

有机培肥对土壤含 *phoD* 基因细菌群落组成和磷素有效性的影响

赵晓坤^{1,2#}, 方梓西^{1,2#}, 刘顺莉^{1,2}, 潘玮涵^{1,2}, 尹江琴^{1,2}, 谢小雨^{1,2},
陈远学⁴, 陈新平^{1,2,3}, 郎明^{1,2,3*}

- 1 西南大学 资源环境学院, 西南山地绿色低碳重点实验室, 重庆
- 2 西南大学, 长江经济带农业绿色发展研究中心, 重庆
- 3 西南大学, 农业科学研究院, 重庆
- 4 四川农业大学 资源学院, 四川 成都

赵晓坤, 方梓西, 刘顺莉, 潘玮涵, 尹江琴, 谢小雨, 陈远学, 陈新平, 郎明. 有机培肥对土壤含 *phoD* 基因细菌群落组成和磷素有效性的影响[J]. 微生物学报, 2025, 65(12): 5482-5499.
ZHAO Xiaokun, FANG Zixi, LIU Shunli, PAN Weihuan, YIN Jiangqin, XIE Xiaoyu, CHEN Yuanxue, CHEN Xinping, LANG Ming. Effects of organic amendments on *phoD*-harboring bacterial communities and phosphorus availability in soil[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2025, 65(12): 5482-5499.

摘要:【目的】探究有机培肥条件下土壤中含碱性磷酸酶基因(*phoD*)细菌的群落结构、网络复杂度及稳定性特征, 揭示其对微生物介导的土壤磷素转化和有效性的影响。【方法】试验依托四川雅安 13 年长期定位试验点的玉米体系设置 3 个无机磷肥处理, 分别为 0、75、150 kg/hm² (P0、P1 和 P2)。2018 年在此基础上开展裂区实验, 设置有机培肥处理, 无机肥用量减少 30% 同时添加猪粪(P0+M、70% P1+M、70% P2+M)。运用高通量测序技术和生物学分析方法测定含 *phoD* 基因细菌的群落结构特征, 揭示不同供磷水平下有机培肥对土壤含 *phoD* 基因细菌群落的影响及其介导的土壤有效磷的调控作用。【结果】随着供磷水平增加, 无机肥和有机培肥处理均显著提高了土壤有机质(soil organic matter, SOM)、速效磷(olsen P)和有机磷(organophosphorus, Po)含量, 显著降低了土壤 pH。供磷水平和有机培肥显著改变了含 *phoD* 细菌的群落组成和网络特征。其中, 低磷水平(P0、P0+M)下伊卡慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium icense*)为优势物种和指示物种, 其相对丰度随施磷量增加显著降低。添加磷后(P1、P2、70% P1+M 和 70% P2+M), 有效慢生根瘤菌

资助项目: 国家自然科学基金(32272800); 国家重点研发计划(2023YFD1900600); 重庆市自然科学基金(CSTB2023NSCQ-MSX0507); 国家玉米产业体系(CARS-02)

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (32272800), the National Key Research and Development Program of China (2023YFD1900600), the Natural Science Foundation of Chongqing (CSTB2023NSCQ-MSX0507), and the National Maize Production System in China (CARS-02).

#These authors contributed equally to this work.

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

Received: 2025-05-26; Accepted: 2025-08-27; Published online: 2025-09-25

(*Bradyrhizobium diazoefficiens*)和解多聚物浅粉不完全光合杆菌(*Roseateles depolymerans*)为优势物种,其相对丰度随施磷量增加显著增加。同时,有机培肥处理条件下3个优势物种的相对丰度均高于对应无机磷处理。此外,有机培肥处理的网络节点和连接数量均高于对应无机磷处理。随机森林模型结果显示,优势类群中的 *Bradyrhizobium icens* 是土壤速效磷最强的预测因子。未去除优势物种时含 *phoD* 基因细菌群落网络稳定性无显著差异;然而,去除优势物种后各处理含 *phoD* 基因细菌群落网络稳定性均显著下降。【结论】有机培肥在不同供磷水平下提高了含 *phoD* 基因细菌群落中优势物种的相对丰度,增加了含 *phoD* 基因细菌网络的复杂度,从而增强了含 *phoD* 基因细菌群落的网络稳定性,影响了土壤中磷素的有效性。

关键词: 有机培肥; 含 *phoD* 基因细菌; 优势物种; 群落结构; 网络稳定性

Effects of organic amendments on *phoD*-harboring bacterial communities and phosphorus availability in soil

ZHAO Xiaokun^{1,2#}, FANG Zixi^{1,2#}, LIU Shunli^{1,2}, PAN Weihang^{1,2}, YIN Jiangqin^{1,2}, XIE Xiaoyu^{1,2}, CHEN Yuanxue⁴, CHEN Xinping^{1,2,3}, LANG Ming^{1,2,3*}

1 Key Laboratory of Low-carbon Green Agriculture in Southwestern China, College of Resources and Environment, Southwest University, Chongqing, China

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

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

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

Abstract: [Objective] To investigate the community structure, network complexity, and stability of soil bacteria harboring the alkaline phosphatase gene (*phoD*) under the application of organic amendments, elucidating their regulatory mechanisms in microbially mediated soil phosphorus (P) transformation and availability. **[Methods]** We conducted the experiment within a 13-year long-term maize field trial located in Ya'an, Sichuan. The experiment comprised three mineral P fertilizer treatments: 0, 75, and 150 kg/hm² (designated as P0, P1, and P2, respectively). In 2018, a split-plot design was implemented with organic amendment treatments, where mineral P application was reduced by 30% and supplemented with pig manure (P0+M, 70% P1+M, and 70% P2+M treatments). The *phoD*-harboring bacterial community structure was characterized by high-throughput sequencing and bioinformatic analyses, which revealed the effects of organic amendments with varying P supply levels on *phoD*-harboring bacterial communities and their regulation of soil available P. **[Results]** As the P supply level increased, both mineral and organic amendments significantly increased the content of soil organic matter (SOM), Olsen-P, and organic P (Po), while significantly decreasing soil pH. P levels and organic amendments markedly altered the community composition and network characteristics of *phoD*-harboring bacteria. Under low-P conditions (P0, P0+M), *Bradyrhizobium icense* emerged as both the dominant and indicator

species, with its relative abundance decreasing significantly as P application increased. Under P-amended treatments (P1, P2, 70% P1+M, and 70% P2+M), *Bradyrhizobium diazoefficiens* and *Roseateles depolymerans* became the predominant species, exhibiting significant increases in relative abundance with higher P inputs. Notably, the relative abundance of all the three dominant species under the application of organic amendments was higher than that in corresponding inorganic P treatments. Furthermore, organic amendments increased the network nodes and connectivity links compared with corresponding mineral P treatments. Random forest analysis further identified *B. icense* as the strongest predictor of soil available P. The stability of *phoD*-harboring bacterial networks showed no significant difference across treatments. However, after the removal of dominant species, the network stability declined significantly in all treatments. **[Conclusion]** Organic amendments increase the relative abundance of dominant species within the *phoD*-harboring bacterial community across different P supply levels. They enhance the network complexity of *phoD*-harboring bacteria, thereby improving the network stability of these bacterial communities and ultimately influencing the availability of soil P.

Keywords: organic amendments; *phoD*-harboring bacteria; dominant species; community structure; network stability

在集约化农田生态系统中施用磷肥是保障作物产量的关键要素^[1]。大量磷素以有机磷或固定态无机磷的形式存在，难以被植物吸收利用^[2]。农业生产中，虽以矿质肥料形式输入磷素，但磷肥施入土壤后易与铁、铝、钙发生吸附沉淀反应，或与有机磷化合物结合^[3-4]，导致其移动性差，当季利用率仅为 10%–25%^[5]。因此，农业生产中通常大量施用磷肥以满足农作物生长发育对磷素的需求，但过量施用磷肥会导致磷素向环境中迁移，进而引发土壤酸化、养分失衡以及微生物群落结构恶化等问题^[1,3-4,6-7]，影响生态系统的平衡^[8-9]。因此提升农业生产中的磷利用效率对农业可持续发展意义重大。

长期试验结果表明，有机培肥模式在维持农业生态系统可持续性以及推动农业绿色发展等方面发挥着至关重要的作用^[7,10]。有机培肥作为农田生态系统的一种可持续土壤管理策略，通过减少化肥施用量并增加土壤有机质的养分来源改善了土壤的物理、化学和生物学特性，有效缓解了土壤酸化等问题^[1,3,6]。例如，在中国南方速效磷缺乏的酸性黄土中，长期氮

磷钾肥与有机肥配施可降低土壤中交换性酸和铝含量，在缓解土壤酸化的同时显著提高土壤有效磷含量^[4]。除了影响土壤性质和养分含量外，有机培肥还能通过刺激微生物生长、提高资源利用率以及增强微生物群落的新陈代谢与活性促进代谢过程中有机酸的分泌以溶解稳定态磷，从而提升土壤磷素有效性^[1,11]；同时，它可调节解磷细菌群落的多样性和丰度，提高碱性磷酸酶活性，优化微生物群落结构与功能，并通过增强微生物网络的复杂度、稳定性和类群关联性进一步提升土壤多功能性和磷的有效性^[3,12-13]。此外，有机培肥还能通过为微生物矿化有机磷提供丰富底物，显著影响土壤胞外酶^[14]。因此，充分理解施肥对土壤理化性质和土壤微生物群落的影响对农业施肥管理具有重要意义。

土壤微生物在参与土壤磷转化过程中发挥着至关重要的作用^[15]。解磷微生物自身对磷素供应水平具有响应特性，在磷供应充足时积累磷，在磷限制条件下会将难溶性的有机磷或无机磷水解为生物可利用的有效磷^[16]。基于宏基因组学的研究发现，微生物参与磷转化过程主

