

DOI: 10.5846/stxb202102030358

依再提古丽·外力, 杨建军, 李亚楠, 马媛, 吕杰. 新疆艾比湖胡杨凋落物与裸斑土壤代谢物差异比较. 生态学报, 2023, 43(6): 2357-2367.

Yizaitiguli W L, Yang J J, Li Y N, Ma Y, Lü J. Comparison of soil metabolite differences between litter of *Populus euphratica* and bare spots in Ebinur Lake area, Xinjiang. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(6): 2357-2367.

## 新疆艾比湖胡杨凋落物与裸斑土壤代谢物差异比较

依再提古丽·外力<sup>1,2</sup>, 杨建军<sup>1,2,\*</sup>, 李亚楠<sup>1,2</sup>, 马媛<sup>1,2</sup>, 吕杰<sup>3</sup>

1 新疆大学资源与环境科学学院, 乌鲁木齐 830046

2 绿洲生态重点实验室, 乌鲁木齐 830046

3 新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046

**摘要:** 在干旱区荒漠胡杨疏林中, 胡杨冠下存在草本植物极其稀疏的裸露斑块(简称裸斑)。为研究胡杨冠下裸斑形成化感机理, 以裸斑内、外土壤以及冠下调落物为研究对象, 利用液相色谱-质谱联用技术对不同样本进行代谢组分析, 使用 PLS-DA 鉴定并筛选各组代谢物差异, 筛选出裸斑内、外土壤样本中差异显著的代谢物质及其代谢相关通路。研究结果显示, 土壤样品中共鉴定出总代谢物质 908 种(615 正, 293 负); 凋落物样品中共鉴定出总代谢物质 1291 种(760 正, 531 负)。通过筛选、注释并分类各组间差异显著的代谢物发现曲酸、微囊藻毒素、茶碱、辛酸、花生四烯酸以及反式肉桂酸等化感物质相对定量值均为裸斑内显著大于裸斑外土壤; 儿茶素、咖啡酸、吲哚、棕榈油酸、孜然醛、阿魏酸、反式肉桂酸、花生四烯酸、水杨醇以及香豆素等化感物质相对定量值均为凋落物样中显著大于土壤样品。以上胡杨潜在化感物质的积累可能增强植物的化感效应, 导致胡杨冠下草本植物种子萌发及生长受到限制。

**关键词:** 胡杨; 裸斑; 代谢物质; 化感物质

## Comparison of soil metabolite differences between litter of *Populus euphratica* and bare spots in Ebinur Lake area, Xinjiang

YIZAITIGULI Waili<sup>1,2</sup>, YANG Jianjun<sup>1,2,\*</sup>, LI Yanan<sup>1,2</sup>, MA Yuan<sup>1,2</sup>, LÜ Jie<sup>3</sup>

1 College of Resources and Environmental Science, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

2 Key Laboratory of Oasis Ecology Ministry of Education, Urumqi 830046, China

3 Life Science and Technology College, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

**Abstract:** The herbaceous plants are rare under the crown of the natural *Populus euphratica* stands (referred to as bare spots) in the arid *Populus euphratica* sparse forest area. To study the allelopathic formation mechanism of the bare spots under the *Populus euphratica* canopy, the soil inside and outside the bare spots and the litter under the canopy were used as the research objects in Ebinur Lake. We analyzed metabolomes of different samples using LC-MS technology, used PLS-DA to identify and screen metabolite differences in each group, and screened out significant differences in metabolites and their metabolic pathways in soil samples inside and outside of the bare spots. The results of the study showed that 908 total metabolites (615 positive and 293 negative) were identified in soil samples; a total of 1,291 total metabolites (760 positive and 531 negative) were identified in litter samples. By annotation and classification, it is found that the relatively quantitative values of allelochemicals such as Kojic acid, Microcystin, Theophylline, Suberic acid, Arachidonic acid and Trans-cinnamic acid were significantly higher in the bare spot than that in the soil under the tree canopy; In litter samples the relative quantitative values of allelochemicals such as Catechin, Caffeic acid, Indole, Palmitoleic acid, Cumin

基金项目: 绿洲生态重点实验室开放课题-胡杨冠下草本植物稀疏的机制研究(2020D04003)

收稿日期: 2021-02-03; 网络出版日期: 2022-11-03

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: yjj@xju.edu.cn

aldehyde, Ferulic acid, Trans-cinnamic acid, Arachidonic acid, Salicylic alcohol and Coumarin were significantly higher than that in soil samples. The accumulation of the above potential allelopathic substances in soil under *Populus euphratica* canopy and its litter may enhance the allelopathic effect of plants, leading to restrictions on the germination and growth of herb seeds under the *Populus euphratica* canopy.

**Key Words:** *Populus euphratica*; bare spots; metabolites; allelopathy

林木化感作用最为关键的就是化感物质,化感物质通常为植物的次生代谢产物,影响植物生长、健康以及植物群落结构关系<sup>[1]</sup>。在艾比湖国家级自然保护区胡杨(*Populus euphratica* Oliv.)疏林中,胡杨冠幅下均存在面积大小不一的裸露斑块(以下简称裸斑),其斑块内存在草本植物极其稀疏的现象(图1)。目前对胡杨冠下裸斑形成原因多从冠下土壤的养分<sup>[2-3]</sup>、水分<sup>[4]</sup>、盐分<sup>[5]</sup>及冠下光照<sup>[6]</sup>角度分析,而对冠下土壤中是否存在化感物质以及其作用机制了解缺乏,未见相关报道。

目前已报道有关化感物质研究中,化感物质几乎都是通过自然途径(淋溶、挥发、残体分解和根系分泌)进入环境并发挥作用<sup>[7]</sup>,且大致可归为14类<sup>[8]</sup>。肖忠湘<sup>[9]</sup>采用高效液相色谱-质谱联用仪(HPLC-MS/MS)分析两组水稻秸秆,分别检出86种和74种代谢组分并确认化感水稻含更丰富的酚酸类、黄酮类、苯甲酸及其衍生物等芳香族类化合物,其分子结构上的酚羟基具有一定的生物毒性。李金金<sup>[10]</sup>利用超高效液相色谱质谱联用仪(UPLC-MS)鉴定巨桉人工林凋落叶、根系和根际土壤中水溶酚类物质共17种,其中酚酸类物质7种,黄酮类物质10种。张国斌<sup>[11]</sup>结合对辣椒种子化感作用的生物测定结果,借助气相色谱-质谱联用仪(GC-MS)分析方法明确了化感优势组分的化感物质。当前有关化感物质的研究主要集中于农作物与经济效益高的林木根系次生代谢物质的分析,而针对干旱区荒漠植物胡杨化感物质报道较少,仅见胡杨根际土化感物质的鉴定研究<sup>[12]</sup>,并无深入分析研究。已发表研究结果对胡杨凋落物所含次生代谢物质,冠下裸斑内、外土壤积累的代谢物组分及其具有显著性差异的代谢物尚缺乏全面分析研究。因此无法继续深入研究胡杨化感物质作用机理和裸斑形成机制。

