

# 贫瘠土壤中丛枝菌根真菌对烟草内生细菌群落组成及多样性的影响

丁明碧<sup>1,2</sup>, 曹高雪<sup>1,2</sup>, 张晴<sup>1,2</sup>, 孙丽雪<sup>1,2</sup>, 汪伯晏<sup>1,2</sup>, 程齐修<sup>1,2</sup>, 陈金<sup>1,2\*</sup>, 李晓玉<sup>1,2\*</sup>

1 安徽农业大学 生命科学学院, 安徽 合肥

2 作物抗逆育种与减灾国家地方联合工程实验室, 安徽 合肥

丁明碧, 曹高雪, 张晴, 孙丽雪, 汪伯晏, 程齐修, 陈金, 李晓玉. 贫瘠土壤中丛枝菌根真菌对烟草内生细菌群落组成及多样性的影响[J]. 微生物学报, 2026, 66(6): 2727-2744.

DING Mingbi, CAO Gaoxue, ZHANG Qing, SUN Lixue, WANG Boyan, CHENG Qixiu, CHEN Jin, LI Xiaoyu. Arbuscular mycorrhizal fungi modulate the community composition and diversity of root endophytic bacteria in tobacco cultivated in barren soil[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2026, 66(6): 2727-2744.

**摘要:** 土壤退化严重制约农业可持续发展。丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)作为关键的根际共生真菌, 在促进寄主植物生长和菌群重塑等方面发挥重要作用。【目的】阐明在贫瘠土壤条件下, 接种 AMF 对烟草生长及其根系内生细菌群落结构、互作网络与代谢功能的调节作用, 为利用 AMF 优化植物-微生物互作、提升作物对贫瘠生境的适应能力提供理论支撑。【方法】通过盆栽试验, 结合 Illumina MiSeq 高通量测序, 运用微生物共现网络分析、功能预测及结构方程模型(structural equation modeling, SEM)进行系统解析。【结果】接种 AMF 后, 烟草地上部鲜重、根鲜重、株高和根长分别增加 118.4%、157.6%、78.6% 和 73.4%。虽然接种显著降低了群落的物种丰富度与多样性, 但通过富集  $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)等类群重塑了群落结构, 构建了更为紧密且以正向互作为主的共现网络; 其中类固醇杆菌属(*Steroidobacter*) ASV149 被鉴定为核心关键类群。功能预测显示, 接种 AMF 显著提升了细胞生长与死亡、异种生物降解与代谢、氨基酸代谢及脂质代谢等关键通路; 结构方程模型进一步证实细菌多样性和丰富度是驱动网络结构的主要因素。【结论】在贫瘠土壤中, AMF 不仅直接促进烟草生长, 更能通过重塑群落结构提升根部微生态稳定性, 从而增强烟草在贫瘠土壤中的适应能力。本研究从“植物-AMF-内生细菌”三元互作的视角深化了对微生物协同增强植物环境适应性的理解。

**关键词:** 贫瘠土壤; 丛枝菌根真菌; 内生细菌群落; 烟草; 微生物共现网络; 功能预测

资助项目: 国家重点研发计划(2023YFD1901000)

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China (2023YFD1901000).

\*Corresponding authors. E-mail: CHEN Jin, chenjin131721@ahau.edu.cn; LI Xiaoyu, lixiaoyu@ahau.edu.cn

Received: 2025-10-14; Accepted: 2025-12-12; Published online: 2025-12-26

# Arbuscular mycorrhizal fungi modulate the community composition and diversity of root endophytic bacteria in tobacco cultivated in barren soil

DING Mingbi<sup>1,2</sup>, CAO Gaoxue<sup>1,2</sup>, ZHANG Qing<sup>1,2</sup>, SUN Lixue<sup>1,2</sup>, WANG Boyan<sup>1,2</sup>, CHENG Qixiu<sup>1,2</sup>, CHEN Jin<sup>1,2\*</sup>, LI Xiaoyu<sup>1,2\*</sup>

1 School of Life Sciences, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui, China

2 National Engineering Laboratory of Crop Stress Resistance, Hefei, Anhui, China

**Abstract:** Soil degradation represents a major constraint to sustainable agricultural production. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF), as pivotal rhizosphere symbionts, play a crucial role in promoting host plant growth and remodeling microbial communities. **[Objective]** This study elucidated the regulatory impacts of AMF inoculation on tobacco growth, as well as the structure, interaction network, and metabolic functions of the endophytic bacterial community in the roots of tobacco cultivated in barren soil. The aim is to provide theoretical support for leveraging AMF to optimize plant-microbe interactions and enhance crop adaptation to nutrient-poor environments. **[Methods]** A pot experiment was conducted in combination with Illumina MiSeq high-throughput sequencing. The root endophytic bacterial community was systematically investigated *via* microbial co-occurrence network analysis, functional prediction, and structural equation modeling (SEM). **[Results]** AMF inoculation significantly enhanced tobacco growth, increasing the shoot fresh weight, root fresh weight, plant height, and root length by 118.4%, 157.6%, 78.6%, and 73.4%, respectively. Although AMF inoculation significantly reduced the species richness and diversity of the endophytic bacterial community, it markedly reshaped the community composition by enriching specific taxa (e. g., *Gammaproteobacteria*). This restructuring resulted in a more compact, positive interaction-dominated co-occurrence network, in which ASV149 (belonging to the genus *Steroidobacter*) was identified as a keystone taxon. Functionally, AMF inoculation significantly upregulated key metabolic pathways, including cell growth and death, xenobiotic biodegradation and metabolism, amino acid metabolism, and lipid metabolism. SEM further confirmed that bacterial richness and diversity were the major drivers shaping the network structure. **[Conclusion]** In barren soil, AMF not only directly promotes tobacco growth but also enhances the stability of the root microecosystem and the tobacco adaptability to barren soil by restructuring the root endophytic bacterial community. From the perspective of the “plant-AMF-endophytic bacteria” tripartite interaction, this study deepens the insight into the intrinsic mechanisms underlying microbial synergism in enhancing plant environmental adaptability.

**Keywords:** barren soil; arbuscular mycorrhizal fungi; endophytic bacterial community; tobacco; microbial co-occurrence network; functional prediction

土壤是维持陆地生态系统功能的关键组分，也是微生物最核心的栖息地。然而，随着集约

化农业发展、不合理土地利用以及极端气候等事件频发，严重干扰了土壤养分循环，破坏了

微生物栖息地, 加剧了全球范围的土壤退化。目前, 土壤退化已成为亟待解决的全球性问题<sup>[1]</sup>。土壤退化是指土壤物理结构、化学性质及生物功能协同退化的综合表现, 其核心特征包括有机碳库耗竭、微生物多样性丧失、土壤肥力下降以及元素失衡等<sup>[2]</sup>, 进而严重制约土壤生态系统服务功能的发挥。联合国粮农组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)数据显示, 截至 2023 年, 全球贫瘠土壤面积已达 20.21 亿  $\text{hm}^2$ , 占世界总面积的 15%; 其中, 中国贫瘠土壤总面积达 2.21 亿  $\text{hm}^2$ 。在此背景下, 深入探究植物在贫瘠土壤生境中的适应策略与调控机制, 对推动生态修复与农业可持续发展具有重要意义。

为应对土壤退化, 现有的种植策略已形成以物理、化学和生物为核心的技术体系<sup>[3-5]</sup>。物理与化学方法应用广泛, 但常受制于高成本与次生环境风险; 相较之下, 基于微生物的生物强化策略, 通过调动关键功能微生物, 推动生态修复与植物生长协同增效, 为土壤资源的根本性恢复与利用开辟了更具潜力的可持续路径<sup>[6-8]</sup>。其中, 丛枝菌根真菌(arbuscular mycorrhizal fungi, AMF)作为一种古老的土壤微生物, 能与超过 90% 的陆生植物建立共生关系<sup>[9-10]</sup>。研究表明, AMF 能显著促进宿主植物对营养的吸收, 调节根际微生物群落结构, 并增强其抗逆性<sup>[11-14]</sup>。因此, AMF 共生被视作增强植物在贫瘠土壤生境中适应性的关键微生物驱动因子。

在长期的协同进化过程中, 植物与根际微生物形成了复杂的互作网络, 这是其应对环境胁迫的关键策略<sup>[15]</sup>。AMF 不仅是植物的“营养助手”, 更被视为根际微生态的“核心调控者”。AMF 能招募和富集有益微生物群落, 从而构建以菌根为枢纽、由“植物-AMF-根际微生物”共同组成的互利共生体系, 该体系被认为是植物适应贫瘠土壤生境的一种重要协同机制<sup>[16]</sup>。然而, 目前关于 AMF 的研究多集中于根际微生物, 对 AMF 如何影响植物内生菌群组装、群落稳定性

及功能协作机制尚不明确, 尤其是在贫瘠土壤背景下, 这严重制约了对贫瘠胁迫下 AMF 与植物内生菌群互作关系的深入理解。值得注意的是, 内生菌群作为宿主植物的“第二基因组”, 直接参与其养分吸收、生长发育和逆境响应等关键生理过程<sup>[17-19]</sup>。因此, 阐明 AMF 与内生菌群在贫瘠胁迫下的互作模式, 对于揭示植物适应贫瘠生境的微生物协同机制具有重要意义。

本研究以贫瘠土壤为背景, 以烟草(*Nicotiana tabacum* L.)为模式植物, 通过盆栽试验探究接种 AMF 后对烟草内生细菌群落结构、互作网络及代谢功能的调节作用, 旨在从烟草根内微生态的视角揭示 AMF 增强烟草在贫瘠土壤中适应能力的新机理, 为阐明“植物-AMF-内生菌”三者互作提供直接的理论与数据支撑。

## 1 材料与方法

### 1.1 土壤采集

试验土壤采自安徽省合肥市贫瘠农田土壤(31°52'N, 117°14'E), 土壤类型为黄棕壤。在取样区域内随机设置 3 个 5 m×5 m 的重复小区, 清除地表凋落物后, 采集地表以下 0-10 cm 的土层。每个小区随机采集 6 个土壤样品混合构成一个复合样品。所有样品在自然状态下风干, 剔除石砾和植物残根后, 过 2 mm 筛备用。

取一部分过筛土壤, 经研钵研磨后, 用于土壤基本理化性质分析: 总碳(total carbon, TC)和总氮(total nitrogen, TN)使用元素分析仪(Elementar 公司)测定<sup>[20]</sup>; 土壤有机质(soil organic matter, SOM)含量通过重铬酸钾外加热法测定<sup>[21]</sup>; 总钾(total potassium, TK)含量采用氢氟酸-高氯酸消解后, 使用火焰光度法测定; 总磷(total phosphorus, TP)采用氢氧化钠熔融-钼锑抗比色法测定; 速效磷(available phosphorus, AP)采用碳酸氢钠浸提-钼锑抗比色法测定<sup>[22]</sup>; 硝态氮(nitrate nitrogen,  $\text{NO}_3^-$ -N)与铵态氮(ammonium nitrogen,  $\text{NH}_4^+$ -N)含量使用流动注射分析仪

