

DOI: 10.11766/trxb202209070494

何港辉, 沈一, 王梓轩, 卢居勳, 孙波, 陈晏. 多样化培肥模式调控丛枝菌根真菌促进玉米磷素吸收[J]. 土壤学报, 2024, 61(2): 573–582.
HE Ganghui, SHEN Yi, WANG Zixuan, LU Jumeng, SUN Bo, CHEN Yan. Multiple Fertilization Model Controls Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Promote Maize Phosphorus Absorption[J]. Acta Pedologica Sinica, 2024, 61(2): 573–582.

多样化培肥模式调控丛枝菌根真菌促进玉米磷素吸收*

何港辉^{1, 2}, 沈一³, 王梓轩^{1, 2}, 卢居勳^{2, 4}, 孙波^{1, 2}, 陈晏^{2†}

(1. 江西农业大学国土资源与环境学院, 南昌 330045; 2. 土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 3. 江苏省农业科学院经济作物研究所, 南京 210014; 4. 中国科学院大学, 北京 100049)

摘要: 利用丛枝菌根真菌(Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)从农田生态系统获取养分, 是红壤作物吸收土壤磷(P)素的有效途径。针对我国南方红壤生物功能退化、P生物有效性低、作物产量低等问题, 如何调控作物根际AMF群落, 优化其与宿主的互惠共生关系, 是突破红壤区作物P摄取瓶颈的关键。结合红壤旱地生态间作与有机(秸秆、猪粪、生物肥)无机肥料配施的4种多样化培肥措施, 基于作物产量和红壤磷素活化水平, 筛选最优培肥模式, 并进一步利用扩增子高通量测序和显微观察等技术, 解析红壤旱地最优培肥措施调控AMF群落组成, 揭示优化的AMF群落激发宿主玉米磷素摄取机理。结果表明: 相较于玉米单作配合常规化肥(Mo+NPK), 花生/玉米间作结合秸秆/生物肥的有机无机配施(In+NPKSB)使红壤旱地全磷(TP)提高29.07%、有效磷(AP)提升1.35倍, 且增强了玉米根内AMF群落科水平间的联系。该措施AMF定殖率是传统化肥措施的2.24倍, 玉米根际酸/碱性磷酸酶(ACP/ALP)活性提高32.18%和41.66%, 玉米生物量提高34.98%, 产量提高67.27%。研究证实红壤旱地花生/玉米生态间作结合秸秆/生物肥有机无机配施的培肥措施可通过优化玉米根内AMF群落组成, 促进土壤P活化, 为在红壤旱地因地制宜推广可持续农业发展的集成应用提供理论依据。

关键词: 网络构建; 磷素有效性; 多样化培肥; 丛枝菌根真菌; 有机无机肥料

中图分类号: S154.36 文献标志码: A

Multiple Fertilization Model Controls Arbuscular Mycorrhizal Fungi to Promote Maize Phosphorus Absorption

HE Ganghui^{1, 2}, SHEN Yi³, WANG Zixuan^{1, 2}, LU Jumeng^{2, 4}, SUN Bo^{1, 2}, CHEN Yan^{2†}

(1. College of Land Resources and Environment, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; 2. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 3. Economic Crops Research Institute, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China; 4. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: [Objective] The use of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) to obtain nutrients from agricultural ecosystems is an

* 国家自然科学基金项目(41977098)、江苏省自然科学基金项目(BK20191510)和国家重点研发计划项目(2022YFD1900600)资助
Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 41977098), the Natural Science Foundation of Jiangsu Province (No. BK20191510), and the National Key R&D Program of China (No. 2022YFD1900600)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: chenyan@issas.ac.cn

作者简介: 何港辉(1997—), 男, 湖北黄冈人, 硕士研究生, 主要从事土壤微生物多样性研究。E-mail: heganghui0517@163.com

收稿日期: 2022-09-07; 收到修改稿日期: 2023-04-12; 网络首发日期(www.cnki.net): 2023-06-29

effective way for red soil crops to acquire soil phosphorus (P). Given the problems of biological function degradation, low phosphorus bioavailability, and low crop yield in red soil in southern Southern China, how to regulate the AMF community in the rhizosphere of crops and optimize the mutualistic symbiotic relationship with the host is the key to breaking the bottleneck of crop phosphorus uptake in the red soil regions. 【 Method 】 In this study, four diversified fertilization measures were combined with ecological intercropping in red soil dryland with organic (straw, pig manure, bio-fertilizer) and inorganic fertilizers, and the optimal fertilization mode was screened based on crop yield and phosphorus activation level in red soil. Further, we used amplicon high-throughput sequencing and microscopic observation techniques to analyze the effect of optimal fertilization measures in red soil dryland on the composition of the AMF community. Also, a deduction of the mechanism through which the optimized AMF community stimulates the host maize phosphorus uptake was performed. 【 Result 】 The results showed that the organic-inorganic application of peanut/maize intercropping combined with straw/biofertilizer (In+NPKSB) increased total phosphorus (TP) and available phosphorus (AP) by 29.07% and 1.35 times in red soil dryland compared with maize monocropping combined with conventional fertilizers (Mo+NPK). Moreover, the relationship between AMF family levels in maize roots was enhanced. The AMF colonization rate of this measure was 2.24 times higher than that of the traditional fertilization measures, the activities of acid/alkaline phosphatase (ACP/ALP) in the maize rhizosphere were increased by 32.18% and 41.66%, and maize biomass and yield was increased by 34.98% and 67.27%, respectively. 【 Conclusion 】 The study confirmed that the fertilization measures of peanut/maize ecological intercropping in red soil dryland combined with the organic and inorganic application of straw/bio-fertilizer can optimize the AMF community composition in maize roots, activate soil phosphorus availability, and improve the phosphorus transport efficiency of host roots. This study, therefore, provides a theoretical basis for promoting the integrated application of sustainable agricultural development in red soil dryland according to local conditions.

