

苹果离体条件下摘袋日烧发生过程中果皮细胞超微结构的变化

郝燕燕^{1*}, 任宏伟¹, 黄卫东²

(¹山西农业大学园艺学院, 山西太谷 030801; ²中国农业大学食品科学与营养工程学院, 北京 100083)

摘要: 对套双层纸袋的富士苹果采收后摘袋, 探讨全除袋与先摘外袋 3 d后摘除内袋对果实日烧发生的影响。结果表明, 套袋果实一次性除袋后, 当日即呈现日烧症状, 表皮细胞结构破坏, 叶绿体解体; 先摘外袋 3 d后摘除内袋, 果实无日烧发生并且着色, 着色部位部分叶绿体向有色体转化; 不摘袋处理的果实表现正常, 细胞结构完整。结果说明果实长期套袋后, 摘袋时先除外袋而保留数日内袋, 可防止因突然性强光对果皮细胞膜的伤害而导致日烧发生。

关键词: 苹果; 摘袋; 日烧; 果皮; 超微结构

中图分类号: S 661.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2008) 11-1667-04

Effects of Bag-removing on the Cell Ultra-microstructure of Apple Fruit Peel during the Sunburn Development in Vitro

HAO Yan-yan^{1*}, REN Hong-wei¹, and HUANG Wei-dong²

(¹College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China; ²College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract: Apple fruits (*Malus domestica* 'Fuji') bagged for three months were removed bags *in vitro*. Bag-removing included two ways, both outer bag and inner bag removed at the same time, and outer bag removed, after 3 d then inner bag removed. The fruits were exposed to sunlight and the sunburn development was studied. The results showed that the fruits removed outer and inner bags, appeared the symptom of sunburn on the first day exposed to sunlight, and their epidemic cells were disorganized and chloroplasts were disaggregated. The fruits removed outer bag then inner bag after 3 d became red without sunburn, and some chloroplasts in epidemic cell were converted chromoplasts. The no-bag-removed fruits were healthy, and their cells kept intact. It is suggested that retaining red bag could avoid sunburn from sudden strong sunlight which resulted in cell membrane injured.

Key words: apple; bag-removing; sunburn; fruit peel; ultra-microstructure

果树生产中的果实套袋技术, 可改善果实外观品质, 降低农药残毒, 套双层纸袋效果更好。但由于摘袋所需劳动量较大, 往往将双层袋一次性除去, 如果遇上连日晴朗天气, 会导致果实日烧严重发生。Ferguson等 (1998) 认为温度是影响果实日烧的主要因子, 因为果实体积大而表面积小, 再加上果皮的角质化程度高, 不能很好地散热, 在强光下因辐射产热而使果实变成一个热库。在晴朗天气大田苹果果皮及果肉温度比气温高 12℃ 以上。高温与强光打破了果实表皮的代谢平衡, 产生大量活性氧分子 (AOS), 导致膜损伤, 细胞的分室化遭到破坏, 引起酚类物质的酶促和非酶促褐变, 造成果皮日烧 (Andrew & Johnson, 1996)。也有研究表明干旱也是引起日烧的一个因子 (Yuri et al ,

收稿日期: 2008 - 06 - 02; 修回日期: 2008 - 10 - 15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30270918); 山西青年基金项目 (2006021034)

* E-mail: yanyanhao123@163.com

2000)。

本研究中采用套袋果实离体后摘袋的处理方式,减少果实受树冠微环境差异的影响,提高试材的一致性,研究了果实日烧发生过程中细胞超微结构的变化,探讨了日烧形成的机制,为套袋果实科学摘袋提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料选取与处理

苹果果实取自北京昌平中日友好观光果园,品种为‘宫藤’富士 (*Malus domestica* ‘Fuji’),砧木为八棱海棠 (*M. micromalus* Mak.) 的10年生树,树形为小冠开心型。2003年6月14日,选择树势健壮,生长势一致的20株树,进行果实套袋。选用北京富民厂生产的双层纸袋(外袋外表灰色内里黑色,15~19.5 cm × 15 cm;内袋为红色,16.5 cm × 14.5 cm)。

9月上旬取材。选择晴天,6:30将果实采下。处理分为:先摘除外袋,3 d后摘除内袋;全除袋;不摘袋(留小口)为对照。将果实置于漏空架上,果柄朝上,连续5 d在室外进行自然日光照射。采用随机区组设计,3次重复,每重复50个果。处理当日每隔2 h用热电偶温度计测定大气温度、果实果肩表面温度和果肉(5 mm深)温度。每次选取3个果实,重复测定2次,取平均值。