干旱区植物群落裸斑的发育往往会导致土地荒漠化,裸斑指数已被视为主要的沙漠化预警指征<sup>[13]</sup>。因此,以艾比湖胡杨林为研究对象,通过研究胡杨冠下裸斑内、外土壤及凋落物所含的代谢物质组成,并分析其中具有显著性差异代谢物种类与其所属的化感物质类型,探讨化感物质是否会抑制草本植物种子的萌发,从而揭示艾比湖胡杨冠下裸斑形成机制。研究结果对于指导干旱区荒漠化防治工作具有重要的理论与实践意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

研究区位于新疆维吾尔自治区准噶尔盆地的西南部艾比湖国家级自然保护区,博尔塔拉蒙古自治州境内(82°36'—83°50'E,44°37'—45°15'N),该地地处亚欧大陆腹地,西、北、南三面环山,中间是博尔塔拉谷地平原,东部为尾间艾比湖,整体上与准噶尔盆地连为一体<sup>[14]</sup>。多年平均降水量为90—500 mm之间,多集中在4月至7月,全年8级以上大风数多达165 d,最大风速可达55 m/s;年均气温6.6—7.8℃,干旱少雨,太阳辐射强,蒸发量是降水量的16倍,属于典型的温带大陆性干旱气候。研究区的生物种类繁多,主要植物种类有胡杨(*Populus euphratica*)、梭梭(*Haloxylon ammodendron*)、芨芨草(*Achnatherum splendens*)、芦苇(*Phragmites australis*)、怪柳(*Tamarix chinensis*)、铃铛刺群系(*Halimodendron halodendron*)等<sup>[15]</sup>。

### 1.2 研究方法

#### 1.2.1 样品采集

2020年9月,在研究区内分别选取形态特征相近、长势良好且健康的三株胡杨进行样品采集。去除土壤

表面的覆盖物后再按照五点法在三株不同胡杨冠下裸斑内、外均采集相同质量的表层土壤(0—20 cm)样品,同时采集胡杨凋落物样品各 6 个重复。充分混合裸斑内、外土壤样本,并进行分装,每份 3—5 g,置于冰盒并迅速运回实验室,转移至-80℃冰箱保存,用于土壤代谢物鉴定。样点实景图与采样示意图如图 1 所示。

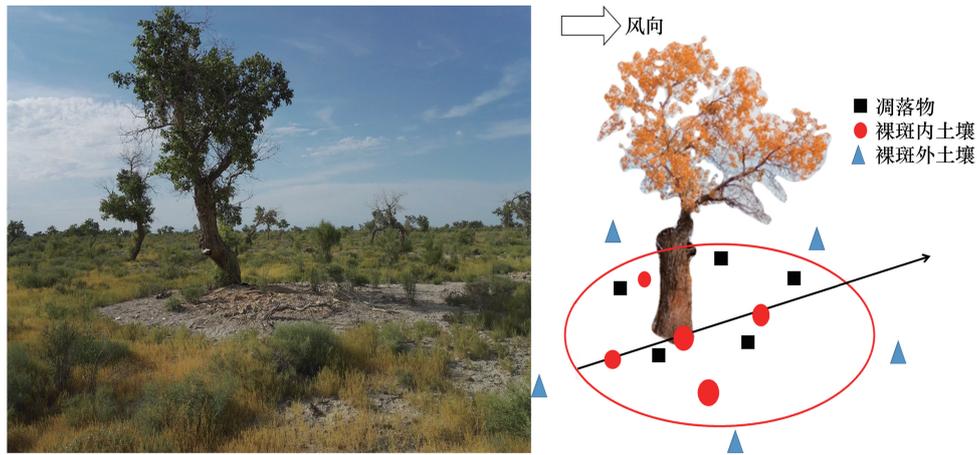


图 1 裸斑实景图与采样示意图

Fig.1 Bare spot and sampling diagram

### 1.2.2 利用 LC-MS 进行代谢物的提取与鉴定

实验样品逐步升温融化后,称取 100 mg 样品用液氮研磨并置于 EP 管中,加入 500  $\mu$ L 的 80% 甲醇,涡旋震荡,冰浴静置 5 min,15000 rpm,4℃ 离心 20 min。取一定量的上清液加质谱级水稀释至甲醇含量为 53%,15000 rpm,4℃ 离心 20 min,收集上清液,进行 LC-MS(液相色谱-质谱联用仪)检测分析。色谱条件如表 1 所示,质谱条件扫描范围选择  $m/z$  100—1500,ESI 源的设置设置为 Spray Voltage:3.2kV;Sheath gas flow rate:40arb; Aux Gasflow rate:10arb;Capillary Temp:320℃;Polarity: positive; negative;MS/MS 二级扫描为 data-dependent scans。检测结束后将下机数据文件导入 CD 搜库软件中,进行保留时间、质荷比等参数筛选,然后对不同样进行峰对齐,使鉴定更准确,随后根据设置的质量偏差、信号强度偏差、信噪比、最小信号强度、加和离子等信息进行峰提取,同时对峰面积进行定量,再整合目标离子,然后通过分子离子峰和碎片离子进行分子式的预测并与 mzCloud、mzVault 和 Masslist 数据库进行比对,用空白样本去除背景离子并对定量结果进行归一化,最后得到数据鉴定和定量结果。

表 1 色谱条件

Table 1 Chromatographic conditions

色谱柱 Column	柱温度 Temperature	流速 Flow rate	正模式 Positive mode		负模式 Negative mode	
HypesilGoldcolumn(C18)	40℃	0.2 mL/min	流动相 A	0.1%甲酸	流动相 A	醋酸铵,pH9.0
			流动相 B	甲醇	流动相 B	甲醇

### 1.2.3 数据质控

代谢组具有易受外界因素干扰且变化迅速的特点,因此,数据质量控制(Quality Control, QC)是获得稳定性和准确性的代谢组结果的必要步骤。QC 样本是由实验样本等体积混合制成,在实验样本 LC-MS/MS 进样前、进样中和进样后上机检测。进样前的 QC 用于监测进样前仪器状态及平衡色谱-质谱系统,样本检测中间插入的 QC 用于评价整个实验过程中系统稳定性并进行数据质控分析,样本检测结束后的 3 个 QC 进行分段扫描,连同实验样本得到的二级谱图用于代谢物的定性。