要由四大类磷循环功能基因介导, 包括无机磷溶解基因、有机磷矿化基因、磷吸收和转运基因以及磷饥饿响应调控基因。目前, 利用扩增子测序手段研究土壤中微生物参与的无机磷溶解过程主要集中在编码葡萄糖酸脱氢酶辅酶因子的 *pqqC* 基因。Zhuo 等^[17]研究沉积物中解磷基因的表达时发现, *pqqC* 基因的表达促使铁铝结合态磷向钙结合态磷转化, 加速了磷的释放。已有研究发现, 长期施肥通过改变土壤 pH、土壤有机质(soil organic matter, SOM)和总氮含量影响携带 *pqqC* 基因的细菌群落, 从而影响土壤中磷素的转化和有效性^[18-19]。同时, 利用该手段研究微生物参与的有机磷矿化过程主要聚焦于包含编码碱性磷酸酶基因的微生物。Wu 等^[20]研究表明, 减磷配施有机肥具有提高磷循环相关基因(*phoD*、*phoC* 和 *pqqC*)丰度的潜力, 这可以促进土壤磷有效性, 在减少磷肥用量的同时提高磷利用效率。对宏基因组数据集中 3 个不同碱性磷酸酶基因家族(*phoA*、*phoD* 和 *phoX*)的流行率分析发现, *phoD* 是土壤样品中细菌最常见的调控碱性磷酸酶分泌的基因, 且丰度很高^[21]。此外, Yang 等^[22]研究发现在磷低效土壤中, 解磷细菌可能通过优化含有 *phoD* 和 *pqqC* 基因的细菌群落组成来增强有机磷(organophosphorus, Po)的矿化和无机磷(inorganic phosphorus, Pi)的溶解, 提高磷的有效性。施肥的种类和水平显著影响含 *phoD* 基因细菌的群落特性, 进而影响土壤中磷素的转化和有效性。Fei 等的研究表明, 有机培肥能够更有效地重塑细菌群落组成, 提高土壤生物磷转化效率, 从而提高磷的有效性和磷肥的利用率^[23], 其中有机培肥体系中含 *phoD* 基因的细菌群落组成与不施肥和施用化肥相比存在显著差异^[13,24], 原因在于有机肥的施入能够缓解环境胁迫对根际含 *phoD* 基因细菌群落的影响^[12]。还有研究发现有机肥的施入能缓解矿物肥施用对含 *phoD* 基因细菌多样性下降的影响, 维持含 *phoD* 基因细菌对有机磷矿化的潜力^[13]。在小麦-玉米轮作体系中, 有机磷可用性

对含 *phoD* 基因细菌多样性有显著影响, 被认为是最重要的土壤特性^[15]。因此深入探究含 *phoD* 基因细菌群落的优势类群, 理解磷循环微生物在有机培肥条件下的响应机制, 对科学合理施肥和保持土壤养分状况具有重要意义。

本研究依托四川雅安酸性紫色土长期定位点的玉米体系, 基于不同供磷水平的无机肥和有机培肥处理, 探究供磷水平和有机培肥对含碱性磷酸酶基因细菌群落结构、群落组成(优势物种分析)、网络特征和稳定性的影响, 以及其介导的磷素转化机制。在有机肥替代化肥的大背景下, 探究含碱性磷酸酶基因细菌群落特征及其对磷素的影响, 可为利用生物手段提高磷肥利用效率提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况和试验设计

试验地点位于 2012 年开始实施的四川雅安玉米体系长期定点定位试验站(29°58'59.1"N, 102°58'56.4"E)。该地区属于亚热带季风性湿润气候, 降水集中在夏季, 平均年降水量为 1 732 mm, 土壤类型为紫色湿润锥形土。2018 年试验前土壤(0-20 cm)基本理化性质见表 1。本研究材料为‘仲玉三号’春玉米, 供试无机肥料为碳铵(N, 17%)、过磷酸钙(P₂O₅, 12%)、氯化钾(K₂O, 60%)。供试有机肥料为猪粪(manure, M), 其全碳、全氮、全磷和全钾含量分别为 222.88、14.30、11.40、6.64 g/kg (烘干基), 含水量为

表1 2018年实验前土壤(0-20 cm)基本理化性质

Table 1 The basic physicochemical properties of the soil (0-20 cm) before the experiment in 2018

Item	Results
pH	6.14
Soil organic matter (g/kg)	32.33
Total nitrogen (g/kg)	1.13
Available phosphorus (mg/kg)	9.49
Available potassium (mg/kg)	123.16

89.9%。本研究设置 3 个无机肥供磷水平, 3 个供磷水平处理 P_2O_5 的施用梯度为: 0 (不施磷, P0)、75 kg/hm² (适量施磷, P1)、150 kg/hm² (高量施磷, P2), 具体施肥处理见表 2。于 2018 年采用裂区设计, 即 3 个无机磷供磷水平为试验大区, 大区间设 2.0 m 的间隔; 大区内划分为 6 个小区, 小区间无间隔, 分别设定 3 个无机磷供磷水平处理和对应的有机培肥(3 187 kg/hm²)处理, 重复 6 次。小区面积为 1.4 m×9.5 m=13.3 m²。玉米施肥为条施, 播种前开沟, 沟深 20 cm 左右, 将 50% 的氮肥和全部磷肥、钾肥、猪粪作底肥均匀施于沟内, 然后覆土; 另外 50% 的氮肥在大喇叭口期追施。

1.2 土样采集及理化特性的测定

于 2019 年在玉米收获期进行土壤样品采集。在每个小区行间和窝间各随机选取 2 点(共 4 点), 采集对应的地下部 0–20 cm 的土壤, 用土钻取样后, 去除土样中的动、植物残体, 分别混合均匀作为一个小区的土样。将土样带回实验室过筛, 分为两部分。一部分保存于–20 °C 冰箱中用于 DNA 提取和扩增序列测定; 另一部分风干用于土壤理化指标的测定, 包括 pH、速效磷(available phosphorus, AP)、有机磷(organophosphorus, Po)、全磷(total phosphorus, Pt)、SOM、速效钾(available potassium, AK)和全氮(total nitrogen, TN)。以土水比为 1:2.5 (质量体积比)用 pH 计(上海仪电科学仪器股份有限公司)测定 pH; TN 使用改进克氏法和外加热法测定;

表2 试验地施肥情况

Table 2 Fertilization of experimental site

Treatment	Treatment number	Fertilizer application (kg/hm ²)			Pig manure application (kg/hm ²)
		N	P ₂ O ₅	K ₂ O	
Inorganic fertilizer	P0	180	0	105	–
	P1	180	75	105	–
	P2	180	150	105	–
Organic amendments	70% P0+M	144	0	84	3 187
	70% P1+M	144	53	84	3 187
	70% P2+M	144	105	84	3 187

SOM 使用重铬酸钾容量法-外加热法滴定; 土壤 AP 在 pH 8.5 时用 0.5 mol/L NaHCO₃ 提取, 然后用比色法测定^[25]; Po 的测定采用灼烧法^[26]; Pt 采用酸溶-钼锑抗比色法^[27]; AK 采用醋酸铵-火焰光度计法。每一个土壤样品的理化性质和后续的 DNA 提取均测定 2 个平行, 保证样品测定的准确性。

1.3 土壤 *phoD* 细菌群落 DNA 抽提和 PCR 扩增

采用 FastDNA SPIN Kit (MP Biomedicals 公司)从土壤中提取 DNA, 使用 NanoDrop 2000 检测 DNA 浓度与纯度, 同时通过 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 提取质量。使用的特异性引物为 ALPs-F730 (5'-CAGTGGGACGACCACGAGGT-3') 和 ALPs-1101 (5'-GAGGCCGATCGGCATGTCG-3') 扩增 *phoD* 基因^[11], 扩增片段大小为 371 bp。PCR 反应体系(20 μL): 2×ChamQ SYBR Color qPCR Master Mix 10 μL (南京诺唯赞生物科技股份有限公司), 上、下游引物(5 μmol/L)各 0.8 μL, 50×ROX Reference Dye II 0.4 μL, DNA 2 μL, 灭菌水(ddH₂O) 6 μL。PCR 反应条件: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 30 s, 55 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 共 27 个循环; 72 °C 终延伸 10 min, 4 °C 保存。

1.4 Illumina MiSeq 测序

使用 1% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 采用 DNA 凝胶提取试剂盒(Axygen Biosciences 公司)

进行纯化, 纯化后使用 Tris-HCl 洗脱, 进行 2% 琼脂糖电泳检测。使用 NEXTflex Rapid DNA-Seq Kit (MP Biomedicals 公司) 对纯化后的 PCR 产物进行建库, 通过 PCR 将 Illumina 官方接头序列添加至目标区域外端, 然后使用凝胶回收试剂盒切胶回收 PCR 产物, 再使用 Tris-HCl 缓冲液冲洗, 产生单链 DNA 片段, 得到最终的文库。扩增子测序使用的平台为 Illumina MiSeq。为了获得质控拼接之后的优化数据, 需要在 Illumina 测序得到的 PE reads 进行样本拆分后, 根据测序质量对双端 reads 进行质控和过滤, 同时根据双端 reads 之间的重叠(overlap)关系进行拼接。然后使用序列降噪方法(DADA2)处理优化数据, 获得扩增子序列变体(amplicon sequence variant, ASV)代表序列和丰度信息, 并根据物种注释数据库 maarjam081/AM 进行分类注释。基于 ASV 代表序列及丰度信息进行生物信息学分析。原始数据提交到 NCBI 数据库, 序列号为 PRJNA1221096。

1.5 数据分析

采用双因素方差分析检验不同供磷水平之间土壤理化性质、微生物群落组成的 α 多样性数据差异的显著性, 在 5% 水平上利用 Duncan 检验进行比较。所有统计分析均基于 SPSS 分析软件(v6)和 R 软件(v4.2.2)。 α 多样性的估计基于 ASV 丰度矩阵, 包括由 R 软件中“vegan”计算 *phoD* 细菌的 Shannon 指数和 Sobs 指数, 在 ASV 水平上进行非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS); 使用“pheatmap”绘制优势类群与土壤理化性质的相关性热图; 使用“indicspecies”选择指示物种(indicator species)。将各处理相对丰度前 10 的含 *phoD* 基因细菌类群作为优势类群(dominant taxa), 基于 ASV 丰度矩阵构建网络, 并通过成分数据的稀疏相关性(sparse correlations for compositional data, SparCC)相关矩阵计算相关系