(Skalar analytical 公司)测定。土壤检测结果表明, 有机质含量为 15.3 g/kg, 全氮含量为 0.8 g/kg, 全碳含量为 9.8 g/kg, 硝态氮含量为 2.16 mg/kg, 铵态氮含量为 3.37 mg/kg, 全磷含量为 0.5 g/kg, 全钾含量为 0.082 g/kg, 依据《全国第二次土壤普查土壤养分分级标准》, 该土壤属于贫瘠土。

另一部分土壤与蛭石混合(土壤:蛭石=1:1), 经高压蒸汽灭菌锅在 121 °C 灭菌 60 min, 冷却后备用, 以供烟草盆栽试验使用。

## 1.2 供试植株

本研究所用的烟草种子由安徽农业大学作物抗逆育种与减灾国家地方联合工程实验室提供。种子经 10% 过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)溶液消毒 10 min, 然后用无菌水洗涤 3 次; 将种子播撒于装有基质(蛭石:黑土=3:1)的育苗盆中( $r=2.5$  cm,  $h=5$  cm), 并用保鲜膜密封, 放于 25 °C 培养箱中发芽 48 h, 选取长势一致的健壮烟草幼苗, 移栽至装满无菌土壤的盆钵中, 生长期间, 每 2 d 用无菌水对植株灌溉 1 次。

## 1.3 供试菌株

本研究选用的 AMF 接种物为幼套内养囊霉(*Entrophospora etunicata*) (BGCNM01B, 1511C0001BGCAM0017)<sup>[23]</sup>, 该菌株由安徽农业大学作物抗逆育种与减灾国家地方联合工程实验室提供, 其在贫瘠土壤中对宿主磷素活化与养分吸收促进作用显著, 且与烟草共生兼容性良好。最终菌根接种剂由无菌沙、菌根真菌菌丝体、菌根根段和丛枝菌根真菌孢子组成, 密度为每克土 5–8 个孢子。

## 1.4 盆栽试验

盆栽试验于温室中进行, 培养期间温度与湿度分别维持在 18–28 °C 和 75%, 全程采用自然光照, 不进行补光。试验设 2 个处理: 接种丛枝菌根真菌(+AMF), 每盆接种 30 g 菌根接种剂; 不接种对照(-AMF), 每盆施用等量无菌沙, 每个处理设 3 个重复。将烟草幼苗移植到装有 2 kg 灭菌土壤的盆钵( $r=16.5$  cm,  $h=13$  cm)中,

每个盆钵种植 2 株烟草, 培养 7 d 后, 选择长势一致的植株进行移植并接种 *E. etunicata*, 将土壤含水量调节并维持于 80%。试验期间所有植株均用无菌水灌溉。

## 1.5 农艺性状测定与样品处理

烟草于移栽后 60 d 收获, 分别测定其地上部鲜重、根系鲜重、株高及根长。取部分新鲜根系, 采用台盼蓝染色法<sup>[24]</sup>测定 AMF 侵染率; 剩余根系于 -80 °C 保存, 用于后续细菌 DNA 的提取与测序。植株茎秆同样置于 -80 °C 保存, 以备后续抗氧化酶活性测定, 所有样本均设置 3 次重复, 检测指标包括过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)<sup>[25–26]</sup>。

根际土壤的采集参照如下方法: 轻轻摇动根部去除松散附着的块状土壤, 然后用无菌刷子刷取根表土壤<sup>[27–28]</sup>。所有采集的根际土壤样品分为两部分: 一部分经风干、研磨、过筛后, 室温保存, 用于土壤理化性质分析<sup>[29]</sup>; 另一部分装入 50 mL 无菌离心管, 于 4 °C 保存, 用于 AMF 孢子密度测定。土壤孢子提取方法如下: 称取 10 g 风干土样, 采用湿筛-倾析法, 以去离子水分离 AMF 孢子。随后在光学显微镜下, 依据孢子形态完整度、颜色典型性及细胞质内含物等标准对孢子进行计数<sup>[30]</sup>。

## 1.6 DNA 提取与测序

称取 0.5 g 烟草根, 采用 FastDNA<sup>®</sup> SPIN 土壤试剂盒(MP Biomedicals 公司)提取细菌 DNA。使用通用 16S rRNA 基因引物 799F (5'-AACMG GATTAGATACCCKG-3') 和 1193R (5'-ACGCA TCCCCACCTTCC-3') 进行 PCR 扩增, 构建细菌 16S rRNA 基因高变区(V5–V7)的扩增子文库, 并通过 Illumina 平台测序<sup>[31–32]</sup>。有效的 16S rRNA 基因序列与 SILVA 数据库比对(阈值为 80%)<sup>[33]</sup>。将每个样本的序列聚类为扩增子序列变体(amplicon sequence variants, ASVs)。将所有样品稀释到相同的测序深度后, 分析土壤微生物

物群落的  $\alpha$  多样性。

内转录间隔区 (internal transcribed spacer, ITS) 序列用于表征土壤样本中的真菌群落组成与多样性<sup>[34]</sup>。ITS 序列具有高度变异性, 是物种鉴定和系统发育分析的重要分子标记, 采用真菌通用引物 ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') 和 ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') 进行菌株 PCR 扩增测序。PCR 反应体系 (50  $\mu$ L): PCR MasterMix 45  $\mu$ L, 上、下游引物 (10  $\mu$ mol/L) 各 2  $\mu$ L, DNA 模板 1  $\mu$ L。PCR 反应条件: 98  $^{\circ}$ C 预变性 2 min; 98  $^{\circ}$ C 变性 10 s, 72  $^{\circ}$ C 退火 10 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 5 min, 共 35 个循环。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测后送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。将 ITS 序列上传至 NCBI 的序列读取档案库 (sequence read archive, SRA), 其中生物项目编号为 PRJNA908135 (细菌 16S rRNA 基因数据对应的生物样本编号为 SAMN32027927 - SAMN32027932)。

## 1.7 统计分析

对所有数据进行正态性和方差齐性检验, 用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 判断差异显著性。采用 GraphPad Prism 8 软件进行数据可视化。使用 MEGA X 软件分析系统发育树, 通过 iTOL 在线工具 (<http://itol.embl.de/>) 实现系统发育树可视化<sup>[35]</sup>, 同时对后续分析的数据进行对数 (lg) 转换处理; 采用 LEfSe 在线工具 (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/lefse/>) 分析不同组间烟草根系中显著富集的内生细菌的系统发育分布, 设定线性判别分析 (linear discriminant analysis, LDA) 得分阈值 >4.0。为降低低丰度类群对网络的干扰, 对原始测序数据进行预处理, 过滤相对丰度低于 0.001 且在少于 3 个样本中出现的 ASVs。随后基于 Spearman 相关分析 ( $P < 0.05$ ), 筛选显著相关的 ASVs 对, 采用随机矩阵理论 (random matrix theory, RMT) 确定网络构建的最优阈值为 0.75。该阈值下, 网络的平均聚类系数、模块化程度

均显著高于随机网络 ( $P < 0.05$ ), 确保了网络的生物学稳健性, 最终利用 Gephi 软件对 2 种处理组的网络进行了可视化, 并以不同颜色区分各门类。采用 PICRUSt2 进行功能预测流程, 结合 KEGG 数据库 (<https://www.genome.jp/kegg/>) 对微生物群落的代谢功能进行预测<sup>[36]</sup>, 并采用 FAPROTAX 工具 (<https://www.loucalab.com/archive/FAPROTAX/>) 对微生物群落的生态功能进一步分析。使用 STAMP 分析工具 (<https://beikolab.cs.dal.ca/software/STAMP/>) 评估烟草根部内生细菌各组分的差异<sup>[37]</sup>, 采用 Welch  $t$  检验 (Welch's  $t$ -test) 计算  $P$  值。运用结构方程模型 (structural equation modeling, SEM) 分析土壤酶活性特征与细菌网络结构之间的关系<sup>[38]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 烟草农艺性状与 AMF 定殖率测定

AMF 对烟草生长具有显著促进作用, 接种 60 d 后其地上部鲜重、株高、根鲜重和根长分别比未接种 AMF 的处理增加 118.4%、78.6%、157.6% 和 73.4%。在 -AMF 根系中几乎未观察到菌根结构, 而 +AMF 根系侵染率达 76.7%, 侵染率提升了 63.4%。与未接种相比, 接种处理显著提高了菌根侵染强度。同时, +AMF 土壤中孢子密度显著高于对照组, 分别为 7.3 spores/10 g 土壤和 1.3 spores/10 g 土壤 (图 1)。

### 2.2 微生物群落组成和多样性分析

系统发育树显示, 核心微生物组包含 7 个细菌门, 主要以 bootstrap 值高于 60 的分支组成, 表明系统发育树结构可靠性高, 且属间具有良好的亲缘关系。其中假单胞菌门 (*Pseudomonadota*, 56 属) 和放线菌门 (*Actinobacteriota*, 13 属) 为两大优势菌门, 合计占内生细菌的 88.46%。其余细菌属分别隶属于芽孢杆菌门 (*Bacillota*, 4 属)、黏球菌门 (*Myxococcota*, 2 属)、绿屈挠菌门 (*Chloroflexi*, 1 属) 和蛭弧菌门 (*Bdellovibrionota*, 1 属)。在属水平, 丰度最高的 5 个细菌属依次

