

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2017.09.004

套袋对不知火果实品质和果皮类胡萝卜素代谢的影响^①

程春振^{1,2,3}, 黄 勇³, 张永艳¹,
吴 波², 闫树堂³, 钟 云²

1. 福建农林大学 园艺学院, 福州 350002; 2. 广东省农业科学院 果树研究所, 广州 510640;
3. 西南大学 柑橘研究所, 重庆 400715

摘要: 为研究套袋对不知火果实品质和类胡萝卜素代谢的影响, 选用生产上常用的外黄内黑双层纸袋对不知火果实进行套袋处理, 以不套袋为对照. 果实品质相关指标测定结果表明: 不知火果实套袋后果实单质量增加, 可滴定酸和可溶性固形物质量分数降低, Vc 质量浓度、出汁率和可食率变化不大. 利用 HPLC 检测对套袋和未套袋果实果皮紫黄质、9-*z*-紫黄质、 β -隐黄质、 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素和八氢番茄红素质量比进行了测定, 发现套袋果实果皮中这些类胡萝卜素类物质质量比均低于未套袋果实. 利用实时荧光定量 PCR 研究了套袋对果皮 *CRTISO*, *LCYb*, *LCYe*, *PDS*, *PSY*, *ZDS* 和 *ZEP* 基因表达的影响, 发现: 套袋不知火果皮中这些基因的表达均显著低于未套袋果实. 该研究结果表明: 套袋可提高不知火外观品质, 对不知火果实质量的增加具有一定的促进作用, 同时, 套袋使不知火果实风味下降. 此外, 该研究发现套袋还显著降低了不知火果皮类胡萝卜素质量比, 这可能是由于果实套袋使得阳光无法透过, 进而使得类胡萝卜素代谢相关基因的表达降低引起的.

关 键 词: 套袋; 不知火; 果实品质; 类胡萝卜素; 高效液相色谱; 基因表达

中图分类号: S666.9

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2017)09-0020-06

不知火橘橙(Shiranui)[*Citrus* $\times$ *Reticulata*]是由日本育种家用清见橘橙(Kiyomi tangor)[*Citrus unshiu* Marcov $\times$ *Citrus sinensis* Osbeck]和中野 3 号椪柑(Ponkan)[*Citrus reticulata* Blanco]杂交育成的一个优良杂交品种, 在我国已大面积推广种植, 目前已成为我国川西一带农民增收的重要来源^[1]. 不知火果实品质极佳, 成熟期在 2—3 月, 恰逢柑橘市场淡季, 所以需求旺盛、价格高企^[2].

果实套袋栽培已广泛应用于苹果、葡萄等多种果树^[3]. 不知火果实需要挂树越冬, 因此生产上常采用树体薄膜覆盖和果实套袋的方式以防止果实冻伤^[2]. 不知火果实油胞突起、果皮不平, 易累积尘埃且不易清洗, 严重影响了果实外观品质, 果实套袋可以减少果皮尘埃堆积, 对提高果实外观品质具有一定意义. 不知火易感染炭疽病, 生产上也常使用套袋的方式减少果实染病. 除此之外, 套袋还具有避雨、防虫害、减少农药施用、减少果面损伤、增加果实质量、提高优果率、减少果实农药残留等作用, 因此果实套袋对不知火的栽培和生产意义重大^[1-2]. 然而, 套袋使果实与外界隔离、影响阳光照射和果实水分蒸发, 因此会引起果实周围环境的改变和果实生理生化过程的变化进而影响果实的内外观品质. 目前已经有了大量关于果实套

① 收稿日期: 2016-11-15

基金项目: 广东省科技计划项目(2014B070706018, 2014B020202009, 2016B020201006); 福建省自然科学基金项目(2017J01615); 国家自然科学基金项目(31601713); 福建农林大学 A 类人才科研启动基金(61201400707).

作者简介: 程春振(1986-), 男, 山东滕州人, 讲师, 主要从事园艺植物生物技术研究.

袋影响果树果实品质的报道,然而目前关于套袋对不知火果实内在和外观品质的影响则缺少系统的报道.考虑到套袋是不知火生产过程中一个极为重要的环节,本研究拟对套袋对不知火果实品质的影响展开研究,以期为不知火套袋相关技术的改进提供依据.