Key words: Network construction; Phosphorus availability; Diversified fertilization; Arbuscular mycorrhizal fungi; Organic and inorganic fertilizers

我国南方红壤酸化和富铁铝氧化物的特征, 导致磷 (P) 素大量固定^[1], 严重制约了农田养分资源的高效利用和土壤生产力的提高^[2]。化学磷肥的大量施用在维持作物产量、满足产能需求的同时, 加剧了红壤酸化、生物多样性丧失等生态问题^[3-4]。如何因地制宜优化耕地培肥措施, 提高红壤 P 高效利用实现作物稳产, 成为该地区土壤健康可持续发展亟待解决的问题^[5]。

在集约化农田生态系统中, 作物多样化种植方式和有机无机肥料配比的培肥措施能有效提高土壤养分资源利用效率^[6-7]。基于我国西北旱地玉米与豆科间作土壤富磷增产现象, Li 等^[8]提出豆科作物地下异质性资源 (如: 磷酸酶、质子、羧酸盐等) 活化土壤 P 提升禾本科根际 P 摄取的机制。不同于作物多样化模式改良途径, 有机无机肥料配施 (如化肥与秸秆/猪粪配施、化肥与秸秆/生物肥配施、化肥与生物肥或猪粪配施) 通过物料配比输入, 激发土壤生物碳-磷和氮-磷耦合活化, 实现土壤有效养分的扩容与缓释^[9]。以化肥/猪粪配施措施为例, 猪粪

中易分解有机碳输入调控跨界生物间的定向捕食^[10]和平级微生物间生态位竞争^[11], 靶向提高红壤有机磷矿化真菌尤其是丛植菌根真菌丰度, 增强红壤 P 的生物有效性^[12]。尽管基于轮间作或有机无机配施的各种单项措施对红壤磷素的生物活化功能得到了验证, 但有关各单项技术的配套集成, 是否发挥“1+1>2”叠加效应, 更有效提升红壤磷素资源利用还未得到充分证实。

丛枝菌根真菌 (Arbuscular mycorrhizal fungi, AMF) 是一类能与大多数陆地植物根系建立互惠共生关系的微生物^[13]。大量研究证实, 植物 AMF 的有效定殖有利于宿主根际有效磷的吸收^[14-15]。植物根内 AMF 的多样性与其生产力呈显著正相关^[16]。然而, 土壤 AMF 的组成及其对宿主的有效定殖受多种人为因素的干扰: 高化肥养分的投入、高密度单作和高频率翻耕导致集约化农田 AMF 群落的多样性和植物定殖量的降低^[17-19], 限制了 AMF 对 P 养分转化功能的发挥。相反, 增加农田作物多样性可优化 AMF 群落组成, 提高物种丰富度^[16]。而有机

物料投入改变土壤生物群落捕食结构，刺激 AMF 菌群生态活性^[20]。因此，明确旱地作物多样性的增加配合有机无机肥料配施如何调控土壤 AMF 群落组成及对宿主的定殖，是评估培肥措施调控红壤磷素高效利用的重要途径。

为筛选适用于红壤作物吸磷的优化培肥措施，本研究依托中国科学院红壤鹰潭生态实验站设置的玉米/花生间作配套多样化有机无机配施培肥试验平台，比较长期不同培肥措施下土壤磷素有效性与作物生产力的演变规律，筛选出最优的间作配套有机无机配施培肥措施，并进一步利用高通量测序技术解析最优配套培肥措施下 AMF 多样性及其群落组成特征，以明确最优培肥措施调控特异性 AMF 的定殖及对玉米根内磷吸收潜力的影响，为红壤旱地促磷培肥及耕地质量提升配套技术推广提供理论与技术支撑。

1 材料与amp;方法

1.1 研究区概况

试验样地位于江西省鹰潭市中国科学院红壤生态实验站西部 (28°13'N, 116°55'E)。试验区属中亚热带季风气候，年均气温 17.8 °C，年降水量 1 741 mm。试验区土壤为第四纪红色黏土发育的旱地红壤。

1.2 田间试验设计

玉米/花生间作配套多样化有机无机配施培肥试验建立于 2017 年春，种植模式为玉米单作和玉米/花生间作。间作方式为 3 行玉米 4 行花生，南北向条带间作。各小区面积 432 m² (36 m × 12 m)，种植行距 0.5 m，玉米株距 0.3 m，花生株距 0.2 m。试验使用的玉米品种为“苏玉 24”，花生品种为“赣花 5 号”。

试验设置 5 个处理：①玉米单作配合常规化肥 (Mo+NPK)：尿素 350 kg·hm⁻²、钙镁磷肥 650 kg·hm⁻²、钾肥 100 kg·hm⁻²；②玉米/花生间作配合秸秆/猪粪配施培肥 (In+NPKSM)：减施氮肥配合玉米秸秆 420 kg·hm⁻²、猪粪 510 kg·hm⁻²；③玉米/花生间作配合秸秆/生物肥配施培肥 (In+NPKSB)：减施氮肥配合玉米秸秆 690 kg·hm⁻²、蚯蚓粪肥 1 250 kg·hm⁻²；④玉米/花生间作配合猪粪配施 (In+NPKM)：减施氮肥配合猪粪 600 kg·hm⁻²；⑤玉米/花生间作配合生

物肥配施 (In+NPKB)：减施氮肥配合蚯蚓粪肥 1 640 kg·hm⁻²。处理②至⑤中减施氮肥方式为尿素 320 kg·hm⁻²、钙镁磷肥 650 kg·hm⁻²、钾肥 100 kg·hm⁻²。每个处理设置 3 个重复，共 15 个小区。

1.3 土壤及玉米样品采集

为跟踪土壤养分动态变化，2017 年、2019 年和 2021 年 7 月底 (玉米收获期) 分别于各小区按 S 型 (7 点) 采样法采集 0 ~ 20 cm 表层土壤样品，每份样品混合均匀后收集 600 g，风干过筛用于测定土壤理化性质。各小区玉米区随机选择 0.5 m × 0.5 m 的样方，采集样方内玉米植株，测定作物产量及生物量。

基于长期不同培肥措施下作物产量及土壤 P 有效性稳定提升最大原则，筛选出玉米/花生间作配合秸秆/生物肥配施 (In+NPKSB) 处理为最优配套培肥措施。2021 年，选择 In+NPKSB 和玉米单作结合常规化肥措施 (Mo+NPK) 两个处理，在玉米收获期收集玉米根际土和玉米根样品，用于 AMF 的扩增子高通量测序，以进一步解析最优培肥措施对 AMF 群落及的影响。在玉米收获期，Mo+NPK 和 In+NPKSB 处理玉米根系周边松土后，拔出玉米根轻轻抖落根上的土壤后，使用毛刷将附着在根部土壤刷下作为根际样品，同时收集玉米根系样品。每个处理 6 个重复，新鲜样品迅速置于液氮冷冻，存储于 -80 °C 冰箱，用于 AMF 的扩增测序。

1.4 土壤理化性质测定

全磷 (TP) 采用高氯酸-硫酸酸溶/钼锑抗比色法测定；有效磷 (AP) 经碳酸氢钠提取后，采用钼锑抗比色法测定^[21]。土壤酸性磷酸酶 (ACP) 和碱性磷酸酶 (ALP) 活性采用磷酸苯二钠比色法测定^[22]。

