

## 杨树人工林土壤丛枝菌根真菌群落对氮添加的季节性动态响应

彭思利<sup>1</sup>, 张鑫<sup>1</sup>, 武仁杰<sup>1</sup>, 蔡延江<sup>2</sup>, 邢玮<sup>3,4</sup>, 葛之葳<sup>1</sup>, 毛岭峰<sup>1</sup>

(1. 南京林业大学生物与环境学院 南方现代林业协同创新中心, 江苏 南京 210037; 2. 浙江农林大学 环境与资源学院, 浙江 杭州 311300; 3. 江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153; 4. 江苏省林业科学研究院 江苏盐城滨海湿地生态系统国家定位观测研究站, 江苏 盐城 224000)

**摘要:** 【目的】探究杨树 *Populus* spp. 人工林土壤丛枝菌根 (arbuscular mycorrhizal, AM) 真菌群落结构和多样性对氮添加的季节动态响应及其驱动因素。【方法】以江苏省东台林场杨树为对象, 研究 5 种氮添加水平 (0、5、10、15 和 30  $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ ) 处理 6 a 后土壤理化性质、AM 真菌群落结构和多样性随季节的动态变化, 并分析了 AM 真菌群落特征与土壤环境因子的关系。【结果】①高通量测序共获得 AM 真菌有效序列 1307513 条, 196 个分类操作单元 (OTU) 分属于 4 目 8 科 10 属, 其中球囊霉属 *Glomus* 和多胞囊霉属 *Diversispora* 相对丰度之和平均达 99.3%; ②氮添加处理对 AM 真菌多样性指数影响不显著, 但随着氮添加水平的增加多胞囊霉属的相对丰度逐渐降低, 其中高氮 (30  $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ ) 处理球囊霉属的相对丰度显著 ( $P < 0.05$ ) 高于低氮处理 (5 和 10  $\text{g}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{a}^{-1}$ ); ③季节对 AM 真菌群落结构 (基于 OTUs,  $r = 0.695$ ) 及 Chao 指数、Simpson 指数均有显著影响, 且秋季和春季的 AM 真菌多样性指数均显著高于夏季 ( $P < 0.01$ ); ④冗余分析结果表明: 土壤 pH、总磷和总氮等 9 个环境因子对 AM 真菌群落组成变化的解释量为 57.6% ( $P = 0.001$ ), 其中 AM 真菌群落组成与土壤温度的相关性最大 ( $r = 0.766$ ), 另外群落组成和多样性指数均与 pH、总磷、总碳和铵态氮有显著相关关系 ( $P < 0.05$ )。【结论】氮添加下, 杨树人工林土壤 AM 真菌群落具有季节性响应, 土壤温度、pH、总磷、总碳和铵态氮是影响 AM 真菌群落动态变化的主要驱动因素。图 2 表 4 参 34

**关键词:** 氮沉降; 季节动态; 丛枝菌根真菌; 群落结构; 多样性; 杨树人工林

中图分类号: S718.5 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2023)04-0792-09

## Seasonal dynamic responses of soil arbuscular mycorrhizal fungal community to nitrogen additions in a poplar plantation

PENG Sili<sup>1</sup>, ZHANG Xin<sup>1</sup>, WU Renjie<sup>1</sup>, CAI Yanjiang<sup>2</sup>, XING Wei<sup>3,4</sup>, GE Zhiwei<sup>1</sup>, MAO Lingfeng<sup>1</sup>

(1. Co-Innovation Center for Sustainable Forestry in Southern China, College of Biology and the Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China; 2. College of Environment and Resources, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, Zhejiang, China; 3. Jiangsu Academy of Forestry Sciences, Nanjing 211153, Jiangsu, China; 4. Yancheng Coastal Wetland Ecosystem National Research Station, Jiangsu Academy of Forestry Sciences, Yancheng 224000, Jiangsu, China)

**Abstract:** [Objective] The study aimed to investigate the effects of nitrogen addition and sampling season on soil arbuscular mycorrhizal (AM) fungal community structure and diversity in a poplar plantation, and clarify

收稿日期: 2022-10-17; 修回日期: 2023-04-10

基金项目: 江苏省 2022 年度碳达峰碳中和科技创新专项资金项目 (BE2022305); 江苏省科技厅社会发展面上项目 (BE2022792); 江苏省林业科技创新与推广项目 (LYKJ〔2021〕25); 国家自然科学基金资助项目 (41601254, 32271712)

作者简介: 彭思利 (ORCID: 0000-0001-8118-9287), 从事土壤生态学研究。E-mail: pengsili@njfu.edu.cn。通信作者: 毛岭峰 (ORCID: 0000-0002-2884-135X), 教授, 博士生导师, 从事森林生态学研究。E-mail: maolingfeng2008@163.com

the driving factors. [Method] A field simulating experiment with five nitrogen addition levels (0, 5, 10, 15 and  $30 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ ) was conducted in a poplar plantation in Dongtai Forest Farm, Jiangsu. After six years of continuous nitrogen additions, the dynamic changes of soil physicochemical properties, AM fungal community diversity and composition in four seasons (spring, summer, autumn and winter) were examined, and the relationships between the characteristics of AM fungal community and soil environmental factors were also analyzed. [Result] (1) A total of 1 307 513 high-quality AM fungal sequences were identified by high-throughput sequencing, and they were assigned to 196 OTUs, 4 orders, 8 families, and 10 genera. The dominated genera were *Glomus* and *Diversispora*, and the total average relative abundances of them reached to 99.3%. (2) Nitrogen addition had no significant effect on the AM fungal community structure and diversity. However, the relative abundance of *Diversispora* decreased significantly with the increase of nitrogen addition level, and the relative abundances of *Glomus* under high nitrogen addition ( $30 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ ) was significantly higher than under low nitrogen additions (5 and  $10 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ ) ( $P < 0.05$ ). (3) Season had significant effects on the AM fungal community Chao index, Simpson index and community structure (based on OTUs,  $r=0.695$ ), and the AM fungal community diversity indexes in autumn and spring were significantly higher than that in summer ( $P < 0.01$ ). (4) Redundancy analysis showed that nine environmental factors measured in this study explained 57.6% variance in the AM fungal community composition, passing the Monte Carlo test with 999 permutations ( $P=0.001$ ). Among these factors, temperature had the greatest correlation with the AM fungal community composition ( $r=0.766$ ). Moreover, pH, total P, total C and  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  were significantly correlated with the AM fungal community composition and diversity ( $P < 0.05$ ). [Conclusion] Nitrogen addition and sampling season had effects on the AM fungal community. Temperature, pH, total P, total C and  $\text{NH}_4^+\text{-N}$  of soil were important drivers for the AM fungal community dynamic changes in this poplar plantation. [Ch, 2 fig, 4 tab, 34 ref.]

