

玉米大豆间作模式对玉米根际土壤微生物群落特征、玉米产量及病害的影响*

代真林¹, 汪娅婷¹, 姚秀英¹, 张晋豪¹, 王彦芳¹, 姚 博¹, 魏兰芳², 姬广海^{1**}

(1. 云南农业大学, 农业生物多样性与病虫害控制教育部重点实验室, 云南 昆明 650201;

2. 云南农业大学 农科基础实验教学中心, 云南 昆明 650201)

摘要:【目的】研究云南玉米大豆间作模式对玉米根际微生物群落特征、玉米产量及病害的影响, 为玉米大豆间作模式的田间应用提供科学依据。【方法】采用单因素随机区组试验, 通过设置玉米大豆间作和玉米单作处理, 利用 Illumina Miseq 高通量测序技术分析间作玉米根际土壤微生物群落结构及其多样性, 并进行玉米产量、病害发生与根际微生物变化之间的相关性分析。【结果】间作玉米产量显著高于单作玉米产量 ($P<0.05$); 与单作相比, 间作后玉米锈病、玉米灰斑病、玉米小斑病和玉米大斑病的病情指数显著降低; 间作可提高玉米根际土壤微生物多样性指数 (真菌和细菌 Observed_species 指数、Chao1 指数和 Shannon 指数)。差异 OTUs 分析结果显示: 细菌中 276 个 OTUs 在玉米大豆间作中显著富集, 251 个 OTUs 在玉米单作中显著富集, 芽单孢菌属 (*Gemmatimonas*) 和溶杆菌属 (*Lysobacter*) 等菌属的数量在玉米大豆间作中显著升高, 伯克氏菌属 (*Burkholderia*) 和鞘脂菌属 (*Sphingobium*) 等菌属的数量显著降低; 真菌中 146 个 OTUs 在玉米大豆间作中显著富集, 141 个 OTUs 在玉米单作中显著富集, 被孢霉属 (*Mortierella*) 和壶菌属 (*Spizellomyces*) 等菌属丰度在玉米大豆间作中显著升高, 而镰刀菌属 (*Fusarium*) 和梭杆菌属 (*Monographella*) 等菌属丰度显著降低。功能注释结果显示: 玉米大豆间作能使玉米根际土壤中具有促进氮元素转化、有机物分解和改善土壤结构功能的有益微生物的丰度增加, 而注释到潜在致病菌有害微生物丰度降低。【结论】玉米大豆间作改变了玉米根际微生物的群落结构, 提高了细菌和真菌的多样性, 使根际土中有益微生物数量增加, 同时潜在致病菌等有害微生物数量降低, 提高了玉米的抗病能力, 增加了产量。

关键词: 玉米; 间作; 高通量测序; 根际微生物多样性; 病害控制

中图分类号: S 154.3; S 344.2

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2020) 05-0756-09

Effects of Maize/Soybean Intercropping on the Microbial Community Characteristics of Maize Rhizosphere Soil, Maize Yield and Diseases

DAI Zhenlin¹, WANG Yating¹, YAO Xiuying¹, ZHANG Jinghao¹, WANG Yanfang¹,

YAO Bo¹, WEI Lanfang², JI Guanghai¹

(1. Key Laboratory of Agriculture Biodiversity for Plant Disease Management under the Ministry of Education,

Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Agricultural Foundation Experiment Teaching Center,

Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

收稿日期: 2019-10-28

修回日期: 2020-06-13

网络首发时间: 2020-09-21 19:52:22

*基金项目: 国家重点研发计划项目 (2018YFD0200703, 2019YFD1002000); 云南省农业联合重点项目 [(2017FG001 (-005)]; 云南省重点研发 (农业领域) 计划项目 (2018BB016); 云南农业大学第十二届科技创新创业行动基金项目 (2019ZKY208)。

作者简介: 代真林 (1994—), 男, 云南曲靖人, 在读硕士研究生, 主要从事玉米病害生物防治研究。

E-mail: zhenlin.live@foxmail.com

**通信作者 Corresponding author: 姬广海 (1970—), 男, 河南睢县人, 博士, 教授, 主要从事植物病害生物防控研究。E-mail: jghai001@aliyun.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.s.20200919.2057.002.html>



Abstract: [Purpose] To investigate the effects of Yunnan maize/soybean intercropping model on the characteristics of maize-rhizosphere microbial community, maize yield and disease, in order to provide scientific basis for the field application of maize/soybean intercropping pattern. [Method] By single factor randomized block experiment, by setting the maize intercropping soybean and maize monoculture treatment, using the Illumina Miseq high-throughput sequencing technology analysis of intercropping maize rhizosphere soil microbial community structure and diversity, and maize yield, disease occurrence and change the correlation analysis between rhizosphere microorganisms.

[Result] The yield of intercropping maize was significantly higher than that of monocultural maize ($P < 0.05$). Compared with monoculture, the disease index of corn rust, corn gray leaf spot, corn southern leaf blight and corn northern leaf blight decreased significantly after intercropping. Intercropping can improve the microbial diversity index of maize rhizosphere soil (Observed_species index, Chao1 index and Shannon index of fungi and bacteria). Difference bacteria OTUs analysis results showed that 276 OTUs and 251 OTUs were significantly enriched in maize and soybean intercropping, while 251 OTUs were significantly enriched in single cropping. The number of bacteria genera such as *Gemmatimonas* and *Lysobacter* increased significantly in maize/soybean intercropping, while the number of bacteria genera such as *Burkholderia* and *Sphingobium* decreased significantly. 146 fungi OTUs were significantly enriched in maize and soybean intercropping, and 141 OTUs were significantly enriched in single maize cropping. The abundance of *Mortierella*, *Spizellomyces* and other fungi increased significantly in maize and soybean intercropping, while that of *Fusarium* and *Monographella* decreased significantly. Functional annotation results showed that soybean intercropping maize can make maize rhizosphere is promoting the transformation of nitrogen in the soil, organic matter decomposition and improve soil structure function of beneficial microbial abundance increased, and the annotation to the potential pathogenic bacteria abundance reduce harmful microorganisms. [Conclusion] The maize changed soybean intercropping maize rhizosphere microbial community structure, to improve the diversity of bacteria and fungi, increase the number of beneficial microorganisms in rhizosphere soil, at the same time to reduce the number of potential pathogenic bacteria and other harmful microbes, enhances the disease resistance of maize, increase the output.