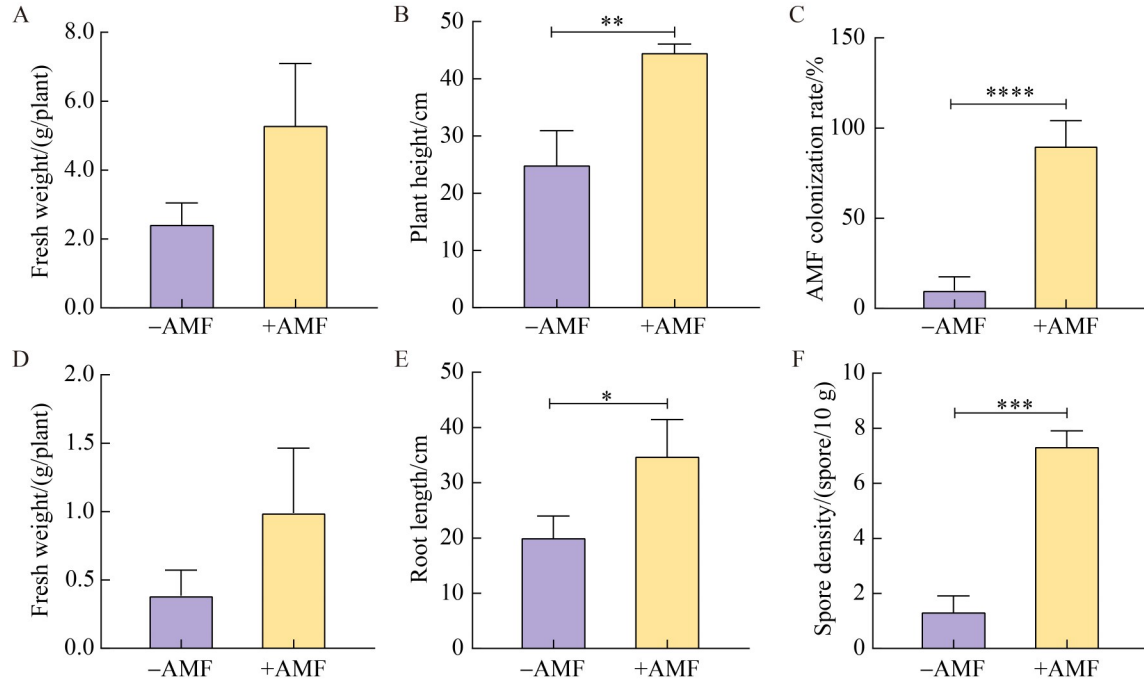


图1 不同处理组植物生长及土壤指标分析

Figure 1 Analysis of plant growth and soil indicators in different treatments. A: Fresh shoot weight; B: Plant height; C: AMF colonization rate; D: Fresh root weight; E: Root length; F: Soil spore density. Error bars represent mean $\pm$ SD. \*, \*\*, \*\*\*, and \*\*\*\* indicate  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ , and  $P < 0.0001$ , respectively. Each treatment included three biological replicates ( $n=3$ ).

为肠杆菌属 (*Enterobacter*)、unclassified\_f\_Comamonadaceae 属、unclassified\_f\_Enterobacteriaceae 属、申氏菌属 (*Shinella*) 和芽孢杆菌属 (*Bacillus*)，平均占细菌群落的 66.3% (图 2)。

Wilcoxon 秩和检验结果显示，不同处理组间根系内生细菌群落的均匀度 (Simpson 指数) 和多样性 (Shannon 指数) 均存在显著差异。相较于 -AMF，+AMF 处理组的 Simpson 指数显著高于 -AMF 对照组，相较于 -AMF 组，Simpson 指数升高 206.4%，说明接种 AMF 显著提高了群落均匀度；而 +AMF 处理组显著降低了细菌 Shannon 指数，较 -AMF 组下降了 25.3%，说明接种 AMF 后会降低烟草根系内生细菌群落的多样性；同时，相较于 -AMF，+AMF 处理组的 Chao1 指数也呈下降趋势，下降 22.02%。综上所述，接种 AMF 会对烟草根系内生细菌群落产

生影响，具体表现为降低群落的物种丰富度和多样性，同时使优势物种的集中程度升高 (图 3)。

### 2.3 微生物群落的 LEfSe 分析

为明确 +AMF 组与对照组间丰度存在显著差异的微生物类群，进一步开展了 LEfSe 分析。结果显示，接种 AMF 的烟草根系中共有 18 个内生细菌属显著富集，对照组中则有 19 个内生细菌属显著富集。此外，在 +AMF 组中鉴定出 3 个显著富集的分类学标志物，分别为肠杆菌目 (*Enterobacterales*)、肠杆菌科 (*Enterobacteriaceae*) 及  $\gamma$ -变形菌纲 (*Gammaproteobacteria*)；而 -AMF 组的内生细菌则包含根瘤菌科 (*Rhizobiaceae*)、根瘤菌目 (*Rhizobiales*) 及  $\alpha$ -变形菌纲 (*Alphaproteobacteria*) 等多种特征物种。综上所述，AMF 接种通过定向选择显著改变了根系内生细菌群落的组成及系统发育结构 (图 4)。

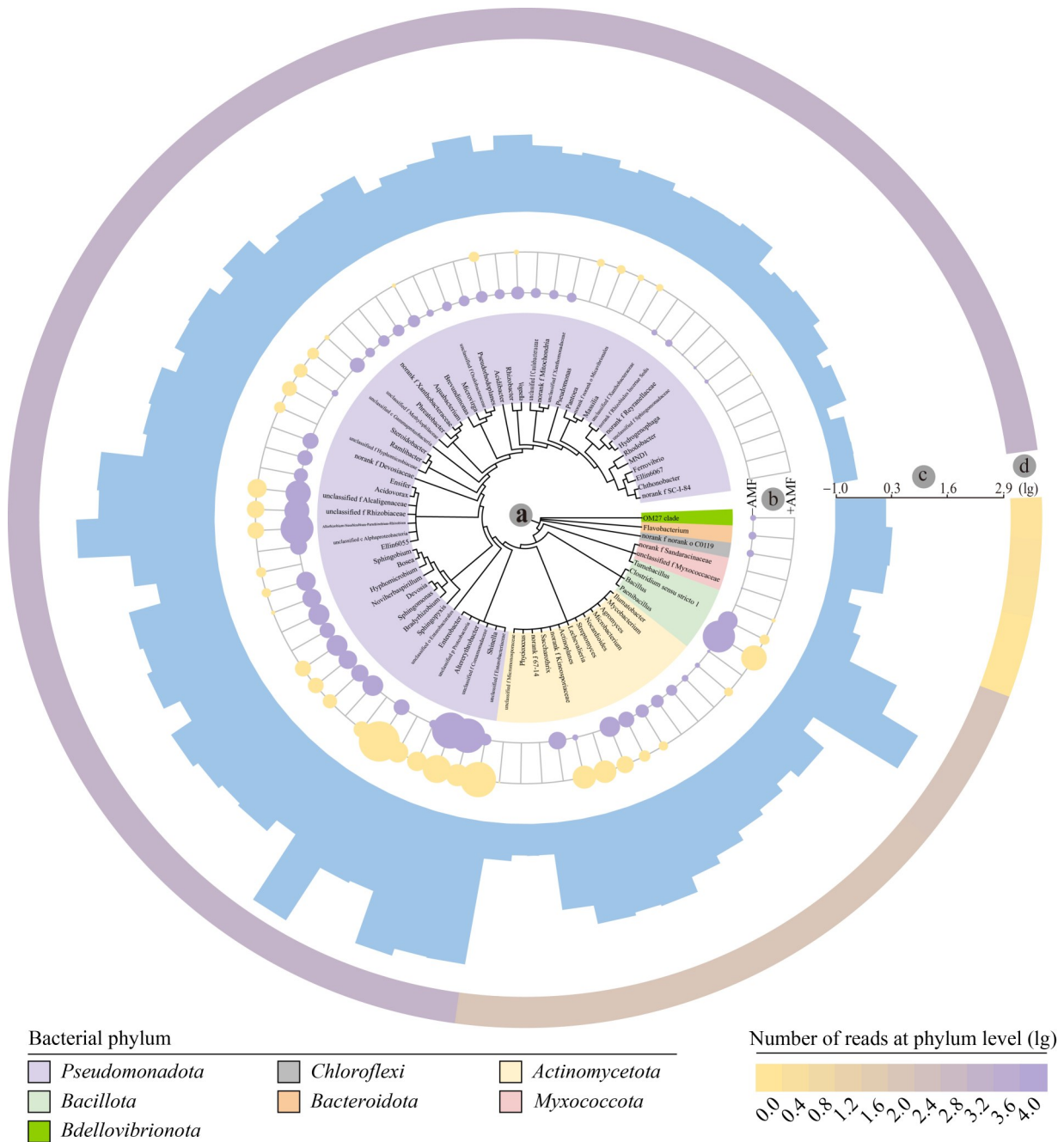


图2 前78个内生细菌属系统发育树

Figure 2 Phylogenetic tree of the top 78 endophytic bacterial genera. From the inner to the outer rings of the circular diagram: the first ring displays the phylogenetic tree constructed based on amplicon sequence variants (ASVs), where the branch colors represent the phylum-level taxonomy of each node (see the legend for details); The second ring (bar plot) illustrates the relative abundance of each ASV across different samples, with the bar height indicating abundance levels; The third ring (taxonomic annotation) shows the genus name corresponding to each ASV and its affiliated phylum in the outermost labels.

