

# 广西宽皮柑橘“蓝皮”果产生的生理原因初探

余乔明<sup>1</sup>, 李果果<sup>2</sup>, 许让伟<sup>1</sup>, 彭昭欣<sup>1</sup>, 袁子戔<sup>1</sup>, 李文云<sup>1,3</sup>, 田 静<sup>1</sup>,  
曾继吾<sup>4</sup>, 彭抒昂<sup>1</sup>, 徐 娟<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>华中农业大学园艺林学学院, 园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070; <sup>2</sup>广西农业科学院园艺研究所, 南宁 530007; <sup>3</sup>贵州省果树科学研究所, 贵阳 550006; <sup>4</sup>广东省农业科学院果树研究所, 广州 510640)

**摘 要:** 近些年, 部分柑橘产区相继报道宽皮柑橘 (*Citrus reticulata* Blanco) 果实出现白皮层呈蓝色的“蓝皮”果现象, 表现为在白皮层近囊衣侧出现蓝色斑块或蓝色区域。为探明其原因, 以广西 3 个产区采集的‘沃柑’、‘贡柑’和‘马水橘’的正常果及其各自的“蓝皮”果为材料, 分别对白皮层中花青苷等类黄酮物质、矿质元素进行了检测和分析; 同时, 利用 GC-MS 分析成熟期白皮层和汁胞中可溶性糖和有机酸, 以明确风味品质的变化情况。结果表明: 该蓝色并非花青苷类和黄酮类物质积累所致; 成熟期“蓝皮”果白皮层中 5 种聚甲氧基黄酮的含量显著上升; 蓝色白皮层中 Ca、Mg、S、Zn、B 和 Ba 含量均与对照有显著差异, 但变化趋势没有一致性, 基于 21 种矿质元素含量的 OPLS-DA 分析可以将“蓝皮”果和正常果区分开, 其标志性元素为 K, 其次是 S; 蓝色白皮层及其汁胞中的苹果酸和蔗糖含量较正常果均有显著提升。因此, 蓝色白皮层的形成可能与逆境胁迫下多种矿质元素络合物或螯合物的积累有关。

**关键词:** 宽皮柑橘; “蓝皮”果; 矿质元素; 果实品质

**中图分类号:** S 666

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2020) 06-1172-11

## Physiological Mechanisms for the Phenomenon of “Blue albedo” Fruits of *Citrus reticulata* in Guangxi

YU Qiaoming<sup>1</sup>, LI Guoguo<sup>2</sup>, XU Rangwei<sup>1</sup>, PENG Zhaoxin<sup>1</sup>, YUAN Ziyu<sup>1</sup>, LI Wenyun<sup>1,3</sup>, TIAN Jing<sup>1</sup>,  
ZENG Jiwu<sup>4</sup>, PENG Shu'ang<sup>1</sup>, and XU Juan<sup>1,\*</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory of Horticultural Plant Biology (Ministry of Education), College of Horticulture & Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; <sup>2</sup>Horticulture Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; <sup>3</sup>Guizhou Institute of Fruit Tree Science of Agricultural Sciences, Guiyang 550006, China; <sup>4</sup>Institute of Fruit Tree Research, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China)

**Abstract:** In recent years, abnormal fruits of *Citrus reticulata* Blanco with commonly known as “Blue albedo” were reported to appear in some citrus producing areas. The phenomenon of blue patches or blue areas near the segment membrane side of the albedo arouses the common concern of consumers and growers. In an attempt to clarify the reason behind, the normal fruits of three loose-skinned mandarins, including Orah mandarin, Gonggan mandarin and Mashuiju tangerine, and their respective “Blue albedo” fruits were collected from three production areas in Guangxi. Anthocyanins and other flavonoids, mineral elements in the albedo were detected and analyzed. Simultaneously, soluble sugar and organic acids in the

**收稿日期:** 2020-02-20; **修回日期:** 2020-06-01

**基金项目:** 国家重点研发计划项目 (2018D0201506)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: xujuan@mail.hzau.edu.cn)

albedo and juice sacs were analyzed by using GC - MS, so as to illustrate the changes of flavor quality. The results showed that the blue color was not caused by the accumulation of anthocyanins and flavanones; the contents of 5 polymethoxyflavones in the albedo of “Blue albedo” fruit increased significantly at ripening; compared with the control, the contents of Ca, Mg, S, Zn, B and Ba in the blue albedo had significant differences, but without consistent trend. OPLS-DA analysis based on 21 mineral elements could distinguish the “Blue albedo” from the normal albedo, with K as the first marker element and S as the second. Compared with normal fruits, the content of malic acid and sucrose in blue albedo and its juice sacs increased significantly. Therefore, the formation of “Blue albedo” fruit may be related to the accumulation of various mineral element complexes or chelates under stress.

**Keywords:** loose-skin mandarin; *Citrus reticulata*; “Blue albedo” fruit; mineral element; fruit quality

中国宽皮柑橘 (*Citrus reticulata* Blanco) 产量占世界总产量的 71%。其中沃柑因外观艳丽、易剥皮、高糖等优点 (江东和曹立, 2011), 近年来在重庆、广东、广西和云南等地发展迅速。贡柑、马水橘 (也叫春甜橘) 等则一直是南方地方优势宽皮柑橘品种 (赵洪涛 等, 2006; 邓秀新, 2008; 邓秀新和彭抒昂, 2013)。但是, 沃柑、贡柑及马水橘果实基本成熟或完全成熟后, 果实白皮层维管束及周边区域常常出现蓝色斑点或斑块, 俗称“蓝皮”果或“霉变”果 (图 1)。该现象对其市场销售带来显著的负面影响, 引发消费者对沃柑等宽皮柑橘果实品质及食用安全性的担忧。20 世纪在美国有过白皮层变蓝现象的报道, 猜测为水溶性花青苷的积累所致, 并认为与高盐或水涝逆境有关 (Browning et al., 1995), 但后续未对蓝色物质定性, 也未关注其对果实品质的影响。

