

不同砧木对‘黄果柑’叶片光合作用关键酶和果实品质的影响

廖玲¹, 曾海琼¹, 曹淑燕¹, 古咸杰¹, 李清南¹, 高婧斐¹, 张婷婷¹, 石冬冬¹, 熊博¹, 汪志辉^{1,2,*}

四川农业大学¹园艺学院, ²果蔬研究所, 成都611130

摘要: 本文研究了以枳壳、红橘、香橙为砧木的‘黄果柑’嫁接树叶片净光合速率(P_n)、核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco)和活化酶(RCA)浓度及果实动态品质的变化规律。结果表明: ‘黄果柑’ P_n 日变化呈双峰曲线, 3种嫁接树峰值的出现时间及大小不同, 以香橙和枳壳为砧木的‘黄果柑’叶片 P_n 较高; 嫁接树叶片中2种酶浓度均显著高于对照; 与对照相比, 3种嫁接树的总可溶性固形物(TSS)峰值出现时间有不同程度推迟, 果实留树保鲜时间延长。由此可见, 3种砧木中香橙对‘黄果柑’果实品质的影响最大。

关键词: ‘黄果柑’; Rubisco; RCA; 果实品质

Effects of Different Rootstocks on Key Photosynthetic Enzyme in Leaves and Fruit Quality of *Citrus* cv. ‘Huangguogan’

LIAO Ling¹, ZENG Hai-Qiong¹, CAO Shu-Yan¹, GU Xian-Jie¹, LI Qing-Nan¹, GAO Jing-Fei¹, ZHANG Ting-Ting¹, SHI Dong-Dong¹, XIONG Bo¹, WANG Zhi-Hui^{1,2,*}

¹College of Horticulture, ²Institute of Pomology and Olericulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China

Abstract: This study investigated the variation patterns in the leaf net photosynthetic rate (P_n), leaf concentrations of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (Rubisco) and Rubisco activase (RCA), and quality dynamics of fruits in *Citrus* cv. ‘Huangguogan’ trees grafted using *Poncirus trifoliata*, *Citrus reticulata* and *C. junos* rootstocks. The results showed that diurnal variations of leaf P_n in ‘Huangguogan’ exhibited bimodal curves. Peak P_n values were obtained at different times with different magnitudes in the three types of grafted trees. Trees grafted on *C. junos* and *P. trifoliata* rootstocks showed higher leaf P_n values. Leaf concentrations of the two photosynthetic enzymes in grafted trees were significantly higher than those in the control trees. Compared with control trees, in grafted trees, the peak values of total soluble solids (TSS) were postponed to different degrees, thereby prolonging the preservation time of the fruits of the trees. Therefore, out of the three rootstocks, *C. junos* has the most profound effect on the fruit quality of ‘Huangguogan’.

Key words: ‘Huangguogan’; Rubisco; RCA; fruit quality

‘黄果柑’属芸香科(Rutaceae)柑桔属(*Citrus*), 为桔和橙的天然杂交种(张泽琴和王大华1994), 原产于四川省雅安市石棉县, 是地方特色水果(汪志辉等2011)。柑橘光合作用所形成的有机物质是其果实品质形成的基础(高新一和王玉英2007; 胡美君等2006)。核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase, Rubisco)是光合作用 C_3 碳反应中重要的羧化酶, 也是光呼吸中不可缺少的加氧酶(Ashida等2005; 田秀英2000)。Rubisco是影响光合作用的主要因素之一(戴韩柳等2008; 胡利明等2006; García-Sánchez等2006), 钝化态Rubisco须经活化酶(Rubisco activase, RCA)活化才具有活性(梅杨2007; 林立金等2005; 张国等2004)。

柑橘果实品质与砧穗组合密切相关(黄寿波1987), 已有大量研究表明砧木对柑橘果实品质有影响(Mueller-Cajar等2014; 胡美君等2006; 陈俊伟和张上隆2001)。姜小文等(2012)研究表明枳砧果实品质优于黎檬砧, 留树保鲜的时间也比黎檬砧长; 淳长品等(2010)研究表明, 枳和枳橙砧的锦橙果实内在品质较好。不同砧穗组合的光合性能不同(张建光2004), 研究植物光合作用的日变化规律, 可以掌握植物与环境因子之间的关系, 并为栽