## 1.2.4 数据统计分析

采用偏最小二乘回归分析法 (PLS-DA, Partial least squares discrimination analysis) 得到的变量权重值 (VIP) > 1, 并结合 *T* 检验的 *P* 值 < 0.05 以及差异倍数 (FC, Fold Change) 小于 0.5 并大于 2 的区间来筛选差异表达代谢物, 利用 Excel 进行数据分析, 在 Python 3.5.0、R 3.4.3 中完成图片处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 代谢物鉴定和生物信息学分析

#### 2.1.1 代谢物鉴定

使用 LC-MS 检测后获得正、负离子两种模式代谢物原始数据, 土壤样品中共鉴定出 908 种代谢物质, 正离子模式下为 615 种, 负离子模式下共鉴定出 293 种; 凋落物样品中共鉴定出 1291 种代谢物质, 正离子模式下为 760 种, 负离子模式下共鉴定出 531 种, 不同样本总离子流图如图 2 所示。

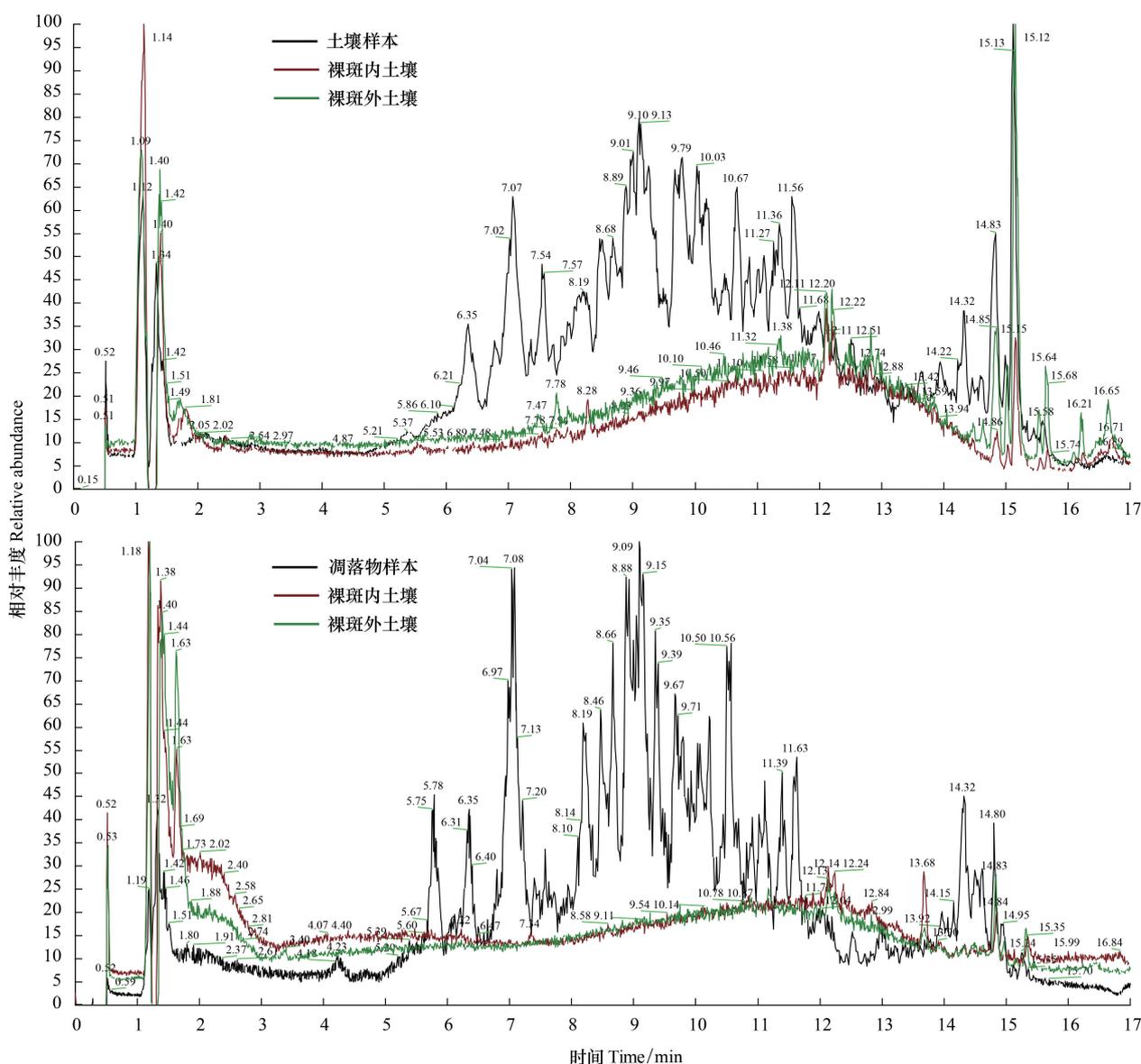


图 2 冠下裸斑内外土壤样本及凋落物样本 LC-MS 总离子流重叠图

Fig.2 Overlay of LC-MS total ion current of litter samples and inside and outside soil samples of the bare spot under the canopy

### 2.1.2 总代谢物质注释及化合物类型

通过 KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes) 通路分析库注释土壤样本代谢物, 获得注释代谢物为 274 种(160 正, 114 负); 通过 HMDB (Human Metabolome Database) 分类注释, 获得土壤样本总代谢物为 383 种(227 正, 156 负); 再通过 LIPID MAPS (Lipid Metabolites and pathways strategy) 分类注释, 注释到土壤样本总代谢物 115 种(50 正, 65 负)。凋落物样本总代谢物的注释结果显示, 通过 KEGG 通路分析注释到的总代谢物为 435 种(233 正, 202 负), 通过 HMDB 数据库分类注释, 获得总代谢物为 490 种(280 正, 210 负), 通过 LIPID MAPS 数据库分类注释, 注释到了总代谢物 204 种(104 正, 100 负)。

对 HMDB 数据库注释的总代谢物质进行分类, 结果如图 3 所示。土壤样本包括 9 类物质, 分别是苯丙烷和聚酮化合物、苯甲酸盐、核苷、核苷酸和类似物、有机化合物、有机氮化合物、有机酸及其衍生物、有机氧化合物、有机杂环化合物、脂质和类脂质分子。凋落物样本包括 12 类物质, 与土壤样本相比多木质素及相关化合物、生物碱及其衍生物与有机硫化物 3 类物质。