1.2 细胞超微结构的电镜观察

处理当日16:00随机取全除袋处理中的日烧果实和正常果实各10个,5 d后取不摘袋果实与摘外袋3 d后摘除内袋的果实各10个,在靠近果肩部取2~3 mm²的果皮(彭宜本和张大鹏,2000),迅速投入到预冷的3%戊二醛固定液中,抽气使样品完全沉入固定液,6 h后用0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液(pH 7.2)冲洗,再用1%锇酸固定。乙醇系列脱水,丙酮—Spurr置换,纯Spurr包埋,68聚合。用LKB-8800型切片机制备超薄切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色,于透射电镜下观察。

2 结果与分析

2.1 不同处理果实温度日变化分析

由图1可见,不同处理的果实表面与果肉温度都高于大气温度,其中最高果肉温度高于大气温度7~8℃。全除袋处理果实果皮和果肉在12:30温度最高,分别为36.5℃和41.5℃。16:00左右果皮褪绿变白,呈小面积片状或条状淡黄的日烧症状,18:00左右果实全部出现日烧症状,说明日烧症状出现的时间滞后于高温与强光出现时间。

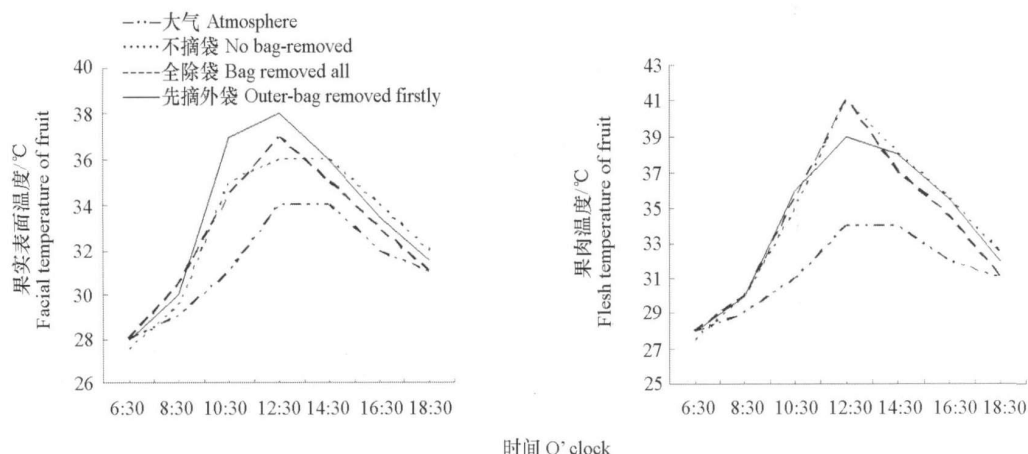


图1 套袋与除袋果实表面与果肉5 mm深处温度随大气温度的日变化

Fig. 1 Diurnal temperature changes of fruit facial and flesh (5 mm) in bagged and bag-removed apple

先摘外袋处理的果实表面温度在上午上升较快, 12: 30达最高, 为 38℃, 而果肉温度与果皮温度相差不大。果实无日烧发生, 第 3天除掉红色内袋, 2 d后出现部分着色和条状红晕。

不摘袋处理的果实果皮温度在 12: 00达最高, 为 35.5℃, 此时果肉温度为 41℃, 与全除袋处理果实温度相近, 但果实没有呈现日烧症状。

2.2 日烧果实果皮超微结构分析

透射电镜分析表明, 全除袋处理下呈现日烧症状的果皮第 1~2层细胞液泡黑色致密物很少, 只有极少数细胞液泡膜上沉积黑色颗粒, 脂滴质体有分解变黑现象 (图版, 1); 3~5层细胞解体, 细胞质聚集成黑色致密物, 细胞壁胞间层解体形成大的细胞间隙 (图版, 2); 6~8层薄壁细胞细胞质也有积聚现象 (图版, 3), 淀粉粒没有发生变化; 果皮微管组织的薄壁细胞出现质壁分离, 叶绿体解体 (图版, 4)。而没有呈现日烧症状的果皮 2~5层叶绿体膨胀, 类囊体正在解体 (图版, 6), 7~8层薄壁细胞液泡膜上沉积黑色电子致密物 (图版, 5)。分析表明强光可在短时间导致果皮细胞结构的破坏, 其中叶绿体响应强光最明显。但不同部位的细胞对强光的忍耐性不一样, 第 1~2层细胞忍耐性强, 3~5层细胞壁厚, 胞间层发生解体, 可能形成隔离层以保护靠内细胞进一步受伤害。