收稿 2014-12-09 修定 2015-03-18

资助 四川省科技支撑计划项目(2011NZ0034)、四川省科技厅基金项目(10ZC1454)。

* 通讯作者(E-mail: wangzhahui318@126.com; Tel: 0835-2882730)。

培、育种提供理论依据(李六林和季兰2006)。然而,关于柑橘砧木影响‘黄果柑’叶片 P_n 、光合作用关键酶及果实品质的研究还未见报道。本文研究不同砧木对‘黄果柑’叶片 P_n 、Rubisco和RCA浓度及果实动态品质的影响,以期为石棉县‘黄果柑’砧木的选择及栽培技术提供理论与实践依据。

材料与amp;方法

1 植物材料

试验于2013年11月~2014年3月在四川省石棉县‘黄果柑’示范园进行。供试材料为枳壳[*Poncirus trifoliata* (L.) Raf]、红橘(*Citrus reticulata* Blanco)和香橙[*C. junos* (Sieb.) Tanaka] 3种砧木嫁接的‘黄果柑’(以下简称为枳砧、红橘砧和香橙砧)各9株,3株为一小区,3次重复。‘黄果柑’实生树为对照。果实转色期至成熟期(11月25日~次年2月25日) 30 d采样一次,成熟期(2月25日~3月25日) 10 d采样一次,在树冠外围(高约1.8 m)东、南、西、北4个方位各采2个果实用于品质测定;同时在每个采样果对应的枝条上采集2片发育良好的功能叶用于关键酶浓度测定。

2 指标测定

2.1 果实内在品质

果实总糖量用菲林试剂法测定(郑永强等2010);可滴定酸(titratable acid, TA)用酸碱中和滴定法测定(锡香1994);维生素C含量用2,6-二氯酚法测定(王晓丽和苟琳2005);总可溶性固形物(total soluble solids, TSS)用TD-45手持式折光仪测定(廖明安2007)。

2.2 光合作用关键酶浓度

分别采用植物活化酶ELISA试剂盒(TaKaRa, Japan)和植物核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶ELISA试剂盒(TaKaRa, Japan),根据说明书进行操作,用酶标仪在450 nm波长下测定吸光度,通过标准曲线计算样品RCA和Rubisco浓度(李卫芳等2006; Catt和Millard 1988)。

2.3 果皮着色指数

目测果皮着色面积,计算果实着色指数(邓伯勋和章文才1994),着色指数=[$\sum(\text{着色等级} \times \text{果数}) / (\text{最大着色等级} \times \text{总果数})] \times 100\%$ 。

2.4 叶片净光合速率(P_n)

于2014年3月中旬晴天8:00~18:00,选取树冠

当年成熟新梢第3和第4片功能叶,用Li-6400便携式光合仪(LI-6400, LI-COR, USA)测定 P_n 日变化。测定前先测自然光照强度,然后将红蓝光源设定为与自然光相同的光强进行测定,系统稳定后进行记录,每个叶片记录5次,3次重复取平均值。

3 统计分析

采用DPS 7.05 (Data Processing System)软件对数据进行方差分析及显著差异性检验($P < 0.05$)。

实验结果

1 不同砧木对‘黄果柑’叶片光合作用关键酶的影响

由图1可见,3种嫁接树的酶浓度均显著高于对照。RCA浓度的最大值为:香橙砧>红橘砧>枳砧>对照(图1-A)。香橙砧和对照的Rubisco浓度均出现先升高后降低的变化,红橘砧和枳砧的Rubisco浓度变化在果实转色期至成熟期一致,果实成熟后则相反;Rubisco浓度最大值为:香橙砧>红橘砧>枳砧>对照(图1-B)。

2 不同砧木对‘黄果柑’叶片 P_n 的影响

图2显示,对照与3种嫁接树叶片 P_n 日变化均呈双峰曲线,但 P_n 峰值不同,枳砧最高($5.92 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$),对照最低($2.53 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$),两峰低谷在12:00,即‘黄果柑’有较明显“午休”现象。

3 不同砧木对‘黄果柑’果实品质的影响

与对照相比,3种嫁接树果实中TSS含量增加且峰值出现的时间延迟,枳砧、香橙砧和红橘砧TSS含量分别增加8.43%、2.87%和15.83%(图3-A);枳砧、红橘砧和香橙砧TA含量分别降低0.4%、2.0%和3.9%(图3-B);对照果实中维生素C含量最先达到最大值,为 $48.55 \text{ mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$ (FW),枳砧和红橘砧分别降低20.25%和20.35%,香橙砧增加3.5%(图3-C);枳砧、香橙砧和红橘砧总糖含量分别增加6.77%、10.19%和18.26%(图3-D)。