本研究中分别在广西 3 个产区收集了 5 对正常果与“蓝皮”果材料, 分析花青苷等类黄酮物质及矿质元素含量, 同时分析其白皮层和对应汁胞中可溶性糖、有机酸的含量差异, 以期初步揭示“蓝皮”果产生的相关生理原因, 评估“蓝皮”果中相关品质的变化。

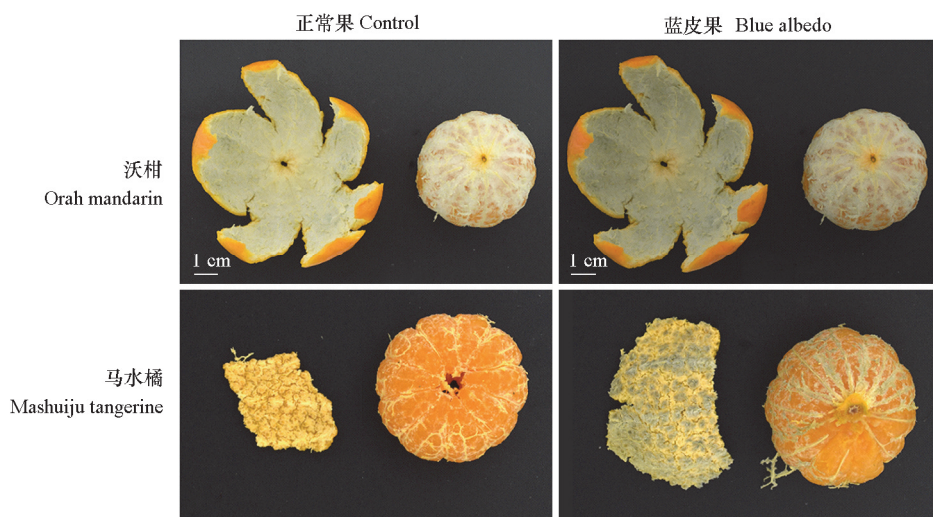


图 1 沃柑和马水橘典型的“蓝皮”果现象

Fig. 1 Typical “Blue albedo” fruits of Orah mandarin and Mashuiju tangerine

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 试验材料

供试材料沃柑、贡柑和amp;马水橘的果实分别采集自广西桂林、南宁和梧州 3 个产区。其中，于南宁地区采集了花后 240 d 和 330 d（成熟期）的沃柑果实。为排除土壤、果园小气候等环境条件差异对检测结果的影响，病果仅与同一地块上采集的正常果为对照进行比较分析。

样品均采集自树体中部外围，选取大小、成熟度一致、外观正常、健康、无病虫害的果实，剥开果皮后区分“蓝皮”果和正常果，各取 15 个，每 5 个果实为 1 个生物学重复，共 3 个生物学重复。

样品采后立即用解剖刀将白皮层中呈蓝色部分分离取样，迅速投入液氮中冻藏，正常果白皮层以及各自对应的汁胞部分也进行相同处理。- 50 °C 冻干（LyoLab 3000 冷冻干燥仪，Heto，丹麦），再用研钵充分研磨成粉末状，贮藏在 - 80 °C 以备分析。试验在华中农业大学园艺植物生物学教育部重点实验室进行。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 柑橘白皮层中类黄酮检测

花青苷检测采用紫外可见分光光度计方法（Rapisarda et al., 2000）和 LC - MS（Durand-Hulak et al. 2015; 吴海静, 2015）。

类黄酮提取和检测参考陈嘉景（2013）的方法。称取样品各 0.1 g，置于 10 mL 离心管中。加 5 mL 80% 甲醇（色谱纯），涡旋 1 min。置于超声萃取仪中，40 °C 超声萃取 1 h。用 1 mL 无菌注射器吸取提取液，经 0.22 μm 滤膜过滤至 2 mL 进样瓶，进行 HPLC 检测。

HPLC 分析采用 1525 型二元泵、2996 型光二极管阵列检测器（PDA）和 717 plus 型自动进样机（Waters Corp, Milford, MA, 美国）及 C18 Hypersil GOLD 柱（4.6 mm × 250 mm × 5 μm; Thermo Scientific, Waltham, MA, 美国）。流动相：A 相为 0.15% 甲酸水溶液，B 相为 0.15% 甲酸乙腈溶液。柱温 35 °C，检测波长为 280 ~ 340 nm。

#### 1.2.2 柑橘白皮层矿质元素的电感耦合等离子体发射光谱（ICP-OES）分析

样品参考周高峰（2013）的方法进行灰化。称取 0.3 g 于瓷坩埚中，将坩埚置于马弗炉内，先加热至 200 °C 保持 30 min，随后升温至 300 °C 保持 30 min 充分炭化，最后 550 °C 灰化 9 h。向已经灰化的样品中加入 1 mL 浓盐酸溶解 1 h，充分溶解后加入 4 mL ddH<sub>2</sub>O 并转移至 50 mL 离心管，再用 5 mL ddH<sub>2</sub>O 润洗瓷坩埚，转移至同一离心管，润洗 3 次。在 4 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 10 min，用 10 mL 注射器吸取 7 ~ 9 mL 上清液经 0.22 μm 滤膜过滤至新的 10 mL 离心管中。将样品液送至湖北省科艾乐检测公司采用安捷伦 ICP-OES（Agilent, 美国）进行矿质元素检测。检测参数为：读取时间 5 s，稳定时间 15 s，雾化器气流速 0.7 L · min<sup>-1</sup>，辅助气流速 1 L · min<sup>-1</sup>，载气为氩气。

