



# 减磷配施有机肥对丛枝菌根真菌群落的复杂度和稳定性的短期效应

谢小雨<sup>1,2#</sup>, 刘顺莉<sup>1,2#</sup>, 陈远学<sup>4</sup>, 陈新平<sup>1,2,3</sup>, 郎明<sup>1,2,3\*</sup>

- 1 西南大学资源环境学院 重庆市土肥资源高效利用重点实验室, 重庆 400715
- 2 西南大学长江经济带农业绿色发展研究中心, 重庆 400715
- 3 西南大学农业科学研究院, 重庆 400715
- 4 四川农业大学资源学院, 四川 成都 611130

谢小雨, 刘顺莉, 陈远学, 陈新平, 郎明. 减磷配施有机肥对丛枝菌根真菌群落的复杂度和稳定性的短期效应[J]. 微生物学报, 2023, 63(10): 3793-3810.

XIE Xiaoyu, LIU Shunli, CHEN Yuanxue, CHEN Xinping, LANG Ming. Short-term effects of application of reduced phosphorus fertilizer combined with manure on the community complexity and stability of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(10): 3793-3810.

**摘要:**【目的】探究减磷配施有机肥条件下土壤中丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, AM)真菌群落特性、网络复杂性及群落的稳定性之间的关系, 揭示有机肥替代背景下, 土壤理化性质与 AM 真菌的群落结构对网络特征和群落稳定性的短期效应。【方法】在 2012 年开始的无机磷肥长期定位试验的基础上, 于 2018 年实施减磷配施有机肥裂区试验, 共设 6 个处理: 施无机磷 0、75、150 kg/hm<sup>2</sup>; 无机磷肥施用量减少 30%, 即 0、52.5、105 kg/hm<sup>2</sup>, 并配施有机肥(猪粪) 3 187 kg/hm<sup>2</sup>, 每个处理重复 3 次。通过高通量测序和生物信息学分析, 探究减磷配施有机肥对土壤中 AM 真菌群落的网络特征及稳定性的短期效应。【结果】相比于无机磷施用, 减磷配施有机肥整体上降低了 AM 真菌群落的  $\alpha$  多样性, 各处理中的 AM 真菌优势类群均为球囊霉属(*Glomus*)和类球囊霉属(*Paraglomus*)。网络的平均度、平均加权度在无机磷肥及减磷配施有机肥处理中均在适量施磷下达到最大值, 且无机磷肥处理大于减磷配施有机肥处理; 网络负相关连接线数在无机磷肥处理中

资助项目: 国家自然科学基金(32272800, 32002126); 中央高校基本科研业务费(SWU-KR22010); 国家玉米产业体系(CARS-02)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32272800, 32002126), the Fundamental Research Funds for the Central Universities (SWU-KR22010), and the National Maize Production System in China (CARS-02).

<sup>#</sup>These authors contributed equally to this work.

\*Corresponding author. E-mail: langming@swu.edu.cn

Received: 2023-02-12; Accepted: 2023-04-23; Published online: 2023-06-15

随施磷量增加而增加，而在减磷配施有机肥处理中随施磷量增加而减少。减磷配施有机肥通过抑制 AM 真菌群落间正相互作用来提高负正凝聚力比值，从而促进群落稳定性。相比于 AM 真菌的指示物种(indicator species)和关键类群(keystone taxa)，优势类群(dominant taxa)与 AM 真菌群落的稳定性密切相关。【结论】在酸性紫色土中，短期减磷配施有机肥通过改变土壤 pH、速效磷和有机质，调控 AM 真菌群落的  $\alpha$  多样性和优势类群，进而影响 AM 真菌群落的网络复杂度和群落稳定性。

关键词：丛枝菌根真菌；配施有机肥；群落多样性；网络复杂度；群落稳定性

## Short-term effects of application of reduced phosphorus fertilizer combined with manure on the community complexity and stability of arbuscular mycorrhizal fungi

XIE Xiaoyu<sup>1,2#</sup>, LIU Shunli<sup>1,2#</sup>, CHEN Yuanxue<sup>4</sup>, CHEN Xinping<sup>1,2,3</sup>, LANG Ming<sup>1,2,3\*</sup>

1 Chongqing Key Laboratory of Efficient Utilization of Soil and Fertilizer Resources, College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing 400715, China

2 Interdisciplinary Research Center for Agriculture Green Development in Yangtze River Basin, Southwest University, Chongqing 400715, China

3 Academy of Agricultural Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, China

4 College of Resources, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Sichuan, China

**Abstract: [Objective]** To investigate the community characteristics, network complexity, and community stability of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the soil applied with reduced phosphorus (P) fertilizer combined with manure, and reveal the short-term effects of soil properties on the network characteristics and community stability of AMF community in the context of manure substitution for chemical fertilizers. **[Methods]** On the basis of the long-term inorganic P fertilizer application experiment started in 2012, a split plot experiment was designed with the application of reduced P fertilizer combined with manure and started in 2018. Six treatments were designed: inorganic P supply at 0, 75, and 150 kg/hm<sup>2</sup> and 30% reduction in inorganic P fertilizer (i.e., 0, 52.5, and 105 kg/hm<sup>2</sup>) combined with manure at 3 187 kg/hm<sup>2</sup>, with three replicates for each treatment. High-throughput sequencing and bioinformatics analysis were employed to explore the short-term effects of application of reduced P fertilizer+manure on the network characteristics and stability of the AMF community in soil. **[Results]** The alpha diversity of AMF decreased in the case of application of reduced P fertilizer+manure compared with that in the case of inorganic P fertilization. *Glomus* and *Paraglomus* were the dominant taxa of AMF in each treatment. The average degree and average weighted degree of the network reached the maximums under the appropriate amount of P fertilizer, and were higher in inorganic P treatments than in reduced P fertilizer+manure treatments. The number of negative correlation links in the network increased with the increase in P application in inorganic P treatments and decreased with the increase in P application in reduced P fertilizer+manure treatments. The application of reduced P fertilizer+manure

improved the stability of AMF community by increasing the negative/positive cohesion ratio. Compared with indicator species and keystone taxa, dominant taxa are closely associated with the stability of AMF community. **[Conclusion]** In acid purple soil, short-term application of reduced P fertilizer+manure regulated the alpha diversity and dominant taxa of AMF by changing soil pH, available P, and soil organic matter, thereby affecting the network complexity and stability of AMF community.

**Keywords:** arbuscular mycorrhizal fungi; combined application of manure; community diversity; network complexity; community stability

施用无机肥是保证粮食产量的重要途径,据 2020 年联合国粮农组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)统计,我国单位面积无机肥施用量远高于全球的平均水平。然而,过度且不合理的施用化肥会引起农业土壤质量退化,包括养分的利用率低、土壤水体富营养化<sup>[1]</sup>、土壤酸化<sup>[2]</sup>和微生物多样性降低<sup>[3]</sup>等问题日益严重。有机肥的施用尤其是有机无机配施可通过促进土壤团聚体的形成<sup>[4]</sup>、抑制土壤中的病原物并激活有益微生物群落<sup>[5]</sup>、降低土壤酸化程度、提高土壤有机质含量<sup>[6]</sup>等途径来改善土壤质量,提高土壤肥力,维持农业生态系统的生产力和可持续性。因此,合理配施有机肥是降低肥料投入、提高肥料养分利用率、促进农业可持续发展发展的关键。

丛枝菌根(arbuscular mycorrhiza, AM)真菌是集约化农田系统中广泛存在且与植物形成有益共生关系的微生物类群,且有机无机配施显著影响 AM 真菌群落的多样性和组成。研究发现,在砂姜黑土与老成土中长期施用无机肥均显著降低 AM 真菌群落的  $\alpha$  多样性(Shannon 指数),而配施有机肥对 AM 真菌的  $\alpha$  多样性无显著影响<sup>[7-8]</sup>。在砂质土壤中长期施用无机肥和有机无机配施均显著降低了 AM 真菌群落的  $\alpha$  多样性<sup>[9]</sup>。而江尚焱等<sup>[10]</sup>在砂壤土芒果体系中的研究发现,AM 真菌  $\alpha$  多样性随有机肥替代比例的增加而增加。可见,有机无机配施对 AM 真菌群

落的  $\alpha$  多样性的影响结果不一致。此外,配施有机肥也显著影响 AM 真菌的群落组成<sup>[11-12]</sup>。Qin 等<sup>[13]</sup>对石灰性冲积土的田间试验结果表明,不同施磷量中 AM 真菌群落组成差异显著,在同一施磷水平下随着配施有机肥的增加,优势类群球囊霉属(*Glomus*)相对丰度增加或无明显变化,稀有类群多样孢囊霉属(*Diversispora*)、隔球囊霉属(*Septoglomus*)相对丰度降低。由施肥导致的土壤理化性质变化是驱动 AM 真菌群落组成的重要影响因素,其中土壤速效磷、有机质和 pH 是影响 AM 真菌群落组成的关键土壤理化因素<sup>[11]</sup>。充分理解特定土壤类型有机无机配施对 AM 真菌群落的多样性和组成的影响,对于农业化肥减量增效同时保障作物生长具有重要意义。

