

吴丰年, 戴泽翰, 郑昱, 等. 柑橘黄龙病菌对沙田柚田间性状和果实品质的影响 [J]. 华南农业大学学报, 2020, 41(3): 63-71.
 WU Fengnian, DAI Zehan, ZHENG Yu, et al. Effects of citrus Huanglongbing pathogen on agronomic characteristic and fruit quality of *Citrus maxima* cv. Shatian Yu[J]. Journal of South China Agricultural University, 2020, 41(3): 63-71.

柑橘黄龙病菌对沙田柚田间性状和果实品质的影响

吴丰年^{1,2}, 戴泽翰², 郑昱³, 陈仰泓³, 许美容², 岑伊静², 邓晓玲²

(1 韩山师范学院 食品工程与生物科技学院, 广东 潮州 521041; 2 华南农业大学 农学院, 广东 广州 510642; 3 嘉应学院 生命科学学院, 广东 梅州 514015)

摘要:【目的】明确柑橘黄龙病菌对沙田柚 *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv. Shatian Yu 田间性状和果实品质的影响。【方法】结合田间调查和室内试验系统研究沙田柚感染黄龙病菌后叶片症状、果实内外品质和风味感官品质的变化, 及病菌浓度和树龄对病程发展的影响。【结果】沙田柚嫁接病芽后, 黄龙病菌浓度保持在较低水平 ($Ct > 28$) 时, 植株叶片的黄龙病症状表现不明显, 老叶轻微斑驳黄化, 新叶轻微均匀黄化, 抽梢正常。与健康植株 ($Ct > 35$) 相比, 低黄龙病菌浓度 ($28 < Ct < 32$) 的植株, 叶片症状、果实产量和各品质指标均无显著变化; 随着发病程度的加深, 高黄龙病菌浓度 ($Ct < 26$) 的柚树叶片出现典型斑驳黄化症状, 单株柚果总产量和总结果数显著降低, 果实变小变轻, 着色不均匀, 可食率、出汁率、可溶性固形物含量、甜味度、果肉饱满度和综合风味显著下降, 酸味度和异味度反而显著提高, 失去食用价值。【结论】沙田柚黄龙病病程进展较慢, 但随着发病程度加深, 其经济价值受到严重影响。本研究可为评价柑橘黄龙病对沙田柚品质的影响提供科学依据, 为解析柚类植物的黄龙病耐性机理提供理论支撑。

关键词: 沙田柚; 柑橘黄龙病; 田间性状; 果实品质

中图分类号: S436.66

文献标志码: A

文章编号: 1001-411X(2020)03-0063-09

Effects of citrus Huanglongbing pathogen on agronomic characteristic and fruit quality of *Citrus maxima* cv. Shatian Yu

WU Fengnian^{1,2}, DAI Zehan², ZHENG Yu³, CHEN Yanghong³, XU Meirong², CEN Yijing², DENG Xiaoling²

(1 School of Food Engineering and Biotechnology, Hanshan Normal University, Chaozhou 521041, China;

2 College of Agriculture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

3 School of Life Science, Jiaying University, Meizhou 514015, China)

Abstract: 【Objective】To clarify the effects of citrus Huanglongbing (HLB) pathogen on agronomic characteristic and fruit quality of *Citrus maxima* (Burm.) Merr. cv. Shatian Yu. 【Method】Changes in pathogenic symptom of leaves, fruit external and internal qualities as well as sensory qualities of *C. maxima* after infected by HLB were studied by field investigation and laboratory test. The effects of bacterial concentration and tree age on disease development process were investigated. 【Result】After *C. maxima* grafted with HLB-infected scions, when pathogen concentrations remained relatively low ($Ct > 28$), HLB symptoms were not evident with slight mottled yellow old leaves, slight uniform yellow new leaves and normal shooting. Compared with healthy plants, leaf symptom, fruit yield, and all fruit quality indexes of *C. maxima* infected by HLB pathogen at the concentration of $28 < Ct < 32$ had no significant changes. With the increase of HLB affection, *C. maxima* infected by HLB pathogen at the concentration of $Ct < 26$ showed typical mottled yellow leaves, total yield per plant and fruit number

收稿日期: 2019-08-14 网络首发时间: 2020-04-22 11:00:49

网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20200421.1055.024.html>

作者简介: 吴丰年(1986—), 男, 讲师, 博士, E-mail: scau100@163.com

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0201500); 国家自然科学基金青年科学基金(31801742)

per plant decreased significantly, fruits were smaller and lighter with variable color. The percentage of edible fruit and juice extraction rate, soluble solid content, sweetness, plumpness and overall flavor significantly decreased, while acidity and odor degree significantly increased. The fruit lost edible value. 【Conclusion】 The disease progress of HLB-infected *C. maxima* is slow, but the economic value of plant is seriously affected with the increase of morbidity degree. This study provides a scientific basis for evaluating the effect of HLB on *C. maxima* fruit quality and offers theoretical supports for analyzing the HLB tolerance mechanism of grapefruit plants.