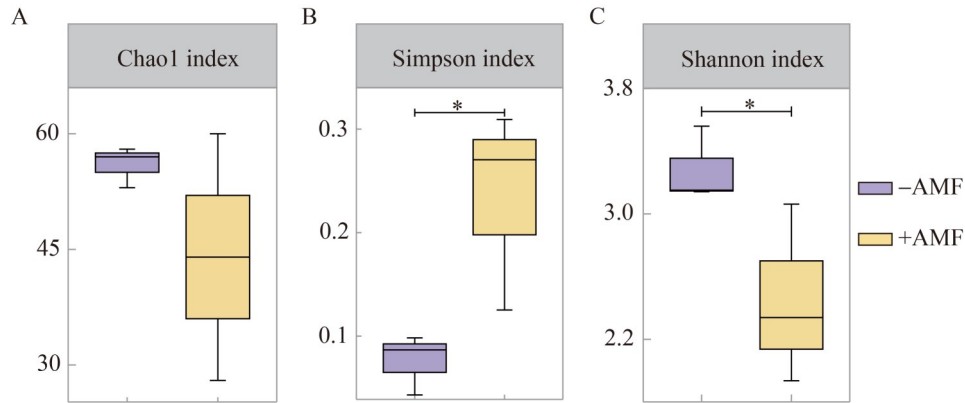
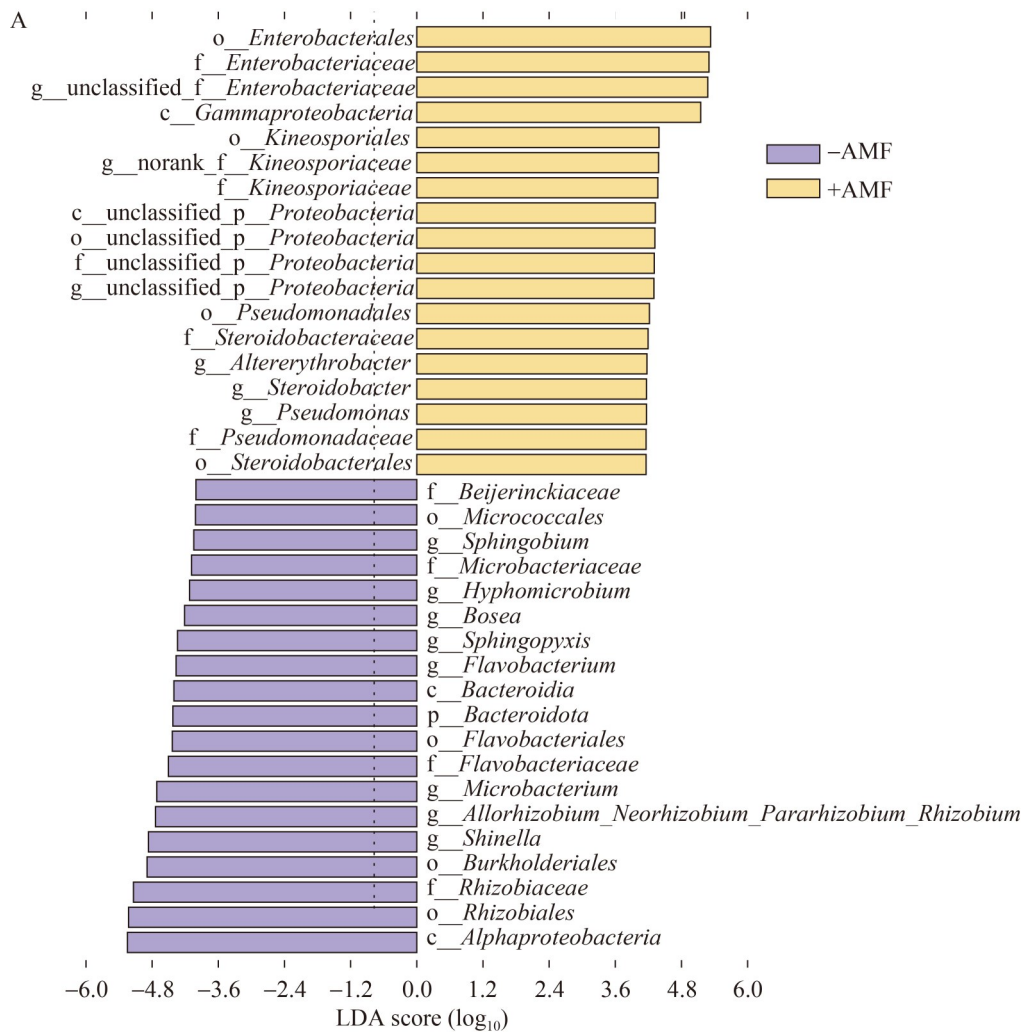


图3 两种处理间烟草根系内生细菌群落的 $\alpha$ 多样性差异

Figure 3 The variations in the root endophytic bacteria community alpha diversities between two treatments. A: Chao1 richness index; B: Simpson evenness index; C: Shannon diversity index. Error bars represent mean $\pm$ SD. \* indicate  $P < 0.05$ ; All  $P$ -values were determined via the Wilcoxon rank-sum test.



B

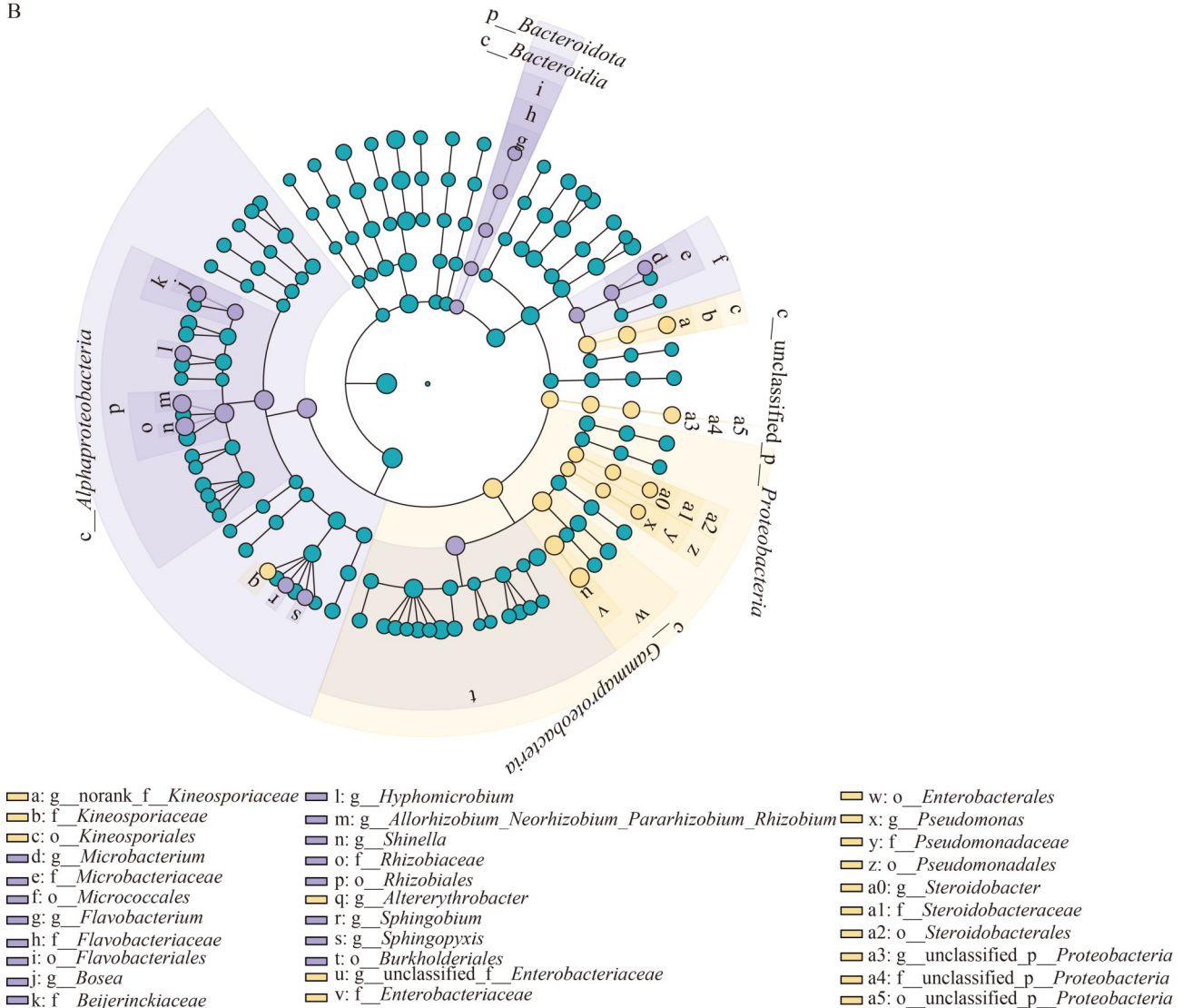


图4 烟草根系内生细菌群落LEfSe差异富集类群进化分支图

Figure 4 Evolutionary cladogram of LEfSe differentially enriched taxa in tobacco root endophytic bacterial community. A: Labels taxa with linear discriminant analysis (LDA) scores greater than the set threshold of 4.0 (Purple bars represent the -AMF group, yellow bars represent the +AMF group, and the length of the bars represents the magnitude of the LDA effect size); B: Evolutionary cladogram of differentially enriched bacterial taxa in tobacco root endophytic community. The dots from the inside out represent taxonomic units at the kingdom, phylum, class, order, family, and genus levels in sequence; The diameter of the dots is positively correlated with the abundance of the corresponding taxa, and branches and dots in different colors (Purple for -AMF group, yellow for +AMF group) represent differentially enriched taxa in each group.

## 2.4 微生物群落共生网络分析

烟草根系内生细菌共现网络结果显示, 假单胞菌门 (*Pseudomonadota*)、绿屈挠菌门

(*Chloroflexi*)、放线菌门(*Actinobacteriota*)、芽孢杆菌门(*Bacillota*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)是烟草根系中的优势活性内生细菌类群。为阐明网

网络中每个节点在网络中的拓扑角色, 进一步依据节点的模块内连接度( $Z_i$ )和模块间连接度( $P_i$ )对节点进行功能分类。分析发现, -AMF 中未检测到关键类群; 而+AMF 中隶属于类固醇杆菌属(*Steroidobacter*)的 ASV149 在拓扑角色散点图(图 5D)中呈现  $Z_i > 2.5$ ,  $P_i < 0.62$  的特征, 符合“模块枢纽”的关键类群判定标准。同时结合共现网络结构图(图 5B)可见, ASV149 在+AMF 的网络中连接了 12 个不同节点, 且与假单胞菌门等优势类群的多个节点存在正向互作关系, 进一步体现了其在模块内的核心连接作用, 因此被鉴定为该网络的关键类群。

总体来看, AMF 接种显著改变了烟草根系内生细菌的网络结构: -AMF 的群落网络结构更复杂。两组网络的节点均涵盖上述 5 个菌门, 但 -AMF 和 +AMF 的网络模块度值分别为 0.303 和 0.151; 且对照组的节点数量(38 个)和节点间连接数(318 条)均显著高于接种组(28 个节点、209 条连接), 表明 -AMF 组网络的模块性更强, 节点间连接更紧密。然而, 接种组网络的正负连接比达 77.1%, 显著高于对照组的 74.7%, 这提示 +AMF 组烟草根系内生细菌间的共现关联程度更高(表 1)。

