

## 梨果实的石细胞

李玲<sup>1</sup> 蔡永萍<sup>1,\*</sup> 刘小阳<sup>2</sup>

<sup>1</sup>安徽农业大学生命科学学院, 合肥 230036; <sup>2</sup>宿州学院生物系, 宿州 234000

### Stone Cell of Pear

LI Ling<sup>1</sup>, CAI Yong-Ping<sup>1,\*</sup>, LIU Xiao-Yang<sup>2</sup>

<sup>1</sup>College of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036; <sup>2</sup>Department of Biology, Suzhou College, Suzhou 234000

**提要** 概述了梨石细胞的发育过程、形态特征、大小分布与梨果实品质的关系, 以及影响其形成的因素和石细胞的分离方法, 并对梨石细胞的研究作了展望。

**关键词** 梨; 石细胞

梨果实的食用品质是决定梨果实经济价值的重要因素<sup>[1]</sup>。梨果实食用品质受多种因素的综合影响, 石细胞是影响梨果实品质的重要因素之一<sup>[1,2]</sup>。因此, 了解梨石细胞形成过程和影响其形成因素等, 对果树生产中采用正确的栽培措施减少梨石细胞, 提高梨果实品质无疑是具有意义的。

#### 1 梨石细胞的形态特征、特性和测定方法

**1.1 梨石细胞的形态特征** 石细胞是一种厚壁组织细胞, 由薄壁组织细胞在其初生壁上沉积了木质素等而形成次生壁, 由于具有硬化的壁, 所以称为石细胞<sup>[3]</sup>。梨的石细胞在分类上属于短石细胞<sup>[3]</sup>, 由大量木质素和纤维素组成<sup>[4]</sup>。其细胞壁很厚, 通常能辨认出大量的向心层和枝状纹孔。石细胞在果肉中单个或成群存在, 成群的石细胞称为石细胞团(一般所谓梨“石细胞”实际就是由多数石细胞组成的石细胞团)。石细胞团在形成时, 细胞分裂是成轮层状的围绕着先形成的石细胞周围进行的, 新的细胞后来也变成了石细胞<sup>[5]</sup>。

梨的石细胞形态多种多样。经低温冷冻分离的梨石细胞在光学显微镜下观察, 大小、形状均不规则, 有似圆形的、长形的、菱形的和多棱不规则的。大的石细胞有大小不同的木质化突起, 这可能是石细胞周围的薄壁组织细胞木质化而形成的<sup>[6]</sup>。

**1.2 梨石细胞的特性** 梨的石细胞具有较大的吸胀性, 刚分离出的石细胞在水中呈淡黄色, 比果肉细胞组织颜色深, 经风干失水后, 细胞呈淡白色, 体积干缩变小。干燥后的石细胞, 再放入水中, 又会吸水恢复体积, 呈淡黄的颜色, 但

不能恢复到干燥前的体积<sup>[6]</sup>。

**1.3 测定石细胞含量的方法** 迅速、准确地分离梨果肉石细胞的方法, 对梨的遗传育种、品种鉴定和品质分析提供植物学依据来说是非常重要的。根据国内外研究, 目前有很多方法<sup>[6~9]</sup>, 现在用得比较多的是冷冻H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>处理法和酶解法。

**1.3.1 冷冻H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>处理法** 步骤是: (1)果酱准备。分别取果实食用部分, 按四分法取样100 g, 置冰箱(-20~-16℃)24 h取出解冻后, 加水100 mL。匀浆机(1 500 r·min<sup>-1</sup>)搅拌0.5 min后, 转入500 mL烧杯中。果酱用孔径为0.1 mm网筛过滤, 网上果酱再转入烧杯中。(2)分离石细胞。向样品中加入25 mL 60% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 迅速搅拌到溶液呈均匀状态, 再加25 mL 60% H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>继续搅拌约2~3 min到溶液中石细胞均匀变暗为止, 用冷水稀释至500 mL, 再以孔径为0.1 mm筛过滤。重复3次。将分离出的石细胞转入烧杯中用水漂洗, 让石细胞沉于杯底, 轻轻倒出上浮液。重复2次。(3)石细胞称量。将洗出的石细胞分别用孔径为0.1和0.25 mm的分样筛过滤, 得到完整的直径大于0.25 mm和0.1~0.25 mm的石细胞, 用滤纸吸干, 分别称重。两者之和即为100 g果肉中的石细胞含量。

