

## 植物生长调节剂对茭白孕茭的作用研究

陈玥<sup>1</sup>, 翁丽青<sup>2</sup>, 郑春龙<sup>3</sup>, 叶思诗<sup>1</sup>, 黄正浩<sup>1</sup>, 叶子弘<sup>1</sup>, 崔海峰<sup>1</sup>, 张雅芬<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>中国计量大学生命科学学院, 浙江省生物计量及检验检疫技术重点实验室, 杭州310018

<sup>2</sup>余姚市农业科学研究所, 浙江余姚315400

<sup>3</sup>余姚市河姆渡镇现代农业公共服务中心, 浙江余姚315414

**摘要:** 茭白(*Zizania latifolia*)是我国第二大水生蔬菜, 具有很高的营养和药用价值, 但其成熟季集中, 价格优势不明显, 因此提早孕茭已成为农民的迫切需求。研究表明茭白茎部菰黑粉菌(*Ustilago esculenta*)和植物内源激素含量是茭白孕茭的重要影响因素。基于此, 通过随机区组试验, 首先将8种不同的植物生长调节剂及其复配组合作为备选孕茭调节剂, 每种孕茭剂选择4个不同的喷施时间, 采用随机抽样法对采收期的茭白进行生长指标测定, 同时采用组织切片和荧光定量PCR方法测定茭白中菰黑粉菌的生长状态, 在不影响孕茭产量的情况下筛选可能提早孕茭的组合及其喷施时间, 并再次进行随机区组试验进一步确认。对比分析结果表明, 在分蘖期喷施对碘苯氧乙酸能促进菰黑粉菌适量增殖, 在保障茭白产量的同时提早孕茭时间, 是理想的促孕茭时间调节剂。

**关键词:** 茭白; 菰黑粉菌; 植物生长调节剂; 对碘苯氧乙酸

茭白(*Zizania latifolia*)为禾本科菰属多年生宿根草本植物。茭白孕茭与其内生的菰黑粉菌(*Ustilago esculenta*)侵染交互密切相关(Yang和Leu 1978)。菰黑粉菌的侵染抑制了茭白开花并刺激茎基部膨大形成可食用的肉质茎(You等2011)。若菰黑粉菌未成功侵染则形成雄茭, 成功侵染的菌丝潜育期缩短则过早形成冬孢子从而成为不能食用的灰茭, 植株生长和分蘖趋于衰退(Zhang等2014, 2012)。

研究认为, 菰黑粉菌的侵染刺激植株内源激素含量水平变化是茭白进入孕茭阶段及茭茎膨大生长的内在原因(尤文雨等2010; Chan和Thrower 1980)。其中细胞分裂素(cytokinin)和生长素(auxin)可能起主要作用(Chan和Thrower 1980)。Lin和Lin (1990)推测细胞分裂素作用于细胞分裂, 而生长素、脱落酸(abscisic acid, ABA)和赤霉素(gibberellin, GA)能促进早期茭白根系的生长, 有利于养分吸收, 并增强光合作用, 促进茭白生长发育(朱晓琛等2017; 应荣等2014)。研究还发现, 茭白孕茭期间ABA含量很低(江解增等2005), 可能与ABA对病原菌抗性的正向调控作用有关, 较低的ABA含量利于菰黑粉菌的侵染, 从而促进结茭(严婷婷等2014; 吴耀荣和谢旗2006)。此外, 细胞分裂素等也参与调控植物对病原菌的抗性(李祖红等2014); 油菜素内酯(brassinosteroids, BR)能够改善植物生理代谢, 促进生长, 有效提高作物抗逆能力, 提高品质和产

量(Fariduddin等2014; Krishna 2003); 对碘苯氧乙酸(4-iodophenoxyacetic acid, 4-IPOA)则能动员植物体内营养物质的输导, 促进茎、枝、叶生长, 增强光合作用, 从而促进生长发育(Chen等1981)

茭白因其味道鲜美、营养丰富并具有一定药用功能而广受消费者欢迎。但是由于其成熟季节集中, 采收所需人力物力成本巨大, 且贮藏中易失水老化或腐败, 导致茭白成本偏高, 茭农利润空间有限, 因此提早茭白孕茭已成为迫切需求。研究者在相关早熟品种选育、栽培管理模式改良、孕茭剂开发等方面进行了持续深入研究。目前, 市场上已有早熟品种‘浙茭7号’在大规模推广中, “双膜覆盖”等栽培模式对双季茭白的夏茭也有很好的效果(张尚法等2014; 邢阿宝等2015)。然而孕茭调节剂作为灵活、经济的手段, 其开发依然是目前研究一大热点。研究发现, 植物生长调节剂的使用能够明显提高茭白的产量(应荣等2014), 且植物生长调节剂施用量小, 易分解, 环境和作物中残留少, 因此本实验筛选8种不同的植物生长调节剂及其复配组合作为备选孕茭调节剂, 每种孕茭剂选择4个不同的喷施时间, 测定各个处理下茭白植株生长量(株高、叶长及有效分蘖等)、茭白质量、

收稿 2018-07-02 修定 2018-09-17

资助 国家自然科学基金(31600634和31770828)和浙江省大学生科研创新活动计划(2018R409022)。

\* 通讯作者(yfzhang@cjlu.edu.cn)。

产量(净茭重、长宽等)等生长指标,对比分析早期采收的茭白产量,筛选效果较好的孕茭复配剂及施用时间,于第二年进行田间比较试验,进一步确定最佳孕茭剂及喷施时间,发现在分蘖期喷施4-IPOA能使茭白提早采收至少3 d,早期采收量显著增加,且总产量高,具有较好的经济效益,是理想的促孕茭调节剂。同时采用组织切片和荧光定量PCR方法分析茭白中菰黑粉菌的生长情况,验证菌量生长与茭白孕茭的相关性,发现茭白的孕茭伴随着菰黑粉菌的大量增殖,但是大部分生长调节剂在促进菰黑粉菌早期快速增殖后容易导致茭白品质下降,而在分蘖期喷施4-IPOA能使菌量上升至一个相对恒定的水平,可能是其实现孕茭调节功能的关键。本研究不仅发现了一种有效的孕茭调节剂,还发现茭白孕茭和菰黑粉菌菌量存在相关性,可以为茭白种植及管理提供田间指导,同时为进一步研究茭白孕茭调控提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验于2015和2016年在浙江省桐乡市董家茭白基地实验田进行,试验材料为茭白[*Zizania latifolia* (Griseb.) Turcz. ex Stapf]晚熟品种‘龙茭2号’,常规田间管理。