1.5 AMF 高通量测序及生物信息学分析

选取 2021 年 In+NPKSB 和 Mo+NPK 处理的根际土和植物根系样品，取 0.5 g 土壤或根系样品，参考试剂盒 Fast DNA Spin Kit for Soil (MP bio, USA) 和 Plant DNA Isolation Reagent (Takara, Japan) 提取土壤和植物总 DNA。并用 NanoDrop (NanoReady, China) 检测 DNA 浓度 (> 100 ng·μL⁻¹) 和质量 (A260/A280 > 1.8 并且 A260/A230 > 1)。采用巢式 PCR 方法对样品 DNA 进行扩增。选用 AMV4.5NF (5'-AAGCTCGTAGTTGAATTCG-3') 和 AMDGR (5'-CCCAACTATCCCTATTAATCAT-3') 为 AMF 18S 特异性引物^[23]。PCR 反应参数如下：预变性 94 °C 3 min, 变性 94 °C 45 s, 退火 60 °C 45 s, 延伸 72 °C

1 min 和最终延伸 72 °C 7 min, 35 个循环后 4 °C 保温^[24]。使用 Illumina MiSeq 平台 (Illumina Inc., USA) 进行文库制备和高通量测序。

1.6 网络构建

基于随机矩阵理论 (RMT, random matrix theory) 的方法, 通过计算所有 OTU 两两配对的 Spearman 相关性 ($P < 0.01$) 来构建共现网络, 所有的网络分析都是使用分子生态网络分析方法 (<http://ieg2.ou.edu/MENA/>) 进行的^[25]。使用 Gephi 软件 (版本 0.9.2) 可视化共生网络。每个节点的拓扑作用是基于两个属性确定的: 模块内连通性 (Z_i , 节点与同一模块中其他节点的连接程度) 和模块间连通性 (P_i , 节点与其他模块中节点的连接程度)^[26-27]。网络节点分为四类: ①外围节点 ($Z_i \leq 2.5$, $P_i \leq 0.62$), 连接数少, 基本是与模块内部节点相连接; ②模块枢纽 ($Z_i > 2.5$, $P_i \leq 0.62$), 与模块内部的节点高度连接; ③连接器 ($Z_i \leq 2.5$, $P_i > 0.62$), 与其他模块的节点高度连接; ④网络枢纽 ($Z_i > 2.5$, $P_i > 0.62$), 既与其他模块的节点高度连接, 又与模块内部的节点高度连接。通常认为, $Z_i > 2.5$ 或者 $P_i > 0.62$ 的节点是关键节点, 在与模块内或模块间的节点连接中发挥重要作用^[27]。

1.7 菌根观察及定殖率的评估

为验证田间植物磷素有效性, 同时设置盆栽实验: 收集 Mo+NPK 和 In+NPKSB 处理各 70 kg 土样, 玉米生长两个月收获根系样本用于评估两个处理间定殖率的差异, 每个处理设置 7 个重复。用蒸馏水将玉米根系仔细冲洗三次, 去除土壤颗粒后切成 1 cm 长的组织块。随机选取组织块浸没于 10% KOH 溶液沸水浴 45 min。蒸馏水冲洗后用 1% HCl 浸泡 15 min, 10% 双氧水漂白 10 min。用蒸馏水将根清洗干净, 用 0.02% 苯胺蓝溶液, 室温染色 2 h。在 100~400 倍率复合显微镜下, 每个重复检测 50 个根片段观察菌根真菌的定殖情况^[28] (如侵入点、菌丝、泡囊等)。根据菌根真菌定殖频率进行逐级打分 (0、10、20、30、...100, 以 10 为一级) 逐级打分。菌根真菌的定殖频率标准为: 没有菌根的分值为 0, 1/2 长度根段被定殖形成菌根分值为 50, 全部根段被定殖分值为 100, 以此类推。记录每个打分级别根段数, 根段数与其等级乘积之和除以总根段数, 即为该样品植物菌根真菌总定殖率:

$$\text{定殖率}(\%) = \frac{\sum(0 \times \text{根段数} + 10 \times \text{根段数} + 20 \times \text{根段数} + \dots + 100 \times \text{根段数})}{\text{观察总根段数}}$$

1.8 数据处理

数据差异显著性分析采用方差分析法 (ANOVA, Analysis of Variance)。单因素方差分析 (One-way ANOVA) 中的邓肯检验 (Duncan's test, $P < 0.05$) 用于检测不同样地间玉米生产力、土壤理化性质以及土壤磷酸酶活性的差异显著性。采用配对 t 检验检验不同处理对 AMF 多样性指数、定殖率的影响。皮尔森相关性分析 (Pearson's correlation analyses) 用来检测土壤理化性质和玉米产量、生物量以及土壤磷酸酶活性和 AMF 定殖率之间的相关关系。Adonis 多元方差分析用以检验群落结构差异的显著性。AMF 群落多样性指数、主坐标分析 (PCoA, Principal Co-ordinates Analysis) 在 R 3.6.3 的 "vegan" 包中完成, 后在 GraphPad Prism 8.0 软件中完成作图。

2 结果

2.1 生态间作结合有机无机配施培肥稳定提升土壤磷素有效性和玉米产量

长期生态间作结合有机无机配施的多样化培肥方式促进了玉米的生长和生产力的提高。培肥早期 (2017 年) 各处理玉米生物量和产量无明显变化 ($P > 0.05$, 表 1)。随着培肥时限增长 (2019 年), 不同多样化培肥措施的玉米生物量和产量, 相较于传统单作化肥 Mo+NPK 平均提高了 29.65% 和 42.41% ($F = 5.225$, $P = 0.016$; $F = 5.319$, $P = 0.015$), 其中玉米/花生间作配合秸秆/猪粪配施培肥 (In+NPKSB) 对作物生产力提升效果最为明显, 生物量提高 34.66%, 产量提高 54.64% 达 7.66 t·hm⁻²。种植第 5 年 (2021 年), 多样化培肥措施的增产趋势与 2019 年相似: In+NPKSB 玉米生物量与产量仍为最高, 分别是传统单作的 1.35 倍和 1.68 倍 ($F = 11.774$, $P = 0.001$; $F = 6.475$, $P = 0.008$)。其他三种培肥措施 (In+NPKSM, In+NPKM, In+NPKB) 与传统单作相比, 生物量提高 2.06% ~ 8.23% ($F = 11.774$, $P < 0.001$), 增产 35.91% ~ 44.75% ($F = 6.475$, $P = 0.008$, 表 1)。

