

DOI: 10.5846/stxb202001150119

蔡芸霜, 张建兵, 钟丽雯, 陆双龙, 黄丽排, 闫妍, 罗为群, 朱同彬, 胡宝清. 桂西北峰丛洼地农作区土壤真菌多样性对不同耕作模式的响应. 生态学报, 2021, 41(12): 4886-4899.

Cai Y S, Zhang J B, Zhong L W, Lu S L, Huang L P, Yan Y, Luo W Q, Zhu T B, Hu B Q. Response of the fungal diversity to different tillage modes in the farming areas of karst peak-cluster depressions, southwest China. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(12): 4886-4899.

# 桂西北峰丛洼地农作区土壤真菌多样性对不同耕作模式的响应

蔡芸霜<sup>1,2,3</sup>, 张建兵<sup>1,2,3,\*</sup>, 钟丽雯<sup>1,2,3</sup>, 陆双龙<sup>1,2,3</sup>, 黄丽排<sup>1,2,3</sup>, 闫妍<sup>1,2,3</sup>, 罗为群<sup>4</sup>, 朱同彬<sup>4</sup>, 胡宝清<sup>1,2,3</sup>

1 北部湾环境演变与资源利用教育部重点实验室, 南宁 530001

2 广西地表过程与智能模拟重点实验室, 南宁 530001

3 南宁师范大学 地理科学与规划学院, 南宁 530001

4 国土资源部岩溶生态系统与石漠化治理重点实验室, 桂林 541004

**摘要:**农作区是峰丛洼地地区居民生产生活的聚集区, 土地利用强度大, 石漠化风险性高, 是生态保育的焦点区。合理的耕作模式是该区土地可持续利用与生态安全的基础。以桂西北典型峰丛洼地农作区——广西果化岩溶生态研究基地为研究区, 采集典型农田类型火龙果地(相当于保护性耕作模式, HF)、玉米地(相当于翻耕模式, MF)、甘蔗地(相当于少耕+秸秆还田耕作模式, SF)和水稻田(PF)的土壤样品, 分析其土壤真菌群落结构、功能及土壤理化性质, 并将其与退耕还林(人工林, FL)、退耕还草(自然恢复, AF)样地相应性质进行对比, 以评价不同耕作模式的生态环境效应, 为该区可持续耕种与生态保育提供科学依据。结果表明: (1)与退耕模式(FL、AF)相比, 耕作活动(HF、MF、SF)降低了土壤 pH 值与有机质、全氮含量, 改变了土壤粒度(粘粒、粉砂、砂砾)组成比例; (2)HF、MF、PF、FL 提升了土壤真菌  $\alpha$  多样性指数, SF、AF 反之; 土壤真菌  $\alpha$  多样性指数均随着土壤深度的增加而下降; (3)各耕作模式及其不同土层的优势真菌门均为 Ascomycota、Basidiomycota、Mortierellomycota; 耕作没有改变土壤优势真菌的种类, 但影响着其相对丰度; (4) $\beta$  多样性分析结果显示, 各耕作模式真菌群落结构自成一类, 但 HF 与退耕模式间真菌群落结构差异较小; 0—10 cm、10—20 cm 间的真菌群落结构差异较小, 但两者与 20—40 cm 相差较大; FL、SF 和 HF 具有较多的显著性差异物种(Biomarker), 其次为 MF、PF、AF 最少; (5)土壤 pH 值、碳氮比、氮磷比是影响土壤真菌群落结构的重要因子; (6)耕作模式对土壤功能类真菌影响明显, HF、MF、SF、PF 土壤腐生营养型真菌、病理营养型真菌的含量显著高于 FL、AF; 同时, SF 中的土壤腐生营养型真菌含量最高; HF 中的共生营养型真菌含量最高。HF 具有与退耕模式较为一致的土壤真菌群落结构特征, 拥有最丰富的共生营养型真菌与较优的土壤理化性质, 具有良好的生态效应。

**关键词:**峰丛洼地; 农作区; 耕作模式; 土壤真菌多样性; 土壤真菌功能

## Response of the fungal diversity to different tillage modes in the farming areas of karst peak-cluster depressions, southwest China

CAI Yunshuang<sup>1,2,3</sup>, ZHANG Jianbing<sup>1,2,3,\*</sup>, ZHONG Liwen<sup>1,2,3</sup>, LU Shuanglong<sup>1,2,3</sup>, HUANG Lipai<sup>1,2,3</sup>, YAN Yan<sup>1,2,3</sup>, LUO Weiqun<sup>4</sup>, ZHU Tongbin<sup>4</sup>, HU Baoqing<sup>1,2,3</sup>

1 Key Laboratory of Environment Change and Resources Use in Beibu Gulf, Nanning 530001, China

2 Guangxi Key Laboratory of Earth Surface Processes and Intelligent Simulation, Nanning 530001, China

3 School of Geography and Planning, Nanning Normal University, Nanning 530001, China

**基金项目:**国家自然科学基金项目(41601585); 岩溶动力学重点实验室基金资助课题(KDL201504)

**收稿日期:**2020-01-15; **修订日期:**2020-12-15

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zjb1166@163.com

4 Key Laboratory of Karst Ecosystem and Rocky Desertification Control, Ministry of Land and Resources, Guilin 541004, China

**Abstract:** The farming areas in karst peak-cluster depressions, where residents live densely and utilize the land more intensively, pose a great risk for rocky desertification, and are usually seen as focal regions of ecological conservation. Appropriate tillage modes can set the foundation for sustainable land use and ecological security in the area. This study was conducted at the Guohua Karst Ecological Experimental Station in southwest China (a typical farming area in the peak cluster depression), to evaluate tillage effects on soil fungal community composition, fungal functions, and physicochemical properties. Major types of croplands, including pitaya field (representing conservation tillage, HF), maize field (representing plowing tillage, MF), sugarcane field (representing minimum tillage+straw return, SF), and paddy field (PF), were studied in contrast to forestland (artificial forest transformed from cropland, FL) and grassland (rehabilitated naturally from abandoned farmland, AF). The results showed that: (1) by comparison with the rehabilitated-land modes (FL, AF), the HF, MF and SF not only reduced the soil pH, soil organic matter contents (SOM), and total nitrogen (TN) but also altered the particle size distribution (clay, silt, sand). (2) The HF, MF, PF and FL increased the abundance-based coverage estimator (ACE) index and Shannon index of soil fungal communities, while SF and AF decreased the  $\alpha$ -diversity index. The  $\alpha$ -diversity index exhibited the indices declined as the soil depth increased. (3) In the study area, the dominant fungal groups were Ascomycota, Basidiomycota, and Mortierellomycota. Tillage did not change the species of dominant fungal strains, but affected their relative abundance. (4) The analysis of  $\beta$ -diversity showed that soil fungal community structure of each tillage mode was unique, however similarity existed among the HF and rehabilitated-land modes. Soil fungal community structures at 0—10 cm soil layers are similar to those at 10—20 cm, but they were largely different from those of the 20—40 cm depth. The FL, SF and HF had more distinctive species (biomarkers), followed by MF, PF, and the least was AF. (5) Soil pH, C/N, N/P were important factors affecting soil fungal community structures. (6) The effect of tillage modes on soil fungal function was obvious, pathotrophic fungi and saprotrophic fungi in HF, MF, SF, PF soil were significantly higher than those of FL and AF, moreover, the content of saprotrophic fungi in SF was the highest, HF had the highest symbiotrophic fungi. The characteristics of fungal community structures were similar among the HF, FL and AF, suggesting that no-tillage was conducive to maintaining the natural properties of soil fungal community structures, and shows a positive soil ecological effect.

