

头孢菌素处理对切花月季细胞膜透性的影响

刘书伟¹, 王 燕¹, 黄绵佳², 袁学军¹, 曾凌云¹, 王 毅¹

(1. 琼州学院 生物科学与技术学院, 海南 三亚 572200; 2. 海南大学 园艺园林学院, 海南 海口 570228)

摘 要:以切花月季“卡罗拉”为试材,研究了不同浓度、不同代的头孢菌素类抗生素对切花月季细胞膜透性的影响,以期探讨切换月季切口处的菌类对头孢菌素的敏感情况,寻找新的杀菌剂和保鲜剂。结果表明:切花月季切口处的菌类对头孢菌素敏感,低浓度的头孢菌素处理能减缓或抑制切花叶片和花瓣细胞膜透性的增加速度;高浓度的头孢菌素在杀死切花切口处菌类的同时,也干扰了切花细胞壁的合成,导致切花提前凋谢。在促进切花叶片和花瓣细胞膜系统的稳定性方面,第3代头孢菌素优于第2代头孢菌素,第2代头孢菌素优于第1代头孢菌素,尤其是质量百分比为0.01%的第3代头孢菌素头孢曲松钠效果最突出,不仅促进了切花细胞膜系统的稳定性,而且对切花的瓶插寿命也延长了3 d。

关键词:头孢菌素;切花月季;细胞膜透性;相对电导率

中图分类号:S 685.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)11-0107-04

头孢菌素又称先锋霉素,于20世纪中叶才被人类发现并开发利用^[1-2]。1945年,意大利科学家分离出头孢菌素的真菌^[3];1959年分离出第1个头孢菌素^[4],1964年第1个头孢菌素头孢噻吩上市^[5],此后,相继合成了许多新型头孢菌素;目前上市品种已达60余种,且产量占抗生素总量的60%以上。头孢菌素类(Cephalosporins)是由冠头孢菌培养液中分离的头孢菌素C^[6-7],经改造侧链而得到的一系列半合成抗生素^[8-9],因其具有抗菌谱较广、疗效高、毒性低等优点,在抗感染治疗中占有十分重要的地位,并从第1代发展到第5代,其抗菌范围和抗菌活性也不断扩大和增强^[10-11]。头孢菌素类抗生素的作用机制与青霉素相同^[12],主要通过干扰细胞壁主要成分肽聚糖的合成而发挥抗菌作用^[13]。

切花在逆境中或在衰老过程中,细胞膜的通透性增加,胞质内含物质外渗,导致叶片和花瓣相对电导率(REC)的不断增加^[14],切花叶片和花瓣的REC是细胞膜透性大小的指标,REC的大小能直接反映植物细胞膜透性,细胞膜相对透性的增加标志着膜结构的完整性遭到破坏^[15],所以,REC也是判断膜完整性的指标^[16]。REC越大,表明细胞膜的透性越大,细胞内含物质的渗漏也越严重。花朵和叶片细胞的REC随水分胁迫的增

强而增大。轻度水分胁迫对花朵和叶片的REC影响不大;中度水分胁迫使REC增大的幅度较小;重度水分胁迫使细胞膜遭受到不可修复的损伤,REC急速增加。

据李淑英等^[17]研究发现,花卉切口微生物感染易导致切花茎的生理及病理堵塞,影响水分平衡而加速衰老,其中微生物感染以细菌为主,真菌数量少。现以“卡罗拉”切花月季为试材,研究了不同浓度、不同代的头孢菌素类抗生素对切花月季细胞膜透性的影响,以期探讨切换月季切口处的菌类对头孢菌素的敏感情况,为切花伤口感染寻找新的杀菌剂和保鲜剂。

1 材料与方法

1.1 试验材料

“卡罗拉”月季采自海南佳裕生物开发有限公司的花圃,采摘标准为外观一致且外层花瓣开始松散的“卡罗拉”,为防止或减弱空腔化,采摘时尽量保留足够长的花茎,采摘切口为平切(尽量缩小切口的面积,从而减少空气进到花枝的导管内)。采摘后20支一扎用聚乙烯保鲜膜包裹,在1 h内运送到实验室。试验试剂:注射用头孢唑啉钠(先锋5号,广州白云山天心制药股份有限公司生产,规格为0.5 g/瓶,按C₁₄H₁₄N₈O₄S₃计算);注射用头孢呋辛钠(深圳致君制药有限公司生产,规格为1.0 g/瓶,按C₁₆H₁₆N₄O₈计算)。注射用头孢曲松钠(规格为1.0 g/瓶,按C₁₈H₁₆N₈O₇S₃计算,海南思迈药业有限公司生产),去离子水等。仪器与设备:DDS-307电导率仪(上海伟业仪器厂生产),水浴锅、电子天平、滤纸、干湿球湿度计、电炉、抽真空注射器、三角瓶、剪刀等。

