doi: 10.11838/sfsc.1673-6257.23474

钙叶面肥对'台农1号'百香果果实生长发育 及柠檬酸积累的影响

张小英^{1,2}, 李嘉昱^{1,2}, 王 叶^{1,2}, 龙秀琴^{1,2}, 张子雄^{1,2}, 滕 尧³, 陈彩霞^{1,2*}

(1. 贵州省植物园,贵州 贵阳 550004; 2. 国家林业与草原局西南喀斯特山地生物多样性保护重点实验室,贵州 贵阳 550004; 3. 贵州省山地资源研究所,贵州 贵阳 550001)

摘 要:以'台农1号'百香果为试验材料,探究田间叶面喷施不同浓度梯度的 CaCl₂处理对百香果果实生长发育及柠檬酸积累的影响。结果表明:与对照(CK)相比,两种浓度梯度 CaCl₂处理果实单果重降低,果形指数、可食率、可溶性固形物增加,且在采后贮藏过程中其单果重及可溶性固形含量下降速率减慢。果实中柠檬酸含量分析结果表明 2% CaCl₂处理在果实成熟期明显促进了柠檬酸的积累,4% CaCl₂处理在贮藏期可促进柠檬酸的积累。酶活性相关性分析结果表明磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、乌头酸代谢酶主要调控了柠檬酸的积累,是柠檬酸积累的关键酶。该结果对于了解百香果柠檬酸积累规律及将来进行品质改良具有重要的理论基础和实践意义。

关键词: '台农 1 号'; CaCl, 处理; 柠檬酸

百香果(Passiflora edulis Sims)属西番莲科(Passifcoracease)西番莲属(Passiflora)多年生藤本植物,广泛种植于热带和亚热带地区,目前仅贵州省的经济栽培面积已超过1.2万 hm²,以百香果为原料加工的食品、化妆品、保健品、药品等达数十种,食品主要包括果汁、饮料、干制品、罐装产品及发酵产品等^[1],行业影响和经济效益逐渐凸显。

有机酸含量高低是形成百香果独特品质的重要指标之一,对果实口感起决定性作用。果实中有机酸组分很多,但大多数果实通常以一种或两种有机酸为主,其他只少量或微量存在^[2]。百香果果实以柠檬酸为主要有机酸,其次为苹果酸^[3],与本课题组前期研究结果一致^[4]。有研究表明,在浆果果实发育过程中,苹果酸含量呈先降后升的变化趋势,而柠檬酸含量则整体呈先升后降的变化趋势,而柠檬酸含量则整体呈先升后降的变化趋势^[5]。

钙作为植物体内偶联胞外和胞内反应的第二信

使,具有稳定胞内环境,防止有机酸在植物体内积累而中毒^[6]。有研究者认为,钙离子抑制呼吸作用主要与其调控呼吸底物的跨膜运输和影响线粒体活性有关^[7]。苹果酸作为呼吸底物之一,钙离子主要通过抑制苹果酸在质膜间的跨膜运输,从而抑制植物呼吸作用^[8]。在苹果、猕猴桃等多种果实中均有研究表明喷钙可以抑制果实的衰老^[9]。

在百香果果实中,柠檬酸含量占总有机酸的85%以上^[4],对鲜食及加工品质影响较大。但到目前为止,对百香果柠檬酸的研究多集中在成熟果实,而对于发育过程中柠檬酸的积累动态、相关酶活性及其对不同处理的响应鲜有报道。因此,本研究通过测定'台农1号'百香果发育过程中柠檬酸含量、相关酶活性及其对钙离子的响应。揭示果实发育过程中柠檬酸积累动态,为进一步调控百香果果实风味变化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

试验材料为'台农1号'百香果,两年生,种植在安顺市幺铺镇四旗村,株行距1.5 m×2.5 m,架型为平棚垂帘式(图1),试验地海拔为1320 m,26°10′04.36″N,105°45′41.03″E。在发育过程中分别于花后5、25、45、65 d 喷施2%、4% CaCl₂,以喷施清水为对照(CK),共3个处理。每个处理