**Key Words:** karst peak-cluster depressions; farming area; tillage modes; soil fungal diversity; soil fungal function

全球碳酸盐岩分布面积达陆地面积的 12%, 其中我国分布有 344 万  $\text{km}^2$ , 约占国土面积的 1/3, 我国西南更是全球三大碳酸盐岩连续分布区之一<sup>[1]</sup>。峰丛洼地是该区典型的喀斯特地貌类型之一, 面积约 9.7 万  $\text{km}^2$ <sup>[2]</sup>。在早期不合理人类活动的影响下, 桂西北峰丛洼地地区石漠化现象严重, 导致当地土地生产力低、居民生活贫困<sup>[3]</sup>。从 2000 年开始, 我国开始了大规模的石漠化治理工程, 如封山育林、退耕还林还草、生态移民等, 极大改善了该区的生态环境状况<sup>[4]</sup>。但在该区还分布着较大面积的农作区, 是当地居民生活、生产(主要为耕作活动)的集中区, 对土壤的干扰强度大, 土壤流失与石漠化风险高, 是峰丛洼地生态演变热点区与生态保育的焦点区。因此, 评价该区不同耕作模式的土壤安全效应, 选择适宜的耕作模式, 对降低该区石漠化风险, 保持土地可持续利用及持久脱贫具有重要意义。

土壤安全是指土壤持续地为人类提供食物、纤维和淡水资源等生态系统服务, 同时维持生物多样性和相对稳定性的一种状态<sup>[5-7]</sup>, 是土壤物理、化学、生物性质的综合反映。土壤微生物是地球化学循环中的主要驱动力, 是土壤生态系统中最为活跃的部分, 对生态系统的功能及其可持续性发挥着重要作用<sup>[8]</sup>。真菌作为土壤动植物残体的分解者、互助者或病原体, 其通过调节土壤能量流动和养分转化、有机质积累、土壤结构形成、动植物残体分解和抑制病虫害等重要的土壤生态过程, 在维持生态系统功能的基础和生态系统健康方面发挥重要功能<sup>[9-10]</sup>。同时, 土壤真菌对环境变化敏感, 地理空间变化<sup>[11]</sup>、生境改变<sup>[12]</sup>、耕作模式变更<sup>[13]</sup>、植被演

替<sup>[14]</sup>等都将引起真菌群落结构与多样性的变化。因此,真菌群落与功能特征及其对外界环境变化的响应已成为评价土壤安全的重要指标之一<sup>[15-16]</sup>。

目前,耕作模式对土壤真菌影响的报道较多,大部分研究发现保护性耕作管理可增加微生物量的积累,改善土壤真菌特征<sup>[17-19]</sup>。关于耕作模式对喀斯特峰丛洼地土壤真菌影响的研究较少,该区已有研究主要集中在植被恢复的土壤,如刘雯雯等<sup>[20]</sup>对喀斯特区不同植被恢复阶段土壤真菌进行分析,发现乔木林、灌木林阶段土壤真菌群落结构相近,灌草过渡阶段与草本群落阶段真菌群落结构各成一类;Liang 等<sup>[21]</sup>研究发现植被恢复过程中丛枝菌根真菌的多样性依次为灌木 $\approx$ 原生林 $\approx$ 次生林 $<$ 草地,何敏红等<sup>[22]</sup>发现石漠化程度对真菌组成及多样性的影响大于植被演替的影响,随石漠化程度加深,土壤真菌多样性总体呈现下降趋势。因此,本文以典型峰丛洼地农作区—广西果化岩溶生态研究基地为研究区,采用高通量测序技术,对不同耕作模式土壤真菌群落多样性进行比较,并结合 FUNGuild 工具预测真菌功能,系统分析该区不同耕作模式对土壤真菌功能的影响,以为该区土壤安全及农业生产的可持续性评价与管理提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究区概况

广西果化岩溶生态研究基地建于 2001 年,现为国家自然资源部野外科学观测研究基地,位于广西平果县果化镇西南方向约 5 km 处(107°22'30"—107°24'47"E, 23°22'30"—23°24'32"N)。该区地处亚热带季风气候区,日照充足,年日照时数平均 1682 h,日照百分率 38%;气候温和湿润,年均气温 21.5℃,无霜期 345 d 以上;雨量充沛,平均年降雨量 1400—1550 mm。该区属典型的喀斯特峰丛洼地,地层主要为石炭系上统,岩石主要为纯石灰岩。土壤类型主要为棕色石灰土。

该基地属于典型的峰丛洼地农作区,人口密度高,耕作强度大。建设初期,该区植被覆盖率低(不足 10%),石漠化程度严重、类型齐全,生态极度脆弱。在封山育林、坡地退耕还林还草、土地整理、水土保持等系列石漠化治理措施下,该区石漠化得到了较好的控制,现植被覆盖率已提高至 75%左右,同时,洼地区和部分坡耕地得以继续耕作,种植作物除传统的玉米、甘蔗、水稻以外,还有引进作物火龙果。其多种模式的种植样地为本研究的开展提供了良好的野外试验平台。

### 1.2 研究方法

#### 1.2.1 样地选取

为评价研究区不同耕作措施对土壤真菌的影响,选择该区主要的农田类型(耕作模式)——火龙果地(相当于保护性耕作模式, HF)、玉米地(相当于翻耕模式, MF)、甘蔗地(相当于少耕+秸秆还田耕作模式, SF)和水稻田(PF)为研究对象,并以退耕还林地(人工林, FL)、退耕还草(自然演替, AF)为对样地,各样地情况介绍于表 1。

#### 1.2.2 样品采集与处理

在 2018 年 4 月,利用土钻(钻头直径 5 cm)采集不同耕作模式样地土壤样品,各模式选择典型样地至少 3 块,每块样地采用 S 形布点法采集 5 点样品,然后混合为该地块样品。采集土层为 0—10 cm、10—20 cm、20—40 cm(退耕还草地仅有 0—10 cm、10—20 cm)。共采集混合样品 51 个,每个样品一分为二,分别用于测试土壤微生物性质(装入样品袋后,速置于带冰块的保温箱中,然后带回保存于-80℃冰箱中)、土壤理化性质(装入样品袋带回自然风干待处理)。

#### 1.2.3 土壤理化性质的测定

将自然风干后的土壤样品,去除根系、砾石等杂质,按需磨碎过筛,然后分别采用酸度计法测定土壤 pH 值(水土比 1:5, pH 计 S400-K, 梅特勒-托利多国际贸易有限公司),  $K_2Cr_2O_7$  氧化-外加加热法测定土壤有机质含量,凯氏定氮法测定土壤全氮含量(全自动凯氏定氮仪 K1100F, 济南海能仪器股份有限公司),钼锑抗比色法测定土壤全磷含量(紫外可见分光光度计 L9, 上海仪电分析仪器有限公司),马尔文激光粒度分析仪(Mastersize

2000,英国马尔文仪器有限公司)测定土壤粒度<sup>[23]</sup>。各耕作模式下的土壤理化性质如表 2 所示。按照国际制土壤质地分级标准,火龙果地的土壤质地属于壤质粘土,其他耕作模式土壤质地为粉砂质粘壤土。

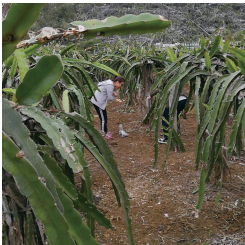
| 表 1 样地描述                           |                                                                                     |                                                                                                                                                 |
|------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Table 1 Description of the field   |                                                                                     |                                                                                                                                                 |
| 样地名称<br>Name of the sampling field | 样地实景<br>View of the sampling field                                                  | 样地描述<br>General description                                                                                                                     |
| 火龙果种植样地(HF)<br>Pitaya field        |    | 主要分布于坡地(坡改梯形耕地)。火龙果种植间距一般为 1.5—2.0 m,立水泥桩供其搭附,种植后不再翻耕土地,培肥活动主要集中于火龙果根区,相当于免耕耕作模式。样地已种植火龙果 10 年左右,一年可采收 4 次,每年产值 135000 元左右(基地及附近农户调查数据均值)。      |
| 玉米地种植样地(MF)<br>Maize field         |   | 主要分布于坡地(坡改梯形耕地)。单作玉米,每年两季,或玉米-花生轮作,均采取翻耕播种,相当于翻耕种植模式。产值为每年 12000 元/hm <sup>2</sup> 左右(基地及附近农户调查数据均值)。                                           |
| 水稻田种植样地(PF)<br>Paddy field         |  | 主要分布于洼地区。每年两季(生长期为 4—10 月),水稻生长季为淹水状态,收割时将水排干,直至再次种植时再灌水淹没。产值为每年 24000—27000 元/hm <sup>2</sup> (基地及附近农户调查数据均值)。                                 |
| 甘蔗地种植样地(SF)<br>Sugarcane field     |  | 洼地与坡地均有分布,洼地区居多。垄作,一次埋种甘蔗种条后,可连续收割 3 年,每年收割一次,收割时不需扰动土壤,日常管理为甘蔗根际撒施化肥,待甘蔗成熟时剥叶还田。相当于覆盖与少耕的耕作模式。产值为每年 37500 元/hm <sup>2</sup> 左右(基地及附近农户调查数据均值)。 |
| 退耕还林地(FL)<br>Forestland            |  | 分布于坡地区,退耕后人工种植茶条木,种植时间为 2006 年。地表有枯枝落叶层。本研究中,林地为对照样地。                                                                                           |
| 退耕还草地(AF)<br>Grassland             |  | 分布于坡地区,经过 10 余年的退耕恢复后,现地表植被覆盖良好。植被多为草灌,草本主要有芒草、肾蕨、鬼针草等;灌木主要为黄荆。本研究中,草地与林地一起作为参照样地                                                               |