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在四川省广安市一种植约 10 a 的不知火果园进行.所用外黄内黑双层果袋为日本小林制袋产业株式会社生产.

1.2 套袋试验

2010 年 9 月 28 日进行套袋试验.选生长势和结果量基本相同的试验树 5 株,在套袋前 2 d 喷药杀菌防虫,每株选取 20 个果实套袋,以不套袋果实作为对照.

1.3 单果质量、出汁率、可食率及可溶性固形物质量比测定

2011 年 2 月 20 日,摘取果实,选取大小较均一、无病虫害的套袋和非套袋果实各 50 个,分别测定质量;从两组果实中分别随机选取 10 个用于榨汁并计算果实出汁率和可食率;使用手持阿贝折光仪测定果汁中可溶性固形物质量分数;剩余果实用于果实品质相关指标测定、果皮类胡萝卜素质量比测定及 RNA 提取.每个指标至少 3 个重复.

1.4 可滴定酸质量比、Vc 质量浓度测定

果汁 Vc 质量浓度的测定采用 2,6-二氯酚法;果汁可滴定酸质量分数测定采用 NaOH 滴定法.

1.5 果皮类胡萝卜素的提取

果皮类胡萝卜素的提取参照黄勇的方法^[4].采用 Waters 公司的反相高效液相色谱仪测定果皮类胡萝卜素各组分质量比,具体步骤参照徐娟的方法^[5].各类胡萝卜素组分质量比采用 Waters 高效液相色谱仪 Empower 软件控制及数据处理系统对色谱结果进行处理.应用 Excel 进行数据分析,应用 SPSS 软件进行差异的统计学意义分析.

1.6 RNA 的提取及 cDNA 合成

使用全式金公司生产的 TransZol 试剂盒提取果皮总 RNA,具体步骤参见黄勇的方法^[4].使用 TaKaRa 公司生产的 PrimeScript RT reagent Kit Perfect Real Time 试剂盒反转录合成 cDNA,用于实时定量 PCR.

1.7 实时定量 PCR

以果皮 cDNA 为模板,进行实时定量 PCR 验证,以 *Actin* 基因作为内参基因,分别对 *CRTISO*, *LCYb*, *LCYe*, *PDS*, *PSY*, *PDS* 和 *ZEP* 进行表达验证,具体步骤参照 Cheng 等人的方法^[6].引物序列见表 1^[4].

表 1 实时定量引物列表

基因名称	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')	目标片段/bp
<i>CitPSY</i>	ATGGGCATAGCACCTGACTC	GATAAACCCCTTCCTCTTCGG	133
<i>CitPDS</i>	TGATCGGTTGCAGTGGAAG	ATTTAGCGGAGCCGGAAG	106
<i>CitCRTISO</i>	TTCTTTCCATTCACATGGGTGTT	TCATCCTCAAGCACAAAATGGT	79
<i>CitZDS</i>	TGTTGCAGCATGTGATGTCCC	CAGTAACCCAACCATTGTATCTAAGC	140
<i>CitLCYe</i>	CAACTGGATATTGAGGGCATCA	CAAGGAAACCGTGCCACATC	79
<i>CitLCYb</i>	TTTAGCTGCGGCTCCTATTG	TCCCTTTGCCTTCTCCTTTC	132
<i>CitHYb</i>	GCCATAATCAACGCAGTTCC	CACCGTAATGCCAAGTCCAG	105
<i>CitZEP</i>	GAAGCAATTCTTCGACGTGACA	ACCGAGTCCCCAAGCAAAGT	86
<i>Actin</i>	ATCTGCTGGAAGGTGCTGAG	CCAAGCCCAGCATGAAGATCAA	100

2 结果与分析

2.1 套袋对不知火果实外观的影响

通过观察套袋和未套袋不知火果实外观发现: 套袋果实相对于未套袋果实更大、着色更为均匀、果实明亮度有了明显提升, 且果实表皮灰尘显著减少, 伤果和虫蛀果减少、优果率有所提升, 说明套袋可以显著改善果实外观, 提高果实外观品质.