Key words: *Citrus maxima*; citrus Huanglongbing; agronomic characteristic; fruit quality

世界上最早报道柑橘黄龙病 (*Citrus Huanglongbing*, HLB) 的地区为我国广东潮汕地区^[1-2], 该病现已广泛分布于亚洲、美洲和非洲的多个国家, 对全球多个柑橘产区造成严重威胁^[3]。该病由候选的韧皮部杆菌 “*Candidatus Liberibacter spp.*” 引起, 我国发现的黄龙病病原菌为该菌的亚洲种 “*Ca. L. asiaticus*” (CLas)^[4]。黄龙病可为害包括橙类、橘类、柚类和香橼等柑橘属植物的所有栽培品种。鉴于尚未发现可行的黄龙病治疗手段, 目前防控该病害的措施主要为植物检疫、培养无病苗木、及时挖除病株和控制媒介昆虫亚洲柑橘木虱 *Diaphorina citri* 等^[2-3]。

柑橘黄龙病可对柑橘的营养生长和果实品质造成严重影响, 发病植株表现出复杂多样的症状, 包括生长逐渐衰退、产量减少、病果畸形、果皮变软、果小味酸、经济寿命短、植株抗病性下降甚至死亡^[5]; 不同生长季节的叶片表现出的病害症状存在差异, 病害显症时表现为斑驳黄化、均匀黄化、缺素状黄化等症状^[2]。随着发病程度加剧, 病树容易早期落果, 虽有部分果实仍可供采摘收获, 但果实品质也发生了变化^[6]。目前研究发现, 多个柑橘品种感染黄龙病后, 可溶性固体物及维生素 C 含量降低, 外观和着色变差, 可食用部分减少^[7-10]。此外, 黄龙病还可降低一些柑橘品种果实的甜味度、综合风味和果肉饱满度, 并增加酸度、异味度, 使得口感明显变差^[7, 10]。

抗病柑橘品种选育一直都是黄龙病研究的重要领域。不同柑橘品种的抗性反应存在差异, 多项研究表明柚类植物具有一定的黄龙病抗性或耐性, 很少感染黄龙病^[11-12], 但也有研究表明黄龙病可使柚类植物出现新叶发黄、老叶斑驳、果小味苦、产量减少等症状^[13-15]; Folimonova 等^[16]发现不同柑橘品种对黄龙病的反应存在差异, 其中 3 种柚类植物同样可感染黄龙病, 其感病性较其他敏感品种低, 症状表现多样且易变。目前关于柑橘黄龙病对柚类植

物生长和果实品质影响的评价指标仍然不够丰富, 难以做到客观判断, 需系统性研究柑橘黄龙病对柚类植物的影响。

本研究以沙田柚 *Citrus maxima* 和砂糖橘 *Citrus reticulata* 为材料, 在分析病菌浓度与植株感染黄龙病后的叶片症状的关系基础上, 分析黄龙病病菌浓度对沙田柚树势、产量、果实内外品质和感官品质的影响。研究结果将为评价黄龙病对沙田柚生长以及果实品质的影响提供科学依据, 同时也为解析柚类植物的黄龙病耐性机理提供一定的理论支撑。

1 材料与方法

1.1 病原物的检测

称取 0.1 g 采自防虫网室或田间的柚树成熟叶片中脉并剪碎, 采用植物 DNA 提取试剂盒 (OMEGA) 提取 DNA, 用去离子水将 DNA 调整到同一浓度, 使用 Li 等^[17]报道的 CLas 16S rDNA 的特异性引物和探针进行实时荧光定量 PCR(qPCR) 检测, 统计各样品的扩增循环数 (Cycle threshold, Ct), 确定其带菌情况。

鉴于柑橘植原体 “*Candidatus Phytoplasmaasteri*” 和柑橘衰退病病毒 *Citrus tristeza virus* 可能导致相似的黄化症状^[12, 18], 会干扰沙田柚的黄龙病症状观察, 本研究所使用和调查的植物材料 (嫁接病原芽条、无病苗圃样品和田间调查样品) 均通过 qPCR 确保不含有上述 2 种病原微生物。各阳性、阴性样品和后续嫁接试验所用黄龙病接穗均来源于华南农业大学柑橘黄龙病研究室网室 (23.09°N, 113.21°E)。

1.2 病芽嫁接后黄龙病症状观察和病菌浓度检测

所用沙田柚和砂糖橘盆栽苗来源于华南农业大学园艺学院苗圃场 (23.16°N, 113.36°E), 均为 2 年生无病苗, 隔离种植于防虫网室中。选择对应的柑橘品种, 通过 qPCR 检测后, 分别将黄龙病菌浓度较一致 ($Ct=25\pm0.5$) 的接穗嫁接到健康沙田