#### 1.2.3 白皮层和汁胞中可溶性糖和有机酸检测

成熟果实白皮层和汁胞中可溶性糖和有机酸的提取与测定参考 Sheng 等（2017）的方法。采用 ISQ II 型气相色谱质谱联仪（GC - MS, Thermofisher, 美国）检测。

#### 1.2.4 数据分析

采用 Excel（MS office 2016, Microsoft, CA, USA）进行数据整理和柱形图绘制，利用 SPSS（SPSS 20.0, IBM, NY, USA）的 ANOVA 程序进行差异显著性分析。

参考金铃和（2016）的方法，使用 SIMCA 14.1（<https://umetrics.com/products/simca>）程序，

对矿质元素进行正交偏最小二乘判别分析 (OPLS-DA), 经计算得到变量投影重要度值 (Variable importance for the projection, VIP), 用以度量各矿质元素对分类判别的影响强度, 并以 VIP 值大于 1.0 作为筛选标志矿质元素的阈值。

## 2 结果与分析

### 2.1 “蓝皮”果白皮层中的类黄酮物质

#### 2.1.1 花青苷

本研究中未检测到沃柑病果白皮层提取液花青苷类物质的特征吸收峰。并且 LC-MS 分析也未在“蓝皮”果白皮层样品中检测到花青苷类物质的存在 (表 1)。

#### 2.1.2 黄烷酮

沃柑白皮层中主要的类黄酮物质属黄烷酮类, 共检测到 3 种 (柚皮芸香苷、橙皮苷和香风草苷), 其在“蓝皮”果与正常果白皮层中两个生长发育时期都没有显著差异 (表 1)。

表 1 沃柑正常果与“蓝皮”果白皮层中花青苷和黄烷酮类物质含量  
Table 1 Flavanones and anthocyanins contents in the Orah albedo of “Blue albedo” fruit and normal fruit

采样地点 Production area	花后天数 Days after florescence	果实 Fruit	花青苷 Anthocyanin	黄烷酮/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) Flavanone		
				柚皮芸香苷 Narirutin	橙皮苷 Hesperidin	香风草苷 Didymin
桂林临桂区山口村 Shankou, Lingui, Guilin	330	正常果 Control	—	4.55 ± 0.15	25.72 ± 2.51	5.94 ± 0.39
		蓝皮果 Blue albedo	—	4.97 ± 0.24	28.32 ± 2.55	7.14 ± 0.50
南宁武鸣县双桥镇 Shuangqiao, Wuming, Nanning	240	正常果 Control	—	4.33 ± 0.05	35.25 ± 1.05	5.64 ± 3.45
		蓝皮果 Blue albedo	—	3.92 ± 0.13	33.49 ± 2.37	7.82 ± 0.43

注: — 表示未检测到。

Note: — for not detected.

#### 2.1.3 聚甲氧基黄酮

从表 2 可以看出, 沃柑白皮层共检测出 6 种聚甲氧基黄酮类物质。在广西桂林花后 330 d 成熟的沃柑“蓝皮”果的白皮层中, 甜橙黄酮、川陈皮素、5,6,7,4-四甲氧基黄酮、5,7,8,4-四甲氧基黄酮和 3,5,6,7,8,3,4-七甲氧基黄酮含量显著高于正常果 (表 2)。

表 2 沃柑正常果与“蓝皮”果白皮层中聚甲氧基黄酮类物质含量  
Table 2 Polymethoxy flavones contents in the albedo of Orah “Blue albedo” fruit and normal fruit

采样地点 Production area	花后天数 Days after florescence	果实 Fruit	聚甲氧基黄酮/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) Polymethoxy flavones					
			甜橙黄酮 Sinensetin	川陈皮素 Nobiletin	5,7,8,4- Tetramethy- lscutellarein	5,6,7,4-四甲 氧基黄酮 5,6,7,4-Tetrame- thylscutellarein	3,5,6,7,8,3,4- 七甲氧基黄酮 3,5,6,7,8,3,4-Hep- tamethoxyflavone	去甲川陈皮 素 Demethylnob- iletin
桂林临桂区山口村 Shankou, Lingui, Guilin	330	正常果 Control	281.21 ± 8.72	216.61 ± 3.13	15.47 ± 0.07	48.13 ± 0.56	18.33 ± 0.98	20.61 ± 0.98
		蓝皮果 Blue albedo	325.69 ± 5.53*	287.11 ± 10.45*	18.82 ± 1.64*	61.86 ± 1.48*	21.99 ± 0.60*	21.79 ± 1.01
南宁武鸣县双桥 镇 Shuangqiao, Wuming, Nanning	240	正常果 Control	182.44 ± 3.63	13.88 ± 2.84	6.24 ± 1.01	9.98 ± 0.73	7.81 ± 0.08	14.43 ± 0.39
		蓝皮果 Blue albedo	181.48 ± 6.87	10.70 ± 4.46	7.12 ± 0.48	10.10 ± 0.66	6.30 ± 0.54*	14.13 ± 1.46

\*  $P < 0.05$ .

在广西南宁沃柑花后 240 d 的“蓝皮”果的白皮层中，发现 3,5,6,7,8,3,4 - 七甲氧基黄酮含量显著低于正常果，其他物质无显著差异（表 2）。

说明其差异形成可能是动态的过程，在成熟期差异表现较突出。

## 2.2 矿质元素含量的比较

比较分析了 3 个地区 3 个品种“蓝皮”果和正常果白皮层中 21 种矿质元素的含量，包括 5 种大量元素、6 种微量元素、9 种重金属元素及铝元素。

大量元素分析（表 3）发现，沃柑（桂林和南宁样品）和马水橘的“蓝皮”果白皮层中钾元素相对含量显著高于正常果（ $P < 0.05$ ，下同）。沃柑（桂林和南宁样品）和贡柑“蓝皮”果白皮层中钙元素含量显著高于正常果，但马水橘“蓝皮”果中则显著低于正常果。

