

非洲菊切花茎堵塞的解剖结构观察

贺苏丹^{1,2}, 肖德兴^{1*}, 刘季平^{1,3}, 何生根¹, 涂淑萍², 吕培涛¹

(¹仲恺农业工程学院生命科学学院, 广州 510225; ²江西农业大学园林与艺术学院, 南昌 330045; ³华南农业大学园艺学院, 广州 510642)

摘要: 基于花茎解剖结构的研究, 对非洲菊切花采后的花茎堵塞现象及杀菌剂纳米银处理的影响进行了探讨。结果表明: 非洲菊切花茎基端的导管堵塞严重, 而上部与中部导管未见明显堵塞现象。扫描电镜观察证实, 非洲菊切花茎导管中的堵塞物为细菌。非洲菊切花采后用纳米银溶液浸渍花茎基端处理 24 h 可明显减少和推迟导管中堵塞物发生, 显著延长切花的瓶插寿命。

关键词: 非洲菊; 纳米银; 导管阻塞; 细菌

中图分类号: S 682.1⁺1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2009) 07-1077-06

Anatomical Structure Observation of Stem Blockage in Cut Gerbera Flowers

HE Su-dan^{1,2}, XIAO De-xing^{1*}, LU Ji-ping^{1,3}, HE Sheng-gen¹, TU Shu-ping², and LÜ Pei-tao¹

(¹College of Life Sciences, Zhongkai University of Agriculture and Engineering, Guangzhou 510225, China; ²College of Landscape and Art, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China; ³College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: On the basis of anatomical observation, the postharvest stem blockage in cut gerbera (*Gerbera jamesonii*) flowers and the effect of the nano silver treatment were investigated. The results showed that the obvious vascular blockage was found in the cut stem end, but not in the stem segments of upper and middle parts of cut gerbera flowers. Observation under SEM certified that the vascular blockage was resulted from bacteria. Pulsing the stem end of cut gerbera flowers for 24 h in nano silver solution, the vascular blockage could be significantly alleviated and delayed, and the vase life was also markedly prolonged.

Key words: gerbera; *Gerbera jamesonii* Bolus; nano silver; vascular blockage; bacteria

鲜切花采后的茎堵塞是其瓶插过程中最常见的现象 (van Doorn, 1997; 夏宜平等, 1997; 高俊平, 2002; He et al, 2006; Wills et al, 2007)。李宪章 (1994) 报道, 由于茎堵塞, 鲜切花即使一直瓶插于水中, 水分也难以正常运输而最终发生萎蔫。微生物可以群集于花枝基部造成物理堵塞, 也可以通过释放一些代谢物于水中影响输导组织对水分的吸收。

非洲菊 (*Gerbera jamesonii* Bolus) 在瓶插观赏期间易出现花头萎蔫下垂、弯颈等水分亏缺症状, 且往往伴有花茎基端发霉、腐烂等现象 (廖立新等, 2003), 导致观赏寿命较短。纳米银是一种新型杀菌剂, 具有高效、环保的特点 (Rai et al, 2009), 其作为抗菌材料在医疗方面的应用日趋广泛 (曾荣洽和郑若, 2006; Chen & Schluesener, 2008)。本试验中以非洲菊为试材, 利用纳米银溶液作为杀菌剂, 从组织解剖结构上首次探讨非洲菊采后茎堵塞现象及新型杀菌剂纳米银处理的影响, 旨在了解该切花采后茎堵塞发生的时空特点和纳米银处理的保鲜效应及其应用前景。

收稿日期: 2009 - 01 - 13; 修回日期: 2009 - 06 - 09

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30771519); 广东省自然科学基金重点项目 (8251022501000002); 广州市重点科技攻关项目 (2007Z2-E0071); 广州市荔湾区科技计划项目 (2008210021)

*通讯作者 Author for correspondence (E-mail: dxxiao@sohu.com)

