

不同生育时期施用印度梨形孢菌液对油菜的增产作用及其机制初探

杨亚珍¹, 张建民², 张帆¹, 董社琴¹, 朱建强^{2*}

(1. 长江大学 生命科学学院, 湖北 荆州 434025; 2. 长江大学 农学院, 湖北 荆州 434025)

摘要: 为明确印度梨形孢菌液在油菜上的最佳施用时期,研究了在油菜不同生育时期(苗期、蕾期、花期、荚期)施用印度梨形孢菌液对油菜的增产作用及其机制。结果表明:与CK(不施加印度梨形孢菌液)相比,苗期施用印度梨形孢菌液能显著提高油菜的根质量;花期、荚期施加印度梨形孢菌液可显著提高油菜的千粒质量和单株产量,其中单株产量比CK分别增加27.43%、27.95%。各时期施加印度梨形孢菌液均能提高油菜的实际产量,其中荚期加菌处理的实际产量最高,达3 004.65 kg/hm²,较CK增产37.30%,增加经济效益2 448.90元/hm²。生理指标测定结果表明,施用印度梨形孢菌液可以降低MDA含量,提高POD、SOD活性,进而提高油菜的抗逆性,促进油菜产量的提高。

关键词: 印度梨形孢; 油菜; 生育时期; 产量; 农艺性状; 抗氧化酶

中图分类号: S565.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2015)03-0031-05

Yield Increasing Effect of *Piriformospora indica* on Rape and Its Mechanisms at Different Periods of Rape

YANG Yazhen¹, ZHANG Jianmin², ZHANG Fan¹, DONG Sheqin¹, ZHU Jianqiang^{2*}

(1. College of Life Science, Yangtze University, Jingzhou 434025, China;

2. College of Agriculture, Yangtze University, Jingzhou 434025, China)

Abstract: To illuminate the best date of fertilizing *Piriformospora indica* into rape field, the yield increasing effect of *Piriformospora indica* on rape and its mechanisms were studied at different periods of rape (seedling, bud, flowering, pod stages). The results showed that *Piriformospora indica* could improve significantly the weight of rape roots at seedling stage of rape compared with CK (no *Piriformospora indica*). *Piriformospora indica* could significantly increase the thousand grain weight and yield of rape per plant at flowering and pod stages. The output per plant increased 27.43% and 27.95% respectively at the two stages compared with CK. The fertilization of *Piriformospora indica* could improve the actual production at each period of rape, but fertilization at the pod stage was better than at other stages, with the actual production reaching 3 004.65 kg/ha, increased by 37.30% compared with CK, and the economic income increasing 2 448.90 RMB/ha. The test results of related physiological indexes showed that *Piriformospora indica* could decrease the content of MDA and increase the activities of POD and SOD in rape, which indicated that *Piriformospora indica* might increase the resistance of rape, and promote rape yield enhancement.

Key words: *Piriformospora indica*; rape; growth period; production; agronomical character; antioxidant enzymes

作物生产中长期依赖施用无机化肥导致人类健康 和环境受到严重威胁,因此,将有益微生物开发为

收稿日期:2014-08-18
基金项目:公益性行业(农业)科研专项(201203032);湖北省生物菌肥工程技术研究中心项目(GCZX2012042)
作者简介:杨亚珍(1973-),女,陕西西安人,讲师,硕士,主要从事微生物资源开发与利用研究。
E-mail:yyangyazhen@163.com