收稿日期: 2023-08-09; 录用日期: 2023-09-22

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2021YFD1100303); 贵州省植物园青年基金项目 (黔植园〔2022〕01号, 黔科合基础 -ZK〔2022〕一般 292, 黔林科合〔2023〕06号, 黔科院 J字〔2023〕16号, 黔植科合 Z〔2023〕02号)。

作者简介: 张小英 (1994-), 研究实习员, 硕士, 主要从事果树栽培生理研究。E-mail: 1419914500@qq.com。

通讯作者: 陈彩霞, E-mail: 408906990@qq.com。

喷 3 株, 喷到叶面和果面滴水为止。并于花后 10 d (幼果期, 7月 15 日)、30 d (果实膨大期, 8月 5 日)、50 d (转色期, 8月 25 日)、70 d (成熟期, 9月 15 日)采集果实,每株采集每个发育阶段果实 5 个、每次采集每个阶段果实 15 个,每次总采果数 45 个,采完后立即运回实验室,将果实切成两半取出果肉,迅速用液氮冷冻后贮藏在 -80℃超低温冰箱中备用。此外,预留部分成熟期果实贮藏10 d 直至完全成熟(花后 80 d)后将果实切成两半取出果肉,迅速用液氮冷冻后贮藏在 -80℃超低温冰箱中备用,对于每个阶段的果实采集照片,观察外观形态发育及果肉发育情况。



图 1 百香果平棚垂帘式架型

1.2 指标测定

1.2.1 果实单果重、纵横径测定

每个发育时期各处理分别选取 10 个果实,使用精度为 0.01 g 的天平测定单果重,同时使用电子游标卡尺测定纵横径,求其平均值。

1.2.2 果实可溶性固形物测定

使用 PAL-1 手持数显折光仪进行测定,每个时期各处理分别选取 10 个果实进行测定,求其平均值。

1.2.3 柠檬酸含量测定

柠檬酸含量采用柠檬酸含量测定试剂盒检测。

1.2.4 柠檬酸代谢相关酶活性测定

植物柠檬酸代谢相关酶活性分别采用植物柠檬酸合酶(CS)ELISA检测试剂盒、植物琥珀酸脱氢酶(SDH)ELISA检测试剂盒、植物磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)ELISA检测试剂盒、植物乌头酸代谢酶(ACO)ELISA检测试剂盒测定。

1.3 数据统计分析

采用 Excel 2010 统计分析数据与作图,采用 SPSS 20.0 作方差分析和相关性分析。

2 结果与分析

2.1 百香果果实发育过程中外观形态变化

百香果果实发育过程中果实色泽及内部果肉变 化如图 2 所示, 幼果期果皮呈深绿色, 果实内部有 较厚的海绵组织及少量种子; 果实膨大期单果重增 大, 果皮仍呈深绿色, 果实内部种子增多, 果肉变黄 并有少量果汁; 转色期果实大小已基本稳定, 果皮颜 色呈淡绿色, 果肉及果汁增多且颜色呈橙黄色; 成熟 期果皮颜色呈淡紫色, 果肉充满内部, 果汁颜色加 深, 呈浓黄色, 海绵组织占比最小, 果实香味浓郁; 完熟期果实转色完全, 呈紫红色, 种子完成后熟, 颜 色加深, 果汁增多, 果肉鲜食口感最佳。



图 2 百香果不同发育时期果实

2.2 钙叶面肥对百香果果实单果重、果形指数、 可食率及可溶性固形物积累的影响

钙叶面肥对百香果果实单果重的影响如图 3A 所示,在整个发育过程中,单果重呈先升后降的变化趋势,且随着钙处理浓度增大,果实单果重逐渐变小,而在果实成熟采收至完熟期,钙处理果实失重率显著低于 CK,表明在果实发育过程中钙处理果实较 CK 小,但采后贮藏过程中其失重率远低于 CK。如图 3B 所示,在果实发育过程中,果形指数