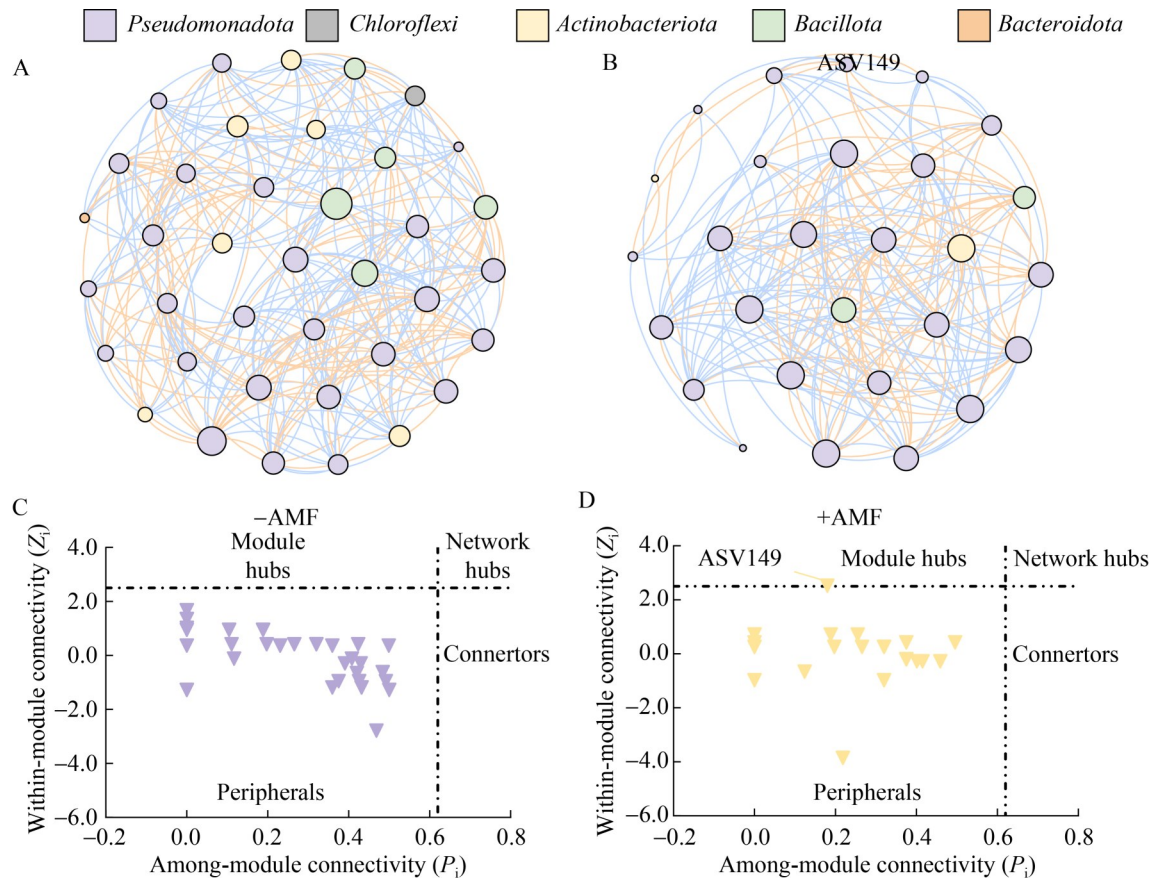


图5 烟草根系内生细菌共现网络

Figure 5 Co-occurrence network of endophytic bacteria in tobacco roots. A, B: Visualization of structured networks under -AMF and +AMF treatments (Different colors represent different phyla, and node size is positively correlated with the number of connections); C, D: Scatter plots of node topological roles under -AMF and +AMF treatments, with thresholds for  $Z_i$  and  $P_i$  set at 2.5 and 0.62, respectively.

表1 内生细菌共现网络拓扑属性表

Table 1 Topological properties of endophytic bacterial co-occurrence networks

Treatment	-AMF	+AMF
Total nodes	38	28
Total links	318	209
$R^2$ of power law	0.002	0.510
P/N ratio	0.747	0.771
Avg path length (GD)	1.599	1.566
Avg connectivity (avgK)	16.737	14.929
Avg clustering coefficient (avgCC)	0.716	0.805
Modularity	0.303	0.151
Avg path length of random networks	1.548±0.001	1.458±0.005
Avg CC of random networks	0.273±0.034	0.395±0.036
Avg modularity of random networks	0.121±0.012	0.083±0.012

## 2.5 烟草根系内生细菌功能预测

-AMF 与+AMF 组间功能组成丰度差异显

示, 两组间内生细菌在 24 个功能性状上存在显著差异, 图 6 展示了其中 21 个特定功能。两组均有各自的优势功能: 在+AMF 组中细胞生长与死亡、异种生物降解与代谢、氨基酸代谢及脂质代谢等多个 KEGG 通路二级水平功能的丰度显著高于-AMF 组( $P<0.05$ ), 细胞生长与死亡通路激活可清除冗余菌株, 优化群落结构; 异种生物降解与代谢通路增强有助于降解贫瘠土壤中的难溶性有机物, 减少毒素积累; 氨基酸与脂质代谢通路强化可协同 AMF 提升氮磷利用效率, 支撑植物生长; 而碳水化合物代谢、聚糖生物合成与代谢、信号转导及核苷酸代谢的丰度在-AMF 组中显著更高( $P<0.05$ ), 这主要是由于缺乏 AMF 时细菌需通过竞争土壤中有限的碳水化合物维

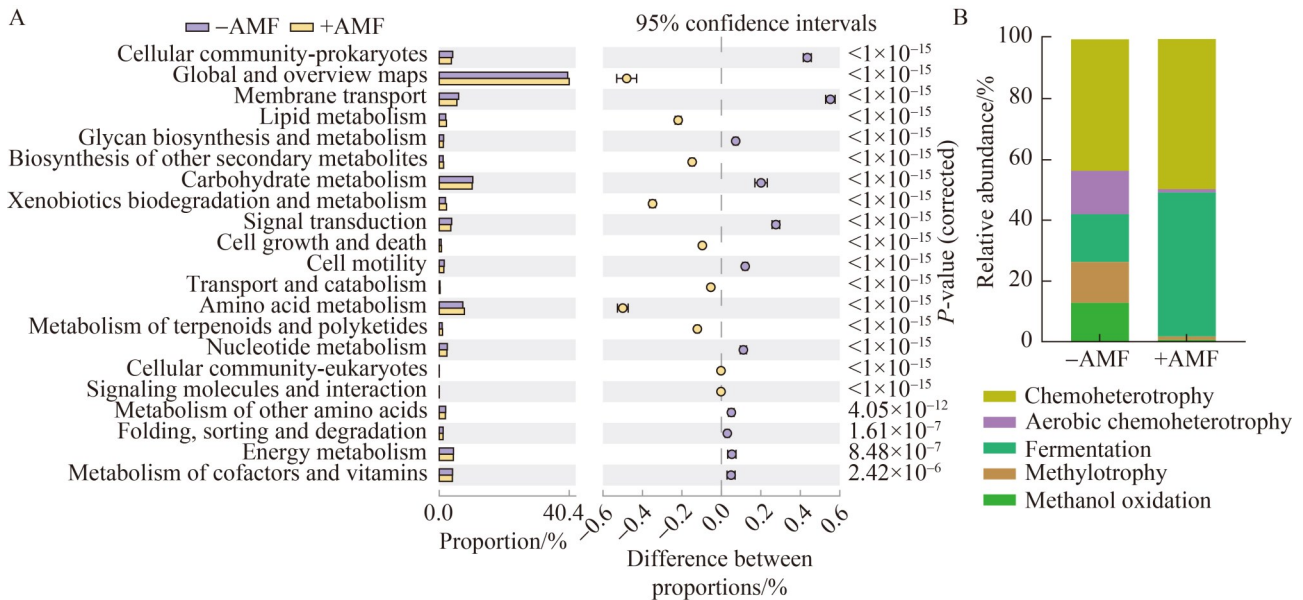


图6 烟草根系内生细菌功能预测

Figure 6 Functional prediction of endophytic bacteria in tobacco roots. A: Functional prediction of endophytic bacteria in tobacco roots using PICRUSt2 (at KEGG level 2); B: Functional prediction of endophytic bacteria in tobacco roots using FAPROTAX [The error bars in the figure represent the standard deviations of repeated samples, and the dots indicate 95% confidence intervals; The left area shows the average proportion (%) of different functions of endophytic bacteria in each group, the middle area reflects the average proportion difference (%) of corresponding functions between groups, and the values on the right are P-values calculated by Welch's *t*-test, which are used to determine the statistical significance of functional differences between groups].

持生长，导致相关代谢通路富集(图 6A)。FAPROTAX 功能预测显示，在-AMF 的处理组中微生物功能组成相对均衡：化能异养(chemoheterotrophy)为优势功能类群，相对丰度占比达 43.3%；其次为发酵(fermentation, 15.7%)、好氧化能异养(aerobic\_chemoheterotrophy, 14.2%)，以及甲基营养相关功能[甲醇氧化(methanol oxidation)、甲基营养(methylotrophy), 13.4%]。+AMF 组中根际微生物的功能代谢格局发生显著重构：化能异养与发酵功能的相对丰度大幅升高，二者合计占比超过 96.0% (分别为 49.4%、47.2%)，成为绝对优势功能类群；与之对应，甲醇氧化、甲基营养及好氧化能异养的相对丰度显著降低(图 6B)。

## 2.6 土壤酶活性特性与内生细菌网络结构的关系

采用结构方程模型对内生细菌与土壤酶活性特征对烟草根系的影响进行最优拟合(SEM,  $\chi^2=16.199$ ,  $df=9$ ,  $P=0.063$ )。结果显示，细菌群落的多样性与丰富度是构建网络结构最为关键的因素，表现出极强的直接正向效应，其标准化路径系数分别达 0.829 和 0.608，进一步的标准化总效应分析确认，细菌多样性是驱动网络结构形成的主导因子。与此同时，过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)对细菌网络结构存在直接影响，效应量分别为 0.261 和 0.162，表明抗氧化能力为细菌网络的稳定性提供了有利的微环境。然而，通过 Shannon 指数衡量的细菌均匀度对细菌网络结构呈负向影响(效应量=-0.198) (图 7)。

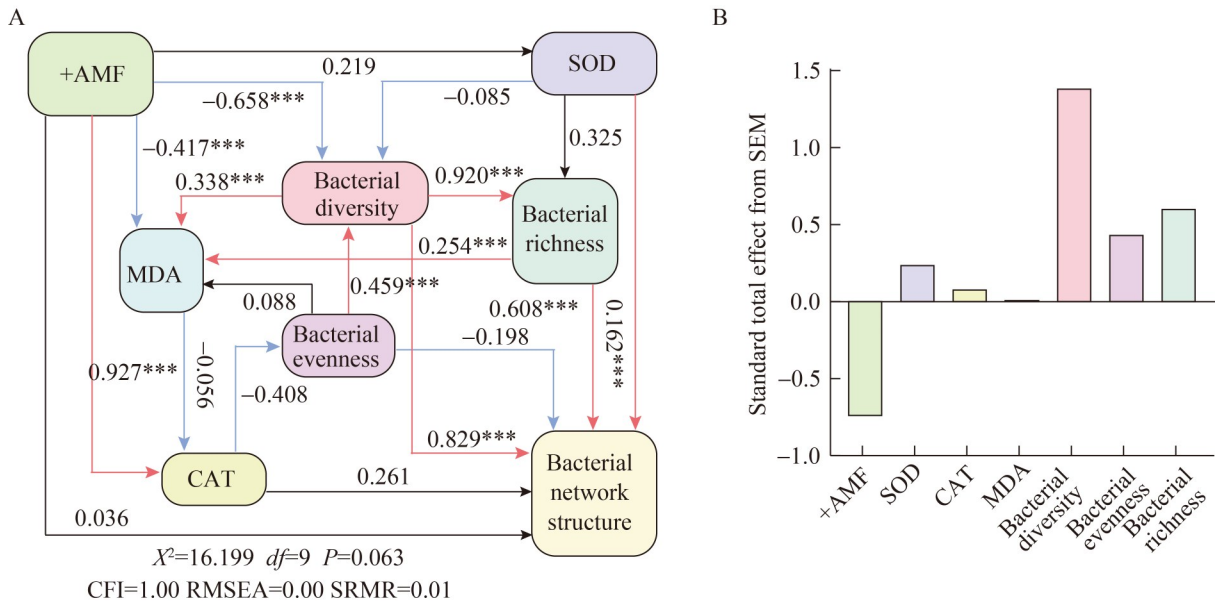


图7 烟草根系土壤酶活性特征与内生细菌网络结构的关系

Figure 7 Relationships between soil enzyme activity properties and endophytic bacterial network structure in tobacco roots. A: Structural equation model (Boxes indicate measured variables, while single-head arrows mean directional relationships. The number on the side of the arrows represents the standardized path coefficient, revealing the interactive strength of two factors. Coefficients for significant positive and negative paths are shown with red and blue lines, respectively. Black thin lines indicate a non-significant effect. \*\*\* indicate  $P<0.001$ ); B: The height of the bar chart indicates the degree of the standardized total effects. SOD: Superoxide dismutase; CAT: Catalase; MDA: Malondialdehyde.