1 材料与方法

1.1 试材

试验于 2007 年 10 月—2008 年 4 月在仲恺农业工程学院进行。非洲菊切花购于广州岭南花卉市场。选用发育状况相对一致、健壮无病虫害的花材作为试材。纳米银溶液为泉州惠宇抗菌材料科技有限公司生产, 纳米银颗粒大小为 $2 \sim 5 \text{ nm}$ 。

瓶插试验在人工气候调控室中进行, 温度为 $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$, 湿度 $60\% \pm 10\%$, 光照时间为每天 7—19 时。花材到达实验室后迅速在蒸馏水中剪切成 25 cm 长。对照: 鲜切花枝不经任何处理直接插于蒸馏水中; 处理 1: 鲜切花枝经 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 纳米银溶液处理 24 h 后插于蒸馏水中; 处理 2: 鲜切花枝经 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 纳米银 + 2% 蔗糖溶液处理 24 h 后插于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 纳米银 + 0.4% 蔗糖溶液中。每处理各 10 支花, 每瓶插 1 支, 瓶口用保鲜膜覆盖, 以减少水分蒸发。

1.2 显微制片及观察

取材: 分别从花茎上、中、下部 [上部距花序基部 1 cm 处, 中部距花序基部 6 cm 处, 即花颈易弯折处 (廖立新 等, 2003), 下部为花茎基部] 各取 $3 \sim 5 \text{ mm}$ 小段, 对半切开置于 FAA (70% 乙醇 冰醋酸 37% ~ 40% 甲醛, 90 mL 5 mL 5 mL 配制) 固定液中固定 24 h 后保存于 70% 乙醇中待制片。

制片: 常规石蜡制片法制成永久制片, 用爱氏苏木精整体染色, 加拿大树胶封片, 光学显微镜观察, Nikon 显微镜摄影。取切好的石蜡切片一小片粘于小盖玻片上, 将玻片用双面胶粘于金属台上, 用 JSM-6360LV 型扫描电镜观察并摄影。

堵塞导管占百分比统计方法: 随机选取花茎下端横切中的 10 个维管束, 分别统计所含导管总数和堵塞导管数。每个维管束中具 $10 \sim 40$ 个导管, 每种处理共观察统计导管 $1\,000 \sim 4\,000$ 个。

取未处理的非洲菊花茎下端 2 cm, 经 70% 乙醇消毒 5 min 后在无菌条件下切成 $1 \sim 2 \text{ mm}$ 厚的薄片。取切好的茎下端薄片 1 片和 5 片, 分别放入经高温高压杀菌装有营养肉汤的试管中和装有营养琼脂的培养皿中培养, 密封保存。重复 5 次, 观察细菌生长情况。

2 结果与分析

2.1 非洲菊瓶插过程中的外部形态变化

瓶插至 5 d 时, 对照、处理 1 和处理 2 花枝的外部形态未表现出明显的差异, 花茎都保持直立状态, 但对照的花瓣稍有失水。瓶插 7 d 时对照的大部分花枝开始出现花颈弯折现象, 而处理 1 和处理 2 的花枝未出现。瓶插 9 d 时对照出现花瓣严重萎蔫, 花头下垂现象, 花茎下端有粘滑状物, 瓶插液有絮状物出现, 并且花茎下端变黑。处理 1、处理 2 未出现以上现象, 只是花瓣颜色有些变暗淡。瓶插 11 d 时对照已全部枯萎, 花瓣萎蔫反卷下垂, 花颈弯折, 花茎萎缩变细, 花茎下端腐烂且有粘滑状物质, 瓶插液浑浊, 有絮状物沉淀。处理 1、处理 2 的花茎上部都保持绿色, 花茎下端无粘滑状物, 瓶插液清澈, 但是处理 1 开始出现花茎变软现象。处理 1 到 15 d 时花头开始下垂, 而处理 2 到 16 d 才开始出现花瓣萎蔫现象。