第一作者简介:刘书伟(1978-),男,河南平舆人,硕士,讲师,现主要从事园艺产品采后生理的教学与科研工作。E-mail:hnlsww@163.com。

基金项目:海南省三亚市院地科技合作资助项目(2012YD04)。

收稿日期:2013-01-16

1.2 试验方法

试验在海南琼州学院生物科学与技术学院实验室进行,室内温度 17~28℃,空气相对湿度 80%~90%。把采摘的切花月季从花朵下 35 cm 处裁剪,裁剪的切口为斜切口,角度为 45°,椭圆形,目的是增大切口面积,促进花枝对水分的吸收。

因头孢菌素种类繁多,所以该试验选用的是第 1、2、3 代头孢中销量最大的具有代表性的头孢菌素,第 1 代头孢菌素选用“注射用头孢唑肟钠”(先锋 5 号),第 2 代头孢菌素选用“注射用头孢呋辛钠”,第 3 代头孢选用“注射用头孢曲松钠”;并以动物使用的浓度为参考,设计成质量百分比为 0.010%、0.025%、0.050%、0.100%、0.200% 5 种浓度。为更有针对性地研究头孢菌素对切花月季“卡罗拉”的细胞膜透性的影响,首先做筛选试验,并根据切花瓶插寿命的长短筛选出以下 5 个处理:0.010%头孢曲松钠、0.010%头孢呋辛钠、0.100%头孢呋辛钠、0.010%头孢唑肟钠、0.025%头孢曲松钠。

1.3 项目测定

相对电导率测定:测量叶片和花瓣的相对电导率采取浸泡法,取适量待测的“卡罗拉”的花瓣用自来水洗净后再用蒸馏水冲洗 3 次,用滤纸吸干表面水分,将花瓣分别剪成合适长度的长条(一般要避开主脉),迅速称取 3 份鲜样(各 3 份),每份为 0.1 g,分别置于具有刻度的试管中(试管中有 10 mL 去离子水),盖上玻璃塞置于室温下浸泡处理 12 h 后用电导仪测定浸提液电导率 R1,接着沸水浴加热 30 min,冷却至室温并摇匀后测量浸提液电导率 R2, R1/R2 即是要测的相对电导率。该试验共设 6 次重复,每天定时测量 1 次数据。

1.4 数据分析

差异性统计分析采用 SPSS 13.0 和 Excel 软件进行。

2 结果与分析

2.1 不同头孢菌素处理对鲜切花月季细胞膜透性的影响

由图 1、2 可知,随着瓶插天数的增加,5 个处理和空白对照相对电导率(REC)都逐渐增大,与空白对照相比,5 个处理都不同程度地抑制了叶片和花瓣 REC 的增加速度。由图 1 可知,在叶片相对电导率方面,0.010%头孢曲松钠处理抑制效果最好,从处理的第 2 天开始,叶片相对电导率均低于其它处理及空白对照。其次,0.010%头孢呋辛钠和 0.100%头孢呋辛钠抑制效果也很明显,0.010%头孢呋辛钠比 0.100%头孢呋辛钠抑制效果相对较好。再次,0.010%头孢唑肟钠和 0.025%头孢曲松钠效果相对较差,尤其是 0.025%头孢曲松钠,在 5 个处理中其抑制效果最不理想。由图 2 可以看出,对 REC 的抑制仍然是 0.010%头孢曲松钠效果最好,REC

数据波动不大,几乎在一条斜率线上。其次效果较好的是 0.010%头孢呋辛钠,其中,在处理的第 4 天和第 5 天对 REC 的抑制效果优于所有处理。0.100%头孢呋辛钠处理 REC 数据也比较平稳,数据也在一条斜率线上。0.010%头孢唑肟钠处理和 0.025%头孢曲松钠处理效果比较差,尤其是 0.025%头孢曲松钠处理抑制效果略优于 CK。

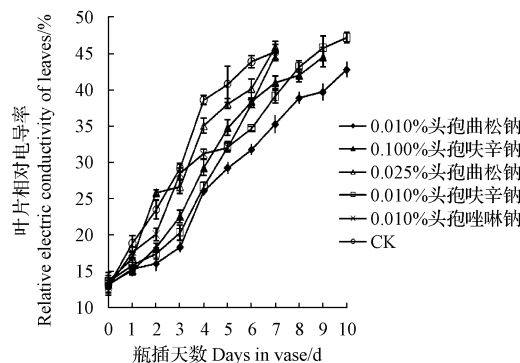


图 1 头孢菌素处理对切花月季叶片相对电导率的影响

Fig. 1 Effects of cephalosporin treatments on relative electric conductivity in leaves of cut roses

