

提高苹果品质并抑制苦痘病发生的钙肥最佳施用量和次数

杨兰兰¹, 卢凯政¹, 齐国辉^{1,2,3*}, 张雪梅^{1,2,3}, 李寒^{1,2,3}, 郭素萍^{1,2,3}

[1 河北农业大学林学院, 河北保定 071000; 2 河北省核桃工程技术研究中心, 河北邢台 054000;
3 河北省(邢台)核桃产业技术研究院, 河北临城 054300]

摘要:【目的】探索‘长富2’苹果最佳的补钙措施, 有效降低苦痘病的发生, 为生产施肥提供理论依据。

【方法】以15年生‘长富2’苹果树为试材, 进行了土施硝酸钙的田间试验。设钙肥施用量: Ca 0.48、0.72 和 0.96 kg/株, 分别以 Ca_{0.48}、Ca_{0.72} 和 Ca_{0.96} 表示; 施肥次数设: 花前一次施用(1), 花前和落花后分两次施用(2), 花前、落花后和果实膨大期分3次施用(3), 以不施硝酸钙为对照(Ca₀), 共10个处理。成熟期, 测定果实抗氧化酶活性、MDA含量、矿质元素含量、品质以及苦痘病发病率。【结果】与不施钙相比, 钙肥处理的果实抗氧化酶SOD、POD和CAT活性均显著提高, MDA含量显著降低($P < 0.05$), 其中, Ca_{0.72}-3处理的3种酶活性又均显著高于其他处理, Ca_{0.96}-3、Ca_{0.96}-2、Ca_{0.96}-1、Ca_{0.72}-2、Ca_{0.72}-1、Ca_{0.48}-2和Ca_{0.48}-3之间差异不明显, 但均显著高于Ca_{0.48}-1。钙肥处理果实矿质元素N、P、K、Ca、Mg含量与Ca₀差异显著。其中, Ca_{0.72}-2和Ca_{0.96}-1处理果实含氮量较高, 显著高于除Ca_{0.48}-1之外的所有处理; 磷和钾含量在钙肥施用量和施用次数间没有明显规律; 钙和镁含量均以Ca_{0.72}-3处理最高, 显著高于其他处理; Ca_{0.72}-3处理的果实单果重(256.67 g)、果形指数(0.86)也均大于其他处理; 可溶性固形物含量(13.03%)和总糖含量(11.38%)最高, 可滴定酸含量(0.29%)最低, 糖酸比(38.81)优于其他处理, 苦痘病发病率最低(19%)。【结论】施用硝酸钙肥可显著提高果实中抗氧化酶活性以及钾、钙和镁含量, 进而有效降低苦痘病发病率, 提高了果实品质。在供试土壤和苹果品种条件下, 施用方法以土施硝酸钙0.72 kg/株, 在花前、落花后和果实膨大期均分3次施于果树根下的效果最佳。

关键词: 苹果; 抗氧化酶; 苦痘病; 钙肥; 果实品质

Optimum application amount and times of calcium nitrate for better fruit quality and lower incidence of apple bitter pit

YANG Lan-lan¹, LU Kai-zheng¹, QI Guo-hui^{1,2,3*}, ZHANG Xue-mei^{1,2,3}, LI Han^{1,2,3}, GUO Su-ping^{1,2,3}

[1 College of Forestry, Hebei Agricultural University, Baoding, Hebei 071000, China; 2 Hebei Province Walnut Engineering Technology Research Center, Xingtai, Hebei 054000, China; 3 Institute of Walnut Industry Technology of Hebei Province (Xingtai), Lincheng, Hebei 054300, China]

Abstract: 【Objectives】The suitable application amount and method of calcium fertilizer were studied to find an effective way to reduce the occurrence of bitter pit in apple production. 【Methods】A field experiment was conducted using apple cultivar of 'Nagafu 2' apple trees (15-year-old) as materials and nitrate calcium as Ca fertilizer. We designed three nitrate calcium rates of 0.48, 0.72 and 0.96 kg/plant (Ca_{0.48}, Ca_{0.72}, Ca_{0.96}), and all the three rates were applied in three methods, as: one application before flowering (1), two applications before flowering and after flower falling (2), three applications before flowering, after flower falling and at fruit expanding stage(3), and no calcium application (Ca₀) was used as control. At maturing stage, fruit samples were collected for the measurement of antioxidant enzyme activities, MDA content, nutrient element contents, quality and bitter pit incidence. 【Results】All the Ca application treatments increased the antioxidant enzyme activities significantly compared with Ca₀. The activities of SOD, POD and CAT in Ca_{0.72}-3 were significantly higher than

收稿日期: 2019-07-16 接受日期: 2019-12-03

基金项目: 河北省重点研发计划项目(19226809D)。

联系方式: 杨兰兰 E-mail: 15830917152@163.com; *通信作者 齐国辉 E-mail: bdqgh@sina.com

those in all the others; those in $Ca_{0.96-3}$, $Ca_{0.96-2}$, $Ca_{0.96-1}$, $Ca_{0.72-2}$, $Ca_{0.72-1}$, $Ca_{0.48-2}$ and $Ca_{0.48-3}$ were generally not significantly different with each other, but all significantly higher than those in $Ca_{0.48-1}$. The N, P, K, Ca and Mg contents of fruit in all the Ca treatments were significantly higher than those in the control. The top two N contents were in $Ca_{0.72-2}$ and $Ca_{0.96-1}$, which were significantly higher than those in all the other treatments, except $Ca_{0.48-1}$. No obvious order was found in P and K contents among treatments; both the highest Ca and Mg contents and the lowest P content were in $Ca_{0.72-3}$. In treatment $Ca_{0.72-3}$, the fruit weight, transverse diameter and longitudinal diameter were all significantly higher than those in the others, and the soluble solids and total sugar contents were the highest, the titratable acid content was the lowest (0.29%), with the sugar to acid ratio of 38.81, the incidence of bitter pit was the lowest (19%). **【 Conclusions 】** The application of calcium fertilizer could significantly increase the antioxidant enzyme activities and nutrient contents, especially the K, Ca and Mg contents, which are very important for fruit resistance to bitter pit and quality, and the fruit commercial quality. Under the experimental condition, the most satisfactory effect could be obtained by applying calcium nitrate three times in a total amount of Ca 0.72 kg/plant.

