

葡萄果实徒手切片方法的研究

万怡震 贺普超 葛秀荣 丁勤

(西北农业大学园艺系, 陕西杨凌 712100)

摘 要 通过对葡萄浆果 3 种徒手切片方法的比较研究, 结果发现葡萄果实在 -30°C 下冰冻 8 h 以上, 徒手切片操作容易, 该方法得到的切片中, 果粉结构保存完整、清晰, 其果皮及果肉细胞轮廓清楚, 能方便地观察到色素细胞的位置、颜色和深浅, 且切片可达单细胞之薄。

关键词 葡萄, 浆果解剖, 切片

分类号 S663.103.4 Q24.Q-336

葡萄浆果色泽有着重要的实际价值。作为鲜食品种, 不同色泽的品种可以满足不同消费者的要求^[1]; 作为酿酒品种, 葡萄酒的色泽与作为原料的葡萄果实颜色有极其密切的关系^[1,2], 因此, 研究葡萄浆果的色泽有重要意义。多年来, 人们已注意到葡萄果皮及果汁色泽的外观评价及其色素物质的化学成分分析^[3~5], 但探讨果皮及果肉细胞的解剖结构及其方法的报道甚少。作者在参考国外的葡萄果实徒手解剖方法^[6]及我国学者在其他植物解剖方法^[7,8]的基础上, 对葡萄果实徒手切片方法作了研究, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 1997 年 8~9 月进行, 试材分别为双优 (*V. amurensis* Rupr.) 83-4-96 (毛葡萄实生系 Seedling from "*V. quinquangularis* Rehd")、裂叶刺葡萄 (*V. davidii* (Raman) Fœx Var. *ninqiangensis* Niu L X)、巨峰 (*V. labrusca* L.) 及法国兰 (*V. vinifera* L.) 果实。它们均采集于西北农业大学葡萄园。

1.2 试验方法

试验果实完全成熟时采集, 采后立即采用下列方法进行切片。

方法 A 用刀片对新鲜浆果进行切片, 切片在 10×16 倍光学显微镜下观察。

方法 B 把新鲜葡萄浆果于 -8°C 下冰冻 8 h 以上, 用刀片对冰冻果粒立即进行切片, 切片于 10×16 倍光学显微镜下观察。

方法 C 除葡萄浆果于 -30°C 下冰冻 8 h 以上外, 其余均与方法 B 一致。

2 结果与分析

2.1 操作难易及切片厚薄比较

3 种切片方法中, A 最难且费时, 其次是 B, 方法 A 要切成单层细胞几乎不可能, 而方

收稿日期 1997-12-19

课题来源 国家自然科学基金项目资助, 39370495

作者简介 万怡震, 男, 1969 年生, 实习研究员, 在职硕士研究生。

法 C 很容易且完全可达到单细胞之薄。

2.2 对果粉的影响

方法 A 的切片看不到果实表皮上的果粉, 因为果粉极易磨掉, 按方法 A 操作, 不可能使果粉保存在果皮上。如果用方法 B, 操作迅速还可看到果粉, 方法 C 完全可看到果粉, 即使操作不太熟练也不太要紧 (表 1)。

表 1 3 种方法对果粉、细胞轮廓及其内含物的影响

方法	果粉	细胞轮廓及其内含物		
		表皮	内表皮	果肉细胞
A	破坏	不变形	变形, 内含物可能外流	变形, 内含物外流, 细胞层次不清
B	-	不变形	-	变形, 内含物可能外流
C	保存完整、清晰	不变形	不变形, 内含物不外流	不变形, 内含物不外流, 细胞层次清晰

注: “-”表示不稳定。

2.3 对细胞轮廓及其内含物的影响

3 种方法切片效果见图 1。由图 1 可见方法 A 所得到的切片, 内表皮及果肉细胞变形, 大部分果肉细胞破裂, 内含物外流, 因而细胞轮廓模糊不清。方法 B 要求操作迅速, 而且用这种方法得到的果肉切片, 细胞变形, 内含物有外流现象。方法 C 得到的切片, 细胞不变形, 内含物不外流, 细胞轮廓清晰。