数; 对相关数据进行过滤, 将相关阈值为 0.6 且 $P < 0.05$ 的数据进行网络构建。共现网络通过 Gephi 软件可视化, 进而获得网络拓扑性质, 包括节点数、连接数、网络密度、聚类系数、网络集中度和相邻节点平均个数等。其中网络中节点的大小以节点度数表示, 将各处理节点度数排序前 5 的 *phoD* 细菌类群作为关键类群(keystone taxa)。采用 Amos 软件(IBM SPSS Amos 28.0.0)构建结构方程模型(model of structural equations, SEM)以表明环境因子、*phoD* 细菌群落多样性和优势类群与网络复杂度、稳定性之间的关系。以网络分析的 cohesion 指数表示网络的稳定性, 平均度(average degree)表示网络的复杂度, 以 Shannon 指数表示 *phoD* 细菌群落 α 多样性。Cohesion 指数通过 R 软件计算, 首先构建相关性矩阵, 计算优势细菌类群相对丰度矩阵的相关系数矩阵, 得到观察相关性矩阵, 通过控制变量零模型对优势细菌类群间的相关性进行估计, 得到预期相关矩阵, 计算观察与期望相关性差值矩阵, 并通过对角线元素设为 0 以排除物种自身相关性得到修正后的相关性矩阵。对每个物种与其他物种之间的正相关和负相关系数分别求和后取平均从而得到每个物种的正/负连通性, 将样本的相对丰度向量分别与正向、负向连通性向量相乘并求和, 得到最终 cohesion 结果。模型使用偏最小二乘程模型(partial least squares regression, PLS); PLS 的数值介于 0-1 之间, 其数值愈接近 1, 表示模型的适配度愈佳。

2 结果与分析

2.1 无机和有机培肥对土壤理化性质的影响

在无机肥处理和有机培肥处理中, 随着施磷水平的增加 pH 均显著降低(图 1A)。在无机肥处理和有机培肥处理中, 土壤 Olsen P 和 SOM

随施磷水平的增加而增加(图 1B、1C)。同一施磷梯度下有机培肥处理的土壤 pH、Olsen P 和 SOM 均高于无机肥处理(图 1)。

2.2 无机和有机培肥对含 *phoD* 基因细菌群落特征的影响

将高通量测序后经质量控制得到的序列与

数据库对比注释, 采用 Shannon 指数表征含 *phoD* 基因细菌群落多样性。在无机肥处理和有机培肥处理中 Shannon 指数均无显著变化; 在相同施磷水平下 Shannon 指数也无显著变化(图 2A)。基于 Bray-Curtis 距离进行主坐标分析表明, 有机培肥显著影响含 *phoD* 基因细菌的群落结构(图 2B)。在无机肥处理和有机培肥处理

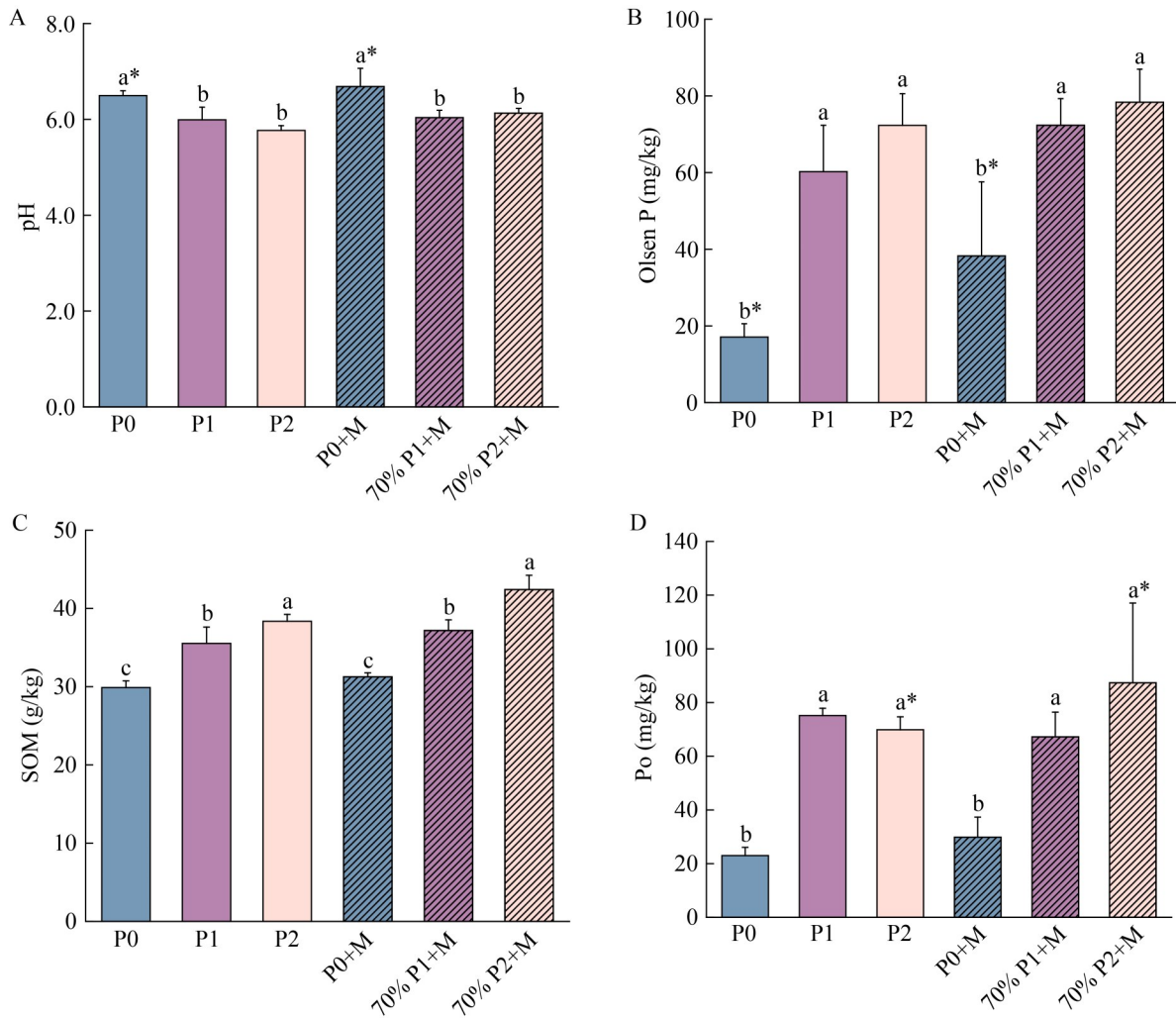


图1 不同供磷水平的无机磷和有机培肥对土壤pH、有效磷、有机质和有机磷的影响。不同小写字母表示同一磷素形态下不同磷肥处理之间在 $P<0.05$ 水平上有显著差异; *表示相同供磷水平下无机处理和有机培肥处理有显著差异。

Figure 1 Changes in soil pH, effective phosphorus, and organic phosphorus for inorganic phosphorus and with organic amendments under different phosphorus supply levels. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$) among different phosphorus fertilizer treatments for the same phosphorus form; *: The inorganic treatment and organic amendments treatment at the same phosphorus level show a significant difference.