* 通讯作者:朱建强(1963-),男,陕西西安人,教授,博士,主要从事作物生长的水土环境调控研究。E-mail:zyjb@sina.com

生物菌肥进行利用对食品安全和可持续农业生产有着重要意义^[1]。印度梨形孢(*Piriformospora indica*)是一种可在人工培养基上生长、定殖于多种植物根部的内生真菌,在提高作物产量、改善作物品质和诱导植物产生抗逆性方面具有重要作用,将其作为生物菌肥进行开发具有广阔的应用前景^[2-4]。目前,印度梨形孢的研究主要集中在 2 个方面:一方面是印度梨形孢可以促进作物生长,提高作物产量和改善作物品质。如 Johnson 等^[5]报道,印度梨形孢可以通过调节植物体内生长素的平衡促进中国小白菜的生长。王凤让等^[6]报道,印度梨形孢可以在番茄根系中定殖,并能促进番茄侧根形成,促进植株生长并提高果实产量。陈佑源^[7]研究发现,印度梨形孢可促进油菜生长,改善菜籽品质性状。另一方面,印度梨形孢可以提高植物的抗逆性。惠非琼等^[8]报道,印度梨形孢可以通过促进渗透调节物质的合成和诱导抗逆相关基因的表达,提高烟草对盐害的容忍性。Sun 等^[9]报道,印度梨形孢可以通过提高抗氧化酶活性、刺激抗旱相关基因和位于质体的 CAS 蛋白的表达,提高中国小白菜的抗旱性。Harrach 等^[10]报道,大麦根部存在镰刀菌素时,可降低根部抗氧化酶活性,而印度梨形孢可防止因镰刀菌素存在导致的抗氧化酶活性降低所造成的危害。印度梨形孢良好的促生、抗逆功能已被证实,但如何将其研制成高效有益的生物菌肥并合理应用于农业生产,目前缺乏研究。鉴于此,以油菜为研究对象,将印度梨形孢制备成菌液后在油菜生长的不同生育时期施入,研究印度梨形孢对油菜的增产作用及其机制,以期找到印度梨形孢菌液在油菜上施用的最佳时期,从而为印度梨形孢菌肥在油菜生产上的合理利用提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试印度梨形孢菌种由台湾大学叶开温教授馈赠。印度梨形孢菌原液制备:首先将活化好的菌块接入 PDA 液体培养基中,28 ℃、200 r/min 培养 5 d 后,得到菌原液。吸取 3% 的菌原液接种到新鲜的 PDA 液体培养基中,28 ℃、200 r/min 再次培养 5 d,得到含有大量孢子的菌丝体;将菌丝体搅碎后,用自来水按 1:9 的比例稀释制成菌悬液备用。供试油菜品种为华油杂 15 号。

1.2 试验方法

试验于 2013—2014 年在湖北省荆州市气象局试验田进行。试验前施氮肥(尿素,含 N 46%)750

kg/hm²、磷肥(过磷酸钙,P₂O₅ 含量 12%)60 kg/hm²、钾肥(含 KCl,K₂O 含量 60%)75 kg/hm²、硼砂 3 kg/hm²作底肥。2013 年 10 月 10 日进行油菜移栽种植,移栽密度为 60 000 株/hm²,行距为 35 cm、株距为 37 cm。

试验共设 5 个处理,其中 A、B、C、D 处理分别为苗期(2013 年 11 月 24 日)、蕾期(2014 年 2 月 25 日)、花期(2014 年 3 月 25 日)、荚期(2014 年 4 月 5 日)施加印度梨形孢菌液,CK 不施加印度梨形孢菌液。采用随机区组设计,重复 3 次,每小区面积为 20 m²。A、B、C、D 处理每株油菜以浇灌的方式施用 10 mL 菌悬液,CK 浇灌清水 10 mL;其他栽培、管理条件与当地油菜生产技术相同。

1.3 测定项目及方法

1.3.1 苗期生长情况 于苗期(2014 年 1 月 24 日)每小区取有代表性的 10 株油菜考查生长情况,考查指标包括:株高(自子叶节至植株顶端的高度)、茎粗(用游标卡尺测定基部第 2 节间主茎茎粗)、叶片数(真叶长、宽均达到 1 cm 才记作此片真叶长出,小于 1 cm 记作叶心)、叶面积(取倒 4 叶,涂上颜料印方格,测量面积)。每个小区分别采集 3 株油菜,洗净并吸干水分后,分别测定茎质量、叶质量和根质量。

1.3.2 产量和产量构成因素 于 2014 年 5 月 20 日统一收获前每小区选取 10 株,室内考察有效分枝数、无效分枝数、单株角果数、千粒质量、单株产量。有效分枝数为主茎结有 1 个以上有效果的第 1 次分枝数;无效分枝数为无 1 个结实角果的第一次分枝数;单株角果数为单株含有 1 粒以上饱满或半饱满种子的角果数;千粒质量为 1 000 粒半饱满以上晒干种子的质量;单株产量为单株全部种子的质量。分小区收割,脱粒计产,计算出单位面积实际产量。

