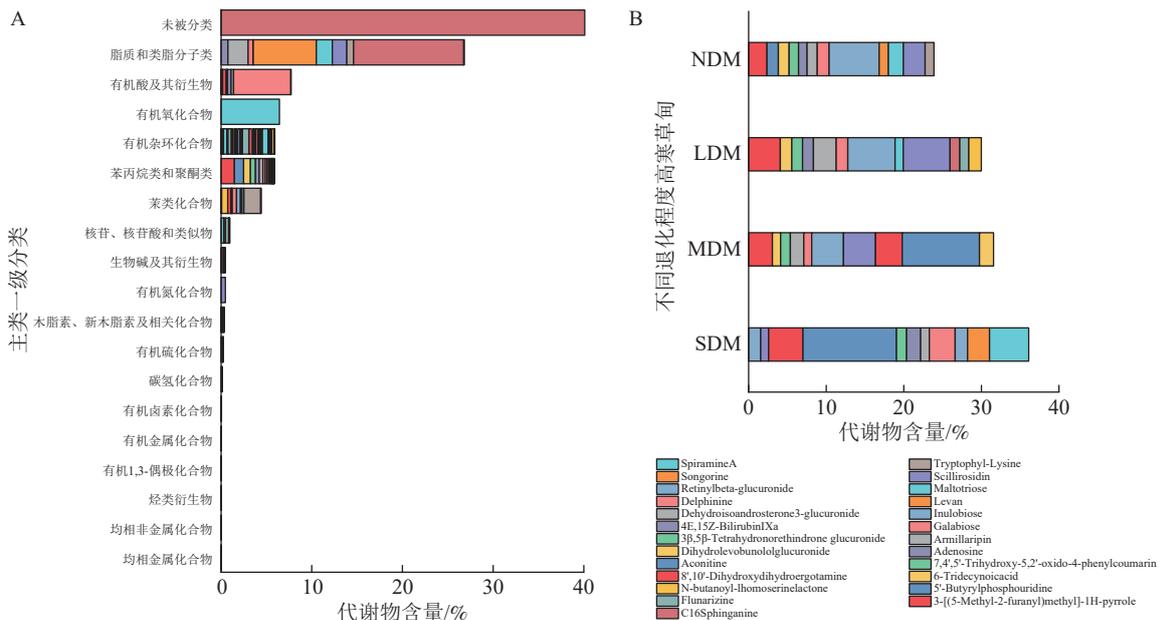


图3 退化高寒草甸土壤样本中所有代谢物分类及占比(A)和不同程度退化高寒草甸土壤样本中质量分数大于1%的代谢物组成(B)

Figure 3 Classification and proportion of all metabolites in soil sample of the degraded alpine meadows (A) and classification of metabolites >1% in soil sample of different degraded alpine meadows (B)

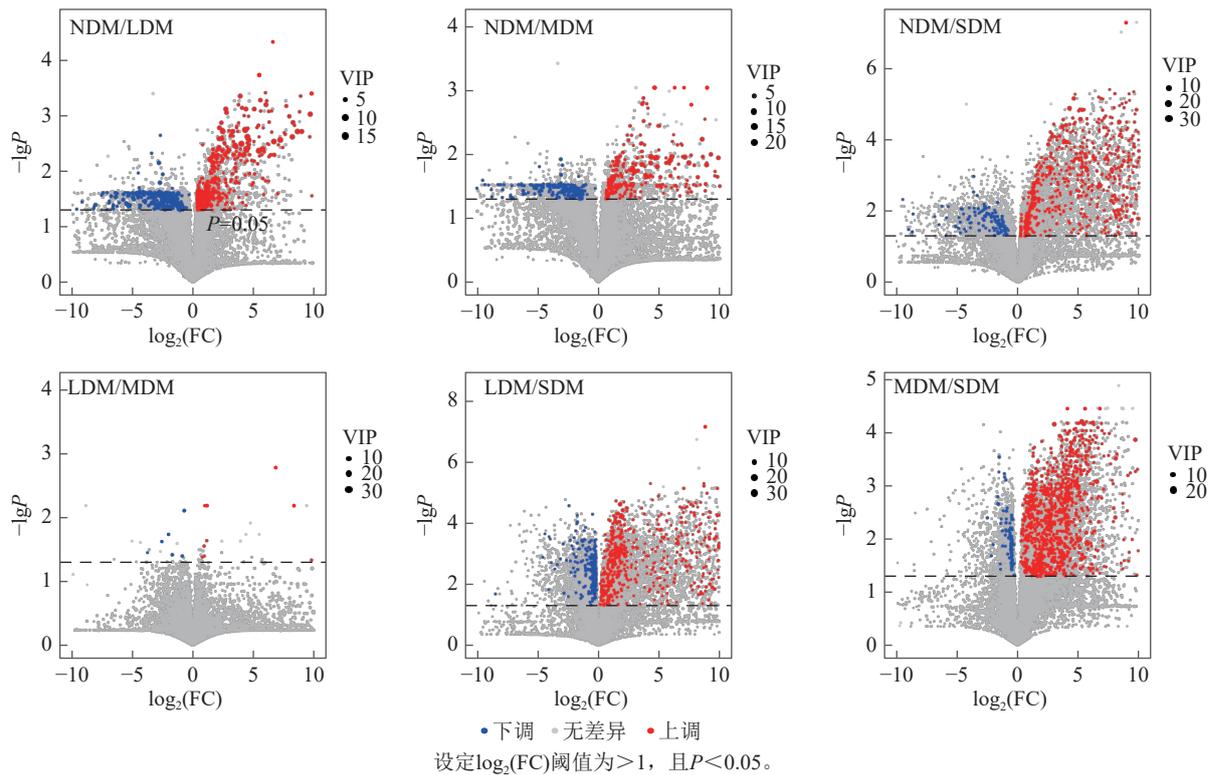


图 4 不同程度退化高寒草甸土壤差异代谢物火山图

Figure 4 Volcanic plots of differential metabolites in soil samples of 4 different degraded alpine meadows

显著上调，2种显著下调)，负离子模式下有4种(3种显著上调，1种显著下调)，这些代谢物多属于羧酸及其衍生物、苯及其取代衍生物、吡啶及其衍生物；MDM中TOP20的代谢物均在正离子模式下，而且18种显著上调，2种显著下调，这些代谢物多属于羧酸及其衍生物、脂肪酰基、类固醇和类固醇衍生物、吡啶及其衍生物和甘油磷脂类化合物；SDM中TOP20的代谢物均在正离子模式下且均显著上调，这些代谢物多属于类固醇和类固醇衍生物、吡咯、丙烯醇脂质、羧酸及其衍生物和甾醇脂质类化合物。

