

刺伤对苹果伤口周边细胞死亡和青霉菌侵染的影响

王向阳, 潘炎, 王红艳, 吕丽

(浙江工商大学 食品与生物工程学院, 浙江 杭州 310035)

摘 要:以“红富士”苹果为试材,通过不同孔径针刺伤苹果,在伤口接种青霉菌,分别在常温和低温下放置 30 d,检测伤口周边细胞死亡层数、死亡半径和腐烂率,以了解刺伤对苹果伤口腐烂的影响。结果表明:刺伤会导致伤口周边几层细胞逐渐死亡,大孔径造成伤口周边细胞的死亡层数远多于小孔径刺伤。常温和低温下,刺伤前期伤口周边细胞的死亡层数增加迅速,后期死亡细胞数量增加较少,并逐渐不再扩展。低温对伤口周边细胞死亡抑制作用较小。常温下伤口接种青霉菌极大地增加了大孔径针刺伤苹果的死亡细胞层数,而对于微小孔径刺伤伤口,涂菌对细胞死亡的促进并不明显。伤口死亡半径、伤口腐烂率与伤口周边细胞的死亡层数的规律基本一致,大孔径刺伤后接种青霉菌处理,其伤口腐烂率在刺伤后 5 d 已经很高,达到 80% 以上。而小孔径刺伤苹果在 30 d 内,不管是常温、低温、还是接种青霉菌,其都没有出现腐烂。说明刺伤孔径对苹果的腐烂有极大的影响,其引起苹果严重腐烂的临界孔径在 0.50~1.00 mm 之间。

关键词:苹果;刺伤;青霉菌;细胞死亡;腐烂

中图分类号:S 661.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)21-0139-04

微小刺孔不但可能会引起一系列生理性病变^[1-2],同时也为微生物侵染提供了机会,使果蔬衰老加快,腐烂加快,在贮运过程中造成相当严重的损失^[3-5]。苹果在采收、分级、运输、包装、贮藏和加工的各个环节中容易受到机械损伤^[6]。苹果果皮很薄,很容易因为触碰树枝或采摘篮的保护措施不当等而发生刺伤,刺伤不仅会对苹果的外观造成影响,同时还会使营养物质通过伤口处流失,大大降低其商品价值和食用价值^[7-8]。

然而,有关刺伤孔径的大小对苹果腐烂和其它劣变症状影响的研究鲜见报道。该试验通过对苹果进行不同孔径刺伤,在常温和低温下,在伤口处接种青霉菌并放置 30 d,检测其伤口周边细胞死亡层数、死亡半径和腐烂率,旨在探索刺伤对苹果伤口腐烂的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试苹果品种“红富士”,来自陕西,购于杭州市文城水果超市,试验于 2011 年 4 月进行。

1.2 试验方法

1.2.1 刺伤试验 选取大小均匀、无损伤的苹果,对其果面分别用 70% 酒精消毒 1 min, 5% NaClO 消毒 10 min,

灭菌水冲洗 3 遍,套保鲜袋备用。样品数量:每种处理材料 3 个,每个材料 5 处刺伤。每种处理共测定 15 个刺伤。大小刺伤共 5 种,刺孔直径从小到大分别是 0.25、0.50、1.00、2.00、3.00 mm。所有处理均在无菌操作台进行,并用薄膜袋隔离。

1.2.2 涂菌试验 在刺伤后的苹果上接种青霉菌(*Penicillium expansion*),分别置于中温(25℃)和低温(4℃)中贮存 30 d,用 0.02 mm 精度游标卡尺检测伤口腐烂大小。前 10 d 每天检测 1 次,10 d 后每 5 d 检测 1 次,每次每种测定 15 个刺伤。对照组不涂菌,其它条件和试验组相同。细胞死亡层数:将伤口处表皮用刀片小心削去,用 2% 台盼蓝染液对伤口染色 1 h,没有果皮的阻隔作用,染液可以更快更广泛地渗透到深层细胞,徒手切片,显微镜检测伤口周边细胞死亡层数。死亡半径差=(伤口死亡直径-针直径)/2;伤口腐烂率=(腐烂伤口数量/伤口总数量)×100%。