Key words: apple; antioxidant enzyme; bitter pit; calcium fertilizer; fruit quality

苦痘病又称苦陷病、斑点病,是苹果成熟期、贮藏期经常发生的一种缺钙性生理病害^[1]。由于苹果苦痘病发生在果实上,且病果果肉味苦,明显降低了果品质量和食用价值^[2]。

钙是苹果树生长发育所必需的营养元素,它在参与细胞组成、调节树体生长发育及其生理生化过程等方面具有重要的作用^[3-4]。 Ca^{2+} 与细胞壁果胶半乳糖醛酸残基结合为“钙桥”,形成果胶酸钙,该物质对抑制中胶层溶解、限制细胞壁修饰酶的降解作用、增加细胞壁机械强度、维持细胞壁结构的完整及稳定性具有重要作用。钙作为细胞内功能调节的第二信使与钙调蛋白(CaM)结合后,在光合作用、酶的激活、蛋白质磷酸化方面均起着重要的作用,与生长素、细胞分裂素、 α -淀粉酶、ATPase合成以及细胞运动、光敏色素的原初反应等有密切的关系。

国内外研究证明,苹果苦痘病是最先发现并证明和钙有关的一种生理病害^[5-6]。贾晓辉等^[7]研究也证明了苦痘病与缺钙有密切的相关性。此外,还有部分学者认为苹果苦痘病的发生与果实中N、P和K等元素含量存在重要关系^[7-8]。闫发水等^[8]研究证明人工补钙以及控制氮肥的施用量可以有效预防苦痘病的发生,张新生等^[9]也研究证明了后期叶面喷钙可以有效地控制苦痘病的发生,于强等^[10]研究证明土壤施用不同钙肥后显著地降低了苦痘病的发病率。目前,关于苹果苦痘病的研究主要集中在钙及其他矿物质元素的影响方面,对于苦痘病的防治也仅限于施肥方式上,而关于施肥次数和施肥量相结合的具体施肥措施对苦痘病发生的影响研究甚少。本试验通

过不同施肥量、施肥次数对果实生理及苦痘病发生的影响研究来揭示补钙机理,以便为苦痘病的高效防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地位于河北省邢台市内丘县岗地村,该村位于太行山南段东麓的片麻岩山区,海拔高度562~1200 m,年均气温11.6℃,年均降水量684.8 mm,无霜期180天,园区土壤类型是沙壤土,有机质含量18.03 g/kg、有效磷含量46 mg/kg、速效钾含量229 mg/kg、碱解氮含量71.4 mg/kg、交换性Ca含量12.08 cmol/kg、交换性Mg含量4.31 cmol/kg。

1.2 试验材料

试验于2018年4—11月进行。以15年生‘长富2’苹果树为试验材料,砧木为八棱海棠,栽植株行距为3 m×4 m,选择长势基本一致、结果均匀的树体进行不同施肥量、不同施肥次数的土施钙肥处理。试验肥料为农业用硝酸铵钙(N 15%、Ca 18%)。其它管理水平为常规管理。

1.3 试验设计

土施硝酸铵钙设10个处理,单株为一小区,3次重复,随机排列。具体试验设计见表1。

1.4 采样方法

于2018年10月23日苹果果实成熟期,在每棵试验树东、西、南、北4个方向随机采取果实各5个作为试验样品。

表 1 钙肥施肥方案
Table 1 Fertilization scheme of calcium fertilizer

处理 Treatment	施 Ca 量 (kg/plant) Ca rate	施肥次数 Fertilization time	施肥时期及施肥量 Fertilization stage and amount (kg/plant)		
			开花前 Before flowering	落花后 After flower falling	果实膨大期 Fruit expansion
Ca _{0.48} -1	0.48	1	0.48		
Ca _{0.48} -2	0.48	2	0.24	0.24	
Ca _{0.48} -3	0.48	3	0.16	0.16	0.16
Ca _{0.72} -1	0.72	1	0.72		
Ca _{0.72} -2	0.72	2	0.36	0.36	
Ca _{0.72} -3	0.72	3	0.24	0.24	0.24
Ca _{0.96} -1	0.96	1	0.96		
Ca _{0.96} -2	0.96	2	0.48	0.48	
Ca _{0.96} -3	0.96	3	0.32	0.32	0.32
Ca ₀	0				

