

黄金梨“铁头病”果肉组织切片观察

马春晖, 李鼎立, 王 然

(青岛农业大学 园林园艺学院, 山东 青岛 266109)

摘 要:以黄金梨为试材,采用显微切片染色技术,对黄金梨“铁头病”发病部位果肉组织成果胶、纤维素、胼胝质、淀粉等物质进行了切片染色观察。结果表明:与正常果相比较,发病果实果肉石细胞密度大、体积大,纤维含量高,而胼胝质无明显差异;淀粉粒增大,果胶含量高,在靠近果皮部形成团块状物质。试验表明,黄金梨“铁头病”的发生与果肉中石细胞大小、果胶含量和纤维素等物质变化相关,纤维素和果胶增多可能是引起果肉硬化的原因之一。

关键词:黄金梨;铁头病;果肉组织;显微观察

中图分类号:S 661.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)13-0109-05

黄金梨是我国近年来引进的梨优良新品种之一,由于其外观好、品质优,备受栽培者的欢迎,发展十分迅速,已成为我国梨的主栽品种之一^[1-2]。但随着树龄和产量的增加,在黄金梨果实上出现果肉硬化症状,生产上也叫“铁头病”或“黄头病”,是近年来在黄金梨上发生的一种新的果实生理性病害,危害十分严重,部分产区果实受害率达60%左右,给梨树生产带来惨重的损失,生产上亟须解决该病害问题。因此,及时开展黄金梨“铁头病”方面的研究,有着重要的现实生产意义。

黄金梨“铁头病”主要症状为果实近成熟时果顶部果肉出现硬化现象,严重时硬化部位达赤道部附近,果皮表面粗糙不平,果顶部突出,果实表面呈浅绿色至红褐色,肉质坚硬,口感差,储藏性和商品性低下。该病是新出现的梨果实生理性病害,相关研究较少,但从发病症状来看类似于西洋梨‘Hard-end’和日本梨‘石梨症’^[3-4]。该生理性病害发病机制较为复杂,主要与砧木、土壤理化性质、肥水管理、树体养分供给等相关^[5-6]。目前,一些研究认为,果肉硬化可能与细胞壁强度有关,如果实在初期膨大和后期增大过程中细胞壁间果胶的积累,果实成熟密切相关的淀粉类和多糖类物质的分解也会影响果实硬度^[7-8]。另外,纤维素与组织的木质化相关联,胼胝质会蓄积在细胞壁中,引起细胞壁加厚和强度增加^[9-13]。因此,了解果实自身发育过程中的内部

第一作者简介:马春晖(1966-),男,博士,副教授,现主要从事果树栽培生理等研究工作。E-mail:machunhui2000@163.com.

基金项目:国家现代农业(梨)产业技术体系建设资助项目(Nycytx-29-06);国家科技支撑计划资助项目(2013BAD02B00)。

收稿日期:2014-03-19

[16] 冯凤娟,梁东,马锋旺,等.甜瓜叶片高效再生体系的建立[J].西北农业学报,2008,7(5):321-324.

[17] 潘俊松,蔡润,刘晓,等.甜瓜子叶节培养高效再生体系建立[J].上海

交通大学学报(农业科学版),2003,21(4):295-298.

[18] 孙天国,沙伟,金忠民.薄皮甜瓜子叶组织培养的研究[J].北方园艺,2005(2):64-65.

Study on Adventitious Bud From Immature Embryo Cotyledon of Triploid Muskmelon

CAO Hong, JIN Rong-rong

(Institute of Vegetable and Flower, Harbin Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150028)

Abstract: Taking immature embryos of the triploid muskmelon which grew 30 days after pollination as material, using tissue culture of embryo culture, the regeneration buds of triploid muskmelon were studied. The results showed that in the budding induced immature embryo, the highest seedling rate was obtained on MS medium containing TDZ 0.04 mg/L after five days. The highest frequency shoot regeneration was obtained on MS medium containing 6-BA 1.0 mg/L, IAA 0.04 mg/L. The quality of buds was the best, the adventitious shoots transferred into MS medium containing 6-BA 0.05 mg/L, the buds elongated more and grew best.