### 1.2 田间试验实施方案

通过随机区组设计田间试验,筛选8种不同的植物生长调节剂及其复配组合作为备选孕茭调节剂,具体是:多效唑(pacllobutrazol, PP333, GA合成抑制剂)、6-苄氨基嘌呤(6-benzylaminopurine, 6-BA, 细胞分裂素)、BR、壳聚糖(chitosan)、4-IPOA、GA、ABA、吲哚-3-乙酸(indole-3-acetic acid, IAA, 生长素)。

配制和使用方法为:称取300 mg的PP333 (P8790, 索莱宝)溶解于30 mL酒精后配成浓度为10 mg·mL<sup>-1</sup>的母液,使用时1:100稀释;称取120 mg的6-BA (A8170, 索莱宝)溶解于60 mL酒精后配成浓度为2 mg·mL<sup>-1</sup>的母液,使用时1:200稀释;称取15 mg的BR (B8780, 索莱宝)溶解于30 mL酒精后配成浓度为0.5 mg·mL<sup>-1</sup>的母液,使用时1:500稀释;称取30 mg的壳聚糖(C8320, 索莱宝)溶解于15 mL冰醋酸后配成浓度为2 mg·mL<sup>-1</sup>的母液,使用时1:100倍稀释;称取30 mg的4-IPOA (I120189, 索莱宝)溶解于

15 mL酒精后配成浓度为2 mg·mL<sup>-1</sup>的母液,使用时1:100稀释;称取105 mg的ABA (A8060, 索莱宝)溶解于21 mL酒精后配成浓度为5 mg·mL<sup>-1</sup>的母液,使用时1:500稀释;称取30 mg的GA (G8040, 索莱宝)溶解于15 mL酒精后配成浓度为2 mg·mL<sup>-1</sup>的母液,使用时1:200稀释;称取60 mg的IAA (I8020, 索莱宝)溶解于30 mL酒精后配成浓度为2 mg·mL<sup>-1</sup>的母液,使用时1:200稀释。

每种孕茭剂选择4个不同的喷施时间,包括五叶期(分蘖期、早期)、八叶期(20 d后、中期)、孕茭前期(40 d后、晚期)以及3个时期全喷,以不喷施孕茭剂作为对照组,共形成49个处理(表1)。试验使用量为每个处理喷施1.5 L药剂稀释溶液,对照不喷施。每排(15墩茭白)为一个处理单元,每个时期喷施两次,间隔10 d(表1)。

通过上述实验筛选出了处理效果较好的备选孕茭剂及其最优喷施时间,根据孕茭剂的作用机理进行复配组合,于第二年再次进行随机区组田间试验,在五叶期、八叶期或孕茭前期进行喷施,以不喷施孕茭剂作为对照组,共形成15个处理(表2)。每排为一个处理单元,每个时期喷施两次,间隔10 d,进行植物生长调节剂施加时间及复配剂的进一步筛选。

### 1.3 样品采集及指标测定

第一年样品采集采用随机抽样法选取3墩供取样,于喷施当天、10 d后及20 d后分别取样,一部分用液氮速冻,带回实验室置-80°C冰箱备用,另一部分放入卡诺试剂中进行固定。第一年和第二年在采收期时分别选取5墩茭白进行生长指标和采收指标测定。

生长指标测定:每墩选3株茭白,用钢卷尺分别测量其株高、叶长和叶宽,同时逐墩查看分蘖数和有效分蘖数。

采收指标测定:对茭白进行4次采收,每次间隔3 d,然后进行产量测定,包括采收茭白的数量、壳茭重、净茭重、茭长、茭宽等指标,第二年于4次采收后7 d进行最后一次采收,统计所有孕茭数量,并计算田间产量,计算公式为:壳茭产量(kg·亩<sup>-1</sup>)=500(墩·亩<sup>-1</sup>)×每墩分蘖数×有效分蘖率×壳茭重(kg),净茭产量(kg·亩<sup>-1</sup>)=500(墩·亩<sup>-1</sup>)×每墩分蘖数×有效分蘖率×净茭重(kg),每亩地以500墩茭白计算。

表1 2015年田间试验处理方案  
Table 1 Treatment plan for field experiment in 2015

处理编号	喷施试剂		
	五叶期	八叶期	孕茭前期
1	PP333	—	—
2	—	PP333	—
3	—	—	PP333
4	PP333	PP333	PP333
5	6-BA	—	—
6	—	6-BA	—
7	—	—	6-BA
8	6-BA	6-BA	6-BA
9	BR	—	—
10	—	BR	—
11	—	—	BR
12	BR	BR	BR
13	壳聚糖	—	—
14	—	壳聚糖	—
15	—	—	壳聚糖
16	壳聚糖	壳聚糖	壳聚糖
17	4-IPOA	—	—
18	—	4-IPOA	—
19	—	—	4-IPOA
20	4-IPOA	4-IPOA	4-IPOA
21	ABA+6-BA+IAA	—	—
22	—	ABA+6-BA+IAA	—
23	—	—	ABA+6-BA+IAA
24	ABA+6-BA+IAA	ABA+6-BA+IAA	ABA+6-BA+IAA
25	ABA+6-BA+BR	—	—
26	—	ABA+6-BA+BR	—
27	—	—	ABA+6-BA+BR
28	ABA+6-BA+BR	ABA+6-BA+BR	ABA+6-BA+BR
29	ABA+6-BA+GA	—	—
30	—	ABA+6-BA+GA	—
31	—	—	ABA+6-BA+GA
32	ABA+6-BA+GA	ABA+6-BA+GA	ABA+6-BA+GA
33	ABA+6-BA+PP333	—	—
34	—	ABA+6-BA+PP333	—
35	—	—	ABA+6-BA+PP333
36	ABA+6-BA+PP333	ABA+6-BA+PP333	ABA+6-BA+PP333
37	ABA+6-BA+IAA+BR	—	—
38	—	ABA+6-BA+IAA+BR	—
39	—	—	ABA+6-BA+IAA+BR
40	ABA+6-BA+IAA+BR	ABA+6-BA+IAA+BR	ABA+6-BA+IAA+BR
41	ABA+6-BA+IAA+GA	—	—
42	—	ABA+6-BA+IAA+GA	—
43	—	—	ABA+6-BA+IAA+GA
44	ABA+6-BA+IAA+GA	ABA+6-BA+IAA+GA	ABA+6-BA+IAA+GA
45	ABA+6-BA+IAA+PP333	—	—
46	—	ABA+6-BA+IAA+PP333	—
47	—	—	ABA+6-BA+IAA+PP333
48	ABA+6-BA+IAA+PP333	ABA+6-BA+IAA+PP333	ABA+6-BA+IAA+PP333
49	—	—	—