微生物群落之间的互作特征可用生态网络表征,相互作用过程中发生的竞争与合作会进一步影响群落的连通性和稳定性,负的相互作用表明微生物间存在生态竞争,微生物群落的“凝聚力”(cohesion)可量化微生物群落的连通性程度。研究发现,在石灰性冲积土、石灰性栗钙土、铁铝始成土的小麦体系中,缺磷处理与施用磷肥相比,细菌、真菌网络的平均度降低,平均路径长度升高,并且长期缺磷降低了细菌-真菌间的正负相互作用,微生物的协同和拮抗作用均降低<sup>[14]</sup>。在黄壤中有机无机配施增强了细菌真菌群落之间网络的复杂性、连通性及群落稳定性<sup>[15]</sup>。一项基于 43 年的长期定位试验结果也表

明,在深色始成土中有机无机配施增加了细菌网络的复杂度和群落稳定性,同时提高了负相关连接线的比例<sup>[16]</sup>。然而,在砂姜黑土上长期(35年)小麦-大豆轮作体系中发现,有机无机配施使AM真菌网络的复杂性和连通性降低,有机无机配施减弱了AM真菌群落相互作用<sup>[7]</sup>。此外,土壤微生物群落中基于网络分析获取的关键类群在维持生态系统稳态中发挥着重要作用,AM真菌的关键类群在有机耕作麦田中维持着较高的网络复杂性与连通性<sup>[17]</sup>;基于物种相对丰度筛选的优势类群已被证明在推动土壤微生物群落地下养分循环、维持微生物网络的复杂性和功能稳定性方面也有着重要的生态作用<sup>[18-19]</sup>。这些优势类群通常具有相似的生态偏好,且与微生物网络复杂的相互作用密切相关,对土壤微生物群落的功能稳定性有重要贡献<sup>[20]</sup>。因此,深入探究特定土壤类型有机无机配施中,AM真菌群落的关键类群和优势类群与生态网络特征及群落稳定性的关系,是理解农田生态系统中施肥措施影响AM真菌群落功能的基础。

本研究以四川雅安长期定位试验点的酸性紫色土为研究对象,基于无机供磷水平处理及减磷配施有机肥处理,探究供磷水平及减磷配施有机肥对土壤AM真菌群落多样性、群落组成(包括优势类群、关键类群和指示物种)、网络特征、连通性及群落的稳定性特征的影响,进一步阐明AM真菌群落与网络连通性、稳定性的关系,为有机肥替代化肥大背景下探究AM真菌群落特征、网络复杂性及群落的稳定性之间的关系,为理解AM真菌的生态系统功能及提升土壤健康提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验地概况及试验设计

试验地点位于四川雅安玉米体系长期定点

定位试验站(29°58′59.1″N, 102°58′56.4″E),该地区属于亚热带季风性湿润气候,降水集中在夏季,平均年降水量为1 732 mm。该长期定位试验自2012年开始实施,土壤类型为紫色湿润雏形土。2018年试验前土壤(0–20 cm)基本理化性质为:pH 6.14,有机质(soil organic matter, SOM)含量32.33 g/kg,全氮(total nitrogen, TN)含量1.13 g/kg,速效磷(available phosphorus, AP)含量9.49 mg/kg,速效钾(available potassium, AK)含量123.16 mg/kg。本研究以春玉米为材料,供试品种为“仲玉三号”,供试肥料为碳铵(N, 17%)、过磷酸钙(P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 12%)、氯化钾(K<sub>2</sub>O, 60%)。有机肥种类为猪粪(manure, M),其全碳、全氮、全磷和全钾含量分别为222.88、14.3、11.4、6.64 g/kg(烘干基),含水量为89.9%。

本研究在3个无机肥供磷水平的基础上进行,3个供磷水平处理P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>施用量分别是:0(不施磷, P0)、75(适量施磷, P1)、150 kg/hm<sup>2</sup>(高量施磷, P2)。于2018年采用裂区设计,即3个无机磷供磷水平为试验大区,大区间设2.0 m的间隔;大区内划分为6个小区,小区间无间隔,分别设定3个无机磷供磷水平处理和对应的减磷配施有机肥处理,重复3次。小区面积1.4 m×9.5 m=13.3 m<sup>2</sup>。玉米施肥为条施,播种前开沟,沟深20 cm左右,将50%的氮肥和全部磷、钾肥、猪粪作底肥均匀施于沟内,然后覆土;另外50%的氮肥,在大喇叭口期追施,具体施肥量与处理编号见表1。

### 1.2 土样采集及理化特性的测定

土壤样品采集于玉米收获期。每个小区随机选取行间和窝间各2点(共4点)对应的地下部0–20 cm的土壤用土钻进行采集,将采集的土样除去动、植物残体后,分别混合均匀作为一个小区的土样,取样后带回实验室,过筛后分为两部分。一部分保存于–20 °C冰箱,用于DNA提取

表 1 试验玉米地施肥情况

Table 1 Fertilization of experimental maize

Treatment	Treatment number	Fertilizer application (kg/hm <sup>2</sup> )			Pig manure application (kg/hm <sup>2</sup> )
		N	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O	
Inorganic fertilizer	P0	180	0	105	–
	P1	180	75	105	–
	P2	180	150	105	–
Reduced P fertilizer combined with manure	P0+M	144	0	84	3 187
	70% P1+M	144	52.5	84	3 187
	70% P2+M	144	105	84	3 187

–: No results. P0, P1, P2, and P0+M, 70% P1+M, 70% P2+M represent 0, 75, 150 P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> kg/hm<sup>2</sup> and reduced 30% P fertilizer and combined application of organic fertilizers (pig manure), respectively.

和随后的扩增序列测定;另一部分风干用于土壤理化指标的测定,包括 pH、速效磷(AP)、有机磷(organophosphorus, Po)、全磷(total phosphorus, Pt)、土壤有机质(SOM)、速效钾(AK)和全氮(TN)。以土水比为 1:2.5 (质量体积比)用 pH 计(pHS-3C)测定 pH; TN 使用改进克氏法和外加热法测定; SOM 使用重铬酸钾容量法-外加热法滴定;土壤 AP 在 pH 8.5 时用 0.5 mol/L NaHCO<sub>3</sub> 提取,然后用比色法测定<sup>[21]</sup>; Po 的测定采用灼烧法<sup>[22]</sup>; Pt 采用酸溶-钼锑抗比色法<sup>[23]</sup>; AK 采用醋酸铵-火焰光度计法。每一个土壤样品的理化性质和后续的 DNA 提取均测定 2 个平行,保证样品测定的准确性。

### 1.3 土壤 AM 真菌群落 DNA 抽提和 PCR 扩增

采用 FastDNA SPIN Kit 试剂盒从土壤中提取 DNA,使用 NanoDrop 2000 检测 DNA 浓度与纯度,同时通过 1%琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量。选用 AM 真菌 18S SSU rRNA 特异引物 AMV4.5NF (5'-AAGCTCGTAGTTGAATTC G-3')和 AMDGR (5'-CCCAACTATCCCTATTAATCAT-3')对样本进行 PCR 扩增<sup>[24]</sup>。根据引物的重现性和准确描述 AM 真菌群落的能力选择引物<sup>[25]</sup>。反向引物包括每个样品唯一的 5 bp 条形码。使用 QIIME2<sup>[26]</sup>和 FLASH<sup>[27]</sup>软件处理原始

的高通量测序数据。

### 1.4 Illumina MiSeq 测序

使用 1%琼脂糖凝胶回收 PCR 产物,采用 DNA 凝胶提取试剂盒(Axygen Biosciences)进行纯化,使用 Tris-HCl 洗脱,2%琼脂糖电泳检测。使用 Illumina MiSeq 平台进行扩增子测序。Illumina 测序得到的 PE reads 进行样本拆分后,首先根据测序质量对双端 reads 进行质控和过滤,同时根据双端 reads 之间的重叠(overlap)关系进行拼接,获得质控拼接之后的优化数据。然后使用序列降噪方法(DADA2)处理优化数据,获得扩增子序列变体(amplicon sequence variant, ASV)代表序列和丰度信息,并根据物种注释数据库 maarjam081/AM 进行分类注释。基于 ASV 代表序列及丰度信息,进行生物信息学分析。原始数据提交到美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information, NCBI)数据库,序列号为 PRJNA932922。

### 1.5 数据分析

采用单因素方差分析检验了不同供磷水平之间的土壤理化性质、微生物群落组成的  $\alpha$  多样性数据差异的显著性,在 5%水平上利用 Duncan 检验进行比较。所有统计分析均基于 SPSS 分析软件(version 25)和 R 软件(4.2.2 版)。 $\alpha$  多样性的估计基于 ASV 丰度矩阵,包括由 R 软件中

“vegan”计算 AM 真菌的 ASV 和 Shannon 指数, 在 ASV 水平上进行非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS); 使用“pheatmap”绘制优势类群与土壤理化性质的相关性热图; 使用“indicspecies”选择指示物种 (indicator species)。

将各处理相对丰度前 1% 的 AM 真菌类群作为优势类群 (dominant taxa), 基于 ASV 丰度矩阵构建网络, 并通过成分数据的稀疏相关性 (sparse correlations for compositional data, SparCC) 相关矩阵计算相关系数; 对相关数据进行过滤, 将相关阈值为 0.6,  $P < 0.05$  的数据进行网络构建。共现网络通过 Gephi 软件可视化, 进而获得网络拓扑性质, 包括节点数、连接数、网络密度、聚类系数、网络集中度和相邻节点平均个数等。其中网络中节点的大小以节点度数表示, 将各处理节点度数排序前 5 的 AM 真菌类群作为关键类群 (keystone taxa)。

采用 AMOS 软件 (IBM SPSS AMOS 28.0.0) 构建结构方程模型 (model of structural equations, SEM), 以表明环境因子、AM 真菌群落多样性和优势类群与网络复杂度、稳定性之间的关系。