2 结果与分析

2.1 刺伤对伤口周边细胞死亡层数的影响

从图 1 可以看出,细胞死亡层数随着贮存时间的延长逐渐增多,尤其前 10 d 内,死亡细胞快速增多,10 d 后趋于平缓。从宏观角度观察,这与常温不涂菌组伤口坏死情况大致相同。伤口越大,细胞死亡越严重。其中,0.50 mm 刺孔与 1.00 mm 刺孔试验组的细胞死亡层数比较接近;2.00 mm 刺孔与 3.00 mm 刺孔试验组的细胞死亡情况相近。3.00 mm 刺孔比 0.25 mm 刺孔的死亡

第一作者简介:王向阳(1966-),男,博士,教授,博士生导师,现主要从事农产品保鲜与加工及功能性食品等研究工作。

基金项目:浙江省重大农业科技资助项目(2011C12031)。

收稿日期:2013-05-15

层数平均多出 5~9 层。说明 1.00~2.00 mm 之间的伤口大小可能是导致伤口坏死加剧的一个过渡范围,伤口超过这个范围,中高温下组织很容易腐烂;伤口小于这个范围,一般能够自主愈合,不容易发生腐烂。

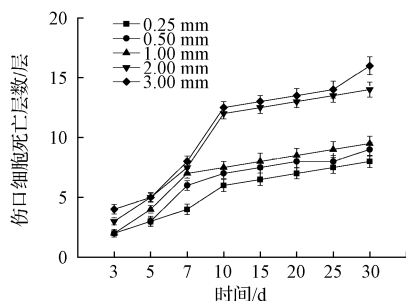


图 1 常温下苹果刺伤孔径大小对伤口周边细胞死亡层数的影响

Fig. 1 Effects of different apertures of needle-stick injuries on cell death layers nearby the wound of apple at room temperature

从图 2 可以看出,常温涂菌各试验组的细胞死亡情况较严重。其中,3.00 mm 刺孔试验组的死亡细胞层数一直居高不下,前 10 d 的增长较平缓,10 d 后快速上升。2.00 mm 刺孔至第 20 天起细胞死亡层数快速增长,1.00 mm 试验组的增长趋势与之相似,只是增幅稍小一些。而 0.25 mm 刺孔与 0.50 mm 刺孔的细胞死亡层数随着贮存时间的延长增长趋势相对比较平缓。这与常温涂菌宏观坏死半径的情况大体一致,说明微观细胞的死活与宏观伤口腐烂息息相关。0.25 mm 与 0.50 mm 刺孔能够自主愈合,不易发生腐烂。

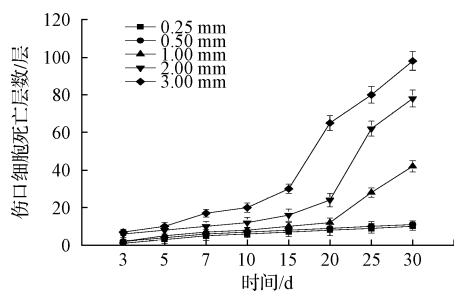


图 2 常温下接种青霉菌对苹果刺伤伤口周边细胞死亡层数的影响

Fig. 2 Effects of *P. expansion* inoculation on cell death layers nearby the wound of apple at room temperature

从图 3 可以看出,低温下染菌对比常温染菌,死亡细胞的数量大大减少。前 5~10 d,各试验组细胞的死亡层数快速增加,之后的变化逐渐趋于平缓。总体上,30 d 内各组细胞死亡层数均处于较低的水平,与常温不涂菌组的情况相似。低温下,3.00 mm 刺孔的死亡层数增加较快,说明病菌有侵染;其它试验组上升速度和常温不涂菌类似,这说明病菌可能没有侵染,是细胞本身

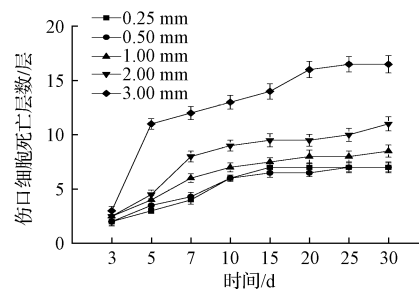


图 3 低温下接种青霉菌对苹果刺伤伤口周边细胞死亡层数的影响

Fig. 3 Effects of *P. expansion* inoculation on cell death layers nearby the wound of apple at low temperature