整体呈上升趋势,而在幼果期、转色期、成熟期及完熟期,钙处理增大了百香果果实果形指数。果实发育过程中可食率变化呈先升后降的趋势,钙处理明显提高果实可食率(图 3C)。钙叶面肥对百香果果实可溶性固形物积累的影响如图 3D 所示,在果实发育过程中,可溶性固形物含量呈先升后降的变化趋势,钙处理可提升可溶性固形物含量,且在后期贮藏过程中,经钙处理的果实可溶性固形物含量下降速率较 CK 慢,表明钙处理果实更耐贮藏。

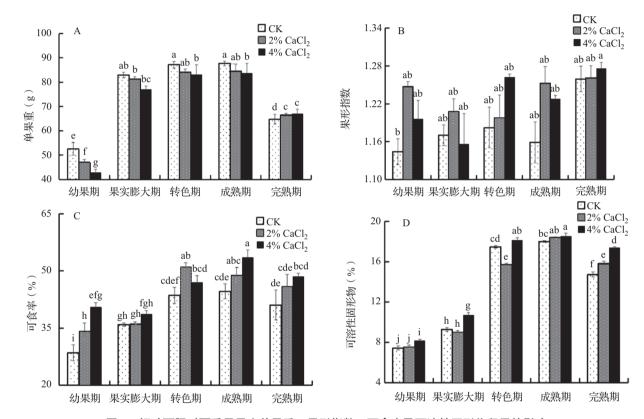


图 3 钙叶面肥对百香果果实单果重、果形指数、可食率及可溶性固形物积累的影响

注:图柱上不同字母表示各处理间差异显著(P<0.05)。下同。

2.3 钙叶面肥对百香果果实柠檬酸积累的影响

钙叶面肥对百香果果实柠檬酸积累的影响如图 4 所示,在果实发育过程中,柠檬酸含量整体呈下降趋势,在幼果期,随着喷施钙叶面肥浓度的提高,果实柠檬酸含量明显降低; 2% CaCl₂处理在果实成熟期显著促进了柠檬酸的积累; 4% CaCl₂处理在果实膨大期和完熟期显著促进了柠檬酸的积累,综上所述, 2% CaCl₂处理在果实成熟期显著促进了柠檬酸的积累, 4% CaCl₂处理在果实成熟期显著促进了柠檬酸的积累, 4% CaCl₂处理在贮藏期可防止果实风味物质的散失,延长贮藏期。

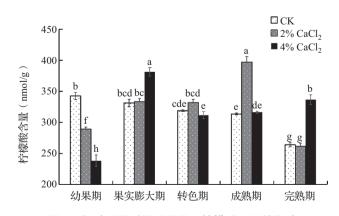


图 4 钙叶面肥对百香果果实柠檬酸积累的影响

2.4 钙叶面肥对果实柠檬酸积累相关酶活性的 影响

有研究表明柠檬酸合酶和磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶促进了柠檬酸的积累,而乌头酸代谢酶和琥珀酸脱氢酶对柠檬酸的积累具有抑制作用^[10]。如图 5 所示,在幼果期,钙叶面肥处理下磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、琥珀酸脱氢酶、乌头酸代谢酶活性

增高。在完熟期,2% CaCl₂处理下柠檬酸合酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、乌头酸代谢酶活性降低,4% CaCl₂处理下柠檬酸合酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、琥珀酸脱氢酶活性升高,而乌头酸代谢酶活性降低。综上所述,柠檬酸合酶、磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、乌头酸代谢酶明显调控了柠檬酸含量变化,对柠檬酸积累具有重要调控作用。