Keywords: maize; intercropping; high-throughput sequencing; rhizosphere microorganisms; diversity control disease

植物根际作为植物生态系统与土壤生态系统相交叉形成的特殊区域^[1], 被认为是植物的第二基因组^[2]。在植物根际中含有众多种类的微生物, 如细菌中的固氮螺菌属 (*Azospirillum*)、根瘤菌属 (*Rhizobium*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 和真菌中的木霉菌属 (*Trichoderma*) 等, 已被证实对植物生长有显著的促进作用^[3]。此外, 部分微生物既可以通过养分竞争、拮抗作用和诱导系统抗性机制抑制土壤中病原菌而促进植物生长^[4], 也可以通过病原菌的累积而导致植株大量死亡^[5]。根际微生物群落结构以及多样性不仅受种植品种的影响, 不同的种植模

式和种植密度也会对其产生影响^[6]。根际微生物是植物根系与外界环境的直接参与者, 因此研究间作体系中根际有益微生物与植物根的相互作用对改良间作土壤结构、增加养分利用和提高抗病性等优势具有重要作用。

间套作种植模式在中国有悠久的历史, 适宜的间套作模式对缓解用地矛盾、增加土地产能、降低病虫害、维持土壤生态系统稳定性以及促进土地可持续利用具有重要作用。前人已报道利用玉米与魔芋间作^[7]、玉米与大豆或马铃薯间作^[8]可显著增加玉米产量、预防和控制病害发生。间套作模式能改变根际土壤细菌种群结构, 增加土

壤微生物多样性指数^[9-10]。宋亚娜等^[11]利用 PCR-DGGE 技术研究玉米与蚕豆、玉米与小麦间作对作物根际细菌群落结构的差异,结果显示:间作能够提高作物根际微生物多样性,改变根际细菌的结构组成。覃潇敏等^[12]利用 Biolog 技术研究了玉米马铃薯间作对根际微生物群落结构和功能多样性的影响,结果表明:间作处理改变了玉米和马铃薯根际微生物群落组成,提高了根际微生物群落功能多样性。涂勇等^[13]研究指出:烤烟与大豆带状套作可以显著增加根际土中细菌数量,同时可提高与土壤氮元素代谢相关的氨化细菌、硝酸细菌、亚硝酸细菌和自生固氮菌的数量,能降低主要土传病害的发生。目前,研究玉米大豆间作对根际微生物影响的主要方法是传统微生物分离和普通 PCR 技术等,尚未有利用高通量测序技术进行的研究报道。本研究基于高通量测序平台^[14],通过构建细菌 16S rDNA 和真菌 ITS1 基因文库^[15],研究玉米大豆间作系统中玉米病害、产量与玉米根际微生物群落变化之间关系,旨在探明多样性种植技术减轻病害发生和提高产量的作用机制,为玉米大豆间作模式的优化和推广提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试玉米品种为嘉佳荣 2 号,供试大豆品种为辽豆 29,均由曲靖市农技中心提供。

1.2 试验方法

1.2.1 小区设计

大田试验在云南省曲靖市沾益区进行单因素随机区组试验,设置玉米与大豆间作、玉米单作 2 个处理,每处理重复 3 次,共 6 个小区,每个小区长 20 m×宽 8 m。每个间作小区有 4 条玉米:大豆为 2:2 的间作带,玉米株距 50 cm、行距 50 cm,大豆株距 30 cm、行距 35 cm,玉米与大豆行距为 50 cm。每个单作小区有 16 行玉米,株距 30 cm、行距 40 cm。试验田四周设置 1 m 的保护行。试验于 2018 年 5 月 10 日播种,玉米每穴 2~3 粒,大豆 3~4 粒。播种前施复合肥 200 kg/hm² 和农家肥 1000 kg/hm² 作为基肥,播种后分别在苗期和喇叭期追肥 1 次,每次追肥施尿素 160 kg/hm²。

1.2.2 病害和农艺性状调查

在玉米灌浆期(9 月 5 日),每个小区随机调查 3 个点,每个点调查 15 株玉米并记录玉米锈病、大斑病、小斑病和灰斑病病害发生情况,病害分级标准参照文献[16],计算病情指数和防效。

病情指数(DI)= Σ (病级数值×各级病叶数)/(调查总叶数×病级最高级数值)×100;

相对防效(CE)=(对照病情指数-试验病情指数)/(对照病情指数)×100%。

玉米成熟后(10 月 15 日)调查玉米穗粗、穗长、籽粒数、百粒质量和小区产量等指标,调查方法参考文献[8]。

1.2.3 玉米根际土壤细菌和真菌多样性分析

已有研究表明:在玉米抽穗期微生物功能多样性的间作效应最明显^[9],故于 8 月 15 日分别采集间作和单作的玉米根际土。每个小区随机选取 5 株玉米,连根拔起,抖去根表松散的泥土,剪取玉米须根混匀后作为 1 个小区的样品,放入冰盒带回实验室;然后将样品放于通风处稍微晾干水分,轻微抖去根围土,再用毛笔尖端刷下根上约 1 mm 厚度的土即为根际土,每个小区取根际土 15~20 g,置于-80 ℃ 低温冰箱保存备用。