沃柑（桂林和南宁样品）“蓝皮”果白皮层中镁元素含量显著低于正常果，马水橘“蓝皮”果则显著高于正常果。4 份“蓝皮”果中，只有沃柑（南宁样品）“蓝皮”果中硫元素相对含量显著低于正常果，其他 3 个均显著高于正常果。沃柑（桂林和南宁样品）和贡柑“蓝皮”果中的磷含量显著高于正常果。

表 3 白皮层中大量元素含量  
Table 3 Content of major elements in the albedo

品种 Variety	采样地点 Production area	花后天数 Days after florescence	果实 Fruit	大量元素/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) Major element		
				K	Ca	Mg
沃柑 Orah mandarin	桂林临桂区山口村 Shankou, Lingui, Guilin	330	正常果 Control	4 768.69 ± 117.5	4 325.53 ± 2.19	518.83 ± 1.24
			蓝皮果 Blue albedo	6 167.24 ± 74.57**	5 338.54 ± 17.92**	439.64 ± 1.92**
	南宁武鸣县双桥镇 Shuangqiao, Wuming, Nanning	240	正常果 Control	4 297.88 ± 114.74	8 652.47 ± 114.88	317.23 ± 6.67
			蓝皮果 Blue albedo	5 007.21 ± 190.36**	9 208.69 ± 47.79**	294.81 ± 6.53*
贡柑 Gonggan mandarin	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	3 390.48 ± 352.19	4 822.06 ± 127.05	540.63 ± 14.05
			蓝皮果	3 989.35 ± 289.18	6 074.98 ± 45.42**	589.23 ± 6.7**
			Blue albedo			
马水橘 Mashuiju tangerine	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	3 880.69 ± 167.06	6 682.59 ± 140.32	558.64 ± 11.66
			蓝皮果	10 678.33 ± 252.08**	5 143.62 ± 95.52**	995.48 ± 18.40**
			Blue albedo			
品种 Variety	采样地点 Production area	花后天数 Days after florescence	果实 Fruit	大量元素/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) Major element		
				S	P	
沃柑 Orah mandarin	桂林临桂区山口村 Shankou, Lingui, Guilin	330	正常果 Control	364.80 ± 2.83	374.29 ± 0.64	
			蓝皮果 Blue albedo	450.94 ± 10.99**	392.67 ± 2.43**	
	南宁武鸣县双桥镇 Shuangqiao, Wuming, Nanning	240	正常果 Control	756.09 ± 15.24	509.01 ± 7.42	
			蓝皮果 Blue albedo	556.23 ± 9.40**	594.16 ± 4.31**	
贡柑 Gonggan mandarin	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	335.14 ± 16.25	567.82 ± 15.03	
			蓝皮果	671.56 ± 12.95**	577.12 ± 2.29	
			Blue albedo			
马水橘 Mashuiju tangerine	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	437.83 ± 27.19	655.38 ± 13.14	
			蓝皮果	985.34 ± 20.69**	597.53 ± 13.32**	
			Blue albedo			

注：\*\* 表示与各自的对照相比有极显著差异（ $P < 0.01$ ）；\* 表示显著差异（ $P < 0.05$ ）。

Note: \*\* means significantly different with their respective control at  $P < 0.01$ ; \* means significantly different at  $P < 0.05$ .

比较“蓝皮”果和正常果白皮层中微量元素（表 4），发现沃柑（桂林样品、南宁样品）和马水橘“蓝皮”果锌元素含量极显著（ $P < 0.01$ ，下同）高于正常果，但贡柑“蓝皮”果中则极显著降低。

沃柑（南宁样品）和贡柑“蓝皮”果中锰元素含量极显著高于正常果，沃柑（桂林样品）“蓝皮”果则极显著降低。沃柑（桂林样品）、贡柑和马水橘“蓝皮”果中硼元素含量显著高于正常果，沃柑（南宁样品）“蓝皮”果则显著降低。沃柑（南宁样品）和马水橘“蓝皮”果中铁元素含量均显著高于正常果。沃柑（南宁样品）和马水橘“蓝皮”果中铜含量极显著增高，而马水橘“蓝皮”果中钼显著增高。

**表 4 白皮层中微量元素含量**  
**Table 4 Content of trace elements in the albedo**

品种 Variety	采样地点 Production area	花后天数 Days after florescence	果实 Fruit	微量元素/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) Trace element		
				Zn	Mn	B
沃柑 Orah mandarin	桂林临桂区山口村 Shankou, Lingui, Guilin	330	正常果 Control	10.73 ± 0.81	7.66 ± 0.03	18.70 ± 0.11
			蓝皮果 Blue albedo	14.33 ± 0.69**	6.05 ± 0.04**	21.71 ± 0.67**
	南宁武鸣县双桥镇 Shuangqiao, Wuming, Nanning	240	正常果 Control	30.99 ± 1.01	5.57 ± 0.00	27.87 ± 0.55
			蓝皮果 Blue albedo	55.80 ± 0.93**	7.59 ± 0.17**	20.95 ± 0.01**
贡柑 Gonggan mandarin	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	20.99 ± 0.50	4.83 ± 0.12	21.36 ± 1.06
			蓝皮果 Blue albedo	19.20 ± 0.34**	7.24 ± 0.3**	26.39 ± 0.12**
马水橘 Mashuiju tangerine	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	16.97 ± 2.21	5.19 ± 0.2	24.00 ± 0.64
			蓝皮果 Blue albedo	28.81 ± 0.57**	5.56 ± 0.14	29.14 ± 0.70**

