

采后柑橘生理病害与果皮超微结构变化的关系

崔文静¹, 刘丽丹¹, 曾凯芳^{1,2,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.重庆市特色食品工程技术研究中心, 重庆 400715)

摘 要: 采后柑橘果实在贮藏过程中, 在不适的环境因子作用下, 导致果实生理代谢发生障碍, 从而产生了生理性病害, 如冷害、油胞病、褐斑病以及水肿病等, 在一定程度上降低了果实的感官品质和耐贮性, 进而影响果实的食用品质。本文从柑橘主要生理病害与果皮细胞膜、细胞壁和亚细胞结构变化的关系着手, 对采后柑橘果实几种常见生理性病害发生过程中果皮超微结构的变化进行了综述, 旨在为采后柑橘果实生理病害发病机理的深入研究提供参考。

关键词: 柑橘; 果皮; 采后; 生理性病害; 超微结构;

Relationship between Post-harvest Physiological Disorders and Ultra-structural Change of Citrus Peel

CUI Wen-jing¹, LIU Li-dan¹, ZENG Kai-fang^{1,2,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Chongqing Special Food Programme and Technology Research Center, Chongqing 400715, China)

Abstract: Due to inappropriate environmental factors causing physiological metabolism disorders, post-harvest citrus fruits during storage can produce a number of physiological disorders including chilling injury, oleocellosis, rind pitting and edema. These physiological disorders can reduce the sensory quality, storability and edible quality of fruits. In this paper, the relationships between major physiological disorders of citrus peel and the changes of cell membrane, cell wall and subcellular structures are reviewed. Meanwhile, the ultra-structural changes of citrus peel during the occurrence of these physiological disorders are discussed for the purpose of providing a theoretical basis for exploring the mechanisms and control methods of physiological disorders in citrus fruits.

Key words: citrus; peel; post-harvest; physiological disorder; ultra-structure

中图分类号: S609.3; S667.7

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)19-0284-04

柑橘果实产量居百果之首, 营养丰富, 色香味兼优, 既可鲜食, 又可加工成果汁为主的各种制品, 具有较好的营养价值、经济价值和药用价值。采后柑橘在不同贮藏环境、运输以及各销售环节中, 因果实生理代谢紊乱而常致病。按产生病害因素的不同, 可分为侵染性病害和生理性病害^[1]。以往的研究主要关注柑橘果实侵染性病害的发生机制及控制措施^[2-4], 而对果皮生理性病害的关注很少, 常见的生理性病害有冷害、油胞病、褐斑病、水肿病等^[5]。当前国内外对柑橘果实采后生理性病害的研究主要集中在防控措施上, 如通过改善贮藏环境条件, 如温度^[6]、相对湿度^[7]、气体成分^[8], 或者采用热处理^[9]、包装^[10]、涂膜^[11]等技术控制柑橘果实冷害、油胞病和褐斑病的发生, 在生产上有一定的实用价值。对于柑橘生理性病害发生机理机制的研究,

主要集中在果皮下陷成斑、色素降解以及果皮超微结构的变化。本文主要从冷害、油胞病和褐斑病这3种常见的柑橘生理病害出发, 综述了柑橘果实在贮藏环境中, 各种生理性病害与果皮超微结构变化的关系, 为提高柑橘果实贮藏品质提供参考。

1 低温冷害与柑橘果皮超微结构变化的关系

果蔬冷害一般发生在贮藏环境低于10℃且未结冰的温度下。柑橘类属低温敏感性果实, 然而不同品种类的柑橘果实发生冷害的温度是不一样的。如柠檬类对低温最为敏感, 其最适贮藏温度为12~14℃, 低于9℃即会发生冷害; 甜橙类果实较耐低温, 最适温度贮藏为3~5℃, 低于此温度下贮藏时间持续3~4周, 果实就可发生冷害^[12]。发生冷害的柑橘果实, 其生理代谢发

收稿日期: 2011-06-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071618); 中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(XDJK2010B001)

作者简介: 崔文静(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工与贮藏工程。E-mail: cuiwengj@sina.com