1.3.3 生理指标 自 2014 年 3 月 25 日至 2014 年 4 月 19 日,每 5 d 于清晨 8:00—9:00 取正常生长植株功能叶片(倒 4 叶),用冰盒带回实验室测定叶片的生理指标,过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚法^[11],超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)法^[12],丙二醛(MDA)含量测定采用 TBA 法^[13],叶绿素含量测定采用分光光度法^[14],过氧化氢酶(CAT)活性测定采用过氧化氢法^[15]。

1.4 数据处理

试验数据采用 Excel 2010 进行统计,方差分析采用 SPSS 12.0 中通用线性模型单因素变量法进行分析。

2 结果与分析

2.1 印度梨形孢菌液对油菜苗期生长的影响

由表 1 可知,苗期施加印度梨形孢菌液后,苗期

油菜的株高、茎粗、叶片数、茎质量、叶质量与 CK 无显著差异,但倒 4 叶面积较 CK 显著降低,根质量较 CK 显著增加,说明印度梨形孢菌液对油菜苗期根质量和倒 4 叶面积影响较大。

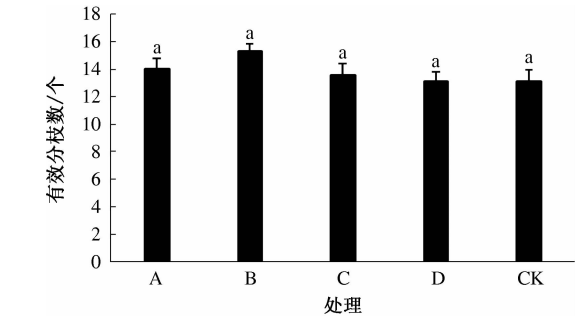
表 1 印度梨形孢菌液对油菜苗期生长的影响

处理	株高/cm	茎粗/cm	倒 4 叶面积/cm ²	叶片数	根质量/g	茎质量/g	叶质量/g
CK	36.2aA	1.04aA	210.0aA	10.0aA	9.514bA	9.860aA	76.106aA
A	35.8aA	1.10aA	198.2bA	10.8aA	12.286aA	11.718aA	77.040aA

注:同列不同小、大写字母分别表示在 0.05、0.01 水平上差异显著。

2.2 不同生育时期施用印度梨形孢菌液对油菜产量和产量构成因素的影响

由图 1—2 可知,不同时期施加印度梨形孢菌液对油菜有效分枝数和无效分枝数均无明显影响。



相同小写字母表示在 0.05 水平上差异不显著,下同

图 1 印度梨形孢菌液对油菜有效分枝数的影响

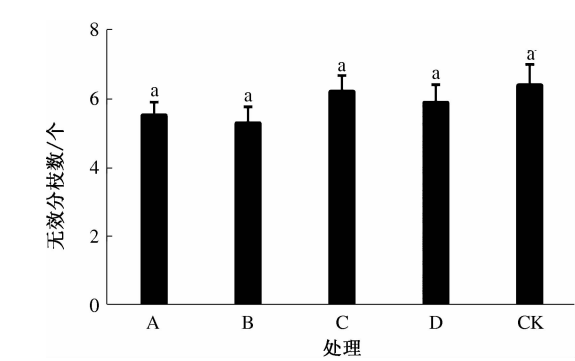


图 2 印度梨形孢菌液对油菜无效分枝数的影响

由图 3 可知,CK 的千粒质量最小,各加菌处理千粒质量都有不同程度的提高,尤其是花期和荚期加菌处理的千粒质量显著高于 CK。由图 4 可知,苗期和蕾期施加印度梨形孢菌液能显著提高油菜的单株角果数,但花期和荚期施加印度梨形孢菌液对油菜单株角果数的影响不显著。