品种 Variety	采样地点 Production area	花后天数 Days after florescence	果实 Fruit	微量元素/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) Trace element		
				Fe	Cu	Mo
沃柑 Orah mandarin	桂林临桂区山口村 Shankou, Lingui, Guilin	330	正常果 Control	19.07 ± 3.19	3.88 ± 0.92	0.19 ± 0.11
			蓝皮果 Blue albedo	23.98 ± 2.76	4.67 ± 0.82	0.18 ± 0.08
	南宁武鸣县双桥镇 Shuangqiao, Wuming, Nanning	240	正常果 Control	59.60 ± 5.14	4.40 ± 0.56	0.46 ± 0.19
			蓝皮果 Blue albedo	76.57 ± 4.03*	8.58 ± 0.97**	0.37 ± 0.31
贡柑 Gonggan mandarin	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	46.86 ± 5.56	4.43 ± 1.01	0.12 ± 0.11
			蓝皮果 Blue albedo	81.62 ± 54.98	3.84 ± 0.15	0.30 ± 0.36
马水橘 Mashuiju tangerine	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	49.92 ± 7.15	3.77 ± 0.11	0.11 ± 0.10
			蓝皮果 Blue albedo	71.63 ± 7.16**	5.03 ± 0.22**	0.36 ± 0.10*

注: \*\* 表示与各自的对照相比有极显著差异 ( $P < 0.01$ ); \*表示显著差异 ( $P < 0.05$ )。

Note: \*\* means significantly different with their respective control at  $P < 0.01$ ; \* means significantly different at  $P < 0.05$ .

重金属元素（表 5）中，“蓝皮”果与正常果中钡的含量均有显著或极显著差异，沃柑（桂林和南宁样品）和贡柑“蓝皮”果中显著降低，马水橘“蓝皮”果中显著增高。“蓝皮”果中锶元素含量均极显著高于正常果。铬元素含量仅在沃柑（南宁样品）“蓝皮”果中极显著降低。镍元素含量仅在马水橘“蓝皮”果中极显著高于正常果。钴、硒、镉、铅、砷在正常果和“蓝皮”果中含量很低，几乎检测不到。此外，样品中的镉、铅、砷含量均低于《GB2762-2017 食品安全国家标准食品中污染物限量》规定的要求，表明样品中这 3 种重金属元素均未超标。

铝并不是植物营养学概念里的微量元素，在土壤中因 pH 值不同，可以阳离子或阴离子状态存在（Delhaize & Ryan, 1995）。沃柑（桂林样品）和沃柑（南宁样品）“蓝皮”果中铝元素相对含量显著高于正常果，马水橘“蓝皮”果中则极显著增高。

**表 5 白皮层中重金属元素和铝元素含量**  
**Table 5 Content of metallic elements and Al element in the albedo**

品种 Variety	采样地点 Production area	花后天数 Days after florescence	果实 Fruit	重金属元素/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) Metallic element			
				Ba	Sr	Cr	Ni
沃柑 Orah mandarin	桂林临桂区山口村 Shankou, Lingui, Guilin	330	正常果 Control	32.11 ± 0.20	7.45 ± 0.03	0.91 ± 0.08	0.79 ± 0.09
			蓝皮果 Blue albedo	29.03 ± 0.18**	8.45 ± 0.08**	0.83 ± 0.07	0.89 ± 0.11
	南宁武鸣县双桥镇 Shuangqiao, Wuming, Nanning	240	正常果 Control	6.47 ± 0.27	18.91 ± 0.21	2.67 ± 0.35	1.14 ± 0.37
			蓝皮果 Blue albedo	4.43 ± 0.05**	23.75 ± 0.20**	1.18 ± 0.13**	1.63 ± 0.32
贡柑 Gonggan mandarin	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	8.00 ± 0.16	9.37 ± 0.31	3.95 ± 0.14	0.86 ± 0.05
			蓝皮果 Blue albedo	7.23 ± 0.24*	11.24 ± 0.20**	3.92 ± 0.63	0.72 ± 0.32
马水橘 Mashuiju tangerine	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	6.42 ± 0.24	10.25 ± 0.23	1.46 ± 0.2	0.62 ± 0.13
			蓝皮果 Blue albedo	13.72 ± 0.24**	13.09 ± 0.25**	1.69 ± 0.20	1.45 ± 0.20**

品种 Variety	采样地点 Production area	花后天数 Days after florescence	果实 Fruit	重金属元素/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) Metallic element		
				Co	Se	Cd
沃柑 Orah mandarin	桂林临桂区山口村 Shankou, Lingui, Guilin	330	正常果 Control	痕量 Trace	0.02 ± 0.02	—
			蓝皮果 Blue albedo	—	痕量 Trace	0.18 ± 0.00
	南宁武鸣县双桥镇 Shuangqiao, Wuming, Nanning	240	正常果 Control	—	痕量 Trace	—
			蓝皮果 Blue albedo	痕量 Trace	痕量 Trace	—
贡柑 Gonggan mandarin	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	0.19 ± 0.09	痕量 Trace	—
			蓝皮果 Blue albedo	Trace*	痕量 Trace	—
马水橘 Mashuiju tangerine	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	痕量 Trace	—	—
			蓝皮果 Blue albedo	—	痕量 Trace	—

品种 Variety	采样地点 Production area	花后天数 Days after florescence	果实 Fruit	重金属元素/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ ) Metallic element		Al/ ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )
				Pb	As	
沃柑 Orah mandarin	桂林临桂区山口村 Shankou, Lingui, Guilin	330	正常果 Control	—	—	38.92 ± 8.54
			蓝皮果 Blue albedo	0.18 ± 0.00	—	67.67 ± 13.29*
	南宁武鸣县双桥镇 Shuangqiao, Wuming, Nanning	240	正常果 Control	—	—	47.85 ± 13.46
			蓝皮果 Blue albedo	—	—	93.27 ± 11.87*
贡柑 Gonggan mandarin	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	—	—	66.60 ± 20.00
			蓝皮果 Blue albedo	—	0.11 ± 0.00	45.55 ± 7.48
马水橘 Mashuiju tangerine	梧州蒙山县大塘镇 Datang, Mengshan, Wuzhou	330	正常果 Control	—	—	83.05 ± 7.85
			蓝皮果 Blue albedo	—	0.13 ± 0.00	145.40 ± 12.68**

注: \*\* 表示与各自的对照相比有极显著差异 ( $P < 0.01$ ); \*表示显著差异 ( $P < 0.05$ ); — 表示未检测到。

Note: \*\* means significantly different with their respective control at  $P < 0.01$ ; \* means significantly different at  $P < 0.05$ ; — for not detected.