第一年由8种不同的植物生长调节剂及其复配组合作为备选孕茭调节剂, 共形成49个处理, 其中处理49为对照。“—”表示在该时期不进行喷施处理。表中所列植物生长调节剂喷施浓度分别为: PP333: 100 mg·L<sup>-1</sup>; 6-BA: 10 mg·L<sup>-1</sup>; BR: 1 mg·L<sup>-1</sup>; 壳聚糖: 20 mg·L<sup>-1</sup>; 4-IPOA: 20 mg·L<sup>-1</sup>; GA: 10 mg·L<sup>-1</sup>; ABA: 10 mg·L<sup>-1</sup>; IAA: 10 mg·L<sup>-1</sup>。

表2 2016年田间试验处理方案  
Table 2 Treatment plan for field experiment in 2016

处理编号	喷施试剂		
	五叶期	八叶期	孕茭前期
一	—	—	—
二	GA	—	—
三	GA	IAA+6-BA	—
四	GA	IAA+6-BA+ABA	—
五	—	IAA+6-BA	—
六	—	IAA+6-BA+ABA	—
七	—	BR	BR
八	—	IAA+6-BA	BR
九	—	IAA+6-BA+ABA	BR
十	4-IPOA	IAA+6-BA	—
十一	4-IPOA	IAA+6-BA+ABA	—
十二	4-IPOA	—	—
十三	—	IAA+6-BA+4-IPOA	—
十四	—	IAA+6-BA+ABA+4-IPOA	—
十五	—	4-IPOA	—

第二年由前期处理效果较好的备选孕茭调节剂及其最优喷施时间组合共形成15个处理,其中处理一为对照。“—”表示在该时期不进行喷施处理。表中所列植物生长调节剂喷施浓度分别为:6-BA: 10 mg·L<sup>-1</sup>; BR: 1 mg·L<sup>-1</sup>; 4-IPOA: 20 mg·L<sup>-1</sup>; GA: 10 mg·L<sup>-1</sup>; ABA: 10 mg·L<sup>-1</sup>; IAA: 10 mg·L<sup>-1</sup>。

#### 1.4 组织切片及苯胺蓝染色观察

固定液中取出材料,超纯水清洗振荡一二次;徒手切片,选取薄片放入2 mL离心管中,超纯水清洗一二次;用10% KOH于75°C进行透明化30~60 min,超纯水清洗二三次;苯胺蓝染色15 min,取出切片放入超纯水中洗去染料,采用普通光学显微镜观察菌丝生长状态,并拍照。

#### 1.5 DNA提取及荧光定量PCR

通过十六烷基三甲基溴化铵(cetrimonium bromide, CTAB)法对茭白植株茎部菰黑粉菌(*Ustilago esculenta* Henn.)侵染部位进行基因组DNA提取,同时参考茭白植株和菰黑粉菌的基因组信息设计引物,以茭白的单拷贝基因*ZActin*作为内参(*ZActin1-q-1F*: 5'-GACGGTGAGGATATCAAGCC-3'; *ZActin1-q-1R*: 5'-GCGAGGGCAACCGACAATAC-3'),菰黑粉菌的单拷贝基因 $\beta$ -*Actin*作为菌定量指示基因( $\beta$ -*Actin-QF*: 5'-CAATGGTTCGGGAATGTGC-3';  $\beta$ -*Actin-QR*: 5'-GGGATACTTGAGCGTGA-GA-3'),进行荧光定量PCR (qRT-PCR)。qRT-PCR采用SYBR Green I染料法,反应在StepOne Real-Time PCR System (ABI)检测系统上进行。PCR反应体系: 10  $\mu$ L SYBR *Premix Ex Taq*, 上、下游引物

(10  $\mu$ mol·L<sup>-1</sup>)各0.5  $\mu$ L, 0.5  $\mu$ L cDNA 模板, 8.5  $\mu$ L超纯无菌水。反应程序: 95°C 30 s; 95°C 30 s, 60°C 20 s, 72°C 延伸30 s, 进行40个循环。每个反应设置3个重复样品。根据qRT-PCR得到的C<sub>t</sub>值以及标准曲线,采用2<sup>- $\Delta\Delta$ C<sub>t</sub></sup>法计算单位茭白组织中菰黑粉菌所占的比重。

## 2 实验结果

### 2.1 不同植物生长调节剂对茭白孕茭的作用分析

按表1进行喷施处理后,从有茭白成熟开始(5月30日)每隔3 d进行4次采收,统计12 d内每个处理后的结茭数、有效分蘖率、壳茭重、净茭重等指标(表3)。从早期结茭数来看:处理18的作用效果较好,处理22、10、11和17次之,处理4和5最差;从壳茭重、净茭重来看,处理5的作用效果最好,处理17、13、40和31次之,而处理26和3的作用效果最差;从有效分蘖率来看,处理2、5、6和9作用效果好,处理4和17次之,处理19作用效果最差,仅有46%;综合以上数据,处理17、22和11较好,相对对照可显著提高或不影响茭白孕茭产量,且早期茭白采收数量显著提高。而结果显示:多种孕茭剂在多次喷施后效果都减弱,表明适宜



表3 不同试剂及喷施时间组合处理后茭白的生长指标测定表

Table 3 Relevant growth indices of *Z. latifolia* after different reagents and spraying time treatments