柚和砂糖橘上,每个品种嫁接10株(10个重复),嫁接苗隔离种植于防虫网室中,每隔30 d记载各植株嫁接后1年内的症状表现,并对其带菌情况进行检测。

1.3 田间症状调查和指标测定

选取广东省梅州市梅县石扇镇较高树龄(15年)和较低树龄(6年)沙田柚果园各1个进行调查。果园栽培管理条件较一致,均为平地种植,调查时间为果实成熟期。为了确定果园黄龙病发病情况,每个果园根据5点取样法(东西南北中)采集75个带有柚果的枝条上的叶片,进行编号和检测。分别从2个果园中选取健康($Ct > 35$)、低黄龙病菌浓度($28 < Ct < 32$)和高黄龙病菌浓度($Ct < 26$)植株各10株(共60株),记录这些植株的树势、产量,鉴定田间叶片和果实症状。植株树势指标包括株高(cm)、树冠直径(cm)和树冠表面积(m^2)。产量测定包括单株柚果总产量(kg)、总结果数和落果数,最后计算经济果产量(kg)。

1.4 果实外在品质的测定

每个果园分别选取健康、低菌浓度和高菌浓度枝条上的果实各10个,使用电子天平称量单果质量(g)和果皮质量(g),量尺测定每个柚果的纵径(cm)和横径(cm),游标卡尺测定果皮厚度(cm);计算果形指数和果皮率(%);评估果实着色指数(%);将种子剥离后,对种子计数(粒),称量种子质量(g),计算种子率(%)。

$$\text{果形指数} = \text{纵径}/\text{横径},$$

$$\text{果皮率} = \text{果皮质量}/\text{果实质量} \times 100\%,$$

$$\text{果实着色指数} = \text{成熟果实黄色面积}/\text{果实总面积} \times 100\%,$$

$$\text{种子率} = \text{种子质量}/\text{果实质量} \times 100\%.$$

1.5 果实内在品质的测定

用手动榨汁机分别对已测完外在品质的果实榨取汁液,4层纱布过滤后,称量果汁质量(g),

$$\text{出汁率} = \text{果汁质量}/\text{单果质量} \times 100\%,$$

$$\text{可食率} = (\text{果实质量} - \text{果皮质量} - \text{种子质量})/\text{果实质量} \times 100\%.$$

用改良后的2,6-二氯酚靛酚钠滴定法测定汁液的维生素C含量^[7, 19],用PAL-BX/ACID糖酸折射仪(日本ATAGO Co., Ltd)测定可溶性固形物含量(%)和可滴定酸(以柠檬酸质量浓度计,g/L)。

1.6 果实风味感官品质的评价

采用改良后的Obenland法进行果实风味感官

品质评价^[20],由10名经过专业培训的人员对2个果园健康、低菌浓度和高菌浓度植株果实进行感官品质打分,健康、低菌和高菌浓度植株果实各取10个。打分标准包括甜味度(浓甜9分,中甜5分,无甜味1分)、酸味度(浓酸9分,中度酸5分,无酸味1分)、果肉饱满度(饱满9分,一般5分,干瘪1分)、异味度(较重9分,一般5分,无异味1分)和综合风味(极好9分,一般5分,极差1分)。

1.7 数据处理

基于数据重复数量和预测的数据分布模式,两样本间的显著性差异比较采用非参数分析Wilcoxon Mann-Whitney检验($P < 0.05$),多组数据结合Tukey's studentized range test多重比较和非参数分析Kruskal-Wallis秩和检验($P < 0.05$)进行验证。统计分析通过SAS 9.0软件完成,图形由Origin v.9.0制作。

2 结果与分析

2.1 病芽嫁接后沙田柚和砂糖橘盆栽苗黄龙病病菌浓度及症状

健康沙田柚植株嫁接带黄龙病接穗150 d后,没有发病(图1),经PCR检测没有发现黄龙病菌的存在(图2),植株正常生长,叶片青绿;嫁接180 d后有20%可检测到低浓度黄龙病菌($Ct=31.44$),植株仍无明显症状(图1);嫁接病毒330和360 d后,所有柚苗均可检测到黄龙病菌,但病菌浓度保持在较低水平($Ct > 28$)(图2),老叶轻微斑驳黄化,新叶轻微均匀黄化,且抽梢正常。

砂糖橘嫁接病毒90 d后,有30%的植株可检测到低浓度黄龙病菌($Ct=29.49$)(图2),这些植株新长出的叶片开始出现轻微黄化;嫁接150 d后,所有接种植株均可检测到病原菌(图1),且病菌浓度显著提高($Ct=26.56$)(图2),整株叶片明显黄化,新叶细小;嫁接病毒180~210 d,病菌浓度进一步升高,老叶出现轻微斑驳黄化症状,有落叶现象,此时仍能正常抽发新叶;嫁接病毒240 d以后,菌浓度达到最高且保持在比较稳定的水平($Ct < 25$),老叶典型斑驳黄化,落叶明显,新叶转绿不正常,出现缺素型花叶。

通过对比2个柑橘品种的显症进程和病菌浓度变化,沙田柚的发病速度较慢,程度较轻(图1),当2种柑橘都能检测到黄龙病菌时(接种后180~360 d),带病沙田柚的带菌量显著低于砂糖橘(图2)。此外,相同条件下种植的健康未接种病原的沙田柚和砂