以网络分析的 cohesion 指数表示网络的稳定性, 平均度 (average degree) 表示网络的复杂度, 以 Shannon 指数表示 AM 真菌群落  $\alpha$  多样性。模型使用拟合优度指数 (goodness-of-fit index, GFI; GFI 的数值介于 0–1 之间, 其数值愈接近 1, 表示模型的适配度愈佳), 近似误差均方根 (root-mean-square error of approximation, RMSEA; 一般要求  $RMSEA < 0.08$ ), 拟合优度的卡方检验 ( $\chi^2$  goodness-of-fit test;  $\chi^2$  常与自由度 df 一起使用,  $\chi^2/df$  愈接近 1, 表示模型拟合愈好) 进行检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤理化性质

在无机肥处理及减磷配施有机肥处理中, 土壤 AP、Po、Pt、SOM 和 TN 均随施磷量的增加而增加。土壤 pH 随施磷量的增加而降低; 同一施磷梯度下减磷配施有机肥的土壤 AP、Pt、SOM、TN、AK 和 pH 均高于无机肥处理, 70% P2+M 与 P2 处理间的土壤 pH、SOM、TN 的差异达到显著水平 ( $P < 0.05$ ); 在同一磷梯度下配施有机肥, 土壤 AK 含量均显著提高 (表 2)。

表 2 无机肥及减磷配施有机肥土壤的理化性质

Table 2 The concentrations of soil properties under inorganic fertilizer and reduced P fertilizer and combined application of organic fertilizers

Soil properties	P0	P1	P2	P0+M	70% P1+M	70% P2+M
AP (mg/kg)	17.11±3.50b	60.25±12.10a	72.31±8.28aA	38.26±19.30b	72.35±6.93a	78.34±8.65aA
pH	6.50±0.09a	5.99±0.28b	5.77±0.08bA	6.69±0.37a	6.04±0.16b	6.13±0.10bA*
SOM (g/kg)	29.90±0.85c	35.53±2.07b	38.37±0.87aA	31.27±0.50c	37.17±1.37b	42.43±1.81aA*
AK (mg/kg)	157.00±15.87a	174.00±14.00a	178.00±7.00aB	200.00±15.72a*	216.33±13.87a*	229.00±16.82aA**
TN (g/kg)	1.65±0.05c	2.00±0.08b	2.20±0.04aA	1.74±0.03c	2.06±0.03b	2.31±0.04aA*
Pt (mg/kg)	79.61±1.6b	204.96±11.3a	227.06±3.1aA	101.94±11b	221.76±15.9a	242.76±13.6aA
Po (mg/kg)	22.99±1.8b	75.16±1.5a	69.86±2.8aA	29.84±4.3b	67.21±5.3a	87.32±17.2aA

Small letters indicate that there is significant difference in  $P < 0.05$  between different treatments; The capital letters indicate that there is significant difference between inorganic fertilizer and reduced P fertilizer and combined application of organic fertilizers treatment on  $P < 0.05$ . Asterisk indicates that under the same P gradient, the difference between the inorganic fertilizer and reduced P fertilizer and combined application of organic fertilizers reached a significant level (paid student's  $t$ -test,  $P < 0.05$ ). P0, P1, P2, and P0+M, 70% P1+M, 70% P2+M represent 0, 75, 150  $P_2O_5$  kg/hm<sup>2</sup> and reduced 30% P fertilizer and combined application of organic fertilizers (pig manure), respectively.

## 2.2 AM 真菌群落多样性特征

将高通量测序后经过质量控制得到的序列与数据库对比注释, 用 ASV 数和 Shannon 指数表征 AM 真菌群落多样性, 结果表明供磷水平并未对 Shannon 指数和 ASV 数造成显著影响, 但在减磷配施猪粪后, Shannon 指数与 ASV 数整体上均显著降低(图 1A、1B)。基于 Bray-Curtis 距离进行

NMDS 分析表明, 减磷配施猪粪显著影响 AM 真菌的群落结构(图 1C), 且球囊霉属和类球囊霉属是 AM 真菌的优势属(图 2A)。其中, ASV27 和 ASV12 与土壤 pH 呈正相关, 与土壤 SOM、AP、AK、Pt、Po 和 TN 均呈负相关。ASV5 和 ASV13 与 pH 也呈正相关, ASV2 与 pH 呈负相关, 与 SOM、AP、AK、Pt、Po 和 TN 均呈正相关(图 2B)。

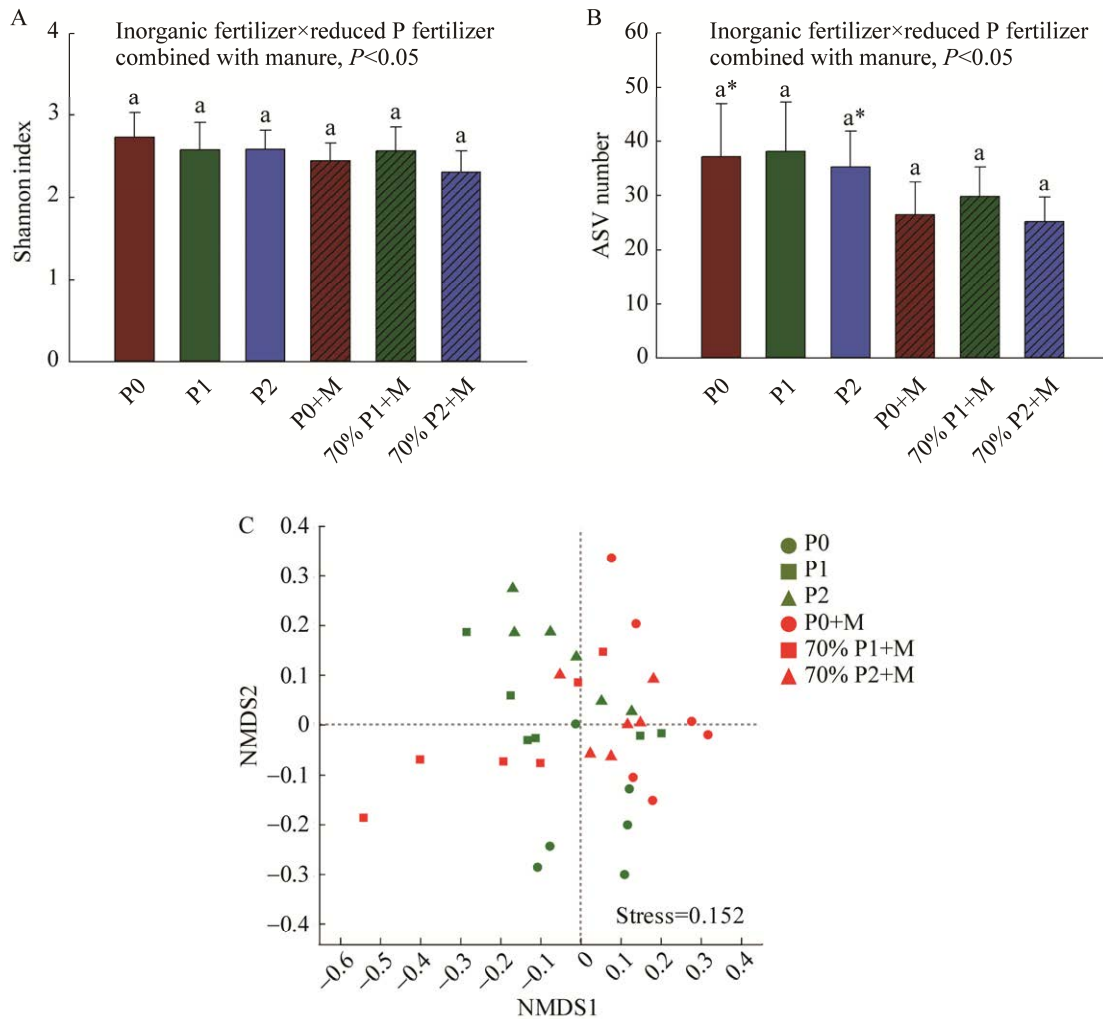


图 1 无机肥及减磷配施有机肥 ASV 数量(A)和 Shannon 指数(B)和不同供磷水平下 AM 真菌群落结构的非度量多维尺度分析(C)

Figure 1 Bar chart of ASV number (A) and Shannon index (B) with inorganic fertilizer and reduced P fertilizer and combined application of organic fertilizers and non-metric multidimensional scaling (NMDS) plots of AMF community with different P fertilization rates (C). Different case letters denote significantly different on  $P < 0.05$ . P0, P1, P2, and P0+M, 70% P1+M, 70% P2+M represent 0, 75, 150  $P_2O_5$   $kg/hm^2$  and reduced 30% P fertilizer and combined application of organic fertilizers (pig manure), respectively.