处理编号	每墩结茭数	每个壳茭重/g	每个净茭重/g	每墩分蘖数	每墩有效分蘖数	有效分蘖率/%
1	9.5±1.4 <sup>ghijklmn</sup>	115.1±5.2 <sup>n</sup>	94.3±5.3 <sup>efghij</sup>	18	15	83.33
2	9.2±1.2 <sup>ijklmn</sup>	122.0±9.9 <sup>klmn</sup>	71.9±4.6 <sup>rstu</sup>	18	18	100.00
3	10.7±2.4 <sup>efghijkl</sup>	102.3 <sup>de</sup>	70.4±6.7 <sup>rstu</sup>	22	16	72.73
4	1.5±3.1 <sup>f</sup>	140.0±4.5 <sup>cdef</sup>	119.2±3.6 <sup>b</sup>	27	26	96.30
5	2.1±2.3 <sup>ef</sup>	170.7±3.8 <sup>a</sup>	132.0±5.0 <sup>a</sup>	15	15	100.00
6	10.3±1.8 <sup>efghijklm</sup>	124.9±3.1 <sup>ijklm</sup>	96.2±2.4 <sup>efghi</sup>	15	15	100.00
7	10.5±1.7 <sup>efghijklm</sup>	129.6±3.3 <sup>ghijk</sup>	73.7±2.2 <sup>pqrstu</sup>	17	14	82.35
8	7.5±1.7 <sup>ijklmnop</sup>	145.0±3.9 <sup>bcde</sup>	87.4±1.4 <sup>hijklmn</sup>	21	14	66.67
9	11.8±3.3 <sup>efghij</sup>	126.3±7.3 <sup>ijklm</sup>	92.5±11.4 <sup>efghijk</sup>	15	15	100.00
<b>10</b>	<b>19.3±1.2<sup>bc</sup></b>	<b>125.2±8.8<sup>ijklm</sup></b>	<b>98.3±1.5<sup>defgh</sup></b>	<b>25</b>	<b>19</b>	<b>76.00</b>
<b>11</b>	<b>18.7±0.1<sup>bc</sup></b>	<b>124.9±3.8<sup>ijklm</sup></b>	<b>82.1±8.5<sup>klmnopqr</sup></b>	<b>21</b>	<b>19</b>	<b>90.48</b>
12	10.5±2.0 <sup>efghijklm</sup>	123.4±2.6 <sup>ijklmn</sup>	76.4±7.7 <sup>mnopqrs</sup>	20	16	80.00
13	11.7±2.5 <sup>efghij</sup>	150.0±2.2 <sup>b</sup>	91.9±8.9 <sup>efghijk</sup>	22	18	81.82
14	10.2±1.0 <sup>efghijklm</sup>	137.6±4.5 <sup>efgh</sup>	93.0±0.2 <sup>efghijk</sup>	22	19	86.36
15	9.2±3.7 <sup>ijklmn</sup>	125.1±4.7 <sup>cde</sup>	91.3±5.6 <sup>efghijkl</sup>	18	13	72.22
16	6.9±2.8 <sup>klmnop</sup>	128.8±8.7 <sup>b</sup>	105.2±3.0 <sup>cde</sup>	19	16	84.21
<b>17</b>	<b>17.3±0.4<sup>bcd</sup></b>	<b>148.7±5.8<sup>b</sup></b>	<b>109.3±6.2<sup>bcd</sup></b>	<b>25</b>	<b>24</b>	<b>96.00</b>
<b>18</b>	<b>30.1±1.4<sup>a</sup></b>	<b>115.1±1.9<sup>n</sup></b>	<b>79.9±2.1<sup>lmnopqrs</sup></b>	<b>37</b>	<b>32</b>	<b>86.49</b>
19	13.0±4.2 <sup>efghi</sup>	147.6±4.4 <sup>bcd</sup>	92.5±2.7 <sup>efghijk</sup>	24	11	45.83
20	9.5±1.7 <sup>hijklmn</sup>	132.6±4.3 <sup>efghij</sup>	103.0±7.7 <sup>cdef</sup>	21	17	80.95
21	10.7±4.2 <sup>efghijkl</sup>	134.1±2.1 <sup>efghi</sup>	101.5±9.3 <sup>cdef</sup>	21	16	76.19
<b>22</b>	<b>20.8±1.1<sup>b</sup></b>	<b>114.8±8.1<sup>n</sup></b>	<b>78.7±1.6<sup>mnopqrs</sup></b>	<b>26</b>	<b>22</b>	<b>84.62</b>
23	11.0±1.5 <sup>efghijk</sup>	130.0±5.0 <sup>ghijk</sup>	100.0±9.7 <sup>cdefg</sup>	19	16	84.21
<b>24</b>	<b>14.1±1.9<sup>defg</sup></b>	<b>124.4±1.4<sup>ijklm</sup></b>	<b>82.1±3.4<sup>klmnopqr</sup></b>	<b>26</b>	<b>16</b>	<b>61.54</b>
25	5.9±0.8 <sup>mnopq</sup>	124.4±5.9 <sup>ijklm</sup>	82.8±2.6 <sup>ijklmnopq</sup>	23	16	69.57
26	11.7±3.5 <sup>efghij</sup>	95.3±3.6 <sup>o</sup>	65.2±3.0 <sup>tu</sup>	21	17	80.95
27	11.2±1.9 <sup>efghijk</sup>	114.6±4.4 <sup>n</sup>	82.5±4.6 <sup>ijklmnopq</sup>	24	14	58.33
28	6.2±4.1 <sup>lmnopq</sup>	131.3±2.3 <sup>efghijk</sup>	64.2±7.2 <sup>u</sup>	23	21	91.30
29	6.0±0.8 <sup>mnopq</sup>	125.6±5.1 <sup>ijklm</sup>	84.6±1.8 <sup>ijklmnop</sup>	25	19	76.00
30	11.2±4.4 <sup>efghijk</sup>	136.7±3.3 <sup>efgh</sup>	83.9±3.4 <sup>ijklmnop</sup>	22	18	81.82
31	11.4±2.6 <sup>efghijk</sup>	139.8±5.0 <sup>def</sup>	109.8±1.8 <sup>bc</sup>	25	18	72.00
32	8.3±2.8 <sup>ijklmno</sup>	125.9±1.3 <sup>ijklm</sup>	74.9±3.8 <sup>opqrstu</sup>	21	19	90.48
33	11.3±1.1 <sup>efghijk</sup>	148.9±5.0 <sup>bc</sup>	83.8±10.3 <sup>ijklmnopq</sup>	18	16	88.89
34	9.6±2.8 <sup>ghijklmn</sup>	133.3±3.4 <sup>efghi</sup>	86.7±3.3 <sup>hijklmno</sup>	22	18	81.82
35	7.9±1.3 <sup>ijklmnop</sup>	126.8±2.4 <sup>ijklm</sup>	83.2±9.9 <sup>ijklmnopq</sup>	19	16	84.21
36	9.3±2.6 <sup>ijklmn</sup>	148.3±3.2 <sup>bcd</sup>	85.4±8.3 <sup>ijklmnop</sup>	18	14	77.78
37	7.5±1.4 <sup>ijklmnop</sup>	131.5±1.1 <sup>efghijk</sup>	93.4±7.8 <sup>efghijk</sup>	15	12	80.00
38	4.0±1.8 <sup>opqr</sup>	138.6±0.3 <sup>efg</sup>	94.3±8.4 <sup>efghij</sup>	20	15	75.00
39	11.3±0.9 <sup>efghijk</sup>	118.6±5.9 <sup>mn</sup>	76.1±10.0 <sup>nopqrst</sup>	22	17	77.27
40	13.9±2.8 <sup>defgh</sup>	133.8±4.9 <sup>efghi</sup>	110.3±4.8 <sup>bc</sup>	21	19	90.48
41	7.2±2.1 <sup>ijklmnop</sup>	131.1±2.0 <sup>efghijk</sup>	94.1±6.9 <sup>efghijk</sup>	25	22	88.00
<b>42</b>	<b>16.2±0.7<sup>cde</sup></b>	<b>132.5±8.4<sup>efghij</sup></b>	<b>108.9±4.7<sup>bcd</sup></b>	<b>23</b>	<b>19</b>	<b>82.61</b>
43	3.7±0.9 <sup>pqr</sup>	119.3±5.6 <sup>lmn</sup>	78.1±4.1 <sup>mnopqrs</sup>	23	18	78.26
<b>44</b>	<b>14.4±1.3<sup>def</sup></b>	<b>152.1±2.0<sup>b</sup></b>	<b>83.9±3.0<sup>ijklmnopq</sup></b>	<b>20</b>	<b>16</b>	<b>80.00</b>
45	11.3±2.3 <sup>efghijk</sup>	124.7±5.8 <sup>ijklm</sup>	91.9±3.2 <sup>efghijk</sup>	15	12	80.00
46	7.5±1.7 <sup>ijklmnop</sup>	129.0±3.8 <sup>ghijkl</sup>	77.5±3.3 <sup>mnopqrs</sup>	15	13	86.67
47	5.1±2.9 <sup>nopqr</sup>	142.2±10.2 <sup>cdef</sup>	102.8±12.7 <sup>cdef</sup>	25	13	52.00
48	6.3±2.1 <sup>lmnopq</sup>	132.5±10.1 <sup>efghij</sup>	83.5±3.7 <sup>ijklmnopq</sup>	19	16	84.21
49	9.4±2.8 <sup>hijklmn</sup>	136.0±2.4 <sup>efgh</sup>	88.7±2.9 <sup>ghijklm</sup>	20	13	65.00