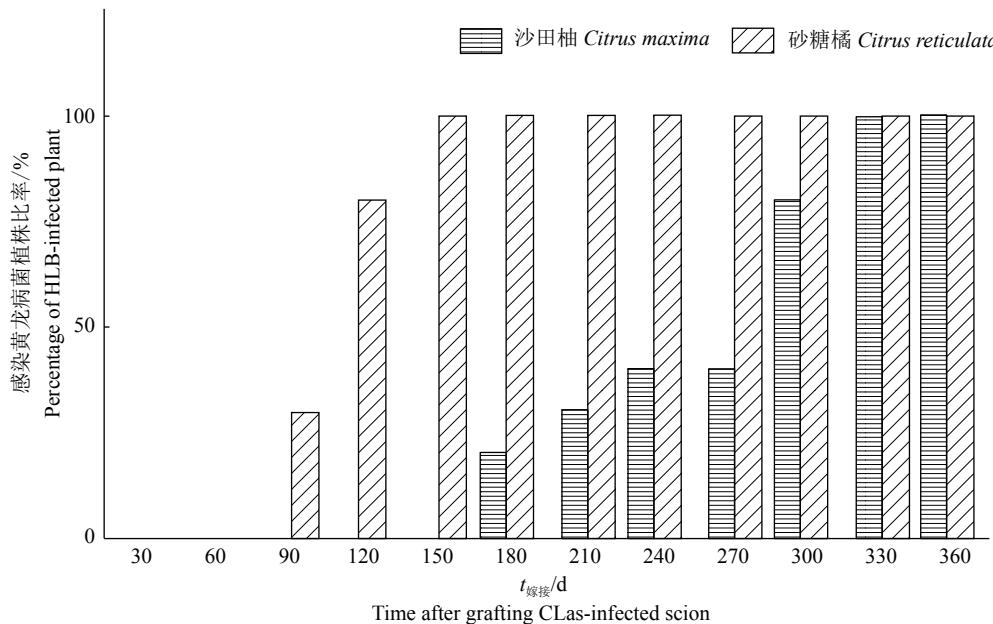


图 1 沙田柚和砂糖橘盆栽苗嫁接黄龙病接穗后的发病率

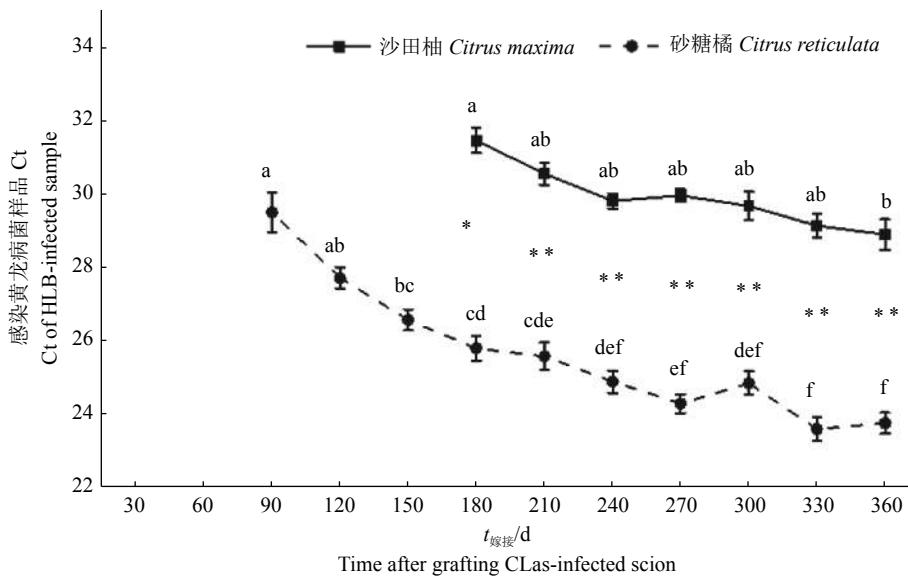
Fig. 1 Incidences of citrus Huanglongbing in *Citrus maxima* and *Citrus reticulata* after grafting HLB-infected scions