Key words: triploid muskmelon; tissue culture; immature embryo; adventitious bud

物质变化,对进一步认识硬化原因十分重要。该研究利用植物切片染色显微技术,对黄金梨发生果肉硬化的部位、细胞密度及硬化相关的纤维素、果胶、淀粉和胼胝质等物质进行染色定位观察和分析,了解发病果实的内部物质变化,以期探索发病原因提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

黄金梨果实取自山东省莱阳市优丰梨研究所果园,随机取样(图1)。该园连续3年发病,病果率达60%,果园管理水平中等,棚架式整形,采收期为8月下旬,平均单果重250 g。

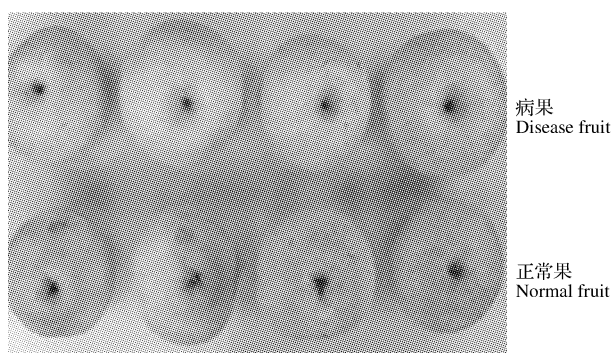


图1 试验材料

Fig.1 Test material

1.2 试验方法

1.2.1 果肉硬化部位调查 选取病果和正常果实,使用果实硬度计,对果实不同位点的带皮和去皮硬度进行了测定;另外,将果实纵向切开后,选取切面不同位点进行了测定,具体位点见图2。

1.2.2 果肉细胞结构观察 依据 Yamaguchi 等^[14] 观察果肉细胞数目的方法(图2):选3个果实,纵向切开,将果实纵切面从上到下均等划分为上、中、下3个部分,然

后在每个部分又横向划分为靠果皮部、中部、靠果心部等3部分;选取以上各分区果肉,进行徒手切片显微观察拍照,并对不同部位果肉细胞径大小进行测定。果肉细胞数指数(z)计算方法:果肉细胞数指数=果肉厚度(果实径-果核径)/果肉细胞径。

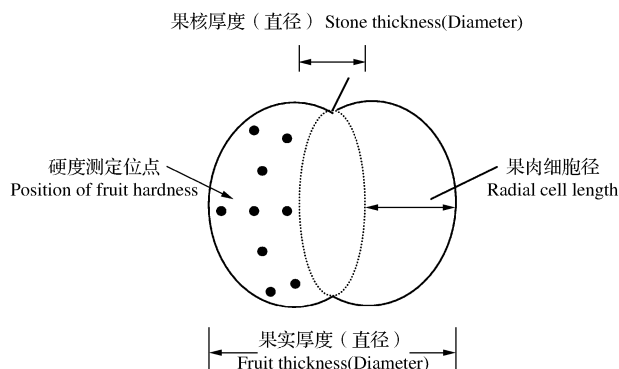


图2 果实硬度和细胞指数测定方法示意图

Fig.2 The determination method of fruit hardness and cell index

1.2.3 果肉硬化类物质染色定位 选取病果和正常果不同部位的果肉,做徒手切片,果胶用0.03%钨红溶液染色;淀粉用0.1%碘-碘化钾溶液染色;纤维素用0.5%番红溶液染色;胼胝质用0.05%苯胺兰溶液染色,染色2 min,水洗后光学显微镜观察拍照。

2 结果与分析

2.1 果肉硬化部位测定

由图3果实表面不同部位硬度测定结果可知,从果实肩部到果顶,带皮硬度逐渐增加,赤道面下半部硬度明显高于上半部,果实萼端部硬度最高达18,果肩与果顶间硬度值差异显著;去皮硬度测定结果与带皮结果相类似,但硬度值明显小于带皮硬度。