*通信作者: 曾凯芳(1972—), 女, 教授, 博士, 研究方向为农产品加工与贮藏工程。E-mail: zengkaifang@163.com

生障碍, 导致细胞生理生化反应发生相应的改变。外部特征主要表现为果皮下陷成斑、油胞破裂以及果皮颜色加深^[13], 而内部特征主要是细胞壁变形、解体 and 结构丧失, 细胞膜破裂失去渗透调节能力以及细胞器结构的改变等^[14]。

1.1 冷害与细胞膜变化的关系

健康的柑橘果皮组织在电镜下可清楚地观察到完整的膜系统结构, 包括细胞膜、液泡膜、线粒体的双层膜结构和叶绿体的内外膜等(图 1A)^[15]。低温胁迫持续作用下, 柑橘果实内自由基清除系统被打破, 同时细胞膜脂质过氧化作用加剧, 降解产物如丙二醛(MDA)进一步对细胞膜的结构物质造成毒害作用^[16], 完整相连的膜随之变得间断。至冷害后期, 膜系统降解成絮状而模糊不清, 整个膜系统发生崩溃(图 1B)。膜系统降解后失去渗透调节能力, 且打破了区域化分隔系统。细胞内大量的内含物溢出, 多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)等从液泡内流出与外界底物接触后, 加速了酶促褐变反应, 果皮呈现褐斑状。

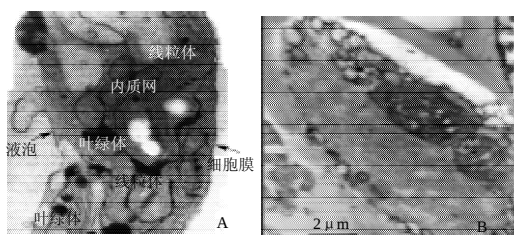


图 1 健康(A)和冷害(B)柑橘果皮组织的细胞结构形态图^[15]

Fig.1 Cell structures of healthy(A) and chilled(B) citrus peel tissues^[15]

1.2 冷害与细胞壁结构变化的关系

柑橘表皮层细胞是由几层平行排列的细胞层构成的^[17], 最外层细胞壁上覆盖一层极细密角质层, 而内部为排列整齐的黄皮层和白皮层细胞, 从外向内各层细胞体积和细胞间隙逐渐增大^[18]。细胞膜降解时, 原生质体也发生降解并浓缩于细胞质中央。由于细胞失去膨压, 整个细胞腔体积收缩并出现质壁分离的现象。到冷害病后期, 可观察到细胞间隙逐渐增大, 细胞的层状排列也变得模糊不清^[14], 尤其是白皮层的细胞, 基本上失去细胞应有的层状分布结构而表现为絮状^[19], 而此时的细胞壁几乎不可见, 表明内部组织细胞壁降解加剧。

1.3 冷害与亚细胞结构变化的关系

健康柑橘果实的叶绿体中含有较多数目的淀粉颗粒, 该颗粒被认为是低温冷害的防御物质, 在不适低温下叶绿体首先受伤害并且是受害最严重的细胞器^[20]。Obenland 等^[21]使用电镜观察发现, 受冷害柠檬的叶绿体首先出现膨大, 内囊体膨大并且扭曲变形, 淀粉粒逐渐溶解消失; 继而在叶绿体内膜中出现了小囊泡, 即所

谓的周围网状组织; 随着冷害的持续, 叶绿体开始降解并且功能发生紊乱, 扰乱叶绿素合成功能^[22], 从而在外观上表现出柑橘果皮颜色的降解和改变。Barry 等^[22]表明在 2℃下贮藏的蜜橘, 叶绿素的含量比正常贮藏环境中的果实低 9 倍, 从而说明了在冷害条件下扰乱了叶绿素的合成。

柑橘果皮细胞中的线粒体对低温无叶绿体敏感, 在早期叶绿体的降解中, 线粒体仍保持完整结构不受冷害影响。但冷害后期首先也出现肿胀, 继而也发生降解, 较严重的冷害柑橘果实线粒体中会出现空泡化和线粒体嵴的扩大。Kratsch 等^[23]认为只有当果实外观表现出明显的冷害症状后, 线粒体才会对低温具有高度的敏感性而发生降解, 从而最终引起线粒体功能失调。冷害很少导致细胞核和其他细胞器发生变化, 但冷感性柑橘果实细胞核也像叶绿体一样出现肿胀, 并且还出现了分散的染色质^[24]; 另外还有高尔基体的扩张和膨胀的内质网等细胞器结构的变化。