同时，对4种不同退化高寒草甸土壤样本6个比较组中TOP20的代谢物表达量变化分析表明(附表1)，其中*N*-乙酰基-*L*-谷氨酸酯、3-[(5-甲基-2-咪唑基)甲基]-1*H*-吡咯、*N*-棕榈酰色胺、11- β -羟基雄甾酮-3-葡萄糖醛酸苷、水苏糖、C1鞘氨醇、4-丙酰基-HT2毒素和乌头碱的差异倍数随着退化程度的增加逐渐变大，可作为区分不同退化程度的标识物。

2.6 不同退化程度高寒草甸土壤样本差异代谢物通路富集分析

基于KEGG数据库的不同退化高寒草甸土壤样本差异代谢物通路富集分析，亚油酸代谢(linoleic acid metabolism)、ABC转运途径(ABC transporters)、磷脂酶D信号(phospholipase D signaling pathway)通路和鞘脂信号通路(sphingolipid signaling pathway)在6个比较组中均极显著富集($P < 0.01$)，为Top20关键代谢通路(图5)。其中，NDM与LDM、MDM、SDM组间分别富集差异代谢通路17、29和43条，对应代谢物数目56、33和44种，其中磷酸戊糖途径(pentose phosphate pathway)(图5A)、鞘脂信号通路代谢通路(图5B)、ABC转运途径(图5C)均极显著富集($P < 0.01$)；LDM与MDM、SDM组间分别富集10和49条通路，对应代谢物数目28和49种，亚油酸代谢(图5D)和ABC转运途径(图5E)极显著富集($P < 0.01$)；MDM与SDM组中富集72条差异代谢通路，37种代谢物，鞘脂信号通路极显著富集(图5F)($P < 0.01$)。

2.7 不同退化程度高寒草甸土壤样本差异代谢物与理化性质及酶活性相关性分析

采用RDA分析解析了4种不同退化程度高寒草甸土壤样本前20差异代谢物与环境因子相关性。如图6A所示：第1、第2排序轴的解释量分别为91.90%和3.79%。由图6B可知：对土壤差异代谢物变化影响显著的土壤环境因子指标为SOM($P = 0.002$)、SMC($P = 0.004$)、TN($P = 0.01$)、TP($P = 0.014$)、AP

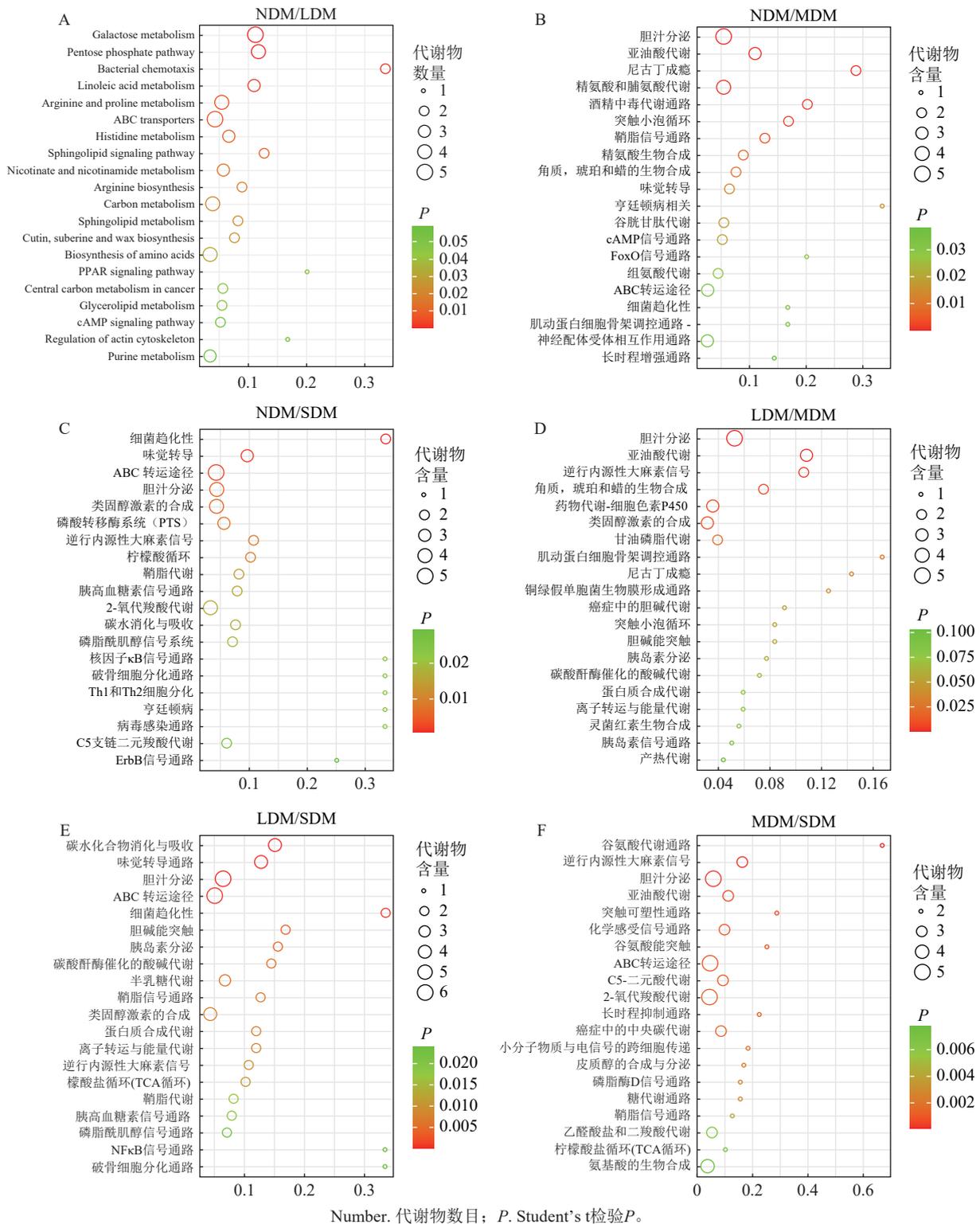
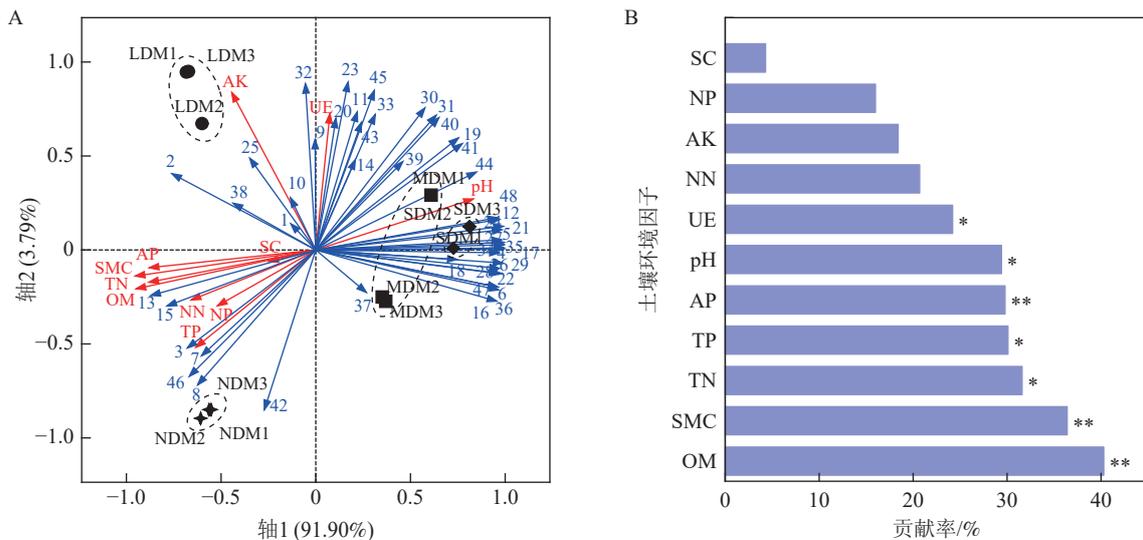