2.2 套袋对不知火果实单果质量、出汁率和可食率的影响

通过测量果实单质量, 发现套袋果实平均单果质量(231.12 g)显著高于未套袋果实(188.55 g)($p < 0.05$), 但未达到极具有统计学意义. 套袋果实和未套袋果实出汁率和可食率差异不具有统计学意义.

2.3 套袋对不知火果实可溶性固形物质量分数、可滴定酸质量分数、固酸比和 Vc 质量浓度的影响

通过比较套袋果实和未套袋果实可溶性固形物质量分数, 发现套袋极显著降低了不知火果实可溶性固形物质量分数($p < 0.01$), 套袋果实可溶性固形物质量分数相对于未套袋果实下降约 3%(表 2). 套袋果实和未套袋果实可滴定酸质量分数测定结果表明套袋极显著地降低了不知火果实可滴定酸质量分数($p < 0.01$)(表 2). 套袋果实和未套袋果实固酸比比较结果表明: 套袋果实和未套袋果实固酸比差异不大(表 2). 采用 2,6-二氯酚法测定了套袋果实和未套袋果实 Vc 质量浓度, 发现未套袋果实 Vc 质量浓度约为 0.435 7 g/L, 套袋果实 Vc 质量浓度约为 0.425 8 g/L, 二者差异不具有统计学意义.

表 2 套袋对不知火果实品质的影响

	未套袋	套袋
单果质量/g	188.55±15.73	231.12±24.99*
可食率/%	75.87±1.08	77.64±0.72
出汁率/%	39.92±1.23	38.46±0.53
可溶性固形物质量分数/%	15.9±0.50	12.9±0.36**
可滴定酸质量分数/%	1.25±0.03	1.01±0.06**
固酸比	12.72±0.44	12.81±0.91
Vc 质量浓度/(g·L ⁻¹)	0.435 7±0.08	0.425 8±0.01

注: *: 差异具有统计学意义($p < 0.05$); **: 差异极具有统计学意义($p < 0.01$).

2.4 套袋对不知火果皮类胡萝卜素质量比的影响

类胡萝卜素是柑橘果实呈色最主要的色素. 本研究利用反相高效液相色谱仪测定了套袋和未套袋不知火果实果皮中紫黄质、9-*z*-紫黄质、 β -隐黄质、 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素和八氢番茄红素的质量比(图 1). 结果表明紫黄质、9-*z*-紫黄质和 β -隐黄质是不知火果皮类胡萝卜素的主要组分. 通过比较套袋和未套袋果实果皮中各类胡萝卜素相关组分的质量比差异, 发现套袋果实中各类胡萝卜素组分均显著低于未套袋果实, 说明长期套袋使得不知火果皮中类胡萝卜素积累显著下降.

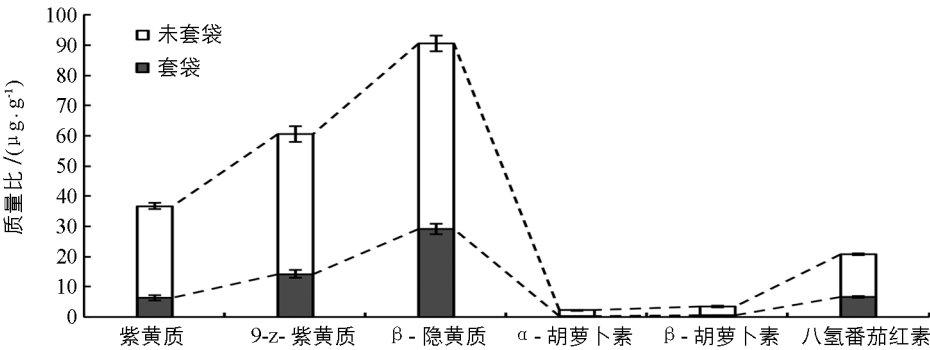


图 1 套袋对不知火果皮类胡萝卜素质量比的影响

2.5 套袋对不知火果皮类胡萝卜素代谢相关基因表达的影响

利用实时荧光定量 PCR 技术研究了套袋和未套袋果实果皮中 *CRTISO*, *LCYb*, *LCYe*, *PDS*, *PSY*,

ZDS 和 ZEP 基因等类胡萝卜素代谢相关基因的表达情况(图 2),发现套袋不知火果皮中这些基因的表达量均极显著地低于对照($p < 0.01$),说明长期套袋极显著抑制了不知火果皮中类胡萝卜素代谢相关基因的表达。