对照的切花在瓶插 7 d 后已失去观赏价值, 而处理 1 和处理 2 到 15 d 依然具有观赏价值。

2.2 非洲菊瓶插过程中花茎内部结构的变化

2.2.1 花茎基端结构比较 瓶插前未经任何处理的花茎皮层、韧皮部和木质部中的薄壁细胞形态结构清晰, 细胞质较浓, 细胞核结构明显; 呈螺旋、网纹加厚的次生壁纹理清晰, 导管中未出现任何堵塞物现象 (图 1, 1、2)。瓶插 1 d, 对照、处理 1 和处理 2 的花茎组织结构与未经任何处理的花茎相似, 仅细胞质表现较淡, 细胞各结构略表现不清晰。瓶插 2 d, 对照花茎有 18.22% 的导管出现被染成深色的堵塞物; 处理 1 仅 6.17% 的导管出现了堵塞现象; 处理 2 未出现 (图 1, 3~8)。瓶插 5 d,

对照、处理 1 和处理 2 都有堵塞物产生，但对照最多，处理 2 开始出现（图 1，9 ~ 14）。瓶插 9 d，对照、处理 1 的堵塞情况有所增加，但处理 2 的堵塞情况增加迅速（图 1，15 ~ 20）。有关导管堵塞情况见表 1。