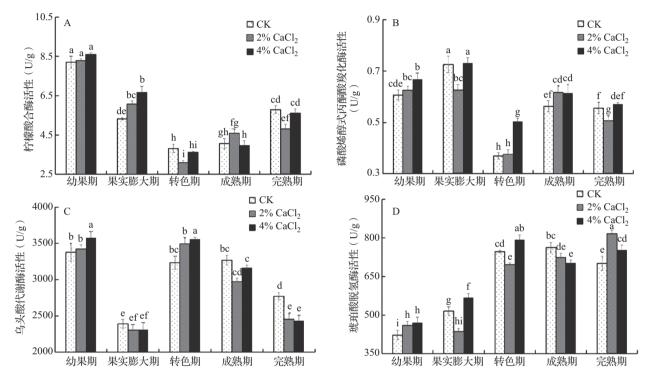


图 5 钙叶面肥对百香果果实柠檬酸积累相关酶活性的影响

2.5 钙处理条件下百香果果实完熟期柠檬酸积累 与其合成关键酶活性相关性分析

由表 1 可以看出,钙处理条件下在完熟期,磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性与柠檬酸含量呈显著正相关 (*P*<0.05),而乌头酸代谢酶活性与柠檬酸含量呈显著负相关 (*P*<0.05)。以上结果表明,完熟期磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶和乌头酸代谢酶在柠檬酸积累过程中起到主要调控作用。

表 1 百香果果实完熟期柠檬酸积累 与其合成关键酶活性相关性分析

	柠檬酸	磷酸烯醇式丙酮	乌头酸	琥珀酸
	合酶	酸羧化酶	代谢酶	脱氢酶
柠檬酸含量	0.361	0.578*	-0.509*	-0.050

注:*表示显著相关(P<0.05)。

3 讨论与结论

3.1 叶面喷钙的优势

百香果对各种肥料元素的需求量不同,以氮、磷、钾为主,钙、硼等中微量元素次之,因此,钙元素对于百香果苗木生长及其果实品质形成具有重要作用,近年来补钙已成为多种果树产业发展研究的热点^[11]。由于土施钙肥的效果受果园土壤、根系等各种因素的影响较大,生产上多采用生育期喷钙的措施,将钙喷到果实表面和叶面,增加果实含钙量^[12]。

3.2 钙叶面肥对果实品质的影响

钙在植物生长发育过程中,不仅是营养物质, 而且对植物的生长发育过程具有很重要的调节作 用^[6],本研究结果发现经钙叶面肥处理的百香果 果实单果重减小,果形指数增加且在后期贮藏过程中下降速率缓慢,可能的原因是经钙叶面肥处理的果实果皮中果胶与钙结合形成果胶钙^[13],抑制了果胶降解酶活性^[14],提高了果实硬度,使得果实分裂受阻。此外,钙叶面肥处理后可溶性固形物含量、可食率升高,且在完熟期仍保持在较高水平,该结果与 Xu 等^[15]研究结果相反,可能的原因是贮藏温度不同,钙叶面肥处理对果实成熟度有所影响^[16]。

3.3 钙叶面肥对果实柠檬酸积累的影响

Goldenberg 等^[17]研究表明采收季节对百香果 酸度有明显影响,冬季采收的百香果较夏季更酸。 在苹果中也研究发现随着果实成熟有机酸含量呈 下降趋势[18]。有研究表明,有机酸含量变化与果 实衰老进程和贮藏性能密切相关[9], 在柑橘中研 究表明, 高含量的有机酸或者有机酸降解缓慢的 柑橘品种贮藏性较好[19]。柠檬酸主要在液泡中积 累,在细胞质中降解[20]。在欧李果实中研究发现 喷钙可以增加果实中苹果酸、柠檬酸、酒石酸的含 量[21], 而在梨中研究表明喷施钙肥降低了果实中 柠檬酸含量[22]。在'夏黑'葡萄中研究发现,在 成熟期 0.1% Ca2+ 处理增加了柠檬酸含量,而 0.5% Ca²⁺ 处理降低了柠檬酸的含量^[6],与本研究结果 一致,可能的原因是高浓度的钙喷施之后调控了 Ca2+、钙调蛋白与有机酸的复合蛋白[23], 进一步 调控柠檬酸的积累。