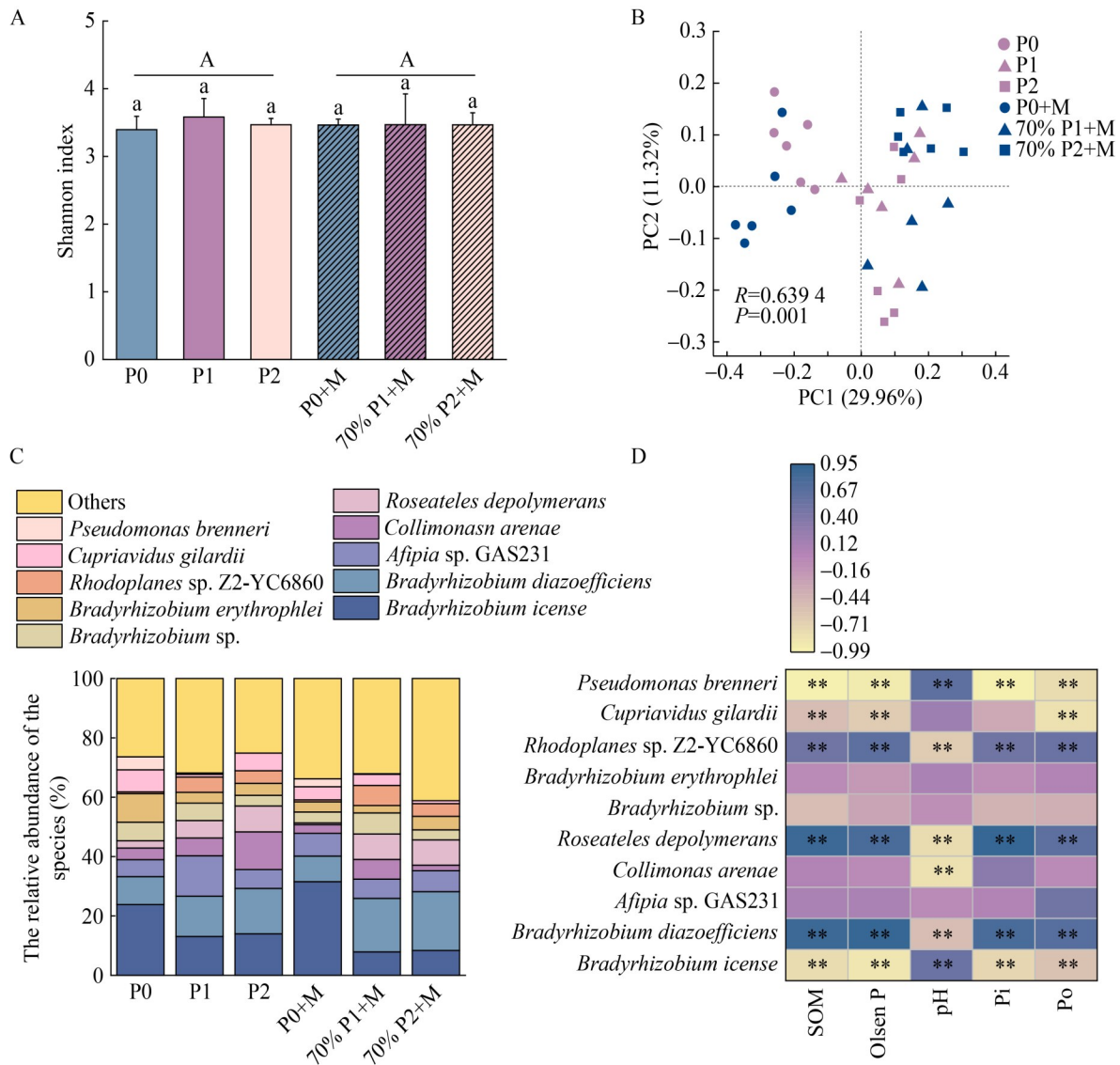


图2 不同供磷水平的无机肥及有机肥对含 $phoD$ 基因细菌群落特征的影响。A: Shannon指数; B: 非度量多维尺度分析; C: 相对丰度前10的优势种群的堆积柱状图; D: 相对丰度前10的优势种群与土壤理化因子的相关性热图。不同小写字母表示同一磷素形态下不同磷肥处理之间在 $P<0.05$ 水平上有显著差异; 大写字母A表示无机肥处理和有机培肥处理之间在 $P<0.05$ 水平上有显著差异。P0、P1、P2、P0+M、70% P1+M、70% P2+M分别代表0、75、150 kg/hm²五氧化二磷, 及减少30%磷肥和有机肥(猪粪)联合施用。

Figure 2 Effects of different phosphorus levels of inorganic and organic fertilizers on the characteristics of $phoD$ -harboring bacterial communities. A: Shannon index; B: Non-metric multidimensional scaling; C: Stacked bar chart showing the top 10 dominant species based on relative abundance; D: Correlation heatmap of the top ten dominant species' relative abundances with soil physicochemical properties. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$) among different phosphorus fertilizer treatments for the same phosphorus form, and uppercase letter A denotes significant differences ($P<0.05$) between inorganic fertilizer treatments and organic amendment treatments. P0, P1, P2, P0+M, 70% P1+M, and 70% P2+M represent 0, 75, 150 kg/hm² P₂O₅ and reduced 30% P fertilizer and combined organic manure (pig manure), respectively.

中, 伊卡慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium icense*)和吉氏贪铜菌(*Cuprisvidus gilardii*)的相对丰度随着施磷水平的增加而减少, 且与 pH 呈正相关, 与 SOM、Olsen P、Pi 和 Po 呈负相关关系; 有效慢生根瘤菌(*Bradyrhizobium diazoefficiens*)、解多聚物浅粉不完全光合杆菌(*Roseateles depolymerans*)

和 *Rhodoplanes* sp. Z2-YC6860 与 pH 呈负相关, 与 SOM、Olsen P、Pi 和 Po 成正相关关系(图 2C、2D)。在无机肥处理和有机培肥处理中, 施磷水平(P1 和 70% P1+M)和高施磷水平(P2 和 70% P2+M)的指示物种数量相较于低施磷水平(P0 和 P0+M)均减少(表 3)。

表3 不同供磷水平的无机肥及有机培肥指示物种分析

Table 3 Indicator species analysis for inorganic fertilizers and organic amendments

Fertilization treatments	ASV number	Taxa name		Indicator value index	P value
		Genus	Species		
P0	ASV162	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium erythrophlei</i>	0.802	0.001***
	ASV566	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas brenneri</i>	0.675	0.013*
	ASV1555	<i>Afipia</i>	<i>Afipia</i> sp. GAS231	0.661	0.043*
	ASV449	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium icense</i>	0.612	0.045*
	ASV233	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces</i> sp. CdTB01	0.577	0.044*
	ASV266	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i> sp.	0.575	0.034*
P1	ASV90	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces</i> sp. 11-1-2	0.707	0.002**
	ASV538	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	0.615	0.011*
P2	ASV452	<i>Herbaspirillum</i>	<i>Herbaspirillum hiltneri</i>	0.766	0.001***
	ASV219	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium</i> sp. CCGE-LA001	0.722	0.002**
	ASV1214	<i>Burkholderia</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.707	0.013*
	ASV850	<i>Methylobacterium</i>	<i>Methylobacterium phyllosphaerae</i>	0.645	0.046*
	ASV86	<i>Collimonas</i>	<i>Collimonas arenae</i>	0.615	0.007**
P0+M	ASV537	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas stutzeri</i>	0.833	0.002**
	ASV975	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium icense</i>	0.783	0.003**
	ASV696	<i>Burkholderia</i>	<i>Burkholderia stagnalis</i>	0.767	0.001***
	ASV999	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces venezuelae</i>	0.730	0.009**
	ASV688	<i>Burkholderia</i>	<i>Burkholderia cepacia</i>	0.720	0.007**
	ASV505	<i>Ralstonia</i>	<i>Ralstonia pickettii</i>	0.707	0.002**
	ASV1521	<i>Ralstonia</i>	<i>Ralstonia pickettii</i>	0.707	0.020*
	ASV1024	<i>Lysobacter</i>	<i>Lysobacter antibioticus</i>	0.686	0.004**
70% P1+M	ASV328	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium icense</i>	0.617	0.001***
	ASV509	<i>Paracoccus</i>	<i>Paracoccus contaminans</i>	0.690	0.024*
	ASV1245	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium diazoefficiens</i>	0.655	0.016*
	ASV20	<i>Rhodoplanes</i>	<i>Rhodoplanes</i> sp. Z2-YC6860	0.612	0.017*
70% P2+M	ASV100	<i>Janibacter</i>	<i>Janibacter indicus</i>	0.596	0.036*
	ASV415	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces katrae</i>	0.742	0.001***
	ASV331	<i>Streptomyces</i>	<i>Streptomyces katrae</i>	0.730	0.001***
	ASV217	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas synxantha</i>	0.632	0.025*
	ASV285	<i>Labrenzia</i>	<i>Labrenzia</i> sp. VG12	0.598	0.036*
	ASV380	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium diazoefficiens</i>	0.592	0.050*
	ASV21	<i>Bradyrhizobium</i>	<i>Bradyrhizobium diazoefficiens</i>	0.518	0.012*

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$.

2.3 无机和有机培肥对含 *phoD* 基因细菌群落网络拓扑特征的影响

2.3.1 含 *phoD* 基因细菌共现网络分析

供磷水平和有机无机配施显著影响了含 *phoD* 基因细菌群落的共现网络特征。网络拓扑性质分析表明, 在无机肥及有机培肥处理中连接线的数目及平均加权重随着供磷量的增加先增加后下降, 均在适量施磷时达到最高值, 且在同一施磷梯度下无机肥处理的网络节点数、连接线的数目均小于有机培肥处理。负相关连接线的比例在无机肥处理与有机培肥处理中均呈现先降低再升高的趋势(图 3、表 4)。

2.3.2 不同施肥措施下含 *phoD* 基因细菌网络稳定性分析

群落的负凝聚力(negative cohesion)代表群落中物种间的竞争强度。含 *phoD* 基因细菌群落的负凝聚力在无机肥处理和有机培肥处理间无显著变化。去除优势物种处理后, 有机培肥处理下各水平间的负凝聚力均有显著变化, 且在 P0 和 P1 处理下变化极显著(图 4)。

无机肥处理下优势物种显著影响了土壤含 *phoD* 细菌群落网络稳定性。结果表明各无机肥处理与有机培肥处理间, 含 *phoD* 基因细菌群落的 cohesion 指数无显著差异。然而, 在无机肥处理的 P1 和 P2 中去除优势物种后群落的

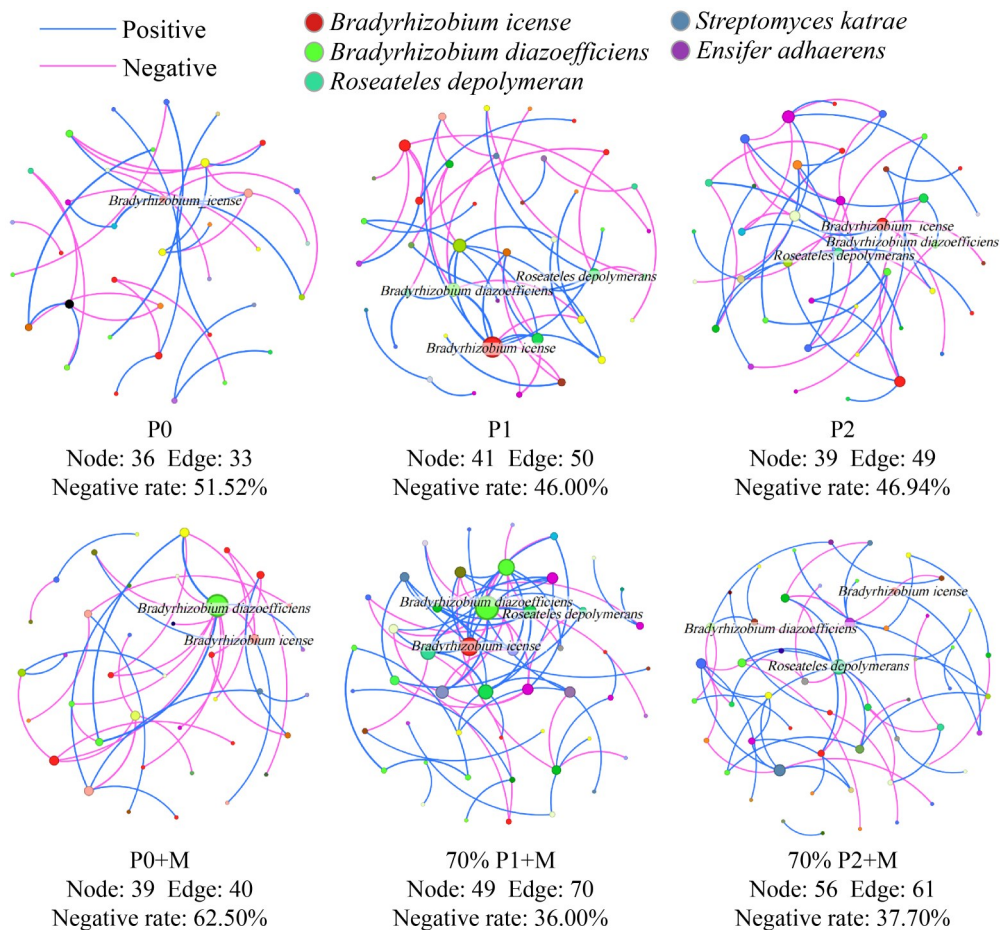


图3 不同供磷水平的无机肥及有机培肥细菌网络拓扑结构

Figure 3 Network of *phoD* bacteria depending on P fertilization based on sparse correlations for compositional data analysis from species level.

