

文章编号: 1674-8085(2020)04-0047-05

壬酸对克隆植物积雪草组培苗生长的影响

*王 宁¹, 王文静¹, 杜 丽², 曾建军¹, 周 兵¹, 闫小红¹

(1. 井冈山大学生命科学学院, 江西, 吉安 343009; 2. 井冈山大学建筑工程学院, 江西, 吉安 343009)

摘 要: 以克隆植物积雪草为研究对象, 通过添加不同剂量的挥发性有机化合物壬酸, 对其组培苗的存活率、生长形态和生物量变化等进行了研究。结果发现: 不同壬酸处理对积雪草组培苗的叶片数量、叶柄均长、叶片生物量、叶柄生物量和愈伤组织生物量等未产生显著影响, 但对叶柄总长度、根生物量、匍匐茎生物量和总生物量等产生了显著影响。其中, 6 μL 和 8 μL 壬酸处理显著不利于积雪草组培苗的正常生长, 8 μL 壬酸处理下的组培苗不仅死亡率高, 而且均不产生根系; 2 μL 和 4 μL 壬酸处理则有利于组培苗匍匐茎的产生, 并显著提升其根系生物量、匍匐茎生物量和总生物量。本研究预示: 适量的壬酸添加可以在一定程度上改变克隆植物幼苗的形态可塑性, 促使其匍匐茎等克隆器官的生长, 进而可能会影响其觅食行为的发生。

关键词: 克隆植物; 积雪草; 壬酸; 植物组织培养; 生长形态

中图分类号: Q948.1

文献标识码: A

DOI:10.3969/j.issn.1674-8085.2020.04.001

EFFECTS OF NONANOIC ACID ON THE GROWTH OF TISSUE CULTURE SEEDLING OF CLONAL PLANT *CENTELLA ASIATICA*

*WANG Ning¹, WANG Wen-Jing¹, DU Li², ZENG Jian-Jun¹, ZHOU Bing¹, YAN Xiao-Hong¹

(1. School of Life Sciences, Jinggangshan University, Ji'an, Jiangxi 343009, China;

2. School of Building Engineering, Jinggangshan University, Ji'an, Jiangxi 343009, China)

Abstract: The survival rate, growth morphology and biomass of tissue culture seedling of clonal plant *Centella asiatica* were studied by adding different doses of volatile organic compound nonanoic acid. The results showed that different nonanoic acid treatments had no significant effects on leaf number, petiole length, leaf biomass, petiole biomass and callus biomass, but had significant effects on total petiole length, root biomass, stolon biomass and total biomass. Among them, 6 μL and 8 μL nonanoic acid treatment significantly damaged the normal growth of tissue culture seedlings, 8 μL nonanoic acid treatment not only had high mortality, but also did not produce roots; 2 μL and 4 μL nonanoic acid treatment was conducive to the production of stolon of tissue culture seedlings, and significantly increased the root biomass, stolon biomass and total biomass. This study indicated that the addition of nonanoic acid could change the morphological plasticity of clonal plants to a certain extent, promote the growth of clonal organs such as stolon, and then may affect the foraging behavior of clonal plants.

Key words: clonal plant; *Centella asiatica*; nonanoic acid; plant tissue culture; growth morphology

收稿日期: 2020-03-17; 修改日期: 2020-05-06

基金项目: 国家自然科学基金项目(31660123, 31760122, 31760123); 江西省教育厅科技计划项目(GJJ180555, GJJ190555)

作者简介: *王 宁(1979-), 男, 山东淄博人, 副教授, 博士, 主要从事植物生态学研究(E-mail: wangning13@126.com);

王文静(1996-), 女, 河南周口人, 生命科学院生物科学专业2016级本科生(E-mail: 2010131093@qq.com);

杜 丽(1982-), 女, 山东东营人, 讲师, 博士, 主要从事植物生态学研究(E-mail: duLiuu@126.com);

曾建军(1973-), 女, 江西吉安人, 副教授, 博士, 主要从事植物生态学研究(E-mail: jianjunzeng@139.com);

周 兵(1977-), 男, 湖北黄梅人, 副教授, 博士, 主要从事植物生态学研究(E-mail: zhoubing113@126.com);

闫小红(1977-), 女, 内蒙古赤峰人, 副教授, 博士, 主要从事植物生态学研究(E-mail: yanxiaohong325@126.com).