1.5 调查和测定方法

1.5.1 苦痘病发病率 果实成熟后, 每株果树随机选取 100 个果实, 统计苦痘病的发生情况。根据公式计算苦痘病发病率:

$$\text{发病率} = \frac{\text{发病果实数量}}{100} \times 100\%$$

1.5.2 果实酶活性 用 pH 7.8 磷酸缓冲液 (PBS) 低温研磨苹果果肉外部组织至匀浆状态, 10000 r/min 离心 20 min。取上清液, 于 4℃ 条件下保存备用。过氧化物酶 (POD) 活性采用愈创木酚氧化法测定, 以吸光度值变化 0.1/min 为一个过氧化物酶活性单位; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性采用氮蓝四唑法测定; 过氧化氢酶 (CAT) 活性采用过氧化氢法测定, 以吸光度值变化 0.1/min 为一个过氧化氢酶活性单位^[11]。

1.5.3 果实矿质元素 果实 N、P 元素用 H₂SO₄-HClO₄ 消解; K、Ca、Mg 元素用 HNO₃-HClO₄ 消解, N 含量采用凯氏定氮法测定, P 含量采用钼锑钒比色法测定, K、Ca、Mg 含量采用原子吸收分光光度计法测定。

1.5.4 果实品质 单果重用千分之一电子天平逐个称重。果形指数用游标卡尺, 逐个测量各处理果实横、纵径, 纵径与横径的比值为果形指数。可溶性固形物用手持折光仪 ATAGO 进行测定。果实硬度用 GY-1 型果实硬度计测定。果实糖分用铁氰化钾滴定法^[12]测定。果实有机酸采用标准 NaOH 溶液中和滴定法^[13]测定。

1.6 数据分析

用 Excel 2007、DPS 9.05 等软件进行数据统计分

析, 采用 Duncan 新复极差法对数据进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同施钙处理对苹果果实抗氧化酶活性及 MDA 含量的影响

超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT) 是植物细胞中重要的保护酶, 能有效地清除各种活性氧基团, 从而防止这些基团对细胞膜系统的损坏, 在正常情况下, 能使活性氧的产生和消除处于平衡状态^[6, 14]。而丙二醛 (MDA) 是反映植物细胞膜脂过氧化作用的一个指标, 膜脂过氧化作用是对植物细胞有害的, 会慢慢将细胞膜系统瓦解, 并最终导致机体死亡。

表 2 表明, 各施钙处理果实的 SOD、CAT 活性及 MDA 含量和 Ca₀ 之间均存在显著差异。在各施肥处理中, Ca_{0.72}-3 处理的各相关指标值与其它处理均存在显著差异, 提高果实 SOD、POD、CAT 活性以及降低 MDA 含量的效果最为明显, 抗氧化酶 SOD、POD、CAT 活性较 Ca₀ 分别提高了 157.3%、194.0%、90.3%, MDA 含量较 Ca₀ 降低了 77.3%; Ca_{0.48}-1 处理的效果最不明显, 抗氧化酶 SOD、POD、CAT 活性较 Ca₀ 分别提高了 17.1%、5.3%、12.0%; MDA 含量仅比 Ca₀ 降低了 17.0%。

同一施肥次数不同施肥量处理果实的 SOD、POD、CAT 活性及 MDA 含量和 Ca₀ 之间均存在显著差异。在各施钙肥处理中, Ca_{0.72} 处理的 SOD、POD 活性与其它处理之间存在显著差异, 对提高果

表 2 不同施肥处理苹果果实抗氧化酶活性和 MDA 含量

Table 2 The antioxidant enzyme activities and MDA content in apple fruits under different fertilization treatments

处理 Treatment	SOD [U/(g·min)]	POD [U/(g·min)]	CAT [U/(g·min)]	MDA (μmol/g, FW)
Ca _{0.48} -1	3.29 ± 0.02 e	3.35 ± 0.07 f	8.89 ± 0.05 g	4.36 ± 0.06 b
Ca _{0.48} -2	4.71 ± 0.25 d	6.61 ± 0.05 d	10.97 ± 0.03 f	3.28 ± 0.09 d
Ca _{0.48} -3	5.27 ± 0.14 bc	7.48 ± 0.08 bc	11.35 ± 0.04 c	2.55 ± 0.10 ef
Ca _{0.72} -1	5.27 ± 0.03 bc	6.55 ± 0.23 d	11.29 ± 0.07 de	3.91 ± 0.07 c
Ca _{0.72} -2	5.32 ± 0.01 bc	7.31 ± 0.04 c	11.34 ± 0.02 cd	1.68 ± 0.04 g
Ca _{0.72} -3	7.23 ± 0.02 a	9.35 ± 0.17 a	15.11 ± 0.02 a	1.19 ± 0.03 h
Ca _{0.96} -1	5.23 ± 0.02 c	4.86 ± 0.03 e	10.98 ± 0.01 f	2.63 ± 0.09 e
Ca _{0.96} -2	5.36 ± 0.03 bc	7.44 ± 0.04 bc	11.27 ± 0.01 e	2.55 ± 0.02 ef
Ca _{0.96} -3	5.43 ± 0.08 b	7.61 ± 0.09 b	14.94 ± 0.01 b	2.44 ± 0.02 f
Ca ₀	2.81 ± 0.11 f	3.18 ± 0.01 f	7.94 ± 0.02 h	5.25 ± 0.06 a

注 (Note): 同列数据后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different small letters in the same column indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

实 SOD、POD 活性效果最为明显, 较 Ca₀ 分别提高了 104.8%、143.1%, Ca_{0.96} 的施肥量处理稍次之, 而 Ca_{0.48} 处理对果实抗氧化酶 SOD、POD 活性影响最小, 仅比 Ca₀ 分别提高了 52.4%、82.7%; Ca_{0.72}、Ca_{0.96} 处理的 CAT 活性、MDA 含量与其它两个处理存在显著差异, 其中效果最好的处理为 Ca_{0.72}, CAT 活性较 Ca₀ 提高了 58.4%, MDA 含量较 Ca₀ 降低了 57%。