2 后柑橘油胞病与果皮超微结构变化的关系

柑橘果皮油胞病实质是油胞周围细胞组织下陷, 而油胞突起的一种现象。橘油本身是果皮中的一种天然成分, 主要成分是 D- 柠檬烯, 占橘油总量 80%~90% 以上^[21]。释放的橘油对果皮组织产生光毒性作用^[25], 从而导致果皮组织细胞结构发生降解与变化, 外观上呈现出下陷成斑, 油胞突出等症状。未成熟的柑橘果实发生油胞病, 则往往不能正常转色, 出现一些浅绿色或浅黄色病斑。

2.1 油胞病与细胞膜结构变化的关系

健康果皮组织膜系统, 包括质膜、叶绿体和线粒体双层膜以及液泡膜等在透射电镜下都清晰可见^[26]。Knight 等^[17]用橘油诱导油胞病发生, 30min 后观察到在皮层和皮下层中, 一些细胞的液泡膜和质膜开始发生降解变得不连续。至病害后期, 几乎难以观察到膜系统存在。在膜系统降解的同时, 胞间连丝也开始降解断裂, 从而细胞间相连的“桥梁”被打破。初始阶段, 观察到胞间连丝出现不连续, 后期胞间连丝逐渐消失。胞间连丝连接在细胞壁上, 当其发生降解断裂时可能会引起相应细胞壁的结构变化。

膜系统作为细胞内含物的一层物理性屏障, 一旦其降解破坏就会让内含物暴露出来, 如 D- 柠檬烯也会对这些内含物产生影响。另一方面, 膜系统的降解会使细胞丢失渗透调节力, 从而使细胞里液体物质流失^[18]。因此, 柑橘果皮油胞病发生过程中膜结构完整性的丢失意味着细胞器及其他内含物将会发生降解从而丧失其生理功能。

2.2 油胞病与细胞壁结构变化的关系

柑橘果皮油胞病病变最初受害部位位于黄皮层第 4~7

层细胞带^[27], 皮层和下皮层细胞的细胞壁开始出现降解, 并且细胞间隙的空间体积和数量都在增加^[18]。随后当细胞内含物发生降解后, 细胞壁加厚并且出现折叠。至病变后期整个细胞的原生质体降解呈扁平状, 并浓缩于胞腔中央, 细胞壁与细胞质发生质壁分离(图 2B)^[24]。通常认为柑橘果皮细胞的细胞壁折叠导致细胞发生凹陷, 而细胞的凹陷可能会导致整个细胞丢失物理性膨压^[18], 从而通过肉眼可直接观察到柑橘果皮表面发生下陷现象。然而 Wild 等^[25]却认为发生油胞病的柑橘果皮细胞呈现扁平化不是由于皮层细胞发生凹陷, 而是由于细胞的正常分化。

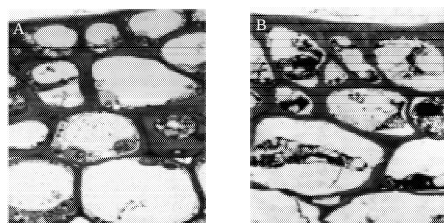


图2 健康柑橘(A)和油胞病变柑橘(B)果皮表皮层细胞结构图^[15]

Fig.2 Structures of epidermal cells from healthy (A) and oleocellosis-containing (B) citrus peel^[15]