采用土壤 DNA 提取试剂盒(美国 MOBIO Laboratories, Inc)取 5 g 根际土提取土壤 DNA。用 1.2% 琼脂糖凝胶进行电泳,紫外分光光度计检测 DNA 的质量和浓度。当 DNA 的质量和浓度符合公司测序标准后,委托上海欧易生物医学科技有限公司测序。使用细菌 16S rDNA V3~V4 区引物(343F: 5'-TACGGRAGGCAGCAG-3'; 798R: 5'-AGGGTATCTAATCCT-3')鉴定玉米根际土壤细菌多样性,真菌 ITS 引物(ITS1F: 5'-CTTGGTC-ATTTAGAGGAAGTAA-3'; ITS2R: 5'-GCTGCG-TTCTTCATCGATGC-3')鉴定真菌多样性。

1.3 数据分析

1.3.1 测序数据处理

将测序得到的原始 FASTQ 文件使用 Trimmomatic^[17] 软件质控,过滤掉低质量或模糊的碱基,剔除长度小于 50 bp 的序列。然后使用 FLAS^[18] 双末端拼接,同时去除 Barcode 和引物序列,去除长度小于 200 bp 的序列,得到 clean tags 序列。最后使用 UCHIME^[19] 软件去除 clean tags 中的嵌合体,得到最终用于划分 OTU 的 valid tags。OTU 聚类 and 物种注释使用 QIIME^[20] 软件完

成。首先对得到的 valid tags 序列按照 97% 的相似度进行 OTU 分类, 并选取每个 OTU 中丰度最大的序列作为该 OTU 的代表序列, 然后采用 BLAST 算法对代表序列与数据库进行比对注释得到每个 OTU 的物种信息, 最后根据每个 OTU 在各个样本中的序列数, 以数据量最少的样本为标准进行均一化处理, 构建 OTU 在各个样本中的丰度矩阵文件, 并计算 α 多样性指数。 α 多样性指数也被称为生境内的多样性, 主要指局域均匀生境下的物种数量, 使用 Observed_species 指数、Chao1 指数和 Shannon 指数来表示。细菌和真菌 β 多样性以及差异 OTUs 分析使用 R 语言 (Version 3.5.5) 软件中的 vegan 包和 edgeR 包 (统计方法为 Wilcoxon 秩和检验) 完成。各样品根际微生物细菌的功能注释预测使用 FAPROTAX^[15] 在线数据库 (<http://www.zoology.ubc.ca/louca/FAPROTAX>) 进行, 真菌功能预测使用 FUNGuild^[21] 在线数据库 (<http://www.stbates.org/guilds/app.php>) 进行。

1.3.2 数据统计与分析

试验数据采用 SPSS 21 和 Excel 2010 软件分析。

2 结果与分析

2.1 玉米大豆间作对玉米产量指标的影响

由表 1 可知: 玉米大豆间作的玉米穗粗、穗

长、百粒质量、小区产量和产量均显著高于玉米单作 ($P<0.05$)。

表 1 玉米大豆间作对玉米产量的影响
Tab. 1 Effect of maize/soybean intercropping on the yield of maize

指标 index	MSI	MM
穗粗/cm ear diameter	19.9±0.32 a	17.88±0.9 b
穗长/cm ear length	25.93±1.32 a	22.04±2.07 b
籽粒数 number of seeds	942.33±73.04 a	713.83±80.68 a
百粒质量/g 100-grain weight	47.17±0.65 a	45.73±4.14 b
小区产量/(kg·plot ⁻¹) plot yield	224.35±20.14 a	190.31±50.23 b
产量/(kg·hm ⁻²) yield	14 022.22±560.91 a	11 894.44±790.09 b

注: MSI. 玉米大豆间作; MM. 玉米单作; 小区面积 160 m²。同行数据后不同小写字母表示差异显著 (LSD, $P<0.05$); 下同。
Note: MSI. maize and soybean intercropping; MM. maize monocropping; the area per plot was 160 m²; different lowercase letters after the same row data indicate significant difference (LSD, $P<0.05$); the same as below.

2.2 玉米大豆间作对玉米病害的影响

由表 2 可知: 玉米大豆间作的玉米锈病、灰斑病、小斑病和大斑病的病情指数均显著低于玉米单作 ($P<0.05$), 计算其防效可知: 玉米间作处理对玉米锈病、玉米灰斑病、玉米小斑病和玉米大斑病的病防效分别是 25.59%、23.07%、23.13% 和 19.67%。

表 2 玉米大豆间作对玉米病害的影响
Tab. 2 Effect of maize/soybean intercropping on maize diseases

病害 disease	病情指数 disease index		防效/% control efficacy
	MSI	MM	
玉米锈病 corn rust	23.85±2.37 b	32.05±5.46 a	25.59
玉米灰斑病 corn gray leaf spot	19.5±0.65 b	25.35±3.21 a	23.07
玉米小斑病 corn southern leaf blight	13.32±2.55 b	17.33±0.25 a	23.13
玉米大斑病 corn northern leaf blight	9.8±0.45 b	12.2±0.36 a	19.67

2.3 玉米大豆间作对玉米根际微生物 α 多样性的影响

由表 3 可知: 测序得到的细菌和真菌的有效序列分别为 11.07 万和 10.15 万条。按照序列相似性 $\geq 97\%$ 可分为 1 个 OTU 分类单元的原则, 分别得到细菌和真菌 OUT 分类单元 3331 和 847 个。玉米大豆间作的细菌和真菌序列利用率均低于玉米单作处理。玉米大豆间作的细菌 α 多