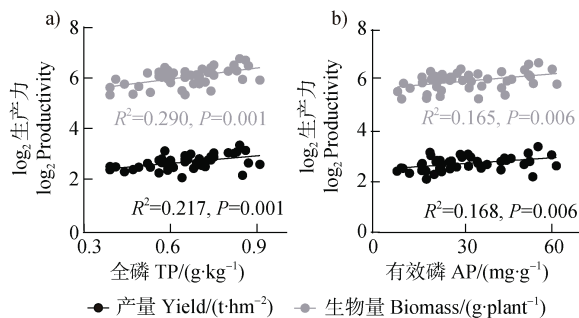
表 1 不同处理和年份间玉米生产力差异

Table 1 Differences in maize productivity among different treatments and years

处理 Treatment	产量 Yield/ (t·hm ⁻²)			生物量 Biomass/ (g·plant ⁻¹)		
	2017 年	2019 年	2021 年	2017 年	2019 年	2021 年
Mo+NPK	5.68±0.26a	4.96±0.58b	5.55±0.57b	52.56±11.27ab	56.27±9.05c	79.98±4.61bc
In+NPKSM	5.62±0.21a	6.64±0.48a	7.54±1.34a	46.83±5.31b	65.46±8.07bc	81.62±6.70bc
In+NPKM	6.17±1.54a	6.89±1.04a	7.77±0.52a	57.94±9.72ab	65.88±5.52bc	69.90±1.87c
In+NPKB	6.25±0.86a	7.04±0.59a	8.03±0.88a	71.59±11.80a	84.72±11.16a	86.56±7.96b
In+NPKSB	6.23±0.59a	7.66±0.94a	9.35±1.08a	57.31±15.34ab	75.78±6.26ab	105.77±9.45a

注: Mo+NPK, 玉米单作+常规 NPK; In+NPKSM, 玉米/花生间作+秸秆/猪粪配施; In+NPKM, 玉米/花生间作+猪粪配施; In+NPKB, 玉米/花生间作+生物肥配施; In+NPKSB, 玉米/花生间作+秸秆/生物肥配施。每列无相同小写字母表示同年不同处理间参数差异显著 ($P < 0.05$)。Note: Mo+NPK, corn monocropping + conventional NPK; In+NPKSM, corn/peanut intercropping + conventional NPK with straw and pig manure; In+NPKM, corn/peanut intercropping + conventional NPK with pig manure; In+NPKB, corn/peanut intercropping + conventional NPK with biological fertilizer; In+NPKSB, corn/peanut intercropping + conventional NPK with straw and biofertilizer. Different lowercase letters of each column in the table indicate significant differences among different treatments in the same year ($P < 0.05$).

农田玉米生产力的改变可归因于土壤 P 及其有效性的提升: 作物生物量与产量均与土壤全磷及有效磷的含量呈显著正相关 ($R^2 = 0.165 \sim 0.290$, $P < 0.01$, 图 1)。长期多样化培肥, 土壤有效磷供应量逐步增加。尤其是 In+NPKSB, 到培肥第 5 年, 有效磷的含量是 Mo+NPK 的 1.37 倍 ($F = 40.056$, $P < 0.001$, 表 2)。与土壤有效磷表征一致, In+NPKSB 处理中, 涉及有效磷释放的土壤酸、碱磷酸酶活性高于 Mo+NPK 32.18% ($F = 4.316$, $P = 0.009$)、41.66% ($F = 4.656$, $P = 0.006$, 图 2); 涉及 P 吸收的植物 P 含量高于 Mo+NPK 33.33% ($F = 12.288$, $P = 0.001$, 表 2)。



注: a), 土壤全磷 TP 与基于玉米产量和生物量指征的生产力的相关性; b), 土壤有效磷 AP 与基于玉米产量和生物量指征的生产力的相关性。Note: a), correlation between soil total phosphorus (TP) and productivity based on maize yield and biomass; b), correlation between soil available phosphorus (AP) and productivity based on maize yield and biomass.

图 1 玉米生产力与土壤理化性质的关系

Fig. 1 Relationship between maize productivity and soil physicochemical properties

2.2 培肥措施对玉米根际和根系 AMF 群落多样性及其组成的影响

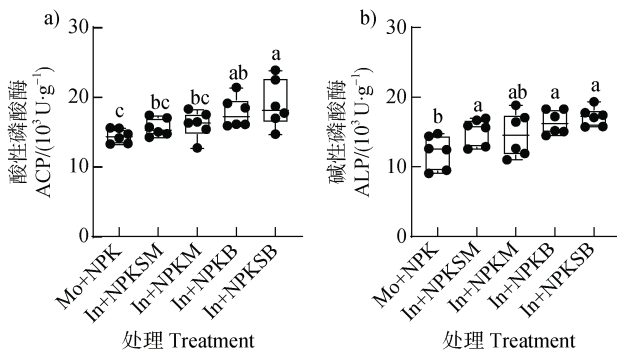
基于田间土壤磷素有效性及作物产量历史增长规律, 研究筛选出 In+NPKSB 为多样化培肥举措中的最优培肥措施。为探讨生态间作结合有机无机配施是否并如何塑造丛枝菌根真菌群落以调控作物磷素摄取的科学问题, 本研究利用分子生物学手段, 选择 In+NPKSB 和 Mo+NPK 处理玉米根际及根系, 解析 AMF 群落多样性及其组成差异。微生物 Chao1 指数, Shannon 指数被用于分析 AMF 群落的 alpha 多样性。以上指数均显示, 最优培肥玉米根系的 AMF 群落 alpha 多样性指数高于传统化肥玉米根系 ($P < 0.05$), 而两种处理玉米根际的 AMF 群落 alpha 多样性指数在统计学上并不具有显著性差异 ($P > 0.05$, 图 3a、图 3b)。

进一步利用主坐标分析法 (Principal co-ordinates Analysis, PCoA) 解析玉米根际和根内 AMF 群落 beta 多样性。结果表明, PCoA 对 AMF 群落以根际和根内位点区分的轴 1 解释率为 54.11%; 以培肥处理区分的轴 2 解释率为 15.77% (图 3c)。利用 Adonis 多元方差分析, 本研究发现玉米根内定殖的 AMF 群落受到培肥处理的显著影响 ($P = 0.032$), 而玉米根际 AMF 群落在两种培肥措施下组成无明显差异 ($P = 0.572$)。AMF 群落主要由球囊霉科 (Glomeraceae, 相对丰度 54.53%)、碎囊霉科 (Claroideoglomeraceae, 相对丰度 17.40%)、类球囊霉科 (Paraglomeraceae, 相对丰度 11.48%)、无梗囊霉科 (Acaulosporaceae,