同一施肥量不同施肥次数处理果实的 SOD、POD、CAT 活性及 MDA 含量和 Ca₀ 之间均存在显著差异。在各施钙肥处理中, 3 次分施处理的抗氧化酶活性与其它处理存在显著差异, 对提高果实 SOD、POD、CAT 活性的效果最为明显, 抗氧化酶活性较 Ca₀ 分别提高了 105.9%、156.3%、73.8%; 2 次分施、3 次分施处理的 MDA 含量和其它两个处理存在显著差异, 且 3 次分施的 MDA 含量最低, 较 Ca₀ 降低了 60.8%; 而以 1 次全施的处理对果实各抗氧化酶活性以及 MDA 含量影响最小, 3 种抗氧化酶活性比 Ca₀ 分别提高了 58.3%、54.7%、30.7%, MDA 含量比 Ca₀ 降低了 30.9%。

2.2 不同施钙处理对苹果果实矿质元素含量的影响

表 3 表明, Ca_{0.72}-2 和 Ca_{0.96}-1 处理的氮含量最高, 均为 7.56 g/kg, 与 Ca_{0.48}-1 处理无显著差异, 与其它处理存在显著差异, Ca_{0.72}-3 处理的氮含量稍低于 Ca₀, 为 6.67 g/kg; Ca_{0.48}-3 处理的氮含量最低, 为 6.51 g/kg。Ca_{0.48}-1 处理的磷含量最高, 为 1.03 g/kg,

与其它处理 (Ca_{0.96}-2 除外) 存在显著差异; Ca_{0.72}-3 处理的磷含量最低, 为 0.68 g/kg。Ca_{0.72}-3 处理的 Mg 含量最高, 为 0.39 g/kg, 与 Ca_{0.96}-3 处理无显著差异, 与其它处理存在显著差异; Ca₀ 处理的 Mg 含量最低, 为 0.22 g/kg。Ca_{0.72}-3 处理的钾含量最高, 为 16.00 g/kg, 与 Ca_{0.72}-2 处理无显著差异, 与其它处理存在显著差异, 较 Ca₀ 处理提高了 37.3%。Ca_{0.72}-3 的 Ca 含量最高, 为 1.24 g/kg, 与其它处理均存在显著差异, 较 Ca₀ 处理提高了 275.8%。

同一施肥次数不同施肥量处理果实氮含量和 Ca₀ 之间存在显著差异, 其中 Ca_{0.96} 处理的氮含量最高。Ca_{0.72}、Ca_{0.96} 处理的磷含量和其它两个处理存在显著差异, 且 Ca_{0.72} 处理的磷含量最低, 为 0.82 g/kg, 较 Ca₀ 处理降低了 14.6%。各个施肥处理的钾含量与 Ca₀ 处理之间存在显著差异, 且 Ca_{0.72} 处理的钾含量最高, 为 15.32 g/kg。Ca_{0.72}、Ca_{0.96} 处理的 Ca 含量和其它处理存在显著差异, 且 Ca_{0.72} 处理的 Ca 含量最高, 为 0.77 g/kg, 较 Ca₀ 增加了 140.6%; Ca_{0.48} 处理的 Ca 含量稍高于 Ca₀, 为 0.49 g/kg, 较 Ca₀ 处理增加了 53.1%。各个施钙肥处理的 Mg 含量和 Ca₀ 处理之间存在显著差异, 且 Ca_{0.72} 处理的 Mg 含量最高, 为 0.37 g/kg, 较 Ca₀ 处理增加了 68.2%。

1 次全施和 2 次分施的氮含量和其它两个处理存在显著差异, 1 次全施的果实氮含量最高, 为 7.31 g/kg; 2 次分施的果实磷含量最高, 为 0.98 g/kg, 与 Ca₀ 处理之间无显著差异, 与其它两个处理存在显著

表 3 不同施肥处理苹果矿质元素含量 (g/kg)

Table 3 The contents of mineral elements in apple fruits under different fertilization treatments

处理 Treatment	N	P	K	Ca	Mg
Ca _{0.48} -1	7.38 ± 0.02 ab	1.03 ± 0.05 a	13.77 ± 0.21 c	0.38 ± 0.02 g	0.26 ± 0.01 e
Ca _{0.48} -2	6.84 ± 0.05 cd	0.97 ± 0.01 bc	14.65 ± 0.30 b	0.48 ± 0.03 e	0.27 ± 0.01 de
Ca _{0.48} -3	6.51 ± 0.11 d	0.87 ± 0.01 d	14.91 ± 0.83 b	0.62 ± 0.01 d	0.36 ± 0.01 c
Ca _{0.72} -1	7.01 ± 0.02 bc	0.82 ± 0.01 e	14.63 ± 0.16 b	0.43 ± 0.01 f	0.37 ± 0.04 bc
Ca _{0.72} -2	7.56 ± 0.03 a	0.95 ± 0.01 c	15.35 ± 0.14 ab	0.63 ± 0.01 d	0.36 ± 0.00 c
Ca _{0.72} -3	6.67 ± 0.11 cd	0.68 ± 0.01 g	16.00 ± 0.59 a	1.24 ± 0.03 a	0.39 ± 0.01 a
Ca _{0.96} -1	7.56 ± 0.03 a	0.87 ± 0.01 d	14.60 ± 0.11 b	0.40 ± 0.01 fg	0.29 ± 0.01 d
Ca _{0.96} -2	7.01 ± 0.02 bc	1.01 ± 0.05 ab	13.28 ± 0.24 c	0.76 ± 0.01 c	0.34 ± 0.02 c
Ca _{0.96} -3	6.91 ± 0.59 c	0.77 ± 0.01 f	13.06 ± 0.11 c	1.15 ± 0.02 b	0.39 ± 0.01 ab
Ca ₀	6.72 ± 0.19 cd	0.97 ± 0.01 c	11.65 ± 0.57 d	0.33 ± 0.01 h	0.22 ± 0.01 f

