

# 苯甲酸、肉桂酸对西瓜幼根生长、显微及超微结构的影响

孙会军<sup>1</sup>, 孙令强<sup>2</sup>, 王 倩<sup>3</sup>

(1. 中国农业大学 图书馆, 北京 100094; 2. 青岛市种子站, 山东 青岛 266108;

3. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100094)

**摘要:** 自毒作用是导致西瓜连作障碍的重要因素之一。本试验是利用已知的西瓜主要自毒物质——苯甲酸和肉桂酸, 研究其对西瓜幼根的生长、显微结构及超微结构的影响。用苯甲酸、肉桂酸处理萌发的西瓜种子能显著影响西瓜幼根的生长。随着苯甲酸、肉桂酸处理浓度的增大, 胚根长度变短。观察根尖的显微结构及超微结构发现: 苯甲酸、肉桂酸处理可导致根尖细胞的细胞核变形, 核仁异常, 细胞质稀疏, 液泡增多、变大。苯甲酸对液泡的影响比肉桂酸大, 而对核仁的影响, 肉桂酸比苯甲酸大。

**关键词:** 西瓜; 苯甲酸; 肉桂酸; 显微结构; 超微结构

**中图分类号:** S651      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-7091(2006)增刊-0077-04

## Effects of Benzoic Acid and Cinnamic Acid on Radicle Growth, Microstructure and Ultrastructure of Watermelon

SUN Hui-jun<sup>1</sup>, SUN Ling-qiang<sup>2</sup>, WANG Qian<sup>3</sup>

(1. China Agricultural University Library, Beijing 100094, China;

2. Qingdao Seed Station, Qingdao 266108, China;

3. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

**Abstract:** Inhibitory effect is one of the important factors causing the problem in continual watermelon mono-cropping system. The study was about the effects of main inhibitory substance — benzoic acid and cinnamic acid on radicle growth, microstructure and ultrastructure of watermelon. Benzoic acid and cinnamic acid significantly effected watermelon radicles elongation. With the increasing of benzoic acid and cinnamic acid concentration, the growth speed was decreased, and the radicles were short. Through the observation to the root tip microstructure and ultrastructure it was found that benzoic acid and cinnamic acid could result to root tip nuclei irregular, nucleolus abnormal, and cytoplasm sparse. Vacuoles became more and bigger. The Effects of benzoic acid treated on vacuoles was more significant than cinnamic acid treated. But to nucleolus, the effects of cinnamic acid treated was more significant than benzoic acid treated.

**Key words:** Watermelon; Benzoic acid; Cinnamic acid; Microstructure; Ultrastructure

近年来, 西瓜(*Citrullus lanatus* Thunb.) 连作障碍对西瓜生产的影响日趋严重。研究结果表明, 除了土传病虫害、土壤理化性质劣变等因素, 自毒作用也是导致西瓜连作障碍的重要因素之一<sup>[1~4]</sup>。自毒作用是植物根分泌和残茬降解时释放出的次生代谢

物, 对其自身或种内植物产生为害的一种现象。虽然在西瓜的残茬中已分离出一些自毒物质<sup>[5]</sup>, 但其对西瓜幼根的生长、显微及超微结构的影响则未见报道。根是植物最早接触自毒物质的器官, 自毒物质通过对根系的作用进而影响植株的生长发育。为

收稿日期: 2006-09-20

基金项目: 北京市自然科学基金资助项目(6972014)

作者简介: 孙会军(1976-), 女, 河北抚宁人, 硕士, 主要从事信息咨询方面的工作; 王倩为通讯作者。

了进一步了解自毒物质的作用机理,为解决西瓜连作障碍问题提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

西瓜品种:京欣1号,北京市昌平区种子公司产品。自毒物质:苯甲酸、肉桂酸, Sigma 公司产品,分析纯。

### 1.2 试验方法

京欣1号西瓜种子用55℃水处理30 min后,在室温条件下浸泡8 h,然后置于30℃下保温催芽。待种子露白后,选取发芽程度一致的种子分别放入浓度为0.125, 0.250, 0.500, 1.000, 2.000, 4.000 mmol/L的苯甲酸、肉桂酸溶液中,28℃条件下处理培养48 h以后,进行以下试验:<sup>①</sup>测量各浓度幼根的长度;<sup>②</sup>将4.000 mmol/L浓度处理的根尖,在Olympus X-Tr型体视显微镜下观察根尖形态;<sup>③</sup>切取3~4 mm长4.000 mmol/L浓度处理下的根尖,采用50%的FAA固定,番红-固绿染色法做石蜡切片,在Olympus BH-2型光学显微镜下通过横切面、纵切面对根尖细胞的显微结构进行观察;<sup>④</sup>用戊二醛、锇酸双重固定,Spurr树脂为包埋剂,做超薄切片,用JEM-100S透射电镜观察4.000 mmol/L浓度处理下根尖细胞的超微结构。