4 不同砧木对‘黄果柑’果皮着色指数的影响

由表1可见,对照与3种嫁接树的果皮着色指数均随采摘期的延迟逐渐升高,其中,对照上升最快,在2月25日超过80%。方差分析表明,3种嫁接树与对照果皮颜色无显著差异。

讨论

Rubisco对植物光合速率起决定作用,促进

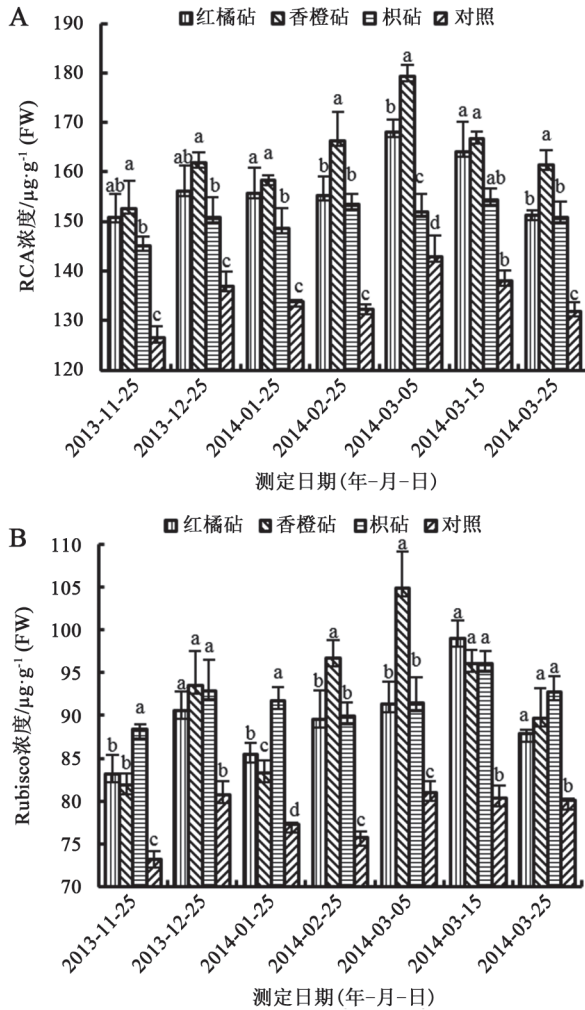


图1 不同砧木对‘黄果柑’叶片光合作用关键酶的影响
Fig.1 Effects of different rootstocks on key photosynthetic enzyme in leaves of ‘Huangguogan’

不同小写字母表示同一时间不同砧木嫁接的‘黄果柑’差异达到5%显著水平; 图3同此。

Rubisco羧化反应能提高作物产量(Parry等2007; Ashida等2003; Spreitzer 2003; Jensen 2000)。本试验结果表明, 对照与3种嫁接树叶片的的光合作用关键酶浓度变化趋势基本一致, 枳砧、香橙砧和红橘砧叶片Rubisco和RCA浓度均高于对照, 其中香橙砧叶片Rubisco和RCA浓度最高。Portis (1992)认为, Rubisco的羧化反应和加氧反应受温度调控, 本试验中, Rubisco浓度呈先升高后降低趋势, 这可能是果实成熟前后温度存在差异所致。

砧木对果实内在品质和留树保鲜时间(戴韩柳等2008; García-Sánchez等2006)及叶片光合特性

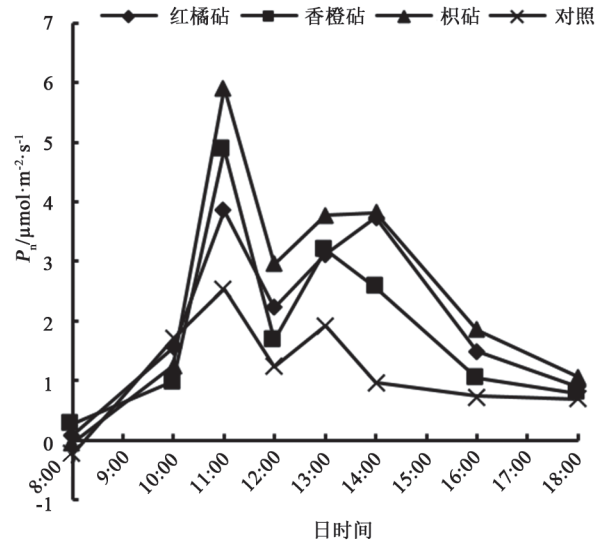


图2 不同砧木对‘黄果柑’叶片 P_n 日变化的影响
Fig.2 Effects of different rootstocks on the diurnal changes in P_n of ‘Huangguogan’ leaves

