

1-甲基环丙烯(1-MCP)对‘嘎拉’苹果贮藏期间果肉细胞结构的影响

赵刚¹, 马书尚^{1,*}, 韩青梅², 郭燕¹, 朱玉涵¹

西北农林科技大学¹生命科学学院,²生物技术中心, 陕西杨凌 712100

摘要: 在室温[(25±1)]条件下观察1-甲基环丙烯(1-MCP)影响下‘嘎拉’苹果采后果肉细胞结构变化的结果表明, 随着贮藏时间的延长, 未作1-MCP处理的果实果肉细胞逐渐失去张力, 细胞壁皱褶, 中胶层逐渐降解, 继而出现胞间裂痕, 细胞间隙逐渐增大, 细胞壁纤维松散, 细胞器逐渐空泡化等现象; 1-MCP显著抑制果肉细胞的结构损伤, 最终减缓果实的软化。

关键词: ‘嘎拉’苹果; 1-MCP; 细胞结构; 采后贮藏

Effects of 1-Methylcyclopropene (1-MCP) on Flesh Cell Structure of ‘Gala’ Apple (*Malus domestica* Borkh. cv. ‘Gala’) during Storage

ZHAO Gang¹, MA Shu-Shang^{1,*}, Han Qing-Mei², GUO Yan¹, ZHU Yu-Han¹

¹College of Life Science, ²The Center of Bio-technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China

Abstract: The experiment was conducted to study the effect of 0.5 μL·L⁻¹ 1-methylcyclopropene (1-MCP) on the changes in flesh cell structure of ‘Gala’ apple (*Malus domestica*) during storage. A series of changes in flesh cell structure were observed, such as losing cell tensity, wrinkling of cell wall, dissolution of the middle lamella, enlarging of intercellular space, disintegration of fibrillar material of cell wall and vacuity of cell organelles, whereas 1-MCP significantly inhibited these changes. In conclusion, the softening of apple fruit was greatly delayed.

Key words: ‘Gala’ apple (*Malus domestica*); 1-methylcyclopropene (1-MCP); cell structure; post-storage

‘嘎拉’苹果成熟早, 其果实在室温下很快软化(Drake 和 Eisele 1997)。作为乙烯受体抑制剂的1-甲基环丙烯(1-methylcyclopropene, 1-MCP), 通过阻断乙烯与受体的结合, 抑制乙烯诱导的园艺产品的后熟和衰老(Sisler 等 1996, 1999; Fan 等 1999; 李富军 2004)。段玉权等(2004)报道, 1-MCP能够保持中华寿桃果肉细胞结构的完整性; 马书尚等(2003)、唐燕等(2004)报道, 1-MCP显著阻止猕猴桃和‘嘎拉’苹果贮藏期间果实硬度的下降。Huber (1983)、周培根等(1991)、Ben-Arie 等(1979)认为细胞壁结构变化是果肉软化的主要原因。但是1-MCP阻止‘嘎拉’苹果果肉硬度下降的作用是否与抑制果肉细胞结构降解损伤有关, 尚不清楚。本文观察‘嘎拉’苹果在室温贮藏过程中果肉组织结构及细胞结构的变化, 并探讨果肉硬度与细胞结构之间的关系以及1-MCP阻止果肉硬度下降的原因。

材料与方 法

‘嘎拉’苹果(*Malus domestica* Borkh. cv. ‘Gala’)于2006年8月22日采自陕西省扶风县南阳镇西权村一成年果园, 采收当天运回实验室, 选择大小一致、着色均匀、无机械损伤和病虫害的果实用作试验。作1-MCP(美国ROHM和HAAS公司提供, 有效成分为0.14%)处理时, 果实放在1-MCP浓度为0.5 μL·L⁻¹的塑料帐内并放在25℃下密闭24 h; 以在塑料帐内不含1-MCP的密闭24 h的为对照。然后分别装入带有塑料薄膜内衬的果箱内, 放在室温[(25±1)]下贮藏4周。