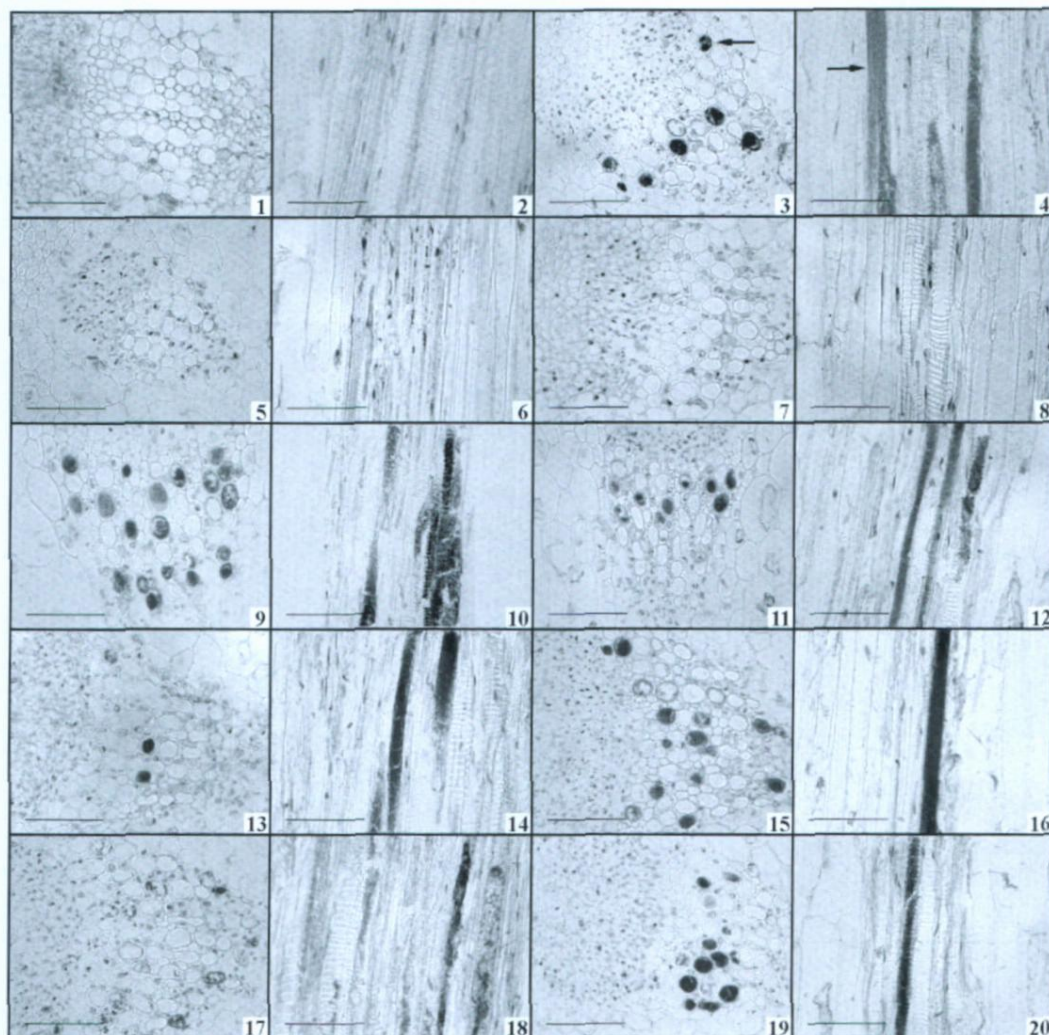


图 1 瓶插期间各处理非洲菊花茎下端组织结构的变化

1、2: 对照瓶插前花茎横切和纵切面；3、4: 对照瓶插 2 d 花茎横切和纵切（箭头所示为导管中的堵塞物）；5、6: 处理 1 瓶插 2 d 花茎横切、纵切；7、8: 处理 2 瓶插 2 d 花茎横切、纵切；9、10: 对照瓶插 5 d 花茎横切、纵切；11、12: 处理 1 瓶插 5 d 花茎横切、纵切；13、14: 处理 2 瓶插 5 d 花茎横切、纵切；15、16: 对照瓶插 9 d 花茎横切、纵切；17、18: 处理 1 瓶插 9 d 花茎横切、纵切；19、20: 处理 2 瓶插 9 d 花茎横切、纵切。所有图中黑色区域都为导管中的堵塞物。所有标尺 = 100 μm 。

Fig 1 Change in stem end structure of cut gerbera flowers with different treatments during vase period

1, 2: Cross and longitudinal sections of control before vase holding; 3, 4: Cross and longitudinal sections of control stem holding for 2 d (Arrows showing the blockage in vessels); 5, 6: Cross and longitudinal sections of treatment 1 stem holding for 2 d; 7, 8: Cross and longitudinal sections of treatment 2 stem holding for 2 d; 9, 10: Cross and longitudinal sections of control stem holding for 5 d; 11, 12: Cross and longitudinal sections of treatment 1 stem holding for 5 d; 13, 14: Cross and longitudinal sections of treatment 2 stem holding for 5 d; 15, 16: Cross and longitudinal sections of control stem holding for 9 d; 17, 18: Cross and longitudinal sections of treatment 1 stem holding for 9 d; 19, 20: Cross and longitudinal sections of treatment 2 stem holding for 9 d. The black area in all figures are the blockage in vessels. All bars = 100 μm .

表 1 瓶插期间各处理非洲菊花茎下端的导管堵塞比例

处理 Treatment	预处理液 Pretreatment solution		瓶插液 Vase solution		导管堵塞比例 /% The rate of the blockage			
	纳米银 / (mg · L ⁻¹) 蔗糖 / %		纳米银 / (mg · L ⁻¹) 蔗糖 / %		0 d	2 d	5 d	9 d
	Nano silver	Sucrose	Nano silver	Sucrose				
对照 Control	0	0	0	0	0	18.22	35.14	38.65
1	5	0	0	0	0	6.17	21.55	21.80
2	5	2	1	0.4	0	0	5.82	26.08

2.2.2 不同部位花茎结构比较 相同处理的花枝，其上、中、下部位表现出的堵塞情况不一样。如图 2 所示，瓶插 5 d 时花茎下端的导管堵塞情况严重，中部和上部导管未出现堵塞现象。可见导管阻塞只发生在花茎下端，说明堵塞物也是在花茎基部产生的。