样性指数显著大于玉米单作, 表明玉米大豆间作能显著提高玉米根际土壤细菌多样性 ($P<0.05$), 且两者的平均 Shannon 指数均大于 7, 说明土壤细菌群落多样性水平较高。真菌的 α 多样性也有类似的规律。说明玉米与大豆间作后使得玉米根际土中细菌与真菌 α 多样性显著升高, 增加了根际微生物群落的种类。

表 3 玉米大豆间作对玉米根际微生物 α 多样性的影响

Tab. 3 Effect of maize/soybean intercropping on α diversity of maize rhizosphere microorganisms

多样性指标 diversity index	细菌 bacteria		真菌 fungi	
	MM	MSI	MM	MSI
有效 reads 数 valid reads	48 983 b	61 771 a	50 547 b	50 926 a
reads 利用率/% read utilization	72.7	71.35	96.19	96.03
OTU 总数 total OTUs	3 331	3 331	847	847
Observed_ species 指数 Observed_ species index	2 063.40 b	2 251.30 a	412.50 b	530.40 a
Chao1 指数 Chao1 index	2 579.97 b	2 669.11 a	532.50 b	641.88 a
Shannon 指数 Shannon index	8.50 b	9.39 a	5.52 b	6.50 a

2.4 玉米大豆间作对玉米根际微生物 β 多样性的影响

由图 1 可知：真菌和细菌在第 1 主成分 (PCo1) 上分开，细菌聚集在第 1 主成分的左边，真菌聚集在其右边。细菌组和真菌组均表现为玉米大豆间作远离玉米单作，说明玉米与大豆间作使得玉米根际细菌和真菌群落发生巨大改变。

2.5 玉米大豆间作与玉米单作的细菌、真菌差异 OTUs

由图 2 可知：在发现的 3331 个细菌 OTUs 中，276 个 OTUs 在玉米大豆间作玉米中显著富集 ($P<0.05$)，属于玉米大豆间作处理特有部分；251 个 OTUs 在单作玉米中显著富集 ($P<0.05$)。根据 OTUs 的注释分类结果发现：玉米大豆间作处理显著富集 OTUs 主要分布在线菌门 (Actinobacteria)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes)、厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、浮霉

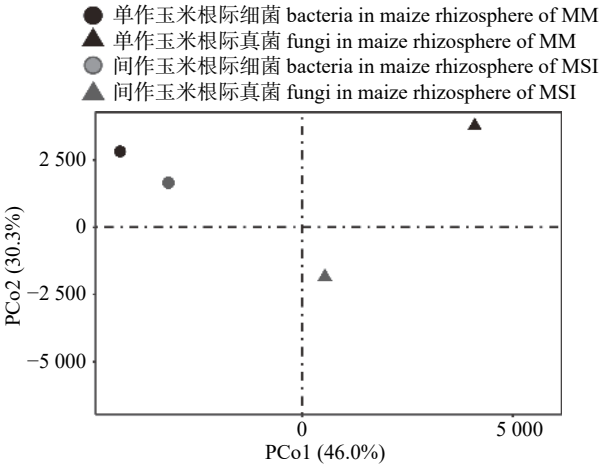
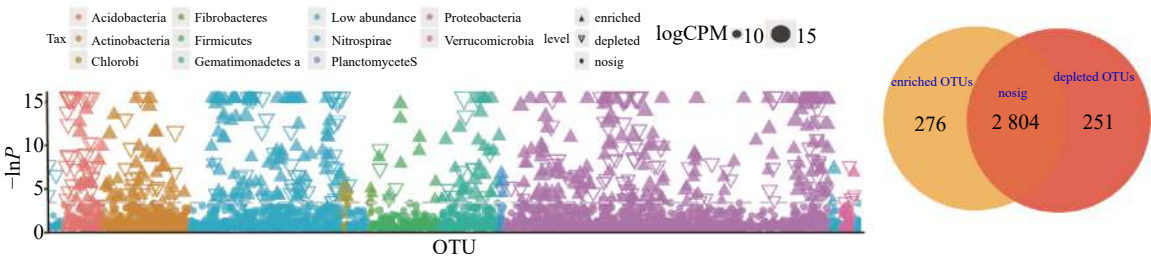


图 1 基于真菌和细菌群落欧式距离的主成分分析

Fig. 1 Principal component analysis based on Euclidean distance between fungal and bacterial communities

菌门 (Planctomycetes) 以及低丰度的绿菌门 (Chlorobi)、纤维素杆菌门 (Fibrobacteres) 和硝化螺旋菌门 (Nitrospirae)。相反，在玉米单作中显著富集 OTUs 主要分布在变形菌门 (Proteobacteria) 和酸杆菌门 (Acidobacteria)。

由图 3 可知：共发现 847 个真菌 OTUs，146 个在玉米大豆间作中显著富集，141 个在玉米单作中显著富集 ($P<0.05$)。其中，玉米大豆间作中富集的 OTUs 主要分布在子囊菌门粪壳菌纲 (Sordariomycetes)、担子菌门伞菌纲 (Agaricomycetes)、壶菌门壶菌纲 (Chytridiomycetes)、被孢霉门被孢霉纲 (Mortierellomycotina) 和担子菌门银耳纲 (Tremellomycetes)；在玉米单作中富集的 OTUs 主要分布在子囊菌门虫囊菌纲 (Lecanoromycetes)、子囊菌门座囊菌纲 (Dothideomycetes) 和子囊菌门散囊菌纲 (Eurotiomycetes)。



注：enriched. 玉米大豆间作显著富集的 OTUs；depleted. 玉米单作显著富集的 OTUs；nosig. 两者共有的 OTUs；lnP. P 值自然对数转换；logCPM. OTU 相对丰度的大小；下同。
Note: enriched. maize/soybean intercropping significantly enriched OTUs; depleted. maize monoculture significantly enriched OTUs; nosig. the two shared OTUs; lnP. natural logarithm conversion of P value; logCPM. relative abundance; the same as below.