表 2 不同耕作模式下的土壤理化性质特征

Table 2 Characteristics of the physicochemical properties of the soil under different tillage modes

| 土层/cm<br>Soil layer | 耕作模式<br>Tillage<br>modes | pH    | 电导率<br>EC/<br>( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ) | 有机质<br>SOM/<br>( $\text{g}/\text{kg}$ ) | 全氮<br>TN/<br>( $\text{g}/\text{kg}$ ) | 全磷<br>TP/<br>( $\text{g}/\text{kg}$ ) | 粘粒<br>Clay/% | 粉砂<br>Silt/% | 沙砾<br>Sand/% | 碳氮比<br>C/N | 氮磷比<br>N/P |
|---------------------|--------------------------|-------|-------------------------------------------|-----------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|------------|------------|
| 0—10                | HF                       | 6.96b | 28.90c                                    | 27.31c                                  | 1.89bc                                | 2.35a                                 | 30.12a       | 56.24b       | 13.66c       | 8.81a      | 0.81b      |
|                     | MF                       | 4.78c | 36.63c                                    | 24.52c                                  | 1.66c                                 | 1.66ab                                | 16.98bc      | 65.99a       | 17.03c       | 9.46a      | 0.98b      |
|                     | PF                       | 7.89a | 120.57a                                   | 53.05ab                                 | 2.81ab                                | 2.07a                                 | 10.87d       | 55.51b       | 33.62a       | 11.62a     | 1.35b      |
|                     | SF                       | 4.37d | 81.97b                                    | 29.83cd                                 | 1.91bc                                | 2.30a                                 | 20.29b       | 65.43a       | 14.28c       | 9.02a      | 0.89b      |
|                     | FL                       | 6.81b | 47.83c                                    | 43.79bd                                 | 2.97a                                 | 0.80b                                 | 15.36bcd     | 65.36a       | 19.28bc      | 8.65a      | 3.72a      |
|                     | AF                       | 7.51a | 77.07b                                    | 62.32a                                  | 3.37a                                 | 2.59a                                 | 13.26cd      | 61.81ab      | 24.92b       | 10.86a     | 1.41b      |
| 10—20               | HF                       | 7.20b | 29.43b                                    | 21.43b                                  | 1.79bc                                | 2.07a                                 | 27.04b       | 66.39ac      | 6.57a        | 6.99a      | 0.90b      |
|                     | MF                       | 5.07c | 31.40b                                    | 21.31b                                  | 1.23c                                 | 1.33ab                                | 18.61ac      | 66.75ac      | 14.64b       | 10.02a     | 0.93b      |
|                     | PF                       | 7.90a | 86.43a                                    | 33.57ab                                 | 2.27b                                 | 1.82a                                 | 15.56c       | 58.65b       | 26.45c       | 8.69a      | 1.41ab     |
|                     | SF                       | 4.50d | 64.87ac                                   | 26.92b                                  | 1.56b                                 | 2.12a                                 | 22.42d       | 64.82c       | 12.76bd      | 10.29a     | 0.77b      |
|                     | FL                       | 7.09b | 50.66 bc                                  | 24.01b                                  | 2.05b                                 | 0.80b                                 | 19.29ad      | 71.22ad      | 9.49ad       | 7.23a      | 2.57a      |
|                     | AF                       | 7.59a | 69.77ac                                   | 42.58a                                  | 3.51a                                 | 2.04a                                 | 17.71ac      | 69.26cd      | 13.03bd      | 7.08a      | 1.84a      |
| 20—40               | HF                       | 7.03b | 30.30a                                    | 14.75a                                  | 1.45a                                 | 2.04a                                 | 26.82a       | 65.18ab      | 8.00a        | 5.86a      | 0.74bc     |
|                     | MF                       | 6.28c | 24.43a                                    | 13.88a                                  | 0.98b                                 | 1.24ab                                | 19.75a       | 62.06ab      | 18.20b       | 5.31a      | 0.78bc     |
|                     | PF                       | 7.87a | 53.17a                                    | 17.33a                                  | 1.15ab                                | 1.14a                                 | 27.61a       | 55.90b       | 16.49b       | 11.04a     | 1.65ac     |
|                     | SF                       | 4.90d | 46.23a                                    | 18.32a                                  | 0.92b                                 | 1.98a                                 | 27.94a       | 66.12ab      | 5.94a        | 11.21a     | 0.56b      |
|                     | FL                       | 7.22b | 40.57a                                    | 13.83a                                  | 1.46a                                 | 0.62b                                 | 24.47a       | 69.69a       | 5.84a        | 5.49a      | 2.34a      |

HF: 火龙果地 Pitaya field; MF: 玉米地 Maize field; PF: 水稻田 Paddy field; SF: 甘蔗地 Sugarcane field; FL: 林地 Forestland; AF: 草地 Grassland; 粘粒(粒径 0.01—2  $\mu\text{m}$ ), 粉砂(粒径 2—20  $\mu\text{m}$ ), 砂砾(粒径 20—2000  $\mu\text{m}$ ), 同列数字后不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )

#### 1.2.4 样品 DNA 提取、扩增和高通量测序

土壤样本 DNA 的提取采用 CTAB 标准法, DNA 提取完成后利用浓度 1% 琼脂糖凝胶进行电泳检测其纯度和浓度。选择引物 ITS5- 1737F (5'-GGAAGTAAAAGTCTGTAACAAGG-3') 和 ITS2- 2043R (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') 对土壤真菌 ITS 基因 ITS1 区进行 PCR 扩增。反应使用 New England Biolabs 公司的 Phusion® High-Fidelity PCR 和高效高保真酶进行 PCR 扩增, 确保扩增效率和准确性。得到的产物使用 2% 浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测, 对目的条带使用 Qiagen 公司提供的胶回收试剂盒回收产物。根据所扩增的 ITS1 区域特点, 基于 Illumina HiSeq 测序平台, 使用 TruSeq® DNA PCR-Free Sample Preparation Kit 建库试剂盒进行文库构建, 构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定量, 文库合格后, 使用 HiSeq2500 PE250 进行上机测序(由诺禾致源生物信息科技有限公司完成)。

#### 1.2.5 数据处理与统计分析

原始测序数据经过严格的过滤处理, 去除标签序列(barcode)、引物序列, 过滤低质量和短长度的序列, 得到高质量的 Tags 数据。运用 Uparse 软件(Upase, Version 7.0.1001)对序列进行聚类, 默认以 97% 的一致性(Identity)将序列聚类成为 OTUs(Operational Taxonomic Units), 用 Mothur 方法与 SILVA 的 SSUrRNA 数据库进行物种分类, 在门类水平上统计各样本的真菌群落组成。使用 Qiime 软件(Quantitative Insights Into Microbial Ecology, Version 1.9.1)计算 ACE 指数、Shannon 指数、Weighted Unifrac 距离、构建 UPGMA(Unweighted pair-group method with arithmetic means)样本聚类树等, ACE、Shannon 指数箱型图使用 Oringin(Version 2017)软件绘制, 稀释曲线(Rarefaction Curve)、维恩图(Venn plot)、花瓣图(Flower plot)、主坐标分析(Principal Coordinates Analysis, PCoA)、典型关联分析(Canoical Correlation Analysis, CCA)、UPGMA 聚类分析通过 R 软件(Version 2.15.3)完成。基于线性判别分析流程[Linear discriminant analysis (LDA) effect size pipeline, LEfSe], 使用 LEfSe 软件分析, 默认设置 LDA Score 的筛选值为 3.5, 分析分组样本间具有显著差异的 Biomarker。真菌群落功能预测使用 FUNGuild(Fungi+Functional+Guild)工具, 该方法基于已发表文献, 对真菌

的生态功能进行了归类,构建 FunGuild 数据库。土壤理化数据的统计分析和显著性检验选用 SPSS 22.0 软件。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤样品测序深度及合理性分析

真菌 ITS 基因测序结果显示,51 个土壤样本共检测出 4369767 条序列,经过质量控制,总共得到 4216941 条高质量序列(每个土壤样品序列数在 47866—97427 之间,平均值=82685)。以 97%的相似度将序列聚类成为 OTUs,得到 11702 个 OTU。为检测样本的数据量是否合理,从样品中随机抽取一定测序量的数据,统计它们所代表物种数目(即 OTUs 数目),以抽取的测序数据量与对应的物种数来构建稀释曲线(图 1),稀释曲线表明,随着测序量的增加,稀释曲线逐渐趋于平坦,虽尚未达到饱和,但更多的测序量只会产生少量新的 OTU,表明本次试验的测序数据量合理,测序结果包含了绝大多数真菌类群,能够较真实地反映研究区不同耕作模式土壤样品的真菌群落,可用于分析不同耕作模式对土壤真菌群落结构与组成的影响。