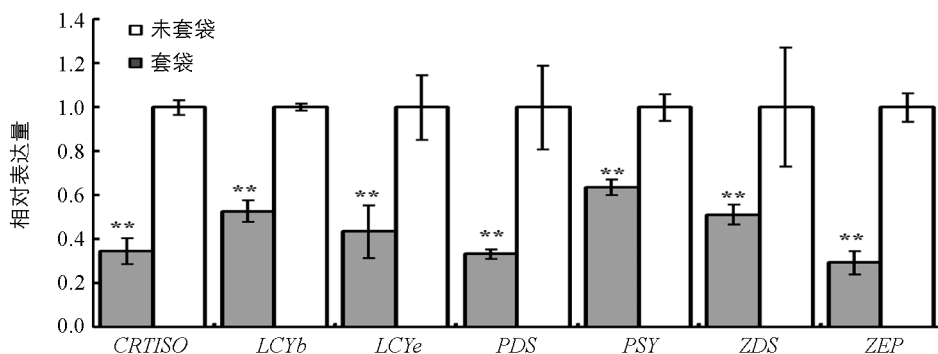


图 2 套袋对不知火果皮类胡萝卜素代谢相关基因表达的影响

3 讨 论

3.1 套袋可以提高不知火果实外观品质和果实质量

套袋栽培技术在多种果树上得到了成功应用,在改善龙眼^[7]、芒果^[8-9]、苹果^[10]、桃^[11]、番石榴^[12]、枇杷^[13]、脐橙^[14]、锦橙^[15]和柠檬^[16]等果实外观品质和提高果实质量方面取得了明显的效果.与报道相似,本研究发现套袋的不知火果实亮度、优果率及洁净程度等要优于未套袋果实,且果实单质量有显著提升.不知火果实需要挂树越冬,因此套袋对果实外观品质和产量具有重要意义.

3.2 套袋会引起不知火果实内在品质的降低

套袋会影响果实的品质. Huang 等发现套袋会显著降低红皮沙梨果实花青素、类胡萝卜素和有机酸含量^[17]; Yang 等发现不同套袋材料均可以降低反季节“Chuliang”龙眼果实有机酸含量^[7];李平等发现黑色套袋会降低番石榴果实可溶性固形物含量^[12];冯健君等的研究发现套袋会降低白沙枇杷品种宁海白果实的总糖含量^[13];王少敏等发现套袋短枝红富士苹果可溶性固形物、淀粉、叶绿素含量均低于未套袋果,而花青素含量却高于未套袋果^[18];淳长品等发现套袋会引起纽荷兰脐橙果实酸含量的下降,使用外黄内黑双层袋套袋还会引起果实 Vc 含量的显著降低^[19];王涛等发现套袋会降低宫川温州蜜柑果肉中总糖、还原糖、蔗糖、淀粉、有机酸、Vc、钙、锌、铁及蛋白质含量^[20].这些研究结果表明套袋果实品质会有所下降.本研究发现套袋会引起不知火果实可溶性固形物质量分数和可滴定酸质量分数降低,说明套袋果实风味有所下降.但也有报道指出套袋会提高果实品质,如:张义刚等发现使用外黄内黑纸袋的尤力克柠檬果实总酸含量虽低于未套袋果实但可溶性固形物含量和固酸比高于未套袋果实^[21];Sharma 等的研究更是指出套袋苹果中 Ca 和酚类物质含量更高、AOX 活性更高、可溶性固形物和抗坏血酸含量更高^[10].说明套袋对不同果树果实品质的影响有所差异.