果肉硬度用FT-327果实硬度计(意大利)测定, 随机取10个果实在每果阴阳面分别去皮, 测定果肉硬度, 取平均值。

收稿 2007-03-09 修定 2007-05-17
资助 国家“十五”科技攻关项目(2004BA516A10)和美国罗门哈斯中国公司项目。

* 通讯作者(E-mail: dbmss@nwsuaf.edu.cn; Tel: 029-87082836)。

制备显微样品时, 取果实阳面果皮下 5 mm 深处的果肉, 切成 5 mm×5 mm×5 mm 的小块, 以福尔马林 - 醋酸 - 酒精(FAA)固定液固定, 用常规石蜡切片法切片, 番红 - 固绿双重染色, 在 OlympusBH-2光学显微镜(日本奥林巴斯公司)下观察、照相。采用 Motic images advanced 3.2 软件测定细胞间隙面积, 用细胞间隙面积占视野面积的百分比表示。

制备电镜样品时, 取果实阳面果皮下 5 mm 深处的果肉, 切成 1 mm×1 mm×1 mm 的小块, 用 4% 的戊二醛固定, 经磷酸缓冲液清洗, 用 1% 锇酸后固定, 梯度丙酮脱水, Epon812 包埋, LEICA ULTRACUT 超薄切片机(德国莱卡公司)切片, 用醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色后, 在 JEM-1230 型透射电镜(日本电子株式会社)观察、照相。

实验结果

1 果实硬度的变化

‘嘎拉’苹果在贮藏初期果实硬度很快下降(图 1), 1 周时硬度已下降到 $5.65 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$, 以后

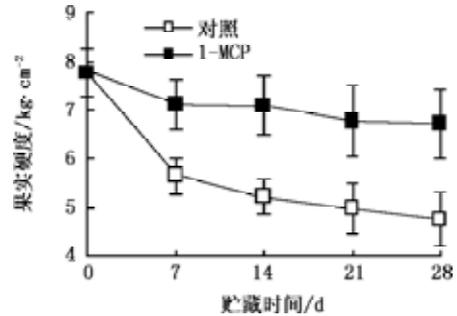


图 1 1-MCP 处理对果实硬度的影响

Fig.1 Effects of 1-MCP on fruit firmness

下降减慢, 4 周时果实硬度下降到 $4.77 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。1-MCP 显著抑制‘嘎拉’苹果软化进程, 4 周时, 1-MCP 处理的果实硬度仍保持在 $6.72 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$, 高出未作 1-MCP 处理的 $1.95 \text{ kg}\cdot\text{cm}^{-2}$ 。

2 果肉组织显微结构的变化

显微镜下观察的结果表明, 刚采收的‘嘎拉’苹果果肉细胞形状近圆形, 细胞壁较为平滑(图 2-a), 细胞间隙较小。贮藏 4 周时对照果实果肉细胞(图 2-b)逐渐失去张力, 细胞皱缩, 细胞壁发生皱褶弯曲, 细胞间隙显著增大(图 3)。经