### 2.2 土壤真菌 $\alpha$ -多样性分析

#### 2.2.1 土壤真菌群落丰富度及多样性

微生物物种  $\alpha$ -多样性用于分析样本内的微生物群落多样性,本文包括代表土壤真菌群落丰富度的 ACE 指数和体现菌群的多样性的 Shannon 指数。研究表明,各土层不同耕作模式土壤真菌丰富度和多样性无显著差异( $P>0.05$ ),20—40 cm 土层土壤真菌多样性( $P<0.05$ )除外。土壤真菌 ACE 指数与 Shannon 指数在 0—10 cm、10—20 cm 土层中的变化趋势较为一致,整体表现为 HF、PF、MF、FL 维持较高的土壤真菌丰富度及多样性,SF、AF 土壤真菌丰富度及多样性较低;在 20—40 cm 土层,PF 土壤真菌丰富度最低,而 FL 土壤真菌多样性指数最低。随着土壤深度增加,各耕作模式的土壤真菌 ACE 指数与 Shannon 指数均呈下降趋势(图 2)。

#### 2.2.2 土壤真菌群落组成分析

研究区土壤真菌 ITS 高通量测序所得序列经物种注释后分属 18 门、63 纲、163 目、370 科、860 属、1049 种。在门类水平上,相对丰度排名前 10 的有 Ascomycota(子囊菌门)、Basidiomycota(担子菌门)、Mortierellomycota(被孢霉门)、Rozellomycota(罗兹菌门)、Glomeromycota(球囊菌门)、Olpidiomycota(油壶菌门)、Mucoromycota(毛霉门)、Chytridiomycota(壶菌门)、Zoopagomycota(捕虫霉门)、Blastocladiomycota(芽枝霉门),其中前 3 者为优势菌门(相对丰度均 $>1\%$ ),3 者相对丰度总和为 25.93%—83.78%。SF 的 Ascomycota 相对丰度(69.877%—74.242%)明显高于其他耕作模式(9.312%—60.194%),同时 PF 的 Ascomycota 相对丰度(9.312%—20.598%)最低;FL 的 Basidiomycota 相对丰度(11.864%—12.550%)比其他耕作模式(2.704%—10.212%)高,除 0—10 cm 土层的 HF(19.099%);SF、AF 的 Mortierellomycota 相对丰度明显低于 HF、MF、PF 和 FL;Rozellomycota 在 MF 的相对丰度(0.646%—2.875%)最高;Glomeromycota 在 FL 具有最高的相对丰度(0.848%—2.486%);PF 的 Olpidiomyota 相对丰度(0.171%—1.804%)最高;Mucoromycota 在 HF 具有最高的相对丰度(0.457%—1.379%);HF、PF、MF 的 Chytridiomycota 相对丰度高于 SF、FL、AF;Zoopagomycota、Blastocladiomycota 在各耕作模式土壤的相对丰度无明显差异。各耕作模式土壤真菌群落组成中均存在相对

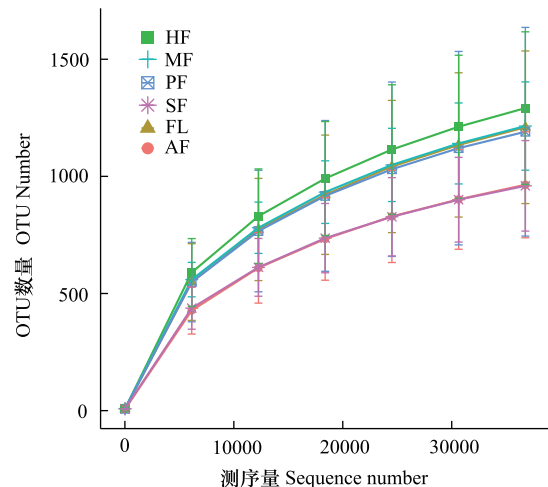


图 1 不同耕作模式土壤真菌稀释曲线

Fig.1 Dilution curve of soil fungi under different tillage modes

HF: 火龙果地 Pitaya field; MF: 玉米地 Maize field; PF: 水稻田 Paddy field; SF: 甘蔗地 Sugarcane field; FL: 林地 Forestland; AF: 草地 Grassland

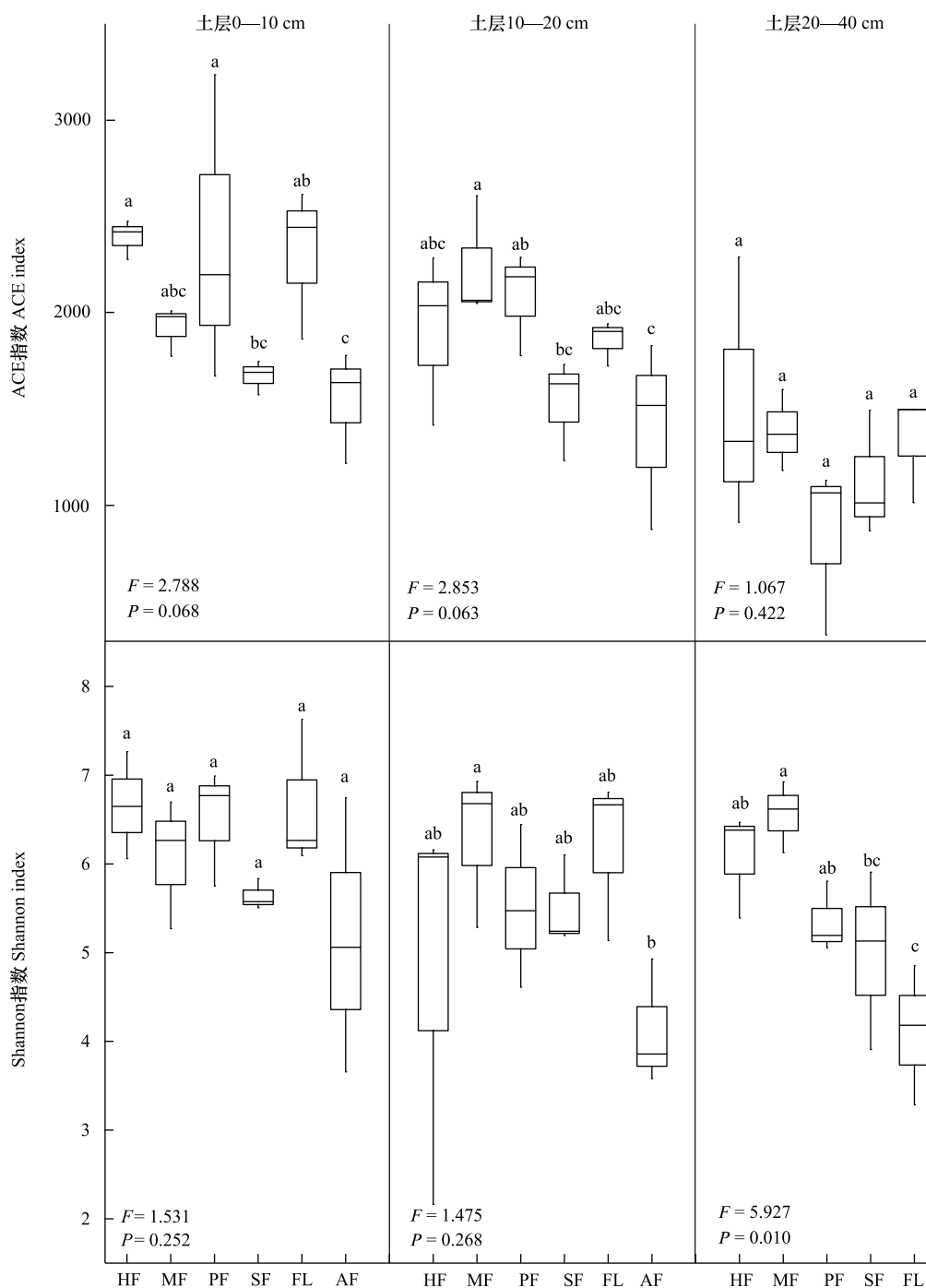


图2 土壤真菌 ACE 指数、Shannon 指数箱型图

Fig.2 Box plots of ACE index and Shannon index of the soil fungi

不同小写字母表示差异性显著 ( $P < 0.05$ )

丰度较高的目前数据库无法鉴定的真菌门。

随土层深度的增加, HF、SF 的 Ascomycota 相对丰度表现为先增加后减少的趋势, MF、PF、FL 则表现为先减少后增加的趋势, AF 表现为增加的趋势; HF、MF、FL、AF 的 Basidiomycota 表现为递减趋势, 而 PF 表现为先减少后增加, SF 则是先增加后减少的趋势; HF、PF、SF、AF 的 Mortierellomycota 相对丰度随土壤深度增加逐渐减少, MF、FL 表现为增加趋势(图 3)。