植物生长所需的资源在自然界中常呈异质性分布,克隆植物可通过资源共享、分株选择性放置和克隆分工等方式对资源异质性做出生长响应,这体现了克隆植物的觅食行为策略^[1-4]。以往针对克隆植物觅食行为的研究,主要围绕其新生分株定居后克隆分株的形态可塑性、克隆整合等特性开展,而忽视了其新生分株生长初期对资源异质性的识别研究,这导致了对克隆植物觅食行为研究的不足^[5-7]。近年来,随着GCMS等技术的广泛应用,研究者发现挥发性有机物会显著影响植物的生长形态^[8-10]。因此,对挥发性有机物作用下的克隆植物生长响应进行研究,逐渐成为克隆植物生态学领域的关注点^[11-12]。

壬酸是一种自然界中广泛存在的脂肪酸,不仅常见于动物和植物体内,而且在土壤挥发性有机物中也得到分离鉴定^[11]。目前,壬酸已被证明可以显著影响植物的生长发育,并作为生物源除草剂和植物生长促进剂加以应用^[13-16]。事实上,以往研究多关注壬酸对非克隆植物的生长影响,而对克隆植物的生长影响研究较少。相比非克隆植物,克隆植物在壬酸作用下可能会通过调整自身生长形态而表现出更为显著的觅食行为。然而,类似研究国内却较少开展。因此,本研究以克隆植物积雪草(*Centella asiatica*)为研究对象,通过壬酸微量添加实验对其组培苗的生长形态、生物量变化等进行观测,以探索克隆植物在土壤挥发性有机物作用下的生长响应,从而为克隆植物觅食行为研究提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料及地点

积雪草是一种多年生伞形科草本植物,主要分布于南北半球热带和亚热带地区^[17]。其匍匐茎细长,茎节处易生根,属于典型的游击型克隆植物^[18]。本实验所用积雪草取自井冈山大学北区生物园温室,组培苗相关实验在井冈山大学北区生物园组培室开展,壬酸标准品由上海瀚思化工有限公司提供。

1.2 研究方法

1.2.1 外植体培养

选择温室内长势良好的积雪草匍匐茎段剪成5 cm长度装在烧杯中,并用两层纱布封口,用自来水冲洗10 min洗去沙尘,滤去水后再用75%的酒精进行擦拭,置于灭菌的烧杯中。在无菌操作台上,用75%的酒精浸泡30 s,用无菌水洗去酒精,用0.2%的升汞浸泡5 min,再用无菌水洗6遍,并放在无菌滤纸上滤干^[19-20]。滤干后切去茎段前后较长的部分,留3 cm长度插入组培瓶(240 mL)中的培养基进行培养。培养基配方为:MS+0.1mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+30g/L蔗糖+0.1g/L活性炭+4.5g/L琼脂。组培室温度控制在 (26 ± 2) °C,外植体每天24 h光照培养一个月。

1.2.2 壬酸的添加

2019年7月4日,在无菌操作台上准备好已经灭菌的一次性针管、过滤膜、移液枪、EP管等材料。用一次性针管吸取一定量的壬酸,去掉针头后再把过滤器膜装在一次性针管上,然后缓慢推动注射器,把壬酸溶液过滤到EP管中待用。然后,选择前期培养的、生长良好的30株积雪草外植体,在无菌操作台上切去多余的叶片及愈伤组织,最终使每个植株保留3~4片叶并大小近似。接着把切好的植株插在培养瓶(240 mL)的斜面培养基上(MS+0.1 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+30g/L蔗糖+0.1g/L活性炭+4.5 g/L琼脂),每瓶1株。最后,按照不同剂量吸取EP管中的壬酸,添加在每个培养瓶的瓶底空白部分并避免直接接触积雪草植株。该实验共设置5种不同壬酸用量添加处理(0 μ L, 2 μ L, 4 μ L, 6 μ L, 8 μ L),每个处理设置6个重复。组培苗所在培养室温度控制在 26 ± 2 °C,每天24 h光照培养。

1.2.3 生物量的测定

在2019年8月5日对积雪草组培苗进行收获,收获时记录不同处理下植株的存活及叶片生长情况,测量每个植株的叶片数量、叶柄长度、匍匐茎长度,然后将其分为叶片、叶柄、根、愈伤组织和匍匐茎等部分,在70 °C烘箱中烘干24 h后分别测其生物量。其中,0 μ L和2 μ L两个处理中各有一瓶组培苗在实验期间被污染,因而收获时这2个样品被舍弃。