表 2 不同处理和年份间土壤磷素差异

Table 2 Differences of soil phosphorus among different treatments and years

处理 Treatment	全磷 Total phosphorus/($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)			有效磷 Available phosphorus/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)		
	2017 年	2019 年	2021 年	2017 年	2019 年	2021 年
Mo+NPK	0.4±0.01e	0.56±0.1b	0.63±0.08b	7.24±1.05d	13.8±3.04c	23.41±3.99bc
In+NPKSM	0.5±0.03d	0.65±0.05ab	0.58±0.07b	19.41±2.85c	23.56±8.1b	17.69±3.22c
In+NPKM	0.83±0.09a	0.64±0.08ab	0.63±0.05b	52.62±8.98a	30.38±5.62b	22.15±5.7c
In+NPKB	0.59±0.02c	0.79±0.07a	0.76±0.03a	20.93±1.11c	45.98±4.01a	30.87±2.96b
In+NPKSB	0.67±0.02b	0.75±0.07a	0.84±0.02a	37.86±4.01b	49.25±4.51a	55.41±4.12a



注: a), 酸性磷酸酶 ACP; b), 碱性磷酸酶 ALP。图上方不同小写字母表示不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。Note: a), acid phosphatase ACP; b), alkaline phosphatase ALP. Different lowercase letters above the figure indicate significant differences among different treatments ($P < 0.05$).

图 2 培肥后期各处理的磷酸酶活性的差异

Fig. 2 Differences of phosphatase activity among treatments in the later stage of fertilization

相对丰度 7.57%) 和巨孢囊霉科 (Gigasporaceae, 相对丰度 6.76%) 组成。在根际土中, 培肥与传统种植模式间各 AMF 组成差异不明显 ($P > 0.05$)。然而针对玉米根内定殖的 AMF, 培肥降低了球囊霉科相对丰度; 取而代之的是, 碎囊霉科和巨孢囊霉科相对丰度分别提高了 1.24 倍 ($F = 60.292, P = 0.001$) 和 3.13 倍 ($F = 30.610, P = 0.001$)。以上科水平的 AMF 微生物组丰度变化是玉米根定殖的 AMF 群落组成产生差异的关键 (图 3d)。

2.3 培肥措施对玉米根系 AMF 群落的影响及关键物种的确定

为进一步探究培肥调控玉米定殖的 AMF 群落的关键物种, 利用 RMT 的随机网络, 分别构建 Mo+NPK 和 In+NPKSB 处理根内定殖 AMF 微生物网络 Mor 和 Inr。总体而言, Inr 微生物共生网络更复杂。通过计算微生物分子网络节点的模块内连通

度 (Z_i) 和模块间连通度 (P_i), 研究比较了玉米根内 AMF 微生物网络节点的拓扑学角色分布, 并发现 3 个网络核心物种 (连接器: OTU316, OTU546 和 OTU788) 均分布于 Inr 中, 而 Mor 中并未发现核心物种 (图 4)。以上的三个关键物种分别与巨孢囊霉科巨孢囊霉属、球囊霉科球囊霉属和碎囊霉科近明球囊霉属最为接近 (识别率 100%), 这些关键种在培肥措施的影响下增加了玉米根内微生物模块间的联系。

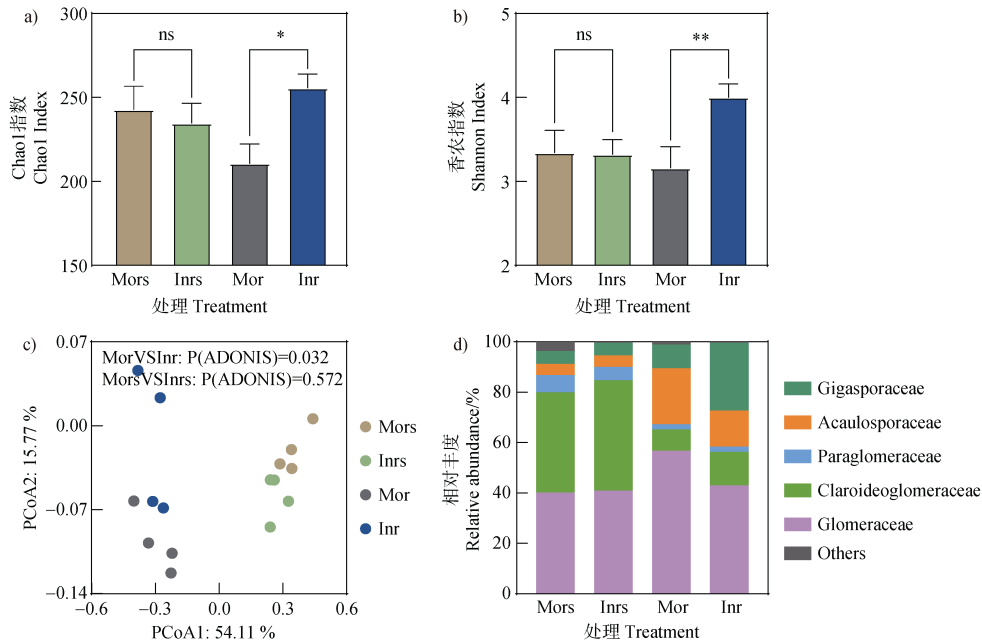
2.4 培肥措施对玉米 AMF 根内定殖的影响

为探明培肥对玉米根内 AMF 群落组成的影响是否调控玉米根系 AMF 的定殖, 利用染色法观察 AMF 的根内定殖。显然, 玉米根段 AMF 定殖率是 Mo+NPK 的 2.24 倍 ($F = 247.514, P < 0.001$, 图 5a)。伴随 AMF 定殖率的提高, 土壤磷酸酶的活性明显增强 ($R^2 = 0.510-0.763, P < 0.01$, 图 5b)。暗示玉米/花生间作配合秸秆/生物肥配施培肥可通过激发 AMF 定殖促进玉米根系对有效磷的吸收。