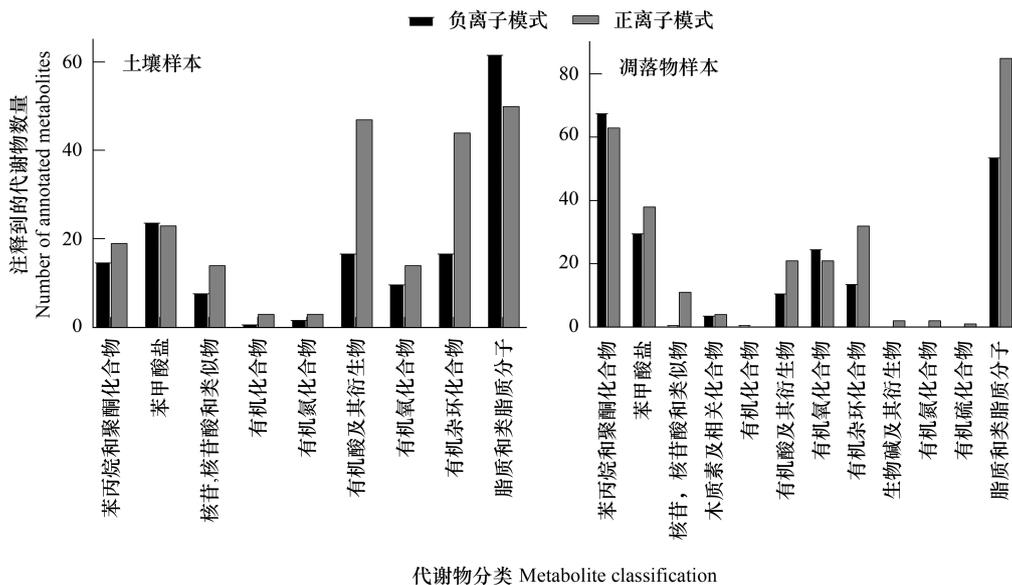


图 3 HMDB 注释总代谢物分类

Fig.3 HMDB annotation of total metabolite classification

## 2.2 差异代谢物

### 2.2.1 代谢物偏最小二乘判别分析

将不同样本中的代谢产物进行 PLS-DA 分析, 分析结果如图 4 所示, 在 LC-MS 的正离子模式下, 三组样品第一主成分(PC1) 占总变异的 63.29%, 第二主成分(PC2) 占总变异的 21.96%; 得分图显示大部分数据位于 95% 的置信区域内, 冠下裸斑内、外、凋落物组之间的识别样品明显分离, 解释了总方差的 85.25%。在 LC-MS 的负离子模式下, 三组样品第一主成分(PC1) 占总变异的 63.63%, 第二主成分(PC2) 占总变异的 19.85%; 得分图显示大部分数据位于 95% 的置信区域内 (Hotelling T2 椭圆), 冠下裸斑内、外、凋落物之间的识别样品明显分离, 解释了总方差的 83.48%。分析结果显示裸斑内外土壤样本中代谢物种类具有显著性差异, 且不同胡杨裸斑内土壤所积累的代谢物种类较为相似。

按照 VIP 值大于等于 1、FC 值大于 2 或小于 0.5 并且  $T$  检验  $P$  值小于 0.05 为差异显著性水平, 在裸斑内与裸斑外组共筛选出来了 316 种差异代谢物质(203 正, 113 负)。其中, 上调 134 种(91 正, 43 负), 下调 182 (112 正, 70 负)。裸斑内与凋落物组共筛选出来了 137 种差异代谢物质(95 正, 42 负), 其中上调 42 种(30 正, 10 负), 下调 95 (63 正, 32 负)。裸斑外与凋落物组共筛选出来了 134 种差异代谢物质(98 正, 36 负), 其