均有影响, P_n 是衡量内外因素对光合作用影响程度的常用指标(张建光等2004), 计长远和彭长江(2009)的研究表明香橙砧比枳砧丰产性好, 比红橘砧和本砧果实品质好。本试验中对对照果实维生素C、TSS及总糖含量最早达到最大值且TA含量降到最低, 表明对照果实先成熟; 3种嫁接树果实的TSS和总糖含量均高于对照果实; 香橙砧果实的维生素C含量较对照略有上升, 而枳砧和红橘砧果实略有下降; 3种嫁接树果实的TA含量均小于对照果实, 其中香橙砧果实的TA含量最低。这说明3种嫁接树果实品质均高于对照, 其中, 香橙砧的果实品质最好。另外, 3种嫁接树叶片的 P_n 均高于对照, 香橙砧和枳砧叶片 P_n 较好, ‘黄果柑’有明显的“午休”现象, 可能是午间温度过高导致Rubisco活性(梅杨等2007)和大气相对湿度快速下降, 最终使气孔部分关闭所致(许大全1990)。

本试验中栽培环境及管理水平一致, 砧木是导致‘黄果柑’叶片 P_n 、Rubisco和RCA浓度及果实内在品质表现出差异的主要原因。3种砧木根系生长势不同, 导致‘黄果柑’根系吸水能力、气孔导度、 CO_2 的同化效率均不同。肖慈木等(1996)对不同砧木嫁接树矿质代谢、水分代谢和光合作用进行了研究, 结果表明不同砧木对叶绿素和光合强度、自由水和束缚水含量、叶片矿质元素含量和