## 2 结果与分析

### 2.1 苯甲酸、肉桂酸对西瓜幼根生长的影响

苯甲酸、肉桂酸处理可严重抑制西瓜幼根的生长,且随处理浓度的增大,幼根长度则越短(图1)。由图1还可以看出,苯甲酸对幼根伸长生长的抑制作用比肉桂酸更强,苯甲酸处理浓度为0.125 mmol/L时即达到显著水平,而肉桂酸处理浓度为0.500 mmol/L时才达到显著水平。

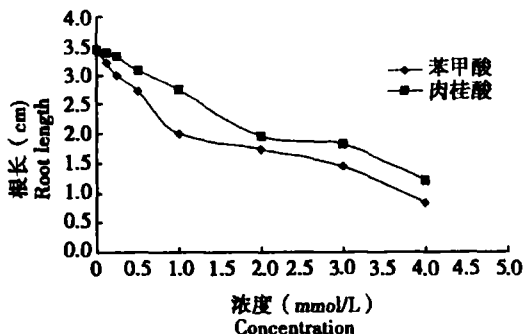
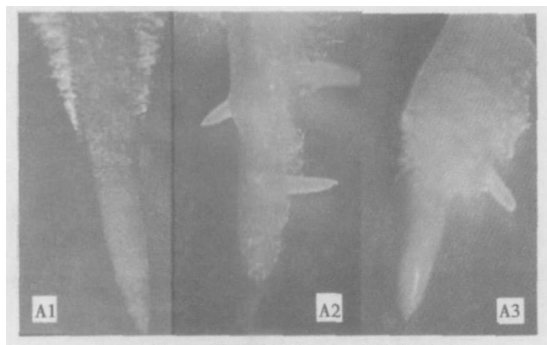


图1 苯甲酸、肉桂酸对西瓜幼根长度的影响  
Fig.1 Effects of benzoic acid and cinnamic acid on watermelon radides length

### 2.2 对根尖形态的影响

由图2可以看出,经苯甲酸、肉桂酸处理后,西瓜幼根根冠褐变、根毛少、侧根发达(图2\_A2, A3),苯甲酸处理(图2\_A2)的根冠和原分生组织甚至枯死。而对照(图2\_A1)根尖表面平滑顺直,根毛多,没有侧根发生。



A1. 对照; A2. 苯甲酸处理; A3. 肉桂酸处理

A1. Control; A2. Benzoic acid-treated; A3. Cinnamic acid-treated

图2 苯甲酸、肉桂酸对西瓜根尖形态的影响(1×3.3)

Fig.2 Effects of benzoic acid and cinnamic acid on watermelon root tip morphology(1×3.3)

### 2.3 对根尖细胞显微结构的影响

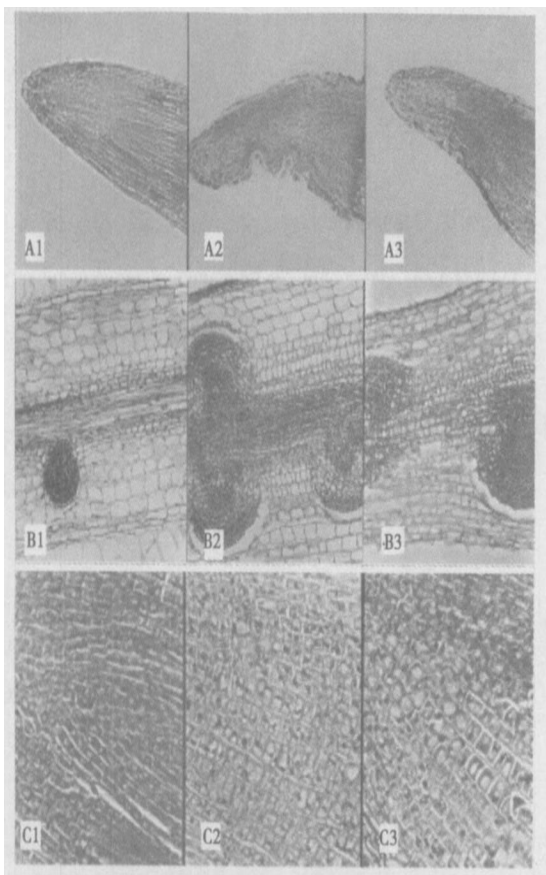
由图3中可以看出,对照(图3\_A1)的根尖平滑顺直,各部分细胞的生长较均匀,苯甲酸(图3\_A2)、肉桂酸处理(图3\_A3)的根尖细胞有坏死现象,原分生组织和初生分生组织细胞生长不均匀,根尖发生弯曲;苯甲酸处理(图3\_A2)比肉桂酸处理(图3\_A3)弯曲的更厉害,表明苯甲酸的毒害作用比肉桂酸大;从图3\_B1~B3来看,对照(图3\_B1)侧根的分化比处理(图3\_B2, B3)的侧根少而且小,即苯甲酸、肉桂酸能抑制主根伸长生长,促进侧根发生;从图3\_C1~C3可以看出,对照(图3\_C1)的细胞液泡较少而且小,细胞质浓,处理(图3\_C2, C3)的根细胞液泡多而且大,细胞质少,还可以看出处理的细胞核发生偏移,而且有坏死细胞。