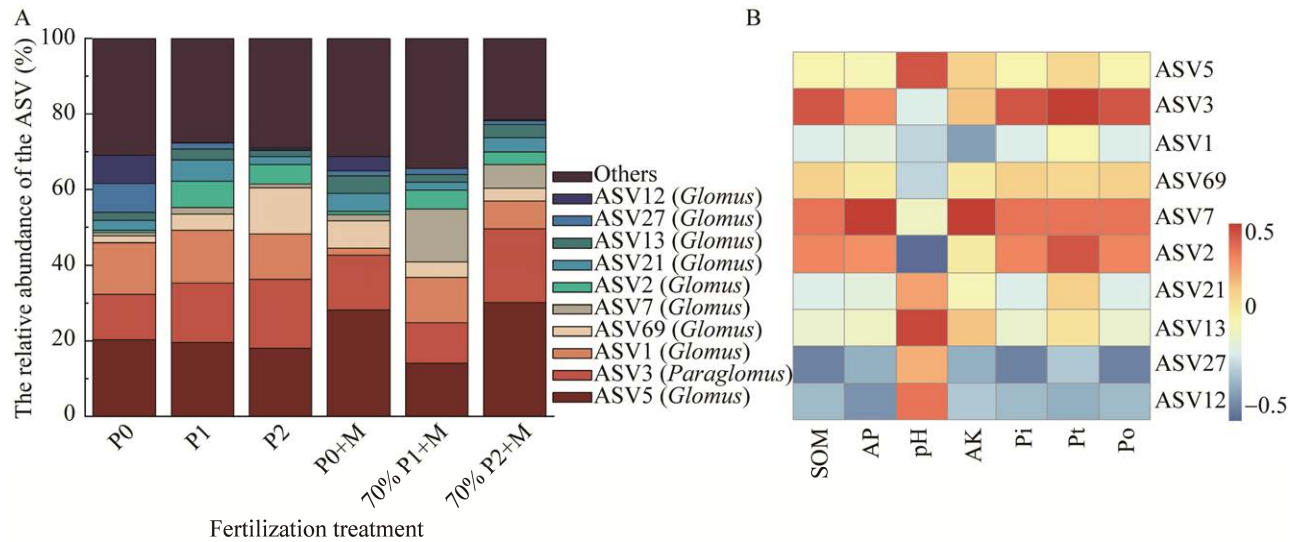


图2 无机肥及减磷配施有机肥 AM 真菌相对丰度前 10 的优势类群(A)与土壤环境理化因子的相关性热图(B)

Figure 2 Relative abundance of the dominant ASV (top 10) in the AM fungal community (A) and heatmap of correlation coefficients between the soil properties and the dominant ASV (top 10) (B). P0, P1, P2, and P0+M, 70% P1+M, 70% P2+M represent 0, 75, 150  $P_2O_5$   $kg/hm^2$  and reduced 30% P fertilizer and combined application of organic fertilizers (pig manure), respectively.

P0 处理中有 7 个 ASV 被鉴定为指示物种, 其中 6 个 ASV 属于球囊霉属, 3 个为 VTX00278 (表 3)。P0+M 处理中仅有 1 个指示物种。整体上鉴定出的 ASV 均为球囊霉属, P0+M 和 70% P2+M 处理相比于无机肥处理, 指示物种的数量减少。

## 2.3 减磷配施有机肥对 AM 真菌群落网络结构的影响

### 2.3.1 AM 真菌共现网络分析

供磷水平和有机无机配施影响 AM 真菌群落的共现网络特征。网络拓扑性质的分析表明无机肥及减磷配施有机肥处理中, 网络平均度及平均加权度随着供磷量的增加, 先增加后下降, 均在适量施磷下达到最高值, 且同一施磷梯度下无机肥处理的网络节点、连接线的数目、平均度及平均加权度均大于减磷配施用有机肥处理, 无机肥处理下的网络平均度为减磷配施用有机肥的 1.07–1.30 倍; 无机肥处理下的网络平均聚类系

数小于减磷配施有机肥处理。其中, 负相关连接线的比例在无机肥处理与减磷配施有机肥处理中呈现相反的趋势(图 3, 表 4), 随着无机肥供磷量的增加逐渐升高, 减磷配施有机肥处理中, 负相关连接线比例则随着施磷量的增加而降低(图 3, 表 4)。

### 2.3.2 不同施肥措施下 AM 真菌网络稳定性分析

群落的正、负凝聚力(positive and negative cohesion)分别代表群落中物种间的合作与竞争的强度。与 P0 处理相比, 无机肥、减磷配施有机肥处理的正、负凝聚力均增加(图 4A、4B)。AM 真菌群落负凝聚力随着无机肥施用量的增加显著增加, 减磷配施有机肥处理间则无显著变化, 其中 P1、P2 的负凝聚力指数显著大于 70% P1+M、70% P2+M (图 4A)。无机肥处理中, 正凝聚力随施磷量的增加先升高后降低; 减磷配施有机肥处理中, 正凝聚力表现为随着施磷量的增加显著降低(图 4B)。负正凝聚力比值(negative/



表 3 无机肥及减磷配施有机肥指示物种分析

Table 3 Indicator species analyses for inorganic fertilizer and reduced P fertilizer and combined application of organic fertilizers

Fertilization treatments	ASV No.	Taxa name		Indicator value index	P value
		Genus	Species		
P0	ASV18	<i>Glomus</i>	Unclassified	0.900	0.001***
	ASV26	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00278	0.813	0.001***
	ASV12	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00278	0.789	0.001***
	ASV27	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00193	0.754	0.003**
	ASV55	Unclassified	Unclassified	0.674	0.014*
	ASV106	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00309	0.670	0.011*
	ASV54	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00278	0.654	0.009**
P1	ASV47	Unclassified	Unclassified	0.675	0.033*
	ASV60	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00309	0.576	0.044*
	ASV2	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00278	0.565	0.037*
P2	ASV164	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00309	0.671	0.013*
	ASV87	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00278	0.624	0.025*
	ASV69	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00309	0.609	0.020*
P0+M	ASV44	<i>Glomus</i>	Unclassified	0.640	0.025*
70% P1+M	ASV7	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00195	0.738	0.006**
	ASV6	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00310	0.651	0.014*
	ASV9	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00310	0.629	0.038*
70% P2+M	ASV25	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00278	0.741	0.003**
	ASV5	<i>Glomus</i>	<i>Glomus</i> VTX00333	0.481	0.019*

\*  $P < 0.05$ ; \*\*  $P < 0.01$ ; \*\*\*  $P < 0.001$ . P0, P1, P2, and P0+M, 70% P1+M, 70% P2+M represent 0, 75, 150  $P_2O_5$  kg/hm<sup>2</sup> and reduced 30% P fertilizer and combined application of organic fertilizers (pig manure), respectively.

positive cohesion)可表征微生物群落的稳定性。随着施磷量的增加,同一施磷梯度下无机肥、减磷配施有机肥处理中负正凝聚力比值均增加,AM真菌群落的负正凝聚力比值在P2处理达到最高值,显著高于P0、P1、70% P2+M处理(图4C)。

### 2.4 AM 真菌群落组成与群落稳定性的相关性

为了评估 AM 真菌指示物种、关键类群、优势类群对网络稳定性的贡献,将 AM 真菌指示物种、关键类群、优势类群分别从群落中去除

后,计算了 AM 真菌群落的凝聚力指数。结果表明,分别去除指示物种、关键类群、优势类群后,P0+M处理的AM真菌各凝聚力指数均保持稳定(图5A-5C);P2处理下,AM真菌群落负凝聚力指数及网络稳定性负正凝聚力比值在去除指示物种后下降(图5A、5C);除P2、P0+M处理外,AM真菌负、正凝聚力指数及网络稳定性去除AM真菌群落优势类群后显著下降,且减磷配施有机肥处理的下降幅度大于无机肥处理。回归分析表明,AM真菌群落的网络稳定性与AM真菌优势类群的相对丰度密切相关(图5D)。