1.2.4 数据处理

利用Excel 2019进行数据整理,使用SPSS 22.0对符合正态分布和方差齐性的数据进行单因素方

差分析,对方差不齐的数据进行非参数检验,对差异性显著的处理使用LSD法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 壬酸对积雪草组培苗的存活影响

表 1 不同壬酸处理对积雪草组培苗存活及形态影响

Table 1 Effects of different nonanoic acid treatment on survival and morphology of *C. asiatica* seedling

处理	植株死亡率/%	叶片干枯发生率/%	匍匐茎产生率/%	根系产生率/%	叶片数量/个	叶柄均长/cm	叶柄总长/cm
0 μ L	0	0	0	100	6.00 $\pm$ 0.95	3.26 $\pm$ 0.41	20.50 $\pm$ 0.54 ab
2 μ L	20	20	60	80	7.60 $\pm$ 1.50	3.59 $\pm$ 0.40	26.52 $\pm$ 4.33 a
4 μ L	0	0	16.67	83.33	5.33 $\pm$ 0.72	3.75 $\pm$ 0.25	20.65 $\pm$ 3.20 ab
6 μ L	0	83.33	0	83.33	5.00 $\pm$ 0.45	2.78 $\pm$ 0.45	13.38 $\pm$ 1.97 b
8 μ L	66.67	100	0	0	4.33 $\pm$ 0.49	2.81 $\pm$ 0.30	11.80 $\pm$ 1.48 b

注: 1. 同列数据后所标不同小写字母表示在5%水平的差异($P < 0.05$), 未标记的表示不存在显著差异; 2. 表中数据为: 均值 $\pm$ SE。

表1显示,在0、2、4 μ L三种壬酸添加处理下,仅有2 μ L处理中的1株积雪草出现死亡,其余植株全部存活且叶片无干枯现象;在6 μ L壬酸处理下,6株积雪草植株中有5株出现叶片干枯现象;在8 μ L壬酸处理下,6株积雪草植株中有4株死亡(死亡率为: 66.67%),剩余的2株也出现了叶片干枯现象。上述结果这表明,在超过一定的添加剂量后,壬酸可能会显著降低积雪草组培苗的存活率。

表 2 不同壬酸处理下积雪草组培苗各指标方差分析

Table 2 Variance analysis of *C. asiatica* seedling growth in different nonanoic acid treatment

变异来源	平方和	自由度	均方	F值	P值
叶片数量	32.990	4	8.248	2.065	0.119
叶柄均长	4.573	4	1.143	1.534	0.226
叶柄总长	793.530	4	198.382	3.086	0.036
根生物量	0.002	4	0.001	5.889	0.002
叶片生物量	0.001	4	< 0.001	2.210	0.100
叶柄生物量	0.001	4	< 0.001	2.415	0.078
愈伤组织生物量	0.001	4	< 0.001	1.295	0.301
总生物量	0.019	4	0.005	4.186	0.011

2.2 壬酸对积雪草组培苗的生长形态影响

表1和表2显示,不同壬酸处理对积雪草组培苗的叶片数量($P=0.119$)和叶柄平均长度($P=0.226$)

未产生显著影响,但对叶柄总长度产生了显著影响($P=0.036$)。其中,2 μ L壬酸处理中有3株(60%)积雪草组培苗产生了匍匐茎,4 μ L处理中有1株(16.67%)产生了匍匐茎,其余处理则未产生匍匐茎。在根系产生方面,8 μ L处理抑制了积雪草全部组培苗根系的产生,而其他处理影响较小。随着壬酸用量的增加,其叶片数量和叶柄平均长度均呈现出先升高而降低的趋势;在叶柄总长度方面,2 μ L壬酸处理要显著高于6 μ L、8 μ L壬酸处理。

2.3 壬酸对积雪草组培苗的生物量影响

表 2 和表 3 显示,不同壬酸处理对积雪草组培苗的叶片生物量($P=0.100$)、叶柄生物量($P=0.078$)和愈伤组织生物量($P=0.301$)未产生显著影响,但对其根生物量($P=0.002$)、匍匐茎生物量($P=0.037$)和总生物量($P=0.011$)均产生显著影响。表 3 显示,相比其他壬酸添加处理,2 μ L、4 μ L 两种处理显著增加了积雪草组培苗的根生物量、匍匐茎生物量,并显著提升了其总生物量。而且相比其他实验处理,6 μ L、8 μ L 两种处理下的积雪草组培苗的各器官生物量均呈现一定的下降趋势。