图 2 玉米根际细菌差异 OTUs 分析

Fig. 2 Analysis of differential OTUs rhizosphere bacteria in maize

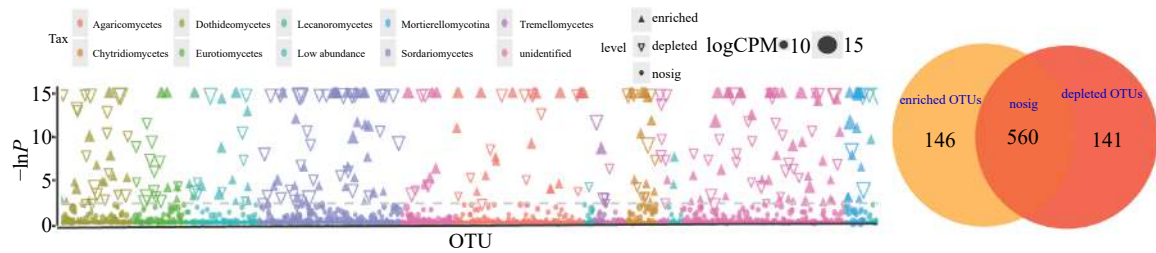


图 3 玉米根际真菌差异 OTUs 分析

Fig. 3 Analysis of differential OTUs rhizosphere fungi in maize

2.6 玉米大豆间作与玉米单作根际细菌和真菌差异菌属

对丰度前 15 位的属进行差异分析, 结果 (表 4) 显示: 细菌中鞘氨醇单胞菌属 (*Sphingomonas*)、芽单孢菌属 (*Gemmatimonas*)、黄杆菌属 (*Flavobacterium*)、溶杆菌属 (*Lysobacter*)、硝化螺菌属 (*Nitrospira*)、芽孢杆菌属 (*Bacillus*) 和假单胞杆菌属 (*Pseudomonas*) 在玉米大豆间作中的丰度显著高于玉米单作, 而伯壳氏菌属 (*Burkholderia*)、*Bryobacter*、鞘脂菌属 (*Sphingobium*) 和酸杆菌属 (*Acidibacter*) 的丰度显著低于玉米单作; 真菌中被孢霉属 (*Mortierella*)、壶菌属 (*Spizellomyces*)、丝孢菌属 (*Scedosporium*)、柄孢壳菌属 (*Podospira*)

和木霉菌属 (*Trichoderma*) 在玉米大豆间作中的丰度显著高于玉米单作, 而镰刀菌属 (*Fusarium*)、梭杆菌属 (*Monographella*) 和 *Solicoccozyma* 的丰度显著低于玉米单作。

2.7 功能预测分析

使用 FAPROTAX 软件预测得到各样品根际微生物细菌的功能注释, 结果 (图 4) 显示: 注释到参与土壤营养元素循环途径 (如尿素降解、硝化作用、固氮作用、硝酸氨化和亚硝酸盐氨化和铁呼吸) 的细菌 OTU 数量表现为玉米大豆间作处理高于玉米单作; 注释到参与有机物降解途径 (如木聚糖降解、纤维素降解和木质素降解) 的细菌 OTU 数量也是如此, 但几丁质降解途径相

表 4 玉米大豆间作与玉米单作属水平差异

Tab. 4 Differences between maize/soybean intercropping and maize monocropping at genera level

细菌属水平分类 bacterial genera level	MM/%	MSI/%	真菌属水平分类 fung genera level	MM/%	MSI/%
鞘氨醇单胞菌属 <i>Sphingomonas</i>	1.72 b	2.03 a	未分类 unidentified	20.76 a	17.01 b
芽单孢菌属 <i>Gemmatimonas</i>	0.79 b	1.29 a	镰刀菌属 <i>Fusarium</i>	8.03 a	6.71 b
黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i>	0.78 b	1.17 a	被孢霉属 <i>Mortierella</i>	0.72 b	4.97 a
<i>Bryobacter</i>	0.70 a	0.38 b	外瓶霉属 <i>Exophiala</i>	1.14 a	1.07 a
伯壳氏菌属 <i>Burkholderia</i>	3.82 a	0.01 b	梭杆菌属 <i>Monographella</i>	0.17 a	0.09 b
鞘脂菌属 <i>Sphingobium</i>	2.53 a	0.66 b	壶菌属 <i>Spizellomyces</i>	0.06 b	0.13 a
<i>Rhizomicrobium</i>	0.09 a	0.10 a	<i>Solicoccozyma</i>	0.03 a	0.00 b
溶杆菌属 <i>Lysobacter</i>	0.07 b	0.31 a	亚隔孢壳属 <i>Didymella</i>	0.28 a	0.23 a
<i>Flavisolibacter</i>	0.38 a	0.36 a	丝孢菌属 <i>Scedosporium</i>	0.01 b	1.15 a
硝化螺菌属 <i>Nitrospira</i>	0.32 b	0.64 a	毛壳菌属 <i>Chaetomium</i>	0.07 a	0.02 a
芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i>	0.07 b	0.15 a	<i>Humicola</i>	0.00 a	0.01 a
酸杆菌属 <i>Acidibacter</i>	0.60 a	0.31 b	柄孢壳菌属 <i>Podospira</i>	0.05 b	0.67 a
假单胞杆菌属 <i>Pseudomonas</i>	0.24 b	0.37 a	木霉菌属 <i>Trichoderma</i>	0.01 b	0.05 a