3 讨论

3.1 生态间作结合有机无机配施培肥提升作物生产力

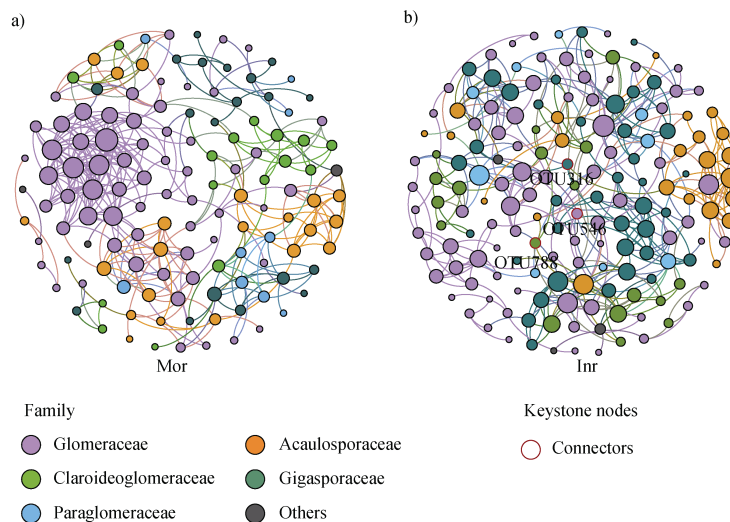
农田作物多样性的增加已被证实可稳定提升作物生产力^[29]。相似地, 秸秆、猪粪等有机物料与化肥配施也具有促进耕地产能的潜力^[30]。基于 5 年的时间序列跟踪调查, 本研究证实, 红壤旱地作物低多样化种植 (如花生/玉米间作) 配合秸秆与生物肥配施可通过提高土壤 P 的活化和作物 P 吸收, 提升耕地生产力 (图 1)。轮间作和施肥管理改善功能性植物种植和有机物料输入增加异质性资源供应, 实



注：a)，Chao1 指数；b)，香农指数；c)，主坐标分析 PCoA；d)，科水平相对丰度。Mors，传统化肥玉米根际；Inrs，最优培肥玉米根际；Mor，传统化肥玉米根系；Inr，最优培肥玉米根系。图中*代表不同显著性水平（***表示 $P < 0.001$ ，**表示 $P < 0.01$ ，*表示 $P < 0.05$ ，ns 表示 $P > 0.05$ ）。Glomeraceae，球囊霉科；Claroideoglomeraceae，碎囊霉科；Paraglomeraceae，类球囊霉科；Acaulosporaceae，无梗囊霉科；Gigasporaceae，巨孢囊霉科。Note: a)，Chao1 index; b)，Shannon index; c)，principal co-ordinates analysis; d)，relative abundance at family level. Mors, traditionally fertilized corn rhizosphere; Inrs, optimally fertilized corn rhizosphere; Mor, traditionally fertilized corn root system; Inr, optimally fertilized corn root system. * in the figure represents different significance levels (***) means $P < 0.001$, ** means $P < 0.01$, * means $P < 0.05$, ns means $P > 0.05$).

图 3 不同处理对根际和根系 AMF 群落多样性和组成的影响

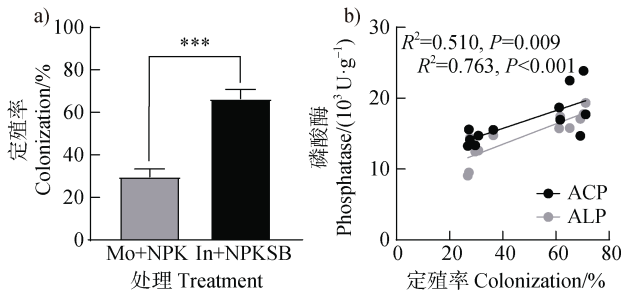
Fig. 3 Effects of different treatments on the diversity and composition of rhizosphere and root AMF communities



注：a)，传统化肥措施 Mo+NPK 根系 AMF 微生物网络；b)，最优培肥措施 In+NPKSB 根系 AMF 微生物网络。每个节点代表一个 OTU。不同节点颜色代表不同科水平 AMF，边的颜色与节点颜色相同。节点的大小代表该 OTU 的度。网络中的关键节点由连接器表示。Note: a)，AMF microbial network in roots with traditional fertilization measures; b)，AMF microbial network in roots with optimal fertilization measures. Each node represents an OTU. Different node colors represent AMF at different family levels, the edge color is the same as the node color. The size of the node represents the abundance of the OTU. The key nodes in the network are represented by connectors.

图 4 不同处理玉米根系 AMF 群落共现性网络

Fig. 4 Co-occurrence network of AMF community in maize roots under different treatments



注: a), AMF 定殖率; b), AMF 定殖率与土壤磷酸酶的相关性。
Note: a), AMF infection rate; b), correlation between AMF colonization rate and soil phosphatase.

图 5 不同处理对玉米根系 AMF 的定殖的影响

Fig. 5 Effects of different treatments on the colonization of AMF in maize roots

现集约化农田生态系统生物功能补偿,提升对环境养分胁迫的抵御^[31-32]。国内外研究者们达成的共识是间作豆科植物可通过根瘤菌的共生固氮提高邻近植物土壤氮素的有效性^[33-34]。而秸秆、生物肥等有机物外源施加,激发微生物胞外酶分泌促进贫瘠土壤有机碳的周转^[35]。针对南方红壤低 P 胁迫,豆科花生识别间作的邻近植物,释放气体分子调控功能微生物活化土壤养分,可能是提升 P 有效性的有效途径。而蚯蚓粪等生物肥,经蚯蚓肠道菌群的代谢,易分解有机物输入增强了有机磷矿化菌的生存竞争能力,加速了环境中有机磷的矿化和磷的富集^[11,36]。这可能是本研究中 In+NPKSB 处理显著提高了土壤磷酸酶活性的原因(图 2)。

3.2 玉米/花生间作配合秸秆/生物肥配施措施调控宿主根内 AMF 群落

植物轮间作与有机无机配施等单项技术均被证实可改变作物根际微生物组成,重塑了根内微生物群落组装^[37]。本研究证实,红壤旱地的花生/玉米生态间作配合秸秆与生物肥配施的综合培肥技术能靶向提升玉米根内 AMF 群落丰富度,改变群落组成结构(图 3)。种间植物地下异质性分泌物(如脂肪酸、氨基酸、有机酸等)以及外源有机物料分解物质相互渗透为功能微生物的生存提供了能量基础^[38]:一方面,玉米与豆科作物间作能优化 AMF 群落结构促进宿主对营养元素的吸收来增加间作优势^[39];另一方面,部分痕量化合物对特异性微生物的选择性激发效应也是引起微生物组成及生态行为改变的关键,从而加强了农业生态系统中 AMF 等功能菌群落与植物互作能力^[40]。两者皆利于花生/玉米间作结合