从初生分生组织的横切可看出,两处理(图3\_D2, D3)的细胞核多偏离细胞中央,靠向细胞壁,对照(图3\_D1)的细胞核位于细胞中央,液泡少而且小,细胞着色比较深,有丰富的内含物。

### 2.4 对根尖细胞超微结构的影响

从图4可以看出,苯甲酸(图4\_A2)、肉桂酸(图4\_A3)处理过的西瓜根细胞有明显的大液泡,数量增多,且苯甲酸处理的液泡比肉桂酸处理更大,而对照(图4\_A1)的液泡比较小;除此之外还可以看出,对照(图4\_A1)细胞质浓,细胞器均匀地分布在细胞质中,细胞质与细胞壁着色程度相近;而用苯甲酸(图

4\_A2)、肉桂酸(图 4\_A3)处理过的西瓜根尖细胞细胞质少, 细胞器被大液泡挤到核膜附近, 细胞壁的着色与细胞质明显不同。



A1~ A3. 苯甲酸、肉桂酸对西瓜根尖形态的影响(10 3.3); B1~ B3. 苯甲酸、肉桂酸对西瓜侧根发生的影响(20 3.3); C1~ C3. 苯甲酸、肉桂酸对西瓜根尖细胞质含量的影响(20 3.3); D1~ D3. 苯甲酸、肉桂酸对西瓜根初生结构细胞核的影响(40 3.3)(A1~ D1. 对照; A2~ D2. 苯甲酸处理; A3~ D3. 肉桂酸处理)

A1~ A3. Effects of benzoic acid and cinnamic acid on watermelon root tip shape(10 3.3); B1~ B3. Effects of benzoic acid and cinnamic acid on watermelon side roots development(20 3.3); C1~ C3. Effects of benzoic acid and cinnamic acid on cytoplasm content of watermelon root tip cell(20 3.3); D1~ D3. Effects of benzoic acid and cinnamic acid on nuclei of watermelon root primary structure(40 3.3)(A1~ D1. Control; A2~ D2. Benzoic acid-treated; A3~ D3. Cinnamic acid-treated)

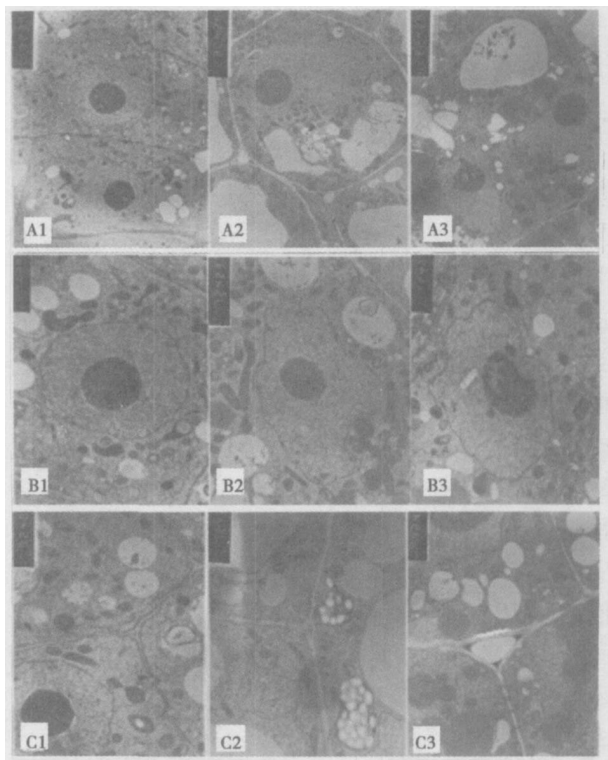
图3 苯甲酸、肉桂酸对西瓜根尖细胞显微结构的影响

Fig.3 Effects of benzoic acid and cinnamic acid on watermelon root tip cell microstructure