由图3果实最大纵切面不同部位果肉硬度纵向测定结果可知,从果肩部到果顶部硬度逐渐增加,果顶部

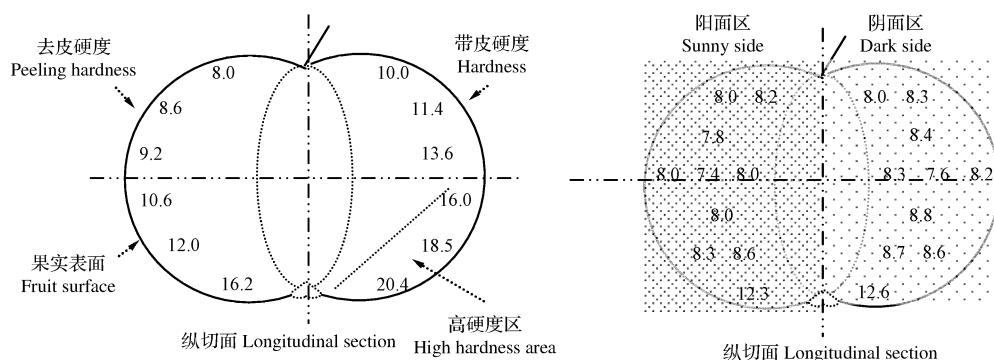


图3 果实表面及纵切面不同位点硬度测定值示意图

Fig.3 The determination position of fruit hardness in the fruit surface and vertical section

与中上部差异明显,中上部(从上到下占切面 3/4)果肉硬度在 6.0~7.3 之间,果顶部(靠果顶切面 1/4)果肉硬度在 8.2~12.3 之间;横向测定结果显示,果实中部靠果皮和果心部硬度高于中心部,果顶部靠果皮部位的值最高;通过对果肉阴阳面测定结果可知:果肉阴面值略高于阳面。

以上结果表明,黄金梨果肉硬化部位主要出现在赤道横切面以下部位,越靠顶部和果皮部,硬度越大,形成一个月牙形的高硬度区域。这部分果肉的硬化是病害的关键部位,形成的原因可能与果肉发育过程中养分、水分和激素类物质的供给有关,导致该部果肉结构出现异常。

2.2 果肉不同部位细胞结构变化

由不同部位果肉细胞大小测定结果可知,在测定的 3 个部位中,中部果肉细胞径最大,其次为肩部,顶部最小;病果与正常果相比较,在肩部、中部和顶部的果肉细胞径均小于正常果。在果肉细胞指数上,3 个测定部位中病果均高于正常果,其中病果果顶部位的果肉细胞指数最高(表 1)。以上表明,病果与正常果在细胞大小和果肉细胞指数上存在一定的差异,但从数值来看,这一

差异并不十分明显,因此,黄金梨果肉硬化并非完全由细胞发育不良导致细胞密度增加所引起。

表 1 果实不同部位果肉细胞径及果肉细胞指数

Table 1 The pulp cell diameter and the pulp cells index in the different part of fruit

测定部位 Determination position	果肉细胞径 Pulp cell diameter/ μm			果肉细胞指数 Pulp cells index		
	肩部	中部	顶部	肩部	中部	顶部
	Shoulder	Middle part	Top part	Shoulder	Middle part	Top part
病果 Disease fruit	126	135	112	22.54	20.12	24.10
正常果 Normal fruit	130	145	118	20.72	18.63	22.22

2.3 纤维素和石细胞在果肉中的分布

由图 4 番红染色结果可知,病果与正常果在纤维素含量上存在差异,病果整体色度较深,特别是越靠近果皮部色度越深。在石细胞大小和密度上,病果与正常果相比,病果石细胞数量明显多于正常果,且体积大;从分布来看,主要分布在靠近果皮部位。以上结果说明,发病部位果肉细胞间纤维素物质的积累、石细胞数目增多和体积增大可能是引起果肉硬化的原因之一。

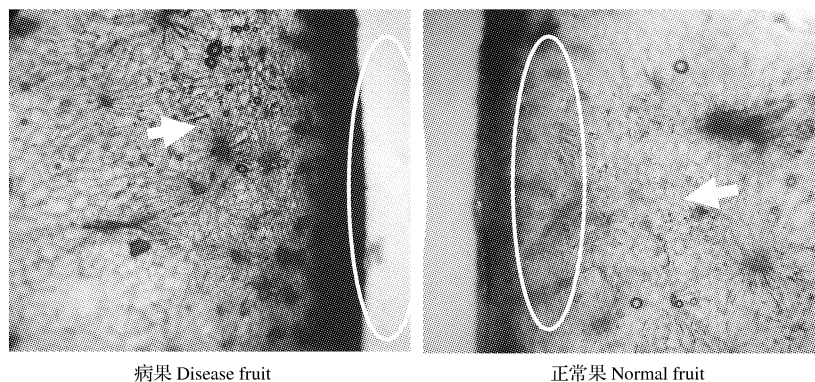


图 4 病果与正常果石细胞和纤维素分布

Fig. 4 The distribution of stone cell and cellulose in the disease fruit and normal fruit