**1.3.2 酶解法** 流程是: (1)果浆制备。分别取果实食用部分, 按四分法取样100 g, 放入500 mL

收稿 2003-12-29 修定 2004-04-15

资助 安徽省教育厅自然科学基金项目(2002kj297)。

\* 通讯作者(E-mail: CYPNFG@mail.nf.ah.cn, Tel: 055-2823795-3129)。

烧杯中, 加 50 mL 蒸馏水, 置于电炉上煮沸 10 min, 并不断搅动, 冷却至 37℃, 调 pH 值至中性。(2) 石细胞分离。向样品中加入 7 mL 果胶酶液(其活性为 0.9525 U·L<sup>-1</sup>), 在 37℃ 热水中水浴酶解。每隔 20 min 搅拌一次, 至 10 h 后完全酶解。将分离出的石细胞用水漂洗, 使石细胞沉淀于烧杯底部, 再轻轻倒出上清液, 重复漂洗, 得到纯净的石细胞。(3) 石细胞称量。将洗出的石细胞用滤纸吸干后放入烘箱中烘干至恒重, 称重, 即为 100 g 果肉中石细胞的含量。

## 2 梨石细胞大小、数目及密度

**2.1 梨石细胞大小** 不同品种梨之间的石细胞大小、数目、含量不同。顾模等<sup>[10]</sup>概括 72 个梨品种果肉结构解剖结果, 认为梨果品种石细胞团大小分布多在 151~200 μm 之间, 100~150 μm、201~250 μm 的较少, 251~300 μm 的更少, 301~500 μm 的极少。其中, 白梨系统、砂梨系统及其与秋子梨的杂种果实石细胞团比较小, 多分布在 100~250 μm 之间; 纯秋子梨系统的品种分布在 251 μm 以上, 尤其是半栽培的秋子梨品种, 石细胞团可大至 301~500 μm。由此可知, 梨石细胞团的大小与其栽培进化程度关系密切, 石细胞团愈大, 其栽培愈接近原始型。同一品种果实发育过程中, 果实中石细胞团直径不断增大, 但到花后 2~3 个月时, 石细胞团的直径增大趋于稳定<sup>[5]</sup>。同一果实的石细胞团大小以近果皮的果肉中为最小, 中间较大, 近果心的最大。

**2.2 梨石细胞数目** 梨果实内石细胞团数目常用单位面积果肉中石细胞团的数量表示。不同梨品种数目不同。在同一品种中一般是果实发育早期的数目较多, 花后 1 个月左右达到最高峰, 此后, 随着果实的发育和果实体积的增大, 石细胞团数目逐渐减小, 到果实成熟前 2 个月, 数目基本恒定<sup>[5]</sup>。在同一果实中的石细胞以果中部为最少, 近果皮处次之, 果心中最多。

**2.3 梨石细胞密度** 梨果实石细胞密度常用每克鲜果肉中石细胞的含量表示。梨果实密度因品种不同而异, 果实发育期长的(如苹果梨、南果梨), 果实在发育初期(花后 15 d)较低, 中前期(花后 35~60 d)较高, 中后期又低; 果实发育期短的(如丰水、伏茄), 果实在发育初期就高, 以后降低。这主要是由于果实发育初期石细胞团正处在形成阶

段, 数目较少, 因而密度较低; 中期时由于石细胞团的大量形成, 果肉生长较慢, 密度较高<sup>[11]</sup>; 而在后期随着果实的成熟, 果实中纤维素酶活性增高, 分解部分石细胞<sup>[2]</sup>, 因而密度下降。

## 3 石细胞与梨果实品质的关系

梨果实果肉中石细胞的大小、数目和密度都对果实的品质有影响。有研究表明, 梨石细胞团直径小于 150 μm 的, 食用时不容易感觉出来<sup>[1]</sup>, 因此, 一般质地细的梨品种, 其石细胞团大小多在 200 μm 以下, 如巴梨、锦丰梨、早酥梨等, 肉质细, 含渣少, 口感好。300 μm 以上的梨品种果肉质较粗, 口感多渣, 如花盖梨、安梨、尖把梨等。但是石细胞团大而密度小的南果梨和石细胞团密度大而石细胞团小的苹果梨口感质地较好。因此顾模等<sup>[10]</sup>认为, 梨果实的品质是由石细胞团的大小和密度二者综合决定的。