坏死,说明低温能够使较小刺伤免受病菌侵染。

2.2 刺伤对伤口周边细胞死亡半径的影响

由图 4 可知,常温不涂菌试验组的伤口坏死半径随着贮存时间的延长平缓上升。2.00 mm 以下伤口坏死半径增长比较小。可能较小的伤口容易愈合。0.25、0.50、1.00 mm 和 2.00 mm 4 组刺孔的坏死半径始终保持在 0.80 mm 以下。3.00 mm 刺孔的坏死速度稍快些,其半径差也在 2.00 mm 内。说明伤口越大,受伤的表面积极越大,死亡细胞越多,自主修复作用表现越弱。

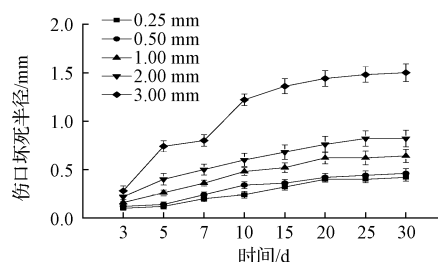


图 4 常温下苹果刺伤孔径大小对伤口死亡半径的影响

Fig. 4 Effects of different aperture of needle-stick injuries on the wound death radius of apple at room temperature

由图 5 可知,常温涂菌 0.25、0.50 mm 试验组的伤口坏死半径随着时间的延长逐渐增大。2.00 mm 与 3.00 mm 试验组的伤口坏死半径随着贮存时间的延长逐渐增大的趋势非常明显,明显比常温不涂菌组的坏死速度快。其中 3.00 mm 刺孔的坏死速率前 15 d 增长缓慢,到第 15 天陡然上升,病菌大量繁殖。2.00 mm 刺孔与 1.00 mm 刺孔的坏死速度于第 20 天开始迅速增长,比 3.00 mm 刺孔试验组的陡增时间推后了 5 d 左右。而 0.50 mm 以下的小伤口,即使涂菌,腐烂面积也不增加。与不涂菌的处理相比,大伤口涂菌,显著促进腐烂,微小伤口对病菌不敏感。

由图 6 可知,低温涂菌各试验组的伤口坏死随着时间的延长逐渐增大,各处理在开始 1 周内的坏死半径增幅较大。特别是 3.00 mm 刺伤组,在 5~10 d,坏死半径

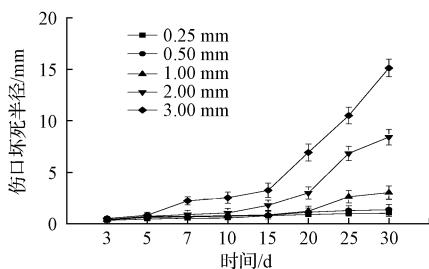


图5 常温下接种青霉菌对苹果刺伤伤口死亡半径的影响

Fig. 5 Effects of *P. expansion* inoculation on the wound death radius of apple at room temperature

的增长速度很快。相比于常温涂菌组的变化,低温涂菌各试验组的坏死速率大大降低,这说明低温环境可有效抑制植物组织腐烂,有利于果蔬的贮存。

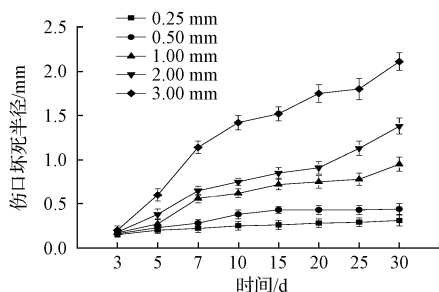


图6 低温下接种青霉菌对苹果刺伤伤口死亡半径的影响

Fig. 6 Effects of *P. expansion* inoculation on the wound death radius of apple at low temperature

2.3 涂菌对腐烂率的影响

从图7可以看出,常温不涂菌各试验组的伤口腐烂率会随着贮藏时间的延长而逐渐增加,伤口越大,腐烂率也越大。其中,0.25 mm刺孔与0.50 mm刺孔的腐烂率明显大于其它处理,从图7中几乎看不出其它处理的腐烂率有逐渐增加的趋势。3.00、2.00 mm与1.00 mm刺孔试验组的腐烂率明显高于其它2组,说明伤口越大,越容易腐烂。由于伤口未涂菌,所以腐烂应该是由细胞坏死或者极少量染菌造成的。