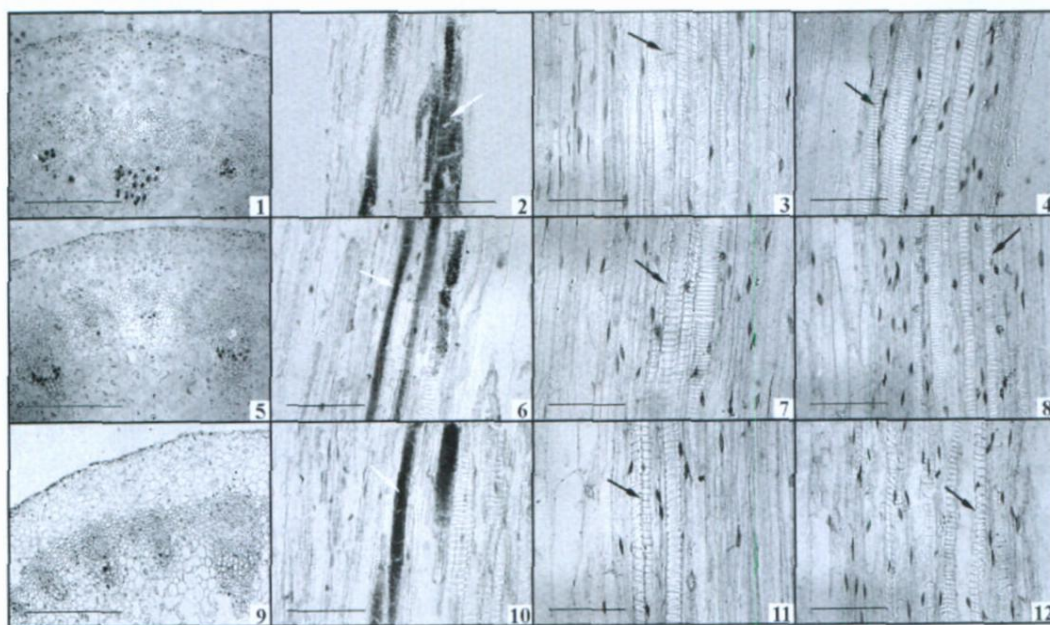


图 2 瓶插 5 d 时各处理非洲菊花茎不同部位结构比较

~4: 对照花茎。1: 花茎下端横切; 2: 花茎下端纵切; 3: 花茎中部纵切; 4: 花茎上部纵切。5~8: 处理 1 花茎。5: 花茎下端横切; 6: 花茎下端纵切; 7: 花茎中部纵切; 8: 花茎上部纵切。9~12: 处理 2 花茎。9: 花茎下端横切; 10: 花茎下端纵切; 11: 花茎中部纵切; 12: 花茎上部纵切。1、5、9 的标尺 = 500 μm; 2~4、6~8、10~12 的标尺 = 100 μm。

图中白色的箭头所示为具有堵塞物的导管，黑色的箭头所示为无堵塞物的导管。

Fig. 2 Comparison of stem structure of different parts in cut gerbera flowers with different treatments at the fifth day of the vase period

1 - 4: Control stems 1: Cross section of stem end; 2: Longitudinal sections of stem end; 3: Longitudinal sections of mid stem; 4: Longitudinal sections of upper stem. 5 - 8: Treatment 1 stems 5: Cross section of stem end; 6: Longitudinal sections of stem end; 7: Longitudinal sections of mid stem; 8: Longitudinal sections of upper stem. 9 - 12: Treatment 2 stems 9: Cross section of stem end xylem; 10: Longitudinal sections of stem end; 11: Longitudinal sections of mid stem; 12: Longitudinal sections of upper stem. Bar = 500 μm of 1, 5, 9; Bar = 100 μm of 2 - 4, 6 - 8, 10 - 12. The white arrows in figures show the blocked vessels, and the black arrows show the unblocked vessels