2.4 胼胝质在果肉中的分布

由图 5 苯胺兰染色结果可知,在靠果皮部位以及石

细胞周边发病部位与正常部位之间差异明显,病果靠近果皮及石细胞周围色度较深,而正常果色度较浅,病果

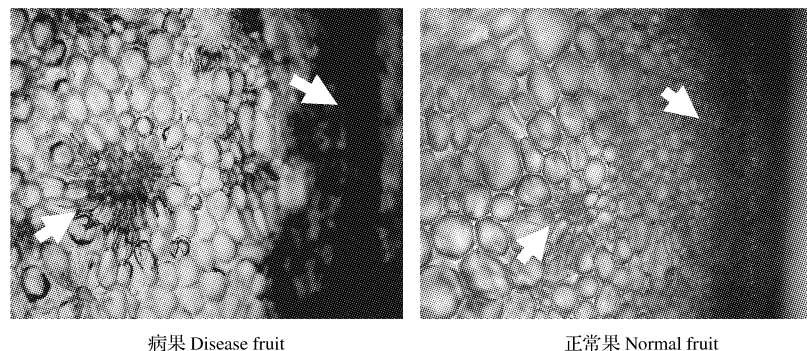


图 5 病部和正常部果肉切片苯胺兰染色观察

Fig. 5 The observation of disease and normal pulp with aniline blue dyeing

胼胝质类物质含量明显高于正常果。产生胼胝质类物质原因较为复杂,但与果肉发育过程中物质胁迫密不可分。以上结果表明,病果在发育过程中所受胁迫要比正常果多,这一现象有待进一步探明。

2.5 淀粉在果肉中的分布

由图6碘-碘化钾溶液染色结果可知,淀粉靠果皮部

含量稀少,且颗粒小,离果皮越远,淀粉粒越大,数量增多。相同部位比较结果显示,病果淀粉粒比正常果大、密度高。黄金梨果肉硬化可能与淀粉在果肉的含量变化有关,在果实发育过程中,病果淀粉的降解缓慢,病部果肉发育滞缓,也可能是发生果肉硬化的原因之一。

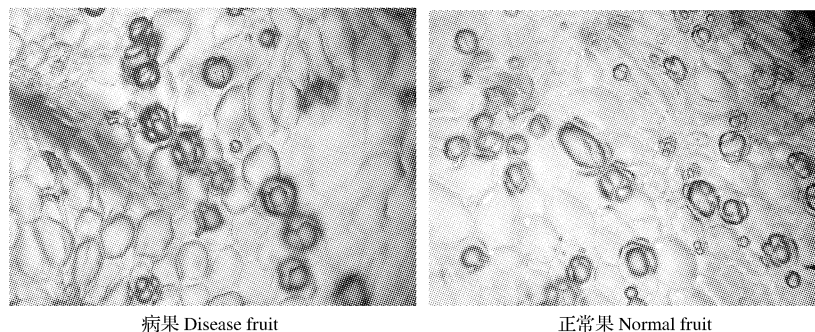


图6 病部和正常部果肉淀粉粒染色观察

Fig. 6 The observation of starch grains in disease and normal pulp

2.6 果胶质在果肉中的分布

果肉切片钌红染色结果显示,病果与正常果之间在染色程度上存在差异,病果果肉细胞壁周围红色清晰,色度深;正常果果肉细胞壁周围红色较少,色度浅

(图7)。以上结果表明,果胶类物质主要分布在果肉细胞壁四周,病果果肉细胞壁间积累的果胶类物质多,而正常果细胞壁间积累少。果胶类物质在细胞壁周围的积蓄,可能也是导致黄金梨果肉硬化的原因之一。