注 (Note): 同列数据后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different small letters in the same column indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

差异; 不同施肥次数处理的果实钾含量和 Ca₀ 处理之间存在显著差异, 且 3 次分施处理的果实钾含量最高, 为 14.66 g/kg; 3 次分施处理的果实 Ca 含量最高, 为 1.00 g/kg, 2 次分施和 3 次分施处理的果实 Ca 含量和其它两个处理存在显著差异; 3 次分施处理的果实 Mg 含量最高, 为 0.38 g/kg, 3 次分施处理果实 Mg 含量和其它处理存在显著差异, 较 Ca₀ 增加了 72.7%。

2.3 不同施钙处理对苹果果实品质的影响

苹果的外观品质主要通过单果重、果形指数和

果色等指标来评价, 内在品质的形成主要是由糖、酸和一些香味物质决定。表 4 表明, 各施钙处理的果实品质均优于 Ca₀, 其中 Ca_{0.72}-3 处理的各相关指标值最佳, 与其它处理存在显著差异。其单果重为 256.67 g, 较 Ca₀ 处理增加了 45%; 可溶性固形物含量为 13.03%, 较 Ca₀ 处理增加了 28.1%; 总糖含量为 11.38%, 较 Ca₀ 处理增加了 10.2%; 可滴定酸含量 0.29%, 较 Ca₀ 处理减少了 37%; 且果实硬度最大, 为 8.77 kg/cm²; 果形指数最高, 为 0.86。

同一施肥次数下不同施肥量处理间的果实品质

表 4 不同施肥处理苹果果实品质

Table 4 Quality of apple fruits under different fertilization treatments

处理 Treatment	单果重 (g) Fruit weight	果形指数 Fruit shape index	硬度 (kg/cm ²) Firmness	可溶性固形物 (%) Soluble solids	总糖 (%) Total sugar	可滴定酸 (%) Titratable acid	糖酸比 Sugar to acid ratio
Ca _{0.48} -1	186.98 ± 0.58 h	0.83 ± 0.01 cd	7.77 ± 0.06 g	10.47 ± 0.06 g	10.43 ± 0.03 f	0.45 ± 0.01 b	23.34 ± 0.32 g
Ca _{0.48} -2	189.38 ± 0.45 g	0.83 ± 0.01 cd	8.03 ± 0.06 f	11.50 ± 0.10 ef	10.78 ± 0.11 e	0.43 ± 0.02 c	25.28 ± 1.01 ef
Ca _{0.48} -3	199.00 ± 1.18 e	0.85 ± 0.01 ab	8.33 ± 0.06 cd	11.77 ± 0.12 d	11.11 ± 0.01 bc	0.41 ± 0.01 d	27.11 ± 0.65 d
Ca _{0.72} -1	199.00 ± 0.98 e	0.84 ± 0.00 bc	8.17 ± 0.06 e	11.65 ± 0.15 de	10.72 ± 0.12 e	0.41 ± 0.00 d	26.14 ± 0.30 de
Ca _{0.72} -2	206.00 ± 0.78 c	0.83 ± 0.00 cd	8.37 ± 0.06 bc	12.17 ± 0.15 c	11.01 ± 0.01 cd	0.33 ± 0.00 f	33.36 ± 0.03 b
Ca _{0.72} -3	256.67 ± 1.15 a	0.86 ± 0.01 a	8.77 ± 0.06 a	13.03 ± 0.06 a	11.38 ± 0.01 a	0.29 ± 0.01 g	38.81 ± 0.76 a
Ca _{0.96} -1	197.33 ± 0.87 f	0.82 ± 0.01 cd	7.93 ± 0.06 f	11.40 ± 0.17 f	10.74 ± 0.03 e	0.43 ± 0.01 c	24.79 ± 0.39 f
Ca _{0.96} -2	200.67 ± 1.07 d	0.82 ± 0.01 d	8.23 ± 0.06 de	12.03 ± 0.06 c	10.94 ± 0.06 d	0.41 ± 0.01 d	26.90 ± 0.52 d
Ca _{0.96} -3	209.73 ± 0.31 b	0.83 ± 0.01 cd	8.47 ± 0.06 b	12.57 ± 0.12 b	11.16 ± 0.01 b	0.37 ± 0.01 e	30.17 ± 0.83 c
Ca ₀	177.03 ± 0.99 i	0.82 ± 0.02 cd	7.70 ± 0.10 g	10.17 ± 0.06 h	10.33 ± 0.06 f	0.46 ± 0.01 a	22.30 ± 0.15 h

注 (Note): 同列数据后不同小写字母表示不同处理间在 0.05 水平差异显著 Values followed by different small letters in the same column indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$).