中上调 43 种(31 正,12 负),下调 91(67 正,24 负)。

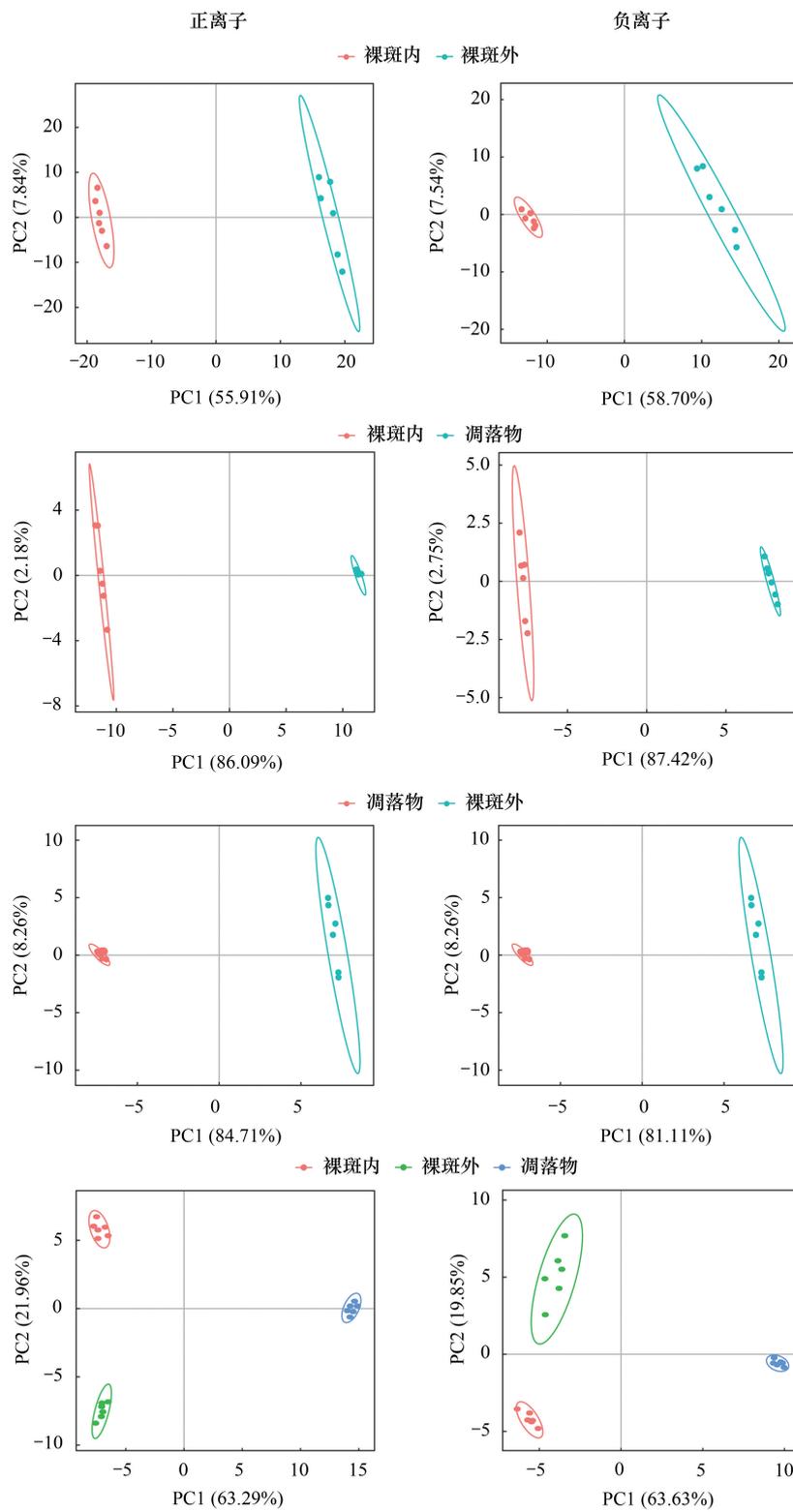


图4 PLS-DA 得分图

Fig.4 PLS-DA score plot

### 2.2.2 裸斑内外土壤差异代谢物注释及分类

利用 KEGG 数据库网站对裸斑内土壤显著多于裸斑外土壤的所有差异代谢物进行了注释与化学分类,鉴定到差异代谢物为 34 种(表 2)。大部分被注释的代谢物质化合物类型属于 USP 药物分类、ATC(Anatomical Therapeutic Chemical)分类,即解剖学治疗学及化学分类系统以及日本非处方药风险类别。仅有 7 种差异代谢物质的化学分类结果显示为植物化学化合物,KEGG.ID 分别为 C06539、C07130、C09665、C03758、C10858、C00483 以及 C00423。其中 alpha-法尼烯属于倍半萜类化合物(C15)植物化学化合物,此化合物已被众多试验证实与苹果贮藏中的生理病害虎皮病的发生有关<sup>[16-17]</sup>。此外,裸斑内土壤所含相对定量值显著高于裸斑外土壤的代谢物质有曲酸<sup>[18]</sup>、微囊藻毒素<sup>[19]</sup>、茶碱<sup>[20]</sup>、辛二酸<sup>[21]</sup>、花生四烯酸<sup>[22]</sup>以及反式肉桂酸<sup>[23-24]</sup>均已被视为具有化感作用。

表 2 KEGG 注释的裸斑内显著高于裸斑外土壤的代谢物

Table 2 Significantly higher metabolites in the bare spot than outside of the bare spot

序号 No.	化合物名称 Compound name	KEGG 号 KEGG.ID	FC	P	VIP
1	生物素 Biotin	C00120	13.68	<0.05	1.30
2	曲酸 Kojic acid	C14516	9.27	<0.05	1.31
3	D-蔗糖 D-Threose	C06463	8.91	<0.05	1.31
4	球菌素、微囊藻毒素 Nodularin	C15713	8.75	<0.05	1.28
5	鹅去氧胆酸 Chenodeoxycholic Acid	C02528	6.47	<0.05	1.23
6	利血平 Reserpine	C06539	5.77	<0.05	1.25
7	截短侧耳素 Pleuromutilin	C09169	4.71	<0.05	1.32
8	甲基咪唑乙酸 Methylimidazoleacetic acid	C05828	3.56	<0.05	1.30
9	L-同型半胱氨酸 L-Homocystine	C01817	3.54	<0.05	1.17
10	苯乙醇胺 Phenylethanolamine	C02735	3.32	<0.05	1.31
11	茶碱 Theophylline	C07130	3.03	<0.05	1.28
12	去氧可酮 Desoxycortone	C03205	2.99	<0.05	1.27
13	N-乙酰-D-色氨酸 N-Acetyl-D-tryptophan	C03137	2.97	<0.05	1.31
14	粪臭素 Skatole	C08313	2.86	<0.05	1.28
15	辛二酸 Octanedioic acid	C08278	2.86	<0.05	1.15
16	alpha-法尼烯 alpha-Farnesene	C09665	2.86	<0.05	1.25
17	花生四烯酸 Arachidonic acid	C00219	2.85	<0.05	1.29
18	脱氧胆酸 Deoxycholic acid	C04483	2.76	<0.05	1.22
19	甘氨酸-L-亮氨酸 Glycyl-L-leucine	C02155	2.71	<0.05	1.23
20	L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	C00079	2.69	<0.05	1.25
21	多巴胺 Dopamine	C03758	2.64	<0.05	1.28
22	甜菜碱 Betaine	C00719	2.60	<0.05	1.29
23	邻甲苯甲酸 o-Toluic Acid	C07215	2.45	<0.05	1.08
24	芽子碱 Ecgonine	C10858	2.43	<0.05	1.14
25	十一酸 Undecanoic acid	C17715	2.42	<0.05	1.05
26	吡哆醇 Pyridoxine	C00314	2.36	<0.05	1.31
27	酪胺 Tyramine	C00483	2.28	<0.05	1.31
28	1-甲基组氨酸 1-Methylhistidine	C01152	2.24	<0.05	1.28
29	1-甲基腺苷 1-Methyladenosine	C02494	2.23	<0.05	1.20
30	反式肉桂酸 trans-Cinnamic acid	C00423	2.18	<0.05	1.25
31	桔霉素 Citrinin	C16765	2.18	<0.05	1.29
32	斑蝥素 Cantharidin	C16778	2.15	<0.05	1.13
33	漆树酸 Anacardic acid	C10759	2.08	<0.05	1.25
34	乙醇石胆酸 Glycolithocholic acid	C15557	2.06	<0.05	1.08

FC:差异倍数 Fold change; VIP:变量权重值 Variable importance of projection

### 2.2.3 胡杨凋落物与裸斑内土壤差异代谢物注释及分类

为了推测胡杨冠下形成裸斑的化感物质,裸斑内外土壤所含代谢物质均与胡杨凋落物所含代谢物质进行了差异代谢物质的筛选、注释并化学分类。对组内差异代谢物进行筛选后,再利用 KEGG 数据库注释,获得凋落物所含代谢物质显著高于裸斑内土壤所含的代谢物的分析结果(表 3)。注释结果显示凋落物与裸斑内差异代谢物之间的差异化感物质类型有 23 种,组间差异倍数均小于 1583.75。KEGG 数据库化学分类结果显示差异代谢物均属于示雌三醇(G03CC06)-ATC 分类、苯丙烷和相关化合物-植物化学化合物、三萜类化合物(C30)和相关化合物-植物化学化合物、萜类化合物-植物化学化合物类型。其中儿茶素<sup>[25-26]</sup>、咖啡酸<sup>[27-28]</sup>、吲哚<sup>[29]</sup>以及棕榈油酸<sup>[30]</sup>被认为具有化感作用。