**Key words:** nitrogen deposition; seasonal dynamics; arbuscular mycorrhizal fungi; community composition; diversity; poplar plantation

中国是世界三大氮沉降区之一，自 20 世纪 80 年代以来陆地生态系统氮沉降增加了 60%<sup>[1]</sup>。中国中东部森林生态系统大气氮沉降已超过  $20 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2} \cdot \text{a}^{-1}$ ，并呈现逐年加重的趋势<sup>[2]</sup>。长期的氮输入使许多陆地生态系统氮含量增加，引发土壤矿化速率增加、土壤酸化和生物多样性降低等问题<sup>[3-4]</sup>。丛枝菌根 (arbuscular mycorrhizal, AM) 真菌能与绝大多数陆地植物的根系形成互惠共生体，既从宿主植物获得自身生长所需的碳源，也帮助宿主植物吸收营养物质、提高宿主植物对胁迫条件的耐性和减轻病虫害等，其农学和生态学意义都十分重大<sup>[5-6]</sup>。然而，氮沉降增加会导致土壤氮含量及酸碱度发生改变，也会影响 AM 真菌群落及其与宿主植物的相互关系，进而影响植物群落组成、土壤微生物类群及相关土壤生态过程<sup>[7]</sup>。近年来开展了许多模拟氮沉降对 AM 真菌群落影响的试验，发现氮添加可能增加<sup>[8]</sup>、降低<sup>[9-10]</sup>或不影响<sup>[11]</sup>AM 真菌的群落组成和多样性，这可能与土壤养分含量、宿主植物类型、氮添加量和持续时间以及测定方法差异等有关<sup>[12]</sup>。同时，不同季节土壤温湿度的变化，以及寄主植物能为 AM 真菌提供碳源的差异也会对 AM 真菌群落产生影响<sup>[13]</sup>。

杨树 *Populus* spp. 是一类能与 AM 真菌共生的树种，这在一定程度上促进了其在各种胁迫环境中的生长<sup>[14]</sup>。杨树人工林在中国氮沉降最严重的地区，即苏北沿海地区，广泛分布，在木材生产和生态环境保护方面发挥着巨大的作用<sup>[15]</sup>。氮添加会影响杨树人工林土壤有机碳、土壤动物和微生物群落结构等<sup>[16-18]</sup>，但氮添加对杨树根际土壤 AM 真菌群落的影响及其季节性差异目前尚不明确。鉴于此，本研究以江苏省盐城市东台林场杨树人工林为研究对象，在连续施氮 6 a 后，于春、夏、秋、冬 4 个季节分别采集根际土壤，通过高通量测序解析 AM 真菌群落结构和多样性的动态变化特征；同时监测土壤理化性质，分析 AM 真菌群落与环境因子之间的关系，以期为认识氮沉降背景下杨树人工林地下生态过程和生态系统功能提供数据支撑。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究区概况

研究区位于江苏省盐城市东台林场(32°33'~32°57'N, 120°07'~120°53'E), 该区地处长江中下游冲积平原, 属北亚热带季风气候。年均气温为 14.6 °C、相对湿度为 88.3%, 无霜期为 220.0 d, 年日照时数为 2 169.6 h, 年太阳辐射总量为 493.5 J·cm<sup>-2</sup>, 年均降水量为 1 059.8 mm。林场内杨树人工林占地面积达 2 000 hm<sup>2</sup>, 土壤为砂质壤土, 弱碱性。

### 1.2 试验设计与样品采集

杨树人工林氮沉降样地设立于 2012 年 5 月, 采用人工施氮的方式模拟大气氮沉降。选择 2003 年营造的黑杨派无性系 I35 *Populus deltoides* CL35 人工林, 设置 3 块 25 m×190 m 的样地。采用随机区组设计, 每块样地设置 5 个 25 m×30 m 样方, 样方间设置 10 m 的缓冲带。参照该地区大气氮沉降水平(6.3~12.6 kg·hm<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup>[19]) 设置 5 种氮添加量, 分别为 0、5、10、15 和 30 g·m<sup>-2</sup>·a<sup>-1</sup>, 依次标记为 N<sub>0</sub>、N<sub>1</sub>、N<sub>2</sub>、N<sub>3</sub> 和 N<sub>4</sub>。每年 5—10 月进行人工施氮, 将年施氮量平均分配到上述 6 个月, 每次将所需的硝酸铵(NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) 溶解在 20 L 水中(相当于 0.027 mm 降水), 用喷雾器均匀洒入样方中, 对照喷洒等量水。

分别于 2018 年 7 月(夏季)、2018 年 10 月(秋季)、2019 年 1 月(冬季)和 2019 年 4 月(春季), 在每个样方中随机选择生长一致的杨树 4~5 株, 去除凋落物层后, 采集位于 0~20 cm 土层的杨树细根(直径小于 2 mm) 根际土壤样品(根系抖落后的土壤), 在野外迅速过 2 mm 筛。将同一样方中的根际土壤混合均匀, 放入自封袋中, 共取得 5(施氮水平)×3(重复)×4(采样季节)=60 个土壤样品。将取得的土壤样品保温箱冷藏带回实验室, 每个土壤样品分为 2 份, 一份放入-80 °C 冰箱, 用于 AM 真菌群落结构和多样性的测定; 另一份风干, 用于测定土壤理化性质。

### 1.3 土壤理化性质的测定

土壤 pH 值采用玻璃电极法测定(土水质量比为 1:5); 土壤总碳(TC)、总氮(TN)使用元素分析仪(Perkin Elmer 2400 II) 测定; 土壤总磷(TP)和速效磷(AP)采用钼锑抗比色法测定; 硝态氮(NO<sub>3</sub>-N)和铵态氮(NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N)采用紫外分光光度法和靛酚蓝比色法测定[20]。4 个采样时间的月平均土壤温度和湿度采用土壤温湿度仪测定。