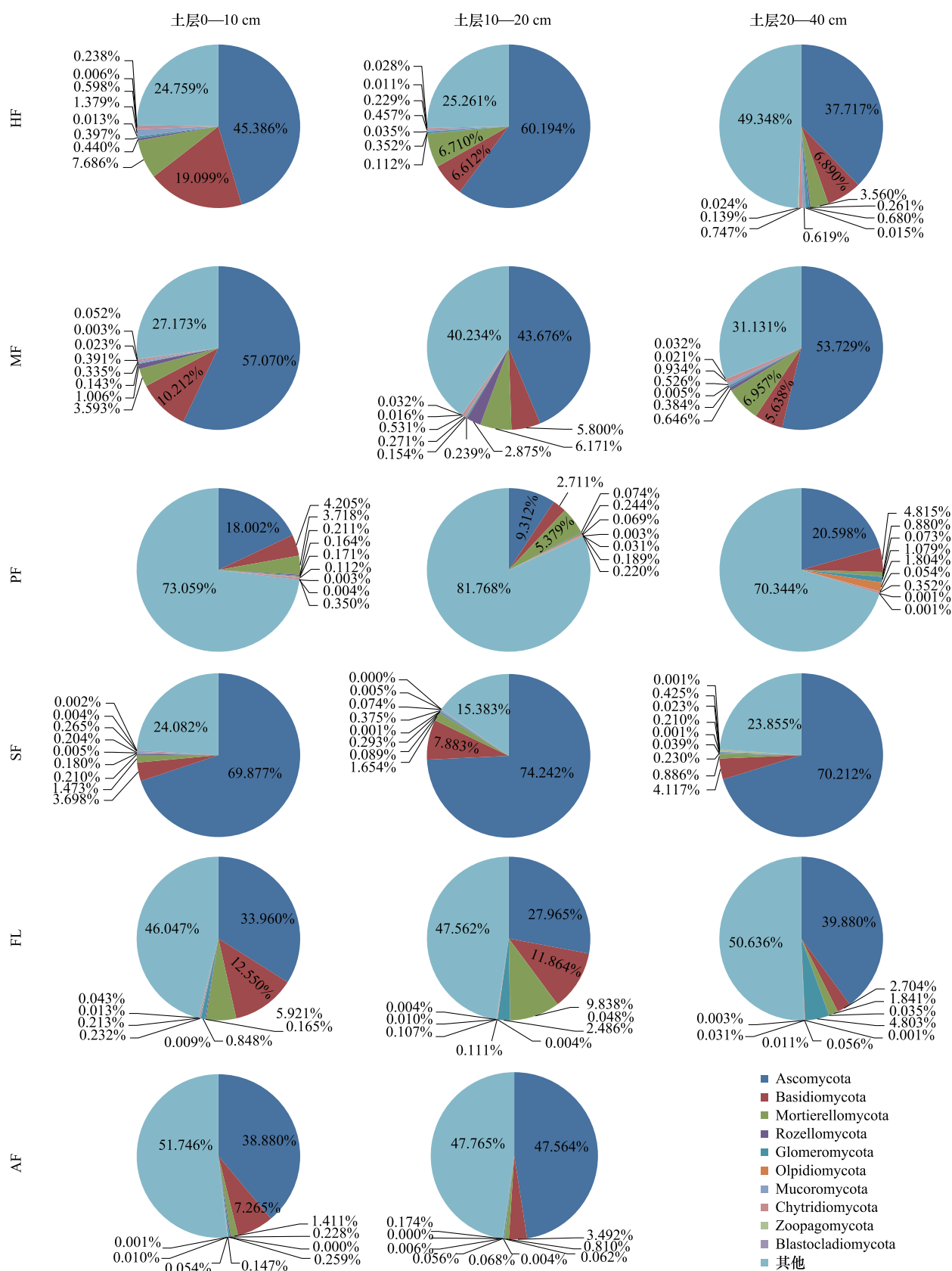


图3 土壤真菌群落在门类水平上的组成及相对丰度

Fig.3 Composition and relative abundance of the taxonomic classes of soil fungi

### 2.2.3 土壤真菌群落共有 OTUs 与特有 OTUs

花瓣图和 Venn 图可直观展现并反映组间或样品之间 OTU 数量组成相似性、重叠情况以及特异性。在 0—10 cm、10—20 cm、20—40 cm 土层,各样地间土壤真菌群落共有 OTU 数量分别为 300、275、194,占各层真菌总数比例分别为 3.47%、3.35%、3.00%。

土壤真菌特有 OTUs 方面,PF 在 0—10 cm 土层的土壤真菌特有 OTUs (1050) 最多,占真菌总数的 12.15%,MF 的土壤真菌特有 OTUs 比例最低(3.09%),其他耕作模式的土壤真菌特有 OTUs 占比在 5.76%—7.53%之间;10—20 cm 土层中,PF 土壤真菌特有 OTUs (958) 最多,占真菌总数的 11.68%,HF 的土壤真菌特有 OTUs 比例最低(3.78%),其他耕作模式的土壤真菌特有 OTUs 比例在 5.83%—7.81%之间;在 20—40 cm 土层,HF 特有 OTUs (914) 的比例最高,为 14.16%,其他耕作模式的土壤真菌特有 OTUs 的比例在 9.79%—11.21%之间(图 4)。

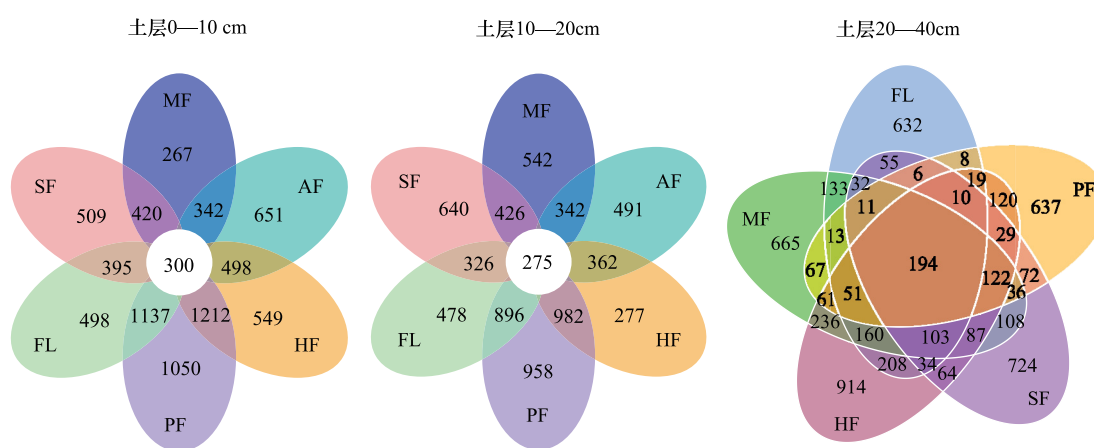


图 4 不同土层土壤真菌群落共有 OTUs 及特有 OTUs

Fig.4 Shared OTUs and specific OTUs of fungal communities in different soil layers

同一耕作模式不同土层间土壤真菌群落大体相似,共有 OTUs 数量大于各层特有 OTUs 数量,0—10 cm 与 10—20 cm 土层间的共有 OTUs 数量大于 0—10 cm 与 20—40 cm 共有 OTUs 数量,并整体表现出表层拥有最大数量的 OTUs 总量与特有 OTUs 数量。HF、MF、PF、SF、FL、AF 不同土层共有 OTU 数目分别为 936、960、516、2829、964、1133,占各耕作模式全部 OTUs 数量的 19.01%、22.19%、11.22%、22.30%、23.75%、41.19%(图 5)。

## 2.3 土壤真菌 $\beta$ -多样性分析

### 2.3.1 基于 Weighted Unifrac 距离的聚类分析

该区土壤样本真菌的聚类亲缘关系分析结果显示(图 6),不同耕作模式、土层之间的土壤真菌群落结构具有一定的差异性。耕作模式方面,AF、FL 为一簇,MF、SF、HF 为一簇,PF 单独成簇。土层之间,0—10 cm、10—20 cm 土层土壤真菌群落相似性较高,与 20—40 cm 土层真菌群落相似度不高。

### 2.3.2 土壤真菌 LEfSe 分析

各耕作模式具有不同数量和类型的显著差异物种(Biomarker),数量方面,FL(33)、SF(29)和 HF(28)具有较多的显著性差异物种,MF(16)、PF(12)、AF(4)最少;在门类水平上,不同耕作模式中,SF 的显著差异真菌门为 Ascomycota,PF 为 Olpidomycota,MF 为 Rozellomycota,HF 为 Mortierellomycota,FL 为 Glomeromycota,AF 在门类水平无显著差异物种(图 7)。

## 2.4 土壤真菌群落结构与土壤环境因子的 CCA 分析

分析结果可以看出,同种耕作模式的土壤样本能够清晰地聚集在一起,说明同一耕作模式生境相似,哺育了相似的真菌群落;其中 FL、AF 的样本距离比较接近,HF、MF、SF 样本距离接近,与 PF 相距较远,说明 FL、