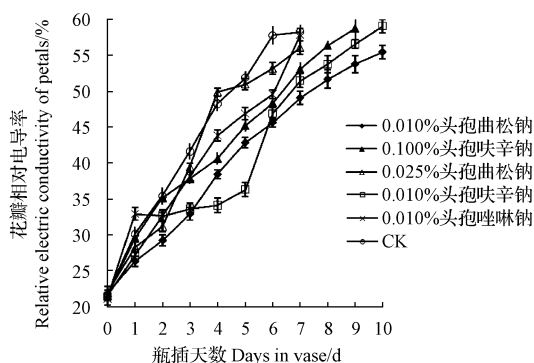


图 2 头孢菌素处理对切花月季花瓣相对电导率的影响

Fig. 2 Effects of cephalosporin treatments on relative electric conductivity in petals of cut roses

2.2 各处理间相对电导率差异性比较分析

由表 1 可知,在 5% 的概率水平上,处理前叶片相对电导率差异性不显著,在处理的前 7 d, 0.010%头孢曲松钠、0.010%头孢呋辛钠和 0.100%头孢呋辛钠与空白对照差异性显著,0.010%头孢唑肟钠在处理的第 2、4、5、6 天与空白对照差异性显著,其它 3 d 差异性不显著,0.025%头孢曲松钠在处理的前 6 d 与空白对照差异性显著,第 7 天差异性不显著。处理的第 1 天,各处理间差异性相对较小,从第 2 天开始,处理间差异性较大,其中 0.010%头孢曲松钠在减缓相对电导率增加方面,效果表现突出。

由表 2 可知,在 5% 的概率水平上,花瓣的相对电导率在处理前差异不显著,0.010%头孢曲松钠和 0.010%头孢呋辛钠在处理期间,每天花瓣中的相对电导率与

空白对照差异性均显著,0.100%头孢呋辛钠仅仅在处理的前2 d与空白对照差异性不显著,其它5 d差异性均显著,0.010%头孢唑啉钠在处理的前6 d与空白对照

差异性均显著,只有第7天差异性不显著,0.025%头孢曲松钠仅在处理的第5天与空白对照差异性不显著,其它6 d,差异性均显著。

表1 在瓶插的前7 d不同处理的叶片相对电导率差异性比较

Table 1 Difference comparison of different treatment on leaves' relative conductivity in first seven days

处理 Treatments	0 d	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
0.010%头孢曲松钠	13.2±1.1a	15.4±1.0a	16.1±1.1a	18.4±0.8a	26.1±0.7a	29.3±0.8a	31.8±0.8a	35.3±1.3a
0.010%头孢呋辛钠	13.6±0.9a	15.9±0.8a	17.5±0.8ab	20.4±1.0b	26.7±0.6a	32.2±0.7b	34.7±0.3b	39.1±0.9b
0.100%头孢呋辛钠	13.3±1.6a	15.2±0.6a	18.3±0.6b	22.6±0.9c	29.3±1.1b	34.8±1.1c	38.4±0.6c	41.0±0.9c
0.010%头孢唑啉钠	13.0±0.9a	17.7±0.7bc	20.1±0.9c	28.5±0.8e	31.2±0.7c	32.1±0.6b	38.1±0.6c	44.7±0.7d
0.025%头孢曲松钠	13.7±1.2a	16.8±0.9ab	25.9±0.4d	26.7±0.9d	35.1±1.1e	38.1±0.7d	40.2±1.3d	45.9±0.8d
CK	13.1±1.1a	18.9±1.1c	23.5±1.3e	29.3±0.6e	38.6±0.7f	40.8±2.5e	43.9±0.8e	45.2±1.0d

注:表中数值为平均数±标准差,同一列中不同字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著。下同。

Note: Values are means $M\pm SE$. Different letters in the same column indicate significant at $P<0.05$. The same below.