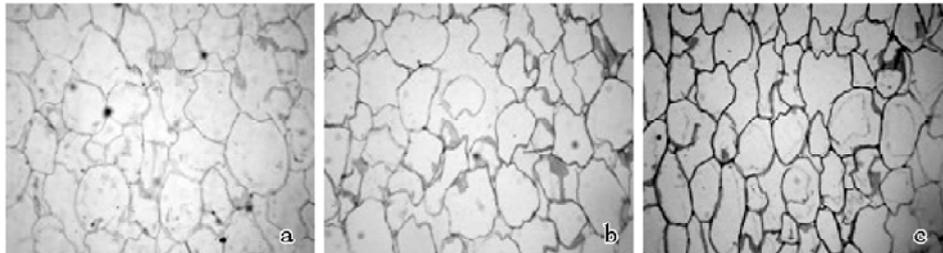


图 2 贮藏期间果肉组织显微结构变化

Fig.2 Changes in flesh microstructure during storage

a: 采后第 1 天; b: 未处理的果实贮藏 4 周; c: 1-MCP 处理的果实贮藏 4 周。

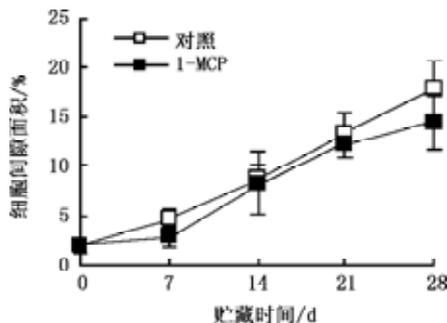


图 3 1-MCP 处理对果肉细胞间隙的影响

Fig.3 Effects of 1-MCP on flesh intercellular space

1-MCP 处理的果实其果肉细胞虽然也发生同样的变化, 但变化没有不作 1-MCP 处理的明显(图 2-c), 说明 1-MCP 能延缓贮藏期间果肉细胞结构的变化。

3 果肉细胞超微结构的变化

在透射电子显微镜下观察的结果显示, 刚采收的‘嘎拉’苹果果肉细胞壁结构完整, 排列层次分明, 呈明 - 暗 - 明分区结构, 初生壁在中胶层的两边, 二者间结合紧密(图 4-a)。细胞质被

挤压成一薄层紧贴细胞壁,能观察到清晰的线粒体、质体和液泡(图4-b)。贮藏4周后,不作1-MCP处理的果实果肉细胞发生质壁分离现象,中胶层解体,胞间层出现裂痕(图4-c),大部分细胞壁的微纤丝结构紊乱,壁外层呈絮状,原生质解体,液泡膜部分破损(图4-d),细胞器空泡化(图4-e、f)。1-MCP处理的果实在贮藏4周后,果肉细胞壁微纤丝刚刚出现解体迹象,中胶层解