为直观区分“蓝皮”果和正常果白皮层矿质元素差异，基于 21 种矿质元素的含量进行了 OPLS-DA 分析，该方法可以大体将正常果白皮层和“蓝皮”果白皮层区分开。其中，VIP 值大于 1 的元素是钾和硫，分别达 4.2601 和 1.2037 (表 6)，说明这两种元素在正常果白皮层和“蓝皮”果白皮层中含量差异是最大的，可以作为区分正常果和“蓝皮”果的标志矿质元素。

表 6 沃柑“蓝皮”果与正常果白皮层矿质元素含量 OPLS-DA 分析

Table 6 OPLS-DA analysis based on mineral element contents in the albedo of Orah “Blue albedo” fruit and normal fruit

元素 Element	VIP 值 VIP value	元素 Element	VIP 值 VIP value	元素 Element	VIP 值 VIP value
K	4.2601	Zn	0.1646	Co	0.0102
S	1.2037	B	0.1075	As	0.0085
Ca	0.7549	Cu	0.0457	Sr	0.0041
Mg	0.7191	Ni	0.0403	Mn	0.0027
Al	0.4467	Cr	0.0387	Pb	0.0004
P	0.1952	Ba	0.0173	Cd	0.0001
Fe	0.1809	Mo	0.0156	Se	9.70581E-05

### 2.3 白皮层和汁胞中初生代谢物比较

沃柑“蓝皮”果和正常果实白皮层共检测到 9 种初生代谢物。“蓝皮”果苹果酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、核糖和蔗糖含量显著高于正常果，木糖、果糖、奎宁酸、葡萄糖和肌醇含量则无显著差异（表 7）。

表 7 沃柑“蓝皮”果和正常果白皮层中初生代谢物含量

Table 7 Contents of secondary metabolites in the albedo of Orah “Blue albedo” fruits and normal fruits / ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )

果实 Fruit	苹果酸 Malic acid	$\gamma$ -氨基丁酸 $\gamma$ -aminobutyric acid	木糖 Xylose	核糖 Ribose	奎宁酸 Quinic acid	果糖 Fructose	葡萄糖 Glucose	肌醇 Inositol	蔗糖 Saccharose
正常果 Control	0.23 ± 0.02	0.11 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.24 ± 0.00	0.28 ± 0.05	2.95 ± 0.19	1.54 ± 0.30	3.67 ± 0.49	10.82 ± 1.36
蓝皮果 Blue albedo	0.51 ± 0.02**	0.18 ± 0.01**	0.05 ± 0.00	0.29 ± 0.01**	0.21 ± 0.01	2.66 ± 0.11	1.26 ± 0.06	4.53 ± 0.28	14.40 ± 0.60*

注: \*\* 表示与其各自对照相比差异极显著 ( $P < 0.01$ ); \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Note: \*\* means significantly different with their respective control at  $P < 0.01$ ; \* means significantly different at  $P < 0.05$ .

汁胞中检测到 7 种有机酸和可溶性糖。“蓝皮”果汁胞中苹果酸和蔗糖的含量显著高于正常果， $\gamma$ -氨基丁酸则显著降低，其他成分无显著差异（表 8）。

表 8 “沃柑蓝皮”果和正常果汁胞中初生代谢物含量

Table 8 Contents of secondary metabolites in the juice sacs of Orah “Blue albedo” fruits and normal fruits / ( $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ )

果实 Fruit	苹果酸 Malic acid	$\gamma$ -氨基丁酸 $\gamma$ -Aminobutyric acid	柠檬酸 Citric acid	果糖 Fructose	葡萄糖 Glucose	蔗糖 Saccharose	肌醇 Inositol	糖酸比 Ratio of sugar and acid
正常果 Control	1.13 ± 0.02	0.16 ± 0.00	3.53 ± 0.24	29.48 ± 0.55	8.75 ± 0.43	21.23 ± 1.20	2.52 ± 0.14	12.77
蓝皮果 Blue albedo	1.70 ± 0.09**	0.10 ± 0.01**	3.75 ± 0.51	33.50 ± 1.65	9.31 ± 0.87	28.72 ± 2.72*	3.01 ± 0.32	13.26

注: \*\* 表示与其各自对照相比差异极显著 ( $P < 0.01$ ); \* 表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Note: \*\* means significantly different with their respective control at  $P < 0.01$ ; \* means significantly different at  $P < 0.05$ .

## 3 讨论

### 3.1 宽皮柑橘“蓝皮”果的呈色色素不是花青苷

据 Browning 等 (1995) 的推测, 出现在美国甜橙、橘柚和葡萄柚上蓝皮 (Blue albedo) 现象的蓝色物质是水溶性花青苷, 在降雨量大时症状严重。然而, 笔者在生产调查中发现, 目前中国国内



所发现的“蓝皮”果现象都集中在宽皮柑橘上，如本研究用材料沃柑、贡柑和马水橘，且在晚熟的马水橘上表现更严重，这与陈永森等（2018）的报道吻合。在广东龙门的果园发现，在相同地块同时种植马水橘和年橘，前者发生“蓝皮”果现象非常普遍，而年橘则完全正常。据此推测，“蓝皮”果的发生因柑橘种质而异，具体原因值得深入研究。在中国种植的甜橙、橘柚和葡萄柚上未见“蓝皮”果现象，可能与其种植区域大多为山区（如脐橙）有关。