相关指标值存在显著差异, 其中 $Ca_{0.72}$ 处理的单果重、硬度、可滴定酸、糖酸比与其它处理存在显著差异, 可溶性固形物和总糖含量与 $Ca_{0.96}$ 处理无显著差异, 与其它处理存在显著差异。其影响效果最佳, 单果重、硬度、可溶性固形物、总糖、糖酸比值均达到最大, 其值分别为 220.56 g、8.43 kg/cm²、12.28%、11.03%、32.77。可滴定酸含量达到最小, 其值为 0.34%。各个处理的果形指数均在 0.8 以上。

同一施肥量下不同施肥次数处理的果实品质均优于 Ca_0 , 且以 3 次分施处理效果最佳, 单果重、硬

度、可溶性固形物、总糖、糖酸比值均达到最高, 分别为 221.8 g、8.52 kg/cm²、12.46%、11.22%、32.03, 且与其它处理均存在显著差异, 3 次分施处理的可滴定酸含量均为最低。

2.4 不同施钙处理对苹果苦痘病发病率的影响

图 1 显示, 各施钙肥处理的苦痘病发病率与 Ca_0 处理存在显著差异, 且不同施钙处理间也存在显著差异, 施钙肥有效降低了苦痘病的发病率。从不同施肥量与施肥次数组合处理效果可知, $Ca_{0.72}$ -3 处理效果最好, 其苦痘病发病率显著低于其它处理, 为 19%, 较 Ca_0 降低了 54.3%。

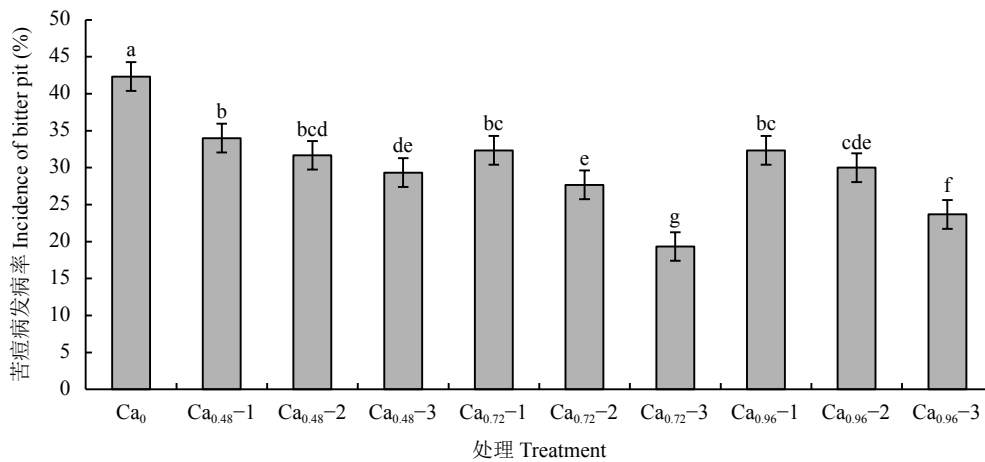


图 1 不同施肥处理苹果苦痘病发病率

Fig. 1 The incidence of apple bitter pit under different fertilization treatments

[注 (Note): 柱上不同小写字母表示处理间差异显著

Different lowercase letters above the bars indicate significant difference among treatment ($P < 0.05$).]

从同一施肥次数不同施肥量处理效果可知, $Ca_{0.72}$ 与 $Ca_{0.96}$ 处理的发病率无显著差异, 但显著低于其它处理, $Ca_{0.72}$ 处理效果最佳, 平均发病率为 26.4%, 较 Ca_0 降低了 37.5%, $Ca_{0.96}$ 处理次之, $Ca_{0.48}$ 处理的效果最差, 苦痘病发病率显著高于其它处理 (Ca_0 除外), 平均发病率为 31.7%, 较 Ca_0 降低了 25.1%。从同一施肥量不同施肥次数处理效果可知, 3 次分施的效果最好, 其苦痘病发病率显著低于其它处理, 平均发病率为 24.1%, 较 Ca_0 降低了 43%, 2 次分施效果稍次, 1 次全施的效果最差, 苦痘病发病率显著高于其它处理 (Ca_0 除外), 平均发病率为 32%, 较 Ca_0 降低了 24.3%。

3 讨论

钙作为植物的必需营养元素被人们认识已有 160 多年的历史, 但由于其在土壤中含量丰富, 故不

为充分重视。但近 20 多年来, Ca 逐渐成为植物营养生理研究中最受重视的元素之一, 钙对果实品质的影响远比氮、磷、钾、镁重要, 许多果实的生理失调症状如苹果苦痘病、樱桃裂果、桃的软化、鸭梨黑心病等都与缺钙有密切关系^[3]。它不仅是果树生长发育所必需的一种大量元素, 更重要的是作为胞外信号和胞内生理生化反应的第二信使参与果树生长和发育的调控^[15-17]。而苹果苦痘病被发现并证明是和钙有关的一种生理病害, 贾晓辉等^[7]研究也证明了苦痘病和钙素有密切的相关性。可能因为钙对生物膜结构具有稳定作用, 能够增强膜选择吸收养分的能力^[18-19]。由于细胞膜和液胞膜主要由脂肪和蛋白质组成, 钙可起到使脂肪和蛋白质结合的作用, 维持膜结构的稳定。

贾晓辉等^[7]研究表明, 与对照相比, 施用钙肥可以提高果实中 K、Ca、Mg 含量, 降低果实中的 N、

P 含量; 有部分学者认为苹果苦痘病发生跟果实中 N、P 和 K 等元素含量存在重要关系^[10, 20]。研究发现, 果实中 N、K 含量多时会对 Ca 产生拮抗作用, 不利于 Ca 的吸收, 加剧 Ca 缺乏症发生^[20]。在本试验中, 当钙肥以 0.72 kg/株 3 次分施时, 果实 Ca、K 含量均最高, 分别为 1.24、16.00 g/kg, 较 Ca₀ 分别提高了 275.8%、37.3%; 果实 P 含量最低, 为 0.68 g/kg; N、Mg 含量稍低于 Ca₀, 分别为 6.67、0.39 g/kg。苦痘病发病率也最小, 显著降低了苦痘病发病率。