先摘外袋 3 d后除内袋处理下, 果实无褐变发生, 在第 5~6 d出现部分着色和条状红晕, 着色部位部分叶绿体向有色体转化 (图版, 7); 不摘袋处理的果实表现正常, 细胞结构完整, 部分叶绿体片层结构呈现解散现象 (图版, 8)。

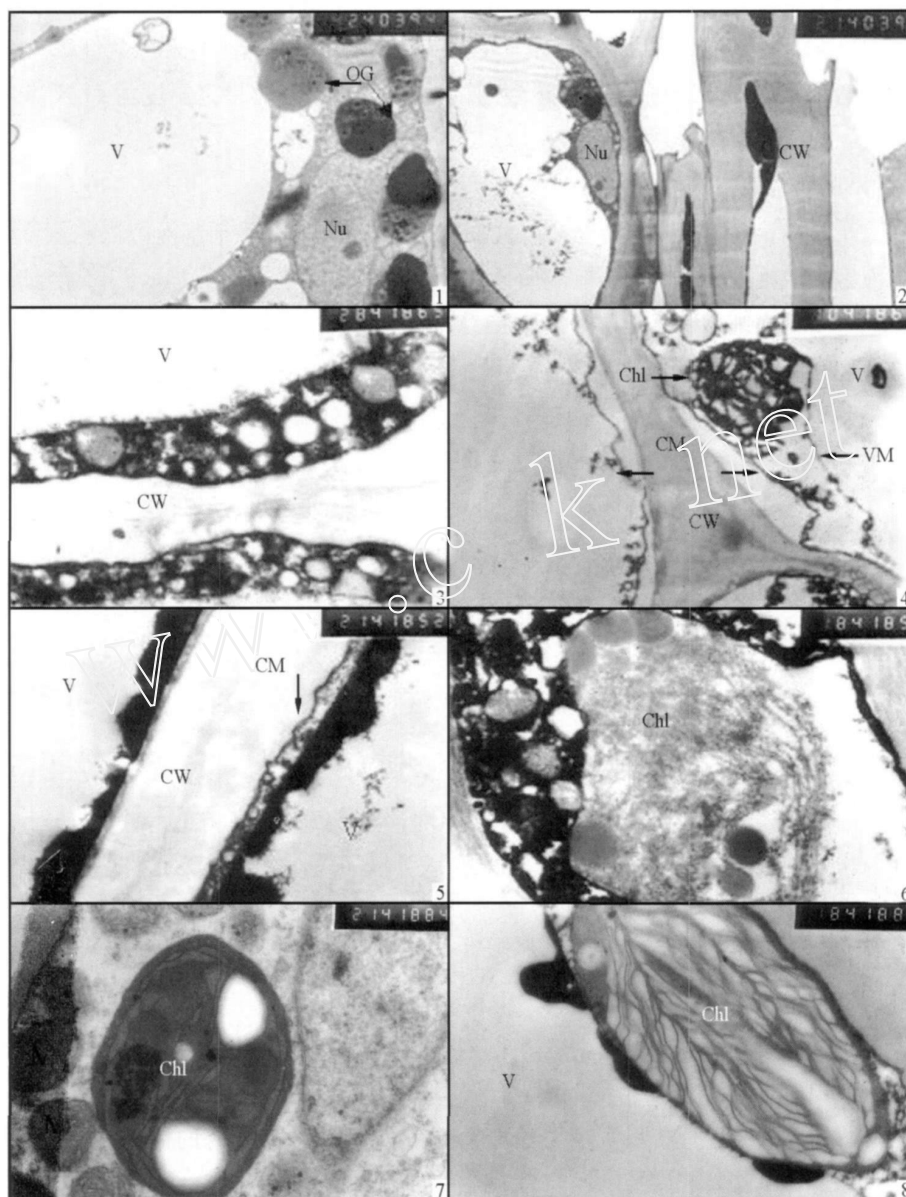
3 讨论

本研究中, 全除袋处理的果实表面温度和果肉温度, 与不摘袋处理相比无明显差异, 但果实发生了日烧, 而不摘袋处理的果实表现正常, 说明光照是引起一次性全除袋果实日烧的一个主要因子。Chrader等 (2003) 提出大田果实日烧病程发展较为缓慢。树体上套袋果实一次性全除袋, 3 d后才发现褪绿变白 (郝燕燕等, 2004)。本研究在离体条件下, 套袋果实一次性全除袋后, 在当天下午便呈现日烧症状, 可能因为果实脱离树体后, 中断了水分供应, 加速了强光对果皮的伤害。结合超微结构观察和日烧症状表现, 说明日烧发生之前果皮内部已发生生理生化变化, 叶绿体变化最明显。这与 Wunsche等 (2001) 报道的结果相符, 认为日烧的发生起因于叶绿素的光漂白。