本研究中利用紫外可见分光光度计扫描特征吸收峰和 LC-MS 两种检测方法，均未在白皮层中检测到花青苷类物质，意味着“蓝皮”果的发生原因与花青苷类物质的积累无关。而且，除血橙、紫皮柚及其杂交后代外，尚未发现在柑橘现代商业栽培品种中有积累花青苷类物质的报道。该表型与柑橘中 *Ruby1* 基因编码区或启动子区的缺失、插入、易位等序列变异有关（Butelli et al., 2017）。黄酮类是柑橘果实中主要的类黄酮物质（陈嘉景等，2016）。本研究中检测到“蓝皮”果白皮层中 3 种黄酮类物质含量均与对照没有显著差异。所以，排除了橙皮苷等类黄酮物质富集或某些金属离子——黄酮复合物（络合物）积累导致蓝色的可能性。

本研究中还分析了聚甲氧基黄酮物质的含量变化。该类物质具有苦涩味，其含量的增加可能与响应生物或非生物胁迫有关（Djoukeng et al., 2008）。分析表明，沃柑花后 330 d 的“蓝皮”果样品中，有 5 种聚甲氧基黄酮类物质含量上升，未成熟的广西南宁沃柑“蓝皮”果样品中只有七甲氧基黄酮相对含量下降。沃柑花后 330 d 的“蓝皮”果白皮层中聚甲氧基黄酮的显著升高，可以认为是一种胁迫响应。据前人研究，该类物质只大量存在于柑橘果皮中，并在果实发育过程中逐渐减少（Chen et al., 2015）。但不排除地理环境也是引起聚甲氧基黄酮差异积累的原因。

### 3.2 宽皮柑橘“蓝皮”果现象产生与多种矿质元素吸收和积累的胁迫响应有关

陈永森等（2018）的研究表明，铜离子在海绵层富集的灰蓝色显色反应是“蓝皮”果产生的原因。但是在本研究中，并没有发现病果白皮层中铜元素有一致性地过量累积。

在大量元素中，只有钾元素含量在 3 份“蓝皮”果中显著升高。钾元素过多会引起柑橘品质的下降，具体表现在果皮粗厚、汁胞粗糙、果汁量减少及甜度降低等（陆景陵，2003）。OPLS-DA 分析也显示基于钾元素的含量可以将“蓝皮”果和正常果区分开来，但是，由于取样点较少，田间土壤条件不均一，根系吸收、运转和利用矿质元素的能力差异较大，且存在人工叶面施肥等因素，本研究中仅能以同一地块上、栽培管理条件一致的正常果和病果进行比较。因此，此结论尚待严格控制试验条件后加以证实。甚而，钾元素的显著升高也可能与蓝色白皮层的形成一样，属于伴随发生的下游事件。此外调查发现，“蓝皮”果外形正常，风味稍有提升，质地变化不明显，与上述钾元素过多的症状表现不一致。

大量元素与微量元素是植物生长的必需元素，缺少某一种就会导致相应的缺素症。本研究测定的结果显示，没有一种必需元素含量在 4 份“蓝皮”果白皮层中同时显著低于正常果，推测“蓝皮”果并非源于某种必需元素的缺素症。

重金属元素中，只有镉元素在 4 份“蓝皮”果白皮层中均有极显著升高，不排除镉含量的显著变化是“蓝皮”果的呈色原因，但目前缺乏某种镉化合物或络合物呈蓝色的报道。

前人研究表明，在广东和广西等南方酸性土壤中，常会造成土壤中酸溶性矿质元素 Mn、Fe、Sr、Ba 和 Al 含量的上升，而其他矿质元素如 K、Ca、Mg、Al、Zn、P 和 B 淋失的现象（吕贻忠和李保国，2007）。本研究中，酸溶性矿质元素含量大体是升高的，但是 K、Ca、Mg 和 B 等矿质元素含量不降反升，可能与广西产区广泛施用“钙镁硼锌铁”叶面肥有关。

### 3.3 宽皮柑橘“蓝皮”果现象产生可能与土壤水渍等环境因素有关

据观察, 广西等产区宽皮柑橘中发生的“蓝皮”果现象与当年降水量及土壤渍水有一定相关性。广西地区年均降水量较大, 达 1 200 ~ 2 000 mm (国家地理编委会, 2007)。该产区 2016 及 2017 年“蓝皮”果现象较 2018 年严重, 而同时这两年降水量和土壤渍水现象也较 2018 年严重。生产中还发现: 连续天晴几日后, 宽皮柑橘“蓝皮”果现象就会减轻; 广东地区沃柑“蓝皮”果在春节前发生较少, 待节后气温回升、根系处于活动旺盛期且雨水增多时, 病果数量显著增加; 但是, 在云南德宏州的高温干旱地区也出现了沃柑“蓝皮”果现象; 此外, 感染黄龙病或树势弱的树体上“蓝皮”果现象更严重; 在采用枳为砧木的果园中发病较轻。所以, 推测“蓝皮”果现象的出现可能与树体感病、根系渍水(无氧呼吸)或高温干旱后树势的衰弱等原因有关, 最终可归因于树势及根系活力的降低。