3.3 套袋影响了阳光透过进而极显著降低了不知火果皮类胡萝卜素质量比及相关基因的表达

柑橘果皮颜色的形成与类胡萝卜素的组分和含量密切相关.众多研究表明:套袋对果实类胡萝卜素代谢的影响极大. Huang 等的研究发现套袋会显著降低红皮沙梨果实类胡萝卜素含量,将套袋果实采摘前 2~3 周去袋可使果实重新合成大量类胡萝卜素^[17];武红霞等发现白外黄内黑复合袋套袋会造成红杞 6 号果皮类胡萝卜素含量的降低^[9];陶俊等发现套袋会抑制红柿柑类胡萝卜素代谢^[22].本研究结果表明套袋会显著降低不知火果皮紫黄质、9- α -紫黄质、 β -隐黄质、 α -胡萝卜素、 β -胡萝卜素和八氢番茄红素的质量比.充分的光照对类胡萝卜素合成十分重要,套袋不知火果实类胡萝卜素质量比的降低可能与阳光无法透过有关.此外,本研究利用 qRT-PCR 研究了套袋对不知火果皮类胡萝卜素合成相关基因表达的影响,发现套袋果实中这些基因的表达均显著低于未套袋果实. PSY 是柑橘类胡萝卜素合成途径的关键基因,它的表达受光照诱导显著^[23],它在类胡萝卜素代谢的第一个产物八氢番茄红素形成中发挥

着关键作用。套袋不知火果实中 PSY 基因的显著下调表达和八氢番茄红素的显著降低说明不知火类胡萝卜素代谢从源头上供应不足。光照缺乏严重影响果皮类胡萝卜素的合成, 因此在生产上常在果实转色期在果园铺设反光膜以提高果实的着色^[24]。本研究发现套袋果实果皮 β -隐黄质质量比(对光照最为敏感)显著降低, 可能与套袋引起的阳光无法透过有关。其他类胡萝卜素组分及相关基因的显著降低, 可能是由于底物供给缺乏引起的。

套袋可以改善不知火果实外观但会影响果实内在品质、降低果皮类胡萝卜素质量比。Huang 等指出将套袋红皮沙梨在采摘前 10 d 左右去除套袋对保证红皮沙梨的外观和内在品质大有裨益^[17]。另外还有很多研究表明不同套袋材料对果实造成的影响不同, 而造成影响差异的重要原因是材料的透光性^[13, 15, 19, 21]。因此在今后不知火果实套袋栽培过程中可以通过采摘前提前去除套袋或选用透光性较好的纸袋以减轻套袋对果实品质的不良影响。

参考文献:

[1] 洪棋斌. 柑橘育种的成就与展望 [J]. 中国农业科学, 2007, 40(增刊): 3278—3286.

[2] 陈天礼. 不知火橘橙的越冬栽培技术 [J]. 浙江柑橘, 2007, 24(1): 23—25.

[3] 张秋明, 丁伟平, 郑玉生, 等. 套袋对脐橙果实品质的影响 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, 28(5): 402—404.

[4] 黄 勇. 不知火橘橙果实黄色突变分子机理研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2011.

[5] 徐 娟. 几个柑桔产区果实色泽评价及红肉脐橙(*Citrus sinensis* L. cv. Cara cara)果肉呈色机理初探 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2002.

[6] CHENG C Z, YANG J W, YAN H B, et al. Expressing p20 Hairpin RNA of *Citrus tristeza virus* Confers *Citrus aurantium* with Tolerance/Resistance Against Stem Pitting and Seedling Yellow CTV Strains [J]. Journal of Integrative Agriculture, 2015, 14(9): 1767—1777.

[7] YANG W H, ZHU X C, BU J H, et al. Effects of Bagging on Fruit Development and Quality in Cross-Winter Off-Season Longan [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 120(2): 194—200.

[8] 郑小林, 张佳佳, 励建荣. ‘凯特’杧果栽培中果实套袋对其采后品质及贮藏性的影响 [J]. 园艺学报, 2011, 38(4): 657—665.

[9] 武红霞, 王松标, 石胜友, 等. 不同套袋材料对红杧 6 号杧果果实品质的影响 [J]. 果树学报, 2009, 26(5): 644—648.

[10] SHARMA R R, PAL R K, ASREY R, et al. Pre-Harvest Fruit Bagging Influences Fruit Color and Quality of Apple cv. Delicious [J]. Agricultural Sciences, 2013, 4(9): 443—448.