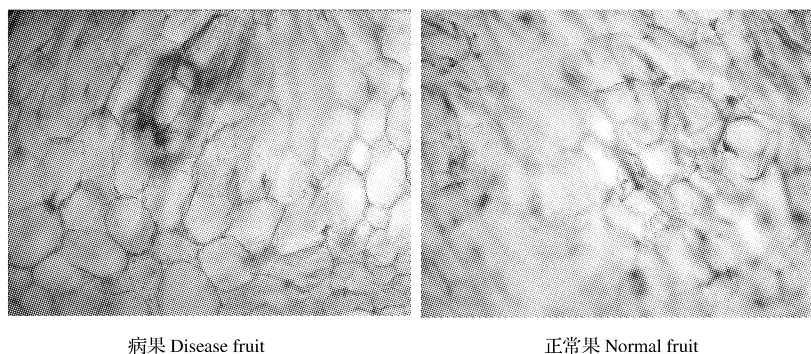


图7 病部和正常部果肉切片钌红染色观察

Fig. 7 The observation of disease and normal pulp with ruthenium red dyeing

3 讨论

黄金梨“铁头病”是国内近年来梨树生产上出现的一种严重果实生理性病害,初期未能引起重视,后期对产业发展造成严重的影响。黄金梨“铁头病”属生理性病害,主要危害果实,其主要表现为果实坚硬,果实用刀削皮和切入阻力大,口感品质差,出现果肉硬化现象,据此,果农称之为“铁头病”。在该研究中,果实不同部位硬度测定结果表明,病害果实并非整个果实发生硬化,而是集中在一定的区域,初步确认果肉硬化的主要部位在果顶部靠近表皮处的三角地带,其余部位的硬度与正常果差异不明显。

该病害的发生与果实发育密切相关,Yamamoto^[15]

指出,在果实发育过程中由于受到树体水分和养分胁迫的影响,导致果顶部果肉发育滞缓。在该调查中,病害果实发育的外部形态和细胞密度观察结果表明,发病果实顶部突出呈三角状,病害果实硬化部位的细胞密度有所增加,出现以上症状,可能是由于果实发育过程中受树体水分和养分胁迫,导致果实先端发育受阻,而果肩部所受影响较小,形成果实肩部发育正常,而先端发育畸形的现象,最终果实呈三角状。

果肉硬化主要和细胞壁强度有关,在果实的初期膨大和后期增大过程中细胞壁间果胶的积累,与果实成熟密切相关的淀粉类物质的分解程度,半纤维素中的木葡聚糖等多糖类的分解和减少等都会影响到细胞壁的

强度,纤维素是成熟细胞壁蓄积的成分,和组织的木质化相关^[16-20]。由果肉显微切片染色观察结果可知,病害果的纤维素、淀粉和果胶类物质含量比正常果多,这些物质在一定程度上也影响到黄金梨果肉的硬化。除果胶外和纤维素外,胼胝质与细胞壁硬化有关,植物组织受到伤害和各种胁迫后,胼胝质会蓄积在细胞壁中,引起细胞壁加厚和强度增加。黄金梨果肉硬化尽管无物理性伤害,但与水分和养分胁迫有关,可能导致果肉细胞发育停滞和结构变形而出现胼胝质的积累,引起果肉硬化。

黄金梨“铁头病”发病原因较为复杂,既有品种自身遗传原因,也与栽培环境密切相关,要了解该病的发生机理,需要从多方面着手。由于该病害相关研究较少,有许多不明之处,该文从危害症状入手,对果实发病部位进行了测定,同时对果肉细胞结构物质进行了染色分析,初步确认了发病的关键部位和与硬化相关物质的变化特点,这为进一步了解该病害的发生原因提供了参考依据。