体不明显,细胞壁的结构仍完整,看不到明显的质壁分离现象,线粒体和质体的结构仍清晰可辨,无破损现象(图4-g~i)。

讨 论

‘嘎拉’苹果在贮藏期间伴随着果肉硬度的下降,果肉细胞结构发生一系列明显变化。细胞逐渐失去张力,出现明显的质壁分离现象;细胞

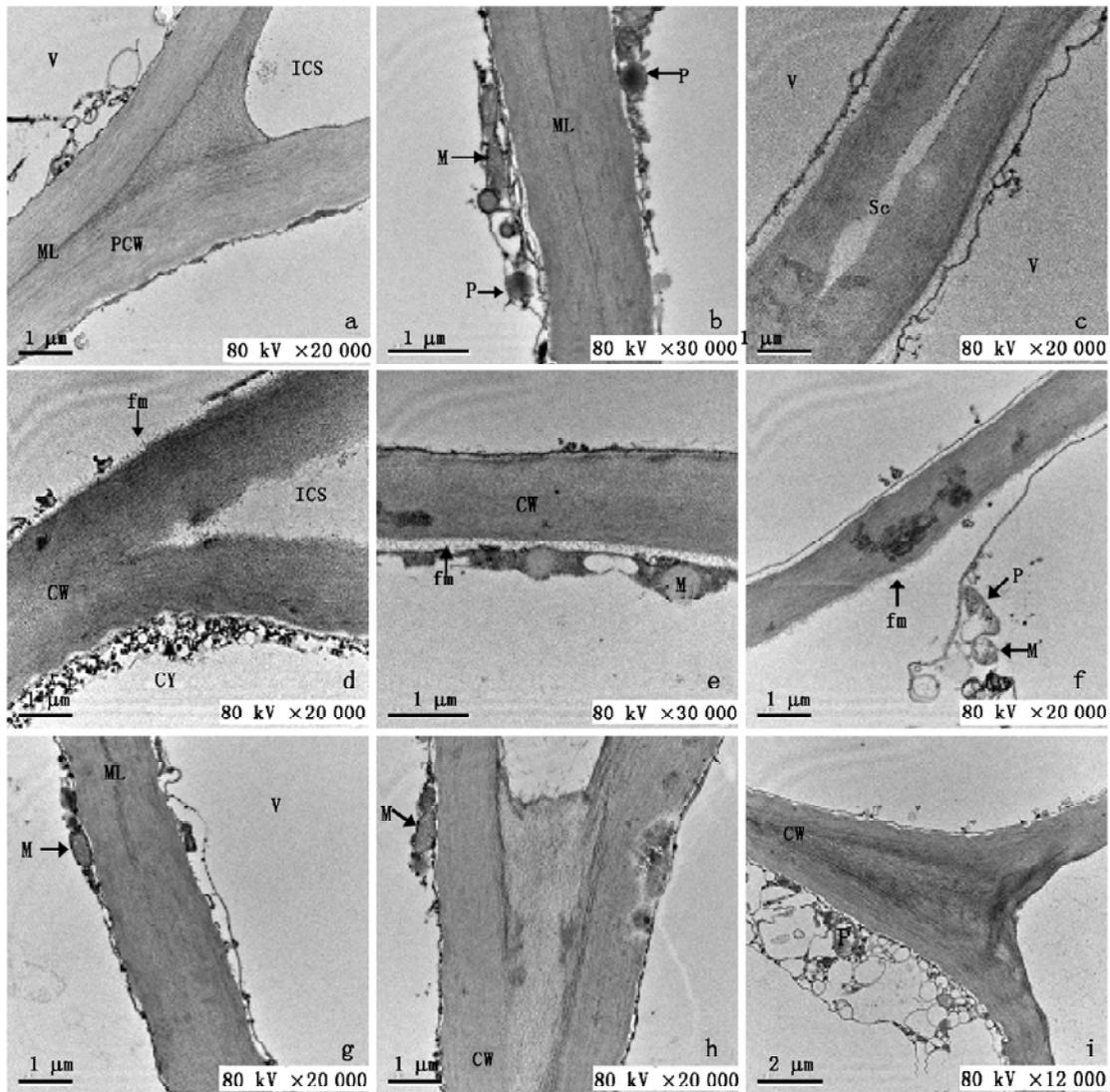


图4 贮藏期间果肉细胞超微结构的变化

Fig.4 Changes in flesh cell ultrastructure during storage

a: 贮前, 细胞壁结构致密, 分层清晰, 细胞间隙明显($\times 20\ 000$); b: 贮前, 细胞内有完整的细胞器($\times 30\ 000$); c: 室温下贮藏4周, 中胶层解体, 胞间层出现裂痕($\times 20\ 000$); d: 室温下贮藏4周, 中胶层消失, 纤维素壁结构松散, 呈絮状, 细胞质解体, 液泡膜部分破损($\times 20\ 000$); e、f: 室温下贮藏4周, 细胞器空泡化(e $\times 30\ 000$, f $\times 20\ 000$); g、h、i: 1-MCP处理后4周, 中胶层部分解体, 细胞壁及细胞器结构完整(g、h $\times 20\ 000$, i $\times 12\ 000$)。CW: 细胞壁; CY: 细胞质; M: 线粒体; ML: 中胶层; V: 液泡; Sc: 胞间裂痕; ICS: 细胞间隙; fm: 胞壁纤维; PCW: 初生壁; P: 质体。

壁发生皱褶、扭曲, 细胞间隙增大, 中胶层解体, 细胞壁物质分解, 呈现絮状; 原生质解体, 细胞器空泡化。这些变化导致果肉细胞完整性逐渐受到破坏, 这与前人在猕猴桃(杨德兴等1993)、桃(段玉权等2004)、柿(童斌等1999; 罗自生和席琦芳2005)和菠萝(屈红霞等2000)上得到的结果基本上一致。经1-MCP处理的果实果肉硬度下降显著减缓, 果肉细胞结构, 尤其是细胞壁结构破坏受到明显抑制。根据果实硬度与果肉细胞壁结构完整性相关的现象, 可以认为1-MCP可以保护果肉细胞结构的完整性, 从而延缓了果实的软化进程。