图5 土壤样本差异代谢通路富集 Top20 气泡图

Figure 5 Bubble chart of KEGG enrichment analysis of the top 20 different metabolites in the soil samples

($P=0.006$)、pH ($P=0.014$) 和 UE ($P=0.03$)。NDM 中大部分差异代谢物与 SOM、SMC、TN、TP、AP 呈显著正相关 ($P<0.05$)，与 pH 和 UE 呈显著负相关 ($P<0.05$)；LDM 中，脂质和类脂质分子 32 对 AK 和 UE 呈显著正相关 ($P<0.05$)；在 MDM 和 SDM 中，脂质和类脂质分子 4、16、29 和 44，有机酸及其衍生物 23 和 41 以及生物碱及其衍生物 12 与 pH 和 UE 具有显著正相关性 ($P<0.05$)，与 SOM、SMC、TN 呈显著负相关 ($P<0.05$)。结果表明高寒草甸退化可能导致土壤代谢物组成受到 SOM、SMC、TN、TP、AP、pH 和 UE 的显著影响，SOM 和 SMC 对代谢物的影响最为显著。



SMC. 土壤含水率; SOM. 有机质; TN. 全氮; TP. 全磷; NN. 硝态氮; AN. 速效氮; AP. 速效磷; SC. 蔗糖酶; UE. 脲酶; NP. 中性磷酸酶. ** $P < 0.01$; * $P < 0.05$. 1. 水苏糖; 2. 5'-脱氧-5'-(甲硫基)腺苷; 3. γ -谷氨酰异亮氨酸; 4. 17-苯基-18,19,20-trinor-前列腺素E₂; 5. 乌头碱; 6. 11- β -羟基雄酮-3-葡萄糖苷; 7. γ -谷氨酰缬氨酸; 8. 嘧啶核苷类5-甲基尿嘧; 9. 乌托品; 10. 左旋肉碱; 11. 西利罗西丁; 12. 氢吗啡酮-3-葡萄糖苷; 13. 5-[4-(5-{3-[3-(3,5-二羟基苯基)-6-羟基-2-(4-羟基苯基)-2,3-二氢-1-苯并咪唑-4-基]环氧乙烷-2-基}-2-(4-羟基苯基)-2,3-二氧-5'-<WBR>(甲硫基)腺苷氢-1-苯并咪唑-3-基)-6-羟基-2-苯基-2,3-二氢-1-苯并咪唑-3-基]苯-1,3-二醇; 14. 7,4',5'-三羟基-5,2'-氧代-4-苯基香豆素; 15. 6-[4-(2-{3-[3-(3,5-二羟基苯基)-6-羟基-2-(4-羟基苯基)-2,3-二氢-1-苯并咪唑-4-基]-2-苯基-2,3-二氢-1-苯并咪唑-5-基}乙烯基)-6-羟基-2-(4-羟基苯基)-2,3-二氢-1-苯并咪唑-3-基]苯-1,2,4-三醇; 16. 脱氢异雄酮-3-葡萄糖苷; 17. 8',10'-二羟基二氢麦角胺; 18. 色氨酸-赖氨酸; 19. 氟桂利嗪; 20. C16 鞘氨醇; 21. 4E,15Z-胆红素Ixa; 22. 视黄基 β -葡萄糖苷; 23. 普瑞巴林; 24. 翠雀碱; 25. (3 β ,6 β)-咪喃氨基苯丙烷-3,6-二醇-6-乙酸酯; 26. 松戈林; 27. 螺旋胺 A; 28. 二氢左旋布洛尔葡萄糖苷; 29. 4-丙酰基-HT2毒素; 30. CDP-DG(a-13:0/a-13:0); 31. 瓦莱罗西达图姆; 32. N-丁酰氯高丝氨酸内酯; 33. 3-[(5-甲基-2-咪喃基)甲基]-1H-吡咯; 34. 3 β ,5 β -四氢炔诺酮葡萄糖苷; 35. Kni 102; 36. 3 β ,5 α -四氢炔诺酮葡萄糖苷; 37. 5'-丁酰基磷; 38. 1-O-(2-乙酰氨基-2-脱氧- α -D-吡喃葡萄糖基)-1D-肌醇3-磷酸; 39. 拉坦前列素乳糖醇; 40. 地莫辛; 41. 异地莫辛; 42. N-乙酰基-L-谷氨酸酯5-半醛; 43. 奥辛吡啶; 44. 1,2-二甲基肼酰基-(2Z,5Z,8Z,11Z,14Z,17Z)-二十二碳六烯; 45. Nb-棕榈酰色胺; 46. DG (18:4(6Z,9Z,12Z,15Z)/24:1(15Z)/0); 47. 3 β ,5 α -四氢炔诺酮葡萄糖苷; 48. 布福他林。