表 3 KEGG 注释的凋落物显著高于裸斑内土壤所含的代谢物

Table 3 Significantly higher metabolites in the litter than bare spot soil

序号 No.	化合物名称 Compound name	KEGG 号 KEGG.ID	FC	P	VIP
1	木犀草素 Luteolin	C01514	1583.75	<0.05	1.13
2	棕榈油酸 Palmitoleic Acid	C08362	882.06	<0.05	1.21
3	犬尿酸 Kynurenic acid	C01717	79.70	<0.05	1.21
4	2-羟基苯甲醇 2-Hydroxybenzyl alcohol	C02323	75.09	<0.05	1.08
5	黄尿酸 Xanthurenic acid	C02470	60.75	<0.05	1.34
6	雌三醇 Estriol	C05141	47.81	<0.05	1.30
7	薯蓣素 Diosmetin	C10038	47.28	<0.05	1.26
8	癸二酸 Sebacic acid	C08277	22.80	<0.05	1.19
9	吲哚 Indole	C00463	20.63	<0.05	1.16
10	$\alpha$ -桐酸 $\alpha$ -Eleostearic acid	C08315	18.91	<0.05	1.15
11	染料木黄酮 Genistein	C09126	14.63	<0.05	1.33
12	2-异丙基苹果酸 2-Isopropylmalic acid	C02504	12.87	<0.05	1.28
13	异喹啉 Isoquinoline	C06323	10.12	<0.05	1.19
14	芒柄花素 Formononetin	C00858	8.06	<0.05	1.23
15	白芍苷 albiflorin	C17457	7.37	<0.05	1.20
16	咖啡酸 Caffeic acid	C01197	6.90	<0.05	1.10
17	夹竹桃麻素 Apocynin	C11380	4.88	<0.05	1.10
18	13(S)-热 13(S)-HOTrE	C16316	4.09	<0.05	1.21
19	十五烷酸 Pentadecanoic acid	C16537	3.89	<0.05	1.26
20	薯蓣皂苷元 Diosgenin	C08898	2.85	<0.05	1.15
21	6-羟基褪黑激素 6-Hydroxymelatonin	C05643	2.61	<0.05	1.07
22	淫羊藿苷 Icaritin	C17555	2.60	<0.05	1.10
23	儿茶素 Catechin	C17590	2.24	<0.05	1.01

### 2.2.4 胡杨凋落物与裸斑外土壤差异代谢物注释及分类

KEGG 注释、分类裸斑外土壤显著小于凋落物所含代谢物质结果见表 4。总共 26 类代谢物质差异倍数均大于 2,凋落物所含木犀草素、棕榈油酸、水杨醇相对定量值显著高于裸斑外土壤且差异倍数分别为 2242.47、656.92 以及 147.39。其中孜然醛<sup>[31]</sup>、阿魏酸<sup>[20]</sup>、咖啡酸<sup>[27-28]</sup>、反式肉桂酸<sup>[23-24]</sup>、吲哚<sup>[29]</sup>、香豆素<sup>[32-33]</sup>以及棕榈油酸<sup>[30]</sup>、儿茶素<sup>[25]</sup>、花生四烯酸<sup>[22]</sup>、水杨醇<sup>[34]</sup>被认为具有化感作用。

表 4 KEGG 注释的凋落物显著高于裸斑外土壤所含的代谢物

Table 4 Significantly higher metabolites in the bare spot than inside of the bare spot

序号 No.	化合物名称 Compound name	KEGG 号 KEGG.ID	FC	P	VIP
1	木犀草素 Luteolin	C01514	2242.47	<0.05	1.27
2	棕榈油酸 Palmitoleic Acid	C08362	656.92	<0.05	1.16
3	水杨醇 2-Hydroxybenzyl alcohol	C02323	147.39	<0.05	1.29
4	犬尿酸、犬尿喹啉酸、4-羟基喹啉-2-羧酸 Kynurenic acid	C01717	66.55	<0.05	1.16
5	香豆素 Coumarin	C05851	60.65	<0.05	1.25
6	花生四烯酸 Arachidonic acid	C00219	41.01	<0.05	1.33
7	吲哚 Indole	C00463	22.81	<0.05	1.21
8	薯蓣素、香叶木素 Diosmetin	C10038	21.80	<0.05	1.03
9	癸二酸 Sebacic acid	C08277	18.48	<0.05	1.12
10	球菌素 Nodularin	C15713	11.69	<0.05	1.23
11	反式肉桂酸 trans-Cinnamic acid	C00423	11.67	<0.05	1.40
12	$\alpha$ -桐酸 $\alpha$ -Eleostearic acid	C08315	10.43	<0.05	1.09
13	4-甲基苯酚 4-Methylphenol	C01468	10.33	<0.05	1.32
14	咖啡酸 Caffeic acid	C01197	8.02	<0.05	1.25
15	肉桂酸甲酯 Methyl cinnamate	C06358	7.74	<0.05	1.29
16	2-异丙基苹果酸 2-Isopropylmalic acid	C02504	6.53	<0.05	1.02
17	夹竹桃麻素 Apocynin	C11380	5.99	<0.05	1.25
18	茉莉酮 Jasmine	C08490	5.07	<0.05	1.35
19	阿魏酸 Ferulic acid	C01494	4.35	<0.05	1.26
20	十二烷二酸 Dodecanedioic acid	C02678	3.97	<0.05	1.37
21	孜然醛 Cuminaldehyde	C06577	3.58	<0.05	1.17
22	L-苯丙氨酸 L-Phenylalanine	C00079	3.57	<0.05	1.20
23	吡哆醇 Pyridoxine	C00314	3.55	<0.05	1.31
24	N-乙酰-L-亮氨酸 N-Acetyl-L-leucine	C02710	3.54	<0.05	1.15
25	13(S)-热 13(S)-HOTrE	C16316	2.92	<0.05	1.03
26	儿茶素 Catechin	C17590	2.68	<0.05	1.23