图 2 沙田柚和砂糖橘盆栽苗嫁接黄龙病接穗后的阳性植株带菌量

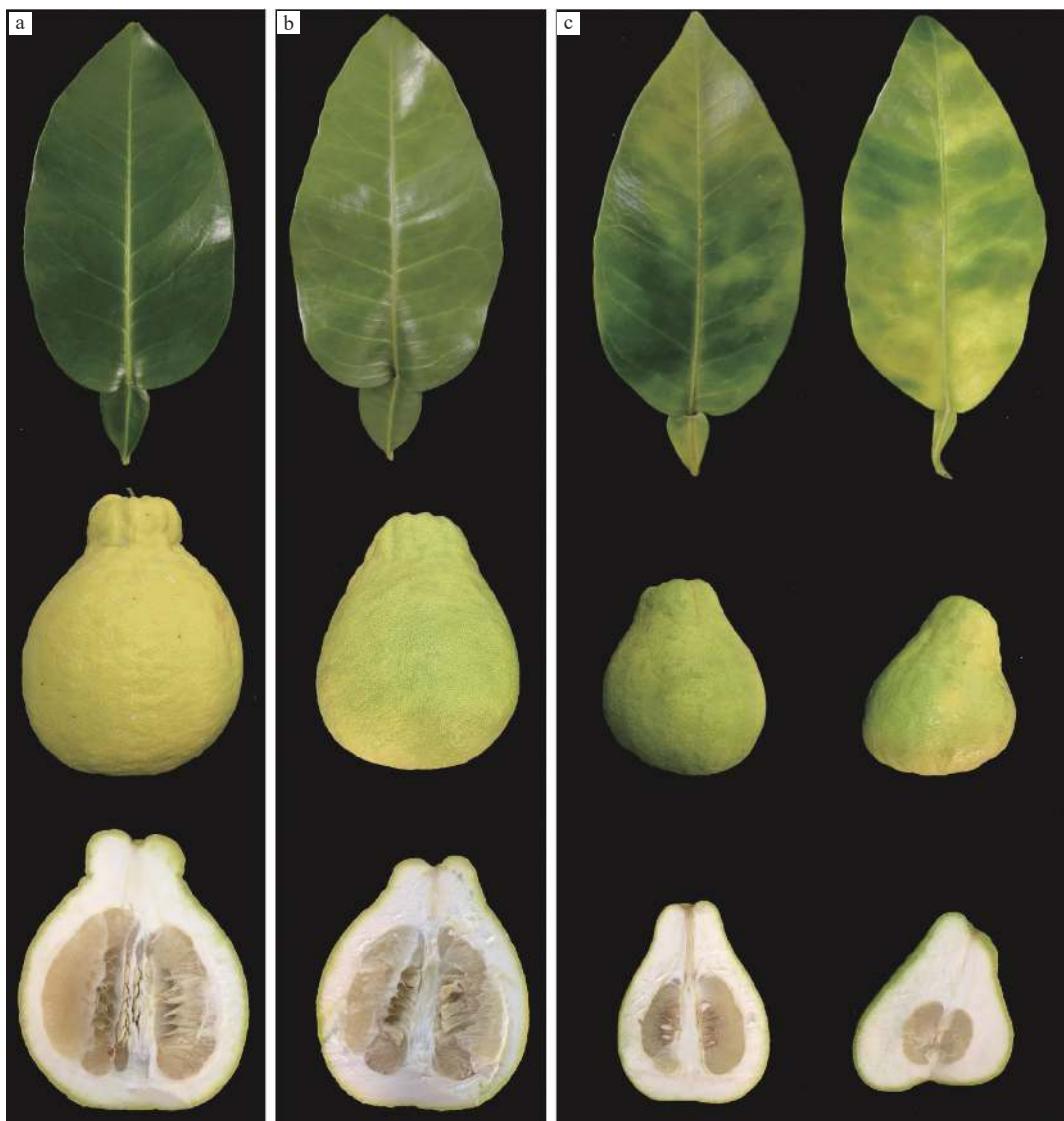
Fig. 2 Concentration of HLB pathogens in disease positive *Citrus maxima* and *Citrus reticulata* after grafting HLB-infected scions

糖橘苗在调查期间均检测不到黄龙病菌，叶片始终保持青绿状态。

2.2 柑橘黄龙病菌浓度对沙田柚田间症状、树势和产量的影响

2 个沙田柚果园中，病菌浓度较低 ($28 < Ct < 32$) 的病树，6 年生和 15 年生果园叶片均没有明显的黄龙病典型黄化症状或只表现轻微的均匀黄化，

果实外观或纵切面 (果实大小、着色情况和厚度等) 均与健康的果实相似 (图 3a、3b)，低浓度病树分别占 6 年生和 15 年生果园的 13.33%(10/75) 和 16%(12/75)；植株病菌浓度较高时 ($Ct < 26$)，2 个果园叶片均表现出典型的黄龙病斑驳黄化症状，叶片基部症状最明显，果实变小变轻，果皮着色不均匀，严重的情况下果实畸形、果皮增厚 (图 3c)，高浓



a、b、c 分别表示健康树 ($C_t > 35$)、低菌浓度病树 ($28 < C_t < 32$) 和高菌浓度病树 ($C_t < 26$) 样品

a, b and c indicate the samples collected from healthy trees ($C_t > 35$), trees with low pathogen concentration ($28 < C_t < 32$), and trees with high pathogen concentration ($C_t < 26$)

图3 健康和感染柑橘黄龙病沙田柚的叶片和果实图示

Fig. 3 Leaves and fruits from healthy and HLB-infected *Citrus maxima*

度病树分别占6年生和15年生果园的14.67%和13.33%。

黄龙病菌浓度对沙田柚的树势和产量的影响情况见表1。黄龙病菌浓度对相同树龄沙田柚的树势各指标(株高、树冠直径和表面积)并没有显著影响;树势主要受树龄因素调控:15年生沙田柚植株株高、树冠直径和表面积显著高于6年生植株。

沙田柚产量指标(单株柚果总产量、单株总结果数、落果数和经济果总产量)同时受到树龄和黄龙病菌浓度的影响,15年生柚树的单株柚果总产量和总结果数显著高于6年生柚树。与健康植株相比,携带低浓度($28 < C_t < 32$)黄龙病菌对相同树龄沙田柚产量各指标没有显著影响。相比同树龄