[11] JIA H J, ARAKI A, OKAMOTO G. Influence of Fruit Bagging on Aroma Volatiles and Skin Coloration of ‘Hakuho’ Peach (*Prunus persica* Batsch) [J]. Postharvest Biology and Technology, 2005, 35(1): 61—68.

[12] 李 平, 温华良, 郑润泉, 等. 套袋对番石榴果实品质的影响 [J]. 亚热带植物科学, 2003, 32(1): 17—19.

[13] 冯健君, 陈俊伟, 徐红霞, 等. 果袋透光性对宁海白枇杷果实品质及抗氧化能力的影响 [J]. 果树学报, 2009, 26(1): 66—70.

[14] 张秋明, 丁伟平, 郑玉生, 等. 套袋对脐橙果实品质的影响 [J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, 28(5): 402—404.

[15] 王 武, 邓 烈, 何绍兰, 等. 不同套袋处理对北碚 447 锦橙果实色泽的影响 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2009, 31(2): 65—69.

[16] 朱春华, 李进学, 周东果, 等. 套袋对反季柠檬品质变化的影响 [J]. 西南农业学报, 2011, 24(1): 202—205.

[17] HUANG C, YU B, TENG Y, et al. Effects of Fruit Bagging on Coloring and Related Physiology, and Qualities of Red Chinese Sand Pears During Fruit Maturation [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 121(2): 149—158.

[18] 王少敏, 高华君, 刘嘉芬, 等. 套袋短枝红富士果实内含物及果皮色素的变化 [J]. 果树科学, 2000, 17(1): 76—77.

[19] 淳长品, 彭良志, 曹 立, 等. 不同纸袋套袋对纽荷尔脐橙果实品质的效应研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2008, 30(4): 106—110.

[20] 王 涛, 林 媚, 陈丹霞, 等. 套袋对温州蜜柑果实营养成分的影响 [J]. 安徽农学通报, 2007, 13(9): 68—69.

- [21] 张义刚, 张 尧, 杨 丽, 等. 不同套袋处理对尤力克柠檬果实品质的影响 [J]. 西南农业学报, 2012, 25(5): 1947—1949.
- [22] 陶 俊, 张上隆, 安新民, 等. 光照对柑橘果皮类胡萝卜素和色泽形成的影响 [J]. 应用生态学报, 2003, 14(11): 1833—1836.
- [23] GIULIANO G, BARTLEY G E, SCOLNIK P A. Regulation of Carotenoid Biosynthesis During Tomato Development [J]. The Plant Cell, 1993, 5(4): 379—387.
- [24] 刘宝贞. 培养条件对柑橘胚性愈伤组织中类胡萝卜素合成的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2009.

Effects of Bagging on Fruit Quality and Peel Carotenoid Metabolism of Shiranui (*Citrus × Reticulata*)

CHENG Chun-zhen^{1,2,3}, HUANG Yong³, ZHANG Yong-yan¹,
WU Bo², YAN Shu-tang³, ZHONG Yun²

1. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China;

2. Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;

3. Institute of Citrus Research, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: The effects of bagging on fruit quality of Shiranui—a hybrid of *Citrus reticulata*—and its peel carotenoid metabolism were investigated. The results of fruit quality-related indexes showed that bagging increased fruit weight and decreased titratable acid and soluble solid contents, while fruit Vc content, juice yield and edible rate were little influenced. HPLC showed that all the carotenoid-related pigments (violaxanthin, 9-z-violaxanthin, β -cryptoxanthin, α -carotene, β -carotene and phytoene) were significantly lower in bagged fruit peel than in non-bagged fruit peel. QRT-PCR showed that the expression levels of the carotenogenesis genes (*CRTISO*, *LCYb*, *LCYe*, *PDS*, *PSY*, *PDS* and *ZEP*) were all significantly down-regulated in the peel of the bagged Shiranui fruit compared with the non-bagged fruit. The above results indicated that bagging of fruit could be helpful for improving fruit appearance quality, but it would deteriorate fruit flavor. In addition, bagging suppressed carotenoid metabolism in fruit peel, which may have resulted from the inhibition effect of bagging on light transmission and carotenogenesis gene expression.

Key words: bagging; Shiranui; fruit quality; carotenoid; HPLC; gene expression

责任编辑 潘春燕