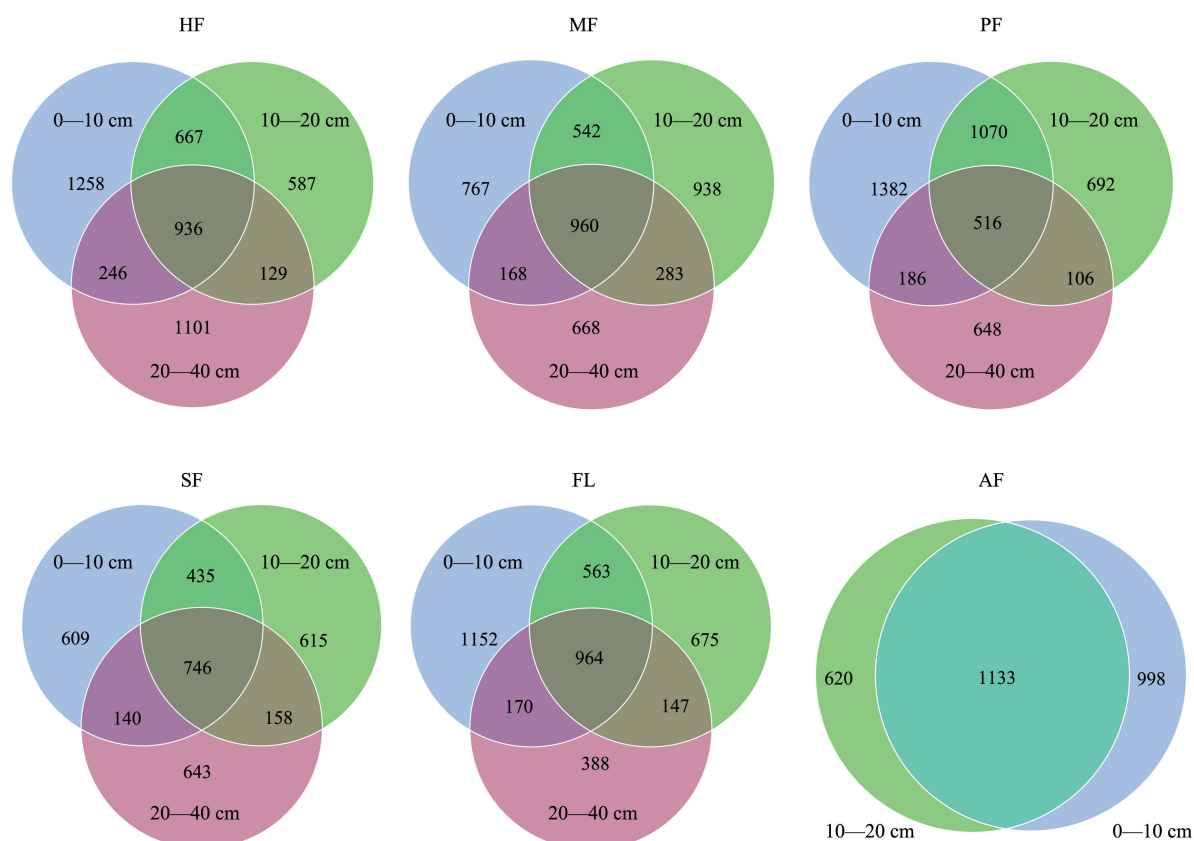


图5 同种耕作模式的不同土层间土壤真菌共有 OTUs 及特有 OTUs

Fig.5 Total and specific OTUs of soil fungi between different soil layers under the same farming mode

AF 土壤真菌群落结构相近, HF、MF、SF 土壤真菌群落结构相似; PF 土壤真菌群落结构聚集为单独的一簇, 与旱地系统差异明显, 与  $\beta$ -多样性分析结果一致。轴 1 和轴 2 的特征值分别为 15.78% 和 14.62%, 共解释了 30.40% 的土壤真菌物种-环境关系, 说明理化因子对土壤真菌群落结构有一定的影响。土壤 pH、TN、N/P 的射线较长, 粒度(砂砾、粉砂、粘粒)含量、SOM、EC、TP、C/N 的射线较短, 表明 pH、TN、N/P 是影响土壤真菌群落的重要环境因素, 其中 pH 是最主要的影响因子, 土壤 pH 值与 PF、FL、AF 的真菌群落结构呈正相关, 与 HF、MF、SF 土壤真菌群落结构呈负相关(图 8)。

## 2.5 土壤真菌群落功能预测

研究区土壤真菌主要分为病理营养型、腐生营养型和共生营养型以及其他无法鉴定营养型的种群, 将注释获得功能的 OTUs 进行统计, 无法鉴定营养型的种群占据土壤真菌成分的绝大部分, 说明目前还缺少对这些土壤真菌功能的认识。在土壤真菌功能类群中, 腐生营养型真菌比例最大, 其次为病理营养型真菌, 共生营养型真菌的比例最小。耕作模式对土壤功能类真菌影响明显, HF、MF、SF、PF 土壤腐生营养型真菌、病理营养型真菌的含量显著高于 FL、AF, 说明耕作活动提高腐生营养型真菌含量的同时也刺激病理营养型真菌的生长; 相对其他耕作模式, SF 明显促进土壤腐生营养型真菌

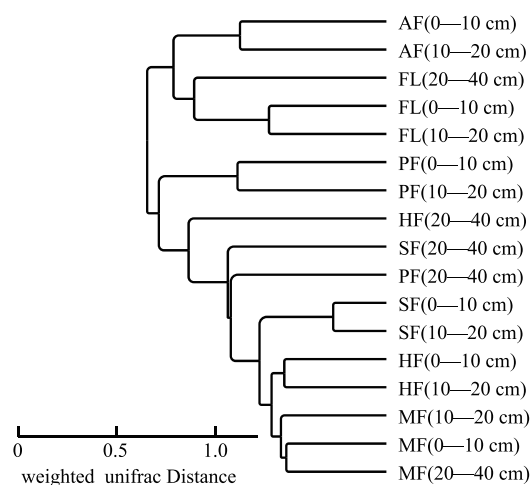


图6 土壤真菌群落相似性聚类树

Fig.6 Similarity-clustering tree of soil fungal communities

的生长。值得说明的是,各耕作模式中,HF 明显提高共生营养型真菌数量,表明保护性耕作有利于共生营养型真菌的富集(图9)。

### 3 讨论

#### 3.1 耕作模式对土壤真菌 $\alpha$ -多样性的影响

本文对桂西北峰丛洼地土壤真菌多样性的研究表明,不同耕作模式下的土壤真菌 ACE 指数和 Shannon 指数整体表现为:HF、MF、PF、FL 的土壤真菌丰富度和多样性明显提高,而 SF、AF 丰富度和多样性降低。其原因可能与石灰土质地粘重有关,因为石灰土的成土母质主要为碳酸盐岩风化溶蚀存留的酸不溶物,且多为粘土成分。而耕作活动可增加土壤通透性,利于土壤水、热和养分的迁移转化,从而利于土壤真菌的生存繁衍。随着土壤深度增加,各耕作模式下的土壤真菌的丰富度和多样性均有下降趋势。这主要是由于深层土壤缺乏通透性,其土壤温度、氧气、活性碳库等状况均变差,土壤真菌多样性也随之降低<sup>[24]</sup>。

各耕作模式所共有的 OTUs 数量大于各自特有的 OTUs 数量,表明耕作模式对土壤真菌群落产生影响,但整体上没有改变某一区域土壤真菌群落的主要构成。真菌群落组成分析显示 Ascomycota、Basidiomycota、Mortierellomycota 是研究区土壤的优势菌门,与喀斯特区的相关研究结果相似<sup>[25]</sup>;这也表明耕作活动一般不会显著改变土壤优势真菌的种类,但会影响其相对丰度。

#### 3.2 耕作模式对土壤真菌 $\beta$ -多样性的影响

通过对不同耕作模式下土壤真菌群落结构之间的相似性和差异性的分析,发现 HF、MF、SF(旱作)土壤真菌结构相似,FL、AF(退耕)土壤真菌群落结构相似,均与 PF(水田)土壤真菌群落结构差异明显,同时,随着土壤剖面深度增加,土壤真菌群落结构也存在差异。这是由于土壤水分、通气性、温度、养分等土壤真菌生存状况不同,导致土壤真菌丰度、组成存在差异,进而引起真菌群落结构存在差异。值得指出的是,尽管 FL 与 AF 土壤真菌  $\alpha$ -多样性不相似,但  $\beta$ -多样性却接近,可见, $\alpha$ -多样性并不总是与  $\beta$ -多样性存在正相关<sup>[26]</sup>。