2.3 油胞病与亚细胞结构变化的关系

柑橘果皮细胞的叶绿体内通常含有基粒和嗜锲球体, 基粒与叶绿素的形成有关, 而嗜锲球体与果皮橘黄色色素形成密切相关。在不适宜的条件下, 柑橘果皮释放的橘油进入黄皮层后, 受害细胞的叶绿体首先表现出膜系统的丢失, 随之在叶绿体中央出现大量深色的淀粉颗粒。Shomer 等^[24]认为在发生油胞病的柑橘果皮细胞的叶绿体中, 大量淀粉颗粒积累和嗜锲球体未积累到足够量, 使基粒难以降解从而形成所谓的“巨型叶绿体”, 导致果皮难以发生正常的转色, 在外观上表现在浅绿色或浅黄色斑点。在柑橘果皮油胞病发生后期, 病斑的颜色变为褐色, 可能是由橘油造成果皮细胞膜系统破坏使液胞膜内的 PPO、POD 等释放出来, 与底物反应后产生褐变所致^[28]。

健康柑橘果实细胞核拥有完整的双层膜结构(图 3A), 发生油胞病果实细胞的细胞核在初始阶段稍微向核周间隙扩张, 后期发生急剧扩张, 线粒体膜结构降解并逐渐消失, 并且油脂体大量出现在线粒体周围(图 3B)^[26]。病变果实细胞的油脂体至后期其数量和尺寸都有所增加, 表明随着贮藏时间延长, 线粒体受橘油作用的危害也在增大。

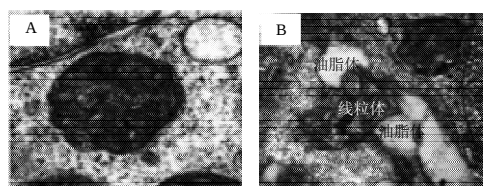


图3 健康(A)和油胞病(B)的柑橘果皮细胞线粒体变化图^[17]

Fig.3 Mitochondrial changes of healthy (A) and oleocellosis-containing (B) citrus peel^[17]

总体来说, 发生油胞病柑橘果实的细胞器对橘油的敏感性远不如膜系统。其原因可能是橘油先作用于膜系统使其发生降解, 进而再作用于各细胞器, 因此可以认为膜系统降解是柑橘果皮油胞病变初始阶段的标志。

3 采后柑橘褐斑病与果皮超微结构变化的关系

柑橘褐斑病一般多发病于采后非冷害温度的贮藏中, 发病部位常见于果蒂或邻近果蒂周围组织。发病初期在果皮的油胞层产生圆点状浅褐色革质斑点, 随着病症的加剧, 颜色加深逐渐变为深褐色, 点状的病斑也逐渐扩大为块状, 最后在果皮表皮上连接成片^[29]。褐斑病的发生与柑橘果实内部气体平衡失调^[30]、机械损伤、水分胁迫^[31]以及矿质元素吸收受阻有关。另外果实采后商品化处理, 如打蜡、涂膜等也容易加剧褐斑病的发生^[32]。

柑橘果皮褐斑病与其他生理性病害一样, 首先是果实内部膜系统受损^[15,33]。然而与其他生理性病变的一个显著区别是, 其他病害的初始病变部位一般位于油胞之上的表皮细胞或是皮下细胞, 油胞不会受损破坏而表现出的是油胞突出^[34]; 而褐斑病的果皮受害的初始部位就是黄皮层内的油胞或油胞邻近的细胞, 油胞发生下陷而表皮细胞和皮下细胞却保持正常状态^[35], 位于油胞间的组织也可能发生坍塌, 但相比于油胞病来说, 这种坍塌程度相对较轻(图 4A)。产生这种差异的原因可能是油胞病发病的原因主要是由于具有光毒性橘油的释放对油胞之间的组织产生的毒害作用, 而油胞周围包裹着一层或几层边界细胞, 对橘油不敏感, 从而保护油胞不受橘油的影响^[36], 最后呈现出油胞间组织凹陷而油胞突出(图 4B)。而褐斑病不是因橘油的释放引起的, 位于油胞之上即所谓的“油胞茎”是整个油胞最薄弱的部位, 易受外界作用而破坏, 导致整个油胞失去膨压而表现出下陷。

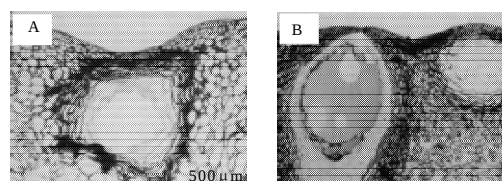


图4 柑橘果皮褐斑病(A)和油胞病(B)的油胞变化图^[35]