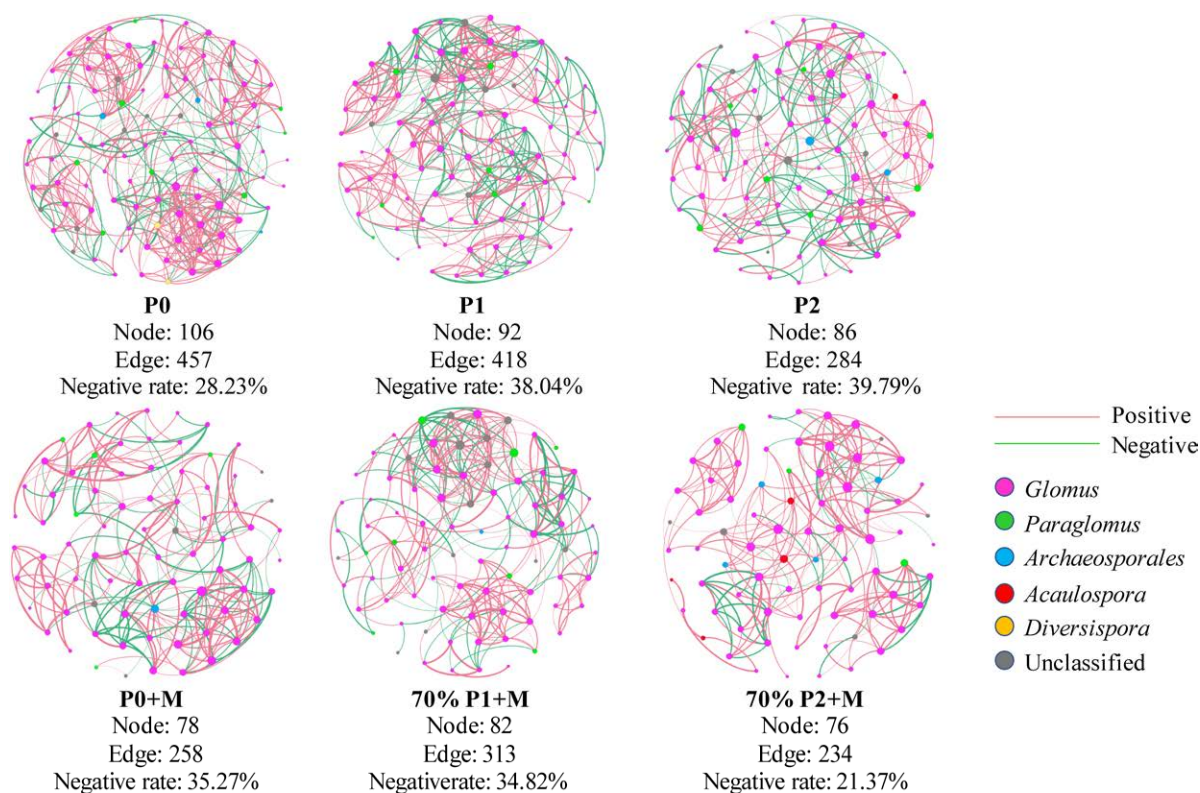


图 3 无机肥及减磷配施有机肥细菌的网络结构

Figure 3 Network of AM fungi depending on P fertilization based on sparse correlations for compositional data (SparCC) analysis from ASV profiles. The size of each node is proportional to the number of connections. The color of nodes represents the taxa on the genus classification. Red lines represent a positive correlation, and green lines indicate a negative correlation. P0, P1, P2, and P0+M, 70% P1+M, 70% P2+M represent 0, 75, 150  $P_2O_5$   $kg/hm^2$  and reduced 30% P fertilizer and combined application of organic fertilizer (pig manure), respectively.

表 4 无机肥及减磷配施有机肥网络拓扑特征

Table 4 Topology parameters for network analysis under inorganic fertilizer and reduced P fertilizer and combined application of organic fertilizers

Network metrics	Inorganic fertilization			Reduced-P fertilizer and combined application of organic fertilizers		
	P0	P1	P2	P0+M	70% P1+M	70% P2+M
Nodes	106	92	86	78	82	76
Edges	457	418	284	258	313	234
Positive rate (%)	71.77	61.96	60.21	64.73	65.18	78.63
Negative rate (%)	28.23	38.04	39.79	35.27	34.82	21.37
Average degree	8.623	9.087	6.605	6.615	7.634	6.158
Average weighted degree	6.626	7.205	5.123	5.228	5.933	4.857
Diameter	6	6	7	7	7	9
Density	0.082	0.100	0.078	0.086	0.094	0.082
Modularity	0.640	0.594	0.603	0.640	0.623	0.705
Average clustering coefficient	0.447	0.522	0.459	0.500	0.546	0.571

P0, P1, P2, and P0+M, 70% P1+M, 70% P2+M represent 0, 75, 150  $P_2O_5$   $kg/hm^2$  and reduced 30% P fertilizer and combined application of organic fertilizers (pig manure), respectively.

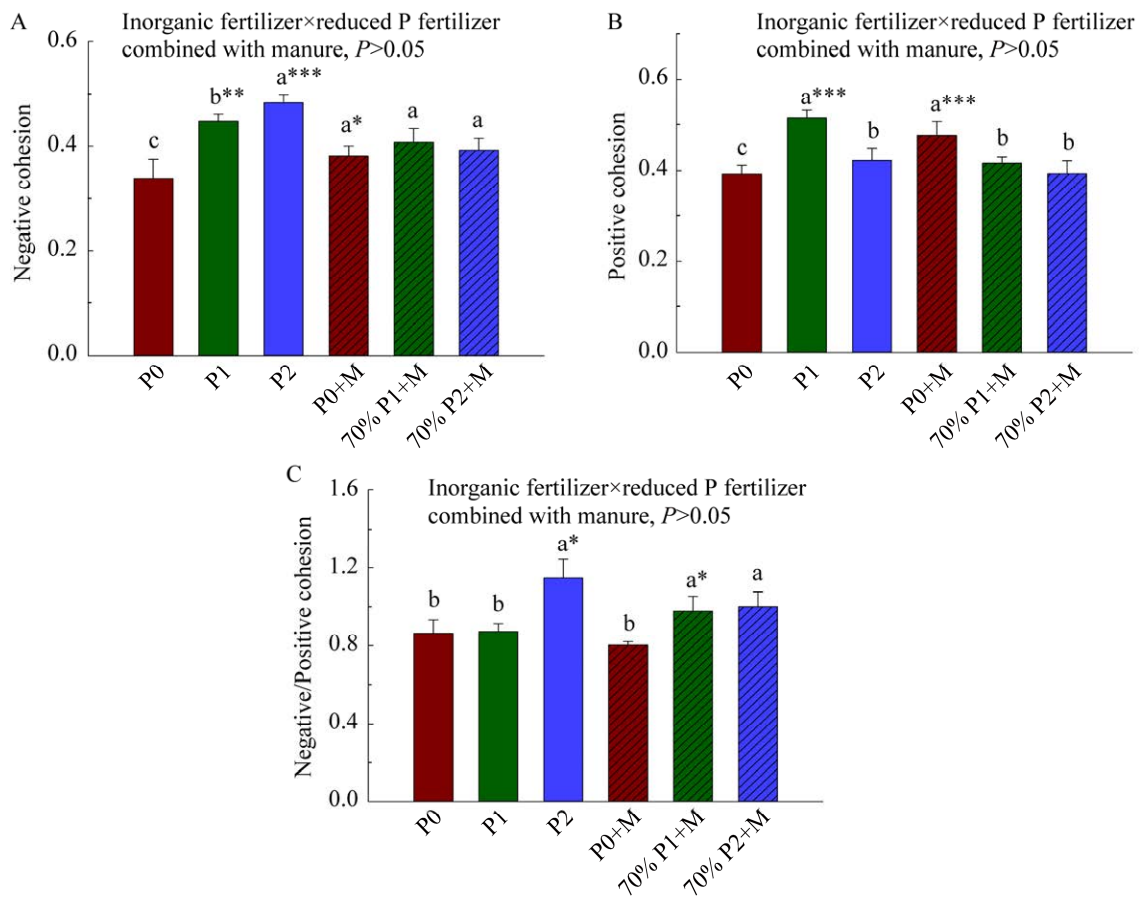


图4 无机肥及减磷配施有机肥 AM 真菌群落的负凝聚力(A)、正凝聚力(B)、及负正凝聚力比值(C)

Figure 4 The negative cohesion (A), positive cohesion (B), and negative/positive cohesion (C) of AM fungal community after inorganic fertilizer and reduced P fertilizer and combined application of organic fertilizers. Different case letters denote significantly different on  $P<0.05$ . Asterisk indicates that under the same P gradient, the difference between the inorganic fertilizer treatment and the organic fertilizer treatment with reduced P reached a significant level (paid Student's  $t$ -test,  $P<0.05$ ). P0, P1, P2, and P0+M, 70% P1+M, 70% P2+M represent 0, 75, 150  $P_2O_5$  kg/hm<sup>2</sup> and reduced 30% P fertilizer and combined application of organic fertilizers (pig manure), respectively.

## 2.5 施肥对土壤理化性质及 AM 真菌多样性与网络复杂度、稳定性的影响

结构方程模型阐明了长期施用无机肥及短期减磷配施有机肥对土壤理化性质、AM 真菌群落多样性、AM 真菌优势类群及 AM 真菌网络复杂度、稳定性的综合效应(图 6A)。最终模型拟合结果为  $\chi^2=7.736$ ,  $df=7$ ,  $GFI=0.899$ ,  $IFI=0.991$ ,  $RMSEA=0.079$ , 表明模型适配良好。施肥条件下, 土壤 pH、AP

对 AM 真菌多样性产生显著负效应(路径系数分别为 $-0.68$ 、 $-0.61$ ), AM 真菌优势类群分别受到土壤 SOM、土壤 AP 的影响, 进而对 AM 真菌多样性产生显著负效应; 土壤 SOM 对土壤 AM 真菌群落复杂度存在显著负效应, 而 AM 真菌多样性与优势类群则对网络复杂度存在显著正效应; 标准化效应显示网络复杂度与 AM 优势类群及土壤 pH 综合影响 AM 真菌网络稳定性(图 6B)。