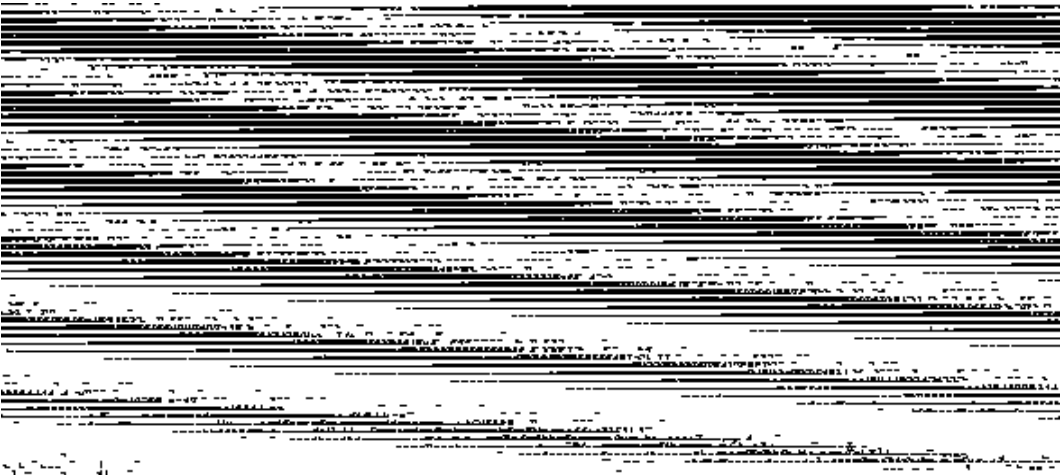


图 1 3 种切片方法效果图

3 讨论与小结

3.1 果实冰冻切片的理论基础

冰冻使切片变得容易, 可能与韧性物质 (如纤维素) 分子间的水分结冰使韧性物质变脆有关^[9-10]

3 2 冰冻温度与时间

冻冻温度很重要,方法 C 与方法 B 不同,关键在冰冻温度,方法 B 的冰冻果实在切片时易解冻,因而切片难度较大。冰冻时间也很重要,因为葡萄果实含有不少可溶性固形物,致使细胞冰点很低,因而必须有足够长的冰冻时间才能达到整个果实结冰。

3 3 切片操作的要求

冰冻后的果实进行徒手切片时应注意以下几点:第一,从冰箱中取冰冻果实及进行切片时,一定要戴上干棉纱手套,以防手上的热量传给果实使之解冻,由于冰冻温度很低,这样也可避免手发生冻害;第二,切片的环境温度不可过高,最好不要超过 20℃,否则葡萄易解冻,夏季可在空调室或调温箱中进行切片。

3 4 切片观察时应注意的问题

3 4 1 果粉与果实表皮的分界线 在观察中发现,葡萄果粒表皮有 1~3 层无色角质层细胞,这很容易与果粉相混淆,但在相差显微镜下可十分容易地看到它们的分界线。

3 4 2 观察时间长短与观察效果 切片细胞中色素物质颜色极易褪色,尤其是内表皮细胞的色素物质。这可能有两方面原因:一方面切片后的细胞各种功能酶区域化受到破坏,加速了色素物质的转化;另一方面,切片后的细胞色素物质与氧及光接触面增大,也加速了色素物质的转化^[10-11]。因此,切片后应立即对其色素细胞进行镜检、描述,才能更好地反应它的真实性。试验中发现,不仅不同材料同一部位(如同为内表皮)切片中的细胞色素物质褪色不一致,而且同一材料不同部位也不一致,一般内表皮细胞色素物质褪色快而近表皮细胞色素物质褪色慢。这可能是不同材料及不同部位间细胞色素物质组成不同或酶不同所致,但其真正原因还有待进一步研究。

3 5 方法 C 的特点与应用价值

方法 C 所得到的切片,不仅细胞不变形,轮廓清晰,而且果粉结构保存完整(这种方法之所以能达到这种效果,可能是冰冻时,果实表面结霜,这层霜恰对果粉在切片时起了保护作用,但在冰冻过程中应防止果实表面结霜过厚,若结霜过厚会加大切片操作难度)。同时笔者用方法 C 对果实进行切片,发现皮孔形态特征在切片中清晰可见。因而这种方法为研究葡萄果粉、皮孔的形态及准确地用测微尺对它们进行测量提供了简便可行的方法,同时该方法也为利用葡萄果粉、皮孔及果实的解剖结构进行葡萄抗病机理研究提供了有效手段^[12-14]。

致谢:本试验在贾维真老师指点及盛伯飏女士大力协助下完成,在此致以衷心的感谢!