Fig.4 Oil gland changes in citrus peel with rind pitting (A) and oleocellosis (B)^[35]

4 结 语

柑橘果实的生理性病害还包括水肿病以及浮皮病等,但是有关这些病害引起果皮超微结构变化的研究非常少,目前主要的研究还是集中在冷害、油胞病和褐斑病上。随着消费者的需求越来越高,柑橘果实生理性病变逐渐引起了大家的重视。对于柑橘生理性病害发生机制中超微结构的变化,近年来我国已有相关研究进展,但还远远落后于欧美国家和日本。国外已有很多从细胞水平上对其展开研究,借助现代高新仪器如扫描电镜、透射电镜以及共聚焦显微镜等来观察病变的发生,但却仍未对这些变化与病害发生的机制的关系进行系统阐释。因此,今后的研究应该集中在利用先进的仪器设备研究各种生理性病害发生过程中超微结构的变化,并将这些变化与结构相关物质变化的研究结合起来。另外,从细胞和分子水平上进一步加深对病害的认识,从而可以更清楚阐明果实生理性病害的机理,为采后柑橘果实生理性病害的控制提供明确的思路。

参考文献:

- [1] 罗云波,蔡同一.园艺产品贮藏加工学[M].北京:中国农业大学出版社,2001:210-212.
- [2] TIAN Shiping, CHAN Zhujong. Potential of induced resistance in postharvest diseases control of fruits and vegetables[J]. 植物病理学报, 2004, 34(5): 385-394.
- [3] 邓雨艳,曾凯芳.柑橘采后侵染性病害防治技术研究进展[J]. 食品科技, 2007(4): 211-217.
- [4] MERCIER J, SMILANICK J L. Control of green mold and sour rot of stored lemon by biofumigation with *Muscodor albus*[J]. Biological Control, 2005, 32(3): 401-407.
- [5] 段志坤,邱湛凤.柑橘储藏病害及其防治方法[J]. 科学种养, 2009: 54-55.
- [6] GONZALEZ-AGUILAR G A, ZACARIAS L, MULAS M, et al. Temperature and duration of water dips influence chilling injury, decay and polyamine content in 'Fortune' mandarins[J]. Postharvest Biology and Technology, 1997, 12: 61-69.
- [7] HENRIOD R E. Postharvest characteristics of navel oranges following high humidity and low temperature storage and transport[J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 42: 57-64.
- [8] CAJUSTE J F, GONZ LEZ-CANDELAS L, VEYRAT A, et al. Epicuticular wax content and morphology as related to ethylene and storage performance of 'Navelate' orange fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 55: 29-35.
- [9] PORAT R, DAUS A, WEISS B, et al. Reduction of postharvest decay in organic citrus fruit by a short hot water brushing treatment[J]. Postharvest Biology and Technology, 2000, 18: 151-157.
- [10] PORAT R, WEISS B, COHEN L, et al. Reduction of postharvest rind disorders in citrus fruit by modified atmosphere packaging[J]. Postharvest Biology and Technology, 2004, 33: 35-43.
- [11] CHIEN P J, SHEU F, LIN H R. Coating citrus (*Murcott tangor*) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life[J]. Food Chemistry, 2007, 100: 1160-1164.
- [12] SALA J M. Involvement of oxidative stress in chilling injury in cold-stored mandarin fruits[J]. Postharvest Biology and Technology, 1998, 13(3): 255-261.
- [13] 李聪敏.柑橘贮藏期果皮褐斑的生理生化机理研究[D].重庆:西南大学,2009.
- [14] LUZA J G, GORSEL R V, POLITO V S, et al. Chilling injury in peaches: a cytochemical and ultrastructural cell wall study[J]. J Amer Soc Hort Sci, 1992, 117(1): 114-118.
- [15] VITOR R F, LIDAO F C, BARREIRO M D G, et al. Peel pitting of 'Encore' mandarin fruits: etiology, control and implications in fruit quality [J]. Fruits, 2001, 56: 27-35.
- [16] KATINA L. Physiology of chilling-related postharvest rind breakdown of Navel oranges[D]. Bundoora: La Trobe University, 2007.
- [17] KNIGHT T G, KLIEBER A, SEDGLEY M. Structural basis of the rind disorder oleocellosis in Washington Navel orange(*Citrus sinensis* L. Osbeck)[J]. Annals of Botany, 2002, 90: 765-773.