图 6 4 种不同程度退化高寒草甸土壤差异代谢物与土壤环境因子的 RDA 分析

Figure 6 RDA analysis of differential metabolites in soil samples of 4 different degraded alpine meadows and environmental factors

3 讨论

土壤代谢物成分高度复杂且具有较高的生物利用度，是土壤-植物-微生物生态系统间物质交换和能量流动的基础，在调控微生物营养网络、调节土壤化学、土壤微生物基因表达及植物生长发育等方面发挥着改进作用^[33-34]。本研究发现：三江源退化高寒草甸土壤代谢产物丰富，以脂质和类脂分子为主。这 2 类物质持续累积可抑制植物生长信号通路并破坏土壤团聚体结构^[35]。不同退化样地间代谢物组成差异显著，中度和重度退化草甸中苯丙烷类、聚酮类等具有化感潜力的化合物特异性富集，可能在退化高寒草甸群落种间竞争和演替中的具有重要作用^[36]。已有研究表明退化通过改变植物根系分泌物^[10,37]和微生物群落^[17]结构的共同驱动土壤代谢物变化。高寒草甸主要土壤代谢物为菊粉二糖和海葱皂苷元，是典型的应激代谢物^[27]，且随退化加剧而减少，其衰减扰动了土壤主要养分循环和能量流动^[38]。由此可见，退化高寒草甸土壤代谢物的组成和分布特征与植被群落及土壤微生态环境密切相关^[39]。

本研究不同退化程度高寒草甸土壤代谢物显著分离，其中重度退化草甸与其他组间的显著差异代谢物数量较多，表明代谢调控网络更为复杂。各比较组中上调差异代谢物的优势富集使其可作为退化的关键标志物。本研究鉴定出差异标志性代谢物主要涉及的羧酸及其衍生物、脂肪酰基和鞘脂类等化合物不仅直接参与碳磷氮循环^[40]，还为土壤微生物和植物提供碳源^[41]。随着退化的加剧，羧酸及其衍生物 (*N*-乙酰基-*L*-谷氨酸酯)、吡咯类化合物 (3-[(5-甲基-2-咪喃基)甲基]-1*H*-吡咯) 及吡啶及其衍生物 (吡啶、*N*-棕榈酰色胺) 普遍呈上调趋势，这些代谢物累积可能是土壤环境恶化^[40]、植被根系分泌释放^[37]、微生物的选择性利用^[42]共同作用的结果。在中度和重度退化草甸中，有机氧化合物 (水苏糖) 和鞘脂类化合物 (C16 鞘氨醇) 显著上调。水苏糖作为一种能量储存和胁迫响应分子有助于维持植物的正常生理功能^[43]；C16 鞘氨醇则通过诱导系统抗性和次生代谢产物拮抗病原菌发挥生防作用^[44]。因此，退化过程中

特定化合物释放及协同作用共同增强了植物的抗逆能力。此外,重度退化草甸中戊二烯醇脂质化合物(4-丙酰基-HT2毒素)和有机氮化合物(乌头碱)也显著累积,前者为镰刀菌属 *Fusarium* 的主要代谢产物,可能与土壤中病原菌增加有关^[45];而乌头碱属于高寒草甸毒杂草的潜在化感物质,可显著抑制优质牧草生长^[46],进而驱动植被演替。由此可见,高寒草甸不同退化程度土壤样本中标志性代谢物特征性变化可为高寒草甸退化早期诊断提供参考依据。

在不同退化程度的高寒草甸土壤中,差异代谢物显著富集于亚油酸代谢、ABC转运途径、磷脂酶D信号通路和鞘脂信号通路,其中磷脂酶D信号通路的富集程度最高。该通路中显著上调的肌醇1,4,5-三磷酸和L-谷氨酸促进了磷脂酶D物质的积累,在糖代谢和信号转导中扮演着重要角色,通过提高有机物质水解来响应退化^[47]。亚油酸的代谢通路的途径参与免疫调节、细胞信号传导等生理功能,同时在土壤有机碳循环起着关键的作用^[48]。鞘脂信号通路是激活鞘质醇激酶产生鞘烷基-1-磷酸(S1P),在低温胁迫下增加细胞膜的流动性和稳定性,从而提升植物的抗逆性^[49]。ABC转运途径则参与无机离子、聚糖与胆固醇等多种代谢产物的跨膜转运,对土壤有机物的吸收、分解与转化具有关键影响^[50-51]。因此,差异代谢物的富集通路及功能分析为揭示高寒草甸退化过程中土壤环境变化与功能响应奠定了基础。

退化高寒草甸土壤代谢产物的变化与土壤环境因子密切相关^[52]。本研究发现,随着退化加剧,SOM、SMC、TN、TP、AP和UE活性降低,而pH升高。这一变化可归因于植物群落盖度、地上生物量和土壤含水量导致土壤中凋落物归还量下降,进而降低了土壤碳氮磷的循环效率^[8];同时,土壤代谢物如有机酸和胺类代谢物络合金属离子或调节pH,进一步影响土壤养有效性和酶活性。RDA分析结果表明:未退化草甸中 γ -谷氨酰异亮氨酸和 γ -谷氨酰缬氨酸等羧酸及其衍生物和2-芳基苯并咪唑类黄酮类化合物与SOM、SMC、TN、TP呈显著正相关。这些代谢物参与根际碳循环和难溶性磷活化,为植物提供碳源和速效磷^[53-54],同时,无机养分富集导致初级和次级代谢以及资源流动和土壤功能的变化^[44]。中度和重度退化草甸中类固醇类、脂肪酰基、生物碱和多种羧酸类化合物与pH和UE成极显著正相关,研究表明退化导致土壤养分损耗,这些代谢物激活了碳、氮、磷循环相关的根际过程(碳沉积、微生物碳转化、氮素矿化等),从而调控土壤微生态环境^[44]。同时,pH增加导致代谢物迁移^[55],SOM是影响可溶性代谢物含量的主要因子^[23],共同导致重度退化草甸中代谢物种类和表达量显著上调,其中羧酸及其衍生物受土壤理化性质和酶活性影响最为显著,可作为退化过程中最敏感的“先驱代谢物”。