## 4 梨石细胞的发育过程

上世纪 80 年代末至 90 年代, 顾模等<sup>[10]</sup>、阿拉木萨和李宝江<sup>[11]</sup>、陶世蓉等<sup>[12]</sup>、张冰冰等<sup>[13]</sup>通过解剖观察, 对梨石细胞发育过程进行了较为系统的研究。他们观察到: (1) 在果实发育过程中, 梨盛花期的花托(果肉)全为薄壁细胞, 随着花瓣脱落(约在花后 15 d), 薄壁细胞中有一些较大的果肉细胞壁明显增厚, 内含物逐渐被吸收消失, 成为厚壁中空细胞, 也就是石细胞团的原基细胞。先是 3~5 个原基细胞聚集为 1 个细胞团, 以后不断有其他厚壁中空细胞或细胞团加入, 直径不断加大, 同时这些中空细胞壁不断加厚, 内部空腔不断被填充, 最后发展为实心石细胞团, 成为典型的石细胞团。石细胞团发育从近果心处的果肉薄壁细胞先发生, 然后逐渐向外。另外, 已分化的石细胞也能诱导附近的薄壁细胞分化成石细胞, 形成石细胞团。梨石细胞团发育过程通常在花后 2 个月内完成。(2) 石细胞团的发育过程, 因种和品种不同而有较大差异。有的品种原基细胞出现较早, 如秋子梨系统中较原始的品种酸梨锅子, 5 月 10 日落花后, 5 月 11 日即出现厚壁原基细胞, 5 月 27 日(落花后 17 d)即出现大量石细胞团, 表现厚壁细胞木质化进度加速, 石细胞团的数量增加很快。秋子梨的栽培品种小香水和大香水的厚壁细胞出现、聚簇与木质化均较酸梨锅子为晚。而白梨与沙梨系统中的白糖梨、苹果梨则

发育时期更晚, 6月中旬至7月中旬开始有聚簇的厚壁细胞团变成石细胞团, 7月中旬至8月中旬才大量形成。石细胞发育时期的早晚和发育速度快慢与最终石细胞团的大小呈正相关。

## 5 影响梨石细胞形成的因素

梨石细胞含量和大小除因品种的遗传基因而异之外, 还与外界环境条件和生理因素有关。

**5.1 环境条件** 李疆等<sup>[14]</sup>研究砀山酥梨石果病(石果病最主要的特征是果肉硬化, 石细胞多)的发病规律时发现影响石果病发生的因素有:(1) 营养水平。营养水平高低与石细胞含量多少呈负相关。营养水平高的树体和部位, 发病轻, 如健壮树上病果少, 树冠外围的果实病果数量比内膛少。这是由于树冠外围叶片质量高, 营养条件好; 而内膛叶片小而薄, 营养水平低, 甚至为无效叶, 因而果实发育所需营养得不到满足。(2) 光照条件。光照条件好的树或部位, 果实石果病数量少, 而密植树或内膛, 树体北面等光照条件较弱处石果病病果数量多。(3) 栽培管理。栽培管理好的果园, 果实石果病数量少; 而管理较差、间作不当或肥水不足、修剪过重或过轻等造成树势衰弱或旺长, 病虫害较重的果园, 果实石果病数量较多。

**5.2 生理因素** 石细胞是由薄壁组织细胞在其初生壁上沉积了次生壁而形成的厚壁细胞。而木质素是细胞次生壁和石细胞的主要成分, 其合成直接影响到梨果实中石细胞的分化和发育<sup>[15]</sup>。因此, 影响次生壁形成以及参与调控木质素合成过程的酶及内源激素等生理因素亦是影响石细胞形成的因素。

**5.2.1 苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)** 木质素合成是经过苯丙烷类代谢途径进行的, 由苯丙氨酸脱氨形成肉桂酸起始, 经一系列羟基化、甲基化与还原反应, 形成合成木质素的3种主要单体, 分别为香豆醇、松柏醇和芥子醇<sup>[16, 17]</sup>。在这合成木质素的代谢过程中, PAL是催化其代谢反应第一步的酶, 它催化苯丙氨酸脱氨生成肉桂酸, 再经C4H(cinnamate 4-hydroxylase)催化生成香豆酸, 再通过多条途径转化为木质素。20世纪70年代以来, PAL与细胞木质化的关系已有不少报道。Rubery和Northeote<sup>[18]</sup>在多种植物中发现在木质化组织中含