表2 在瓶插的前7 d不同处理的花瓣相对电导率差异性比较

Table 2 Difference comparison of different treatment on leaves' relative conductivity in first seven days

处理 Treatments	0 d	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d
0.010%头孢曲松钠	21.8±0.5a	26.3±0.7a	29.2±0.8a	32.9±0.9a	38.4±0.6b	42.8±0.7b	45.6±0.6a	49.1±0.9a
0.010%头孢呋辛钠	21.4±0.6a	27.1±0.8ab	32.6±0.8c	33.6±0.8a	34.1±1.0a	36.3±1.0a	46.9±0.9b	51.5±1.0b
0.100%头孢呋辛钠	21.5±0.5a	29.5±0.5cd	35.1±0.9d	37.8±0.7b	40.6±0.9c	45.2±0.8c	48.4±0.6c	53.1±0.9b
0.010%头孢唑啉钠	21.1±0.9a	32.9±0.9e	32.7±0.8c	38.1±0.6b	43.8±0.8d	46.9±0.9d	49.6±0.6c	57.9±0.9d
0.025%头孢曲松钠	21.9±0.9a	28.2±0.7bc	31.1±0.7b	39.4±0.6c	49.9±0.6f	51.0±0.8e	53.2±0.8d	56.1±0.9c
CK	21.5±0.5a	30.1±1.0d	35.4±1.2d	41.6±1.1d	48.0±1.0e	51.9±0.9e	57.8±1.3e	58.3±1.0d

结合表1、2和图1、2可知,5个处理在延缓或抑制切花月季叶片和花瓣相对电导率增加方面的效果顺序相同,对叶片相对电导率抑制效果好的,对花瓣相对电导率抑制效果也好,其抑制效果顺序为:0.010%头孢曲松钠>0.010%头孢呋辛钠>0.100%头孢呋辛钠>0.010%头孢唑啉钠>0.025%头孢曲松钠>CK。对叶片和花瓣的相对电导率比较发现,花瓣的相对电导率高于叶片,说明花瓣的膜稳定性不如叶片的膜稳定性稳定。

3 结论

该试验结果表明,所筛选出的5个处理都是低浓度的头孢菌素,质量百分比浓度为0.200%的头孢菌素均被淘汰,质量百分比浓度为0.100%的头孢菌素只有0.100%头孢呋辛钠入选。可见,高浓度的头孢在干扰细菌细胞壁合成的同时也干扰了切花细胞壁的合成,导致切花“卡罗拉”提前凋谢。在抑制REC增加方面,对3代头孢菌素比较发现,低浓度的头孢菌素第3代优于第2代,第2代优于第1代,尤其是低浓度的第3代头孢菌素(注射用0.010%头孢曲松钠)对叶片和花瓣相对电导率抑制效果最佳。

头孢菌素通过杀死切换切口处的细菌和真菌,防止因菌类感染导致的导管堵塞,从而缓解了水分胁迫,减缓了细胞膜透性的增加。5个处理均不同程度地抑制或减缓了相对电导率增加。头孢菌素能有效地抑制或减缓切花“卡罗拉”的相对电导率的增加,证明了切花切口处的细菌和真菌对头孢菌素敏感,头孢菌素能明显地抑制或杀死这些菌类。

参考文献

- [1] 黄娇. 唐菖蒲切花采后微生物变化与衰老关系的初步研究[J]. 北方园艺, 2008(12): 133-135.
- [2] Gáspár A, András M, Kardos S. Application of capillary zone electrophoresis to the analysis and to a stability study of Cephalosporins[J]. Journal of Chromatography B, 2002, 775(2): 239-246.
- [3] Gerd A, Johannes L. Antibacterial cephalosporins[P]. US: 2003/0191105 A1, 2003-10-09.
- [4] Dürckheimer W, 赵大同. 近年来 β -内酰胺类抗生素的进展[J]. 世界临床药物, 1986, 7(5): 258-263.
- [5] M Turck, 朱汝锦. 新 β -内酰胺类抗生素的临床应用[J]. 国外医药(抗生素分册), 1989, 10(3): 201-207.
- [6] 韩娟, 冯玲玲. 2006-2009年注射用头孢菌素类药物应用分析[J]. 中国医院用药评价与分析, 2011, 11(1): 35-38.
- [7] Tomasz W, Glinka G. Cephalosporin antibiotics [P]. US 6599893 B2, 2003-07-29.
- [8] Kazuko K, Ejirou U, Kunio A, et al. Cephem derivatives [P]. US 6242437, 2001-06-05.
- [9] Rachel J, Franklin D. Pathogenesis of methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection[J]. Clin Infect Dis, 2008, 46(5): 350-359.
- [10] Pereira S, Henriques A, Pinho M. Role of PBP1 in cell division of Staphylococcus aureus[J]. Bacteriology, 2007, 189(9): 3525-3531.
- [11] 刘立涛, 陈夏静, 匡文娟, 等. 不同代的头孢菌素抗菌活性比较初报[J]. 四川生理科学杂志, 2010, 32(4): 158-160.
- [12] 李娟, 鄢浩. 第三代头孢菌素类药物不良反应机制及风险规避的探讨[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(21): 1932-1935.
- [13] 朱文英. 头孢菌素类抗生素的临床应用[J]. 中国农村医学, 1993, 21(12): 30-32.
- [14] 吴向文. 头孢菌素类药物的作用特点不良反应及合理应用[J]. 基层医学论坛, 2009, 13(17): 560-562.