### 1.4 AM 真菌高通量测序与生物信息学分析

AM 真菌群落结构组成采用 Illumina Miseq 高通量测序技术测定。具体步骤为: 称取 0.5 g 冷冻土样, 用 Fast DNA SPIN Kit for soil(MP) 试剂盒进行总 DNA 抽提, 以 Nano Drop 2000 进行 DNA 浓度和纯度的检测; 以 AML1/AML2[21] 和 AMV4-5NF/AMDGR[22] 进行 2 轮 PCR 扩增(ABI Gene Amp® 9700 型)。第 1 轮 PCR 反应参数为: 95 °C 预变性 3 min, 32 个循环(95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 45 s), 最后 72 °C 延伸 10 min。第 2 轮 PCR 利用第 1 次 PCR 产物作为模板, 反应参数为: 95 °C 预变性 3 min, 30 个循环(95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s), 最后 72 °C 延伸 10 min。PCR 扩增体系为 20.0 μL, 5×FastPfu 缓冲液 4.0 μL, 2.5 mmol·L<sup>-1</sup> dNTPs 2.0 μL, 引物(5 μmol·L<sup>-1</sup>) 0.8 μL, FastPfu 聚合酶 0.4 μL, BSA 0.2 μL, DNA 模板 10 ng。扩增的 PCR 产物以 Axy Prep DNA Gel Extraction Kit(Axygen Biosciences) 纯化后, 利用 Quanti Fluor™-ST(Promega) 进行定量检测; 送至上海美吉生物医药科技有限公司的 Miseq PE250 平台(Illumina) 进行测序。60 个样本的测序原始数据已上传至美国国家生物技术信息中心(NCBI) 数据库(序列登录号: PRJNA904933)。将测序后的数据去除非目的序列, 再以软件 Usearch 归类操作, 依据序列相似性(相似性水平为 97%) 归为不同的分类操作单元(OTU), 并根据 MaarjAM 库中的参考序列对 OTU 进行种属鉴定(相似性水平为 97%)。

### 1.5 统计分析

将所有样本序列抽平至 10 000 条后, 用 Mothur 软件计算 AM 真菌群落 Chao 指数和 Simpson 指数[23], 在属水平统计各样本的群落组成。采用 R 语言 vegan 软件包对 AM 真菌群落结构(基于 OTUs 组成) 进行非度量多维度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS), 并采用 ANOSIM 进行不同氮添加和季节间以及同一季节不同氮处理间差异显著性分析; AM 真菌群落结构与各环境因子间的关系用冗余分析(redundancy analysis, RDA) 评价, RDA 分析只保留方差膨胀因子(variance inflation factor, VIF) 小于

10 的环境因子，并用蒙特卡洛分析 (Monte Carlo) 进行环境因子与 AM 真菌群落结构的显著性检验。采用 SPSS 18.0 对季节和氮添加处理下 AM 真菌群落多样性指数、主要类群相对丰度和环境因子的影响进行多元方差分析 (MANOVA)；对同一季节不同氮添加处理下 AM 真菌群落多样性指数和环境因子进行单因素方差分析；并用 Spearman 相关系数分析 AM 真菌群落多样性指数与环境因子间的相关关系。用 Origin 2017 作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 土壤理化性质

双因素 (氮添加和季节) 方差分析 (表 1) 表明：季节对所测的 10 个土壤理化性质均有显著影响，而氮处理对土壤 pH、碳氮比、铵态氮和硝态氮质量分数有显著影响 ( $P < 0.01$ )。随着氮添加量的增加，土壤 pH 和碳氮比均有降低的趋势，且  $N_0$ 、 $N_1$  和  $N_2$  处理下两者显著高于  $N_3$  和  $N_4$  处理 ( $P < 0.05$ )； $N_4$  处理下的土壤硝态氮质量分数显著高于其他处理，而铵态氮质量分数在  $N_1$  处理下最大。不同氮组分随着季节变化呈不同的变化方式：秋季和夏季总氮质量分数显著高于冬季和春季 ( $P < 0.05$ )；铵态氮和硝态氮质量分数的最大值分别出现在冬季和秋季，且显著高于其余季节 ( $P < 0.05$ )。此外，随季节的变化土壤温度从大到小依次为夏季、秋季、春季、冬季，而土壤湿度从大到小依次为冬季、春季、夏季、秋季，且各季节间均有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