有较高的PAL活性, 而在这些植物的非木质化组织中则检测不到PAL活性。Fukuda<sup>[19]</sup>和Nakashima等<sup>[20]</sup>用分离的百日草叶肉细胞研究苯丙烷类代谢酶类与木质素、管状分子形成和细胞分化的关系时发现, 在百日草细胞分化过程中, 木质素的合成及管状分子形成与PAL活性的增加呈正相关。因而说明PAL是苯丙烷类代谢生成木质素过程中的关键酶和限速酶。而POD则是在木质素合成的最后一步起关键作用。在苯丙烷类代谢形成3种主要单体之后, 这3种单体在POD作用下脱氢聚合形成木质素<sup>[21]</sup>。目前, 已有许多试验证实木质素和木栓质的积累与POD活性增加之间呈正相关<sup>[22~25]</sup>。Ipelcl等<sup>[26]</sup>采用抑制杨树一种POD表达的方法, 使木质素含量下降10%~20%。Lagrimini<sup>[27]</sup>将POD基因导入的烟草其茎部组织中木质素的水平升高。此外, PPO还可通过参与酚类物质(如绿原酸、香豆素等)的氧化过程, 而促进木质素的合成。有研究报道, PPO活性与木质素合成呈正相关<sup>[28]</sup>。这说明PAL、POD和PPO是木质素合成过程中3个最重要的酶, 也是影响梨石细胞形成的关键性酶。

**5.2.2 植物内源激素与Ca<sup>2+</sup>、钙调素** 植物内源激素是调节植物生长发育过程中的重要物质, 尤其在植物细胞发育过程中对细胞壁的形成、细胞分裂、伸长等具有重要作用。其中, 生长素(IAA)通过位置效应促进形成层细胞分裂、诱导木质部管胞分化、参与控制初生壁扩展和次生壁加厚<sup>[29]</sup>。曾有实验表明, IAA可大大抑制石细胞的形成<sup>[4]</sup>。脱落酸(ABA)能够抑制钙调素合成或抑制它向作用位点移动, 降低POD活性, 进而影响次生壁的形成<sup>[30]</sup>。乙烯能够加快次生壁的合成, 可能是通过促进蛋白质的合成, 刺激包含木质素前体在内的细胞壁物质的运输小泡向细胞壁运输这两种途径实现的<sup>[31]</sup>。而Ca<sup>2+</sup>、钙调素则参与次生壁形成的调节。Ca<sup>2+</sup>通过对周质微管装配的调节影响次生壁加厚模式<sup>[32]</sup>。Roberts和Baba<sup>[33]</sup>的研究表明, 莴苣髓细胞诱导管状分子分化的过程中次生壁的形成必须有钙调素的参与。这说明植物内源激素和钙调素对梨石细胞的形成也有作用。

## 6 结语与展望

目前, 揭示梨石细胞的研究主要以解剖观察研究梨石细胞的形态结构为主, 通过制片在显微

镜下观察测量并摄影, 观察梨石细胞的发育过程, 形态结构特征, 大小、数目及密度等。而从影响梨石细胞形成的生理因素和从分子生物学角度研究的还很少。因此, 今后应加强这方面的工作, 即一方面对影响梨石细胞发育过程中石细胞产生的生理因素动态变化与石细胞形成的相关性进行研究, 揭示石细胞发育的生理生化基础, 为果树生产中采用合理的农业技术措施来减少梨石细胞提高梨的品质提供参考; 其次, 对梨石细胞次生壁形成机制及其分子调控的研究将有助于通过生物技术手段, 选择和培育出优质品种梨。另一方面, 还应从分子生物学角度研究找出决定梨石细胞形成的基因, 从而对梨品种进行改良, 选育出石细胞含量少的优质品种梨。