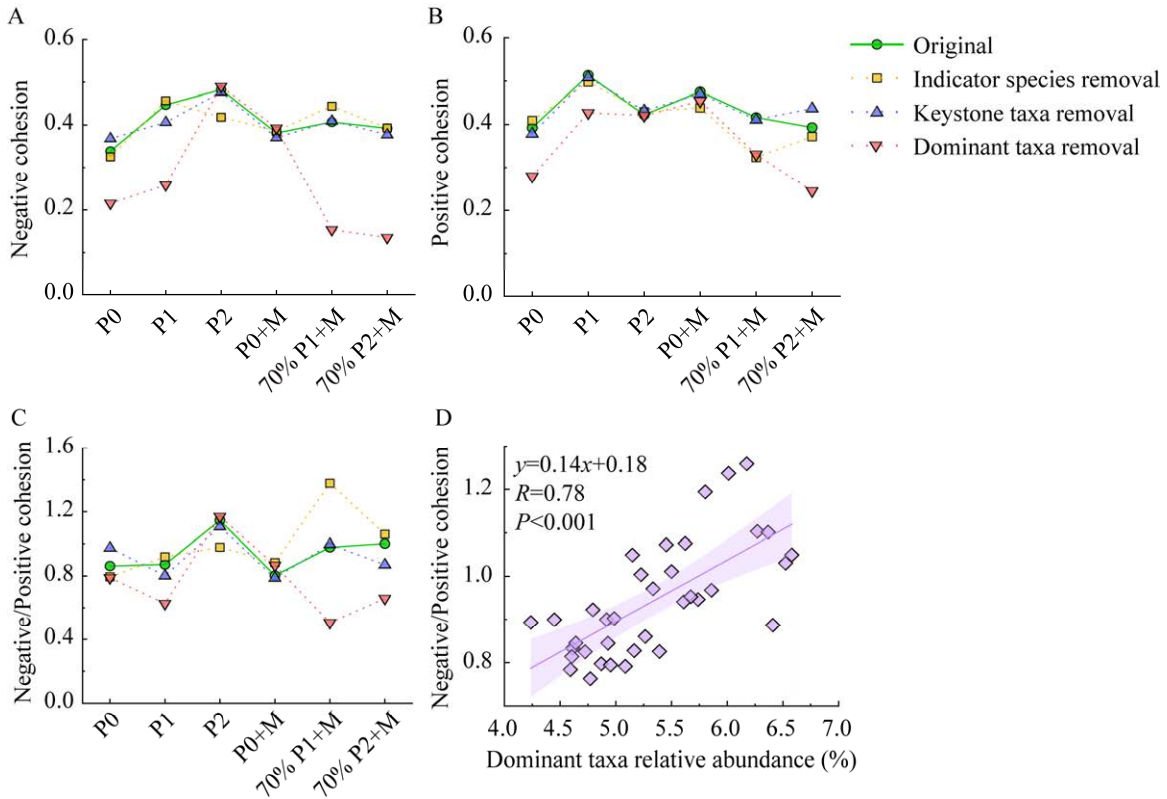


图 5 无机肥及减磷配施有机肥指示物种、关键类群、优势类群去除后 AM 真菌群落的负凝聚力(A)、正凝聚力(B)、凝聚力比值(C)及 AM 真菌优势类群与凝聚力比值的相关性(D)

Figure 5 The negative cohesion (A), positive cohesion (B), negative/positive cohesion(C) of AM fungal community after the removal of indicator species, key groups and dominant groups, and the correlation between dominant groups and negative/positive cohesion of AM fungi (D) under the treatment of inorganic fertilizer and reduced P fertilizer and combined application of organic fertilizers. P0, P1, P2, and P0+M, 70% P1+M, 70% P2+M represent 0, 75, 150  $P_2O_5$  kg/hm<sup>2</sup> and reduced 30% P fertilizer and combined application of organic fertilizers (pig manure), respectively.

### 3 讨论

#### 3.1 减磷配施有机肥对 AM 真菌群落 $\alpha$ 多样性和群落组成的影响

大部分研究表明,施肥引起的土壤养分提高导致 AM 真菌多样性降低<sup>[28-29]</sup>,尤其是磷肥的大量投入显著降低了 AM 真菌的  $\alpha$  多样性<sup>[30]</sup>。然而,在本研究中,施磷量对 AM 真菌的  $\alpha$  多样性并无显著影响,配施有机肥后 AM 真菌的  $\alpha$  多样性显著降低(图 1A、1B)。Wang 等<sup>[31]</sup>在华北平原石灰性冲积土玉米体系持续 3 年的田间试

验发现,施磷量(0–300  $P_2O_5$  kg/ha)对土壤和根系中 AM 真菌  $\alpha$  多样性无显著影响,Chen 等<sup>[32]</sup>在内蒙古典型温带草原上持续 6 年的研究也有类似发现。而在长期(28 年)施用无机肥的土壤中,AM 真菌的  $\alpha$  多样性显著降低<sup>[8]</sup>,在长期(37 年)有机无机配施的土壤中则表现出升高的趋势<sup>[11]</sup>。可见 AM 真菌的  $\alpha$  多样性对养分输入的类型和持续施用的时间均有响应。Rinnan 等<sup>[33]</sup>研究就证明,与施肥 15 年后对土壤中微生物群落的显著影响相比,施肥 5、6 年和 10 年的处理对微生物群落组成的影响相对较小。在本研究中,减磷配施

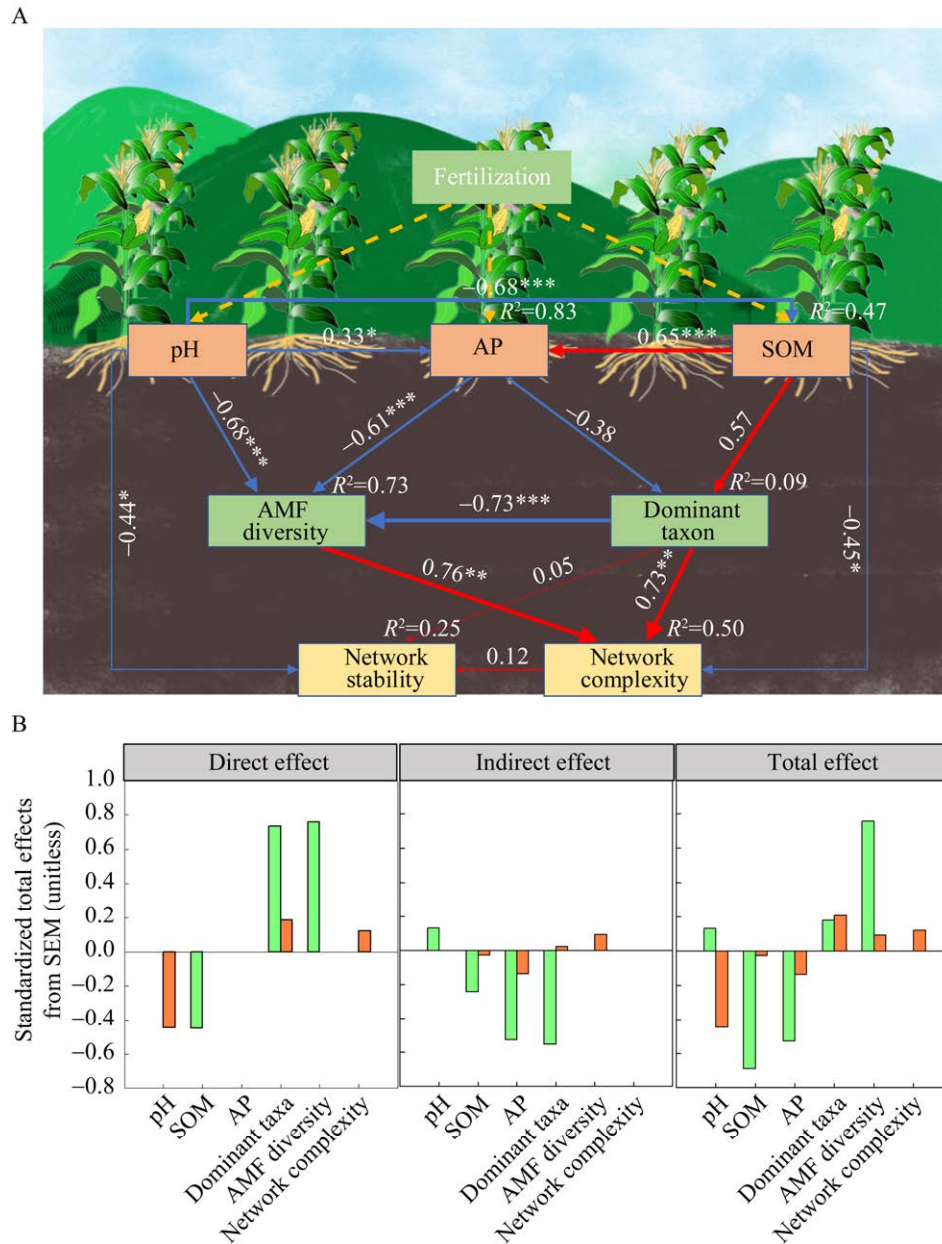


图 6 无机肥及减磷配施有机肥对土壤理化性质(包括 pH、AP、SOM)与 AM 真菌的群落组成、优势类群、网络复杂度、稳定性之间影响的结构方程模型(A); 各因素对 AM 真菌群落网络复杂度和稳定性的直接效应、间接效应和总效应(B)

Figure 6 A structural equation model (SEM) of the effects of inorganic fertilizer and reduced P fertilizer and combined application of organic fertilizers on the physicochemical properties of soil (including pH, AP, and SOM) and the community composition, dominant species, network complexity and stability of AM fungi (A). The width of the arrow indicates the strength of the causal effect. The red and blue arrows indicate the positive and negative relationships between the indicators. The number above the arrow indicates the path coefficient. \*\*\*, \*\*, and \* represent significant path, respectively. Standardized direct effects, indirect effects and total effects of the factors on network stability and complexity from the SEM (B). The percentage above each indicator represents the R<sup>2</sup> value, which is the variance explained ratio of each variable. The final model fits the data well. The model is: ( $\chi^2=7.736$  df=7, GFI=0.899, IFI=0.991, RMSEA=0.079).