## 3 讨论

### 3.1 AMF 对烟草农艺性状的影响

AMF 是调控植物生长发育的关键微生物因子。本研究表明, 在贫瘠土壤中接种 AMF, 烟草地上部鲜重、根鲜重和株高均有所提升, 且 AMF 在烟草根系中保持高定殖率(图 1)。AMF 与宿主植物共生后, 菌丝网络可作为根系的延伸, 有效扩展更大范围的土壤体积, 尤其能增强对难溶性磷的活化与吸收, 同时提升植物的抗逆能力, 促进植物在贫瘠土壤生境中生长<sup>[39-41]</sup>。此外, 本研究发现接种 AMF 后烟草根长显著提升, 这与前人研究结果相符: AMF 通过调节生长素(indole-3-acetic acid, IAA)、赤霉素(gibberellin A<sub>3</sub>, GA<sub>3</sub>)等植物内源激素的合成与运转, 刺激植物根系发育<sup>[42-43]</sup>。发达的根系系统与根外菌丝网络形成协同效应, 大幅增强植物从贫瘠土壤中捕获水分、磷及其他矿质元素的效率, 初步证实 AMF 在贫瘠土壤中对烟草生存能力具有增强作用。

### 3.2 AMF 重塑内生细菌群落结构与系统发育格局

除直接通过菌丝和根系网络促进植株生长外, AMF 对植物根部内生细菌群落结构的重塑是增强宿主耐贫瘠能力的另一核心途径。这并非简单改变菌群的种类, 而是通过构建更适配贫瘠环境的微生物协同网络。因此, 本研究重点对烟草内生菌进行检测, 结果显示接种 AMF 并未改变假单胞菌门(*Pseudomonadota*)与放线菌门(*Actinobacteriota*)的优势地位(图 2), 与此前的研究结论一致<sup>[44-45]</sup>。假单胞菌门与放线菌门作为植物内生菌群的核心菌群, 其稳定性是保障群落养分循环的前提, 可避免 AMF 介入导致群落功能失衡。进一步的 LEfSe 分析揭示, 在更精细的分类水平上, AMF 介入引发了内生细菌群落结构的重塑: AMF 特异性富集了  $\gamma$ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*)相关类群, 其中以肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)为主(图 4), 该科包含

肠杆菌属(*Enterobacter*)等典型植物根际促生细菌(PGPR)<sup>[46]</sup>, 可补充固氮、铁载体分泌等功能缺口, 共同构建高效的植物-微生物共生网络, 以优化烟草在贫瘠土壤中对养分的利用<sup>[47-48]</sup>。相反, 对照组则更多富集  $\alpha$ -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*)下的根瘤菌目(*Rhizobiales*), 如根瘤菌科(*Rhizobiaceae*)类群, 这主要由于根瘤菌因无法形成有效根瘤而处于功能冗余状态<sup>[49-50]</sup>。已有研究表明, 菌根共生后根系会分泌酚类、黄酮类化合物及特定糖类, 这些信号物质可作为趋化因子, 引导特定有益细菌在根内定殖<sup>[51]</sup>。这种系统发育格局的转变暗示 AMF 并非简单改变内生菌数量, 而是选择性招募与菌根共生体系功能互补的细菌类群, 同时可能抑制非菌根条件下竞争优势强, 但不利于共生体系建立的类群。

### 3.3 AMF 驱动内生细菌形成互作网络

一般认为, 健康的土壤微生物多样性越高, 其抗扰动性也越强, 而本研究中  $\alpha$  多样性结果显示, 接种 AMF 后内生细菌群落的丰富度与多样性均显著降低(图 3)。该结果初步呈现的趋势暗示内生菌群存在潜在负面效应, 但根据群落功能互补性与胁迫冗余权衡理论: 环境胁迫越强, 功能专一、互作积极的互补性越重要, 这类群落的生态效率通常高于功能冗余的群落<sup>[52]</sup>, 因此在贫瘠环境中更倾向于筛选特异性功能菌群, 从而导致微生物多样性降低; 胁迫较弱时冗余则更易成为群落的常见状态, 形成更多的资源消耗(如对照中的根瘤菌科)<sup>[53]</sup>。因此, 本研究中烟草处于贫瘠土壤生境, 而 AMF 的接种直接促成这一群落的形成, 该结论也与上述理论相呼应。

此外, 共现网络分析进一步验证了这一结论: +AMF 组网络规模(节点数、连接数)小于对照组, 但其正/负连接数比值(P/N)显著更高(图 5), 这表明 AMF 剔除了根部内生群落中的冗余或竞争性物种(如 3.2 节中根瘤菌目), 同时保留并强化正向互作(即协同关系)的物种。这种以合

作为核心的生态关系,更有利于群落功能的稳定实施与资源高效利用<sup>[54]</sup>,该协同关系对植物应对养分匮乏的贫瘠土壤至关重要。网络分析显示,接种 AMF 后一株隶属于类固醇杆菌属(*Steroidobacter*)的 ASV149 被鉴定为核心关键类群,而 ASV149 的富集是 AMF 共生后定性选择的结果,因为 AMF 与植物建立共生后会向土壤中分泌球囊霉素相关土壤蛋白(glomalin-related soil protein, GRSP),这些物质可被 *Steroidobacter* 降解利用,同时 *Steroidobacter* 可通过反硝化作用调节氮素形态,调控根际  $\text{NO}_3^-$  浓度,避免高  $\text{NO}_3^-$  对 AMF 侵染的抑制,形成协同互作网络<sup>[55-56]</sup>。据此推测,ASV149 可能在 AMF 构建的生态系统中扮演代谢枢纽角色,与肠杆菌科 PGPR 等核心菌群互补优化氮素循环,进而维系整个网络的稳定性与功能完整性。

### 3.4 功能预测揭示 AMF 激活多重代谢通路增强植物适应性

众所周知,内生细菌群落结构的改变通常会驱动其潜在生态功能的动态变化,将内生细菌群落结构与潜在生态功能进行关联,可为解析 AMF 通过调控内生细菌群落以促进植物生长的内在机制提供关键切入点,功能预测结果表明,接种 AMF 显著提升了以下关键代谢通路的活性:细胞生长与死亡通路:该通路活性增强,不仅反映出内生细菌群落整体代谢活性的提升,更体现群落内程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)的精准激活,PCD 可选择性清除群落中功能冗余或竞争性菌株(如对照组富集的根本瘤菌目),最终形成与内生细菌群落结构重组(如优势种群更替、互作网络重构)高度吻合的功能表征<sup>[57-58]</sup>;异种生物降解与代谢通路:贫瘠土壤中常积累芳香族化合物、长链烃等难降解有机物,该通路活性增强表明,AMF 可通过根际碳分配或菌丝分泌物定向富集含降解功能基因(如加氧酶、酯酶)的内生菌群,最终提升群落对复杂有机物的降解能力,减少有毒物质积累对

烟草的胁迫<sup>[59]</sup>;氨基酸代谢与脂质代谢通路:该通路是氮素同化、转运与蛋白质合成的核心,其活性增强的关键意义在于与 AMF 的氮转运功能形成协同,AMF 共生体系中氮素可以精氨酸等氨基酸形式在菌丝中实现高效运输<sup>[60-61]</sup>,而内生细菌的氨基酸代谢增强,可将土壤中难以直接利用的有机氮(如多肽、氨基酸聚合物)分解为游离氨基酸,为 AMF 的氨基酸转运提供底物,进而优化“土壤有机氮→细菌分解→AMF 转运→植物吸收”的氮素传递链,大幅提升氮素利用效率;脂质代谢通路:该通路与细胞膜合成及能量存储密切相关,活跃的脂质代谢可为内生细菌增殖提供膜结构前体(如磷脂酸、二酰甘油),同时为 AMF 与细菌的互作提供能量<sup>[62-63]</sup>;此外,从生态学功能分析显示:化能异养是微生物利用有机碳底物的核心代谢途径<sup>[64]</sup>,发酵过程参与土壤有机物质的分解与活性养分(如小分子有机酸、还原态氮)的释放<sup>[65]</sup>;二者丰度的强化,提示 AMF 接种通过菌丝分泌有机碳源(如球囊霉素相关蛋白)改变根际碳库组成,促进异养型微生物的代谢活性,进而加速根际养分周转。甲基营养类功能的受抑可能与 AMF 对甲基营养型微生物的竞争排斥效应有关,即 AMF 占据根际生态位后限制了该类微生物的资源获取。上述代谢通路的协同激活,从养分活化、毒素降解、能量供给多维度,系统阐释了 AMF 如何通过调控“植物-内生细菌微生物组”提升烟草对贫瘠逆境的适应能力。

### 3.5 微生物群落结构与土壤酶活性特征的关系

结构方程模型进一步量化了各关键因子对烟草根系细菌网络结构的调控作用,不仅证实了细菌多样性与丰富度是构建网络结构的关键驱动力,还揭示了 AMF 接种可能通过调控植物生理,进而影响微生物群落的协同机制。具体而言,CAT 与 SOD 的活性对细菌网络结构存在显著正向效应,这意味着 AMF 接种可能通过激