参考文献

- [1] 孟学理,松增琦.黄金梨-个优良的果树品种[J].生物学通报,2003,38(6):61.
- [2] 刘长根,余国清.黄金梨生物学特性及栽培技术要点[J].中国南方果树,2004,33(5):89-90.
- [3] Yamamoto T, Watanabe S. Initial time of development of hard end disorder in ‘Bartlett’ pear[J]. J Japan Soc Hort Sci, 1982, 51(2): 142-151.
- [4] 川俣惠利. 日本ナシ果実の硬化障害に関する研究(第1報) 二十世紀果実のユズ肌発現程度と成分含量との関係[J]. 園学雑誌, 1978, 46(4): 449-456.
- [5] 田辺賢二, 林真二, 平田尚美. 二十世紀ナシのユズ肌病に関する研究(第5報) K施用量ならびに果実中の可溶性 K, Ca, Mg 含量と障害発生との関係[J]. 園学雑誌, 1978, 47(3): 317-326.
- [6] 于立娜, 马春晖, 王然. 黄金梨果肉硬化症发生关键时期的确定[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(16): 9562-9564.
- [7] 林河通, 席芳, 陈绍军. 黄花梨果实采后软化生理基础[J]. 中国农业科学, 2003, 36(3): 349-352.
- [8] 茅林春, 张上隆. 果胶酶和纤维素酶在桃果实成熟和贮藏中的作用[J]. 园艺学报, 2001, 28(2): 107-111.
- [9] 胡留申, 董晓颖, 李培环, 等. 桃果实成熟前后细胞壁成分和降解酶活性的变化及其与果实硬度的关系[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(5): 837-841.
- [10] 朱明月, 沈文涛, 周鹏. 果实成熟软化机理研究进展[J]. 分子植物育种, 2005(3): 421-426.
- [11] 冯少非. 黄金梨果皮发育、锈斑形成及套袋对其影响的研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2005.
- [12] Jomura N, Sakurai N, Tsuchida Y, et al. The Cause of occurrence of pulp hardening syndrome in pickled Japanese apricot cultivar ‘Nanko’ [J]. Hort Res (Japan), 2009, 8(2): 181-186.
- [13] 刘剑锋, 李国怀, 彭抒昂, 等. 秋子梨的果皮结构与果实的耐贮性[J]. 园艺学报, 2007, 34(4): 1007-1010.
- [14] Yamaguchi M, Haji T, Miyake M. Varietal differences in cell division enlargement periods during peach (*Prunus persica* Batsch) fruit development [J]. J Japan Soc Hort Sci, 2002, 71(2): 155-163.
- [15] Yamamoto T. Characteristics of flesh of hard end disorder in ‘Bartlett’ pear[J]. Bull Yamagata Univ, Agr Sci, 1985(9): 4.
- [16] Celia M, Orchard J, Seymour G B. Pectate lyases, cell wall degradation and fruit softening[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(377): 2115-2119.
- [17] Chun J P, Tamura F, Tanabe K, et al. A Cell wall degradation and structural changes of GA-induced watercored tissues in Japanese pear ‘Akibae’ and ‘Housui’ [J]. J Japan Soc Hort Sci, 2003, 72(6): 488-496.
- [18] Brummell D A, Dal Cin V, Crisosto C H, et al. Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit[J]. Journal of Experimental Botany, 2004, 55: 2029-2039.
- [19] 聂敬全, 蔡永萍, 张士鸿, 等. 砀山酥梨果实石细胞与薄壁细胞发育关系的解剖学研究[J]. 园艺学报, 2009, 36(8): 1209-1214.
- [20] 朴一龙, 赵兰花, 薛桂新. 梨果实贮藏过程中细胞壁成分的变化[J]. 果树学报, 2006, 23(6): 880-883.

Microscopic Observation of the ‘Hard-end Disorder’ on the Pulp Tissue of ‘Hwangkumbae’ Pear

MA Chun-hui, LI Ding-li, WANG Ran

(College of Horticulture, Qingdao Agricultural University, Qingdao, Shandong 266109)

Abstract: Taking ‘Whangkeumbae’ as materials, by using the microscopic section dyeing technology, the contents of pectin, cellulose, callose and starch in the flesh tissue of ‘Whangkeumbae’ pear fruit with or without ‘hard-end disorder’ were observed. The results showed that disease fruit had a high stone cell density, big volume and high cellulose content compared with normal fruit. The content of callose had no obvious difference between diseased fruit and normal fruit. In addition, the contents of starch grains and pectin in diseased fruit were increased, and near the skin forming block mass compared to normal fruit. These results indicated that ‘hard-end disorder’ of ‘Whangkeumbae’ was related to cell size, pectin and cellulose contents of flesh tissue. The cellulose and pectin increase of flesh tissue may be one of the causes of pulp hardening.

Key words: ‘Whangkeumbae’ pear; ‘hard-end disorder’; flesh tissue; microscopic observation of ‘Whangkeumbae’