2.2.3 导管中堵塞物的确定 用液体和固体培养基培养花茎下端薄片，24 h 后培养液都变得很混浊，琼脂平板上也开始产生菌落。取液体培养液经临时制片，光学显微 100 倍物镜观察，可见堵塞物进行反复不断地分裂，产生大量新的个体。通过扫描电镜观察花茎下部石蜡组织切片，导管内的堵塞物为聚集密度很大的杆状细菌（图 3）。

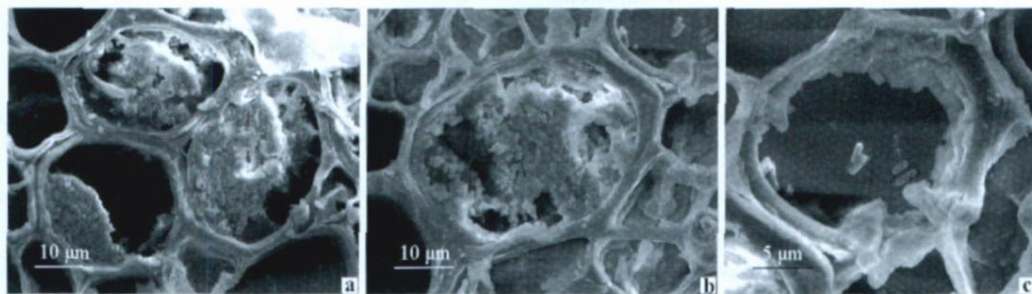


图 3 非洲菊花茎下端横切导管堵塞物扫描电镜图

a、b: 导管中的堵塞物; c: 导管中的堵塞物为杆状细菌。

Fig 3 The cross section of the vessel blokage in the stem end of cut gerbera flowers under SEM

a, b: Blockage in vessels; c: Blockage in vessels caused by bacilliform bacteria

3 讨论

Anke和 Clercx (1989) 认为非洲菊切花瓶插期间可能是由于微生物堵塞了导管, 引起上端组织水分亏缺, 导致切花最终萎蔫。本试验结果证实非洲菊瓶插期间虽然在花茎上、中部的导管中未发现堵塞物的存在, 但花茎下端的导管内确实有明显的堵塞物, 这些堵塞物是由细菌构成, 并且随瓶插时间延长堵塞物密度增大。这与前人在月季 (蔡永萍 等, 2000; Durkin et al, 2001; 龚津平等, 2005)、欧洲英蓼 (Louband & van Doorn, 2004) 等鲜切花上的研究结果一致。

处理的花枝与对照的比较, 对照花茎中的导管在瓶插 2 d 就有 18.22% 出现了堵塞现象, 随后堵塞现象明显加剧, 到 9 d 时被堵塞导管达 38.65%, 此后保持基本稳定。处理 1 瓶插 2 d 仅有 6.17% 的导管出现了堵塞现象, 到 5 d 时被堵塞导管达 21.55%, 此后基本保持不变。处理 2 到 5 d 时被堵塞导管也仅有 5.82%, 但到 9 d 时被堵塞导管数量迅速增加, 超过处理 1 达到 26.08%。此种现象我们分析认为: 处理 1 和处理 2 鲜切花枝都经 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 纳米银溶液处理 24 h, 但处理 1 插于蒸馏水溶液中, 处理 2 插于 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 纳米银 + 0.4% 蔗糖溶液中。说明纳米银有明显的抑制菌的产生或杀菌作用, 随着瓶插时间延长, 纳米银浓度逐渐降低抑制杀菌能力下降, 加之处理 2 瓶插液中含有蔗糖, 糖分容易诱导细菌的繁殖 (高俊平, 2002), 由此可能导致处理 2 后期花茎中被堵塞的导管数稍高于处理 1。