表 1 供试土壤理化性质

Table 1 Soil physicochemical properties in the poplar plantations

季节	氮添加	pH	总氮/ ( $g \cdot kg^{-1}$ )	总磷/ ( $mg \cdot kg^{-1}$ )	总碳/ ( $g \cdot kg^{-1}$ )	碳氮比	速效磷/ ( $mg \cdot kg^{-1}$ )	铵态氮/ ( $mg \cdot kg^{-1}$ )	硝态氮/ ( $mg \cdot kg^{-1}$ )	湿度/%	温度/ $^{\circ}C$
夏季	$N_0$	8.29±0.07 ab	1.73±0.06 b	923±6 a	18.1±1.4 a	10.5±1.1 a	36.8±11.6 a	5.98±0.56 b	2.48±0.48 d	20.1±0.2 a	20.2±0.1 a
	$N_1$	8.19±0.02 b	1.83±0.12 b	893±17 a	16.4±1.6 ab	9.0±1.5 ab	37.2±22.7 a	7.45±0.24 a	7.85±0.54 b	20.5±0.5 a	20.2±0.2 a
	$N_2$	8.31±0.03 a	2.27±0.15 a	878±10 a	17.4±1.3 ab	7.7±0.6 b	28.4±3.9 a	6.20±0.38 b	4.06±0.33 c	21.0±0.6 a	20.2±0.3 a
	$N_3$	8.20±0.07 ab	1.97±0.40 ab	893±13 a	15.0±1.7 b	7.7±0.8 b	43.3±3.3 a	7.41±0.49 a	3.61±0.21 c	21.0±0.5 a	20.2±0.1 a
	$N_4$	7.99±0.08 c	1.97±0.06 ab	884±50 a	15.4±0.4 b	7.8±0.4 b	44.5±1.0 a	7.42±0.50 a	25.25±0.41 a	20.6±0.5 a	20.2±0.1 a
秋季	$N_0$	8.65±0.02 a	2.13±0.45 a	778±23 a	17.4±1.2 b	8.5±2.4 a	13.8±5.7 a	5.43±0.42 a	12.38±0.97 b	17.7±0.2 a	17.3±0.2 a
	$N_1$	8.55±0.03 b	2.40±0.50 a	808±25 a	17.2±0.7 b	7.4±1.4 a	18.4±4.8 a	5.56±0.21 a	2.50±0.49 c	17.7±0.6 a	17.3±0.3 a
	$N_2$	8.43±0.02 c	2.40±0.46 a	772±64 a	15.2±1.0 c	6.5±1.4 a	13.4±1.5 a	5.28±0.40 a	10.52±1.52 c	17.9±0.7 a	17.3±0.1 a
	$N_3$	8.55±0.04 b	3.33±1.64 a	806±23 a	17.9±0.4 b	6.2±2.7 a	13.6±6.7 a	3.95±0.30 b	10.80±1.98 c	17.8±0.8 a	17.3±0.2 a
	$N_4$	8.37±0.03 d	3.63±1.40 a	792±22 a	19.7±1.2 a	5.9±2.0 a	13.9±1.8 a	5.45±0.20 a	58.91±2.09 a	17.6±0.5 a	17.3±0.4 a
冬季	$N_0$	8.46±0.03 bc	1.33±0.21 a	757±8 a	16.5±1.8 a	12.4±0.7 a	19.0±3.6 a	8.86±0.61 a	11.83±0.09 b	33.9±0.2 a	5.5±0.1 a
	$N_1$	8.51±0.03 ab	1.37±0.25 a	705±6 bc	17.1±1.4 a	12.7±1.5 a	19.2±1.7 a	8.14±0.19 b	11.86±0.41 b	33.9±0.4 a	5.5±0.1 a
	$N_2$	8.55±0.04 a	1.40±0.10 a	693±22 c	16.4±0.5 a	11.8±0.8 a	19.4±3.6 a	7.46±0.19 c	11.83±0.19 b	33.8±0.2 a	5.5±0.1 a
	$N_3$	8.42±0.05 c	1.43±0.15 a	727±9 b	15.2±1.0 a	10.6±0.4 a	20.6±4.8 a	7.75±0.05 bc	11.66±0.73 b	34.0±0.2 a	5.5±0.0 a
	$N_4$	8.46±0.04 bc	1.47±0.21 a	708±9 bc	14.9±0.8 a	10.4±1.9 a	22.1±5.6 a	6.73±0.23 d	14.72±0.19 a	34.0±0.4 a	5.6±0.1 a
春季	$N_0$	8.54±0.06 bc	1.40±0.00 bc	647±10 a	17.1±0.2 b	12.2±0.1 ab	21.8±4.3 a	5.65±0.08 b	1.10±0.24 a	27.9±0.4 a	14.6±0.1 a
	$N_1$	8.62±0.01 a	1.50±0.20 b	558±147 a	19.6±0.2 a	13.2±1.9 a	25.5±7.9 a	7.47±0.79 a	1.19±0.08 a	27.8±0.6 a	14.6±0.2 a
	$N_2$	8.57±0.03 ab	1.17±0.06 c	639±12 a	16.9±0.6 b	14.5±0.5 a	22.4±3.2 a	5.17±0.14 b	1.06±0.14 a	27.7±0.6 a	14.6±0.2 a
	$N_3$	8.50±0.01 c	1.50±0.17 b	668±11 a	18.6±1.2 ab	12.6±2.4 a	21.2±3.5 a	5.51±0.22 b	1.11±0.41 a	27.3±0.5 a	14.6±0.1 a
	$N_4$	8.60±0.02 ab	1.83±0.15 a	673±1 a	18.1±1.7 ab	9.9±0.2 b	19.8±2.5 a	6.96±0.25 a	1.53±0.07 a	27.9±0.9 a	14.6±0.1 a
氮添加	**	ns	ns	ns	**	ns	**	**	ns	ns	
季节	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
氮添加×季节	**	ns	ns	**	ns	ns	**	**	ns	ns	

说明：表中数值为 3 个重复的平均值±标准差。同列不同小写字母表示同一季节下氮添加处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。ns 表示差异不显著，\*表示差异达 5% 显著水平，\*\*表示差异达 1% 显著水平。



## 2.2 土壤 AM 真菌多样性

60个土壤样本共获得1337714条原始序列,去除低质量序列后,得AM真菌有效序列1307513条(每个样本12998~24496条),分属于196个分类单元(OUT)。所有样本的稀释曲线在测序量为4000条时已趋于平稳,表明本研究中的土壤样品测序深度足够反映样本中的AM真菌群落结构。双因素方差分析结果(表2)表明:氮处理对Chao指数( $P=0.193$ )和Shannon指数( $P=0.725$ )均无显著影响,而不同季节间差异显著( $P<0.01$ )。Chao和Shannon指数最大值均出现在秋季,平均值分别为98.31和3.07。秋季、冬季和春季间的Shannon指数差异不显著,且显著高于夏季( $P<0.01$ );对Chao指数而言,除夏季和冬季差异不显著外,其他季节间均有显著差异,从大到小依次为秋季、春季、夏季、冬季。

表2 AM真菌群落丰富度和多样性指数

Table 2 Soil AM fungal community richness and diversity index

处理	Chao指数				Shannon指数			
	夏季	秋季	冬季	春季	夏季	秋季	冬季	春季
N <sub>0</sub>	90.1±2.6 a	105.0±10.7 a	68.5±2.2 a	94.9±16.2 a	2.58±0.23 a	3.20±0.04 a	2.78±0.36 a	3.12±0.10 a
N <sub>1</sub>	76.0±11.7 a	98.4±14.8 a	78.4±3.9 a	93.8±7.5 a	2.63±0.51 a	3.22±0.08 a	3.00±0.06 a	2.86±0.05 c
N <sub>2</sub>	73.5±11.3 a	89.3±11.4 a	77.2±15.9 a	77.3±5.5 a	2.65±0.58 a	2.84±0.80 a	2.88±0.25 a	2.90±0.15 bc
N <sub>3</sub>	71.5±20.0 a	97.9±3.5 a	68.6±13.4 a	82.2±10.2 a	2.45±0.24 a	3.16±0.05 a	2.70±0.12 a	3.04±0.16 abc
N <sub>4</sub>	74.3±19.6 a	101.4±18.6 a	67.2±2.7 a	91.7±4.9 a	2.24±0.40 a	2.92±0.48 a	2.83±0.21 a	3.10±0.05 ab
氮添加		ns					ns	
季节		**					**	
氮添加×季节		ns					ns	