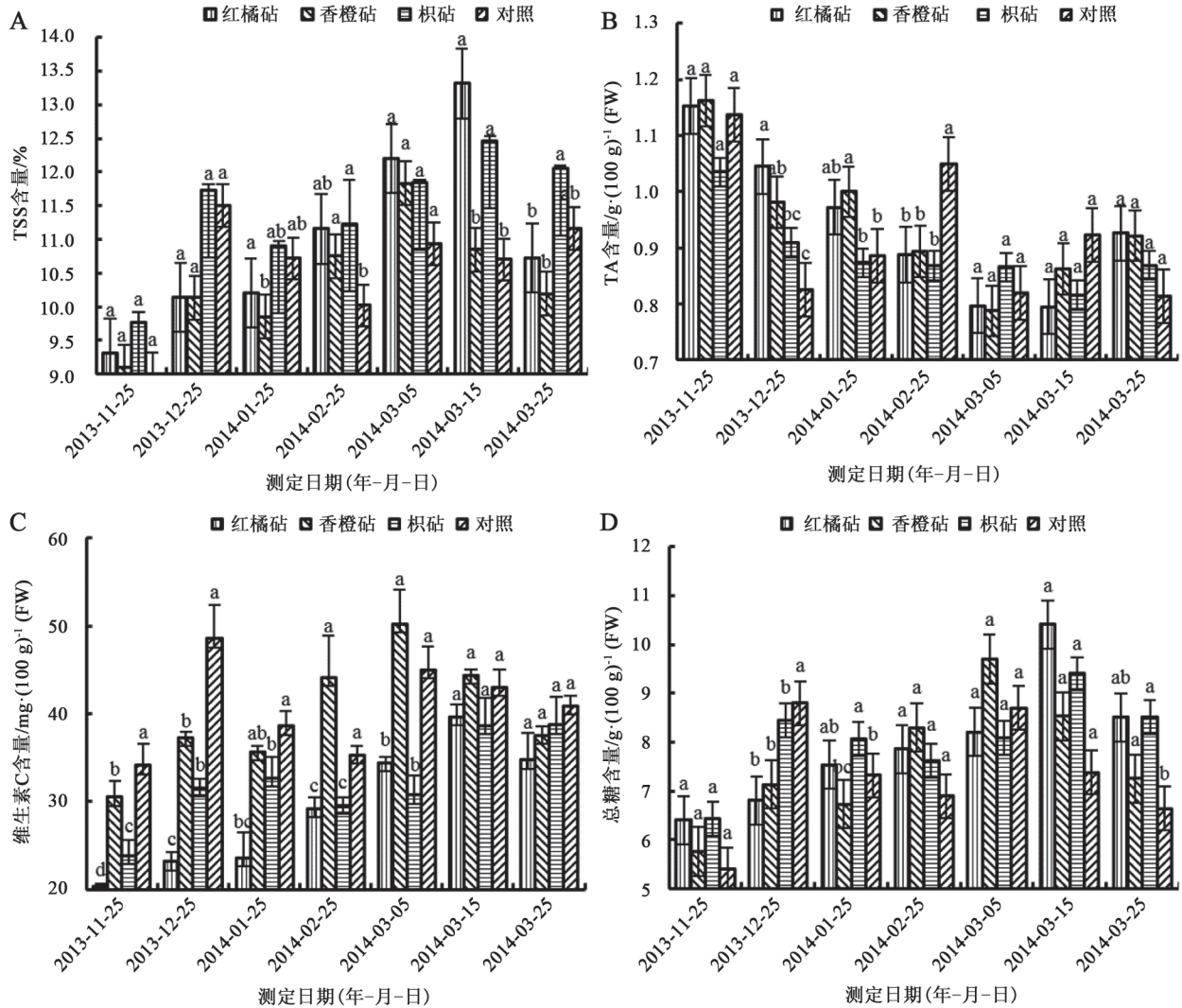


图3 不同砧木对‘黄果柑’果实品质的影响

Fig.3 Effects of different rootstocks on fruit quality of ‘Huangguogan’

表1 ‘黄果柑’果皮着色指数的变化

Table 1 Changes in peel coloration indices of ‘Huangguogan’

测定日期	枳砧	红橘砧	香橙砧	对照
2013-11-25	0	0	7.0	3.7
2013-12-25	14.9	20.9	23.3	18.3
2014-01-25	29.7	25.0	57.8	48.6
2014-02-25	52.2	58.3	62.7	81.4
2014-03-05	88.3	90.1	93.5	90.6
2014-03-15	100.0	99.3	100.0	98.7
2014-03-25	100.0	100.0	100.0	100.0

营养物质含量都有明显的影响。本研究中3种砧木嫁接均提高了‘黄果柑’叶片Rubisco和RCA浓度,

这可能使叶片 P_n 提高,进而影响果实品质,这与前人在苹果(张建光等2004)和葡萄(李小红等2009)上的研究结果一致。3种砧木中香橙对‘黄果柑’果实的影响最大,表明科学合理的砧穗组合可提高‘黄果柑’果实品质。砧木对‘黄果柑’叶片中Rubisco、RCA浓度及果实品质影响的机理,还有待进一步研究。