采用单因素方差分析方法对结茭数、壳茭重和净茭重进行方差分析,用最小显著差数(least significance difference, LSD)法进行多重比较,同一指标数据用不同字母标识表示差异显著( $P<0.05$ )。加粗表示早期茭白采收数量显著高于对照的处理。

的喷施时间很重要。同时处理1和8效果最差, 由于PP333是GA的抑制剂, 且在多种激素组合中GA的应用对茭白产量及提早孕茭均好于PP333, 因此在进一步验证实验中加入茭白生长前期进行GA喷施处理。

## 2.2 促茭白早熟孕茭剂处理后菌的生长状态和菌量分析

对田间表现出早期茭白采收数量高于对照且净茭重不低于对照的处理(处理10、11、17、18、22、24、42和44)及对照处理49进行组织中菰黑粉菌生长状态的分析。组织切片后经苯胺蓝染色观察结果表明: 不同处理对菌的生长具有显著影响,

总的来说菌的数量与茭白的结茭时间及茭重呈正相关。由此我们推断出茭白膨大过程与菌量有关, 其中处理18表现得尤为明显(图1)。qRT-PCR结果(图2)分析发现, 在喷施当天, 植物组织中菌的含量较少, 而在喷施10 d后, 能促进孕茭的处理中菌的含量显著上升; 在喷施20 d后, 普遍提早孕茭的喷施组合中菌量与组织的比值都高于500, 表明此时组织中菌大量增殖, 而只有分蘖期喷施4-IPOA的处理菌量维持10 d左右的水平, 比值为300左右, 我们推测该比值可能是植株与菌比较恰当的比例, 在该情况下菌能促进茭白孕茭, 同时又不会消耗植株过多的养分导致茭白短小。

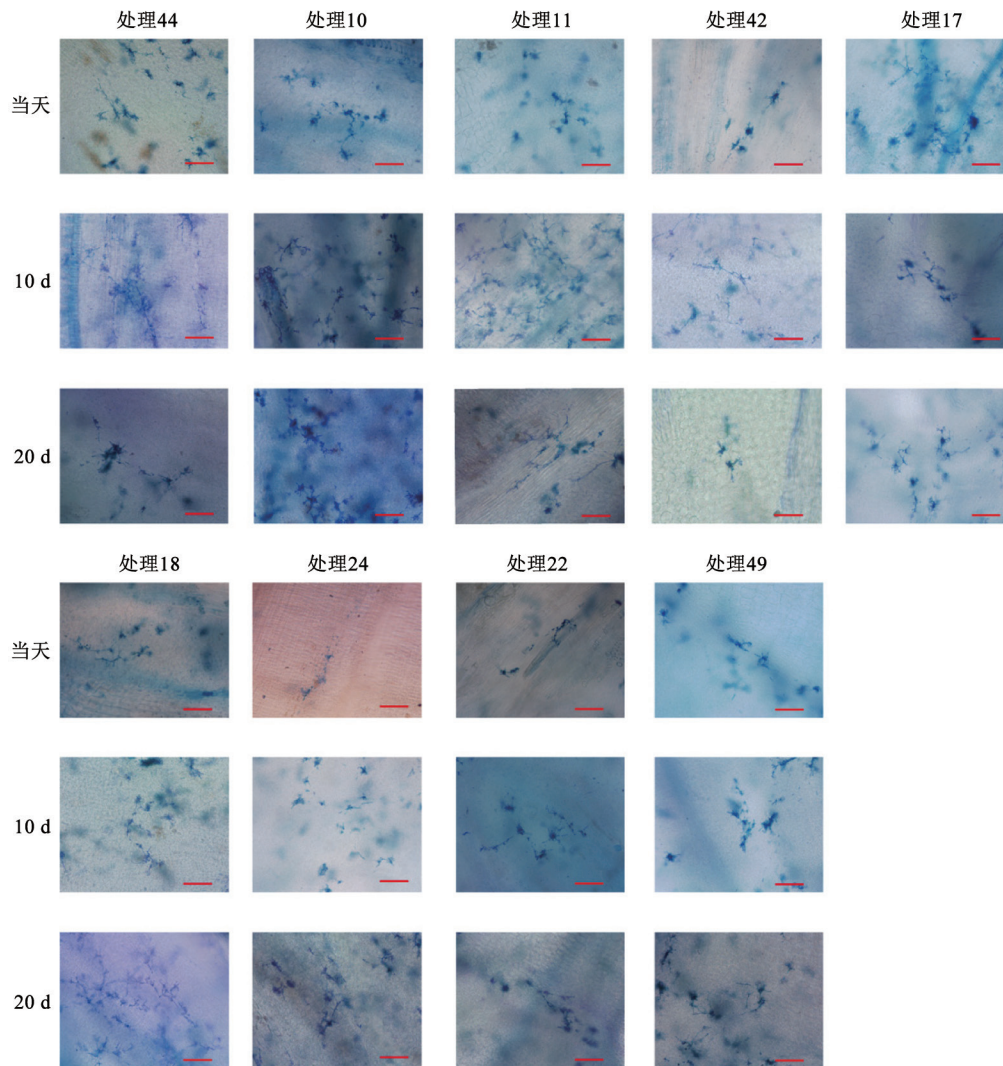


图1 苯胺蓝染色显微观察图

Fig.1 Microscope observation of *U. esculenta* stained by aniline blue  
组织切片经苯胺蓝染色后在光学显微镜下观察菌的形态和分布, 标尺为100  $\mu\text{m}$ 。