说明:表中数值为3个重复的平均值±标准差。同列不同小写字母表示同一季节下氮添加处理间差异显著( $P<0.05$ )。ns表示差异不显著,\*表示差异达5%显著水平,\*\*表示差异达1%显著水平。

## 2.3 土壤 AM 真菌群落组成

主要群落(平均相对丰度 $\geq 0.05\%$ )组成如表3所示:主要有球囊霉属*Glomus*、多胞囊霉属*Diversispora*、盾巨孢囊霉属*Scutellospora*和原囊霉属*Archaeospora*。双因素方差分析表明:季节和氮添加处理均对球囊霉属和多胞囊霉属相对丰度有显著影响( $P<0.05$ )。N<sub>4</sub>处理下的球囊霉属相对丰度显著高于N<sub>1</sub>和N<sub>2</sub>处理( $P<0.05$ );从N<sub>1</sub>到N<sub>4</sub>处理,多胞囊霉属相对丰度逐渐降低,除N<sub>2</sub>和N<sub>3</sub>处理差异不显著外,其他处理间均有显著差异( $P<0.05$ )。球囊霉属相对丰度随着季节变化从大到小依次为冬季、秋季、夏季、春季,除夏季和秋季差异不显著外,其余季节间差异均达显著水平( $P<0.05$ );而多胞囊霉属相对丰度在冬季出现最小值(4.8%),且显著低于其他3个季节。

基于OTUs的NMDS排序分析结果(图1)表明:季节显著影响AM真菌群落结构( $r=0.695$ , $P=0.001$ ),而氮处理对其影响不显著( $r=0.027$ , $P=0.163$ )。对同一季节下不同氮处理间进行相似性检验发现:春季( $r=0.529$ , $P=0.001$ )、冬季( $r=0.479$ , $P=0.002$ )和秋季( $r=0.310$ , $P=0.016$ )不同氮添加处理间AM真菌群落结构差异显著,而夏季氮添加处理间差异不显著( $r=0.124$ , $P=0.125$ )。

## 2.4 AM 真菌群落与环境因子间的关系

测定的所有环境因子中有9个因子VIF小于10,分别是pH、总磷、速效磷、总碳、总氮、碳氮比、铵态氮、硝态氮和温度,它们对AM真菌群落组成变化的解释量为57.6%( $P=0.001$ )。Monte Carlo检验结果表明:除硝态氮外,所有环境因子均与AM真菌群落组成有显著相关关系( $P<0.05$ ,图2)。其中,AM真菌群落组成与温度相关关系最大( $r=0.766$ ),其次为pH( $r=0.385$ )和总磷( $r=0.331$ , $P<0.01$ )。

土壤AM真菌群落多样性指数与土壤理化性质间的相关分析(表4)发现:Chao指数与pH、总碳、碳氮比和温度显著正相关( $P<0.05$ ),与总磷、铵态氮和湿度显著负相关( $P<0.05$ );Shannon指数则与pH和总碳显著正相关( $P<0.05$ ),与总氮、总磷和铵态氮显著负相关( $P<0.05$ )。

表 3 优势 AM 真菌 (相对丰度 ≥ 0.05%) 的相对丰度

Table 3 Relative abundances of the AM fungal groups (relative abundance ≥ 0.05%)

季节	氮添加	优势AM真菌相对丰度/%						
		球囊霉属 <i>Glomus</i>	多胞囊霉属 <i>Diversispora</i>	盾巨孢囊霉属 <i>Scutellospora</i>	球囊菌纲 Glomeromycetes (未分类)	多样孢囊霉科 Diversisporaceae (未分类)	原囊霉属 <i>Archaeospora</i>	其他
夏季	N <sub>0</sub>	89.6±4.9 a	10.0±4.9 b	0.090±0.078 a	0.000±0.000 c	0.027±0.029 a	0.067±0.090 a	0.157±0.271 a
	N <sub>1</sub>	76.3±5.7 b	23.3±5.8 a	0.223±0.387 a	0.007±0.012 c	0.133±0.154 a	0.000±0.000 a	0.000±0.000 a
	N <sub>2</sub>	85.8±6.3 a	13.5±5.9 b	0.550±0.470 a	0.003±0.006 c	0.043±0.006 a	0.000±0.000 a	0.030±0.052 a
	N <sub>3</sub>	85.9±2.5 a	13.3±2.9 b	0.643±0.772 a	0.080±0.070 b	0.003±0.006 a	0.040±0.069 a	0.000±0.000 a
	N <sub>4</sub>	90.9±2.3 a	8.8±2.3 b	0.000±0.000 a	0.213±0.025 a	0.070±0.082 a	0.053±0.051 a	0.000±0.000 a
秋季	N <sub>0</sub>	88.9±0.4 a	10.1±1.1 b	0.757±1.250 a	0.060±0.010 a	0.030±0.026 a	0.000±0.000 a	0.123±0.205 a
	N <sub>1</sub>	74.7±8.6 b	24.6±8.7 a	0.100±0.173 a	0.340±0.150 a	0.160±0.156 a	0.090±0.123 a	0.090±0.147 a
	N <sub>2</sub>	91.1±5.9 a	6.3±2.9 b	1.763±2.470 a	0.790±1.340 a	0.057±0.029 a	0.000±0.000 a	0.000±0.000 a
	N <sub>3</sub>	89.1±3.2 a	10.6±3.1 b	0.063±0.110 a	0.027±0.038 a	0.123±0.021 a	0.013±0.023 a	0.007±0.006 a
	N <sub>4</sub>	89.9±0.9 a	9.1±1.2 b	0.070±0.113 a	0.730±0.729 a	0.127±0.110 a	0.000±0.000 a	0.033±0.049 a
冬季	N <sub>0</sub>	91.6±1.7 bc	7.82±1.80 a	0.233±0.404 a	0.060±0.026 b	0.000±0.000 a	0.010±0.017 b	0.317±0.107 a
	N <sub>1</sub>	95.7±1.2 ab	4.25±1.21 bc	0.000±0.000 a	0.020±0.020 b	0.007±0.006 a	0.000±0.000 b	0.010±0.017 b
	N <sub>2</sub>	93.1±2.7 b	6.79±2.59 ab	0.000±0.000 a	0.077±0.098 b	0.007±0.012 a	0.057±0.049 a	0.013±0.023 b
	N <sub>3</sub>	97.3±0.7 a	1.88±0.26 c	0.000±0.000 a	0.793±0.435 a	0.000±0.000 a	0.000±0.000 b	0.000±0.000 b
	N <sub>4</sub>	96.7±1.2 a	3.29±1.18 bc	0.000±0.000 a	0.043±0.059 b	0.007±0.012 a	0.003±0.006 b	0.000±0.000 b
春季	N <sub>0</sub>	83.0±1.5 ab	16.4±1.4 ab	0.127±0.219 a	0.037±0.032 a	0.190±0.329 a	0.020±0.026 a	0.173±0.300 a
	N <sub>1</sub>	83.6±5.6 ab	15.7±5.3 ab	0.203±0.352 a	0.263±0.040 a	0.057±0.051 a	0.023±0.032 a	0.137±0.237 a
	N <sub>2</sub>	74.0±2.0 b	24.3±2.8 a	0.893±1.030 a	0.357±0.592 a	0.067±0.076 a	0.453±0.777 a	0.000±0.000 a
	N <sub>3</sub>	82.6±9.5 ab	16.2±8.5 ab	0.000±0.000 a	0.593±0.370 a	0.537±0.657 a	0.013±0.006 a	0.010±0.017 a
	N <sub>4</sub>	88.1±4.6 a	11.2±3.9 b	0.430±0.745 a	0.107±0.032 a	0.060±0.072 a	0.153±0.129 a	0.000±0.000 a
氮添加		**	**	ns	ns	ns	ns	**
季节		**	**	ns	ns	ns	ns	ns
氮添加×季节		**	**	ns	ns	ns	ns	ns