- [18] AGUSTI M, ALMELA V, JUAN M, et al. Histological and physiological characterization of rind breakdown of 'Navelate' sweet orange[J]. Annals of Botany, 2001, 88: 415-422.
- [19] ALQUEZAR B, MESEJO C, ALFEREZ F, et al. Morphological and ultrastructural changes in peel of 'Navelate' oranges in relation to variations in relative humidity during postharvest storage and development of peel pitting[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 56: 163-170.
- [20] KANIUGA Z. Chilling response of plants: importance of galactolipase, free fatty acids and free radicals[J]. Plant Biology, 2008, 10: 171-184.
- [21] OBENLAND D M, MARGOSAN D A, HOUCK L G, et al. Essential oils and chilling injury in lemon[J]. Postharvest Biology and Technology, 1997, 32(1): 108-111.
- [22] BARRY G H, WYK A A V. Low-temperature cold shock may induce rind colour development of 'Nules Clementine' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2006, 40: 82-88.
- [23] KRATSCH H A, WISE R R. The ultrastructure of chilling stress[J]. Plant, Cell and Environment, 2000, 23: 337-350.
- [24] SHOMER L, ERNER Y. The nature of oleocellosis in citrus fruits[J]. Bot Gaz, 1989, 150(3): 281-288.
- [25] WILD B L. New method for quantitatively assessing susceptibility of citrus fruit to oleocellosis development and some factors that affect its expression[J]. Australian Journal of Experimental Agriculture, 1998, 38: 279-285.
- [26] MAIA M I, MEDEIRA M C, PINTO M J, et al. Pre-harvest rindstain of 'Encore' mandarin: initial histological signs of epicarp disturbance[J]. Scientia Horticulturae, 2004, 99: 143-152.
- [27] 涂俊凡.柑橘果皮病害组织特征的研究[D].武汉:华中农业大学,2005.
- [28] SOJIRO C. Mechanisms of rind-oil spot development in 'Encore' (*Citrus nobilis* Lour. × *C. deliciosa* Ten.) Fruit[J]. J Japan Soc Hort Sci, 2000, 69(2): 149-155.
- [29] 高雪.春节脐橙果皮褐变生理及相关基因的分离研究[D].重庆:重庆大学,2006.
- [30] VERCHER R, TADEO F R, ALMELA V. Rind structure, epicuticular wax morphology and water permeability of 'Fortune' mandarin fruits affected by peel pitting[J]. Ann Bot, 1994, 74: 619-625.
- [31] ALFEREZ F, AGUSTI M, ZACARISA L. Postharvest rind staining in Navel oranges is aggravated by changes in storage relative humidity: effect on respiration, ethylene production and water potential[J]. Postharvest Biology and Technology, 2003, 28: 143-152.
- [32] PETRACEK P D, DOU H, PAO S. The influence of applied waxes on postharvest physiological behaviour and pitting of grapefruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 1998, 14: 99-106.
- [33] MEDEIRA M C, MAIA M I, VITOR R F. The first stages of pre-harvest 'peel pitting' development in 'Encore' mandarin: an histological and ultrastructural study[J]. Annals of Botany, 1999, 83: 667-673.
- [34] 涂俊凡,吴黎明,彭抒昂.柑橘油胞凹陷病组织特征的研究[J].湖北农业科学, 2010, 49(7): 1633-1637.
- [35] PETRACEK P D, DAVIS C, DOU H. Identification of postharvest pitting of citrus fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 1998, 14: 99-106.
- [36] KNIGHT T G, KLIEBER A, SEDGLEY M. The relationship between oil gland and fruit development in Washington navel orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck)[J]. Annals of Botany, 2001, 88: 1039-1047.