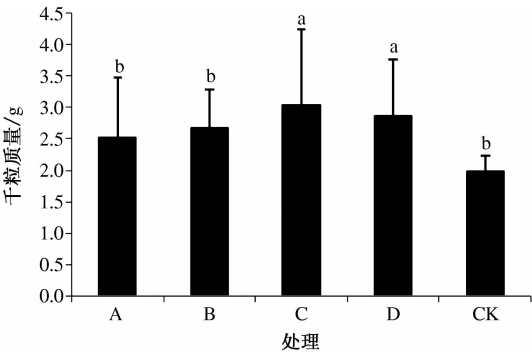


图 3 印度梨形孢菌液对油菜籽粒千粒质量的影响

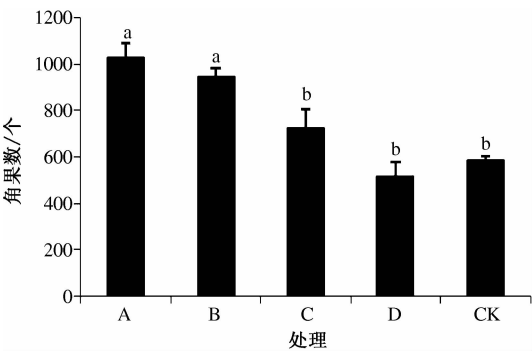


图 4 印度梨形孢菌液对油菜单株角果数的影响

从表 2 可看出,印度梨形孢菌液能显著提高油菜的单株产量,特别是花期、荚期加菌处理。与 CK 相比,苗期、蕾期、花期、荚期加菌处理的油菜单株产量分别增加 11.69%、9.54%、27.43%、27.95%。

表 2 不同处理对油菜单株产量的影响

项目	A	B	C	D	CK
单株产量/g	64.13bB	62.90bBC	73.17aA	73.47aA	57.42cC

注:同行不同小、大写字母分别表示在 0.05、0.01 水平上差异显著,下同。

由表 3 可知,不同时期施加印度梨形孢菌液对

表 3 不同处理对油菜实际产量的影响

项目	A	B	C	D	CK
实际产量/(kg/hm ²)	2 443.95bc	2 397.30c	2 788.65ab	3 004.65a	2 188.35c
较 CK 增产/%	11.68	9.54	27.43	37.30	
较 CK 增加经济效益/(元/hm ²)	766.80	626.85	1 800.90	2 448.90	

注:油菜价格以 3 元/kg 计算。

油菜产量有显著影响。所有处理中荚期施加印度梨形孢菌液处理的实际产量最大,达 3 004.65 kg/hm²,较 CK 增产 37.30% ($P<0.05$),增加经济效益 2 448.90 元/hm²。其次是花期施加印度梨形孢菌液处理,产量达 2 788.65 kg/hm²,较 CK 增产 27.43% ($P<0.05$),增加经济效益 1 800.90 元/hm²。

2.3 不同生育时期施用印度梨形孢菌液对油菜相关生理指标的影响

由图 5 可知,不同时期施加印度梨形孢菌液对 POD 活性的影响不同。与 CK 相比,苗期、蕾期加菌处理的 POD 活性在整个花期和荚期保持高且较稳定的状态;花期加菌后 POD 活性在整个花期(加菌后的前 10 d 内)呈缓慢增长趋势,但在整个荚期增长迅速;荚期加菌处理的 POD 活性在加菌后 5 d 内

基本保持不变,但在之后的整个结荚期呈迅速增长趋势,且加菌后各处理 POD 活性均明显高于 CK。施加印度梨形孢菌液各处理 CAT 活性的变化趋势与 CK 基本一致,说明施加印度梨形孢菌液对油菜的 CAT 活性影响不明显。苗期、蕾期施加印度梨形孢菌液处理的 SOD 活性在整个花期呈增长趋势,到荚期后略有下降,但仍高于 CK;花期加菌后 SOD 活性在前 10 d 变化与 CK 一致,均呈下降趋势,但之后又迅速增加,且 SOD 活性高于 CK;荚期加菌后 SOD 活性虽在前 5 d 略有下降,但之后迅速上升,且 SOD 活性远远高于 CK。表明印度梨形孢菌液在与油菜互作的过程中,能诱导 POD、SOD 活性的表达,从而减轻活性氧对油菜的伤害。