### References

- Browning H W, Mcgovern R J, Jackson L K, Calvert V, Wardowski W F. 1995. Florida Citrus Diagnostic Guide. Florida Science Source, Inc.
- Butelli E, Garcia-Lor A, Licciardello C, Las Casas G, Hill L, Recupero O G R, Keremane M L, Ramadugu C, Krueger R, Xu Q, Deng X X, Fanciullino A, Froelicher Y, Navarro L, Martin C. 2017. Changes in anthocyanin production during domestication of *Citrus*. *Plant Physiology*, 173 (4): 2225 - 2242.
- Chen J J, Zhang H Y, Pang Y B, Cheng Y J, Deng X X, Xu J. 2015. Comparative study of flavonoid production in lycopene-accumulated and blonde-flesh sweet oranges (*Citrus sinensis*) during fruit development. *Food Chemistry*, 184: 238 - 246.
- Chen Jia-jing, Peng Zhao-xin, Shi Mei-yan, Xu Juan. 2016. Advances in on flavonoid composition and metabolism in *Citrus*. *Acta Horticulturae Sinica*, 43 (2): 384 - 400. (in Chinese)
- 陈嘉景, 彭昭欣, 石梅艳, 徐 娟. 2016. 柑橘中类黄酮的组成与代谢研究进展. *园艺学报*, 43 (2): 384 - 400.
- Chen Yong-sen, Wang Yun-ru, Wei Zai-xing, Shi Peng-tao, Wu Feng, Deng You-zhan, Li Dong-gui, Lan Wei. 2018. Investigation and preliminary study on the causes of “mildew” in *Citrus* sponge layer. *China Horticulture Abstracts*, (5): 43 - 46, 93. (in Chinese)
- 陈永森, 王运儒, 韦再行, 时鹏涛, 吴 凤, 邓有展, 李冬桂, 蓝 唯. 2018. 柑橘海绵层“霉变”发生调查与成因初探. *中国园艺文摘*, (5): 43 - 46, 93.
- Delhaize E, Ryan P R. 1995. Aluminum toxicity and tolerance in plants. *Plant Physiology*, 107: 315 - 321.
- Deng Xiu-xin. 2008. *Citrus varieties in China*. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 邓秀新. 2008. 中国柑橘品种. 北京: 中国农业出版社.
- Deng Xiu-xin, Peng Shu-ang. 2013. *Citrology*. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 邓秀新, 彭抒昂. 2013. 柑橘学. 北京: 中国农业出版社.
- Djoukeng J D, Arbina V, Argamasilla R, Gomez-Cadena A. 2008. Flavonoid profiling in leaves of citrus genotypes under different environmental situations. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56 (23): 11087 - 11097.
- Durand-Hulak M, Duquand A, Duval T, Bidet L P, Jay-Allemand C, Froelicher Y, Bourquard F, Fanciullino A L. 2015. Mapping the genetic and tissular diversity of 64 phenolic compounds in *Citrus* species using a UPLC-MS approach. *Annals of Botany*, 115 (5): 861 - 877.
- Jiang Dong, Cao Li. 2011. The phenotype of ‘Or’ (late-maturing high-sugar hybrid) after cultivating in Chongqing. *South China Fruits*, 40 (5): 33 - 34. (in Chinese)
- 江 东, 曹 立. 2011. 晚熟高糖杂柑品种‘沃柑’在重庆的引种表现. *中国南方果树*, 40 (5): 33 - 34.
- Jin Ling-he. 2016. The determination of mineral elements in honey by ICP-MS and its application to discriminate Northeast-China black honey and linden honey [Ph. D. Dissertation]. Tai'an: Shandong Agricultural University. (in Chinese)
- 金铃和. 2016. ICP-MS 测定东北黑蜂蜜和椴树蜜中矿质元素及其在蜂蜜产地溯源中的应用研究 [博士论文]. 泰安: 山东农业大学.

- Lu Jing-ling. 2003. Plant nutrition (Volume I) . Beijing: China Agricultural University Press. (in Chinese)  
陆景陵. 2003. 植物营养学 (上册) . 北京: 中国农业大学出版社.
- Lü Yi-zhong, Li Bao-guo. 2006. Soil science. Beijing: China Agriculture Press: 180 - 197. (in Chinese)  
吕贻忠, 李保国. 2006. 土壤学. 北京: 中国农业出版社: 180 - 197.
- National Geographic Editorial Board. 2007. National Geographic China Volume. Beijing: Blue Sky Press. (in Chinese)  
国家地理编委会. 2007. 国家地理 · 中国卷. 北京: 蓝天出版社.
- Rapisarda P, Fanella F, Maccarone E. 2000. Reliability of analytical methods for determining anthocyanins in blood orange juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (6): 2249 - 2252.
- Sheng L, Shen D D, Luo Y, Sun X H, Wang J Q, Luo T, Zeng Y L, Xu J, Deng X X, Cheng Y J. 2017. Exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid treatment affects citrate and amino acid accumulation to improve fruit quality and storage performance of postharvest citrus fruit. *Food Chemistry*, 216: 138 - 145.
- Wu Hai-jing. 2015. Contents of fruit quality related metabolites in high anthocyanin strawberry [Ph. D. Dissertation] . Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)  
吴海静. 2015. 高花青素草莓种果实品质相关代谢物质分析 [博士论文] . 武汉: 华中农业大学.
- Zhao Hong-tao, Li Guo-guo, Liu Yao-xin, Zhang Lan, Ou Zhing-tao, Zhao Xiao-long, Chen Dong-kui, Huang Qi-chun, Liao Hui-hong, Wang Qian, Huang Hong-ming, Mo Kai-lin, Chen Xiang-ling. 2006. Analysis on the advantages and disadvantages of the development of ‘Or’ in Guangxi and its countermeasures. *Southern Horticulture*, 27 (3): 12 - 16. (in Chinese)  
赵洪涛, 李果果, 刘要鑫, 张 兰, 欧智涛, 赵小龙, 陈东奎, 黄其椿, 廖惠红, 王 茜, 黄宏明, 莫凯琳, 陈香玲. 2006. 沃柑在广西发展的优劣分析及对策探讨. *南方园艺*, 27 (3): 12 - 16.
- Zhou Gao-feng. 2013. Molecular mechanism for the difference to boron deficiency stress of citrus rootstocks [Ph. D. Dissertation] . Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)  
周高峰. 2013. 柑橘砧木耐缺硼胁迫能力差异的分子机理研究 [博士论文] . 武汉: 华中农业大学.