### 3 讨论

胡杨冠下裸斑内外的土壤养分<sup>[2-3]</sup>、水分<sup>[4]</sup>、盐分<sup>[5]</sup>、温度、光照<sup>[6]</sup>、微生物数量与种类<sup>[35]</sup>均存在一定的差异。此外现有研究报道土壤盐分影响植物种子传播和萌发<sup>[36]</sup>、土壤水分制约着地上植被生物量和分布<sup>[4]</sup>、胡杨不同组织的浸提液、凋落物对部分农作物及骆驼刺种子萌发有显著影响<sup>[37-38]</sup>，但目前尚无研究明确抑制胡杨冠下草本植物生长的决定因子。在前期调研中发现，胡杨冠下裸斑面积的大小与凋落物的分布范围存在一定的关系，而在其他干旱地区的相关研究也表明凋落物中的化感物质可以抑制草本种子萌发和幼苗生长<sup>[39]</sup>。为此，本研究以荒漠胡杨疏林胡杨冠下裸斑内、外土壤与胡杨凋落物为研究对象，鉴定所有代谢物质，并对裸斑内与外、裸斑内与凋落物以及裸斑外与凋落物三组的差异代谢物及化感物质进行研究，综合各种注释结果，对差异代谢物数据进行了详细分析从而探讨了基于化感物质胡杨冠下裸斑形成的机制。

从检测结果中可以看出，裸斑内土壤所含相对定量值显著高于裸斑外土壤的代谢物质有曲酸<sup>[18]</sup>、微囊藻毒素<sup>[19]</sup>、茶碱<sup>[20]</sup>、辛二酸<sup>[21]</sup>、花生四烯酸<sup>[22]</sup>以及反式肉桂酸<sup>[23-24]</sup>均已被视为具有化感作用。尤其是曲酸(kojic acid)在裸斑内土壤所含的量是裸斑外的 9.27 倍(表二)。邵华<sup>[18]</sup>对新疆外来入侵植物“三剑客”的化感作用研究显示从入侵地土壤中分离鉴定真菌一百余株，而且多种菌株可产生具有生长调节作用的次生代谢产物，从其中一株黄曲霉中分离纯化出具有低促高抑作用的化合物曲酸。其次为微囊藻毒素(Nodularin)作

为化感物质裸斑内外差异倍数显示 8.75。Kurki-Helasma<sup>[19]</sup> 实验证实了微囊藻毒素可以抑制芥菜幼苗生长和蛋白磷酸酶的活性。除此之外,本研究结果(表四)显示,裸斑表层土上的胡杨枯枝落叶(凋落物)所含水杨醇显著高于裸斑外土壤,差异倍数为 147.39。与李啸宇<sup>[34]</sup> 通过 GC-MS 气质联用仪测定 3 种杨树(84K 杨、TC1521 杨、胡杨派的胡杨)根和叶水浸液的化感物质种类,得出胡杨根与叶片含量较高的化合物为水杨醇,相对含量分别为 48.36%与 42.24%较为一致。化感作用是通过适当的途径向环境释放化学物质而实现的,多为次生代谢产物<sup>[40]</sup>。综上所述不仅能推断冠下裸斑内土壤以及胡杨凋落物显著高于裸斑外土壤的潜在化感物质有可能是裸斑内草本植物稀疏的原因,并且此类化感物质可能来自于胡杨凋落物。

由于化感作用通常是由多种化感物质综合作用所导致,本研究仅为验证基于存在现象提出的假设对冠下裸斑内外土壤以及凋落物代谢物进行鉴定,对于低含量的物质及根系分泌物中其它未检测到的物质可能存在的化感作用并未涉及,因此,这些物质间的协同化感作用还有待进一步研究并需要控制实验来验证。

#### 4 结论

本文以胡杨冠下裸斑外土壤为参照,对胡杨冠下裸斑土壤进行了生理代谢研究,得到了其差异表达的代谢物,并对其中化感物质进行了讨论,得到如下主要结论:

(1)冠下土壤代谢物质通过 LC-MS 共鉴定出 908 种代谢物质,分别是苯丙烷和聚酮化合物、苯甲酸盐、核苷、核苷酸和类似物、有机化合物、有机氮化合物、有机酸及其衍生物、有机氧化合物、有机杂环化合物、脂质和类脂质分子。凋落物样本包括 13 类物质,与土壤样本相比多木质素,新木脂素及相关化合物与有机硫化合物。

(2)冠下裸斑内与裸斑外土壤样本 PLS-DA 分析表明,二者的代谢差产物能够被明显区分开,说明冠下裸斑内、外代谢物存在差异。

(3)曲酸、微囊藻毒素、茶碱、辛二酸、花生四烯酸以及反式肉桂酸等化感物质相对定量值均为裸斑内显著大于裸斑外土壤;儿茶素、咖啡酸、吡啶、棕榈油酸、孜然醛、阿魏酸、反式肉桂酸、花生四烯酸、水杨醇以及香豆素等化感物质相对定量值均为凋落物样中显著大于土壤样。