说明：表中数值为 3 个重复的平均值±标准差。同列不同小写字母表示同一季节下氮添加处理间差异显著 ( $P < 0.05$ )。ns 表示差异不显著，\*表示差异达 5% 显著水平，\*\*表示差异达 1% 显著水平。

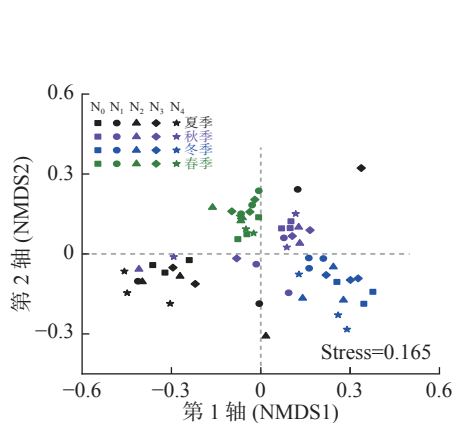


图 1 不同处理 AM 真菌群落组成 (基于 OTUs) NMDS 排序图

Figure 1 Non-metric multidimensional scaling (NMDS) of soil AM fungal community compositions (based on the presence of OTUs) with different treatments

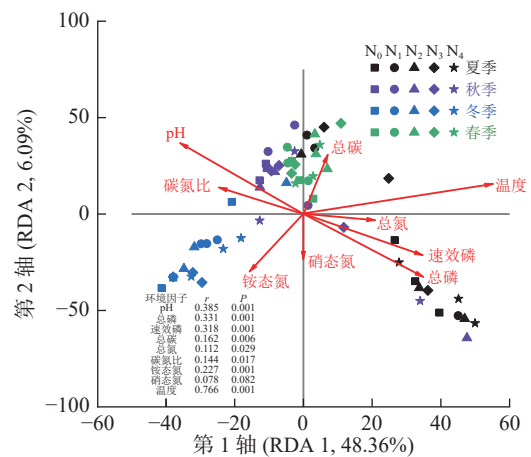


图 2 AM 真菌群落组成与土壤理化性质的冗余分析

Figure 2 RDA for soil AM fungal community compositions and soil physicochemical properties

表4 AM真菌群落 Chao 指数和 Shannon 指数与土壤理化性质间的相关分析

指数	pH	总氮	总磷	总碳	碳氮比	速效磷	铵态氮	硝态氮	湿度	温度
Chao指数	0.344**	-0.090	-0.291*	0.505**	0.316*	-0.190	-0.511**	0.110	-0.449**	0.325*
Shannon指数	0.596**	-0.396**	-0.548**	0.271*	0.020	0.110	-0.390**	-0.096	0.016	-0.149

说明:  $n=60$ , \* $P<0.05$ ; \*\* $P<0.01$ 。

### 3 讨论

AM真菌属球囊菌门 Glomeromycota 球囊菌纲 Glomeromycetes, 由4目11科27属约300种组成<sup>[24]</sup>。本研究中, 杨树人工林根际土壤中AM真菌群落分属10属, 优势属为球囊霉属(平均相对丰度87.4%)和多胞囊霉属(11.9%)。MAITRA等<sup>[25]</sup>在亚热带常绿阔叶混交林的研究发现: 土壤AM真菌优势群落为球囊霉科 Glomeraceae (78.8%)和原囊霉科 Archaeosporaceae (11.1%); 而朱亮等<sup>[26]</sup>研究表明: 亚高山岷江冷杉 *Abies faxoniana* 次生林土壤AM真菌优势群落为球囊霉属、无梗囊霉属 *Acaulospora* 和多胞囊霉属。由此可见, 不同区域不同类型森林生态系统中的优势AM真菌群落组成具有一定差异。

不同AM真菌类群在生活习性、形态结构和生态功能等方面具有较大差异<sup>[6]</sup>。氮沉降增加导致的土壤氮等性质变化, 将会直接影响寄主植物与不同AM真菌类群间的博弈关系<sup>[27-28]</sup>。随着氮添加量增加, 植物氮限制降低, 相对于那些具有大量菌丝或大孢子的AM真菌类群, 根外菌丝少或孢子较小的AM真菌类群需要从植物获取的碳源少, 可能会被选择性的保留下来; 而较高的氮含量促进植物生长后, 会加速植物的磷限制, 这时植物可能加大对那些具有大量菌丝或大孢子的AM真菌类群(更强的磷吸收能力)的碳投入, 加速其生长<sup>[29]</sup>。本研究中, 氮添加处理对杨树人工林根际AM真菌群落整体结构和多样性影响均不显著, 但是随着氮添加水平的变化, 不同AM真菌类群呈现不同响应: 随着氮添加水平的增加, 多胞囊霉属相对丰度逐渐降低; 高氮处理下的球囊霉属相对丰度显著高于低氮处理。这与其他研究者的结果一致, 氮沉降增加后, 巨孢囊霉属 *Gigaspora* 和多胞囊霉属AM真菌生长受到限制, 而球囊霉属和无梗囊霉属丰度增加<sup>[8, 30-31]</sup>。相比之下, 多胞囊霉属和巨孢囊霉属AM真菌会将更多的能量分配给根外菌丝, 而不是根内结构; 球囊霉属AM真菌的能量分配方式则与之相反<sup>[12]</sup>。更多的根外菌丝代表AM真菌具有更强的养分吸收能力, 同时为了维持这一结构, 其从植物吸收的碳源也更多<sup>[32]</sup>。随着氮添加水平增加, 植物依靠AM真菌为其吸收养分的程度逐渐降低, 将会减少对碳需求多的AM真菌类群的投资, 从而使得多胞囊霉属相对丰度逐渐降低。