有机肥明显增加土壤 AP、SOM、TN 含量(表 2), 表明在充足的土壤养分条件下, 植物对 AM 真菌提供的养分依赖性较低, 相应传递给 AM 真菌的碳量也会减少<sup>[34]</sup>, 碳限可能导致 AM 真菌群落之间的竞争增强,  $\alpha$  多样性降低。表明养分的富集, 即使是有机来源的养分富集, 亦可能会导致 AM 真菌  $\alpha$  多样性的降低<sup>[35]</sup>。

不同施肥处理对 AM 真菌群落组成的优势类群影响较小(图 2A), 本研究中检测到的大多数优势种属于球囊霉属和类球囊霉属。这与 Higo 等<sup>[36]</sup>的研究结果相似, 即 AM 真菌类群的丰度不受施磷肥的影响, 且球囊霉属对施肥具有较高的耐受性, 是玉米 AM 群落中最为丰富的优势类群<sup>[37-38]</sup>, 在集约化农田系统中均有发现。而在其他研究配施马粪或牛粪处理下的优势类群近明球囊霉属(*Claroideoglossum candidum*)在本研究中并未发现<sup>[12-13]</sup>, 表明不同种类的有机肥对 AM 真菌的群落组成的影响也可能不同。此外, 在指示物种分析结果中, VTX00278 (球囊霉属)和 VTX00309 (球囊霉属)在各处理均有出现, 表明 AM 真菌中特定的分子物种在不同施肥处理条件下的广泛适应性<sup>[39]</sup>。

### 3.2 减磷配施有机肥对 AM 真菌群落网络特征和群落稳定性的影响

微生物之间的相互作用可反映群落结构的复杂性<sup>[40]</sup>。以往的研究发现在多种土壤类型的长期定位点中土壤微生物网络在有机无机配施处理下具有更复杂的网络特征, 如具有更高的网络平均度、负相关连接线比例, 表明长期有机无机配施比单施无机肥包含更多生态相似的功能群, 更能增加微生物群落之间的合作与联系, 使得微生物网络的复杂度增强<sup>[41]</sup>。然而, 这些研究与本研究的结果不一致, 可能是由于减磷配施有机肥的短期效应导致, 在土壤中施用有机肥可引入高负荷的外源微生物和化学成分<sup>[42]</sup>, 可能

通过刺激特定种群和抑制其他种群对土壤微生物群落产生扰动; 另一方面, 土壤微生物群落具有很强的恢复力, 排斥试图争夺生态位的外来种群<sup>[43]</sup>, 因此短期的减磷配施有机肥可能会对土壤微生物网络复杂度产生消极影响(图 3 和表 4)。此外, 微生物群落的复杂性与有机肥的施用量相关, 有研究发现, 水稻-油菜体系在较低的有机肥(猪粪)施用量下形成了一个复杂且稳定的细菌群落, 而较高的施肥量降低了细菌网络的复杂性与稳定性<sup>[44]</sup>, 本研究中随着供磷水平的提高, AM 真菌在无机肥处理下的负连接线比例递增, 而在减磷配施有机肥处理下则递减(图 3 和表 4)。这可能是配施的有机肥剂量较高, 使得 AM 真菌在富营养化条件下的拮抗程度降低, 导致 AM 真菌群落的网络复杂度在减磷配施有机肥处理低于无机肥处理。

群落凝聚力是一种基于成对相关性的度量, 并被零模型修正, 已被用来量化微生物群落的连通性, 微生物类群间负正内聚比值升高的微生物群落稳定性增加<sup>[45]</sup>。本研究中, 无机肥处理下 AM 真菌的负凝聚力及负正凝聚力比值随着供磷量的增加而增加(图 4A、4C), 因此, 无机肥的施用促进了 AM 真菌群落的负相互作用, 从而抑制了 AM 真菌群落间的正反馈, 增加了群落稳定性, 微生物群落间积极的相互作用可致使微生物群落的稳定性降低<sup>[46]</sup>。本研究中 AM 真菌的正凝聚力在减磷配施有机肥处理下随着供磷量的增加而逐渐下降(图 4B), 可能是减磷配施有机肥处理缓解了 AM 真菌群落间的相互依赖, 使得 AM 真菌的负正凝聚力比值随着减磷配施有机肥处理施肥量的增加而升高, 群落变得更加稳定。营养相互作用意味着微生物以本身或其释放的产物为食, 这种营养上的相互作用通常意味着共生或互惠共生<sup>[47]</sup>。减磷配施有机肥外理中, 有机肥的添加会增加额外的营养, 从而削

弱 AM 真菌之间的营养相互作用, 减少 AM 真菌群落间的合作。

### 3.3 减磷配施有机肥对 AM 真菌群落复杂度和稳定性的驱动因子分析

土壤 pH、AP 和 SOM 是影响土壤中 AMF 群落组成的重要因素<sup>[11]</sup>。在较高肥料投入的情况下配施有机肥可显著改善由大量化肥投入而引起的土壤酸化(表 2), 并且提高了土壤肥力, 这些结果在不同植物的田间试验中得到验证<sup>[48-49]</sup>。结构方程分析表明, 有机无机配施通过提高土壤中养分含量, 影响 AM 真菌的多样性和优势类群, 最终影响网络的复杂度和稳定性(图 6A)。AM 真菌的复杂度和多样性随着土壤养分含量的增加而降低, 可能是植物在养分充足时会减少对地下 AM 真菌的碳分配, 导致 AM 真菌群落间竞争效应增强<sup>[50]</sup>, AM 真菌类群部分减少或消失, 部分增强<sup>[51]</sup>。AM 真菌的多样性与土壤 AP 呈负相关, 在低磷条件下, 根系更依赖与 AM 真菌共生通过菌丝吸收磷<sup>[35]</sup>, 促使 AM 真菌群落的复杂度升高。这表明短期减磷配施有机肥引起土壤理化性质的改变, 增强 AM 真菌群落之间的竞争效应, 降低 AM 真菌的多样性, 进而驱动 AM 真菌群落网络复杂度和群落稳定性的改变。

## 4 结论

在酸性紫色土中, 短期减磷配施有机肥整体上降低了 AM 真菌群落的  $\alpha$  多样性, 显著改变了 AM 真菌的群落结构, 使网络的复杂度降低, 并通过抑制群落间正相互作用来提高负正凝聚比从而增强群落稳定性。球囊霉属和类球囊霉属是无机肥及减磷配施有机肥中 AM 真菌的优势类群, 且优势类群与群落稳定性密切相关。减磷配施有机肥可缓解土壤酸化并提升土壤肥力, 且土壤 pH、速效磷和有机质的变化驱动土

壤中 AM 真菌的  $\alpha$  多样性和群落组成的改变, 进而降低 AM 真菌网络的复杂度, 增强群落的稳定性。探究减磷配施有机肥条件下土壤理化性质与 AM 真菌的群落结构和网络特征的互作机制, 为理解 AM 真菌的生态系统功能及提升土壤健康提供科学依据。

## 参考文献

- [1] HUANG J, XU CC, RIDOUTT BG, WANG XC, REN PA. Nitrogen and phosphorus losses and eutrophication potential associated with fertilizer application to cropland in China[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2017, 159: 171-179.
- [2] TIAN DS, NIU SL. A global analysis of soil acidification caused by nitrogen addition[J]. *Environmental Research Letters*, 2015, 10(2): 024019.
- [3] ZHOU J, JIANG X, ZHOU BK, ZHAO BS, MA M, GUAN DW, LI J, CHEN SF, CAO FM, SHEN D, QIN J. Thirty four years of nitrogen fertilization decreases fungal diversity and alters fungal community composition in black soil in Northeast China[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2016, 95: 135-143.
- [4] TIAN SY, ZHU BJ, YIN R, WANG MW, JIANG YJ, ZHANG CZ, LI DM, CHEN XY, KARDOL P, LIU MQ. Organic fertilization promotes crop productivity through changes in soil aggregation[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2022, 165: 108533.
- [5] FAN KK, DELGADO-BAQUERIZO M, GUO XS, WANG DZ, ZHU YG, CHU HY. Biodiversity of key-stone phylotypes determines crop production in a 4-decade fertilization experiment[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(2): 550-561.
- [6] SONG S, SHU S, LIU L, SHI S, LI MC, ZHANG Z, LI ZZ, LIU L, YUAN Y, ZHANG Z, LIU L, GAO G. Effects of long-term fertilization with different substitution ratios of organic fertilizer on paddy soil[J]. *Pedosphere*, 2022, 32(4): 637-648.
- [7] MA YY, ZHANG HC, WANG DZ, GUO XS, YANG T, XIANG XJ, WALDER F, CHU HY. Differential responses of arbuscular mycorrhizal fungal communities to long-term fertilization in the wheat rhizosphere and root endosphere[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2021, 87(17): e0034921.