根据曹锡清^[21]研究, Ca²⁺可提高 SOD、CAT、POD 的活性; 汪良驹等^[22]研究表明, 苦痘病果实缺钙富镁导致酶活性下降, 病果 MDA 含量和细胞膜透性明显高于正常果实, 表明钙离子调节抗氧化酶活性, 而细胞膜系统的过氧化作用是病害发生的重要原因。本试验证明钙肥的施用有效提高了果实中 Ca 含量, 并随着 Ca 含量的增大, 果实中的酶 (SOD、POD、CAT) 活性也在增大, 随着细胞抗氧化能力的增强, 膜脂质过氧化物 MDA 含量降低, 其中以 0.72 kg/株 3 次分施时, SOD、POD、CAT 活性均最大, 分别为 7.23、9.35、15.11 U/(g·min), 较 Ca₀ 分别提高了 157.3%、194.0%、90.3%, MDA 含量较 Ca₀ 降低了 77.3%。因此, 苹果果实中钙可以调节细胞抗氧化酶活性, 防止膜脂质过氧化, 维护细胞膜正常功能, 防止胞间层的解体^[22]。

果实中可滴定酸、可溶性固形物、可溶性糖含量都是评价果实品质的重要指标。前人^[19, 23-25]研究证明了钙肥的施用可以有效改善果实品质, 钙在果实品质的形成和保持中具有重要作用, 特别是在果实发育后期, 果实钙含量对果实品质的形成及采后的储藏和运输具有重要影响^[26]。本研究结果表明, 当钙肥以 0.72 kg/株 3 次分施时, 单果重最大, 为 256.67 g; 总糖含量最大, 其值为 11.38%; 可溶性固形物含量也最大, 为 13.03%; 可滴定酸含量最小, 为 0.29%。

4 结论

综合考虑各处理对苹果抗氧化酶活性、矿质元素含量、果实品质以及苦痘病发病率的影响, 钙肥以 0.72 kg/株, 在花前、落花后和果实膨大期分 3 次施用的效果最好。另外, 本研究仅仅对 ‘长富 2’ 苹果进行了施肥研究, 考虑到品种、土壤等因素, 研究结果存在一定的局限性, 对其他地区是否适用还

需开展更广泛的试验。

参 考 文 献:

- [1] 周绚. 苹果 Ca²⁺/H⁺反向转运体活性及其基因表达特性研究[D]. 江苏: 南京农业大学硕士学位论文, 2009.
Zhou X. Study on the activity of apple Ca²⁺/H⁺ reverse transporter and its gene expression characteristics[D]. Nanjing, Jiangsu: MS Thesis of Nanjing Agricultural University, 2009.
- [2] 邢文曦. 苹果苦痘病相关机理及相关基因表达分析[D]. 山东: 青岛农业大学硕士学位论文, 2016.
Xing W X. Analysis of related mechanism and gene expression of apple bitter pit[D]. Qingdao, Shandong: MS Thesis of Qingdao Agricultural University, 2016.
- [3] 樊红柱, 同延安, 吕世华. 苹果树体不同器官钙含量季节性变化研究[J]. 中国土壤与肥料, 2009, (3): 51-54.
Fan H Z, Tong Y A, Lü S H. Study on seasonal change of calcium concentration and accumulation in different organs of apple tree[J]. *Soil and Fertilizer Sciences in China*, 2009, (3): 51-54.
- [4] 靳会琴, 张录良. 苹果补钙技术要点[J]. 西北园艺 (果树), 2011, (2): 48-49.
Jin H Q, Zhang L L. Apple calcium technical points[J]. *Northwest Horticulture (Fruit Tree)*, 2011, (2): 48-49.
- [5] 周洲. 施钙减少金冠苹果苦痘病的综合措施[J]. 中国果业信息, 2017, (4): 63.
Zhou Z. Comprehensive measures of applying calcium to reduce the bitter pit of golden apple[J]. *China Fruit News*, 2017, (4): 63.
- [6] Wang X Y, Hang B, Liu C L, *et al.* Distribution of calcium in bagged apple fruit and relationship between antioxidant enzyme activity and bitter pit[J]. *Agricultural Science & Technology*, 2010, 11(1): 82-85.
- [7] 贾晓辉, 王文辉, 王荣华, 等. 秋锦苹果苦痘病与果实矿质元素含量和品质相关性的研究[J]. 北方园艺, 2010, (20): 39-41.
Jia X H, Wang W H, Wang R H, *et al.* Preliminary study on correlation between mineral element content and quality in bitter pit apple[J]. *Northern Horticulture*, 2010, (20): 39-41.
- [8] 闫发水, 曹桂芳, 张玉梅, 等. 燕山红苹果苦痘病防治的研究[J]. 河北林业科技, 1998, (4): 19, 33.
Yan F S, Cao G F, Zhang Y M, *et al.* Study on prevention and treatment of bitter pit of Yanshan red apple[J]. *Journal of Hebei Forestry Science and Technology*, 1998, (4): 19, 33.
- [9] 张新生, 赵玉华, 王召元, 等. 苹果苦痘病研究进展[J]. 河北农业科学, 2009, 13(3): 30-32.
Zhang X S, Zhao Y H, Wang Z Y, *et al.* Research progress on apple bitter pit[J]. *Journal of Hebei Agricultural Sciences*, 2009, 13(3): 30-32.
- [10] 于强, 李庆余, 于青, 等. 钙肥对甘红苹果苦痘病影响的研究[J]. 烟台果树, 2016, (3): 16-17.
Yu Q, Li Q Y, Yu Q, *et al.* Research progress on apple bitter pit[J]. *Yantai Fruits*, 2016, (3): 16-17.
- [11] 高俊凤. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006.
Gao J F. *Experimental guide for plant physiology*[M]. Beijing: Higher Education Press, 2006.
- [12] 波钦诺克. 植物生物化学分析方法[M]. 北京: 科学出版社, 1981.
Bo Chinnock. *Plant biochemistry analysis method*[M]. Beijing:

- Science Press, 1981.
- [13] 仝月澳,周厚基. 果树营养诊断法[M]. 北京: 农业出版社, 1982.
Tong Y A, Zhou H J. Nutritional diagnosis of fruit trees[M]. Beijing: Agricultural Press, 1982.
- [14] Fridovich L. The biology of oxygen radical: the radical is an agent of oxygen toxicity; superoxide dismutase provides an important defense[J]. *Science*, 1978, 201: 875–880.
- [15] 宗会, 胡文玉. 涂膜苹果在贮藏期间钙信使组分的变化[J]. *园艺学报*, 1998, 25(2): 187–188.
Zong H, Hu W Y. Changes of calcium messenger component during storage of apple with sodium alginate coating[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 1998, 25(2): 187–188.
- [16] Kim M C, Chung W S, Yun D J, *et al.* Calcium and calmodulin-mediated regulation of gene expression in plants[J]. *Molecular Plant*, 2009, 2(1): 13–21.
- [17] 孙静文, 周卫, 梁国庆, 等. 钙对苹果果实钙调蛋白含量和 Ca^{2+} -ATPase 活性及其基因表达的影响[J]. *植物营养与肥料学报*, 2011, 17(2): 425–432.
Sun J W, Zhou W, Liang G Q, *et al.* Effects of calcium on content of calmodulin, activity of Ca^{2+} -ATPase and their gene expressions in apple (*Malus pumila* Mill.) fruits[J]. *Journal of Plant Nutrition and Fertilizers*, 2011, 17(2): 425–432.
- [18] 王玲利, 曾明, 刘超. 钙素营养对果实衰老调控的研究进展[J]. *中国南方果树*, 2014, 43(3): 47–53.
Wang L L, Zeng M, Liu C. Research progress in regulation of calcium on fruit senescence[J]. *South China Fruits*, 2014, 43(3): 47–53.
- [19] 欧志锋, 刘利, 姜远茂, 等. 采前喷钙对红富士苹果果实品质及贮藏性能的影响[J]. *食品与发酵工业*, 2013, 39(12): 192–196.
Ou Z F, Liu L, Jiang Y M, *et al.* Effects of preharvest calcium sprays on quality and storage properties of Red Fuji apple (*Malus pumila* Mill)[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2013, 39(12): 192–196.
- [20] Casero T, Benavides A L, Recasens I. Interrelation between fruit mineral content and pre-harvest calcium treatment on ‘Golden Smoothee’ apple quality[J]. *Journal of Plant Nutrition*, 2010, 33(1): 27–37.
- [21] 曹锡清. 脂质过氧化对细胞和机体的作用[J]. *生物化学与生物物理学进展*, 1986, (2): 17–23.
Cao X Q. Effects of lipid peroxidation on cells and the body[J]. *Advances in Biochemistry and Biophysics*, 1986, (2): 17–23.
- [22] 汪良驹, 姜卫兵, 何岐峰, 等. 苹果苦痘病的发生与钙、镁离子及抗氧化酶活性的关系[J]. *园艺学报*, 2001, 28(3): 200–205.
Wang L J, Jiang W B, He Q F, *et al.* Studies on the relationship of the development of bitter pit in apple fruits with the contents of calcium and magnesium and the activities of antioxidant enzymes[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2001, 28(3): 200–205.
- [23] 刘成连, 王永章, 原永兵. 套袋时间对红富士苹果着色及其它品质性状的影响[A]. 中国农学会. 中国青年农业科学学术年报[C]. 北京: 中国农学会, 1997, (B 卷): 751–755.
Liu C L, Wang Y Z, Yuan Y B. Effect of bagging time on color and other quality traits of Fuji apple[A]. Chinese Society of Agriculture. Annual Report of Chinese Youth Agricultural Science[C]. Beijing: Chinese Society of Agriculture, 1997, (B). 751–755.
- [24] 束怀瑞. 苹果学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
Shu H R. Apple science[M]. Beijing: China Agricultural Press, 1999.
- [25] 李敏, 厉恩茂, 李壮, 等. 氨基酸钙叶面微肥对苹果缺素症的矫正及果实品质的影响[J]. *江苏农业科学*, 2013, 41(11): 180–182.
Li M, Li E M, Li Z, *et al.* Amino acid calcium foliar micronutrient fertilizer to rectify the deficiency disease for apple and fruit quality[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2013, 41(11): 180–182.
- [26] 陈锋. 苹果钙素营养吸收分配及其影响因素研究[D]. 山东泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2008.
Chen F. Studies on calcium uptaking and distribution in apple tree and related effective factors[D]. Tai’an, Shandong: MS Thesis of Shandong Agricultural University, 2008.