不同季节AM真菌群落结构和多样性具有显著差异。由于AM真菌是活营养体真菌, 只能通过与具有生命力的植物建立共生关系才能完成生命历程, 有研究发现: 在草地生态系统中的AM真菌的生长与植物物候期一致<sup>[33]</sup>。本研究中, 秋季和春季AM真菌群落Chao和Shannon指数均显著高于夏季, 不同季节群落聚集在NMDS排序图中的不同位置。AM群落组成常常是种间竞争和环境变化作用的结果<sup>[13]</sup>。在夏季, 由于土壤温度较高, 湿度相对较为适宜, 微生物活性强, 土壤总磷、有效磷和铵态氮质量分数均显著高于秋季和春季。鉴于AM真菌与植物间的功能关系, 在贫瘠和胁迫条件下植物更易支持AM真菌生长<sup>[5, 34]</sup>。相关分析也表明: AM真菌多样性指数与总磷和铵态氮质量分数显著负相关( $P<0.05$ )。AM真菌群落组成与土壤温度相关性最大( $r=0.766$ ), 原因是土壤温度可以直接或通过改变植物碳分配的方式间接影响AM真菌的生长<sup>[7]</sup>。除此以外, 土壤pH和总碳与AM真菌群落结构和多样性均显著相关, 且AM真菌群落多样性随着土壤pH和总碳的增加而增加。本研究中杨树人工林是由沿海滩涂围垦形成, 土壤pH 7.99~8.65, pH增加对植物形成的胁迫越大, 可能会使植物加大对AM真菌群落的投入使其多样性增加。需要说明的是, 本研究中氮添加时间设置在5—10月, 尽管避免了氮添加后立即采样, 但季节效应也可能受到氮添加时间的影响, 后续可针对这一问题展开研究。本研究用于RDA分析的9个环境因子对AM真菌群落组成变化的解释量为57.6% ( $P=0.001$ ), 表明还有一些影响AM真菌群落组成的因素没有被考虑到, 如植物群落组成和结构等, 在今后的研究中需进一步探讨。

### 4 结论

杨树人工林根际优势AM真菌属为球囊霉属 *Glomus* 和多胞囊霉属 *Diversispora*。氮添加处理对

AM 真菌群落整体结构和多样性影响均不显著, 但是随着氮添加水平的增加, 多胞囊霉属相对丰度逐渐降低; 高氮处理下的球囊霉属相对丰度显著高于低氮处理。

不同季节间 AM 真菌群落 Chao、Simpson 指数和群落结构差异显著, 秋季和春季 AM 真菌群落多样性指数均显著高于夏季。土壤温度、pH、总磷、总碳和铵态氮是影响杨树人工林 AM 真菌群落结构和多样性动态变化的主要驱动因素。

## 5 参考文献

- [1] LIU Xuejun, ZHANG Ying, HAN Wenxuan, *et al.* Enhanced nitrogen deposition over China [J]. *Nature*, 2013, **494**(7438): 459 – 462.
- [2] LIU Xuejun, DUAN Lei, MO Jiangming, *et al.* Nitrogen deposition and its ecological impact in China: an overview [J]. *Environmental Pollution*, 2011, **159**(10): 2251 – 2264.
- [3] BOBBINK R, HICKS K, GALLOWAY J, *et al.* Global assessment of nitrogen deposition effects on terrestrial plant diversity: a synthesis [J]. *Ecological Applications*, 2010, **20**(1): 30 – 59.
- [4] STEVENS C J, DISE N B, MOUNTFORD J O, *et al.* Impact of nitrogen deposition on the species richness of grasslands [J]. *Science*, 2004, **303**(5665): 1876 – 1879.
- [5] 李晓林, 冯固. 丛枝菌根生态生理[M]. 北京: 华文出版社, 2001: 1 – 358.  
LI Xiaolin, FENG Gu. *Arbuscular Mycorrhizal Ecology and Physiology*[M]. Beijing: Huawen Press, 2001: 1 – 358.
- [6] SMITH S E, READ D J. *Mycorrhizal Symbiosis* [M]. 3rd ed. New York: Academic Press, 2008: 1 – 89.
- [7] COTTON T E A. Arbuscular mycorrhizal fungal communities and global change: an uncertain future[J/OL]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2018, **94**(11): fyy179[2022-08-20]. doi: 10.1093/femsec/fyy179.
- [8] EGERTON-WARBURTON L M, JOHNSON N C, ALLEN E B. Mycorrhizal community dynamics following nitrogen fertilization: a cross-site test in five grasslands [J]. *Ecological Monographs*, 2007, **77**(4): 527 – 544.
- [9] van DIEPEN L T A, LILLESKOV E A, PREGITZER K S, *et al.* Simulated nitrogen deposition causes a decline of intra- and extraradical abundance of arbuscular mycorrhizal fungi and changes in microbial community structure in northern hardwood forests [J]. *Ecosystems*, 2010, **13**(5): 683 – 695.
- [10] WILLIAMS A, MANOHARAN L, ROSENSTOCK N P, *et al.* Long-term agricultural fertilization alters arbuscular mycorrhizal fungal community composition and barley (*Hordeum vulgare*) mycorrhizal carbon and phosphorus exchange [J]. *New Phytologist*, 2017, **213**(2): 874 – 885.
- [11] MUELLER R C, BOHANNAN B J. Shifts in the phylogenetic structure of arbuscular mycorrhizal fungi in response to experimental nitrogen and carbon dioxide additions [J]. *Oecologia*, 2015, **179**(1): 175 – 185.
- [12] HAN Yunfeng, FENG Jiguang, HAN Mengguang, *et al.* Responses of arbuscular mycorrhizal fungi to nitrogen addition: a meta-analysis [J]. *Global Change Biology*, 2020, **26**(12): 7229 – 7241.
- [13] DUMBRELL A J, ASHTON P D, AZIZ N, *et al.* Distinct seasonal assemblages of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by massively parallel pyrosequencing [J]. *New Phytologist*, 2011, **190**(3): 794 – 804.
- [14] NEVILLE J, TESSIER J L, MORRISON I, *et al.* Soil depth distribution of ecto- and arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Populus tremuloides* within a 3-year-old boreal forest clear-cut [J]. *Applied Soil Ecology*, 2002, **19**(3): 209 – 216.
- [15] 方升佐. 中国杨树人工林培育技术研究进展[J]. *应用生态学报*, 2008, **19**(10): 2308 – 2316.  
FANG Shengzuo. Silviculture of poplar plantation in China: a review [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, **19**(10): 2308 – 2316.
- [16] BIAN Haixue, GENG Qinghong, XIAO Hanran, *et al.* Fine root biomass mediates soil fauna community in response to nitrogen addition in poplar plantations (*Populus deltoids*) on the east coast of China[J/OL]. *Forests*, 2019, **10**(2): 1 – 16[2022-08-20]. doi: 10.3390/f10020122.
- [17] YU Xingye, ZHU Yunjia, WANG Bo, *et al.* Effects of nitrogen addition on rhizospheric soil microbial communities of poplar plantations at different ages[J/OL]. *Forest Ecology and Management*, 2021, **494**: 119328[2022-08-20]. doi: 10.1016/j.foreco.2021.119328.
- [18] 葛之葳, 彭塞, 许凯, 等. 短期氮添加对杨树人工林表层土壤可溶性有机碳的影响[J]. *南京林业大学学报(自然科学版)*, 2014, **38**(6): 23 – 27.  
GE Zhiwei, PENG Sai, XU Kai, *et al.* Effects of short term nitrogen addition on dissolved organic carbon in topsoil of poplar plantation [J]. *Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition)*, 2014, **38**(6): 23 – 27.