3.4 钙叶面肥对果实柠檬酸积累相关酶活性的影响

柠檬酸主要通过线粒体三羧酸途径循环合成^[24],有关柠檬酸代谢的酶已被大量报道,例如磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶、柠檬酸合酶、乌头酸代谢酶、琥珀酸脱氢酶等^[10]。本研究结果发现,在果实成熟期及完熟期乌头酸代谢酶的活性与柠檬酸含量积累呈显著负相关(P<0.05),可能的原因是乌头酸代谢酶的活性会抑制三羧酸循环代谢,致使果实中积累较多的柠檬酸^[25]。本结果与郭静等^[18]在柑橘中的研究结果一致。此外,磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶与柠檬酸含量积累呈显著正相关,该结果与枇杷中的研究结果一致^[26]。以上两种柠檬酸积累关键酶的发现为百香果品质调控提供了基础。

参考文献:

[1] Rinaldi M M, Costaa A M, Faleiro F G, et al. Conservação

- pós-colheita de frutos de *Passiflora setacea* DC. submetidos a diferentes sanitizantes e temperaturas de armazenamento [J] . Brazilian Journal of Food Technology, 2017, 20; e2016046.
- [2] Cercds M, Soler G, Iglesias D J, et al. Global analysis of gene expression during development and ripening of citrus fruit flesh. A proposed mechanism for citric acid utilization [J]. Plant Molecular Biology, 2006, 62: 513-527.
- [3] Zhang X, Wei X A, Li M M, et al. Changes in the content of organic acids and expression analysis of citric acid accumulation-related genes during fruit development of yellow (Passiflora edulis f. flavicarpa) and purple (Passiflora edulis f. edulis) passion fruits [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22: 5765.
- [4] 王叶, 滕尧, 张建利, 等. 西番莲在山地环境的果实发育及品质表现[J]. 农业与技术, 2021, 41 (24): 114-118.
- [5] 张瑞. 转色前叶果比处理对"赤霞珠"和"北玫"葡萄有机酸积累和果实品质的影响[D]. 银川:宁夏大学,2017.
- [6] 黄艳,文露,庞亚卓,等. 喷施钙肥对'夏黑'葡萄果实糖酸积累的影响[J]. 中国土壤与肥料,2020(2):166-172.
- [7] 印荔. 盐胁迫下莲藕对外源 Ca²⁺ 的生理响应及 Ca²⁺ 依赖蛋白基因 –*NnCDPKs* 克隆与表达分析 [D]. 扬州:扬州大学,
- [8] 郭润姿. 不同处理对采后黄冠梨果实有机酸代谢酶及其基因表达的影响[D]. 天津: 天津大学, 2012.
- [9] 孙文文, 刘梦培, 纵伟, 等. 采后钙处理对甜柿贮藏品质的 影响[J]. 食品工业, 2021, 42: 220-224.
- [10] Degu A, Hatew B, Nunes-nesi A, et al. Inhibition of aconitase in citrus fruit callus results in a metabolic shift towards amino acid biosynthesis [J]. Planta, 2011, 234 (3): 501-513.
- [11] 杜婧加,彭俊杰,陈甜甜,等. 钙镁叶面肥混合喷施减轻 "妃子笑"荔枝果实"退糖"现象原因分析[J]. 中国南方果树,2024,53(1):101-109.
- [12] 陈秀文,陈吉宝,蔡德宝,等. 钙肥不同用量对巨峰葡萄产量及品质的影响[J]. 中国农业科技导报,2019,21(8):140-146.
- [13] Wongkaew M, Sommano S R, Tangpao T, et al. Mango peel pectin by microwave-assisted extraction and its use as fat replacement in dried Chinese sausage [J]. Foods, 2020, 9: 450.
- [14] Liu M, Wang R, Sun W, et al. Effects of postharvest calcium treatment on the firmness of persimmon (*Diospyros kaki*) fruit based on a decline in WSP [J]. Scientia Horticulturae, 2023, 307: 111490.
- [15] Xu H G, Qiao P, Pan J L, et al. CaCl₂ treatment effectively delays postharvest senescence of passion fruit [J]. Food Chemistry, 2023, 417: 135786.
- [16] Gao Q, Tan Q, Song Z, et al. Calcium chloride postharvest treatment delays the ripening and softening of papaya fruit [J]. Journal of food Process and Processing and Preservation, 2020, 44: e14604.
- [17] Goldenberg L, Feygenbery O, Samach A, et al. Ripening attributes of new passion fruit line featuring seasonal non-