4 结论

三江源不同退化程度高寒草甸土壤代谢物以脂质、有机酸及其衍生物、有机氧化合物、苯丙烷类和聚酮类等次生代谢物为主,其种类和含量因退化程度不同呈现显著差异。其中,羧酸及其衍生物、脂肪酰基、吡咯、吲哚及其衍生物、有机氮化合物、有机氧化合物、戊二烯醇脂质和鞘脂类化合物为差异标志性代谢物。重度退化草甸与未退化、轻度退化和重度退化草甸的显著差异代谢物种类和数量均高于其他比较组,说明重度退化草甸中代谢通路更为复杂。而且,各比较组中上调差异代谢物普遍高于下调代谢物,揭示特定代谢物的正向富集可作为退化的关键标志物。差异代谢物主要富集于亚油酸代谢、ABC转运途径、磷脂酶D信号通路和鞘脂信号通路等关键途径,这些通路与植被群落和土壤微生态环境的变化密切相关。SOM、SMC、TN、TP、AP、pH和UE等土壤环境因子与土壤代谢物具有显著相关性,推测是驱动不同退化高寒草甸土壤差异代谢物变化的关键环境因子。

5 参考文献

- [1] ZHANG Wenjuan, XUE Xian, PENG Fei, *et al.* Meta-analysis of the effects of grassland degradation on plant and soil properties in the Alpine meadows of the Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Global Ecology and Conservation*, 2019, 20: e00774. DOI: 10.1016/j.gecco.2019.e00774.
- [2] 李思源, 叶真妮, 毛勇伟, 等. 4种遥感数据时空融合模型生成高分辨率归一化植被指数的对比分析[J]. *浙江农林大学学报*, 2023, 40(2): 427-435. LI Siyuan, YE Zhenni, MAO Yongwei, *et al.* Comparison of four fusion models for generating high spatio-temporal resolution NDVI [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2023, 40(2): 427-435. DOI: 10.11833/j.issn.2095-0756.20220381.

- [3] 张骞, 马丽, 张中华, 等. 青藏高寒区退化草地生态恢复: 退化现状、恢复措施、效应与展望[J]. *生态学报*, 2019, **39**(20): 7441–7451. ZHANG Qian, MA Li, ZHANG Zhonghua, *et al.* Ecological restoration of degraded grassland in Qinghai-Tibet Alpine region: degradation status, restoration measures, effects and prospects [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2019, **39**(20): 7441–7451. DOI: [10.5846/stxb201908301803](https://doi.org/10.5846/stxb201908301803).
- [4] 尹亚丽, 王玉琴, 李世雄, 等. 三江源区退化高寒草甸土壤微生物群落季节特征研究[J]. *生态环境学报*, 2018, **27**(10): 1791–1800. YIN Yali, WANG Yuqin, LI Shixiong, *et al.* Study on seasonal various of characteristics of soil microbial community at degraded Alpine meadows in the three-river-source area [J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2018, **27**(10): 1791–1800. DOI: [10.16258/j.cnki.1674-5906.2018.10.002](https://doi.org/10.16258/j.cnki.1674-5906.2018.10.002).
- [5] 周宸宇, 杨晓渊, 邵新庆, 等. 不同退化程度高寒草甸植物物种多样性与生态系统多功能性关系[J]. *草地学报*, 2022, **30**(12): 3410–3422. ZHOU Chenyu, YANG Xiaoyuan, SHAO Xinqing, *et al.* Relationship between plant species diversity and ecosystem multifunctionality in Alpine meadow with different degradation degrees [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, **30**(12): 3410–3422. DOI: [10.11733/j.issn.1007-0435.2022.12.028](https://doi.org/10.11733/j.issn.1007-0435.2022.12.028).
- [6] 王玉琴, 尹亚丽, 李世雄. 不同退化程度高寒草甸土壤理化性质及酶活性分析[J]. *生态环境学报*, 2019, **28**(6): 1108–1116. WANG Yuqin, YIN Yali, LI Shixiong. Physicochemical properties and enzymatic activities of Alpine meadow at different degradation degrees [J]. *Ecology and Environment Sciences*, 2019, **28**(6): 1108–1116. DOI: [10.16258/j.cnki.1674-5906.2019.06.005](https://doi.org/10.16258/j.cnki.1674-5906.2019.06.005).
- [7] 赵柏霞, 闫建芳, 肖敏, 等. 基于代谢组学分析生草樱桃果园土壤特异代谢物[J]. *草业科学*, 2024, **41**(1): 26–34. ZHAO Baixia, YAN Jianfang, XIAO Min, *et al.* Analysis of specific metabolites in the soil of a sweet cherry orchard with grass intercropping based on metabolomics [J]. *Pratacultural Science*, 2024, **41**(1): 26–34. DOI: [10.11829/j.issn.1001-0629.2023-0199](https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2023-0199).
- [8] WU Changcai, MA Yajie, WANG Dan, *et al.* Integrated microbiology and metabolomics analysis reveal plastic mulch film residue affects soil microorganisms and their metabolic functions [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2022, **423**: 127258. DOI: [10.1016/j.jhazmat.2021.127258](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.127258).
- [9] WILSON R M, TFAILY M M, KOLTON M, *et al.* Soil metabolome response to whole-ecosystem warming at the Spruce and Peatland Responses under Changing Environments experiment [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, **118**(25): e2004192118. DOI: [10.1073/pnas.2004192118](https://doi.org/10.1073/pnas.2004192118).
- [10] 马源. 祁连山东缘退化高寒草甸优势植物根际养分调控机理的研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2020. MA Yuan. *Study on Rhizosphere Nutrient Regulation Mechanism of Dominant Plants in Degraded Alpine Meadow on the Eastern Edge of Qilian Mountains* [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2020. DOI: [10.27025/d.cnki.ggsnu.2020.000250](https://doi.org/10.27025/d.cnki.ggsnu.2020.000250).
- [11] 潘庆民, 杨元合, 黄建辉. 我国退化草原恢复的限制因子及需要解决的基础科学问题[J]. *中国科学基金*, 2023, **37**(4): 571–579. PAN Qingmin, YANG Yuanhe, HUANG Jianhui. Limiting factors of degraded grassland restoration in China and related basic scientific issues [J]. *Bulletin of National Natural Science Foundation of China*, 2023, **37**(4): 571–579. DOI: [10.16262/j.cnki.1000-8217.2023.04.002](https://doi.org/10.16262/j.cnki.1000-8217.2023.04.002).
- [12] 杨元合, 张典业, 魏斌, 等. 草地群落多样性和生态系统碳氮循环对氮输入的非线性响应及其机制[J]. *植物生态学报*, 2023, **47**(1): 1–24. YANG Yuanhe, ZHANG Dianye, WEI Bin, *et al.* Nonlinear responses of community diversity, carbon and nitrogen cycles of grassland ecosystems to external nitrogen input [J]. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2023, **47**(1): 1–24. DOI: [10.17521/cjpe.2022.0107](https://doi.org/10.17521/cjpe.2022.0107).
- [13] 余延娣, 杨晓渊, 马丽, 等. 退化高寒草甸植物群落和土壤特征及其相互关系研究[J]. *草地学报*, 2021, **29**(增刊 1): 62–71. DOI: [10.11733/j.issn.1007-0435.2021.Z1.008](https://doi.org/10.11733/j.issn.1007-0435.2021.Z1.008). SHE Yandi, YANG Xiaoyuan, MA Li, *et al.* Study on the characteristics and interrelationship of plant community and soil in degraded alpine meadow [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2021, **29**(suppl 1): 62–71. DOI: [10.11733/j.issn.1007-0433.2021.Z1.008](https://doi.org/10.11733/j.issn.1007-0433.2021.Z1.008).
- [14] 刘学敏, 罗久富, 陈德朝, 等. 若尔盖高原不同退化程度草地植物种群生态位特征[J]. *浙江农林大学学报*, 2019, **36**(2): 289–297. LIU Xuemin, LUO Jiufu, CHEN Dechao, *et al.* Floristic assembly and dominant population niches in degraded grasslands on the Zoigê Plateau [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2019, **36**(2): 289–297. DOI: [10.11833/j.issn.2095-0756.2019.02.010](https://doi.org/10.11833/j.issn.2095-0756.2019.02.010).
- [15] 李林芝, 张德罡, 马源, 等. 不同退化程度高寒草甸土壤团聚体养分及生态化学计量特征研究[J]. *草业学报*, 2023, **32**(8): 48–60. LI Linzhi, ZHANG Degang, MA Yuan, *et al.* Ecological stoichiometry characteristics of soil aggregates in