多倍体大蒜胚状体诱导条件研究初报

武 延 生

(邢台学院 生物化学系,河北 邢台 054001)

摘 要:以大蒜根尖为试材,采用 0.05%秋水仙素溶液诱导多倍体,研究了愈伤组织的诱导和培养方法,以及胚状体的诱导方法,以期为大蒜胚状体诱导提供依据。结果表明:在 MS+2,4-D 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L 培养基上,大蒜根尖可形成疏松型和致密型 2 种愈伤组织结构;将致密型愈伤组织培养在 MS+KT 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基上,将形成胚状体。

关键词:大蒜;多倍体;愈伤组织;胚状体

中图分类号:S 335.1;S 633.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)11-0110-03

多倍体细胞内染色质增加,细胞体积相应增大,植株整体外形一般表现为巨大,且次生代谢成分增加、抗逆性提高^[1]。由于多倍体细胞内同源染色体数目异常,导致染色体配对和分离发生错误,难以进行有性生殖,故探索无性繁殖方法具有一定的现实性。无性繁殖包括诱导芽或胚状体,相对而言,后者具有结构完整、速度

快、数量多的优点。迄今为止,在大蒜的作物育种中,有关胚状体的研究报道相对较少。张忠新等^[2]采用新疆伊宁大蒜蒜瓣在国内首先获得大蒜胚状体并再生植株,之后王洪隆等^[3]和郑海柔等^[4]分别采用不同的外植体诱导得到了大蒜的体细胞胚再生植株,并获得了较高的幼苗再生率。但是,多倍体大蒜胚状体的诱导条件探索鲜见报道。前期试验采用秋水仙素诱导得到了大蒜多倍体根尖^[5],在该试验中继续探索诱导愈伤组织以及在此基础上诱导胚状体的条件,以期为大蒜胚状体诱导提供依据。

作者简介:武延生(1977-),男,河北临西人,硕士,讲师,现主要从事作物育种及植物信号转导等研究工作。

基金项目:邢台市科技计划资助项目(2011ZC017)。

收稿日期:2013-01-16

[15] 易朝辉,任传忠,王宇,等. 水杨酸对菊花花瓣生理和花期的影响[J].

安徽农业科学,2006,34(17):4225-4226.

[16] 范美华,董芳琴. 水杨酸对玫瑰切花保鲜的效应[J]. 江苏农业科学,

2008(2):193-195.

[17] 李淑英,何文华,董丽,等. 保鲜液对桃切花采后生理变化及保鲜效果的影响[J]. 北方园艺,2009(12):232-235.

Effect of Cephalosporins on Plasmalemma Permeability in Cut Rose

LIU Shu-wei¹, WANG Yan¹, HUANG Mian-jia², YUAN Xue-jun¹, ZENG Ling-yun¹, WANG Yi¹

(1. College of Biological Science and Technology, Qiongzhou University, Sanya, Hainan 572200; 2. College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou, Hainan 570228)

Abstract: Taking cut roses 'Carola' as materials, the effect of plasmalemma permeability using different concentrations and generations of cephalosporins were studied, the purpose was to explore the sensitive situation of cut roses' incision fungi to the cephalosporin antibiotics, looking for a new fungicide and preservation. The results showed that the fungi of cut roses' incision was sensitive to the cephalosporins, and low concentrations of cephalosporin treatment could delay or inhibit the increase in plasmalemma permeability of cut rose's leaves and petals, high concentrations of cephalosporins killed the fungi of cut roses' incision and also interfered with cell wall synthesis of cut roses, leading to cut flowers withered in advance; the third-generation cephalosporin was better than the second-generation cephalosporins in promoting leaves and petals' plasmalemma system stability of cut roses, and the second generation cephalosporins was better than the first-generation, especially the mass percentage of 0.01%'s ceftriaxone sodium of third-generation cephalosporins, not only to promote the stability of plasmalemma system and extend the vase life of cut flowers for three days.

Key words: cephalosporins; cut rose; plasmalemma permeability; relative electric conductivity