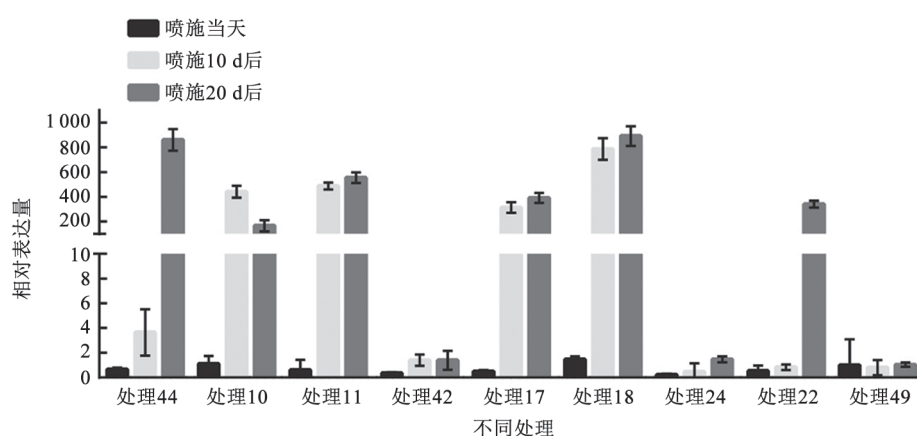


图2 不同处理中菰黑粉菌菌量变化图

Fig.2 Changes in *U. esculenta* amount after different treatments

9种处理后茭白中菰黑粉菌相对植物组织的表达量。其中处理49为八叶期的样品。

### 2.3 促茭白早熟孕茭剂的筛选分析

对田间表现出孕茭时间或产量调控有较好效果的孕茭剂处理(处理10、11、17、18、22、24、42、44等)进行进一步田间试验设计,形成第二年的处理实施表(表2)。从5月31日起对5墩茭白进行采收,连续采收4次,计算每次的结茭数量,同时对每墩的有效分蘖数、茭白的壳茭重、净茭重等分别进行测量及统计分析,并于最后一次采收时统计所有孕茭的数量(表4和图3)。结果显示:处理三、十~十五的孕茭时间比其他处理早3 d以上,且处理十~十五在第一、二次(早期)采收总数量上显著高于对

照及其他处理组,表明其能提早茭白孕茭,进一步确认了4-IPOA早期或中期喷施后对茭白提早孕茭的促进效果;而除处理四与十三外,其余处理的总结茭数均显著高于对照。结合壳茭重、净茭重及有效分蘖率等数据(表4),得到各处理田间产量统计图(图4)。结果表明在不影响产量的情况下,处理十~十二、十四和十五的早期采收(第一、二次采收)数量显著提高,具有提早孕茭的作用。此外,我们发现处理十三~十五(4-IPOA在中期喷施)相比处理十~十二(4-IPOA在早期喷施)的终产量偏低(表2),因此从综合效益考虑,早期喷施4-IPOA效果较好。

表4 15种孕茭剂喷施组合处理后茭白的生长指标测定表

Table 4 Relevant growth indices of *Z. latifolia* after 15 treatment combinations of spraying reagents and time

处理编号	5墩茭白采收总数	每墩有效分蘖数	有效分蘖率/%	壳茭重/g	净茭重/g
一	72	14.4	87.27	126.0±11.5	80.1±11.9
二	105	21.0	93.33	119.0±15.7	83.8±7.8
三	107	21.4	91.06	147.0±9.2	91.5±12.1
四	74	14.8	62.98	138.7±12.1	100.2±17.4
五	89	17.8	74.17	122.3±4.9	92.7±12.9
六	101	20.2	79.22	142.0±15.7	96.3±20.9
七	93	18.6	80.87	140.0±27.8	88.8±19.8
八	92	18.4	83.64	139.3±17.9	105.0±18.4
九	87	17.4	74.04	131.3±9.1	87.3±11.4
十	105	21.0	84.00	122.0±10.5	90.3±11.6
十一	117	23.4	95.51	132.3±6.4	87.2±18.5
十二	111	22.2	98.67	131.3±7.8	97.0±6.1
十三	82	16.4	82.00	116.0±5.0	73.3±5.6
十四	111	22.2	85.38	157.7±25.6	95.9±23.0
十五	106	21.2	94.22	126.7±4.7	90.0±28.1

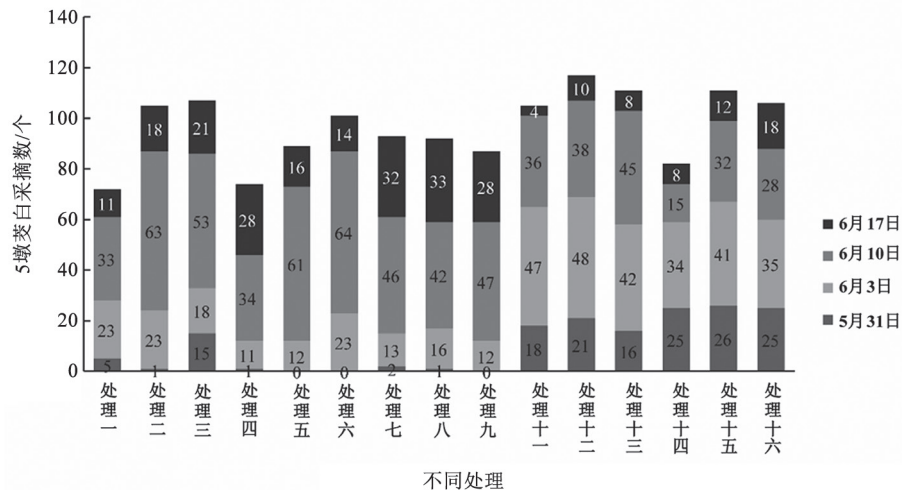


图3 不同处理在4个采收时期分别采收的茭白个数

Fig.3 The number of harvested *Z. latifolia* in four periods after different treatments