从图 4\_B1~ B3 来看, 对照(图 4\_B1)细胞核为近圆形, 核仁为圆形且着色深, 细胞器明显; 苯甲酸和肉桂酸处理过的西瓜根细胞的细胞核为不规则形状, 核仁着色浅, 肉桂酸处理(图 4\_B3)核仁紊乱, 肉桂酸对核仁的影响比苯甲酸更显著。

对照(图 4\_C1)的细胞壁褶皱较多, 而苯甲酸(图 4\_C2)、肉桂酸处理(图 4\_C3)的细胞壁较平直,

有增厚现象。



A1~ A3. 苯甲酸、肉桂酸对西瓜根尖细胞器及液泡的影响( $\times 2800$ ); B1~ B3. 苯甲酸、肉桂酸对西瓜根尖细胞核及核仁的影响( $\times 7000$ ); C1~ C3. 苯甲酸、肉桂酸对西瓜根尖细胞壁的影响( $\times 7000$ ); (A1~ C1. 对照; A2~ C2. 苯甲酸处理; A3~ C3. 肉桂酸处理)

A1~ A3. Effects of benzoic acid and cinnamic acid on organelles and vacuoles of watermelon root tip cell( $\times 2800$ ); B1~ B3. Effects of benzoic acid and cinnamic acid on nuclei and nucleolus of watermelon root tip cell( $\times 7000$ ); C1~ C3. Effects of benzoic acid and cinnamic acid on cell wall of watermelon root tip( $\times 7000$ ); (A1~ C1. Control; A2~ C2. Benzoic acid-treated; A3~ C3. Cinnamic acid-treated)

图4 苯甲酸、肉桂酸对西瓜根尖细胞超微结构的影响

Fig.4 Effects of benzoic acid and cinnamic acid on watermelon root tip cell ultrastructure.

### 3 结论与讨论

根是植物接触自毒感物质最早的器官, 根结构的变化直接反映自毒物质对植物生长发育的影响。早期的研究表明: 根是自毒物质作用的最主要部位, 尤其是快速生长与分化时期。幼根的生长以高代谢速率为特征, 在这个时期根对环境胁迫高度敏感<sup>[6,7]</sup>。已有资料表明: 一些自毒物质能严重抑制种子的萌发和根系的伸长, 如阿魏酸能有效抑制黄瓜根系的伸长和幼苗的生长; 芸香叶片浸提液能抑制萝卜种子的萌发和幼根的伸长<sup>[8,9]</sup>。本研究表明, 西瓜自毒物质苯甲酸、肉桂酸可严重的抑制西瓜幼根的伸长生长, 这与前人对自毒作用的研究结果

相同。自毒物质可削弱植物抵抗膜脂过氧化能力, 导致细胞的一些显微及超微结构破坏, 进而引起光合作用及根活力的下降, 呼吸作用增强, 这些异常的生理过程最终导致对植物生长的抑制<sup>[1, 10]</sup>。

Lorber 等<sup>[11]</sup>发现, 用鼠尾草(*Salvia leucophylla*) 的浸提物(主要为类萜化合物)处理黄瓜的幼根, 可导致根尖的多种细胞器受损。Lovett<sup>[12]</sup>利用从亚麻荠(*Camelina*)中分离出的苯胺处理亚麻(*Linum usitatissimum*)幼根, 结果表明: 根尖细胞中含有丰富的类脂, 许多细胞器受到破坏, 液泡的数目增加, 核仁模糊不清。Cruz<sup>[13]</sup>发现西葫芦叶片浸提液能使大豆的根细胞产生大量的液泡。本研究用苯甲酸和肉桂酸处理西瓜根尖, 结果导致根尖组织及细胞造成多种破坏, 液泡增多、变大; 细胞核及核仁异常, 细胞质变稀疏, 这些现象与前人对自毒作用的研究结果相似, 其原因或者是由于自毒物质引起幼苗代谢异常而导致类脂化合物的增加, 或者是由于自毒物质导致植物不能有效利用营养物质和代谢途径的破坏造成的<sup>[11~13]</sup>。