参考文献

陈俊伟, 张上隆(2001). 柑橘果实遮光处理对发育中的果实光合产物分配、糖代谢与积累的影响. 植物生理学报, 27 (6): 499-504

淳长品, 彭良志, 雷霆, 唐海涛, 曹立, 江才伦, 凌丽俐(2010). 不同柑橘砧木对锦橙果实品质的影响. 园艺学报, 37 (6): 991-996

戴韩柳, 姜小文, 易干军(2008). 不同砧木品种对龙门年桔生长结果

- 的影响初探. 广东农业科学, (7): 48~49
- 邓伯勋, 章文才(1994). 早熟灵对温州蜜柑提早着色及增进品质的效应. 果树科学, 11 (3): 149~152
- 高新一, 王玉英(2007). 果品优质生产技术. 北京: 金盾出版社, 81~123
- 胡美君, 郭延平, 沈允钢, 张良诚(2006). 柑橘属光合作用的环境调节. 应用生态学报, 17 (3): 535~540
- 胡利明, 夏仁学, 周开兵, 黄仁华, 王明元, 谭美莲(2006). 不同砧木对温州蜜柑光合特性的影响. 园艺学报, 33 (5): 937~941
- 黄寿波(1987). 提高我国柑桔果实品质的探讨. 果树学报, 4: 21~26
- 计长远, 彭长江(2009). 柑橘抗碱砧木——资阳香橙. 中国热带农业, (1): 52~53
- 姜小文, 曾继吾, 姜波, 易干军, 石学晖(2012). 两种砧木对年橘果实品质与产量的影响. 园艺学报, 39 (2): 349~354
- 李六林, 季兰(2006). 杂种榛子不同方位叶片光合作用的日变化. 林业科学, 42 (12): 47~53
- 李小红, 周凯, 谢周, 李辉信, 章镇, 陶建敏(2009). 不同葡萄砧木对矢富罗莎葡萄嫁接树光合作用的影响. 果树学报, 26 (1): 90~93
- 李卫芳, 王秀海, 贺文娟(2006). 小麦Rubisco抗体的制备和旗叶中Rubisco含量的ELISA测定. 农业生物技术学报, 14 (3): 397~400
- 廖明安(2007). 园艺植物研究法实验实习指导. 北京: 中国农业出版社, 38~41
- 林立金, 徐精文, 朱雪梅, 邵继荣, 杨远祥(2005). 嫁接对苦瓜光合生理及代谢产物的影响. 陕西农业科学, (5): 28~31
- 梅杨, 李海蓝, 谢晋, 罗红艺(2007). 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶(Rubisco). 植物生理学通讯, 43 (2): 363~368
- 田秀英(2000). RuBP羧化酶/加氧酶的研究进展. 重庆师专学报, 19 (3): 77~79
- 王晓丽, 苟琳(2005). 生物化学实验教程. 成都: 四川科技出版社, 66~68
- 汪志辉, 刘世福, 严巧巧, 姜凌萍(2011). 石棉黄果柑生物学特性调查与差异株系比较. 北方园艺, (14): 20~24
- 锡香(1994). 新鲜果蔬的品质及其分析法. 北京: 中国农业出版社, 23~24
- 肖慈木, 王丹, 范昭鸣, 李秀(1996). 砧木影响梁平柚树体生长的生理生化特性研究. 中国南方果树, 25 (2): 14~16
- 许大全(1990). 光合作用“午睡”现象的生态、生理与生化. 植物生理学通讯, 26 (6): 5~10
- 张国, 王玮, 邹琦(2004). Rubisco活化酶的分子生物学. 植物生理学通讯, 40 (5): 633~637
- 张建光, 刘玉芳, 施瑞德(2004). 不同砧木上苹果品种光合特性比较研究. 河北农业大学学报, 7 (5): 31~33
- 张泽芬, 王大华(1994). 用同工酶分析黄果柑亲缘关系的研究. 四川农业大学学报, 12 (1): 81~83
- 郑永强, 邓烈, 何绍兰, 周志钦, 易时来, 毛莎莎, 赵旭阳(2010). 几种砧木对哈姆林甜橙植株生长、产量及果实品质的影响. 园艺学报, 37 (4): 532~538
- Ashida H, Danchin A, Yokota A (2005). Was photosynthetic Rubisco recruited by acquisitive evolution from rubisco-like proteins involved in sulfur metabolism? Res Microbiol, 156 (5~6): 611~618
- Ashida H, Saito Y, Kojima C, Kobayashi K, Ogasawara N, Yokota A (2003). A functional link between Rubisco-like protein of *Bacillus* and photosynthetic Rubisco. Science, 302 (5643): 286~290
- Catt JW, Millard P (1988). The measurement of ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase concentration in the leaves of potato plants by enzyme linked immunosorbition assays. J Exp Bot, 39 (2): 157~164
- García-Sánchez F, Perez-Perez JG, Botia P, Martínez V (2006). The response of young mandarin trees grown under saline conditions depends on the rootstock. EUR J Agron, 24 (2): 129~139
- Jensen RG (2000). Activation of Rubisco regulates photosynthesis at high temperature and CO₂. Proc Natl Acad Sci USA, 97 (24): 12937~12938
- Mueller-Cajar O, Stotz M, Bracher A (2014). Maintaining photosynthetic CO₂ fixation via protein remodelling: the Rubisco activates. Photosynth Res, 119 (1~2): 191~201
- Parry MAJ, Madgwick PJ, Carvalho JFC, Andralojc PJ (2007). Prospects for increasing photosynthesis by overcoming the limitations of Rubisco. J Agric Sci, 145: 31~43
- Portis Jr AR (1992). Regulation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase activity. Annu Rev Plant Biol, 43 (1): 415~437
- Spreitzer RJ (2003). Role of the small subunit in ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase. Arch Biochem Biophys, 414 (2): 141~149