采收时间分别为5月31日、6月3日、6月10日和6月17日。试验结果为5墩茭白的总和, 数字代表每个处理下单个采收时间采收的茭白个数, 柱长代表每个处理5墩茭白采收的总量。

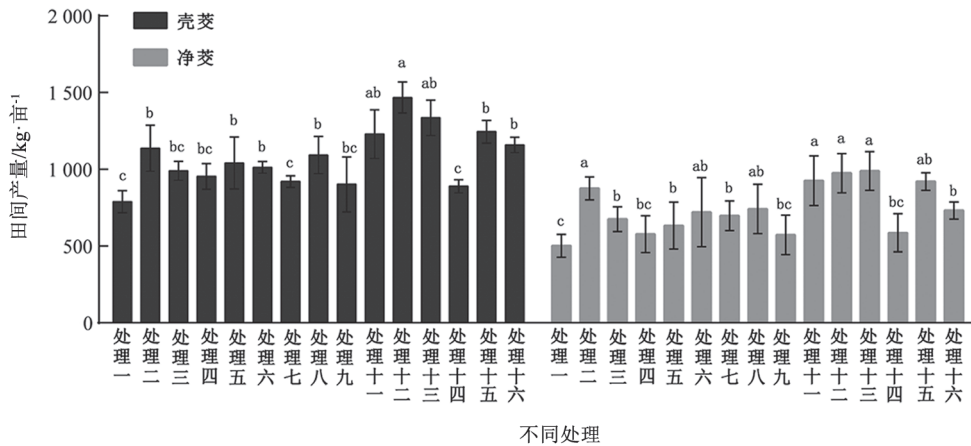


图4 不同处理后田间产量统计图

Fig.4 Statistical diagram of field yields after different treatments

以壳茭重和净茭重的均值分别对每亩的壳茭产量和净茭产量进行了估算。采用单因素方差分析方法对壳茭产量和净茭产量分别进行方差分析, 用LSD法进行多重比较, 同一指标的柱形上用不同字母标识表示差异显著( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

茭白是植物和真菌互作的结果, 是自然选择和人为选择综合的产物, 因此其内生菰黑粉菌的进化和种植环境的改良共同影响着茭白的生长和产值(Guo等2007; 俞晓平等2003)。植物生长调节剂在植物生长过程中能起到重要的作用, 且有研究表明其还影响着植物对菌侵染的抵抗能力, 即菰黑粉菌可能也受到植物生长调节剂的作用, 从

而影响着茭白的孕茭时间及产量(应荣等2014; 江解增等2004)。

第一年通过不同孕茭剂及不同喷施时间的组合试验我们发现, 在八叶期喷施4-IPOA、BR以及ABA+6-BA+IAA的组合均可以显著提早孕茭时间, 但是结合其他数据我们发现该提早孕茭方法导致了茭白品质的下降, 包括茭白的外形变短变小, 单个净茭重显著低于对照, 伴随着茭白内真菌的大量增殖(表3、图1和2)。因此我们认为菌的大



量增殖虽然可以提早茭白孕茭,但是可能损耗了植物的大量营养,使得茭白孕茭后不能持续膨大,从而影响了最终的品质,合理增加施肥或许可以弥补茭白品种的缺陷。而在五叶期喷施4-IPOA的处理结果表明其不仅使得茭白早期采收量显著增加,且茭长、茭宽均显著大于对照,净茭重等指标显著优于对照(表3),因此我们认为4-IPOA是比较好的孕茭时间调节剂,并且最佳喷施时间在五叶期,可能与其在植物中负责调控营养运输有关(Chen等1981)。此外实验也给出了其他可以调节茭白孕茭产量的方式,如细胞分裂素的早期喷施等(表3)。

进一步田间试验对筛选出的效果较好的孕茭剂搭配组合并分析喷施时间的影响,结果发现:中期增加喷施IAA+6-BA+ABA的组合并没有显著提高GA、4-IPOA及BR的促提早孕茭效果,仅对单个茭白的重量具有一定的促进效果(图3和表4)。而在五叶期喷施4-IPOA不仅能提高早期茭白采收量,且有效分蘖率、净茭重等指标显著优于对照,因此本实验认为早期喷施4-IPOA具有促提早孕茭及增加产量的效果,而早期喷施GA可以增加茭白的孕茭率,相比而言,BR的促进效果一般,且价格昂贵,暂不作考虑。因此综合采收时间、结茭率、茭白品质及价格优势等多方面因素,我们认为4-IPOA是比较好的孕茭调节剂,并且最佳喷施时间在五叶期。该试验结果为进一步研究茭白孕茭及进行茭白品质培育提供依据,为茭白种植及管理提供了田间指导。