表4 不同供磷水平的无机肥及有机培肥网络拓扑特征

Table 4 Topology parameters for network analysis under inorganic fertilizer and organic amendments

Network metrics	Inorganic fertilization			Organic amendments		
	P0	P1	P2	P0+M	70% P1+M	70% P2+M
Nodes	36	41	39	39	49	56
Edges	33	50	49	40	70	61
Positive rate (%)	48.48	54.00	53.06	37.50	64.00	62.30
Negative rate (%)	51.52	46.00	46.94	62.50	36.00	37.70
Average degree	1.833	2.439	2.513	2.051	3.061	2.179
Average weighted degree	1.213	3.201	1.65	1.326	2.051	1.394
Diameter	4	7	8	7	7	14
Density	0.052	0.061	0.066	0.054	0.064	0.040
Modularity	0.822	0.642	0.616	0.698	0.553	0.751
Average clustering coefficient	0.465	0.421	0.191	0.385	0.459	0.285

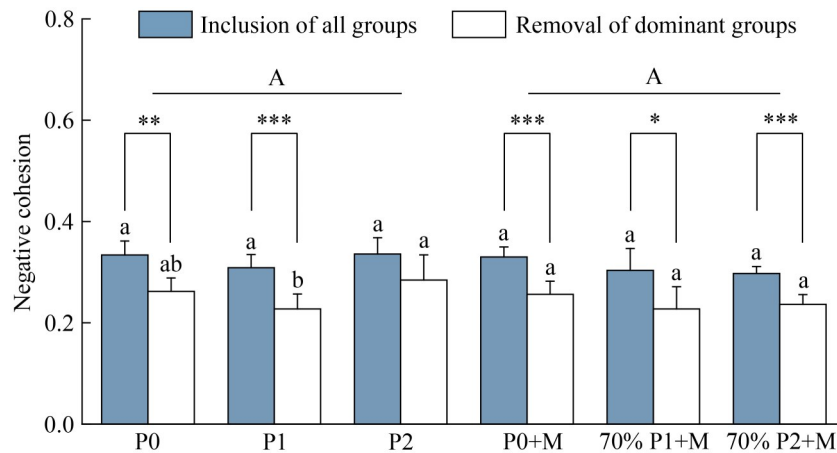


图4 不同供磷水平的无机肥及有机培肥优势类群去除后 $phoD$ 细菌群落的负凝聚力。不同小写字母表示同一磷素形态下不同磷肥处理之间在 $P<0.05$ 上有显著差异，大写字母A表示无机肥处理和有机培肥处理之间在 $P<0.05$ 上有显著差异，*： $P<0.05$ ；**： $P<0.01$ ；***： $P<0.001$ 。

Figure 4 The negative cohesion of $phoD$ bacteria community after the removal of dominant groups, and the correlation between dominant groups under the treatment of inorganic fertilizer and organic amendments. Different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$) among different phosphorus fertilizer treatments for the same phosphorus form, and uppercase letter A denotes significant differences ($P<0.05$) between inorganic fertilizer treatments and organic amendment treatments; *： $P<0.05$ ；**： $P<0.01$ ；***： $P<0.001$.

cohesion 指数显著降低。

2.4 含 $phoD$ 基因细菌的群落组成与群落稳定性的关系

土壤速效磷含量与含 $phoD$ 基因细菌群落组成有一定相关性。随机森林分析结果表明，在

无机肥处理和有机培肥处理下，*B. icense* 细菌是影响土壤有效磷含量的最强预测因子，分别解释了超过 30% 和 60% 的土壤速效磷变化(图 5A、5B)。此外，在无机肥处理中 *Rhodoplanes* sp. Z2-YC6860、布氏假单胞菌 (*Pseudomonas*

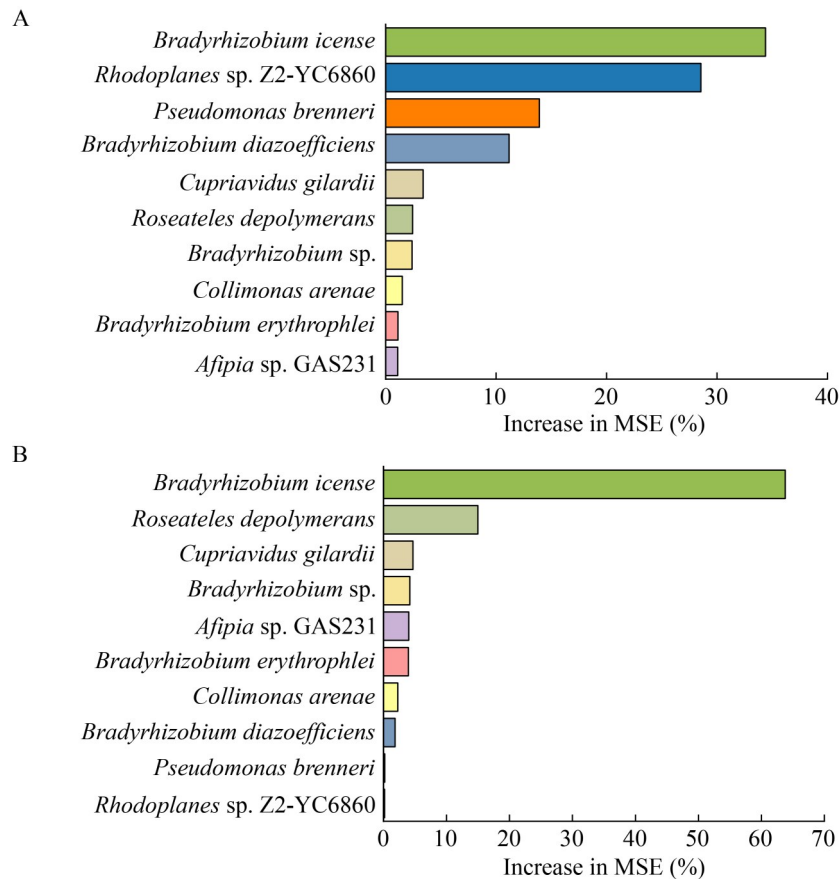


图5 无机肥(A)及有机培肥(B)相对丰度前10种水平细菌对土壤速效磷变化的影响

Figure 5 Random forest analysis of bacteria and available phosphorus bacteria (top 10 species level) in relative abundance of inorganic fertilizer (A) and phosphorus reduction combined with organic amendments (B).

brenneri)和 *B. diazoefficiens* 属种的细菌对土壤有效磷也具有较高影响力(图 5A); 而在有机培肥处理中 *R. depolymerans* 属种的细菌对土壤有效磷具有较高影响力(图 5B)。

2.5 无机和有机培肥对含 *phoD* 基因细菌群落介导的磷素有效性调控的综合效应

结构方程模型阐明了施用无机肥及有机培肥对土壤理化性质、含 *phoD* 基因的优势物种、含 *phoD* 基因细菌群落结构和含 *phoD* 基因微生物网络复杂度的综合效应(图 6)。施肥条件下 pH 对 SOM 产生极显著正效应(路径系数为 0.88), SOM 对土壤有效磷产生显著负效应(路径系数为

-0.66), 含 *phoD* 基因优势物种对含 *phoD* 基因细菌群落结构产生极显著正效应, 对含 *phoD* 基因微生物网络复杂度产生显著正效应, 进而影响土壤有效磷含量(图 6)。

在玉米体系下设置无机肥处理和有机培肥处理, 探究有机培肥对土壤磷素有效性的影响(图 7)。随着施磷水平的升高, 土壤 pH 下降, 土壤有机质显著增加; 含 *phoD* 细菌群落网络复杂度降低, 稳定性升高; *B. icense* 为低磷水平(CK)含碱性磷酸酶基因细菌的优势物种, *B. diazoefficiens* 和 *R. depolymerans* 为高磷水平(High)含碱性磷酸酶基因细菌的优势物种, 不同供磷水平下不同的优势物种影响土壤有机磷的矿化以及土壤有效磷的含量。