- Alpine meadows with differing degrees of degradation [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2023, **32**(8): 48–60. DOI: [10.11686/cyxb2022483](https://doi.org/10.11686/cyxb2022483).
- [16] 郭龙欣, 杨永胜, 张秀娟, 等. 三江源高寒草甸土壤化学计量特征及酶活性对不同退化程度的响应[J]. *冰川冻土*, 2023, **45**(5): 1640–1651. GUO Longxin, YANG Yongsheng, ZHANG Xiujuan, *et al.* Responses of soil stoichiometries and enzyme activities to Alpine meadow degradation in the headwaters of Three Rivers [J]. *Journal of Glaciology and Geocryology*, 2023, **45**(5): 1640–1651. DOI: [10.7522/j.issn.1000-0240.2023.0125](https://doi.org/10.7522/j.issn.1000-0240.2023.0125).
- [17] 尹亚丽. 三江源区退化高寒草甸土壤-微生物互作研究[D]. 西宁: 青海大学, 2020. DOI: [10.27740/d.cnki.gqhdx.2020.000008](https://doi.org/10.27740/d.cnki.gqhdx.2020.000008). YIN Yali. *Study on Soil-microorganism Iteration in Degraded Alpine Meadow at the Three-river Source Region*[D]. Xining: Qinghai University, 2020.
- [18] YANG Qiang, ZHANG Aihua, MIAO Jianhua, *et al.* Metabolomics biotechnology, applications, and future trends: a systematic review [J]. *RSC Advances*, 2019, **9**(64): 37245–37257. DOI: [10.1039/C9RA06697G](https://doi.org/10.1039/C9RA06697G).
- [19] 周恒. 不同海拔高寒草原土壤微生物特征及其适应机制[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2019. DOI: [10.27025/d.cnki.ggsnu.2019.000033](https://doi.org/10.27025/d.cnki.ggsnu.2019.000033). ZHOU Heng. *Characteristics and Adaptation Mechanism of Soil Microbial Communities of Alpine Steppe under Different Altitudes on Qinghai-Tibetan Plateau*[D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2019.
- [20] 周会程, 周恒, 肖海龙, 等. 三江源区不同退化梯度高寒草原土壤重金属含量及其与养分和酶活性的变化特征[J]. *草地学报*, 2020, **28**(3): 784–792. ZHOU Huicheng, ZHOU Heng, XIAO Hailong, *et al.* The variation characteristics of heavy metal content, nutrient and enzyme activity in soil of Alpine steppe with different degradation gradient in the three river-headwaters region [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, **28**(3): 784–792. DOI: [10.11733/j.issn.1007-0435.2020.03.024](https://doi.org/10.11733/j.issn.1007-0435.2020.03.024).
- [21] 白炜, 牟国旭, 马群, 等. 高寒沼泽草甸根际土壤代谢物特征及酶活性对模拟增温的响应[J/OL]. *环境科学*, 2025: 1–18. (2025-04-10). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=HJKZ20250409002&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>. BAI Wei, MU Guoxu, MA Qun, *et al.* Responses of rhizosphere soil metabolite and enzyme activities characteristics to simulated warming in Alpine swamp meadow[J/OL]. *Environmental Science*, 2025: 1–18. (2025-04-10). <https://kns.cnki.net/KCMS/detail/detail.aspx?filename=HJKZ20250409002&dbname=CJFD&dbcode=CJFQ>.
- [22] YAO Shi, BIAN Yongrong, JIANG Xin, *et al.* Characterization of dissolved organic matter distribution in forestland and farmland of mollisol based on untargeted metabolomics [J]. *Soil Ecology Letters*, 2023, **5**(4): 230179. DOI: [10.1007/s42832-023-0179-1](https://doi.org/10.1007/s42832-023-0179-1).
- [23] WITHERS E, HILL P W, CHADWICK D R, *et al.* Use of untargeted metabolomics for assessing soil quality and microbial function [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, **143**: 107758. DOI: [10.1016/j.soilbio.2020.107758](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2020.107758).
- [24] 张小芳, 张春平, 董全民, 等. 混播和单播栽培草地根际土壤代谢物和细菌群落结构的差异[J]. *应用与环境生物学报*, 2025, **31**(6): 939–951. ZHANG Xiaofang, ZHANG Chunping, DONG Quanmin, *et al.* Differences in rhizosphere soil metabolites and bacterial community structure between mixed cropping and monocropping cultivated grasslands [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2025, **31**(6): 939–951. DOI: [10.19675/j.cnki.1006-687x.2024.05014](https://doi.org/10.19675/j.cnki.1006-687x.2024.05014).
- [25] 程锦春, 戴璐, 王丽红, 等. 基于非靶向代谢组学分析 3 种青藏高原药用植物根际土壤代谢产物特征[J]. *中草药*, 2024, **55**(8): 2734–2745. CHENG Jinchun, DAI Lu, WANG Lihong, *et al.* Analysis of metabolite characteristics of rhizosphere soils of three medicinal plants on Qinghai Tibet Plateau based on non-targeted metabolomics [J]. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2024, **55**(8): 2734–2745. DOI: [10.7501/j.issn.0253-2670.2024.08.022](https://doi.org/10.7501/j.issn.0253-2670.2024.08.022).
- [26] PAN Yao, YIN Yunhe. Spatial and temporal evolution characteristics of water conservation in the three-rivers headwater region and the driving factors over the past 30 years [J]. *Atmosphere*, 2023, **14**(9): 1453. DOI: [10.3390/atmos14091453](https://doi.org/10.3390/atmos14091453).
- [27] JIN Hui, GUO Hongru, YANG Xiaoyan, *et al.* Effect of allelochemicals, soil enzyme activity and environmental factors from *Stellera chamaejasme* L. on rhizosphere bacterial communities in the northern Tibetan Plateau [J]. *Archives of Agronomy and Soil Science*, 2022, **68**(4): 547–560. DOI: [10.1080/03650340.2020.1852549](https://doi.org/10.1080/03650340.2020.1852549).
- [28] 钱虹宇, 陈子彦, 冯小轩, 等. 不同退化程度高寒草甸土壤可溶性有机质含量及光谱特征[J]. *草地学报*, 2024, **32**(12): 3715–3721. QIAN Hongyu, CHEN Ziyang, FENG Xiaoxuan, *et al.* Content and spectral characteristics of soil dissolved organic matter in Alpine meadows with different degradation degrees [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2024, **32**(12): 3715–3721. DOI: [10.11733/j.issn.1007-0435.2024.12.007](https://doi.org/10.11733/j.issn.1007-0435.2024.12.007).
- [29] 景媛媛, 徐长林, 鱼小军. 牦牛放牧活动范围对高寒草甸冷季牧场植被群落结构和土壤理化性质的影响[J]. *草原与草*