反。此外，注释到植物病原菌的细菌 OTU 数量表现为玉米单作高于玉米大豆间作处理。另一方面，注释到化能异养型和好氧化能异养型途径的细菌 OTU 数量表现为玉米大豆间作处理高于玉米单作，而厌氧自养型却相反，说明玉米大豆间作增加了根际微生物中好养型细菌比例，而厌氧型细菌比例降低，预示着玉米大豆间作可能对改良土壤结构和抑制土壤板结有较好的作用。

真菌 GUNGuild 数据库注释结果 (图 5) 显示：注释到植物病原菌、内生植物病原菌和腐生植物病原菌的真菌 OTU 数量表现为玉米大豆间作低于玉米单作；而注释到木质腐生型、粪便腐生型、未定义腐生型、内生菌和从枝菌菌根真菌的真菌 OTU 数量表现为玉米大豆间作高于玉米单作。说明玉米与大豆间作能减少土壤中有害真菌如植物病原菌的含量，同时能增加有益真菌的含量。

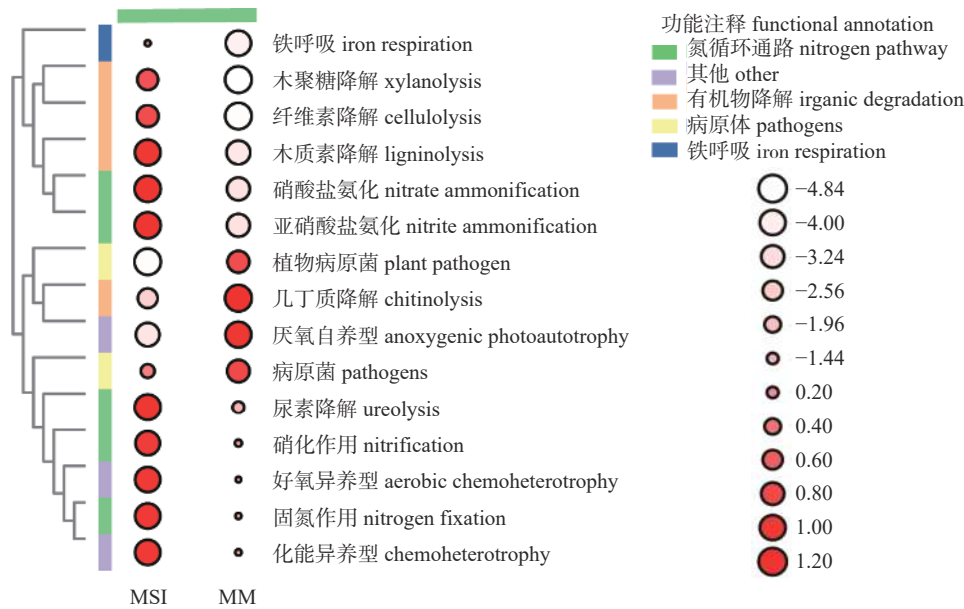


图 4 玉米根际细菌功能预测

Fig. 4 Function prediction of the rhizosphere bacteria in maize

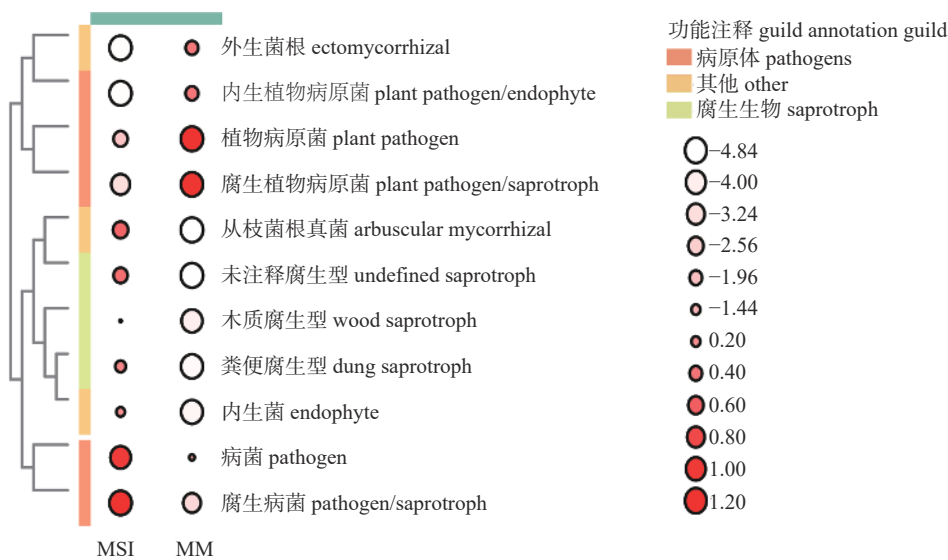


图 5 玉米根际细菌真菌功能预测

Fig. 5 Function prediction of the rhizosphere fungi in maize

3 讨论

本研究通过高通量测序技术研究了玉米大豆间作对玉米根际微生物种群数量和结构的影响;微生物群落欧氏距离的主成分分析结果显示:玉米大豆间作处理均改变了玉米根际细菌和真菌群落的组成和数量;玉米根际微生物多样性指数也说明玉米大豆间作与玉米单作相比能显著提高玉米根际微生物多样性指数。徐强等^[10]研究表明:玉米与线辣椒套作后可显著提高线辣椒根际微生物多样性指数,进而增强土壤微生物对单一碳源的利用能力。刘丽等^[9]利用实时荧光定量技术研究玉米大豆间作对玉米根际氨氧化微生物数量和结构的影响,结果显示:间作玉米根际中的总细菌丰度显著高于单作玉米根际,与本研究结果一致。玉米大豆间作导致玉米根际微生物多样性指数增加的原因可能是:豆科植物拥有天然的固氮系统,增加了土壤中的养分含量,从而提高了根际微生物的多样性。此外有研究表明:植物根际分泌的次生代谢产物对根际微生物群落结构具有选择塑造作用^[22],玉米大豆间作后由于大豆根系分泌物对玉米根际微生物产生了影响,从而导致间作系统中玉米根际微生物多样性的增加。具体是哪种原因导致根际微生物多样性的提高还需进一步设置试验验证。