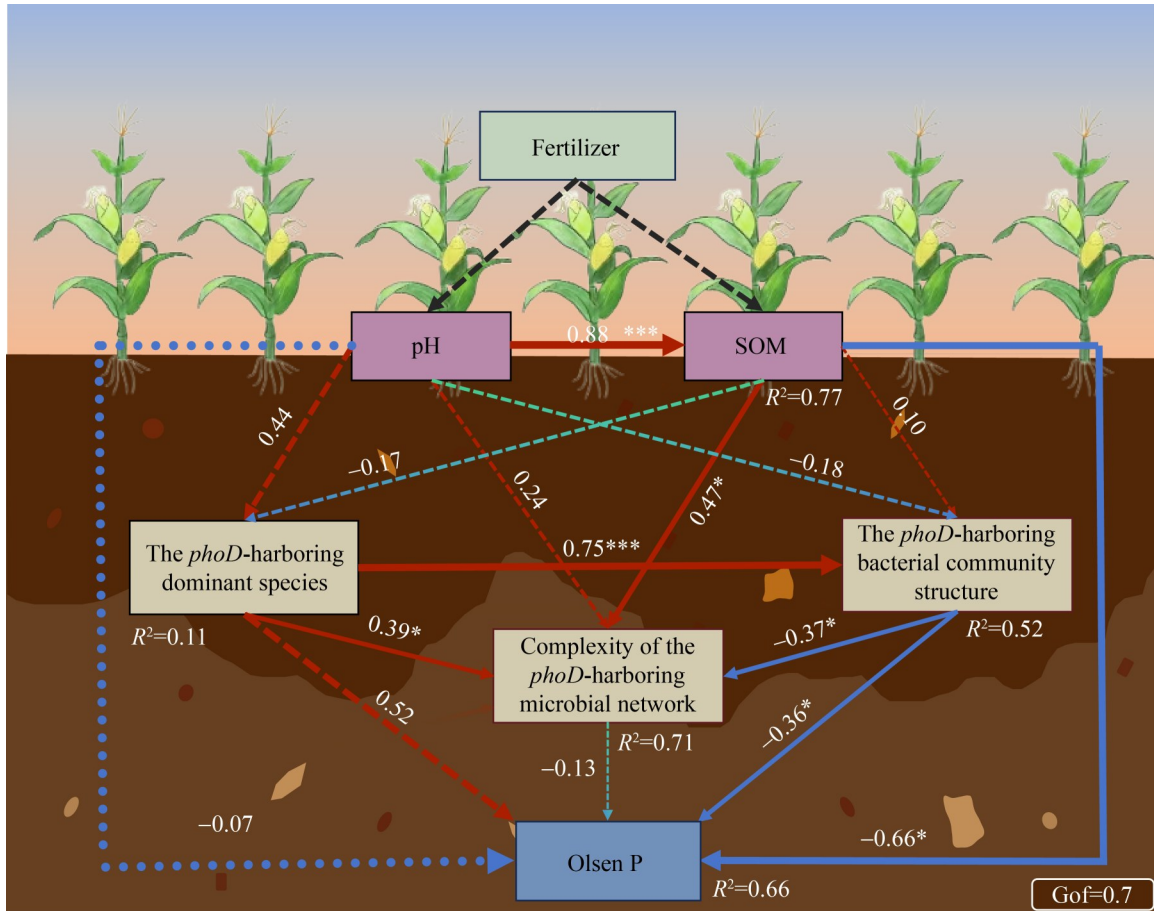


图6 无机肥及有机培肥对土壤理化性质与 $phoD$ 细菌的群落组成、网络之间影响的结构方程模型。红色箭头表示正相关关系，蓝色箭头表示负相关关系，虚线表示无显著相关性，实线表示具有显著相关性。

Figure 6 Structural equation model of the influence of inorganic fertilizer and phosphorus reduction combined with organic amendments on soil physical and chemical properties and $phoD$ bacteria community composition and network. Red arrows indicate a positive correlation, blue arrows indicate a negative correlation. *: $P < 0.05$; ***: $P < 0.001$.

3 讨论

3.1 无机和有机培肥体系对含 $phoD$ 基因细菌的 α 多样性和群落结构的影响

本研究发现施肥显著提高了土壤速效磷含量，这与 Liu 等^[28]的研究结果一致。然而，在无机肥和有机培肥处理下含 $phoD$ 基因细菌群落的 α 多样性无显著变化(图 2A)，该结果与 Luo 等^[29]在江西省红壤研究所长期定位试验中的发现相同。细菌群落的 α 多样性对不同施肥处理

的响应表现出相对较低的敏感性^[30]，这可能与本研究中有有机肥施用周期较短有关。值得注意的是，长期过量施用无机磷肥会显著降低土壤细菌生物多样性^[31-32]。Wang 等^[33]在紫色土轮作体系中观察到有机培肥显著提高了含 $phoD$ 基因细菌群落的 α 多样性，这种差异可能源于养分输入类型与不同土壤类型对含 $phoD$ 基因细菌群落多样性的协同调控作用。本研究发现，有机培肥显著改变了含 $phoD$ 基因细菌的群落结构(图 2B)。研究证实不同养分类型的肥料施用可

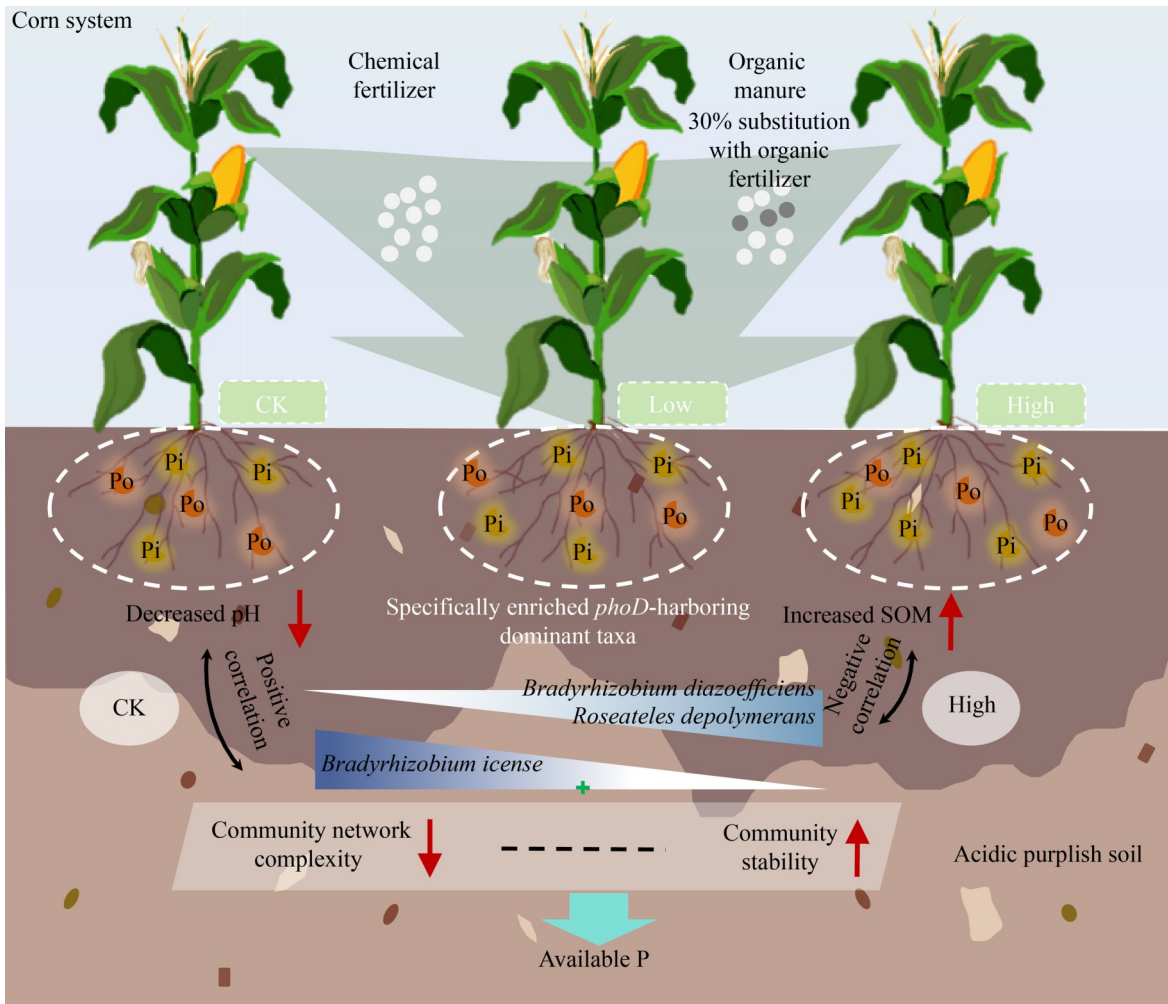


图7 不同供磷水平下优势类群丰度改变影响土壤磷有效性过程模式图

Figure 7 Model of the process of changing abundance of dominant taxa affecting soil phosphorus effectiveness under different levels of phosphorus supply.

显著改变土壤中细菌的群落结构^[34]。例如, Shen 等^[35]发现有机培肥能重塑土壤解磷细菌的群落结构; Huang 等^[36]证实外源碳源的添加重塑了土壤中含 *phoD* 基因细菌的群落结构, 说明有机培肥能够显著影响土壤细菌群落结构。本研究还发现, 在有机培肥条件下土壤中含 *phoD* 基因的细菌群落组成也存在显著差异(图 2A、2C), 这与 Li 等^[37]在潮土中的发现一致。即使是短期减磷配施有机肥仍会导致细菌群落组成出现差异^[38-39]。这是因为施用有机肥会向土壤中输入大量外源微生物及有机质, 它们通过改

变土壤理化性质(如 pH、SOM 等)直接或间接地刺激特定功能微生物的生长, 同时抑制部分土著微生物, 从而影响微生物群落的组成。

3.2 无机和有机培肥体系对含 *phoD* 基因细菌网络互作和稳定性的影响

共现网络分析通过解析微生物分类群间的相关性能够揭示复杂的微生物群落互作关系, 评估微生物网络的复杂性^[40-42]。研究表明相较于未施肥和施用无机肥的土壤, 有机培肥处理下的土壤细菌群落表现出更复杂的共生网

络^[43-44]。本研究结果进一步显示有机培肥处理增加了微生物网络节点和连接线的数量,提高了网络复杂度,同时增强了微生物群落的稳定性(图 4)。多项研究支持了本研究关于有机培肥增强微生物网络复杂度的发现。例如, Tang 等^[30]在 2 年蔬菜轮作试验中发现,部分有机替代处理增加了土壤微生物群落的多样性和网络复杂度。Hu 等^[45]在短期试验中同样证实施用生物有机肥比施用无机肥形成了更复杂的细菌网络结构。在长期定位试验中, Duan 等^[46](38 年)和 Ma 等^[47](10 年)均观察到,相比单施无机肥,有机无机配施处理提高了微生物的网络复杂度。以上现象可能源于有机肥输入提供了更多的外源碳源,为更多细菌的生存提供了所需营养,从而促进了细菌群落的生长和互作,进而增强了微生物网络的连接性和稳定性^[44,48]。值得注意的是,在去除优势物种后网络稳定性显著降低(图 4)。在结构方程模型分析中优势物种对网络结构具有显著的积极影响(图 6),表明含 *phoD* 基因的优势物种对细菌网络结构及其稳定性发挥着重要作用。