- 坪, 2024, **44**(4): 54–63. JING Yuanyuan, XU Changlin, YU Xiaojun. The effect of grazing yak's activity range on vegetation community structure and soil physicochemical characteristics in cold season pasture of Alpine meadow [J]. *Grassland and Turf*, 2024, **44**(4): 54–63. DOI: [10.13817/j.cnki.cycyp.2024.04.007](https://doi.org/10.13817/j.cnki.cycyp.2024.04.007).
- [30] FRAGA C G, CLOWERS B H, MOORE R J, *et al.* Signature-discovery approach for sample matching of a nerve-agent precursor using liquid chromatography-mass spectrometry, XCMS, and chemometrics [J]. *Analytical Chemistry*, 2010, **82**(10): 4165–4173. DOI: [10.1021/ac1003568](https://doi.org/10.1021/ac1003568).
- [31] WEN Bo, MEI Zhanlong, ZENG Chunwei, *et al.* metaX: a flexible and comprehensive software for processing metabolomics data [J]. *BMC Bioinformatics*, 2017, **18**(1): 183. DOI: [10.1186/s12859-017-1579-y](https://doi.org/10.1186/s12859-017-1579-y).
- [32] KING A M, MULLIN L G, WILSON I D, *et al.* Development of a rapid profiling method for the analysis of polar analytes in urine using HILIC-MS and ion mobility enabled HILIC-MS [J]. *Metabolomics*, 2019, **15**(2): 17. DOI: [10.1007/s11306-019-1474-9](https://doi.org/10.1007/s11306-019-1474-9).
- [33] BERTOLA M, FERRARINI A, VISIOLI G. Improvement of soil microbial diversity through sustainable agricultural practices and its evaluation by-omics approaches: a perspective for the environment, food quality and human safety [J]. *Microorganisms*, 2021, **9**(7): 1400. DOI: [10.3390/microorganisms9071400](https://doi.org/10.3390/microorganisms9071400).
- [34] PENG Yunfeng, CHEN H Y H, YANG Yuanhe. Global pattern and drivers of nitrogen saturation threshold of grassland productivity [J]. *Functional Ecology*, 2020, **34**(9): 1979–1990. DOI: [10.1111/1365-2435.13622](https://doi.org/10.1111/1365-2435.13622).
- [35] DUAN Mingzheng, LU Meiling, LU Jia, *et al.* Soil chemical properties, metabolome, and metabarcoding give the new insights into the soil transforming process of fairy ring fungi *Leucocolocybe mongolica* [J]. *Journal of Fungi*, 2022, **8**(7): 680. DOI: [10.3390/jof8070680](https://doi.org/10.3390/jof8070680).
- [36] 张凤, 陈伟. 代谢组学在植物逆境生物学中的研究进展 [J]. *生物技术通报*, 2021, **37**(8): 1–11. ZHANG Feng, CHEN Wei. Research progress of metabolomics in plant stress biology [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2021, **37**(8): 1–11. DOI: [10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2021-0861](https://doi.org/10.13560/j.cnki.biotech.bull.1985.2021-0861).
- [37] 贾甜华. 三江源区退化高寒草地毒杂草植物根际微生物与根系分泌物的变化及相关性分析 [D]. 兰州: 兰州大学, 2019. JIA Tianhua. *Changes and Correlation of Poisonous Weed Plant's Rhizosphere Microbes and Root Exudates of Degraded Alpine Grassland in Three-River Source Region, Tibetan Plateau* [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2019.
- [38] SALCEDO-VITE K, SIGALA J C, SEGURA D, *et al.* *Acinetobacter baylyi* ADP1 growth performance and lipid accumulation on different carbon sources [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2019, **103**(15): 6217–6229.
- [39] 叶扬, 向贵琴, 闵伟, 等. 咸水灌溉下生物炭对棉田土壤代谢标志物的影响 [J]. *西南农业学报*, 2024, **37**(6): 1141–1149. YE Yang, XIANG Guiqin, MIN Wei, *et al.* Effect of biochar on soil metabolic markers in cotton fields under saline irrigation [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2024, **37**(6): 1141–1149. DOI: [10.16213/j.cnki.scjas.2024.6.001](https://doi.org/10.16213/j.cnki.scjas.2024.6.001).
- [40] 蔡凯. 水稻土代谢物与微生物群落对时间序列的响应及其分析方法研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2023. CAI Kai. *Study on Responses of Metabolites and Microbial Communities in Paddy Soil Chronosequence and Their Analysis Methods* [D]. Chongqing: Southwest University, 2023. DOI: [10.27684/d.cnki.gxndx.2023.003717](https://doi.org/10.27684/d.cnki.gxndx.2023.003717).
- [41] 徐琳. 祁连山箭叶锦鸡儿及黄花棘豆根瘤内生细菌多样性与系统发育研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013. XU Lin. *Diversity and Phylogeny of Endophytes Isolated from Nodules of Casragana jubata and Oxytropis ochrocephala in Qilian Mountains* [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2013.
- [42] 洪志锋, 张旒晨, 阿丹, 等. 共代谢作用下芦苇根际细菌多样性与群落组成 [J]. *中国环境科学*, 2022, **42**(4): 1812–1818. HONG Zhifeng, ZHANG Nichen, A Dan, *et al.* Bacterial diversity and community composition in the *Phragmites australis* rhizosphere by cometabolism [J]. *China Environmental Science*, 2022, **42**(4): 1812–1818. DOI: [10.19674/j.cnki.issn1000-6923.2022.0092](https://doi.org/10.19674/j.cnki.issn1000-6923.2022.0092).
- [43] BROWN R W, CHADWICK D R, BENDING G D, *et al.* Nutrient (C, N and P) enrichment induces significant changes in the soil metabolite profile and microbial carbon partitioning [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, **172**: 108779. DOI: [10.1016/j.soilbio.2022.108779](https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2022.108779).
- [44] 印容, 高慧娟, 赵秀云. 球毛壳菌及其产生的鞘氨醇对油菜根肿病的室内生防作用 [J]. *华中农业大学学报*, 2016, **35**(5): 58–62. YIN Rong, GAO Huijuan, ZHAO Xiuyun. Biocontrol effect of *Chaetomium globosum* and sphingosine on *Plasmodiophora brassicae* [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2016, **35**(5): 58–62. DOI: [10.13300/j.cnki](https://doi.org/10.13300/j.cnki).