表 3 不同壬酸处理对积雪草组培苗生物量影响

Table 3 Effects of different nonanoic acid treatment on biomass of *C. asiatica* seedling

处理	根生物量/mg	叶片生物量/mg	叶柄生物量/mg	愈伤组织生物量/mg	匍匐茎生物量/mg	总生物量/mg
0 μ L	0.74 $\pm$ 0.37 b	3.23 $\pm$ 0.30	1.97 $\pm$ 0.30	2.52 $\pm$ 0.93	0 b	8.46 $\pm$ 1.33 b
2 μ L	2.35 $\pm$ 0.79 a	3.33 $\pm$ 0.63	2.21 $\pm$ 0.53	2.38 $\pm$ 0.65	0.28 $\pm$ 0.12 ab	10.56 $\pm$ 2.33 a
4 μ L	2.12 $\pm$ 0.49 a	3.22 $\pm$ 0.47	2.29 $\pm$ 0.46	2.54 $\pm$ 0.57	0.13 $\pm$ 0.13 a	10.29 $\pm$ 1.55 a
6 μ L	0.50 $\pm$ 0.18 b	2.32 $\pm$ 0.52	1.19 $\pm$ 0.27	1.38 $\pm$ 0.16	0 b	5.38 $\pm$ 0.81 b
8 μ L	0 b	1.83 $\pm$ 0.30	1.08 $\pm$ 0.27	1.35 $\pm$ 0.29	0 b	4.26 $\pm$ 0.84 b

注: 1. 同列数据后标不同小写字母表示在5%水平的差异($P < 0.05$), 未标记的表示不存在显著差异; 2. 表中数据为: 均值 $\pm$ SE; 3. 匍匐茎生物量数据为非参数检验结果。

3 讨论

一定剂量的壬酸施加可对目标植物的生长产生显著性差异,并对其存活产生重要影响。已有研究发现,壬酸可以穿透植物的细胞膜,引起光触发的过氧化反应并破坏植物的叶绿体,造成叶片褪绿失活^[21]。利用30%壬酸水剂对非耕地的一年生杂草进行防除时,处理7 d防效可达85%以上且对环境无明显不良影响^[16]。当对入侵植物三裂叶豚草(*Ambrosia trifida*)施加10%壬酸水剂时,其植株存活率和结籽率均显著下降^[14]。本研究亦发现,当添加6 μL 和8 μL 壬酸剂量时,积雪草组培苗的叶片开始出现明显的叶片干枯现象,并呈现较高的死亡率。与之相反的是,当对绿豆(*Vigna radiata*)施加25 mg/L的壬酸时,其发芽率、发芽势和干重均得到显著提高^[15]。而本研究中添加2 μL 和4 μL 壬酸剂量时,积雪草组培苗不仅生长良好,而且其根生物量和总生物量均得到显著提升。以上结果表明,随着浓度和用量的不同,壬酸既可以作为一种较好的生物源除草剂,也可以当作植物生长促进剂使用。

在植物表型可塑性方面,挥发性有机物已经被证明可以显著影响植物的形态可塑性。Minerdi等^[22]研究发现, β -石竹烯能够显著促进莴苣(*Lactuca sativa*)根系和茎枝的伸长。张鹏鹏^[8]研究发现,土壤微生物挥发物能够显著促进拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)的生长并改变其根系构型。而对于克隆植物林地草莓(*Fragaria vesca*)来说,土壤中释放出的挥发性有机物可以显著改变其生物量投资策略,并导致其匍匐茎的生长方向发生选择性偏离^[5, 11]。本研究发现2 μL 和4 μL 的壬酸添加剂量,可促使积雪草组培苗产生匍匐茎并显著提升其叶柄总长度。匍匐茎的产生,有利于积雪草产生更多的分株,从而占据更多的生长空间。在积雪草组培苗叶柄生物量未显著增加的情况下,其叶柄总长度却显著增加,这表明壬酸添加显著影响了积雪草组培苗的叶柄形态可塑性表达。上述结果预示,一定剂量的壬酸添加能够改变克隆植物的表型可塑性,进而可能对其觅食行为产生一定影响。