参 考 文 献

- 1 贺普超主编. 葡萄学. 北京:中国农业出版社, 1994
- 2 李 华著. 现代葡萄酒工艺学. 西安:陕西人民出版社, 1995
- 3 罗素兰. 葡萄种间杂交一代重要性状的遗传: [硕士论文]. 杨凌:西北农业大学园艺系, 1994
- 4 段长青. 中国野生葡萄及其葡萄酒酚类物质研究: [博士论文]. 杨凌:西北农业大学园艺系, 1998
- 5 Bucci P, Favre V, Giannetti F, et al Development and characterization of anthocyanins in Sangiovese berries and

- leaves from veraison to ripeness Vignevini (Italy), 1992 19(1): 61~ 66
- 6 He ПУЛЬ А М. 葡萄浆果色泽的变异与遗传. 刘裕严译. 园艺译丛, 1965(3): 47~ 58
- 7 蔡淑萍. 植物解剖学. 台北: 国立编译馆出版社, 1972
- 8 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册. 上海: 上海科学技术出版社, 1985
- 9 荆家海主编. 植物生理学. 西安: 陕西科学技术出版社, 1994
- 10 西北农业大学植物生理生化教研室译. 植物生物化学导论. 杨凌: 天则出版社, 1988
- 11 孙达旺编. 植物单宁化学. 北京: 中国林业出版社, 1992
- 12 Cammenil P, Brunet L G, Audran J C. The developm ent of the grapeberry cuticle in relationship to susceptibility to bunch rot disease Journal of Experim ental Botany(UK), 1997, 48(313): 1599~ 1607
- 13 Cammenil P, Belingheri L, Audran J C. et al Bn t i Botrytis activity in epicularw axes of young grape berries of *Vitis vinifera* (pinot Noir). Journal International des sciences de la vigne et du vin (France), 1996 30(1): 7~ 13
- 14 Blak h R, Stein U, Wind R. Perforations in the cuticle of grape berries as a m orphological factor of resistance to *Botrytis* Bundesforschungsanstalt fur Reben zucht ung Geilweilero f(W est G em any), 1984 23(4): 242~ 256

A Study on theM ethods of Slicing *Vitis* berry by H and

W an Y izhen He Puchao Ge X iurong Ding Q in

(D eparm ent of Horticulture, Northw estern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract A fter comparing threem ethods of slicing *Vitis* berries by hand the result show ed that itw as easy to slice the berry frozen at -30°C for more than 8 hrs By this m ethod w ax structure w as kept integrated on berry skin. The integration of peel and pulp cellw as very w ellm aintained, too The pigment cell location, colour and its density could be identified easily. M oreover, the single-cell-thick sections could be gained

Key words *vitis* berry anatomy, slice

。 简 讯。

1997年西北农业大学科技论文数 在全国农林高校中居第 3位

据中国科技信息研究所 1997年中国科技论文统计与分析 (年度研究报告), 我国科技人员 1997年在 1 214种国内科技期刊上共发表论文 120851篇, 比上一年增长 3.97%; 发表论文数达千篇以上的高等学校有 8所, 比上一年增加 4所; 发表论文达 500篇以上的高等学校有 34所; 论文达 100篇以上的高等学校为 212所, 比上一年减少了 3所。 1997年我校在所统计的 1 214种国内科技期刊上共发表论文 315篇, 在全国高校中居 64位, 在全国农林高校中排名第 3位, 前两位为中国农业大学和浙江农业大学, 发表论文数分别为 498篇和 400篇。

(申云霞 供稿)