健康树和低菌浓度病树,15年生高菌浓度($C_t < 26$)病树的产量显著降低,落果数最多,经济果总产量最低,仅为对应健康植株的8.44%;6年生柚树可能由于总产量相对较低,高菌浓度病树单株总产量和结果数没有显著性变化,但因较高的落果数量,亦造成经济果总产量显著减少,为对应健康植株的40.80%。

2.3 柑橘黄龙病菌浓度对沙田柚果实外在品质的影响

表2表明,与健康果实相比,染病后低病菌浓度($28 < C_t < 32$)病树的果实外在品质均无显著性差异;高病菌浓度($C_t < 26$)病树单果质量、果实纵径、横径、着色指数、果皮质量和种子数量显著降低,果

表 1 柑橘黄龙病菌浓度对沙田柚树势和产量的影响¹⁾Table 1 Effects of different concentrations of HLB pathogen on tree vigor and yield of *Citrus maxima*

测定指标 Measured index	健康树(Ct>35) Healthy trees		低菌浓度病树(28< Ct<32) Trees with low pathogen concentration		高菌浓度病树(Ct<26) Trees with high pathogen concentration	
	6年生果园 6-year old orchard		15年生果园 15-year old orchard		6年生果园 6-year old orchard	
	株高/cm Plant height	263.90±9.91b	440.60±14.58a	253.00±15.13b	436.00±11.98a	249.90±11.65b
树冠直径/cm Crown diameter	309.60±11.34b	503.70±11.24a	307.80±7.63b	511.00±9.10a	278.50±16.90b	498.75±11.82a
树冠表面积/m ² Crown superficial area	26.09±1.70b	70.35±3.30a	24.78±1.48b	70.52±2.84a	22.34±2.12b	68.39±3.15a
单株总产量/kg Total yield per plant	43.11±2.11b	136.22±9.79a	42.79±1.73b	125.17±6.28a	25.44±3.52b	44.14±7.87b
总结果数/个 Total fruit number	31.90±1.43bc	93.50±4.48a	28.80±2.69c	90.40±4.86a	22.80±2.86c	52.30±7.71b
落果数量/个 Number of drop fruit	1.30±0.37b	2.70±0.99b	1.40±0.51b	1.60±0.81b	12.80±2.12b	40.60±7.13a
经济果总产量/kg Total yield of economic fruit	39.22±1.76b	129.73±7.97a	41.18±2.11b	121.30±5.71a	16.00±1.26cd	10.95±1.78d

1)同行数据后具有不同字母者表示差异显著($P<0.05$, HSD法)1)Different letters in the same row indicate significant difference($P<0.05$, HSD test)表 2 柑橘黄龙病菌浓度对沙田柚果实外在品质的影响¹⁾Table 2 Effects of different concentrations of HLB pathogen on external qualities of *Citrus maxima*

测定指标 Measured index	健康树(Ct>35) Healthy trees		低菌浓度病树(28< Ct<32) Trees with low pathogen concentration		高菌浓度病树(Ct<26) Trees with high pathogen concentration			
	6年生果园 6-year old orchard		15年生果园 15-year old orchard		6年生果园 6-year old orchard		15年生果园 15-year old orchard	
	单果质量/g Fruit mass	1 446.00±46.31a	1 455.60±49.14a	1 390.80±13.07a	1 409.20±13.77a	802.10±44.69b	906.60±32.11b	
果实纵径/cm Fruit vertical diameter	18.58±0.42a	19.13±0.42a	18.44±0.25ab	19.17±0.27a	15.77±0.29c	16.79±0.33bc		
果实横径/cm Fruit transverse diameter	15.14±0.27a	15.58±0.27a	14.87±0.28a	15.04±0.10a	12.96±0.24b	12.40±0.17b		
果形指数 Fruit shape index	1.27±0.03a	1.23±0.03a	1.24±0.02a	1.27±0.02a	1.33±0.02a	1.34±0.04a		
果皮厚度/cm Pericarp thickness	1.93±0.05a	2.10±0.09a	1.98±0.04a	2.14±0.10a	2.01±0.07a	2.06±0.10a		
果皮质量/g Pericarp mass	461.00±11.10ab	504.90±13.17a	453.00±16.38ab	491.20±8.77a	398.00±7.12bc	3 365.00±19.68c		
果皮率/% Rate of pericarp	31.25±1.22b	36.02±0.90ab	31.28±1.17b	33.73±2.16b	43.00±2.38a	43.66±1.83a		
着色指数/% Color index	90.50±1.38a	86.00±2.87ab	89.00±1.87ab	91.00±1.87a	65.50±5.70b	444.00±8.49c		
种子数/粒 Seed number	33.70±0.88a	39.30±1.74a	34.40±1.96a	36.00±1.61a	35.30±1.17a	35.10±1.97a		
种子率/% Seed rate	0.97±0.05ab	1.23±0.07a	1.08±0.11ab	1.09±0.04ab	0.79±0.07b	0.78±0.12b		