有机无机配施优化 AMF 群落组装(图 4)。环境微生物个体并不孤立,往往以复杂的多阶互作关系共存,构成微生物网络群体^[41]。相比传统单作化肥措施,培肥措施下玉米根内 AMF 群落的关键物种增强了物种间交互关系,以提升宿主的生态适应性,有效促进植物的养分吸收和生长^[42]。

3.3 玉米/花生间作配合秸秆/生物肥配施调控玉米有效磷素吸收机制

最优培肥措施下,微生物网络中的关键物种(巨孢囊霉属、球囊霉属、近明球囊霉属)分别隶属于巨孢囊霉科、球囊霉科和碎囊霉科。这些关键物种增强了 AMF 群落间的物种交互作用。碎囊霉科在豆科和禾本科间作系统中,具有较高的定殖率,能优化功能菌丝扩散速率^[43]。大部分球囊霉科 AMF 的菌丝分布于宿主根内,而多数巨孢囊霉科 AMF 的菌丝生长于根外。两者共存于宿主根部微域不同的生态位,增强了微域界面对土壤磷素的截获与转运的功能互补性^[44]。在跨界物种互作方面,植物根外菌丝的延展性分布如同“高速公路”,为土壤解磷细菌等功能细菌生存与运动提供了广阔的栖息地^[45]。而从枝菌根真菌菌丝分泌的果糖类信号分子进一步激活功能菌磷酸酶的分泌,加速菌丝际磷素的活化^[46]。这在一定程度上解释了优化培肥措施下 AMF 定殖率越高、磷酸酶活性越强的原因(图 5)。本研究中,生态间作结合优化的培肥措施通过改善玉米根内 AMF 群落的结构增加 AMF 定殖来促进宿主磷素吸收,提升玉米生产力。

4 结 论

红壤玉米/花生间作配合秸秆/生物肥配施是稳定提升贫瘠红壤磷素生物有效性的最优培肥措施。该措施改变了玉米根内 AMF 群落的多样性,激发了群落中关键 AMF 菌群(球囊霉科、碎囊霉科和巨孢囊霉科)增强内生微生物网络互作关系。玉米根系 AMF 定殖增加,根外磷酸酶活性增强,利于有机磷矿化,促进作物产量提高。研究为红壤旱地因地制宜建立并推广生物培肥措施提升红壤耕地地力,开辟靶向调控土壤微生物功能技术途径。

参考文献 (References)

- [1] MacDonald G K, Bennett E M, Potter P A, et al. Agronomic phosphorus imbalances across the world's croplands[J]. Proceedings of the National Academy of

- Sciences of the United States of America, 2011, 108(7): 3086—3091.
- [2] Lu R K. The phosphorus level of soil and environmental protection of water body[J]. Phosphate & Compound Fertilizer, 2003, 18(1): 4—8. [鲁如坤. 土壤磷素水平和水体环境保护[J]. 磷肥与复肥, 2003, 18(1): 4—8.]
- [3] Zhu Z L, Jin J Y. Fertilizer use and food security in China[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizers, 2013, 19(2): 259—273. [朱兆良, 金继运. 保障我国粮食安全的肥料问题[J]. 植物营养与肥料学报, 2013, 19(2): 259—273.]
- [4] Wang C, Liu D W, Bai E. Decreasing soil microbial diversity is associated with decreasing microbial biomass under nitrogen addition[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2018, 120: 126—133.
- [5] Sun B, et al. Control and ecological rehabilitation of red soil degradation[M]. Beijing: Science Press, 2011. [孙波, 等. 红壤退化阻控与生态修复[M]. 北京: 科学出版社, 2011.]
- [6] Zhang F S, Cui Z L, Wang J Q, et al. Current status of soil and plant nutrient management in China and improvement strategies[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2007, 42(6): 687—694. [张福锁, 崔振岭, 王激清, 等. 中国土壤和植物养分管理现状与改进策略[J]. 植物学通报, 2007, 42(6): 687—694.]
- [7] Zhang S X, Zhang W J, Shen R F, et al. Variation of soil quality in typical farmlands in China under long-term fertilization and research expedition[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2015, 21(6): 1389—1393. [张淑香, 张文菊, 沈仁芳, 等. 我国典型农田长期施肥土壤肥力变化与研究展望[J]. 植物营养与肥料学报, 2015, 21(6): 1389—1393.]
- [8] Li L, Tilman D, Lambers H, et al. Plant diversity and overyielding: Insights from belowground facilitation of intercropping in agriculture[J]. New Phytologist, 2014, 203(1): 63—69.
- [9] Jiao J X, Yang W, Li Y Y, et al. Impact of combined manure and chemical fertilization on nitrogen leaching from paddy field in red earth hilly area of China[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2014, 33(6): 1159—1166. [焦军霞, 杨文, 李裕元, 等. 有机肥化肥配施对红壤丘陵区稻田土壤氮淋失特征的影响[J]. 农业环境科学学报, 2014, 33(6): 1159—1166.]
- [10] Jiang Y J, Qian H Y, Wang X Y, et al. Nematodes and microbial community affect the sizes and turnover rates of organic carbon pools in soil aggregates[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2018, 119: 22—31.
- [11] Chen Y, Sun R B, Sun T T, et al. Evidence for involvement of keystone fungal taxa in organic phosphorus mineralization in subtropical soil and the impact of labile carbon[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2020, 148: 107900.
- [12] Hu K J, Luan L, Zheng J, et al. Effects of different treatments with straw returning on arbuscular mycorrhizal fungal community and corn phosphorus utilization efficiency[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60(1): 269—279. [胡凯婕, 栾璐, 郑洁, 等. 秸秆还田方式对丛枝菌根真菌群落和玉米磷素利用的影响[J]. 土壤学报, 2023, 60(1): 269—279.]
- [13] Smith S E, Read D J. Mycorrhizal symbiosis[M]. 3rd ed. New York: Academic Press, 2008.
- [14] Chen M, Arato M, Borghi L, et al. Beneficial services of arbuscular mycorrhizal fungi - From ecology to application[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1270.
- [15] Zhang L, Xu M G, Liu Y, et al. Carbon and phosphorus exchange may enable cooperation between an arbuscular mycorrhizal fungus and a phosphate-solubilizing bacterium[J]. New Phytologist, 2016, 210(3): 1022—1032.
- [16] Guzman A, Montes M, Hutchins L, et al. Crop diversity enriches arbuscular mycorrhizal fungal communities in an intensive agricultural landscape[J]. New Phytologist, 2021, 231(1): 447—459.
- [17] Bakhshandeh S, Corneo P E, Mariotte P, et al. Effect of crop rotation on mycorrhizal colonization and wheat yield under different fertilizer treatments[J]. Agriculture, Ecosystems & Environment, 2017, 247: 130—136.
- [18] Pagano M C, Scotti M R, Cabello M N. Effect of the inoculation and distribution of mycorrhizae in *Plathymenia reticulata* Benth under monoculture and mixed plantation in Brazil[J]. New Forests, 2009, 38(2): 197—214.
- [19] Zhang G Y, Zhang L P, Wei M F, et al. Effect of long-term conservation tillage on arbuscular mycorrhizal fungi diversity[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2018, 26(7): 1048—1055. [张贵云, 张丽萍, 魏明峰, 等. 长期保护性耕作对丛枝菌根真菌多样性的影响[J]. 中国生态农业学报, 2018, 26(7): 1048—1055.]
- [20] Jiang Y J, Luan L, Hu K J, et al. Trophic interactions as determinants of the arbuscular mycorrhizal fungal community with cascading plant-promoting consequences[J]. Microbiome, 2020, 8(1): 142.
- [21] Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000. [鲁如坤. 土壤农业化学分析方法[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 2000.]
- [22] Guang S Y. Soil enzymes and their research methods[M]. Beijing: Agriculture Press, 1986. [关松荫. 土壤酶及其研究法[M]. 北京: 农业出版社, 1986.]
- [23] van Geel M, Busschaert P, Honnay O, et al. 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.
- [24] Lumini E, Orgiazzi A, Borriello R, et al. Disclosing arbuscular mycorrhizal fungal biodiversity in soil through a land-use gradient using a pyrosequencing approach[J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(8): 2165—2179.
- [25] Luo F, Yang Y F, Zhong J X, et al. Constructing gene