从试验结果还可以看出, 苯甲酸对液泡的影响比肉桂酸大, 而对核仁的影响, 肉桂酸比苯甲酸大。由于二者化学结构不同而导致其自毒作用强度上的差异, 已在黄瓜叶片生长、幼苗根系营养元素吸收实验中证实, 究其原因, 可能与他们的亲脂性有关<sup>[14~18]</sup>。

## 参考文献:

- [1] 王 倩, 李晓林. 苯甲酸和肉桂酸对西瓜幼苗生长及枯萎病发生的作用[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8 (1): 83– 86.
- [2] Shipton P J. Monoculture and soilborne plant pathogens[J]. Annual Review of Phytopathology, 1977, 15: 387– 407.
- [3] 丁金城, 喻衣蓉, 居玉玲. 西瓜连作障碍及其对策的初步研究[J]. 华北农学报, 1989, 4(4): 82– 87.
- [4] 潘秀清, 武彦荣, 朱永芳. 河北省西瓜病毒病普查及毒原检测[J]. 华北农学报, 2002, 17(2): 143.
- [5] Hatuda Y, Murao S, Nishimura S, *et al.* Biochemical studies on soil sickness: ④ On the toxic substances in watermelon roots (in Japanese) [J]. Nippon Nogeikagaku kaishi, 1961, 35: 1107– 1108.
- [6] Anaya A L, Pelayo\_Benavides H R. Allelopathic potential of *Mirabilis jalapa* L. (Nyctaginaceae): Effects on germination, growth and cell division of some plants[J]. Allelopathy Journal, 1997, 4(1): 57– 68.
- [7] Levitt J, Lovett J V, Garlick P R. *Datura stramonium* allelochemicals: longevity in soil, and ultrastructural effect on root tip cells of *Helianthus annuus*. L [J]. New Phytologist, 1984, 97(2): 213– 218.
- [8] Aliotta G, Caferpo G, Defeo V, *et al.* Potential allelochemicals from *Ruta graveolens*. L and their action on radish seeds [J]. Journal of Chemical Ecology, 1994, 20(11): 2761– 2755.
- [9] Blum U, Joanne Bebbek. Inhibition and recovery of cucumber roots given multiple treatments of ferulic acid in nutrient culture[J]. Journal of Chemical Ecology, 1989, 15 (3): 917– 928.
- [10] Ren Sen Zeng, Shi Ming Luo. Physiological and biochemical mechanism of allelopathy of secalonin acid F on higher plant[J]. Agron J Madison Wis. American society of Agronomy [1949– Jan/ Feb], 2001, 93 (1): 72– 79.
- [11] Lorber P, Muller Wh. Volatile growth inhibitors produced by *Salvia leucophylla*: Effects on seedling root tip ultrastructure[J]. American Journal of Botany, 1976, 63(2): 196– 200.
- [12] Lovett J V. The effects of allelochemical on crop growth and development. J. S. McLaren (ed). Chemical manipulation of crop growth and development [J]. Butterworths London, 1982, 93– 110.
- [13] Cruz O R, Anaya A L, Hernandez Baytista BE, *et al.* Effect of allelochemical stress produced by *Sicyos deppii* on seedling root ultrastructure of *Phaseolus vulgaris* and *Cucurbita ficifolia* [J]. Journal of Chemical Ecology, 1998, 24 (12): 2039– 2057.
- [14] Blum U, Dalton B R, Shann J R. Effects of ferulic and *p* – coumaric acids in nutrient culture on cucumber leaf expansion as influenced by pH [J]. Journal of Chemical Ecology, 1985, 11: 1567– 1582.
- [15] Blum U, Gerig T M, Weed S B. Effects of mixtures of phenolic acids on leaf area expansion of cucumber seedlings grown in different pH Portsmouth A<sub>1</sub> materials [J]. Journal of Chemical Ecology, 1989, 15: 2413– 2423.
- [16] Blum U, Wentworth T R, Klein K, *et al.* Phenolic acid content of soils from wheat\_no till, wheat\_conventional till, and fallow\_conventional till soybean cropping system. Journal of Chemical Ecology, 1991, 17(6): 1045– 1068.
- [17] Lyu S W, Blum U. Effect of ferulic acid, an allelopathy compound, on net P, K, and water uptake by cucumber seedling in a split-root system [J]. Journal of Chemical Ecology, 1990, 16: 2429– 2439.
- [18] Yu J Q, Matsui Y. Effect of root exudates of cucumber (*Cucumis sativus*) and allelochemicals on ion uptake by cucumber seedling [J]. Journal of Chemical Ecology, 1997, 23: 817– 827.