hnlkxb.2016.05.009.

- [45] 宋承钢. 三种有效预防和脱除黄曲霉毒素 B₁ 的纳米体系构建及其功能研究 [D]. 长春: 吉林大学, 2023. DOI:10.27162/d.cnki.gjlin.2023.007061. SONG Chenggang. *Construction of Three Nanosystems for Effective Prevention and Removal of Aflatoxin B₁ and Their Functional Studies* [D]. Changchun: Jilin University, 2023.
- [46] 梁军. 高寒草甸主要毒杂草和禾草的化感潜力研究 [D]. 西宁: 青海大学, 2020. DOI: 10.27740/d.cnki.gqhdx.2020.000074. LIANG Jun. *Allelopathic Potential of Major Poisonous Weeds and Grasses in Alpine Meadows* [D]. Xining: Qing Hai University, 2020.
- [47] 王雅静, 黄桂荣, 张欣莹, 等. 磷脂酶 Ds 的逆境胁迫响应功能与作用机理研究进展 [J]. 中国农学通报, 2018, 34(36): 31–41. WANG Yajing, HUANG Guirong, ZHANG Xinying, *et al.* Functions and mechanisms of PLDs in adversity stress responses [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2018, 34(36): 31–41.
- [48] 郭素平, 袁燕, 米马玉珍, 等. 干旱胁迫下登木油菜转录组分析 [J]. 分子植物育种, 2024, 22(1): 25–33. GUO Suping, YUAN Yan, MI Mayuzhen, *et al.* Transcriptome analysis of dengmu rape (*Brassica campestris*) under drought stress [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2024, 22(1): 25–33. DOI: 10.13271/j.mpb.022.000025.
- [49] SAUCEDO-GARCÍA M, GONZÁLEZ-SOLÍS A, RODRÍGUEZ-MEJÍA P, *et al.* Sphingolipid long-chain base signaling in compatible and non-compatible plant-pathogen interactions in *Arabidopsis* [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(5): 4384. DOI: 10.3390/ijms24054384.
- [50] SANLI F, KARATAS O F. The roles of ATP-binding cassette transporter A1 and its substrate cholesterol in head and neck cancers [J]. *Cell Biology International*, 2023, 47(7): 1151–1160. DOI: 10.1002/cbin.12016.
- [51] 李晓宇, 彭儒胜, 杨成超, 等. 杨树大径材不同林龄林地土壤理化性质与代谢物结构及功能变化的内在关联 [J]. 西北农业学报, 2025, 34(5): 913–923. LI Xiaoyu, PENG Rusheng, YANG Chengchao, *et al.* Correlation between soil physicochemical properties and metabolite structure and functional changes in poplar plantations of different ages [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2025, 34(5): 913–923. DOI: 10.7606/j.issn.1004-1389.2025.05.015.
- [52] ZHANG Fengge, MENG Xiaohui, YANG Xingming, *et al.* Quantification and role of organic acids in cucumber root exudates in *Trichoderma harzianum* T-E5 colonization [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2014, 83: 250–257. DOI: 10.1016/j.plaphy.2014.08.011.
- [53] VRANOVA V, REJSEK K, FORMANEK P. Aliphatic, cyclic, and aromatic organic acids, vitamins, and carbohydrates in soil: a review [J]. *The Scientific World Journal*, 2013, 2013: 524239. DOI: 10.1155/2013/524239.
- [54] MARSHNER H. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants* [M]. Amsterdam: Elsevier, 2012.
- [55] WANG Min, LIAO Chang, TIAN Qiuxiang, *et al.* Dissolved organic matter characteristics and important site factors in a subtropical mountain forest in Central China [J]. *Forest Science*, 2020, 66(1): 49–57. DOI: 10.1093/forsci/fxz062.