- co-expression networks and predicting functions of unknown genes by random matrix theory[J]. BMC Bioinformatics, 2007, 8: 299.
- [26] Guimerà R, Sales-Pardo M, Amaral L A N. Classes of complex networks defined by role-to-role connectivity profiles[J]. Nature Physics, 2007, 3 (1): 63—69.
- [27] Olesen J M, Bascompte J, Dupont Y L, et al. The modularity of pollination networks[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2007, 104 (50): 19891—19896.
- [28] Wang Y S, Zhang S B, Zhang M Q. Arbuscular mycorrhizal fungi resources and germplasm resources in China[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2012. [王幼珊, 张淑彬, 张美庆. 中国丛枝菌根真菌资源与种质资源[M]. 北京: 中国农业出版社, 2012.]
- [29] Li C J, Hoffland E, Kuyper T W, et al. Syndromes of production in intercropping impact yield gains[J]. Nature Plants, 2020, 6 (6): 653—660.
- [30] Gosal S K, Gill G K, Sharma S, et al. Soil nutrient status and yield of rice as affected by long-term integrated use of organic and inorganic fertilizers[J]. Journal of Plant Nutrition, 2018, 41 (4): 539—544.
- [31] Yu R P, Lambers H, Callaway R M, et al. Belowground facilitation and trait matching: Two or three to tango?[J]. Trends in Plant Science, 2021, 26 (12): 1227—1235.
- [32] Sun R B, Chen Y, Han W X, et al. Different contribution of species sorting and exogenous species immigration from manure to soil fungal diversity and community assemblage under long-term fertilization[J]. Soil Biology & Biochemistry, 2020, 151: 108049.
- [33] Li L. Intercropping enhances agroecosystem services and functioning: Current knowledge and perspectives[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2016, 24 (4): 403—415. [李隆. 间套作强化农田生态系统服务功能的研究进展与应用展望[J]. 中国生态农业学报, 2016, 24 (4): 403—415.]
- [34] Meng L B, Zhang A Y, Wang F, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi and rhizobium facilitate nitrogen uptake and transfer in soybean/maize intercropping system[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 339.
- [35] Liang C, Schimel J P, Jastrow J D. The importance of anabolism in microbial control over soil carbon storage[J]. Nature Microbiology, 2017, 2 (8): 17105.
- [36] Wang N, Wang W H, Jiang Y J, et al. Variations in bacterial taxonomic profiles and potential functions in response to the gut transit of earthworms (*Eisenia fetida*) feeding on cow manure[J]. Science of the Total Environment, 2021, 787: 147392.
- [37] Chen P, He W, Shen Y, et al. Interspecific neighbor stimulates peanut growth through modulating root endophytic microbial community construction[J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 13: 830666.
- [38] Li F, Chen L, Zhang J B, et al. Bacterial community structure after long-term organic and inorganic fertilization reveals important associations between soil nutrients and specific taxa involved in nutrient transformations[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 187.
- [39] Zhang R Z, Mu Y, Li X R, et al. Response of the arbuscular mycorrhizal fungi diversity and community in maize and soybean rhizosphere soil and roots to intercropping systems with different nitrogen application rates[J]. Science of the Total Environment, 2020, 740: 139810.
- [40] Liu J, Zhang J, Li D M, et al. Differential responses of arbuscular mycorrhizal fungal communities to mineral and organic fertilization[J]. MicrobiologyOpen, 2020, 9 (1): e00920.
- [41] Lajoie G, Parfrey L W. Beyond specialization: re-examining routes of host influence on symbiont evolution[J]. Trends in Ecology & Evolution, 2022, 37 (7): 590—598.
- [42] van der Heijden M G A, Klironomos J N, Ursic M, et al. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity[J]. Nature, 1998, 396 (6706): 69—72.
- [43] Schütz L, Saharan K, Mäder P, et al. Rate of hyphal spread of arbuscular mycorrhizal fungi from pigeon pea to finger millet and their contribution to plant growth and nutrient uptake in experimental microcosms[J]. Applied Soil Ecology, 2022, 169: 104156.
- [44] Maherali H, Klironomos J N. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning[J]. Science, 2007, 316 (5832): 1746—1748.
- [45] Jiang F Y, Zhang L, Zhou J C, et al. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance mineralisation of organic phosphorus by carrying bacteria along their extraradical hyphae[J]. New Phytologist, 2021, 230 (1): 304—315.
- [46] Zhang L, Feng G, Declerck S. Signal beyond nutrient, fructose, exuded by an arbuscular mycorrhizal fungus triggers phytate mineralization by a phosphate solubilizing bacterium[J]. The ISME Journal, 2018, 12 (10): 2339—2351.

(责任编辑: 卢萍)