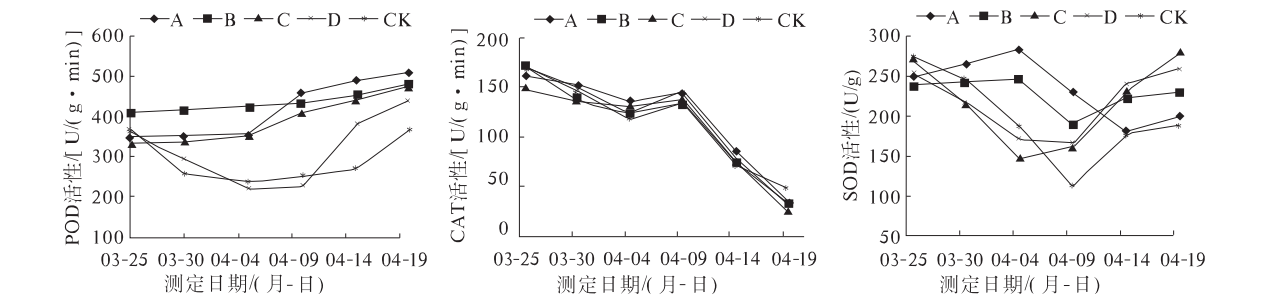


图 5 印度梨形孢菌液对油菜叶片 POD、CAT、SOD 活性的影响

MDA 含量越低,表明自由基积累、膜脂过氧化程度越小。由图 6 可知,4 月 4 日前 CK 组 MDA 含量呈增长趋势,而除荚期外施加印度梨形孢菌液各处理组此期的 MDA 含量均有所下降,至 4 月 19 日各加菌组 MDA 含量均明显低于 CK。可见,施用印度梨形孢菌液可以减轻逆境对细胞膜的损害程度。

苗期、蕾期、花期、荚期加菌后,4 月 14 日至 4

月 19 日油菜的的叶绿素含量均高于 CK,尤其是荚期加菌处理,叶绿素含量始终保持高而稳定的状态,而其他各处理叶绿素含量均在 4 月 4 日后呈明显的下降趋势,但苗期、蕾期、花期加菌处理的叶绿素含量下降幅度明显小于 CK,表明在油菜叶绿素含量降低的情况下,印度梨形孢菌液能延缓叶绿素含量的降低速度,进而促进油菜的光合作用。

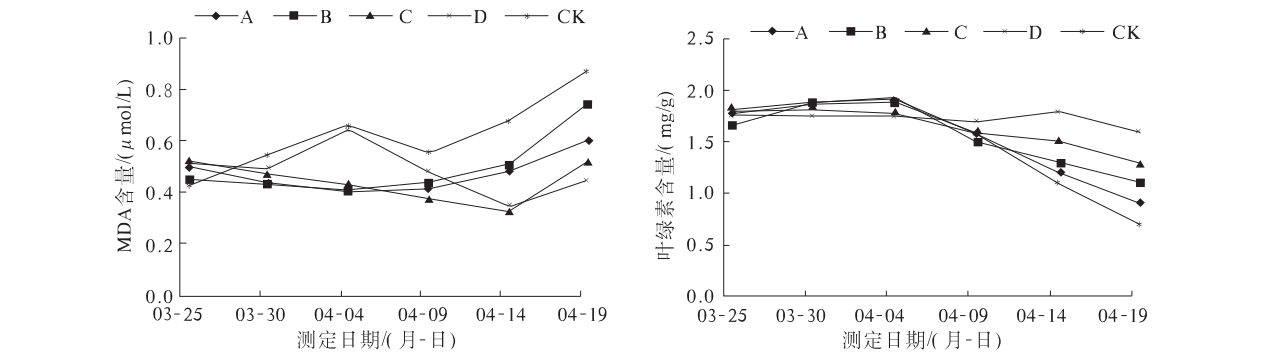


图 6 印度梨形孢菌液对油菜叶片 MDA、叶绿素含量的影响

3 结论与讨论

本研究发现,苗期施加印度梨形孢菌液对油菜根系质量提高有明显的促进作用。苗期、蕾期施加

印度梨形孢菌液处理的油菜虽单株角果数显著多于其他处理,但花期、荚期加菌处理千粒质量较其他处理显著提高,最终使得产量较高。光合作用是植物代谢的基础,而叶绿素是光能吸收和转换的原初物