#### 参考文献(References):

- [ 1 ] 钱沉鱼,唐风华,李朝婵,全文选,许塔艳,杨莽安. 林木化感物质研究进展. 西北林学院学报, 2019, 34(3): 79-85.
- [ 2 ] 郭小龙,王明力,赵来朋,杨建军. 干旱区梭梭与胡杨冠下“肥岛”效应. 西南农业学报, 2020, 33(05): 1035-1041.
- [ 3 ] 李君,赵成义,朱宏,王锋. 柽柳(*Tamarix* spp.)和梭梭(*Haloxylon ammodendron*)的“肥岛”效应. 生态学报, 2007, 27(12): 5138-5147.
- [ 4 ] 韩路,王海珍,牛建龙,王家强,柳维扬. 荒漠河岸林胡杨群落特征对地下水水位梯度的响应. 生态学报, 2017, 37(20): 6836-6846.
- [ 5 ] 雷善清,王文娟,王雨辰,陈利俊,吴鑫磊,邓宗文,张天汉,杜志强,李景文. 不同土壤水盐条件下多枝柽柳(*Tamarix ramosissima*)对胡杨(*Populus euphratica*)幼苗的影响. 生态学报, 2020, 40(21): 7638-7647.
- [ 6 ] 马银山,杜国祯,张世挺. 光照强度和肥力变化对垂穗披碱草生长的影响. 生态学报, 2014, 34(14): 3908-3916.
- [ 7 ] Latif S, Geneviève Chiapusio, Weston L A. Allelopathy and the role of allelochemicals in plant defence. *Advances in Botanical Research*, 2017, 82: 19-54.
- [ 8 ] Rice E L. *Allelopathy*. 2nd ed. Orlando: Academic Press, 1984:1-50.
- [ 9 ] 肖忠湘. 水稻化感物质在土壤中的迁移及其与微生物的互作[D]. 杭州:浙江大学, 2020.
- [ 10 ] 李金金. 巨桉(*Eucalyptus grandis*)人工林水溶酚类化感物质鉴定及其对植物的生理生态作用[D]. 雅安:四川农业大学, 2019.
- [ 11 ] 张国斌. 辣椒根系分泌物 GC-MS 分析及自毒作用缓解机理研究[D]. 兰州:甘肃农业大学, 2013.
- [ 12 ] 姜海燕,袁秀英,樊石磊. 胡杨根际土壤化感物质成分分析. 内蒙古农业大学学报(自然科学版), 2011, 32(2): 48-51.
- [ 13 ] 邬建国. 现代生态学讲座. 3, 学科进展与热点论题. 北京:高等教育出版社, 2007.
- [ 14 ] 王瑾杰,丁建丽,张喆. 2008—2014 年新疆艾比湖流域土壤水分时空分布特征. 生态学报, 2019, 39(5): 1784-1794.
- [ 15 ] 何学敏. 艾比湖地区非生长期碳通量监测及响应机制初探[D]. 乌鲁木齐:新疆大学, 2012.
- [ 16 ] 李萌,隋娜,张元湖,孟庆伟. 苹果 AFS 基因的克隆与原核表达. 园艺学报, 2006, 33(1): 122-124.
- [ 17 ] Rowan D D, Allen J M, Fielder S, Spicer J A, Brimble M A. Identification of conjugated triene oxidation products of  $\alpha$ -farnesene in apple

- skin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 1995, 43(8): 2040-2045.
- [18] 邵华. 新疆外来入侵植物“三剑客”的化感作用研究//中国第八届植物化感作用学术研讨会论文摘要集. 南京: 2017: 46.
- [19] Kurki-Helasma K, Meriluoto J. Microcystin uptake inhibits growth and protein phosphatase activity in mustard (*Sinapis alba* L.) seedlings. *Toxicon*, 1998, 36(12): 1921-1926.
- [20] 李文杨, 陈丽文. 阿魏酸和茶碱对山茱萸种子萌发的影响. *湖北林业科技*, 2017, 46(3): 15-17.
- [21] 张奕. 连作大豆化感作用及化感物质种类的鉴定[D]. 长春: 东北师范大学, 2003.
- [22] 高红, 周飞飞, 唐洪杰, 石晓勇, 苏荣国. 黄海绿潮浒苔提取物的化感效应及化感物质的分离鉴定. *海洋学报*, 2018, 40(12): 11-20.
- [23] Yu J Q, Sun Y, Zhang Y, Ding J, Xia X J, Xiao C L, Shi K, Zhou Y H. Selective trans-cinnamic acid uptake impairs  $[Ca^{2+}]_{cyt}$  homeostasis and growth in *Cucumis sativus* L. *Journal of Chemical Ecology*, 2009, 35(12): 1471-1477.
- [24] Chon S. Allelopathy and Quantification of Causative Allelochemicals in Sweet Potato. *Korean Journal of Crop Science*, 2003, 48(5): 402-406.
- [25] 黎舒. 银杏叶和根酚酸物质对桃金娘的化感作用[D]. 福州: 福建农林大学, 2018.
- [26] 杨维东, 张信连, 刘洁生. 酚酸类化感物质对塔玛亚历山大藻生长的影响. *中国环境科学*, 2005, 25(4): 417-419.
- [27] 郭凯, 燕志强, 金辉, 李秀壮, 何小凤, 杨晓燕, 秦波. 肉桂酸和咖啡酸对茛苳生长的化感作用及其机理研究. *西北植物学报*, 2016, 36(1): 93-99.
- [28] 花铭, 陈良燕, 尹大强. 邻苯三酚和咖啡酸对铜绿微囊藻的化感作用及其机理. *环境化学*, 2008, 27(3): 331-334.
- [29] 马红梅, 莫美华, 张耀辉. 红汁乳菇菌丝体醇提物对水稻、稗草的化感作用. *湖南师范大学自然科学学报*, 2010, 33(4): 95-98.
- [30] 张宝. 地黄化感自毒物质时空分布及根区微生物群落结构研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2015.
- [31] Gouda N A A, Saad M M G, Abdelgaleil S A M. PRE and POST Herbicidal Activity of Monoterpenes against Barnyard Grass (*Echinochloa crus-galli*). *Weed Science*, 2016, 64(1): 191-200.
- [32] 邹彩霞, 赵国琦, 刘苏娇, 贡笑笑. 黄花草木樨水浸液中香豆素的含量及其对 7 种植物种子萌发和幼苗生长的影响. *草业科学*, 2014, 31(12): 2262-2269.
- [33] 郭亚丽, 傅海燕, 黄国和, 高攀峰, 柴天, 严滨, 廖欢. 阿魏酸和香豆素对铜绿微囊藻的化感作用. *环境科学*, 2013, 34(4): 1492-1497.
- [34] 李啸宇. 杨树化感效应及水杨苷代谢相关基因研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2019.
- [35] 陈明. 新疆典型荒漠植被立地土壤酶活性及微生物数量研究[D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2008.
- [36] 黄振英, Yitzchak GUTTERMAN, 胡正海, 张新时. 土壤盐分、预湿处理对 *Artemisia monosperma* (菊科) 种子传播和萌发的影响. *生态学报*, 2001, 21(4): 676-680.
- [37] 张青青, 徐海量, 安沙舟, 安红燕, 傅苙仪, 赵新风. 塔里木河下游胡杨对疏叶骆驼刺种子萌发和幼苗生长的影响. *草业科学*, 2014, 31(2): 264-271.
- [38] Sher Z, Hussain F, Ahmad B, Wahab M. Allelopathic Potential of *Populus Euphratica* Olivier. *Pakistan Journal of Botany*, 2011, 43(4): 1899-1903.
- [39] 邓文红, 赵欣蕊, 张俊琦, 郭惠红. 沙蒿 (*Artemisia ordosica*) 水浸提液对 4 种伴生草本植物的化感作用. *生态学报*, 2019, 39(15): 5670-5678.
- [40] 孔垂华. 农林生态系统中的植物化感作用机制及其利用//绿色生态可持续发展与植物保护——中国植物保护学会第十二次全国会员代表大会暨学术年会论文集: 中国农业科学技术出版社, 2017: 22.