活宿主的抗氧化系统,提升根际微环境的稳定性,从而为构建更稳定的细菌互作网络提供了有利条件,这与前人在干旱胁迫环境中的研究结论一致,即AMF可通过诱导植物提高抗氧化酶(如CAT)活性、促进脯氨酸积累,有效抑制脂质过氧化反应,从而缓解环境胁迫对植物生长的抑制,最终在提升植株生物量与产量中发挥核心作用<sup>[66]</sup>。此外,MDA与+AMF处理呈显著负相关。已有研究证实,接种AMF可通过促进脯氨酸和可溶性糖积累、提升抗氧化酶(CAT、SOD)活性,维持膜完整性并降低MDA含量,从而保护光合机构免受水分亏缺诱导的氧化胁迫,促进叶绿素合成,最终增加果实生长量和产量<sup>[67]</sup>。值得注意的是,模型分析中细菌均匀度对网络结构表现出负向影响的趋势,虽然这一路径在统计上不显著,但其方向性提供了一个有趣的启示:它可能暗示着过高的均匀度不利于核心类群发挥作用,从而可能削弱物种间互作网络的紧密性。然而这一效应有待后续在更大样本量下进一步验证。

本研究仍存在以下局限性:(1)为排除背景微生物干扰,本研究采用灭菌土壤开展实验,与自然农田土壤条件存在差异,可能在一定程度上夸大AMF的调控效应,后续需在非灭菌天然贫瘠土壤开展验证实验,结合关键菌根效应生理指标(如总磷、总氮),明确结果在自然环境中的适用性和普遍性;(2)本研究中对微生物群落代谢功能预测基于PICRUST2,虽具参考价值,但仍是推断性结论,仍需通过宏基因组、宏转录组和代谢组学等多组学技术进行直接验证;(3)结构方程模型(图7)揭示了土壤酶活性(如CAT、SOD)、细菌多样性与网络结构间的复杂关联,揭示植物氧化应激状态与微生物群落构建过程存在潜在关联,其内在因果机制仍需深入探究。结合本研究结果,未来可开展:(1)针对ASV149这一核心关键类群的纯培养,验证其在促进植物生长、降解特定物质及与AMF互作中的具体功能;(2)复合菌剂的开发:通过

AMF菌株与筛选出的关键内生细菌进行联合接种,探究复合菌剂在促进植物生长及改良贫瘠土壤中的叠加效应或协同作用,为开发高效复合微生物菌剂提供理论支撑;(3)田间试验验证:在自然非灭菌贫瘠土壤中开展长期田间试验,评估复合菌剂对烟草产量及土壤肥力的影响。

## 4 结论

在贫瘠土壤中AMF接种通过定向招募有益内生细菌,构建以功能协同为核心的互作网络,从而增强了烟草根部生态系统的稳定性。同时,AMF的接种激活了与养分活化、能量代谢及胁迫适应相关的代谢通路,使其发展为高效协同、作用互补的菌-根互作体系,改善了烟草的生长状况。本研究深化了对“植物-AMF-内生细菌”三者互作机制的理解,为利用AMF改良并高效利用贫瘠土壤提供了理论依据,具备AMF-细菌复合菌剂的开发潜力。

### 作者贡献声明

丁明碧:撰写文章、数据收集与监管、软件程序、完成呈现;曹高雪:数据收集与监管、执行调研;张晴:数据分析、软件程序;孙丽雪、汪伯晏、程齐修:数据收集与监管;陈金:提出概念、获取基金、方法论、项目管理、提供资源;李晓玉:获取基金、方法论、项目管理、提供资源、监督管理、验证。

### 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] Gomiero T. Soil degradation, land scarcity and food security: reviewing a complex challenge[J]. *Sustainability*, 2016, 8(3): 281.
- [2] Li YN, Wang J. Research progress of soil impoverishment[C]. *E3S Web of Conferences*, 2022, 352: 03020.
- [3] Li J, Yang H, Zhou F, Zhang XC, Luo JF, Li Y, Lindsey S, Shi YL, He HB, Zhang XD. Effects of maize residue

- return rate on nitrogen transformations and gaseous losses in an arable soil[J]. *Agricultural Water Management*, 2019, 211: 132-141.
- [4] Fu HR, Chen H, Ma ZB, Liang GP, Chadwick DR, Jones DL, Wanek W, Wu LH, Ma QX. Fungal necromass carbon dominates global soil organic carbon storage[J]. *Global Change Biology*, 2025, 31(8): e70413.
- [5] Xue SQ, Li XY, Huang DL, Zhang DB, Gao YJ, Wang XD. Green manure enhances soil organic carbon sequestration while increasing the risk of soil inorganic carbon loss in calcareous soils[J]. *Geoderma*, 2025, 461: 117467.
- [6] Umar M, Kassim KA, Ping Chiet KT. Biological process of soil improvement in civil engineering: a review[J]. *Journal of Rock Mechanics and Geotechnical Engineering*, 2016, 8(5): 767-774.
- [7] DeJong JT, Mortensen BM, Martinez BC, Nelson DC. Bio-mediated soil improvement[J]. *Ecological Engineering*, 2010, 36(2): 197-210.
- [8] Achal V, Mukherjee A, Basu PC, Reddy MS. Lactose mother liquor as an alternative nutrient source for microbial concrete production by *Sporosarcina pasteurii*[J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2009, 36(3): 433-438.
- [9] Zaman F, Hassan MU, Ali Khattak W, Ali A, Awad MF, Chen FS. The pivotal role of arbuscular mycorrhizal fungi in enhancing plant biomass and nutrient availability under drought stress conditions: a global meta-analysis[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 955: 176960.
- [10] Dalla Costa M, Rech TD, Primieri S, Pigozzi BG, Werner SS, Stürmer SL. Inoculation with isolates of arbuscular mycorrhizal fungi influences growth, nutrient use efficiency and gas exchange traits in micropropagated apple rootstock 'Marubakaido' [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2021, 145(1): 89-99.
- [11] Xia ZC, He Y, Korpelainen H, Niinemets Ü, Li CY. Allelochemicals and soil microorganisms jointly mediate sex-specific belowground interactions in dioecious *Populus cathayana*[J]. *New Phytologist*, 2023, 240(4): 1519-1533.
- [12] Willis A, Rodrigues BF, Harris PJC. The ecology of arbuscular mycorrhizal fungi[J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2013, 32(1): 1-20.
- [13] Hallett PD, Feeney DS, Bengough AG, Rillig MC, Scrimgeour CM, Young IM. Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport[J]. *Plant and Soil*, 2009, 314(1): 183-196.
- [14] Cameron DD. Arbuscular mycorrhizal fungi as (agro) ecosystem engineers[J]. *Plant and Soil*, 2010, 333(1): 1-5.
- [15] Fan XY, Ge AH, Qi SS, Guan YF, Wang R, Yu N, Wang ET. Root exudates and microbial metabolites: signals and nutrients in plant-microbe interactions[J]. *Science China Life Sciences*, 2025, 68(8): 2290-2302.
- [16] Wang BY, Xiao QC, Geng XW, Lin KQ, Li ZS, Li YY, Chen J, Li XY. Arbuscular mycorrhizal fungi alter rhizosphere bacterial diversity, network stability and function of lettuce in barren soil[J]. *Scientia Horticulturae*, 2024, 323: 112533.
- [17] Glick BR. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications[J]. *Scientifica*, 2012, 2012(1): 963401.
- [18] Zhang XX, Ma YN, Wang X, Liao KJ, He SW, Zhao X, Guo HB, Zhao DF, Wei HL. Dynamics of rice microbiomes reveal core vertically transmitted seed endophytes[J]. *Microbiome*, 2022, 10(1): 216.
- [19] Chen PL, Yu QY, Wang C, Montoya L, West PT, Xu L, Varoquaux N, Cole B, Hixson KK, Kim YM, Liu L, Zhang BD, Zhang J, Li BY, Purdum E, Vogel J, Jansson C, Huttmacher RB, Dahlberg JA, Coleman-Derr D, Lemaux PG, Taylor JW, Gao C. Holo-omics disentangle drought response and biotic interactions among plant, endophyte and pathogen[J]. *New Phytologist*, 2025, 246(6): 2702-2717.
- [20] Chen J, Xu DL, Liu HJ, Chao LM, Zheng YX, Qu HT, Li FS, Mo L, Wang BJ, Cheng BJ, Li XY, Bao YY. Quaternary volcanic activities influence core soil microorganisms in a typical steppe[J]. *Catena*, 2021, 207: 105609.
- [21] 史琼彬, 赵秀兰, 常同举, 卢吉文. 耕作方式对紫色水稻土团聚体中有有机质及重金属的分布特征影响[J]. *环境科学*, 2016, 37(5): 1923-1930.
- Shi QB, Zhao XL, Chang TJ, Lu JW. Effects of tillage on distribution of heavy metals and organic matter within purple paddy soil aggregates[J]. *Environmental Science*, 2016, 37(5): 1923-1930 (in Chinese).
- [22] 李丽娟, 李昌晓, 陈春桦, 杨治华, 陈雪梅. 三峡消落带适生植物根系活动调控土壤养分与细菌群落多样性特征[J]. *环境科学*, 2020, 41(6): 2898-2907.
- Li LJ, Li CX, Chen CH, Yang ZH, Chen XM. Root activities of re-vegetated plant species regulate soil nutrients and bacterial diversity in the riparian zone of the Three Gorges Reservoir[J]. *Environmental Science*, 2020, 41(6): 2898-2907 (in Chinese).
- [23] Błaszowski J, Sánchez-García M, Niezgoda P, Zubek S, Fernández F, Vila A, Al-Yahya' ei MN, Symanczik S, Milczarski P, Malinowski R, Cabello M, Goto BT, Casieri L, Malicka M, Bierza W, Magurno F. A new order, Entrophosporales, and three new *Entrophospora* species in Glomeromycota[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 962856.
- [24] Koske RE, Gemma JN. A modified procedure for staining roots to detect VA mycorrhizas[J]. *Mycological Research*, 1989, 92(4): 486-488.
- [25] Sharif Usman S, Dahiru M, Abdullahi B, Abdullahi SB, Maigari UM, Ibrahim UBAA. Status of malondialdehyde, catalase and superoxide dismutase levels/activities in schoolchildren with iron deficiency and iron-deficiency *Anemia* of Kashere and its environs in Gombe State, *Nigeria*[J]. *Heliyon*, 2019, 5(8): e02214.
- [26] Zhang J, Chen R, Yu ZY, Xue LL. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity assay protocols for *Caenorhabditis elegans*[J]. *Bio-protocol*, 2017, 7(16): e2505.
- [27] Whalley WR, Riseley B, Leeds-Harrison PB, Bird NRA, Leech PK, Adderley WP. Structural differences between bulk and rhizosphere soil[J]. *European Journal of Soil Science*, 2005, 56(3): 353-360.
- [28] Shi JY, Yuan XF, Lin HR, Yang YQ, Li ZY. Differences in soil properties and bacterial communities between the