He 等 (2006) 发现, 银桦属 *Grevillea* 'Crimson Yul-b' 鲜切花茎的水分导度, 随着瓶插时间延长而持续下降, 尤其是靠近切口处的花茎下端 0~2 cm 处水分导度下降明显, 但每天剪切花茎的下端 2 cm, 可以延长切花寿命。刘季平等 (2009) 采用杀菌剂二氯异氰尿酸钠 (Sodium dichloroisocyanurate, DICA) 处理能减缓香石竹切花茎基部水分导度下降, 维持花枝的吸收和鲜样质量。本试验结果显示: 堵塞物仅在花茎下端的导管中产生, 并且随着瓶插时间延长, 被堵塞导管数和堵塞物密度增加。由此可以解释近切口处的花茎下端 0~2 cm 处水分导度下降明显和每天剪切花茎的下端 2 cm, 可以延长切花寿命的原因。

纳米银是一种新型的杀菌剂, 具有常规抗菌剂无法比拟的抗菌效果, 其抗菌性能远远大于传统的银系杀菌剂, 并且使用安全性高 (林爱红 等, 2003; Alt et al, 2004; 钟金栋 等, 2005)。因纳米银独特的抗菌性能, 已广泛应用于生物医学和抗菌材料等方面, 但在切花保鲜方面的应用鲜见报道。本试验结果显示: 对照的非洲菊切花瓶插 7 d 后已失去观赏价值, 但处理 2 的花枝到 15 d 还依然具有观赏价值。说明以纳米银为基本配方的瓶插液有良好抑菌杀菌和保鲜作用, 在鲜切花保鲜中有良好的应用前景。