细胞结构完整性的破坏是细胞内一系列生理生化作用的结果。前人报道1-MCP可抑制苹果果实贮藏期间的呼吸速率和乙烯释放速率(韩冬芳等2003; 唐燕等2004), 1-MCP抑制由乙烯诱导的桃(刘红霞等2003)和油桃(王俊宁等2005)中纤维素降解和果胶的降解, 降低贮藏过程中的多聚半乳糖醛酸酶活性, 推迟多聚半乳糖醛酸酶活性高峰的出现(王俊宁等2005), 从而延缓细胞中胶层和胞壁纤维的降解, 因而果肉细胞结构的完整性可以得到保护。因此, 可以认为1-MCP保护果肉细胞结构完整性的作用, 可能是其与乙烯受体结合后, 抑制了乙烯所诱导的一系列生理生化反应的结果。

参考文献

- 段玉权, 冯双庆, 赵玉梅, 马秋娟(2004). 1-甲基环丙烯处理对冷藏桃果肉细胞超微结构的影响. 中国农业科学, 37 (12): 2039~2042
- 韩冬芳, 马书尚, 王鹰, 杜小英, 武春林(2003). 1-MCP对新红星苹果乙烯代谢和贮藏品质的影响. 园艺学报, 30 (1): 11~14
- 李富军, 翟衡, 杨洪强, 张新华, 束怀瑞, 周杰(2004). 1-MCP对苹果果实贮藏期间乙烯合成代谢的影响. 中国农业科学, 37 (5): 734~738
- 刘红霞, 姜微波, 罗云波(2003). 1-MCP处理对采后中华寿桃品质的影响. 中国食品学报, 3 (3): 55~59
- 罗自生, 席琦芳(2005). 贮藏温度对柿果生理和超微结构的影响. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 31 (2): 195~198
- 马书尚, 韩冬芳, 刘旭峰, 武春林(2003). 1-甲基环丙烯对猕猴桃乙烯产生和贮藏品质的影响. 植物生理学通讯, 39 (6): 567~570
- 屈红霞, 唐友林, 谭兴杰, 潘小平, 刘林(2000). 低温贮藏对菠萝细胞壁降解的影响. 园艺学报, 27 (1): 23~26
- 唐燕, 马书尚, 武春林(2004). 1-MCP对嘎拉苹果呼吸乙烯产生及贮藏品质的影响. 果树学报, 21 (1): 42~45
- 童斌, 饶景萍, 任小林(1999). 柿果(*Diospyros kaki* L.)后熟期间果肉细胞超微结构观察. 干果研究进展, (2): 218~220
- 王俊宁, 饶景萍, 任小林, 弓德强, 朱东兴(2005). 1-甲基环丙烯(1-MCP)对油桃果实软化的影响. 植物生理学通讯, 41 (2): 153~156
- 杨德兴, 戴京晶, 庞向宇, 邢红华, 王兰菊(1993). 猕猴桃衰老过程中PG、果胶质和细胞壁超微结构的变化. 园艺学报, 20 (4): 341~345
- 周培根, 罗祖友, 吴邦良(1991). 桃成熟期间果实软化与果胶及有关酶的关系. 南京农业大学学报, 14 (2): 33~37
- Ben-Arie R, Kiselev N, Frenkel C (1979). Ultrastructural changes in the cell walls of ripening apple and pear fruit. *Plant Physiol*, 64: 197~202
- Drake SR, Eisele TA (1997). Quality of 'Gala' apples as influenced by harvest maturity, storage atmosphere and concomitant storage with 'Baktleff' pears. *J Food Quality*, 20: 41~45
- Fan X, Blankenship SM, Mattheis JP (1999). 1-Methylcyclopropene inhibits apple fruit ripening. *J Am Soc Hortic Sci*, 124: 690~695
- Huber DJ (1983). The role of cell wall hydrolases in fruit softening. *Hortic Rev*, 5: 169~219
- Sisler EC, Dupille E, Serek M (1996). Effect of 1-methylcyclopropene and methylenecyclopropene on ethylene binding and ethylene action on cut flower. *Plant Growth Regul*, 18: 79~86
- Sisler EC, Serek M, Dupille E, Goren R (1999). Inhibition of ethylene responses by 1-methylcyclopropene and 3-methylcyclopropene. *Plant Growth Regul*, 27: 105~111