- rhizosphere and bulk soil and among different production areas of the medicinal plant *Fritillaria thunbergii*[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2011, 12(6): 3770-3785.
- [29] Zhang ZC, Shi ZQ, Yang JY, Hao BH, Hao LJ, Diao FW, Wang LX, Bao ZH, Guo W. A new strategy for evaluating the improvement effectiveness of degraded soil based on the synergy and diversity of microbial ecological function[J]. Ecological Indicators, 2021, 120: 106917.
- [30] Gu SY, Wu S, Guan YP, Zhai C, Zhang ZH, Bello A, Guo XJ, Yang W. Arbuscular mycorrhizal fungal community was affected by tillage practices rather than residue management in black soil of northeast China[J]. Soil and Tillage Research, 2020, 198: 104552.
- [31] He DX, Singh SK, Peng L, Kaushal R, Vilchez JI, Shao CY, Wu XX, Zheng S, Morcillo RJL, Paré PW, Zhang HM. Flavonoid-attracted *Aeromonas* sp. from the *Arabidopsis* root microbiome enhances plant dehydration resistance[J]. The ISME Journal, 2022, 16(11): 2622-2632.
- [32] Xin YF, Chen C, Zhong YH, Bu XY, Huang S, Tahir M, Du ZC, Liu WG, Yang WY, Li JY, Wu YS, Zhang ZY, Lian JL, Xiao QY, Yan YH. Effect of storage time on the silage quality and microbial community of mixed maize and faba bean in the Qinghai-Xizang Plateau[J]. Frontiers in Microbiology, 2023, 13: 1090401.
- [33] Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, Gerken J, Schweer T, Yarza P, Peplies J, Glöckner FO. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools[J]. Nucleic Acids Research, 2013, 41(D1): D590-D596.
- [34] Silva DF, Mazza Rodrigues JL, Erikson C, Silva AMM, Huang LB, Araujo VLVP, Matteoli FP, Mendes LW, Araujo ASF, Pereira APA, Melo VMM, Cardoso EJBN. Grazing exclusion-induced changes in soil fungal communities in a highly desertified Brazilian dryland[J]. Microbiological Research, 2024, 285: 127763.
- [35] Chen J, Xu DL, Zheng YX, Chao LM, Liu HJ, Qu HT, Wang BJ, Li FS, Guo YQ, Bao YY. Distinct effects of volcanic cone types on soil microbiomes: evidence from cinder cone and spatter cone[J]. Catena, 2021, 200: 105180.
- [36] Koner S, Chen JS, Hsu BM, Tan CW, Fan CW, Chen TH, Hussain B, Nagarajan V. Assessment of carbon substrate catabolism pattern and functional metabolic pathway for microbiota of limestone caves[J]. Microorganisms, 2021, 9(8): 1789.
- [37] Parks DH, Beiko RG. Identifying biologically relevant differences between metagenomic communities[J]. Bioinformatics, 2010, 26(6): 715-721.
- [38] Chen J, Zheng YX, Guo YQ, Li FS, Xu DL, Chao LM, Qu HT, Wang BJ, Ma XD, Wang SY, Bao YY. Differences in microbial communities from Quaternary volcanic soils at different stages of development: Evidence from Late Pleistocene and Holocene volcanoes[J]. Catena, 2021, 201: 105211.
- [39] Zhang Q, Chen J, Li YY, Huang T, Xie KL, Zhou J, Li XY. Effects of interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria on the growth of *Lotus corniculatus* L. from the perspective of regulating rhizosphere fungal community[J]. Pedosphere, 2024, 34(2): 411-423.
- [40] Smith SE, Smith FA. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales[J]. Annual Review of Plant Biology, 2011, 62: 227-250.
- [41] Busso MA, Busso M. Arbuscular mycorrhizal fungi and common mycorrhizal networks benefit plants through morphological, physiological and productive traits and soil quality[J]. Lilloa, 2022: 301-317.
- [42] 王浩, 孙丽英. 植物激素调控丛枝菌根发育的作用机制研究进展[J]. 微生物学通报, 2022, 49(10): 4448-4466.
- Wang H, Sun LY. Mechanisms of phytohormones in regulating arbuscular mycorrhiza development[J]. Microbiology China, 2022, 49(10): 4448-4466 (in Chinese).
- [43] Liu CY, Zhang F, Zhang DJ, Srivastava A, Wu QS, Zou YN. Mycorrhiza stimulates root-hair growth and IAA synthesis and transport in trifoliate orange under drought stress[J]. Scientific Reports, 2018, 8: 1978.
- [44] Ujvári G, Grassi A, Avio L, Pagliarani I, Cristani C, Giovannetti M, Agnolucci M, Turrini A. Root endophytic bacterial communities are shaped by the specific microbiota associated to mycorrhizal symbionts[J]. Plant and Soil, 2025, 508(1): 275-292.
- [45] Han ZX, Zhang ZH, Li YY, Wang BY, Xiao QC, Li ZS, Geng XW, Lin KQ, Huang T, Li XY, Chen J. Effect of Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) inoculation on endophytic bacteria of lettuce[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2023, 126: 102036.
- [46] Basu A, Prasad P, Das SN, Kalam S, Sayyed RZ, Reddy MS, Enshasy HE. Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) as green bioinoculants: recent developments, constraints, and prospects[J]. Sustainability, 2021, 13(3): 1140.
- [47] Jiang FY, Zhang L, Zhou JC, George TS, Feng G. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance mineralisation of organic phosphorus by carrying bacteria along their extraradical hyphae[J]. New Phytologist, 2021, 230(1): 304-315.
- [48] Sagar A, Rathore P, Ramteke PW, Ramakrishna W, Reddy MS, Pecoraro L. Plant growth promoting rhizobacteria, arbuscular mycorrhizal fungi and their synergistic interactions to counteract the negative effects of saline soil on agriculture: key macromolecules and mechanisms[J]. Microorganisms, 2021, 9(7): 1491.
- [49] Garrido-Oter R, Nakano RT, Dombrowski N, Ma KW, McHardy AC, Schulze-Lefert P. Modular traits of the rhizobiales root microbiota and their evolutionary relationship with symbiotic rhizobia[J]. Cell Host & Microbe, 2018, 24(1): 155-167.e5.
- [50] Santi C, Bogusz D, Franche C. Biological nitrogen fixation in non-legume plants[J]. Annals of Botany, 2013, 111(5): 743-767.
- [51] Keren G, Yehezkel G, Satish L, Adamov Z, Barak Z, Ben-Shabat S, Kagan-Zur V, Sitrit Y. Root-secreted nucleosides: signaling chemoattractants of rhizosphere bacteria[J]. Frontiers in Plant Science, 2024, 15: 1388384.
- [52] Li WT, Kuzyakov Y, Zheng YL, Li PF, Li GL, Liu M,

- Alharbi HA, Li ZP. Depth effects on bacterial community assembly processes in paddy soils[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2022, 165: 108517.
- [53] Peterson G, Allen CR, Holling CS. Ecological resilience, biodiversity, and scale[J]. *Ecosystems*, 1998, 1(1): 6-18.
- [54] Oña L, Kost C. Cooperation increases robustness to ecological disturbance in microbial cross-feeding networks[J]. *Ecology Letters*, 2022, 25(6): 1410-1420.
- [55] Wang GW, Jin ZX, George TS, Feng G, Zhang L. Arbuscular mycorrhizal fungi enhance plant phosphorus uptake through stimulating hyphosphere soil microbiome functional profiles for phosphorus turnover[J]. *New Phytologist*, 2023, 238(6): 2578-2593.
- [56] Gao YJ, Tariq A, Zeng FJ, Sardans J, Graciano C, Li XY, Wang WQ, Peñuelas J. Soil microbial functional profiles of P-cycling reveal drought-induced constraints on P-transformation in a hyper-arid desert ecosystem[J]. *Science of the Total Environment*, 2024, 925: 171767.
- [57] Thomas VC, Sadykov MR, Chaudhari SS, Jones J, Endres JL, Widhelm TJ, Ahn JS, Jawa RS, Zimmerman MC, BAYLES KW. A central role for carbon-overflow pathways in the modulation of bacterial cell death[J]. *PLoS Pathogens*, 2014, 10(6): e1004205.
- [58] Lee H, Lee DG. Programmed cell death in bacterial community: mechanisms of action, causes and consequences[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2019, 29(7): 1014-1021.
- [59] Li X, Kang XF, Zou JZ, Yin JH, Wang YC, Li A, Ma XD. Allochthonous arbuscular mycorrhizal fungi promote *Salix viminalis* L.-mediated phytoremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons characterized by increasing the release of organic acids and enzymes in soils[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2023, 249: 114461.
- [60] Govindarajulu M, Pfeffer PE, Jin HR, Abubaker J, Douds DD, Allen JW, Bücking H, Lammers PJ, Shachar-Hill Y. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. *Nature*, 2005, 435(7043): 819-823.
- [61] Jin H, Pfeffer PE, Douds DD, Piotrowski E, Lammers PJ, Shachar-Hill Y. The uptake, metabolism, transport and transfer of nitrogen in an arbuscular mycorrhizal symbiosis[J]. *New Phytologist*, 2005, 168(3): 687-696.
- [62] Gaspar ML, Hofbauer HF, Kohlwein SD, Henry SA. Coordination of storage lipid synthesis and membrane iogenesis evidence for cross-talk between triacylglycerol metabolism and phosphatidylinositol synthesis[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 2011, 286(3): 1696-1708.
- [63] Zhang ZC, Zhang Q, Guan SH, Shi HL. Quantitative connection between cell size and growth rate by phospholipid metabolism[J]. *Cells*, 2020, 9(2): 391.
- [64] Wang BR, An SS, Liang C, Liu Y, Kuzyakov Y. Microbial necromass as the source of soil organic carbon in global ecosystems[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 162: 108422.
- [65] Hu XJ, Liu JJ, Liang AZ, Gu HD, Liu ZX, Jin J, Wang GH. Soil metagenomics reveals reduced tillage improves soil functional profiles of carbon, nitrogen, and phosphorus cycling in bulk and rhizosphere soils[J]. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 2025, 379: 109371.
- [66] Sheteiwy MS, Ali DFI, Xiong YC, Brestic M, Skalicky M, Hamoud YA, Ulhassan Z, Shaghaleh H, Abdelgawad H, Farooq M, Sharma A, El-Sawah AM. Physiological and biochemical responses of soybean plants inoculated with Arbuscular mycorrhizal fungi and *Bradyrhizobium* under drought stress[J]. *BMC Plant Biology*, 2021, 21(1): 195.
- [67] Dolatmand-Shahri N, Ali Mohammad Modarres-Sanavy S, Mirjalili MH, Mokhtassi-Bidgoli A. Study the yield and quality of bitter melon fruit (*Momordica charantia*) in inoculation with two species of mycorrhizal fungi and phosphorus fertilizer under different irrigation regimes[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2024, 208: 108479.