玉米大豆间作模式改变了土壤中微生物的数量组成,从而影响玉米的养分吸收和病虫害发生。有研究指出:烤烟花生间作与烤烟单作处理相比益生菌的丰度增加,烟草黑胫病病原菌数量降低^[23]。在本研究中,玉米大豆间作与玉米单作相比,玉米锈病、玉米灰斑病、玉米大斑病和玉米小斑病的病情指数显著降低。根际微生物细菌注释结果显示:在玉米大豆间作中变形菌门溶杆菌属、厚壁菌门芽孢杆菌属和假单胞菌门的数量与玉米单作相比显著增加。文献报道:溶杆菌^[24]和假单胞菌^[25]会产生吩嗪类抗生素次生代谢产物,对大多数病原细菌和真菌有很强的抑制作用;芽孢杆菌^[26]也可作为生防资源用来控制病害的发生。真菌注释结果显示:玉米间作处理后,引起玉米土传病害的镰刀菌属的丰度显著低于玉米单作处理。有研究表明:镰刀菌属是引起玉米茎腐病和穗腐病的病原菌^[27]。注释到木霉菌属的丰度间作处理显著高于玉米单作处理。木霉菌是一种应用悠久防治土传病害的生防真菌,已有报

道可用于防治玉米茎腐病和玉米小斑病等土传病害^[28-30]。此外,本研究还发现:引起玉米小斑病的平脐蠕孢属在玉米间作中的相对丰度显著小于玉米单作,引起玉米灰斑病的尾孢菌属在玉米间作中的相对丰度显著低于玉米单作,而引起玉米大斑病的突脐蠕孢属则未检测到。但由于在本次试验中检测到这几个菌属的丰度均较低,误差较大,所以还需进一步设计这几个菌属的特异性引物来确认结果。细菌和真菌功能注释结果也显示:玉米大豆间作中注释到病原菌的 OTU 数量要低于玉米单作处理。

有研究已证实:间作模式能显著影响土壤养分含量,禾本科与豆科作物间作由于解除了氮抑制因而能提高豆科作物固氮能力,增加土壤氮素含量^[31]。在本研究中,玉米大豆间作产量为 14022 kg/hm²,与单作相比增产 2 127.56 kg/hm²,产量显著提高。影响作物根际营养元素吸收的因素较多。一方面玉米大豆间作能增加一些直接参与养分循环的微生物丰度,如参与氮元素循环的硝化螺旋菌属和根瘤菌属微生物,功能注释也显示出玉米大豆间作与玉米单作相比拥有更高参与氮循环的丰度;另一方面,玉米大豆间作能增加一些具有分解能力的微生物。许多动植物死亡后遗体便留在土壤中,这些残体是地球营养元素循环的重要组成部分,植物想要利用这部分营养离不开土壤微生物的分解作用。本研究发现:玉米大豆间作中木聚糖降解、纤维素降解、木质素降解以及腐生型真菌功能的丰度要高于单作,说明玉米大豆间作后玉米根际微生物分解能力提高了,导致玉米产量也随之提高。

本试验所采用的玉米大豆间作行比为 2:2,刘朝茂等^[8]通过设置不同的玉米大豆行比(2:2、2:3 和 2:4)发现 2:3 的玉米大豆行比效果最好。但由于不同海拔、气候和品种都会对间作条件下玉米产量造成影响,因此,筛选最适合在云南山地推广种植的间作品种和间作方式将会是下一步研究重点。此外,本次试验根际微生物注释仅采用 16S DNA 进行,由于技术本身的局限性以及微生物组的复杂性可能会出现注释有误的情况,如同种菌属中不同菌种的功能并非完全一致,以及同属同菌种在不同寄主上发挥的功能也不同。为了避免这种情况的发生,下一步将采用宏基因组学技术一次获得样品中所有微生物

基因组信息,以深入研究玉米大豆间作后根际微生物的功能变化。

[参考文献]