#### 3.3 土壤理化性质对真菌群落结构的影响

土壤理化性质的变化会直接或间接地影响土壤微生物群落特征<sup>[27]</sup>。多数研究发现,土壤 pH 是决

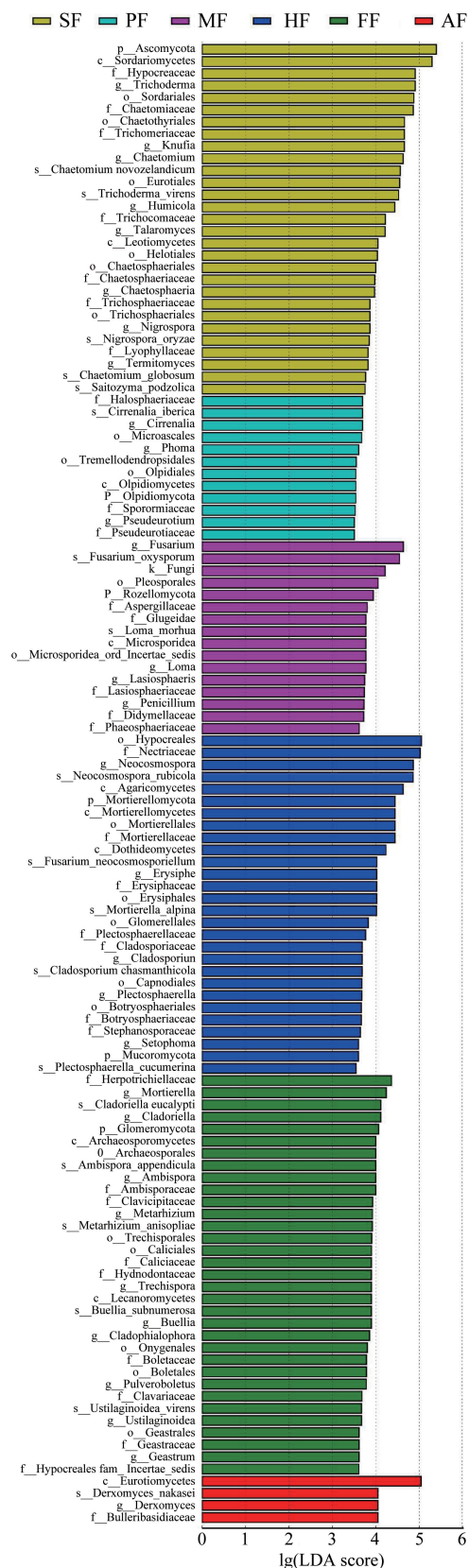


图7 土壤真菌群落间差异 LEfSe 分析图  
Fig.7 LEfSe analysis of differences in soil fungal community

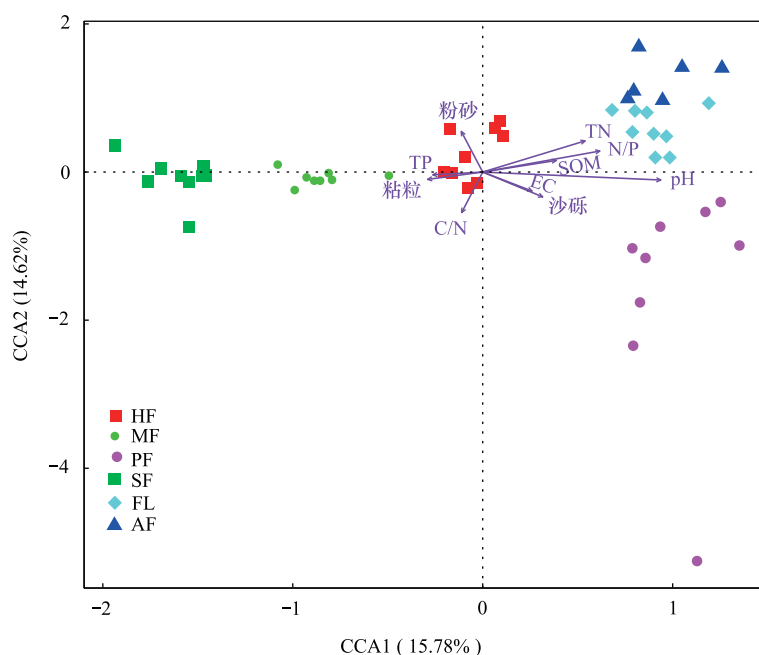


图 8 OTU 水平上基于 Weighted Unifrac 差异的 CCA 分析

Fig.8 Weighted UniFrac distance-based CCA analysis at the OTU level

TN: 全氮 Totalnitrogen; TP:全磷 Total phosphorus;EC:电导率 Electrical conductivity;SOM: 有机质 Soil organicmatter

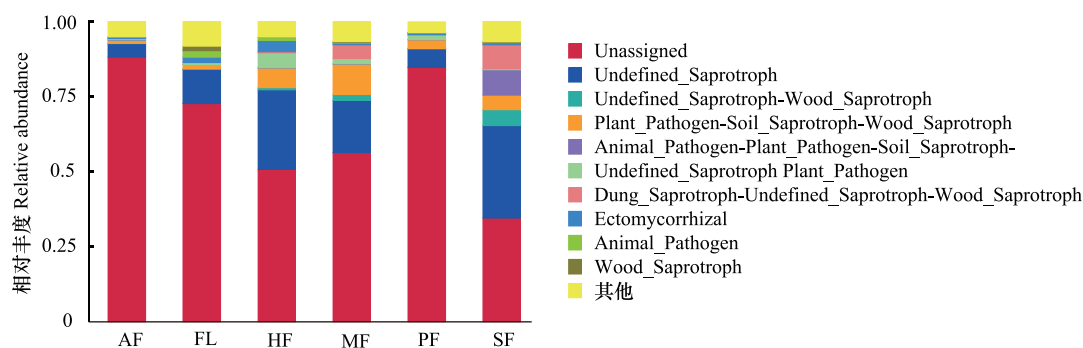


图 9 不同耕作模式土壤真菌群落功能预测

Fig.9 Functional predictions of the fungal communities in soils under different tillage modes

定细菌群落变化的主要因素,而真菌群落结构通常与土壤养分含量密切相关<sup>[28-29]</sup>。然而,该区土壤真菌群落结构受土壤 pH 值影响最为明显。同时,TN、N/P 对土壤真菌群落结构显著相关<sup>[30]</sup>,有研究表明,当微生物氮的利用率过高时,会抑制 N 吸收相关酶的活性,刺激 P 吸收相关酶的活性<sup>[31-33]</sup>,加剧土壤对磷的需求<sup>[34]</sup>,说明土壤氮、磷可促进真菌物种之间的相互作用<sup>[35]</sup>。

### 3.4 耕作模式对土壤真菌群落功能的影响

从土壤微生物群落中的关键真菌功能类群来看,如果选择适宜的耕作措施,可以预防或减少植物根系病害的发生和危害,在保持土壤质量和健康方面可发挥至关重要的作用<sup>[36]</sup>。本研究结果显示,该区土壤中未鉴定营养型真菌含量较高,可见,这类真菌类群还无法依据现有研究结果进行区分,还缺少深入研究。该区土壤真菌功能类群中,腐生营养型真菌比例最大,其次为病理营养型真菌,共生营养型真菌的比例最小。耕作模式对土壤功能类真菌影响明显,HF、MF、SF、PF 土壤腐生营养型真菌、病理营养型真菌的含量显著高于退耕模

式(FL、AF),耕作活动在提高腐生营养型真菌含量的同时,也刺激病理营养型真菌的生长,说明耕作活动较为频繁的土壤容易造成腐生营养型真菌的富集,同时增加了从宿主细胞获取营养来源、对植物生长具有一定危害影响的病理型真菌<sup>[37]</sup>。SF 明显促进腐生营养型真菌的生长,这可能是田间填加秸秆作为有机肥的措施为腐生真菌的生长提供了营养。已有研究结果表明,共生营养型真菌可能在作物健康、营养和品质方面发挥重要作用<sup>[38]</sup>。值得说明的是,保护性耕作(HF)共生营养型的真菌类群最为丰富,共生营养真菌在作物健康、营养和品质方面发挥着重要作用,可降低农田病虫害风险,促进作物生长,提高产量与品质。因此,相对其他耕作活动来说,HF 是对土壤健康和作物生长的较优处理方式。FUNGuild 虽然在一定程度上解析了真菌的功能,但由于这种方法是基于已有文献和数据,具有一定的局限性,因此,依该方法确定的土壤真菌类群结构和功能群数据库仍有待进一步完善。