3.3 无机和有机培肥体系对含 *phoD* 基因细菌群落介导的土壤磷素转化的影响

在本研究中,有机培肥处理下优势属慢生根瘤菌属(*Bradyrhizobium*)的相对丰度显著高于无机肥处理,表明有机肥可通过调控优势菌群丰度影响土壤有效磷含量。*Bradyrhizobium* 作为一种共生固氮菌,可通过提高磷酸酶活性提升磷转运速率及分泌有机酸等途径促进土壤中有有机磷的矿化与磷素的活化;作为典型的寡营养型 *phoD* 载体, *Bradyrhizobium* 对碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性以及非活性磷溶解具有关键调控作用^[49]。外源碳源添加能够促进玉米根际解磷细菌 *Bradyrhizobium* 的增殖^[35],其丰度的增加有助于促进磷的矿化、缓解植物生长过程中的氮磷限制^[50]。本研究还发现 *B. icense* 在低施磷水平(P0 和 P0+M)下作为优势物种和指示物种

存在,其相对丰度随施磷量增加而显著降低;*B. diazoefficiens* 和 *R. depolymerans* 作为优势物种,其相对丰度随施磷量增加而显著增加(图 2C)。值得注意的是, *B. icense* 和 *B. diazoefficiens* 都属于 *Bradyrhizobium*,这一发现与 Luo 等^[24]在安徽省濉溪县玉米-小麦轮作长期定位试验中的发现一致。微生物可以通过产生有机酸、释放磷酸酶水解有机物中的正磷酸盐基团来提高土壤的磷素有效性^[51-52]。其中,细菌是土壤碱性磷酸酶的主要分泌者^[53]。He 等^[54]对旱地粉壤土的研究发现,长期施氮降低了土壤 pH,通过调控编码 ALP 的微生物群落缓解了土壤磷限制。这一发现与 Li 等^[55]在日光温室长期试验中观察到的现象形成重要互补,后者证实长期有机肥施用通过塑造 *phoD* 细菌的关键生态集群(Module #1)缓解了化肥对 ALP 活性的抑制、促进有机磷向有效磷转化。此外,微生物在有机肥分解过程中释放有机酸能够整合土壤中的铁铝氧化物,减少磷素的固定位点,并与正磷酸盐竞争结合位点,促进活性磷的释放^[56]。有机肥输入增加了土壤不稳定碳库,调控细菌代谢来影响磷素转化效率^[57-58]。有机培肥可通过影响含 *phoD* 基因细菌群落,进而影响土壤磷循环和玉米生长。

4 结论

在酸性紫色土壤中供磷水平和有机培肥显著影响含 *phoD* 基因细菌的群落组成和网络特征;其中, *B. icense* 是低磷水平下的优势物种, *B. diazoefficiens* 和 *R. depolymerans* 是中、高施磷水平下的优势物种。然而,在有机培肥处理下这 3 个优势物种的相对丰度相较于对应无机磷处理均显著增加,优势类群中的 *B. icense* 是有机培肥体系中土壤速效磷最强的预测因子。同时,有机培肥提高了含 *phoD* 基因细菌群落的网络节点和连接数。在未去除优势物种前,含 *phoD* 基因细菌群落网络稳定性无显著差异;然而,去除优势物种后各处理中含 *phoD* 基因细菌群落网络稳定性均显著下降。这表明优势物种

在维持含 *phoD* 基因细菌群落网络的稳定性过程中发挥重要作用。本研究解析了有机培肥对含 *phoD* 基因细菌群落的影响, 并初步评估其在土壤磷素转化中的作用, 为探索提高磷肥有效性的微生物途径提供了参考。

作者贡献声明

赵晓坤: 数据统计分析, 撰写文章初稿的前言和结果; 方梓西: 数据分析的呈图, 撰写文章初稿的材料方法和讨论; 刘顺莉: 提供数据统计分析的方法指导, 模式图制作, 初稿文章的修改; 潘玮涵: 文章讨论部分引用文献的检索; 尹江琴: 文章讨论部分内容的修改; 谢小雨: 数据统计分析提供指导; 陈远学: 长期定位点试验管理; 陈新平: 整体试验设计, 基金支持; 郎明: 整体试验设计, 样品的采集, 整体文章写作中的写作框架和内容的确定, 初稿文章修改, 基金支持。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] CHEN S, WANG LY, ZHANG S, LI NH, WEI XM, WEI YQ, WEI LL, LI J, HUANG SW, CHEN Q, ZHANG T, BOLAN NS. Soil organic carbon stability mediate soil phosphorus in greenhouse vegetable soil by shifting *phoD*-harboring bacterial communities and keystone taxa[J]. *Science of The Total Environment*, 2023, 873: 162400.
- [2] CHEN XD, JIANG N, CONDRON LM, DUNFIELD KE, CHEN ZH, WANG JK, CHEN LJ. Impact of long-term phosphorus fertilizer inputs on bacterial *phoD* gene community in a maize field, Northeast China[J]. *Science of the Total Environment*, 2019, 669: 1011-1018.
- [3] MARON PA, SARR A, KAISERMANN A, LÉVÊQUE J, MATHIEU O, GUIGUE J, KARIMI B, BERNARD L, DEQUIEDT S, TERRAT S, CHABBI A, RANJARD L. High microbial diversity promotes soil ecosystem functioning[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2018, 84(9): e02738-17.
- [4] LIU JS, MA Q, HUI XL, RAN JY, MA QX, WANG XS, WANG ZH. Long-term high-P fertilizer input decreased the total bacterial diversity but not *phoD*-harboring bacteria in wheat rhizosphere soil with available-P deficiency[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2020, 149: 107918.
- [5] GUSTAFSSON JP, MWAMILA LB, KERGOAT K. The pH dependence of phosphate sorption and desorption in Swedish agricultural soils[J]. *Geoderma*, 2012, 189: 304-311.
- [6] KAMAA M, MBURU H, BLANCHART E, CHIBOLE L, CHOTTE JL, KIBUNJA C, LESUEUR D. Effects of organic and inorganic fertilization on soil bacterial and fungal microbial diversity in the Kabete long-term trial, Kenya[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2011, 47(3): 315-321.
- [7] BAI ZG, CASPARI T, GONZALEZ MR, BATJES NH, MÄDER P, BÜNEMANN EK, de GOEDE R, BRUSSAARD L, XU MG, SANTOS FERREIRA CS, REINTAM E, FAN HZ, MIHELIC R, GLAVAN M, TÓTH Z. Effects of agricultural management practices on soil quality: a review of long-term experiments for Europe and China[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2018, 265: 1-7.
- [8] WITHERS PJA, JARVIE HP. Delivery and cycling of phosphorus in rivers: a review[J]. *Science of The Total Environment*, 2008, 400(1/2/3): 379-395.
- [9] BALEMI T, NEGISHO K. Management of soil phosphorus and plant adaptation mechanisms to phosphorus stress for sustainable crop production: a review[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2012.
- [10] BU RY, REN T, LEI MJ, LIU B, LI XK, CONG RH, ZHANG YY, LU JW. Tillage and straw-returning practices effect on soil dissolved organic matter, aggregate fraction and bacteria community under rice-rice-rapeseed rotation system[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2020, 287: 106681.
- [11] LUO JP, LIAO GC, BANERJEE S, GU SH, LIANG JB, GUO XY, ZHAO HP, LIANG YC, LI TQ. Long-term organic fertilization promotes the resilience of soil multifunctionality driven by bacterial communities[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2023, 177: 108922.
- [12] SCHLEGEL AJ. Effect of composted manure on soil chemical properties and nitrogen use by grain sorghum[J]. *Journal of Production Agriculture*, 1992, 5(1): 153-157.
- [13] LIU WB, LING N, LUO GW, GUO JJ, ZHU C, XU QC, LIU MQ, SHEN QR, GUO SW. Active *phoD*-harboring bacteria are enriched by long-term organic fertilization[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 152: 108071.
- [14] HE SB, MA YY, YANG T, FU X, NIE L, LI JS, WANG DZ, SU YH, CHU HY. The core *phoD*-harboring bacteria promote wheat phosphorus uptake by enhancing alkaline phosphatase activity under long-term fertilization[J]. *Soil Ecology Letters*, 2024, 6(4): 240227.
- [15] WEI XM, HU YJ, CAI G, YAO HY, YE J, SUN Q, VERESOGLOU SD, LI YY, ZHU ZK, GUGGENBERGER G, CHEN XB, SU YR, LI Y, WU JS, GE TD. Organic phosphorus availability shapes the diversity of *phoD*-harboring bacteria in agricultural soil[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 161: 108364.