### 参考文献(References)

- Chen J, Miao G, Fang Z (1981). Effects of 4-iodophenoxyacetic acid on the growth and development of gametophytes and young sporophytes of *Laminaria japonica* Aresch. *Acta Oceanol Sin*, 3 (4): 610–616 (in Chinese with English abstract) [陈家鑫, 缪国荣, 方宗熙(1981). 4-碘苯氧乙酸影响海带配子体和幼孢子体生长发育的研究. *海洋学报*, 3 (4): 610–616]
- Fariduddin Q, Yusuf M, Ahmad I, et al (2014). Brassinosteroids and their role in response of plants to abiotic stresses. *Biol Plantarum*, 58 (1): 9–17
- Guo HB, Li SM, Peng J, et al (2007). *Zizania latifolia* Turcz. cultivated in China. *Genet Resour Crop Evol*, 54 (6): 1211–1217
- Jiang J, Cao B, Huang K, et al (2005). Changes of NSC, enzymes and endogenous hormones during zizania gall's swelling. *Acta Horti Sin*, 32 (1): 134–137 (in Chinese with English abstract) [江解增, 曹碚生, 黄凯丰等(2005). 茭白肉质茎膨大过程中的糖代谢与激素含量变化. *园艺学报*, 32 (1): 134–137]
- Jiang JZ, Qiu JJ, Han XQ, et al (2004). Changes of endogenous hormone contents of different parts during development of water bamboo (*Zizania latifolia*). *J Wuhan Bot Res*, 22 (3): 245–250 (in Chinese with English abstract) [江解增, 邱娟娟, 韩秀芹等(2004). 茭白生育过程中地上各部位内源激素的含量变化. *武汉植物学研究*, 22 (3): 245–250]
- Krishna P (2003). Brassinosteroid-mediated stress responses. *J Plant Growth Regul*, 22 (4): 289–297
- Li ZH, Zhao YD, Zeng R, et al (2014). Variation of endogenous hormone contents of tobacco plant response to black shank bio-control bacteria inoculation. *J West China For Sci*, 43 (1): 85–89 (in Chinese with English abstract) [李祖红, 赵银朵, 曾嵘等(2014). 施用烟草黑胫病生防菌LL对烟草内源激素含量的影响. *西部林业科学*, 43 (1): 85–89]
- Lin YL, Lin CH (1990). Involvement of tRNA bound cytokinin on the gall formation in *Zizania*. *J Exp Bot*, 41 (224): 277–281
- Wu Y, Xie Q (2006). ABA and plant stress response. *Chin Bull Bot*, 23 (5): 511–518 (in Chinese with English abstract) [吴耀荣, 谢旗(2006). ABA与植物胁迫抗性. *植物学通报*, 23 (5): 511–518]
- Xing A, Cui H, Yu X, et al (2015). Breeding of double-cropping *Zizania latifolia* variety 'Zhejiao 7'. *J Changjiang Veg*, 22: 53–54 (in Chinese with English abstract) [邢阿宝, 崔海峰, 俞晓平等(2015). 双季茭白品种浙茭7号的选育. *长江蔬菜*, 22: 53–54]
- Yan TT, Li T, Zhu YH (2014). The multiple roles of ABA in plant-pathogen interactions. *J Anhui Agr Sci*, 42 (11): 3278–3279, 3281 (in Chinese with English abstract) [严婷婷, 李韬, 朱廷恒(2014). ABA在植物-病原菌互作中的多重作用. *安徽农业科学*, 42 (11): 3278–3279, 3281]
- Yang HC, Leu LS (1978). Formation and histopathology of galls induced by *Ustilago esculenta* in *Zizania latifolia*. *Phytopathology*, 68 (11): 1572–1576
- Ying R, Cui HF, Ni FQ, et al (2014). Effects of fungicide fenaminosulf and plant growth regulator on gall formation of *Zizania latifolia*. *Plant Physiol J*, 50 (7): 946–952 (in Chinese with English abstract) [应荣, 崔海峰, 倪方群等(2014). 杀菌剂敌磺钠及植物生长调节剂对茭白孕茭的影响. *植物生理学报*, 50 (7): 946–952]
- You W, Liu Q, Zou K, et al (2011). Morphological and molecular differences in two strains of *Ustilago esculenta*. *Curr Microbiol*, 62: 44–54
- You WY, Zou KQ, Yu XP, et al (2010). Isolation and identification of *Ustilago esculenta* and detection of plant hor-

- mones in the fermentation broth. *Mycosystema*, 29 (2): 178–184 (in Chinese with English abstract) [尤文雨, 邹克琴, 俞晓平等(2010). 菰黑粉菌的分离鉴定及其发酵液中植物激素的检测. *菌物学报*, 29 (2): 178–184]
- Yu XP, Li JR, Shi JM, et al (2003). The aquatic vegetable, jiaobai (*Zizania caduciflora* L.) and its safe production in Zhejiang province. *Acta Agr Zhejiangensis*, 15 (3): 109–117 (in Chinese with English abstract) [俞晓平, 李建荣, 施建苗等(2003). 水生蔬菜茭白及其无害化生产技术. *浙江农业学报*, 15 (3): 109–117]
- Zhang JZ, Chu FQ, Guo DP, et al (2012). Cytology and ultrastructure of interactions between *Ustilago esculenta* and *Zizania latifolia*. *Mycol Prog*, 11 (2): 499–508
- Zhang JZ, Chu FQ, Guo DP, et al (2014). The vacuoles containing multivesicular bodies: a new observation in interaction between *Ustilago esculenta* and *Zizania latifolia*. *Eur J Plant Pathol*, 138: 79–91
- Zhang SF, Zhen ZS, Zhang L, et al (2014). Effect of different cultivation modes on growth and development and economic benefit of summer water bamboo. *J Anhui Agr Sci*, 42 (28): 9693–9695 (in Chinese with English abstract) [张尚法, 郑寨生, 张雷等(2014). 不同栽培模式对夏茭生长发育及效益的影响. *安徽农业科学*, 42 (28): 9693–9695]
- Zhu XC, Zhang HM, Nan WB (2017). Research progress on regulation of ABA in plant root development. *Plant Physiol J*, 53 (7): 1123–1130 (in Chinese with English abstract) [朱晓琛, 张汉马, 南文斌(2017). 脱落酸调控植物根系生长发育的研究进展. *植物生理学报*, 53 (7): 1123–1130]

## Effects of plant growth regulators on galls formation of *Zizania latifolia*

CHEN Yue<sup>1</sup>, WENG Li-Qing<sup>2</sup>, ZHENG Chun-Long<sup>3</sup>, YE Si-Shi<sup>1</sup>, HUANG Zheng-Hao<sup>1</sup>, YE Zi-Hong<sup>1</sup>, CUI Hai-Feng<sup>1</sup>, ZHANG Ya-Fen<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>Zhejiang Provincial Key Laboratory of Biometrology and Inspection & Quarantine, College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China

<sup>2</sup>Yuyao Institute of Agriculture Science, Yuyao, Zhejiang 315400, China

<sup>3</sup>Public Service Center for Modern Agricultural at Hemudu of Yuyao, Yuyao, Zhejiang 315414, China

**Abstract:** As the second major aquatic vegetable in China, *Zizania latifolia* is very popular for its high nutritional and medicinal values. However, *Z. latifolia* always appears centralized ripening, leading to a lack of price advantage. Therefore, early harvest has become the urgent needs of farmers. Studies show that the formation of swollen stem is closely related to the endophytic fungus, *Ustilago esculenta* and the levels of endogenous hormones. Therefore, 8 different plant growth regulators and its combinations were first selected as alternative gall formation regulators and 4 different spraying times were set, through the randomized block experiment. Random sampling method was adopted to measure the growth regulators during the harvest period. Furthermore, the real time fluorescence quantitative PCR and freehand slice method were performed to detect the growth status of *U. esculenta*. The combinations and their specific spraying time, which could promote earlier harvest were screened, and further confirmed through next randomized block experiment. Results show that 4-iodophenoxyacetic acid (4-IPOA), spraying at tillering stage, could promote the moderate proliferation of *U. esculenta*, induce galls formation earlier but not affect the yields. So 4-IPOA could be an ideal plant growth regulator for the purpose of earlier harvest of *Z. latifolia*.

**Key words:** *Zizania latifolia*; *Ustilago esculenta*; plant growth regulator; 4-iodophenoxyacetic acid

Received 2018-07-02 Accepted 2018-09-17

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (31600634 and 31770828), and the Scientific Research Innovation Program for College Student of Zhejiang Province (2018R409022).

\*Corresponding author (yfzhang@cjlu.edu.cn).