从图8可以看出,3.00 mm试验组的伤口腐烂率一

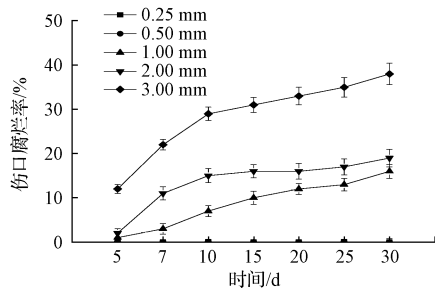


图7 常温下苹果刺伤孔径大小对伤口腐烂率的影响

Fig. 7 Effects of different aperture of needle-stick injuries on the wound decay rate of apple at room temperature

直居高不下,且在很短时间内几近100%,而0.25 mm与0.50 mm刺孔组的腐烂率一直较小,且基本不变。可能是因为刺孔较小,染菌量较少,同时限制了病菌的增殖空间,所产生的抑菌物质可以很快消灭伤口表面少量的致病菌,阻止了腐烂的蔓延。而对于较大伤口,所产生的抑菌物质很难抵御大量入侵的致病菌。1.00 mm刺孔组的腐烂率随贮存期延长逐渐增大,2.00 mm试验组的腐烂率在5~10 d内快速上升,10~15 d保持平缓,后期又开始快速增大。可能由于贮藏前期接种大量致病菌,中期伤口自动愈伤或产生抑菌物质,腐烂率保持平缓,后期由于细胞的死亡和致病菌的大量繁殖,伤口的愈合能力与抗病能力大大降低,导致了腐烂率的快速上升。

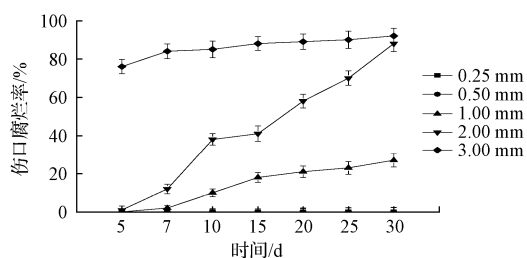


图8 常温下接种青霉菌对苹果刺伤伤口腐烂率的影响

Fig. 8 Effects of *P. expansion* inoculation on the wound decay rate of apple at room temperature

从图9可以看出,0.25 mm与0.50 mm刺孔组的腐烂率基本不变,1.00 mm与2.00 mm试验组的变化基本一致,腐烂率随着贮存期的延长而逐渐增大,但是与常温涂菌相比不再有腐烂率先增大后平缓再增大的变化趋势;而3.00 mm试验组的腐烂率先快速上升,在10~25 d之间趋于平缓,然后再快速增大。该组试验结果与常温涂菌中2.00 mm试验组相仿。说明低温对伤口致病菌有一定的抑制作用。但是愈伤组织在低温下进行得比较缓慢,当伤口病菌较多时,抑菌作用会受到一定程度的限制,说明受伤的果实在低温下贮藏仍然是比较有利的。

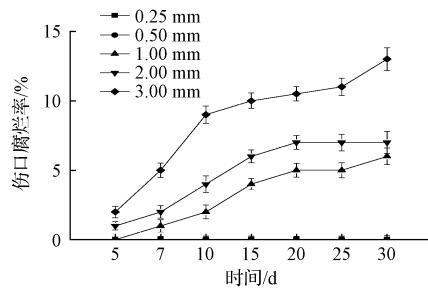


图9 低温下接种青霉菌对苹果刺伤伤口腐烂率的影响

Fig. 9 Effects of *P. expansion* inoculation on the wound decay rate of apple at low temperature