- [8] LIU J, ZHANG J, LI DM, XU CX, XIANG XJ. Differential responses of arbuscular mycorrhizal fungal communities to mineral and organic fertilization[J]. *MicrobiologyOpen*, 2020, 9(1): e00920.
- [9] WANG FY, HU JL, LIN XG, QIN SW, WANG JH. Arbuscular mycorrhizal fungal community structure and diversity in response to long-term fertilization: a field case from China[J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2011, 27(1): 67-74.
- [10] 江尚焘, 栗晗, 彭海英, 梅新兰, 陈廷速, 徐阳春, 董彩霞, 沈其荣. 有机肥替代部分化肥对芒果丛枝菌根真菌群落的影响[J]. *应用生态学报*, 2023, 34(2): 481-490.
- JIANG ST, LI H, PENG HY, MEI XL, CHEN TS, XU YC, DONG CX, SHEN QR. Effects of partial substitution of chemical fertilizer with organic fertilizer on arbuscular mycorrhizal fungal community of *Mangifera indica*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2023, 34(2): 481-490 (in Chinese).
- [11] MA MC, ONGENA M, WANG QF, GUAN DW, CAO FM, JIANG X, LI J. Chronic fertilization of 37 years alters the phylogenetic structure of soil arbuscular mycorrhizal fungi in Chinese Mollisols[J]. *AMB Express*, 2018, 8(1): 57.
- [12] LIU ZH, BAI JF, QIN H, SUN DN, LI MH, HU JL, LIN XG. Application of rice straw and horse manure coameliorated soil arbuscular mycorrhizal fungal community: impacts on structure and diversity in a degraded field in eastern China[J]. *Land Degradation & Development*, 2021, 32: 2595-2605.
- [13] QIN ZF, ZHANG HY, FENG G, CHRISTIE P, ZAHNG JL, LI XL, GAI JP. Soil phosphorus availability modifies the relationship between AM fungal diversity and mycorrhizal benefits to maize in an agricultural soil[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2020, 144: 107790.
- [14] MA L, ZHANG JB, LI ZQ, XIN XL, GUO ZB, WANG DZ, LI DC, ZHAO BZ. Long-term phosphorus deficiency decreased bacterial-fungal network complexity and efficiency across three soil types in China as revealed by network analysis[J]. *Applied Soil Ecology*, 2020, 148: 103506.
- [15] LI Y, SHEN Q, AN XC, XIE YH, LIU XM, LIAN B. Organomineral fertilizer application enhances *Perilla frutescens* nutritional quality and rhizosphere microbial community stability in karst mountain soils[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 1058067.
- [16] SHI W, ZHAO HY, CHEN Y, WANG JS, HAN B, LI CP, LU JY, ZHANG LM. Organic manure rather than phosphorus fertilization primarily determined asymbiotic nitrogen fixation rate and the stability of diazotrophic community in an upland red soil[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2021, 319: 107535.
- [17] BANERJEE S, SCHLAEPPI K, van der HEIJDEN MGA. Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16(9): 567-576.
- [18] JIAO S, XU YQ, ZHANG J, HAO X, LU YH. Core microbiota in agricultural soils and their potential associations with nutrient cycling[J]. *mSystems*, 2019, 4(2): e00313-e00318.
- [19] JIAO S, ZHANG BG, ZHANG GZ, CHEN WM, WEI GH. Stochastic community assembly decreases soil fungal richness in arid ecosystems[J]. *Molecular Ecology*, 2021, 30(17): 4338-4348.
- [20] JIAO S, CHEN WM, WEI GH. Core microbiota drive functional stability of soil microbiome in reforestation ecosystems[J]. *Global Change Biology*, 2022, 28(3): 1038-1047.
- [21] OLSEN SR, SOMMERS LE. Phosphorus. *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. 2nd ed.[M]. Madison, WI: Agronomy, 1982.
- [22] SAUNDERS WMH, WILLIAMS EG. Observations on the determination of total organic phosphorus in soils[J]. *Journal of Soil Science*, 1955, 6(2): 254-267.
- [23] TIESSEN H. *Characterization of Available P by Sequential Extraction*[M]. Boca Raton: CRC Press, 1993.
- [24] van GEEL M, BUSSCHAERT P, HONNAY O, LIEVENS B. Evaluation of six primer pairs targeting the nuclear rRNA operon for characterization of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities using 454 pyrosequencing[J]. *Journal of Microbiological Methods*, 2014, 106: 93-100.
- [25] LUMINI E, ORGIAZZI A, BORRIELLO R, BONFANTE P, BIANCIOTTO V. Disclosing arbuscular mycorrhizal fungal biodiversity in soil through a land-use gradient using a pyrosequencing



- approach[J]. *Environmental Microbiology*, 2010, 12(8): 2165-2179.
- [26] CAPORASO JG, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, BITTINGER K, BUSHMAN FD, COSTELLO EK, FIERER N, PEÑA AG, GOODRICH JK, GORDON JI, HUTTLEY GA, KELLEY ST, KNIGHTS D, KOENIG JE, LEY RE, LOZUPONE CA, MCDONALD D, MUEGGE BD, PIRRUNG M, REEDER J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335-336.
- [27] MAGOČ T, SALZBERG SL. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957-2963.
- [28] TRESEDER KK, ALLEN MF. Direct nitrogen and phosphorus limitation of arbuscular mycorrhizal fungi: a model and field test[J]. *The New Phytologist*, 2002, 155(3): 507-515.
- [29] JOHNSON NC. Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales[J]. *The New Phytologist*, 2010, 185(3): 631-647.
- [30] CAMENZIND T, HEMPEL S, HOMEIER J, HORN S, VELESCU A, WILCKE W, RILLIG MC. Nitrogen and phosphorus additions impact arbuscular mycorrhizal abundance and molecular diversity in a tropical montane forest[J]. *Global Change Biology*, 2014, 20(12): 3646-3659.
- [31] WANG C, WHITE PJ, LI CJ. Colonization and community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in maize roots at different depths in the soil profile respond differently to phosphorus inputs on a long-term experimental site[J]. *Mycorrhiza*, 2017, 27(4): 369-381.
- [32] CHEN YL, ZHANG X, YE JS, HAN HY, WAN SQ, CHEN BD. Six-year fertilization modifies the biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a temperate steppe in Inner Mongolia[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 69: 371-381.
- [33] RINNAN R, MICHELSEN A, ERLAND BÅÅ TH, JONASSON S. Fifteen years of climate change manipulations alter soil microbial communities in a subarctic heath ecosystem[J]. *Global Change Biology*, 2007, 13(1): 28-39.
- [34] KONVALINKOVÁ T, PÜSCHEL D, ŘEZÁČOVÁ V, GRYNĐLEROVÁ H, JANSA J. Carbon flow from plant to arbuscular mycorrhizal fungi is reduced under phosphorus fertilization[J]. *Plant and Soil*, 2017, 419(1): 319-333.
- [35] JOHNSON NC, WILSON GWT, WILSON JA, MILLER RM, BOWKER MA. Mycorrhizal phenotypes and the law of the minimum[J]. *The New Phytologist*, 2015, 205(4): 1473-1484.
- [36] HIGO M, SATO R, SERIZAWA A, TAKAHASHI Y, GUNJI K, TATEWAKI Y, ISOBE K. Can phosphorus application and cover cropping alter arbuscular mycorrhizal fungal communities and soybean performance after a five-year phosphorus-unfertilized crop rotational system?[J]. *PeerJ*, 2018, 6: e4606.
- [37] FAGGIOLI VS, CABELLO MN, GRILLI G, VASAR M, COVACEVICH F, OPIK M. Root colonizing and soil borne communities of arbuscular mycorrhizal fungi differ among soybean fields with contrasting historical land use[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2019, 269: 174-182.
- [38] HONTORIA C, GARCÍA-GONZÁLEZ I, QUEMADA M, ROLDÁN A, ALGUACIL MM. The cover crop determines the AMF community composition in soil and in roots of maize after a ten-year continuous crop rotation[J]. *The Science of the Total Environment*, 2019, 660: 913-922.
- [39] TEDERSOO L, BAHRAM M. Mycorrhizal types differ in ecophysiology and alter plant nutrition and soil processes[J]. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 2019, 94(5): 1857-1880.
- [40] BARBERÁN A, BATES ST, CASAMAYOR EO, FIERER N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 343-351.
- [41] JIANG YL, ZHANG J, MANUEL DB, OP de BEECK M, SHAHBAZ M, CHEN Y, DENG XP, XU ZL, LI J, LIU ZF. Rotation cropping and organic fertilizer jointly promote soil health and crop production[J]. *Journal of Environmental Management*, 2022, 315: 115190.
- [42] SULEIMAN AK, GONZATTO R, AITA C, LUPATINI M, JACQUES R, KURAMAE E, ANTONIOLLI Z, ROESCH L. Temporal variability of soil microbial communities after application of dicyandiamide-treated

- swine slurry and mineral fertilizers[J]. *Soil Biology & Biochemistry*, 2016, 97: 71-82.
- [43] LEVINE JM, D'ANTONIO CM. Elton revisited: a review of evidence linking diversity and invasibility[J]. *Oikos*, 1999, 87(1): 15-26.
- [44] LIU HY, HUANG X, TAN WF, DI HJ, XU JM, LI Y. High manure load reduces bacterial diversity and network complexity in a paddy soil under crop rotations[J]. *Soil Ecology Letters*, 2020, 2(2): 104-119.
- [45] HERREN CM, MCMAHON KD. Cohesion: a method for quantifying the connectivity of microbial communities[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(11): 2426-2438.
- [46] HERNANDEZ DJ, DAVID AS, MENGES ES, SEARCY CA, AFKHAMI ME. Environmental stress destabilizes microbial networks[J]. *The ISME Journal*, 2021, 15(6): 1722-1734.
- [47] LEVEAU JHJ, PRESTON GM. Bacterial mycophagy: definition and diagnosis of a unique bacterial-fungal interaction[J]. *The New Phytologist*, 2008, 177(4): 859-876.
- [48] YE L, ZHAO X, BAO EC, LI JS, ZOU ZR, CAO K. Bio-organic fertilizer with reduced rates of chemical fertilization improves soil fertility and enhances tomato yield and quality[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 177.
- [49] WU ZX, LI HH, LIU QL, YE CY, YU FX. Application of bio-organic fertilizer, not biochar, in degraded red soil improves soil nutrients and plant growth[J]. *Rhizosphere*, 2020, 16: 100264.
- [50] JOHNSON NC, WILSON GWT, BOWKER MA, WILSON JA, MILLER RM. Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(5): 2093-2098.
- [51] ZHANG MG, SHI ZY, YANG M, LU SC, CAO LB, WANG XG. Molecular diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi at different elevations in Mt. Taibai of Qinling Mountain[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 609386.