#### 4 结论

农作区是喀斯特峰丛洼地区土地利用与生态环境变化的热点区域,生态风险高,耕作活动是引发该风险的导火线之一。本研究认为,不同耕作模式通过改变土壤性质与环境状况,改变了土壤真菌群落构成、丰度和功能。保护性耕作模式(HF)的土壤真菌多样性与群落结构具有与退耕模式相似的特征,且 HF 土壤共生营养型真菌最为丰富,能较好地维持土壤真菌群落结构特征和提高作物健康和品质,具有良好的生态环境效应。此外,本研究中保护性耕作模式的火龙果还具有较高的经济效益,因此,火龙果种植模式可作为峰丛洼地农作区生态、经济双提升的一种耕种模式。

#### 参考文献(References):

- [1] 李阳兵,侯建筠,谢德体. 中国西南岩溶生态研究进展. 地理科学, 2002, 22(3): 365-370.
- [2] 宋敏,邹冬生,杜虎,彭晚霞,曾馥平,谭秋锦,范夫静. 不同土地利用方式下喀斯特峰丛洼地土壤微生物群落特征. 应用生态学报, 2013, 24(9): 2471-2478.
- [3] Deng Y, Jiang Z C. Characteristic of rocky desertification and comprehensive improving model in karst peak-cluster depression in Guohua, Guangxi, China. Procedia Environmental Sciences, 2011, 10: 2449-2452.
- [4] 陈永华,熊康宁,池永宽. 我国南方喀斯特石漠化治理进展. 江苏农业科学, 2019, 47(1): 17-21.
- [5] Koch A, McBratney A, Lal R. Global soil week: Put soil security on the global agenda. Nature, 2012, 492(7428): 186-186.
- [6] Zhu Y G, Meharg A A. Protecting global soil resources for ecosystem services. Ecosystem Health and Sustainability, 2015, 1(3): 1-4.
- [7] 朱永官,李刚,张甘霖,傅伯杰. 土壤安全:从地球关键带到生态系统服务. 地理学报, 2015, 70(12): 1859-1869.
- [8] Falkowski P G, Fenchel T, Delong E F. The microbial engines that drive Earth's biogeochemical cycles. Science, 2008, 320(5879): 1034-1039.
- [9] Burke D J, Weintraub M N, Hewins C R, Kalisz S. Relationship between soil enzyme activities, nutrient cycling and soil fungal communities in a northern hardwood forest. Soil Biology and Biochemistry, 2011, 43(4): 795-803.
- [10] Clemmensen K E, Bahr A, Ovaskainen O, Dahlberg A, Ekblad A, Wallander H, Stenlid J, Finlay R D, Wardle D A, Lindahl B D. Roots and associated fungi drive long-term carbon sequestration in boreal forest. Science, 2013, 339(6127): 1615-1618.
- [11] Hu X J, Liu J J, Wei D, Zhu P, Cui X A, Zhou B K, Chen X L, Jin J, Liu X B, Wang G H. Soil bacterial communities under different long-term fertilization regimes in three locations across the black soil region of northeast China. Pedosphere, 2018, 28(5): 751-763.
- [12] 赵蕾,盖爽爽,郑生猛,胡亚军,刘华英,何寻阳. 季节与小生境对喀斯特灌丛土壤丛枝菌根真菌群落的影响. 农业现代化研究, 2019, 40(5): 870-877.
- [13] Essel E, Xie J H, Deng C C, Peng Z K, Wang J B, Shen J C, Xie J H, Coulter J A, Li L L. Bacterial and fungal diversity in rhizosphere and bulk soil under different long-term tillage and cereal/legume rotation. Soil and Tillage Research, 2019, 194: 104302.
- [14] 林艳,何跃军,何敏红,吴春玉,方正圆,韩勛,徐鑫洋,王世雄. 喀斯特植被演替过程土壤丛枝菌根真菌(AMF)多样性. 生态学报, 2019, 39(11): 4127-4137.
- [15] Jeffries P, Gianinazzi S, Perotto S, Turnau K, Barea J M. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. Biology and Fertility of Soils, 2003, 37(1): 1-16.
- [16] Luo X S, Fu X Q, Yang Y, Cai P, Peng S B, Chen W L, Huang Q Y. Microbial communities play important roles in modulating paddy soil fertility. Scientific Reports, 2016, 6: 20326.

- [17] Frey S D, Elliott E T, Paustian K. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. *Soil Biology and Biochemistry*, 1999, 31(4): 573-585.
- [18] Liang A Z, McLaughlin N B, Zhang X P, Shen Y, Shi X H, Fan R Q. Short-term effects of tillage practices on soil aggregate fractions in a Chinese Mollisol. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Soil & Plant Science*, 2011, 61(6): 535-542.
- [19] Sun B J, Jia S X, Zhang S X, McLaughlin N B, Zhang X P, Liang A Z, Chen X W, Wei S C, Liu S Y. Tillage, seasonal and depths effects on soil microbial properties in black soil of Northeast China. *Soil and Tillage Research*, 2016, 155: 421-428.
- [20] 刘雯雯, 喻理飞, 严令斌, 刘娜, 赵庆. 喀斯特石漠化区植被恢复不同阶段土壤真菌群落组成分析. *生态环境学报*, 2019, 28(4): 669-675.
- [21] Liang Y M, Pan F J, He X Y, Chen X B, Su Y R. Effect of vegetation types on soil arbuscular mycorrhizal fungi and nitrogen-fixing bacterial communities in a karst region. *Environmental Science and Pollution Research*, 2016, 23(18): 18482-18491.
- [22] 何敏红, 何跃军, 吴春玉, 欧静, 林艳, 方正圆, 韩勛, 徐鑫洋. 石漠化强度对喀斯特植被演替过程土壤真菌组成及多样性的影响. *菌物学报*, 2019, 38(4): 471-484.
- [23] 鲍士旦. 土壤农化分析(第三版). 北京: 中国农业出版社, 2000: 56-58, 81-83, 106-108.
- [24] De Araujo Pereira A P, Santana M C, Bonfim J A, De Lourdes Mescolotti D, Cardoso E J B N. Digging deeper to study the distribution of mycorrhizal arbuscular fungi along the soil profile in pure and mixed *Eucalyptus grandis* and *Acacia mangium* plantations. *Applied Soil Ecology*, 2018, 128: 1-11.
- [25] Zhang Z F, Cai L. Substrate and spatial variables are major determinants of fungal community in karst caves in Southwest China. *Journal of Biogeography*, 2019, 46(7): 1504-1518.
- [26] Olden J D, Poff N L. Toward a mechanistic understanding and prediction of biotic homogenization. *The American Naturalist*, 2003, 162(4): 442-460.
- [27] Jiang Y J, Liang Y T, Li C M, Wang F, Sui Y Y, Suvannang N, Zhou J Z, Sun B. Crop rotations alter bacterial and fungal diversity in paddy soils across East Asia. *Soil Biology and Biochemistry*, 2016, 95: 250-261.
- [28] Liu J J, Sui Y Y, Yu Z H, Shi Y, Chu H Y, Jin J, Liu X B, Wang G H. Soil carbon content drives the biogeographical distribution of fungal communities in the black soil zone of northeast China. *Soil Biology and Biochemistry*, 2015, 83: 29-39.
- [29] Wang Z T, Chen Q, Liu L, Wen X X, Liao Y C. Responses of soil fungi to 5-year conservation tillage treatments in the drylands of northern China. *Applied Soil Ecology*, 2016, 101: 132-140.
- [30] 季凌飞, 倪康, 马立锋, 陈兆杰, 赵远艳, 阮建云, 郭世伟. 不同施肥方式对酸性茶园土壤真菌群落的影响. *生态学报*, 2018, 38(22): 8158-8166.
- [31] Olander L P, Vitousek P M. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry*, 2000, 49(2): 175-191.
- [32] Moorhead D L, Sinsabaugh R L. A theoretical model of litter decay and microbial interaction. *Ecological Monographs*, 2006, 76(2): 151-174.
- [33] Olander L P, Vitousek P M. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry*, 2000, 49(2): 175-190.
- [34] Zhan S X, Wang Y, Zhu Z C, Li W H, Bai Y F. Nitrogen enrichment alters plant N: P stoichiometry and intensifies phosphorus limitation in a steppe ecosystem. *Environmental and Experimental Botany*, 2017, 134: 21-32.
- [35] Bünemann E K, Bossio D A, Smithson P C, Frossard E, Oberson A. Microbial community composition and substrate use in a highly weathered soil as affected by crop rotation and P fertilization. *Soil Biology and Biochemistry*, 2004, 36(6): 889-901.
- [36] Frąc M, Hannula S E, Bełka M, Jędrzycka M. Fungal biodiversity and their role in soil health. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 707.
- [37] Anthony M A, Frey S D, Stinson K A. Fungal community homogenization, shift in dominant trophic guild, and appearance of novel taxa with biotic invasion. *Ecosphere*, 2017, 8(9): e01951.
- [38] Igiehon N O, Babalola O O. Biofertilizers and sustainable agriculture: exploring arbuscular mycorrhizal fungi. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(12): 4871-4881.