3 讨论与结论

大孔径造成伤口周边细胞的死亡层数远多于小孔径刺伤。常温下伤口接种青霉菌极大增加了细胞死亡层数和腐烂程度,而对于微小孔径刺伤伤口,涂菌对细胞死亡和腐烂的促进并不明显。说明伤口周边细胞死亡可能是致使青霉菌侵染的关键。常温和低温下,刺伤前期伤口周边细胞的死亡层数增加迅速,后期死亡细胞层数增加缓慢。说明伤口周边细胞可能也有一定损伤。低温对伤口周边细胞死亡抑制作用较小,说明其是不可逆的,只是出现时间的迟早,这可能是一种坏死现象。但是后期死亡细胞数量增加缓慢,暗示离伤口较远的细胞死亡可能是凋亡等主动过程。这与邓理等^[9]对香蕉机械损伤的研究结果一致,刺伤较小时,不会影响果实品质。刺伤孔径对苹果的腐烂有极大的影响,这与 Amorim 等^[5]在对核果的研究中得知果蔬受到的机械损伤和采后的病害呈明显的正相关一致。较大刺伤孔径及病菌侵染容易导致果实腐烂的发生。因此应重点关注苹果大伤口的腐烂问题,而对于小伤口不需要进行防腐。而多大孔径才是病菌侵染和细胞激发抗病性的分界线,才是最关键的。

参考文献

- [1] Brecht J K. Physiology of lightly processed fruits and vegetables. Hort-science, 1995, 30(1): 18-21.
- [2] 卢立新, 王志伟. 果品运输中的机械损伤机理及减损包装研究进展[J]. 包装工程, 2004, 25(4): 131.
- [3] 胡新宇, 宁正祥, 向波, 等. 水果贮藏保鲜技术的进展[J]. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(6): 590-594.
- [4] 王艳颖, 胡文忠, 庞坤, 等. 机械伤害引起果蔬褐变机理的研究进展[J]. 食品工业科技, 2007, 28(11): 230-232.
- [5] Amorim L, Martins M C, Lourenc S A, et al. Stone fruit injuries and damage at the wholesale market of Sao Paulo Brazil[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 47(3): 353-357.
- [6] 戴桂芝, 陈利梅, 李燕. 果蔬采后商品化处理要点综述[J]. 食品研究与开发, 2006, 27(2): 154-156.
- [7] Klein J D. Relationship of harvest date, storage conditions, and fruit characteristics to bruise susceptibility of apple[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1987, 112(1): 113-118.
- [8] Watada A E, Ko N P, Minott D A. Factors affecting quality of freshcut horticultural products[J]. Postharvest Biology and Technology, 1996, 9(2): 115-125.
- [9] 邓理, 候义龙, 陈立东, 等. 香蕉机械伤的初步研究[J]. 北方园艺, 2002(1): 48-50.

Effects of Needle-stick Injuries on Cell Death Nearby the Wound and the Infection of *Penicillium expansion* on Apple

WANG Xiang-yang, PAN Yan, WANG Hong-yan, LV Li

(Department of Food Science and Technology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou, Zhejiang 310035)

Abstract: Taking 'Red Fuji' as material, in order to finding out the influence of needle-stick injuries on the wound decay of apple, different apertures of needles were used to acupuncture apples. After that, they were inoculated with *P. expansion* and placed at room temperature and low temperature. After 30 days, cell death layers nearby the wound, death radius and decay rate were detected. The results showed that needle-stick injuries would gradually lead to a few layers of cell death nearby the wound. Cell death layers nearby the wound caused by large aperture needles were far more than that by small ones. At room temperature and low temperature, cell death layers nearby the wound increased rapidly in the prophase of acupuncture, and increased less in the late stage of acupuncture and kept no spread. Low temperature had a small inhibition to cell death nearby the wound. At room temperature, cell death layers of wound caused by large aperture needles were significantly increased after inoculating with *P. expansion*, but it didn't influence significantly on wound caused by small aperture needles. The regularity of lesion diameter and decay rate were basically the same as cell death layers nearby the wound. The decay rate of wound caused by large aperture needles and inoculated with *P. expansion* reached above 80% after 5 days. However, wound caused by small aperture needles didn't decay no matter they were at room temperature or low temperature, or even inoculated with *P. expansion*, which indicated that acupuncture aperture has a significant influence on the decay of apple and its critical size which could cause severe decay was between 0.50 mm and 1.00 mm.

Key words: apple; needle-stick injury; *Penicillium expansion*; cell death; decay