References

- Alt V, Beehert T, Steinrücke P, Wagener M, Seidel P, Dinkeldein E, Domann E, Schnettler R. 2004. An *in vitro* assessment of the antibacterial properties and cytotoxicity of nanoparticulate silver bone cement. *Biomaterials*, 25 (18): 4383 - 4391.
- Anke C M, Clerkx B. 1989. Scanning electron microscopy of cut flowers of *Rosa* cv. *Sonia* and *Gerben* cv. *Fleur Acta Horticulturae*, 261: 97 - 105.
- Cai Yong-ping, Nie Fan, Zhang He-ying, Yu Hong-xiu. 2000. Influence of salicylic acid on vase life and physiological action of cut rose flower. *Acta Horticulturae Sinica*, 27 (3): 228 - 230. (in Chinese)
- 蔡永萍, 聂凡, 张鹤英, 于红秀. 2000. 水杨酸对月季切花的保鲜效果和生理作用. *园艺学报*, 27 (3): 228 - 230.
- Chen X, Schluesener H J. 2008. Nanosilver: A nanoparticle in medical application. *Toxicology Letters*, 176: 1 - 12.
- Durkin D J, Put H M C, Clerkx A C M. 2001. The influence of vase water pretreatment on the accumulation of microparticles, microcompounds and bacterial cells on the cut surface xylem of *Rosa* cv. 'Kardinal' observed by SEM. *Gartenbauwissenschaft*, 66 (2): 93 - 101.
- Gao Jun-ping. 2002. Postharvest physiology and technology of ornamental plants. Beijing: China Agricultural University Press: 26 - 28. (in Chinese)
- 高俊平. 2002. 观赏植物采后生理与技术. 北京: 中国农业大学出版社: 26 - 28.
- Gong Jin-ping, Li Shu-qin, Zhang Ji-lin, Zhao Fu-geng. 2005. Study of prolonged vase-holding life of fresh cut roses by the extracts of Chinese traditional medicine. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 28 (1): 29 - 33. (in Chinese)
- 龚津平, 李淑琴, 张纪林, 赵福庚. 2005. 桂皮、八角浸提液对玫瑰切花瓶插寿命的影响. *南京农业大学学报*, 28 (1): 29 - 33.
- He S G, Joyce D C, Irving D E, Faragher J D. 2006. Stem end blockage in cut *Grevillea* 'Crimson Yul-b' inflorescences. *Postharvest Biology and Technology*, 41: 78 - 84.
- Li Xian-zhang. 1994. Flower senescence and preservation of cut flowers. *Chinese Bulletin of Botany*, 11 (4): 26 - 32. (in Chinese)
- 李宪章. 1994. 花的衰老与切花保鲜. *植物学通报*, 11 (4): 26 - 32.
- Liao Li-xin, Peng Yong-hong, Ye Qing-sheng. 2003. Neck-bending phenomena in cut gerbera flower. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (1): 110 - 112. (in Chinese)
- 廖立新, 彭永宏, 叶庆生. 2003. 非洲菊鲜切花弯颈部位及有关原因. *园艺学报*, 30 (1): 110 - 112.
- Lin Ai-hong, Qin Yan-min, Rao Jian, Huang Hui-ying. 2003. The germicidal and inhibitory efficacy of nano-antimicrobial. *Practical Preventive Medicine*, 10 (2): 168 - 170. (in Chinese)
- 林爱红, 秦彦珉, 饶健, 黄惠英. 2003. 纳米抗菌剂抑菌杀菌性能研究. *实用预防医学*, 10 (2): 168 - 170.
- Liu Jip-ing, He Sheng-gen, L üPei-tao, Cao Jin-ping, Sheng Ai-wu, Zhang Zhao-qi. 2009. Effect of sodium dichloroisocyanurate on preservation of cut carnation (*Dianthus caryophyllus* L.). *Acta Horticulturae Sinica*, 36 (1): 121 - 126. (in Chinese)
- 刘季平, 何生根, 吕培涛, 曹锦萍, 盛爱武, 张昭其. 2009. 二氯异氰尿酸钠处理对香石竹切花的保鲜效应. *园艺学报*, 36 (1): 121 - 126.
- Louband M, van Doorn W G. 2004. Wound-induced and bacteria-induced xylem blockage in roses, *Astilbe* and *Viburnum*. *Postharvest Biology and Technology*, 32: 281 - 288.
- Rai M, Yadav A, Gade A. 2009. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnology Advances*, 27: 76 - 83.
- van Doorn W G. 1997. Water relations of cut flowers. *Horticultural Reviews*, 18: 1 - 85.
- Wills R B H, McGlasson W B, Graham D, Joyce D C. 2007. Postharvest: An introduction to the physiology and handling of fruit, vegetables and ornamentals. Sydney: University of New South Wales Press Ltd.
- Xia Yip-ing, Chen Sheng-ming, Wang Zhi-yi. 1997. The activities of microorganism and the physiological effect of germicide in cut rose during postharvest life. *Acta Horticulturae Sinica*, 24 (1): 63 - 66. (in Chinese)
- 夏宜平, 陈声明, 王直一. 1997. 月季切花采后的微生物变化及杀菌剂的生理效应. *园艺学报*, 24 (1): 63 - 66.
- Zeng Rong-qia, Zheng Ru. 2006. Clinical observation of bum wound treated with nano-silver dressing. *Modern Hospital*, 6 (5): 26 - 27. (in Chinese)
- 曾荣洽, 郑若. 2006. 纳米银敷料治疗烧伤创面的临床观察. *现代医院*, 6 (5): 26 - 27.
- Zhong Jin-dong, Xia Xue-shan, Zhang Ru-yu, Gao Yi-ying. 2005. Study on antibacterial efficiency of silver nanoparticles and its biological safety evaluation. *Journal of Kunming University of Science and Technology*, 30 (5): 91 - 93. (in Chinese)
- 钟金栋, 夏雪山, 张若愚, 高毅颖. 2005. 纳米银材料抗菌效果研究及其安全性初步评价. *昆明理工大学学报*, 30 (5): 91 - 93.