- [1] JONES D L, HINSINGER P. The rhizosphere: complex by design[J]. *Plant and Soil*, 2008, 312(1): 1. DOI: [10.1007/s11104-008-9774-2](#).
- [2] BERENDSEN R L, PIETERSE C M J, BAKKER P A H M. The rhizosphere microbiome and plant health[J]. *Trends in Plant Science*, 2012, 17(8): 478. DOI: [10.1016/j.tplants.2012.04.001](#).
- [3] BERG G. Plant-microbe interactions promoting plant growth and health: perspectives for controlled use of microorganisms in agriculture[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2009, 84(1): 11. DOI: [10.1007/s00253-009-2092-7](#).
- [4] BAKKER P A H M, DOORNBOS R F, CHRISTOS Z, et al. Induced systemic resistance and the rhizosphere microbiome[J]. *Plant Pathology Journal*, 2013, 29(2): 136. DOI: [10.5423/ppj.si.07.2012.0111](#).
- [5] SANTHANAM R, LUU V T, WEINHOLD A, et al. Native root-associated bacteria rescue a plant from a sudden-wilt disease that emerged during continuous cropping[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(36): E5013. DOI: [10.1073/pnas.1505765112](#).
- [6] 韦俊, 杨焕文, 徐照丽, 等. 不同烤烟套作模式对烤烟根际土壤细菌群落特征及烤烟产质量的影响[J]. *南方农业学报*, 2017, 48(4): 601. DOI: [10.3969/j.issn.2095-1191.2017.04.006](#).
- [7] 温三明, 潘开华, 庄齐源, 等. 生物多样性控制魔芋及玉米病害试验[J]. *云南农业*, 2010(8): 20. DOI: [10.3969/j.issn.1005-1627.2010.08.016](#).
- [8] 刘朝茂, 李成云. 玉米与大豆、马铃薯间作对玉米叶片衰老、产量及病害控制的影响[J]. *江西农业科学*, 2017, 45(6): 75. DOI: [10.15889/j.issn.1002-1302.2017.06.018](#).
- [9] 刘丽, 杨静, 李成云. 玉米-大豆间作对玉米根际氨氧化微生物的影响[J]. *江苏农业学报*, 2017, 33(6): 1278. DOI: [10.3969/j.issn.1000-4440.2017.06.012](#).
- [10] 徐强, 刘艳君, 陶鸿. 间套作玉米对线辣椒根际土壤微生物生态特征的影响[J]. *中国生态农业学报*, 2013, 21(9): 1078.
- [11] 宋亚娜, MARSCHNER P, 张福锁, 等. 小麦/蚕豆, 玉米/蚕豆和小麦/玉米间作对根际细菌群落结构的影响[J]. *生态学报*, 2006(7): 2268. DOI: [10.3321/j.issn:1000-0933.2006.07.028](#).
- [12] 覃潇敏, 郑毅, 汤利, 等. 玉米与马铃薯间作对根际微生物群落结构和多样性的影响[J]. *作物学报*, 2015, 41(6): 919. DOI: [10.3724/SP.J.1006.2015.00919](#).
- [13] 涂勇, 杨文钰, 刘卫国, 等. 大豆与烤烟不同套作年限对根际土壤微生物数量的影响[J]. *作物学报*, 2015, 41(5): 733. DOI: [10.3724/SP.J.1006.2015.00733](#).
- [14] MATTHIAS H, ALEXANDER S, ROB E, et al. Metagenomic discovery of biomass-degrading genes and genomes from cow Rumen[J]. *Science*, 2011, 331(6016): 463. DOI: [10.1126/science.1200387](#).
- [15] LOUCA S, PARFREY L W, DOEBELI M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome[J]. *Science*, 2016, 353(6305): 1272. DOI: [10.1126/science.aaf4507](#).
- [16] 郑俊强, 高增贵, 庄敬华, 等. 玉米复合型种衣剂 TB 的创制及防效[J]. *玉米科学*, 2017(4): 105. DOI: [10.3969/j.issn.1005-0906.2005.04.030](#).
- [17] BOLGER A M, MARC L, BJOERN U. Trimmomatic: a flexible trimmer for illumina sequence data[J]. *Bioinformatics*, 2014, 30(15): 2114. DOI: [10.1093/bioinformatics/btu170](#).
- [18] TANJA M, SALZBERG S L. Flash: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957. DOI: [10.1093/bioinformatics/btr507](#).
- [19] EDGAR R C, HAAS B J, CLEMENTE J C, et al. UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection[J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(16): 2194. DOI: [10.1093/bioinformatics/btr381](#).
- [20] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335. DOI: [10.1038/nmeth.f303](#).
- [21] NGUYEN N H, SONG Z, BATES S T, et al. FUNGuild: an open annotation tool for parsing fungal community datasets by ecological guild[J]. *Fungal Ecology*, 2016, 20: 241. DOI: [10.1016/j.funeco.2015.06.006](#).
- [22] 朱丽霞, 章家恩, 刘文高. 根系分泌物与根际微生物相互作用研究综述[J]. *生态环境学报*, 2003, 12(1): 102. DOI: [10.3969/j.issn.1674-5906.2003.01.025](#).
- [23] 牟文君, 薛超群, 宋纪真, 等. 烤烟与花生间作行比对烟草黑胫病防治效果的影响[J]. *烟草科技*, 2016(9): 22. DOI: [10.16135/j.issn1002-0861.2015.0689](#).
- [24] 魏兰芳, 周丽洪, 姬广海, 等. *Lysobacter antibioticus* 13-1 菌株抗菌物质鉴定及对水稻白叶枯病的防治效果[J]. *微生物学通报*, 2014, 41(2): 274.
- [25] 董卉. 假单胞菌抗生素: 吩嗪类化合物的检测与藤黄绿菌素的土壤残留分析[D]. 上海: 上海交通大学, 2011.
- [26] MINGMONGKOLCHAI S, PANBANGRED W. *Bacillus* probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2018, 124(6): 1334. DOI: [10.1111/jam.13690](#).
- [27] 邹庆道, 陈捷, 张子君. 玉米镰孢菌穗、茎腐病侵染循环的相互关系[J]. *植物保护学报*, 2003, 30(4): 435. DOI: [10.3321/j.issn:0577-7518.2003.04.018](#).
- [28] 张丽荣, 康萍芝, 沈瑞清. 木霉菌对土传病害病原真菌的拮抗作用[J]. *北方农业学报*, 2007(5): 48. DOI: [10.3969/j.issn.1007-0907.2007.05.022](#).
- [29] 孔德颖. 木霉可湿性粉剂对玉米小斑病的生物防治作用[J]. *耕作与栽培*, 2016(5): 32. DOI: [10.3969/j.issn.1008-2239.2016.05.012](#).
- [30] 吴晓儒, 陈硕闻, 杨玉红, 等. 木霉菌颗粒剂对玉米茎腐病防治的应用[J]. *植物保护学报*, 2015(6): 1030. DOI: [10.13802/j.cnki.zwbhxb.2015.06.026](#).
- [31] CONG W F, HOFFLAND E, LI L, et al. Intercropping enhances soil carbon and nitrogen[J]. *Global Change Biology*, 2015, 21(4): 1715. DOI: [10.1111/gcb.12738](#).

责任编辑: 何馨成