质,因此叶绿素的含量直接影响植物的生长发育及产量形成^[16]。本研究中施加印度梨形孢菌液后,各处理叶绿素含量均高于CK,表明施用印度梨形孢菌液可通过提高油菜叶片的叶绿素含量,在一定程度上提高产量。此外,SOD、POD、CAT等均属于细胞膜保护酶,在清除活性氧中有重要功能。MDA是膜脂过氧化产物,其含量可以反映逆境下细胞膜的稳定性^[17]。研究结果显示,施用印度梨形孢菌液能降低油菜叶片中MDA含量,提高POD、SOD活性,进而改善植物的抗逆性,这同许多抗逆性报道相一致^[18]。本研究仅就不同时期施用印度梨形孢菌液对油菜产量及生理特性的影响做了初步探索,结果显示施用印度梨形孢菌液的最佳时期为荚期,但不同时期施用印度梨形孢菌液的双效作用还需进一步研究,另外印度梨形孢对油菜的促生分子机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Bhardwaj D, Ansari M W, Sahoo R K, *et al.* Biofertilizers function as key player in sustainable agriculture by improving soil fertility, plant tolerance and crop productivity [J]. *Microbial Cell Factories*, 2014, 13(1): 66-76.
- [2] Varma A, Verma S, Sahay N, *et al.* *Piriformospora indica*, a cultivable plant-growth-promoting root endophyte [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1999, 65(6): 2741-2744.
- [3] 徐泽凌,陈复旦,毛碧增. 印度梨形孢的研究进展及其在农业生产上的应用前景[J]. *浙江农业科学*, 2013(11): 1505-1508.
- [4] Ansari M W, Trivedi D K, Sahoo R K, *et al.* A critical review on fungi mediated plant responses with special emphasis to *Piriformospora indica* on improved production and protection of crops [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2013, 70: 403-410.
- [5] Johnson J M. *Piriformospora indica* promotes growth of Chinese cabbage by manipulating auxin homeostasis: Role of auxin in *P. indica* symbioses [M] // Lee Y C, Camehl I. *Piriformospora indica*. Berlin: Springer Berlin Heidelberg, 2013: 139-147.
- [6] 王凤让,毛克克,李国钧,等. 印度梨形孢及其近似种 *Sebacina vermifera* 促进番茄生长发育及磷吸收[J]. *浙江大学学报:农业与生命科学版*, 2011, 37(1): 61-68.
- [7] 陈佑源. 印度梨形孢诱导油菜促生、抗逆和菜籽品质性状改善及其机理的初步研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2012.
- [8] 惠非琼,彭兵,楼兵干,等. 印度梨形孢通过促进渗透调节物质的合成和诱导抗逆相关基因的表达提高烟草耐盐性[J]. *农业生物技术学报*, 2014, 22(2): 168-176.
- [9] Sun C, Johnson J M, Cai D, *et al.* *Piriformospora indica* confers drought tolerance in Chinese cabbage leaves by stimulating antioxidant enzymes, the expression of drought-related genes and the plastid-localized CAS protein [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2010, 167(12): 1009-1017.
- [10] Harrach B D, Baltruschat H, Barna B, *et al.* The mutualistic fungus *Piriformospora indica* protects barley roots from a loss of antioxidant capacity caused by the necrotrophic pathogen *Fusarium culmorum* [J]. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 2013, 26(5): 599-605.
- [11] 朱祝军,喻景权, Gereodas J, 等. 氮素形态和光照强度对烟草生长和 H₂O₂ 清除酶活性的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 1998, 4(4): 379-385.
- [12] Giannopolitis C N, Ries S K. Superoxide dismutase I. Occurrence in higher plants [J]. *Plant Physiology*, 1977, 59(4): 309-314.
- [13] Cakmak I, Marschner H. Magnesium deficiency and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase, and glutathione reductase in bean leaves [J]. *Plant Physiology*, 1992, 98(5): 1222-1227.
- [14] 吕军. 渍水对冬小麦生长的危害及其生理效应[J]. *植物生理学报*, 1994, 26(3): 221-225.
- [15] 汤章城. 现代植物生理学实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 31-33.
- [16] 刘玲玲,李军,李长辉,等. 马铃薯可溶性蛋白、叶绿素及 ATP 含量变化与品种抗旱性关系的研究[J]. *中国马铃薯*, 2004, 8(4): 201-204.
- [17] Albert H M. Chilling in jury. A review of possible causes [J]. *Hort Science*, 1986, 21(6): 1329-1333.
- [18] 抗艳红,龚学臣,赵海超,等. 不同生育时期干旱胁迫对马铃薯生理生化指标的影响[J]. *中国农学通报*, 2011, 27(15): 97-101.