### 参考文献

- 1 山东省莱阳农业大学编著. 梨. 北京: 科学出版社, 1978. 73~77
- 2 韦军, 何凤仁. 酥梨、鸭梨果实石细胞群研究. 江苏农学院学报, 1988, 9(1): 35~36
- 3 李正理, 张新英. 植物解剖学. 北京: 高等教育出版社, 1984. 65
- 4 陶世蓉, 辛华, 初庆刚等. 不同耐贮性梨果实的比较解剖. 莱阳农学院学报, 1992, 9(3): 181~184
- 5 刘庆华, 王奎玲, 周启河等. 梨果肉石细胞的形态结构与果实品质的关系. 莱阳农学院学报, 1992, (9): 252~255
- 6 吴少华. 梨果肉石细胞的研究. 福建农业大学学报, 1996, 25(1): 29~32
- 7 沈德绪, 吴少华. 梨果肉石细胞含量的分析方法. 中国果树, 1985, (3): 50
- 8 张雅凤, 郭太君, 焦培娟等. 秋子梨不同品系果实石细胞含量的测定. 特产研究, 1988(4): 34~35
- 9 牟其芸, 李文香, 张华云等. 梨果实中石细胞含量测定及与果实品质相关性的研究. 落叶果树, 1996, (1): 7~9
- 10 顾模, 林凤起, 张冰冰. 梨果肉结构的解剖研究. 中国果树, 1989, (4): 32~34
- 11 阿拉木萨, 李宝江. 梨果实石细胞团的发育、分布及其对果实品质的影响. 北方果树, 1994, (4): 4~6
- 12 陶世蓉, 辛华, 初庆刚等. 窝梨果实结构及发育的研究. 西北植物学报, 1999, 19(1): 123~126
- 13 张冰冰, 林凤起, 刘慧涛等. 梨果及石细胞团发育的研究. 落叶果树, 1988, 20(2): 1~3
- 14 李疆, 高疆生, 张崎. 砀山酥梨石果病的发病规律及其防治效果初探. 新疆农垦科技, 1991, (1): 16~18
- 15 鞠志国. 采期对莱阳荏梨酚类物质代谢和组织褐变的影响. 中国农业科学, 1991, 24(2): 63~68
- 16 Meyermans H, Morreel K, Lapiere C. Modifications in lignin and accumulation of phenolic glucosides in poplar xylem upon down-regulation of caffeoyl-coenzyme A *O*-methyltransferase, an enzyme involved in lignin biosynthesis. J Biol Chem, 2000, 275: 36899~36909
- 17 Zhong RQ, Morrison WH, Immelsbach DS. Essential role of caffeoyl coenzyme A *O*-methyltransferase in lignin biosynthesis in woody poplar plants. Plant Physiol, 2000, 124: 563~578
- 18 Rubery RH, Northeote DH. Site of phenylalanine ammonia-lyase activity and synthesis of lignin during xylem differentiation. Nature (London), 1968, 210: 1230~1234
- 19 Fukuda H. Establishment of an experimental system for the study of tracheary element differentiation from single cells isolated from the mesophyll of *Zinnia elegans*. Plant Physiol, 1980, 65: 57~60
- 20 Nakashima J, Awano T, Takabe K et al. Immunocytochemical localization of phenylalanine ammonia-lyase and cinnamyl alcohol dehydrogenase in differentiating tracheary elements derived from *Zinnia mesophyll* cells. Plant Cell Physiol, 1997, 38(2): 113~123
- 21 Andrea P, Tilman O, Friederike S. Apoplastic peroxidases and lignification in needles of Norway spruce. Plant Physiol, 1994, 106: 53~60
- 22 Van Huyster RB. Some molecular aspects of plant peroxidase: biosynthetic studies. Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 1987, 38: 205~219
- 23 Christensen JH, Bauw G, Welinder KG et al. Purification and characterization of peroxidases correlated with lignification in poplar xylem. Plant Physiol, 1998, 118: 125~135
- 24 Quiroga M, Guerrero C, Botella MA et al. A tomato peroxidase involved in the synthesis of lignin and suberin. Plant Physiol, 2000, 122: 1119~1123
- 25 鞠志国, 原永兵, 刘成连等. PP<sub>333</sub>对梨果实生长和酚类物质合成的影响. 园艺学报, 1993, 20(3): 216~220
- 26 Ipelel Z, Ogras T, Altinkut A. Reduced leaf peroxidase activity is associated with reduced lignin content in transgenic poplar. Plant Biotech, 1999, 16: 381~387
- 27 Lagrimini LM. Wound-induced deposition of polyphenols in transgenic plants overexpressing peroxidase. Plant Physiol, 1991, 96: 577~583
- 28 席均房, 罗自生, 程度等. 竹笋采后木质化与多酚氧化酶、过氧化物酶和苯丙氨酸解氨酶活性的关系. 植物生理学通讯, 2001, 37(4): 294~295
- 29 Uggla C, Moritz T, Sandberg G et al. Auxin as appositional signal in pattern formation in plants. Proc Natl Acad Sci USA, 1996, 93: 9282~9286
- 30 Basra AS, Salarch RS, Dhillongewal R et al. Calcium-mediated changes in peroxidase and *O*-diphenol oxidase activities of cotton fibers and its possible relationship to ABA. Plant Growth Regul, 1992, 11: 159~164
- 31 Ingemarsson BSM. Ethylene effects on peroxidases and cell growth patterns in *Picea abies* hypocotyl cuttings. Plant Physiol, 1995, 94: 211~218
- 32 Fukuda H, Kobayashi H. Dynamic organization of the cytoskeleton during tracheary element differentiation. Dev Growth Differ, 1989, 31: 9~16
- 33 Roberts LW, Baba S. Evidence that auxin-induced xylogenesis in *Lactuca* explants requires calmodulin. Environ Exp Bot, 1987, 27: 289~291