先除外袋保留红色内袋处理, 果实在正午强光来临前, 起到了热锻炼的作用, 同时为生产上套袋果实摘袋时先摘外袋, 隔几天摘内袋的经验措施提供了理论依据。

References

- Andrews P K, Johnson J R. 1996. Physiology of sunburn development in apples. *Good Fruit Grower*, 47 (12): 33 - 36.
- Chrader L, Zhang J, Sun J. 2003. Environmental stresses that cause sunburn of apple. *Acta Hort*, 618: 397 - 405.
- Ferguson IB, Snelgar W, Lay-Yee M, Watkins C B, Bowen J H. 1998. Expression of heat shock protein genes in apple fruit in the field. *Aust J Plant Physiol*, 25: 155 - 163.
- Hao Yan-yan, Huang Wei-dong, Zhang Wen-he. 2004. Studies on changes of phenolics in apple fruit peel in response to light intensity. *Scientia Agricultura Sinica*, 1050 - 1055. (in Chinese)
- 郝燕燕, 黄卫东, 张文和. 2004. 苹果果皮酚类物质对光强变化的适应性研究. *中国农业科学*, 37 (7) 1050 - 1055.
- Peng Yi-ben, Zhang Da-peng. 2000. Ultrastructure of epidermis and flesh of the developing apple fruit. *Acta Bot Sin*, 42 (8): 794 - 802. (in Chinese)
- 彭宜本, 张大鹏. 2000. 发育过程中苹果果皮和果肉细胞的超微结构. *植物学报*, 42 (8): 794 - 802.
- Wunsche J N, Green D H, Palmer J W, Lang A, Meghie T. 2001. Sunburn-the cost of a high light environment. *Acta Horticulture*, 557: 349 - 356.
- Yuri J A, Torres C, Bastias R. 2000. Sunscald on apple. Causes and biochemical responses. *Agro-Ciencia*, 16: 23 - 32.



图版说明：1. 变白或淡黄果皮的第一层细胞（ $\times 4200$ ）；2. 变白或淡黄果皮的第1~4层细胞，其中2~4层细胞解体（ $\times 2100$ ）；3. 变白或淡黄果皮薄壁细胞细胞质聚集成黑色电子致密物（ $\times 28000$ ）；4. 变白或淡黄果皮维管组织薄壁细胞质壁分离，叶绿体解体（ $\times 10000$ ）；5. 未呈现日烧症状果皮第6层薄壁细胞，液泡膜黑色电子致密物沉积（ $\times 21000$ ）；6. 全除袋果实未发生日烧症状的果皮第3层细胞正在解体的叶绿体和积聚的细胞质（ $\times 18000$ ）；7. 先摘外袋3d后除内袋果实着色果皮第3~4层细胞内叶绿体向有色体转化（ $\times 21000$ ）；8. 不摘袋果实3~6层细胞有的叶绿体片层具解散趋向（ $\times 18000$ ）。

Chl: 叶绿体; CM: 质膜; CW: 细胞壁; Nu: 细胞核; OG: 脂球体; V: 液泡; VM: 液泡膜。

Explanation of plates: 1. The first layer cell of pale or light yellow peel ($\times 4200$); 2. The 1st - 4th layer cells of pale or light yellow peel with disorganization of the 2nd - 4th layer cell ($\times 2100$); 3. Electron-dense substance congregated in cytoplasmic of parenchymatous cell in pale peel ($\times 28000$); 4. Plasmolysis of parenchymatous cells in vascular tissue of pale peel ($\times 10000$); 5. The 6th layer parenchymatous cells of peel without sunburn symptoms, but with electron-dense substance congregated in vacuole membrane ($\times 21000$); 6. The 3rd layer cell with disorganizing chloroplast in peel without sunburn symptoms ($\times 18000$); 7. The chromoplast converted from chloroplast in the 3rd and 4th cells in the twice bag - removed fruit red peel ($\times 21000$); 8. Disorganizing lamellar of chloroplast in the 3rd - 6th layer cell of bagged fruit ($\times 18000$).

Chl: Chloroplast; CM: Cytoplasmic membrane; CW: Cell wall; Nu: Nucleus; OG: Osmiophilic globule; V: Vacuole; VM: Vacuole membrane.