此外,需要指出的是本实验周期为1个月且未对积雪草组培苗的叶片生理活性等指标进行测定,

这限制了对其生长形态变化的相关生理机制解释。在今后的研究工作中,可进一步增加实验处理时间和克隆植物的种类,测定壬酸影响下克隆植物植株的相关生理生化指标,同时结合其生长形态指标变化,综合评判壬酸对克隆植物表型可塑性和觅食行为的影响。

参考文献:

- [1] 董鸣. 资源异质性环境中的植物克隆生长:觅食行为[J]. 植物学报, 1996, 38(10): 828-835.
- [2] 董鸣. 克隆植物生态学[M]. 北京: 科学出版社, 2011: 51-56.
- [3] 戴文红, 肖宜安, 宋垚彬, 等. 悬崖与非悬崖生境下中华山蓼克隆整合能力及其表型差异比较[J]. 井冈山大学学报: 自然科学版, 2017, 38(2): 40-46.
- [4] Martínková J, Klimeš A, Klimešová J. No evidence for nutrient foraging in root-sprouting clonal plants[J]. Basic and Applied Ecology, 2018, 28: 27-36.
- [5] Waters E M, Watson M. Live substrate positively affects root growth and stolon direction in the woodland strawberry, *Fragaria vesca*[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6: 814.
- [6] Cain M L. Consequences of foraging in clonal plant species[J]. Ecology, 1994, 75(4): 933-944.
- [7] van Kleunen M, Fischer M. Adaptive evolution of plastic foraging responses in a clonal plant[J]. Ecology, 2001, 82(12): 3309-3319.
- [8] 张鹏鹏. 几株植物根际促生细菌释放的挥发性物质对拟南芥及病原菌的影响[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013.
- [9] Fincheira P, Venthur H, Mutis A, et al. Growth promotion of *Lactuca sativa* in response to volatile organic compounds emitted from diverse bacterial species[J]. Microbiological Research, 2016, 193: 39-47.
- [10] Kanchiswamy C N, Malnoy M, Maffei M E. Chemical diversity of microbial volatiles and their potential for plant growth and productivity[J]. Frontiers in Plant Science. 2015, 6: 151.
- [11] Waters E M, Soini H A, Novotny M V, et al. Volatile organic compounds (VOCs) drive nutrient foraging in the clonal woodland strawberry, *Fragaria vesca*[J]. Plant and Soil, 2016, 407(1): 261-274.
- [12] Weidenhamer J D. Plant olfaction: using analytical chemistry to elucidate mechanisms of plant growth and

- interaction[J]. *Plant and Soil*, 2016, 407(1): 275-278.
- [13] 钱振官,沈国辉,李涛,等. 植物源除草剂壬酸除草活性及其应用技术的研究[J]. *上海农业学报*. 2010,26(2): 1-4.
- [14] 张小利,崔建臣,姚丹丹,等. 植物源壬酸水剂对三裂叶豚草的防除效果[J]. *植物保护*. 2018,44(2): 227-230.
- [15] 程艳丽,唐婷,吕建洲. 壬酸对绿豆种子萌发及幼苗生长发育的影响[J]. *生物技术世界*. 2016,10(4): 40.
- [16] 刘婕,李良德,姜春来,等. 生物源除草剂壬酸对非耕地杂草的防治作用[J]. *中国农学通报*. 2012,28(27): 246-249.
- [17] 骆鹰,李常健,于静,等. 积雪草的组织培养与快速繁殖试验[J]. *湖北农业科学*. 2012,51(10): 2132-2134,2139.
- [18] 刘富俊,黎云祥,廖咏梅,等. 异质性重金属镉胁迫下克隆整合对匍匐茎草本植物积雪草生长的影响[J]. *植物生态学报*. 2011,35(8): 864-871.
- [19] 于静,谢会兰,李光辉,等. 积雪草组织培养外植体的灭菌方法[J]. *湖南科技学院学报*. 2010,31(12): 52-54.
- [20] 苏钰琴,蒋向军. 积雪草离体快繁技术研究[J]. *现代农业科技*. 2015,44(9): 72-73.
- [21] Lederer B, Fujimori T, Tsujino Y, et al. Phytotoxic activity of middle-chain fatty acids II: peroxidation and membrane effects[J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2004, 80(3): 151-156.
- [22] Minerdi D, Bossi S, Maffei M E, et al. *Fusarium oxysporum* and its bacterial consortium promote lettuce growth and expansin A5 gene expression through microbial volatile organic compound (MVOC) emission[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2011, 76(2): 342-351.