- [16] WEI XM, HU YJ, RAZAVI BS, ZHOU J, SHEN JL, NANNIPIERI P, WU JS, GE TD. Rare taxa of alkaline phosphomonoesterase-harboring microorganisms mediate soil phosphorus mineralization[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 131: 62-70.
- [17] ZHUO TY, DING Y, WAN Q, LI SM, CHAI BB, LEI XH. Effects of hydrostatic pressure on phosphorus transformation at the water-sediment interface of a deep reservoir: novel insights into bacterial community and functional genes[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2021, 21(10): 3367-3379.
- [18] JIANG N, WEI K, PU JH, HUANG WJ, BAO HX, CHEN LJ. A balanced reduction in mineral fertilizers benefits P reserve and inorganic P-solubilizing bacterial communities under residue input[J]. *Applied Soil Ecology*, 2021, 159: 103833.
- [19] WANG L, ZHANG H, XU C, ZHONG YH, XU XJ, YUAN J, WANG JD, ZHANG YC. Ten years of urea fertilization alter the *pqqC*-harbouring community and increase soil inorganic phosphorus mobilization[J]. *European Journal of Soil Science*, 2024, 75(4): e13563.
- [20] WU WC, ZHANG YJ, TURNER BL, HE YL, CHEN XD, CHE RX, CUI XY, LIU XJ, JIANG L, ZHU JT. Organic amendments promote soil phosphorus related functional genes and microbial phosphorus cycling[J]. *Geoderma*, 2025, 456: 117247.
- [21] TAN H, BARRET M, MOOIJ MJ, RICE O, MORRISSEY JP, DOBSON A, GRIFFITHS B, O'GARA F. Long-term phosphorus fertilisation increased the diversity of the total bacterial community and the *phoD* phosphorus mineraliser group in pasture soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2013, 49(6): 661-672.
- [22] YANG L, DU LL, LI WJ, WANG R, GUO SL. Divergent responses of *phoD*- and *pqqC*-harbouring bacterial communities across soil aggregates to long fertilization practices[J]. *Soil and Tillage Research*, 2023, 228: 105634.
- [23] FEI C, ZHANG SR, ZHANG L, DING XD. Straw is more effective than biochar in mobilizing soil organic phosphorus mineralization in saline-alkali paddy soil[J]. *Applied Soil Ecology*, 2023, 186: 104848.
- [24] LUO GW, LING N, NANNIPIERI P, CHEN H, RAZA W, WANG M, GUO SW, SHEN QR. Long-term fertilisation regimes affect the composition of the alkaline phosphomonoesterase encoding microbial community of a vertisol and its derivative soil fractions[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2017, 53(4): 375-388.
- [25] OLSEN SR, SOMMERS LE. Phosphorus. *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*[M]. 2nd edition. Madison, WI: American Society of Agronomy, 1982: 167-179.
- [26] SAUNDERS WMH, WILLIAMS EG. Observations on the determination of total organic phosphorus in soils[J]. *Journal of Soil Science*, 1955, 6(2): 254-267.
- [27] MOIR J, TIESSEN H. Characterization of available P by sequential extraction[M]//*Soil Sampling and Methods of Analysis, Second Edition*. Boca Raton: CRC Press, 2007.
- [28] LIU M, LINNA C, MA SM, MA Q, SONG WF, SHEN MZ, SONG LX, CUI KD, ZHOU YL, WANG LC. Biochar combined with organic and inorganic fertilizers promoted the rapeseed nutrient uptake and improved the purple soil quality[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 997151.
- [29] LUO GW, SUN B, LI L, LI MH, LIU MQ, ZHU YY, GUO SW, LING N, SHEN QR. Understanding how long-term organic amendments increase soil phosphatase activities: insight into *phoD*- and *phoC*-harboring functional microbial populations[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 139: 107632.
- [30] TANG Q, XIA YQ, TI CP, SHAN J, ZHOU W, LI CL, YAN X, YAN XY. Partial organic fertilizer substitution promotes soil multifunctionality by increasing microbial community diversity and complexity[J]. *Pedosphere*, 2023, 33(3): 407-420.
- [31] IKOYI I, FOWLER A, SCHMALENBERGER A. One-time phosphate fertilizer application to grassland columns modifies the soil microbiota and limits its role in ecosystem services[J]. *Science of The Total Environment*, 2018, 630: 849-858.
- [32] ZHU XY, ZHAO XR, LIN QM, LI GT. Distribution characteristics of *phoD*-harbouring bacterial community structure and its roles in phosphorus transformation in steppe soils in northern China[J]. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 2021, 21(2): 1531-1541.
- [33] WANG YY, HUANG R, XU GX, LI JC, WANG ZF, CI E, GAO M. Soil alkaline phosphatase activity and bacterial *phoD* gene abundance and diversity under regimes of inorganic fertilizer reduction with straw[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2021, 21(1): 388-402.
- [34] PAN FJ, YU X, CHEN M, LIANG YM. Vegetation recovery reshapes the composition and enhances the network connectivity of *phoD*-harboring microorganisms to promote P availability in a karst ecosystem[J]. *Science of The Total Environment*, 2024, 918: 170561.
- [35] SHEN JB, YUAN LX, ZHANG JL, LI HG, BAI ZH, CHEN XP, ZHANG WF, ZHANG FS. Phosphorus dynamics: from soil to plant[J]. *Plant Physiology*, 2011, 156(3): 997-1005.
- [36] HUANG YL, DAI ZM, LIN JH, LI DM, YE HC, DAHLGREN RA, XU JM. Labile carbon facilitated phosphorus solubilization as regulated by bacterial and fungal communities in *Zea mays*[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 163: 108465.
- [37] LI F, CHEN L, ZHANG JB, YIN J, HUANG SM. 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.
- [38] GEISSELER D, SCOW KM. Long-term effects of mineral fertilizers on soil microorganisms-a review[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2014, 75: 54-63.
- [39] ROBERTS BA, FRITSCHI FB, HORWATH WR, SCOW KM, RAINS WD, TRAVIS RL. Comparisons of soil microbial communities influenced by soil texture, nitrogen fertility, and rotations[J]. *Soil Science*, 2011, 176(9): 487-494.

- [40] BARBERÁN A, BATES ST, CASAMAYOR EO, FIERER N. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 343-351.
- [41] GILBERT JA, STEELE JA, CAPORASO JG, STEINBRÜCK L, REEDER J, TEMPERTON B, HUSE S, McHARDY AC, KNIGHT R, JOINT I, SOMERFIELD P, FUHRMAN JA, FIELD D. Defining seasonal marine microbial community dynamics[J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 298-308.
- [42] DENG Y, JIANG YH, YANG YF, HE ZL, LUO F, ZHOU JZ. Molecular ecological network analyses[J]. *BMC Bioinformatics*, 2012, 13: 113.
- [43] LUO JP, BANERJEE S, MA QX, LIAO GC, HU BF, ZHAO HP, LI TQ. Organic fertilization drives shifts in microbiome complexity and keystone taxa increase the resistance of microbial mediated functions to biodiversity loss[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2023, 59(4): 441-458.
- [44] LI K, XING XY, WANG SB, LIAO RJ, HASSAN MU, AAMER M, BARBANTI L, WEN TW, XU HF. Organic fertilisation enhances network complexity among bacteria, fungi, and protists by improving organic matter and phosphorus in acidic agricultural soils[J]. *European Journal of Soil Biology*, 2024, 122: 103649.
- [45] HU ZM, JI LF, WAN Q, LI H, LI RL, YANG YY. Short-term effects of bio-organic fertilizer on soil fertility and bacterial community composition in tea plantation soils[J]. *Agronomy*, 2022, 12(9): 2168.
- [46] DUAN QY, LIU Q, YANG RZ, KONG XQ, GAO YQ, YUE SC, SHEN YF, XU MP. Long-term co-application of nitrogen and organic fertilizers enhances soil quality and wheat growth stability by modulating microbial communities[J]. *Applied Soil Ecology*, 2025, 213: 106309.
- [47] MA TF, HE XH, CHEN SG, LI YJ, HUANG QW, XUE C, SHEN QR. Long-term organic-inorganic fertilization regimes alter bacterial and fungal communities and rice yields in paddy soil[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 890712.
- [48] YANG J, XIN XL, ZHANG XF, ZHONG XY, YANG WL, ZHU AN. Microbial community alteration driven by labile organic carbon enhances phosphorus availability under different tillage regimes[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2024, 24(11): 3707-3721.
- [49] SUN Q, QIU HS, HU YJ, WEI XM, CHEN XB, GE TD, WU JS, SU YR. Cellulose and lignin regulate partitioning of soil phosphorus fractions and alkaline phosphomonoesterase encoding bacterial community in phosphorus-deficient soils[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2019, 55(1): 31-42.
- [50] DENG PY, ZHOU YC, CHEN WS, TANG FH, WANG YX. Microbial mechanisms for improved soil phosphorus mobilization in monoculture conifer plantations by mixing with broadleaved trees[J]. *Journal of Environmental Management*, 2024, 359: 120955.
- [51] NEAL AL, ROSSMANN M, BREARLEY C, AKKARI E, GUYOMAR C, CLARK IM, ALLEN E, HIRSCH PR. Land-use influences phosphatase gene microdiversity in soils[J]. *Environmental Microbiology*, 2017, 19(7): 2740-2753.
- [52] ZHENG Q, HU YT, ZHANG SS, NOLL L, BÖCKLE T, DIETRICH M, HERBOLD CW, EICHORST SA, WOEBKEN D, RICHTER A, WANEK W. Soil multifunctionality is affected by the soil environment and by microbial community composition and diversity[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2019, 136: 107521.
- [53] ANONYMOUS. *Phosphorus in Action: Biological Processes in Soil Phosphorus Cycling*[M]//Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2011.
- [54] HE RY, LUO ZZ, LI LL, NIU YN, LIU JH, CHEN ZM, LI LL, ZHANG YQ. Soil *phoD*-harboring bacteria mediate the soil phosphorus conversion in response to nitrogen supply in Loess Plateau[J/OL]. *Plant and Soil*, 2025. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11104-025-07572-7>.
- [55] LI XX, LI PJ, AWAIS M, ZHANG Z, ZHAO SN, LIU YF, SUN ZP, FU HD, LI TL. Keystone ecological cluster rather than the whole community of *phoD*-encoding bacteria driving ecological function and the improvement of yield under long-term organic regime in greenhouse[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2025, 385: 109568.
- [56] VANDEN NEST T, VANDECASTEELE B, RUYSSCHAERT G, COUGNON M, MERCKX R, REHEUL D. Effect of organic and mineral fertilizers on soil P and C levels, crop yield and P leaching in a long term trial on a silt loam soil[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2014, 197: 309-317.
- [57] HUANG YL, DAI ZM, LIN JH, QI Q, LUO Y, DAHLGREN RA, XU JM. Contrasting effects of carbon source recalcitrance on soil phosphorus availability and communities of phosphorus solubilizing microorganisms[J]. *Journal of Environmental Management*, 2021, 298: 113426.
- [58] WANG JP, WU YH, ZHOU J, BING HJ, SUN HY. Carbon demand drives microbial mineralization of organic phosphorus during the early stage of soil development[J]. *Biology and Fertility of Soils*, 2016, 52(6): 825-839.