1)同行数据后具有不同字母者表示差异显著($P<0.05$, HSD法)1) Different letters in the same row indicate significant difference($P<0.05$, HSD test)

皮率显著提高,果形指数、果皮厚度和种子数无显著性差异。此外,关于相同染病情况2个不同树龄的柚果,除了6年生高菌浓度柚果着色指数(65.50%)显著高于15年生(44.00%)高菌浓度柚果,其他各指标间均无显著性差异。

2.4 柑橘黄龙病菌浓度对沙田柚果实内在品质的影响

如表3所示,树龄对沙田柚果实各内在品质均无显著性影响。与健康树果实相比,低菌浓度($28 < Ct < 32$)病树果实各内在品质指标无显著性变化,而高菌浓度($Ct < 26$)病树果实的可食率、出汁率、可溶性

固形物含量和维生素C含量均显著降低,可滴定酸含量显著升高。

2.5 柑橘黄龙病菌浓度对沙田柚果实风味感官品质的影响

如表4所示,在带病情况一致的条件下,不同树龄沙田柚果实风味的人为感官品质评价的各项指标均没有显著性差异。相同树龄条件下,低菌浓度病树($28 < Ct < 32$)与健康树果实感官品质各项指标无显著性差异;高菌浓度($Ct < 26$)病树的柚果甜味度、饱满度和综合风味均显著降低,而酸味度和异味度均显著提高。

表3 柑橘黄龙病菌浓度对沙田柚果实内在品质的影响¹⁾

Table 3 Effects of different concentrations of HLB pathogen on internal qualities of *Citrus maxima*

测定指标 Measured index	健康树($Ct > 35$) Healthy trees		低菌浓度病树($28 < Ct < 32$) Trees with low pathogen concentration		高菌浓度病树($Ct < 26$) Trees with high pathogen concentration	
	6年生果园 6-year old orchard		15年生果园 15-year old orchard		6年生果园 6-year old orchard	
	15年生果园 15-year old orchard	6年生果园 6-year old orchard	15年生果园 15-year old orchard	6年生果园 6-year old orchard	15年生果园 15-year old orchard	6年生果园 6-year old orchard
可食率/% Percentage of edible fruit	66.95±1.04a	63.94±0.80ab	66.32±1.30a	64.05±0.63ab	47.13±4.68c	55.57±2.27bc
出汁率/% Juice extraction rate	39.40±1.29a	39.82±1.04a	38.31±1.16ab	39.06±0.98ab	26.43±1.39c	31.99±2.32bc
可溶性固形物/% Soluble solid content	11.86±0.34ab	12.78±0.31a	11.62±0.27ab	11.86±0.21a	9.17±0.61c	10.23±0.32bc
ρ (可滴定酸)/($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Titratable acid content	7.16±0.37c	8.08±0.50bc	7.46±0.38c	7.66±0.66bc	11.47±0.49ab	11.67±1.40a
w (维生素C)/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) Vitamin C content	70.63±3.41ab	68.10±4.62ab	74.29±4.16a	71.22±2.47ab	58.42±2.95c	56.33±2.56c

1)同行数据后具有不同字母者表示差异显著($P < 0.05$, HSD法)

1) Different letters in the same row indicate significant difference ($P < 0.05$, HSD test)

表4 柑橘黄龙病菌浓度对沙田柚果实风味感官品质的影响¹⁾

Table 4 Effects of different concentrations of HLB pathogen on sensory qualities of *Citrus maxima*

测定指标 Measured index	健康树($Ct > 35$) Healthy trees		低菌浓度病树($28 < Ct < 32$) Trees with low pathogen concentration		高菌浓度病树($Ct < 26$) Trees with high pathogen concentration	
	6年生果园 6-year old orchard		15年生果园 15-year old orchard		6年生果园 6-year old orchard	
	15年生果园 15-year old orchard	6年生果园 6-year old orchard	15年生果园 15-year old orchard	6年生果园 6-year old orchard	15年生果园 15-year old orchard	6年生果园 6-year old orchard
甜味度 Sweetness	7.06±0.20a	6.79±0.20a	6.75±0.19a	6.65±0.22a	2.53±0.36b	3.18±0.57b
酸味度 Acidity	2.89±0.17c	3.01±0.18c	3.09±0.14bc	3.07±0.18c	4.31±0.30a	4.01±0.31ab
饱满度 Plumpness	7.01±0.30a	6.81±0.20a	6.28±0.23a	6.91±0.26a	4.16±0.14b	4.96±0.22b
异味度 Odor degree	2.20±0.14b	2.38±0.13b	2.43±0.14b	2.91±0.19b	5.39±0.26a	4.61±0.39a
综合风味 Overall flavor	6.74±0.16a	6.52±0.23a	6.51±0.19a	6.12±0.17a	2.85±0.21b	3.76±0.44b

1)同行数据后具有不同字母者表示差异显著($P < 0.05$, HSD法)

1) Different letters in the same row indicate significant difference ($P < 0.05$, HSD test)