- climacteric behavior [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2012, 60: 1810-1821.
- [18] Jing C, Ma C, Zhang J, et al. Effect of debagging time on pigment patterns in the peel and sugar and organic acid contents in the pulp of 'golden delicious' and 'qinguan' apple fruit at mid and late stages of development [J]. PloS One, 2016, 11: e0165050.
- [19] 郭静,廖满余,金燕,等. 柑橘转录因子 *CsbHLH3* 调控柠檬酸代谢的功能解析 [J]. 园艺学报,2023,50:947-958.
- [20] Etienne A, Genard M, Lobit P, et al. What controls fleshy fruit acidity? a review of malate and citrate accumulation in fruit cells [J]. Journal of Experimental Botany, 2013, 64 (6): 1451-1469.
- [21] 和银霞. 采前喷钙结合采后壳聚糖涂膜对贮藏条件下欧李果 实品质的影响[D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [22] 沙守峰,李俊才,王家珍,等. 叶面喷施钙肥和锌肥对'早

- 金酥'梨果实糖酸含量的影响[J]. 果树学报, 2018, 35: 109-113.
- [23] Astegno A, La Verde V, Marino V, et al. Biochemical and biophysical characterization of a plant calmodulin: role of the Nand C-lobes in calcium binding, conformational change, and target interaction [J]. Biochim Biophys Acta Proteins Proteom, 2016, 1864 (3): 297-307.
- [24] 赵永,朱红菊,杨东东,等.果实柠檬酸代谢研究进展[J]. 园艺学报,2022,49:2579-2596.
- [25] Sadka A, Dahan E, Cohen L, et al. Aconitase activity and expression during the development of lemon fruit [J]. Physiologia Plantarum, 2000, 108 (3): 255-262.
- [26] Yang J, Zhang J, Niu X Q, et al. Comparative transcriptome analysis reveals key genes potentially related to organic acid and sugar accumulation in loquat [J]. PloS One, 2021, 16: e0238873

Effects of calcium foliar fertilizer on fruit growth and citric acid accumulation of passion fruit 'Tainong No.1'

ZHANG Xiao-ying^{1, 2}, LI Jia-yu^{1, 2}, WANG Ye^{1, 2}, LONG Xiu-qin^{1, 2}, ZHANG Zi-xiong^{1, 2}, TENG Yao³, CHEN Cai-xia^{1, 2*} (1. Guizhou Botanical Garden, Guiyang Guizhou 550004; 2. Key Laboratory for Biodiversity Conservation in Karst Mountain Area of Southwestern Chian of the National Forestry and Grassland Administration, Guiyang Guizhou 550004; 3. Institute of Mountain Resources of Guizhou Province, Guiyang Guizhou 550001)

Abstract: Taking 'Tainong No.1' passion fruit as the test material, the effects of spraying different concentration gradients of CaCl₂ on the growth and citric acid accumulation of passion fruit were investigated. The results showed that compared with the contrd (CK), the single fruit weight of the two concentration gradients of CaCl₂ treatment decreased, the fruit shape index, edible rate and soluble solids increased, and the decrease rate of single fruit weight and soluble solids content slowed down during postharvest storage. The results of citric acid content analysis showed that 2% CaCl₂ treatment significantly promoted the accumulation of citric acid at fruit ripening stage, and 4% CaCl₂ treatment promoted the accumulation of citric acid during storage. The results of correlation analysis of enzyme activity showed that phosphoenolpyruvate carboxylase and aconitic acid metabolic enzyme mainly regulated the accumulation of citric acid and were the key enzymes for citric acid accumulation. The results could have important theoretical basis and practical significance for understanding the accumulation of citric acid in passion fruit and future quality improvement.

Key words: Tainong No.1; concentration gradients of CaCl₂; citric acid