- [19] 郑丹楠, 王雪松, 谢绍东, 等. 2010年中国大气氮沉降特征分析[J]. 中国环境科学, 2014, **34**(5): 1089 – 1097.  
ZHENG Dannan, WANG Xuesong, XIE Shaodong, *et al.* Simulation of atmospheric nitrogen deposition in China in 2010 [J]. *China Environmental Science*, 2014, **34**(5): 1089 – 1097.
- [20] 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: 146 – 185.  
LU Rukun. *Chemical Analyzing Method on Soil Agriculture* [M]. Beijing: China Agriculture Science and Technology Press, 2000: 146 – 185.
- [21] LEE J, LEE S, YOUNG J P W. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, **65**(2): 339 – 349.
- [22] 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.
- [23] SCHLOSS P D, WESTCOTT S L, RYABIN T, *et al.* Introducing mothur: open-source, platform-independent, community-supported software for describing and comparing microbial communities [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2009, **75**(23): 7537 – 7541.
- [24] 王幼珊, 刘润进. 球囊菌门丛枝菌根真菌最新分类系统菌种名录[J]. 菌物学报, 2017, **36**(7): 820 – 850.  
WANG Youshan, LIU Runjin. A checklist of arbuscular mycorrhizal fungi in the recent taxonomic system of Glomeromycota [J]. *Mycosystema*, 2017, **36**(7): 820 – 850.
- [25] MAITRA P, ZHENG Yong, WANG Yonglong, *et al.* Phosphorus fertilization rather than nitrogen fertilization, growing season and plant successional stage structures arbuscular mycorrhizal fungal community in a subtropical forest [J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2021, **57**(5): 685 – 697.
- [26] 朱亮, 郭可馨, 蓝丽英, 等. 亚高山森林类型转换对土壤丛枝菌根真菌多样性的影响[J]. 生态学杂志, 2020, **39**(12): 3943 – 3951.  
ZHU Liang, GUO Kexin, LAN Liying, *et al.* Effects of the conversion of forest types on diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in subalpine soil [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, **39**(12): 3943 – 3951.
- [27] TRESEDER K K. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO<sub>2</sub> in field studies [J]. *New Phytologist*, 2004, **164**(2): 347 – 355.
- [28] 蔺吉祥, 杨雨衡, 王英男, 等. 氮沉降对植物-丛枝菌根共生体影响的研究进展[J]. 草原与草坪, 2015, **35**(3): 88 – 94.  
LIN Jixiang, YANG Yuheng, WANG Yingnan, *et al.* Research progress on effects of nitrogen deposition on symbiont of plant-arbuscular mycorrhizal [J]. *Grassland and Turf*, 2015, **35**(3): 88 – 94.
- [29] TRESEDER K K, ALLEN E B, EGERTON-WARBURTON L M, *et al.* Arbuscular mycorrhizal fungi as mediators of ecosystem responses to nitrogen deposition: a trait-based predictive framework [J]. *Journal of Ecology*, 2018, **106**(2): 480 – 489.
- [30] CAMENZIND T, HEMPEL S, HOMEIER J, *et al.* 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] van DIEPEN L T A, LILLESKOV E A, PREGITZER K S. Simulated nitrogen deposition affects community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in northern hardwood forests [J]. *Molecular Ecology*, 2011, **20**(4): 799 – 811.
- [32] WEBER S E, DIEZ J M, ANDREWS L V, *et al.* Responses of arbuscular mycorrhizal fungi to multiple coinciding global change drivers [J]. *Fungal Ecology*, 2019, **40**: 62 – 71.
- [33] MANDYAM K, JUMPPONEN A. Seasonal and temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal and dark septate endophytic fungi in a tallgrass prairie ecosystem are minimally affected by nitrogen enrichment [J]. *Mycorrhiza*, 2008, **18**(3): 145 – 155.
- [34] XIAO Dan, HE Xunyang, ZHANG Wei, *et al.* Diazotroph and arbuscular mycorrhizal fungal diversity and community composition responses to karst and non-karst soils [J/OL]. *Applied Soil Ecology*, 2022, **170**: 104227[2022-08-20]. doi: 10.1016/j.apsoil.2021.104227.