3 讨论与结论

关于柚类品种耐黄龙病的相关研究很多, 刘新华等^[1]根据田间症状调查发现, 同区域内沙田柚的田间发病率(2.6%)远低于柑橙类(21.5%);后续通过嫁接和分子试验证明, 相比感病的椪柑 *Citrus reticulata* Blanco cv. Ponkan, 瑞溪蜜柚 *Citrus maxima* 的症状表现和病菌侵染速度明显更慢^[12]。在本研究中, 相比同等种植条件下的砂糖橘, 嫁接1年内的沙田柚叶片无明显黄龙病症状, 抽梢正常, 病原菌仍保持在较低水平, 且低菌浓度对果实产量、果实内外观品质和风味人为感官品质均无明显影响, 这可能与沙田柚自身特有的黄龙病抗性相关。植物叶片黄化主要是由于细胞叶绿体内淀粉颗粒异常膨大, 挤压破坏类囊体基粒和片层造成^[21-23], 说明黄龙病引起的黄化症状可能与淀粉积累相关。戴泽翰等^[24]通过显微观察发现发病沙田柚的维管形成层比感病品种具有更旺盛的分化能力, 可形成更多的次生韧皮部细胞, 且光合细胞合成和容纳淀粉的能力更强。更发达的韧皮部可缓解淀粉的局部累积, 这可能就是柚类植物较耐黄龙病的原因之一。

本研究发现沙田柚同样具有较高的黄龙病菌感染率, 在嫁接病穗330 d后全部植株均染病, 且高浓度黄龙病菌可影响沙田柚叶片症状、果实产量、内外品质和感官品质, 使叶片斑驳黄化、果实变小变轻、严重时果实畸形、果轴歪斜, 这些表现与前期关于沙田柚的田间调查结果相一致^[25-26]; 产量、品质、出汁率、可溶性固形物和维生素C含量显著下降, 酸含量升高, 该现象同样发生在砂糖橘、纽荷尔脐橙 *Citrus sinensis* Osbeck cv. Newhall、哈姆林甜橙 *Citrus sinensis* Osbeck cv. Hamlin、瓦伦西亚橙 *Citrus sinensis* Osbeck cv. Valencia、瓯柑 *Citrus reticulata* Blanco cv. Suavissima 等其他柑橘品种中^[6, 8, 10, 27-28]。其中, 可溶性固形物含量在沙田柚果实感官和品质鉴定中起关键作用, 直接影响甜度和苦味, 间接影响果汁含量^[29]。本研究发现果实时出汁率及感官和品质确实与可溶性固形物含量存在相关性, 随着可溶性固形物含量的降低, 果实时出汁率、甜味度、饱满度及综合风味明显下降, 酸味度和异味度加强, 食用感官明显变差。此外, 不同柑橘品种对黄龙病的反应存在差异, 可能与不同品种的果实品质和栽培环境存在差异有关, 因此需明确黄龙病对柚类植物树势、产量、果实内外品质、感官品质

的系统性影响, 从而深入研究柚类植物的耐性机制。

因柚类植物存在一定的黄龙病耐病性, 种植者往往对其发病情况关注较少, 也忽略了对传病媒介柑橘木虱的防治。虽然症状不明显的病树仍有一定的经济价值, 但这些带病植株有病原菌的侵染和分布, 可作为田间黄龙病菌的来源, 通过人为嫁接或虫媒自然传播感染其他健康植株, 并且随着发病程度的进一步加剧, 柚类植物的经济价值会受到严重影响, 甚至颗粒无收, 造成无法挽回的损失。因此, 在柚园管理的过程中, 应及时发现病株, 对其进行铲除或隔离, 并注意防控柑橘木虱, 以免病害扩散蔓延。

致谢: 感谢嘉应学院生命科学学院师生在部分植物材料收集上给予的支持与帮助!

参考文献:

- [1] REINKING O A. Diseases of economic plants in Southern China[J]. Philipp Agric, 1919, 8(4): 109-135.
- [2] 林孔湘. 柑橘黄梢(黄龙)病研究[J]. 植物病理学报, 1956, 2(1): 1-11.
- [3] BOVÉ J M. Huanglongbing: A destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus[J]. J Plant Pathol, 2006, 88(1): 7-37.
- [4] JAGOUIX S, BOVÉ J M, GARNIER M. The phloem-limited bacterium of greening disease of citrus is a member of the alpha subdivision of the Proteobacteria[J]. IJSB, 1994, 44(3): 379-386.
- [5] HALBERT S E, MANJUNATH K L. Asian citrus psyllids (Sternorrhyncha: Psyllidae) and greening disease in citrus: A literature review and assessment of risk in Florida[J]. Fla Entomol, 2004, 87: 330-354.
- [6] BASSANEZI R B, MONTESINO L H, STUCHI E S. Effects of Huanglongbing on fruit quality of sweet orange cultivars in Brazil[J]. Eur J Plant Pathol, 2009, 125(4): 565-572.
- [7] 王圣通, 鲍敏丽, 吴丰年, 等. 黄龙病对蕉柑果实品质影响的研究[J]. 中国南方果树, 2015, 44(4): 16-18.
- [8] 王圣通, 鲍敏丽, 许美容, 等. 黄龙病对纽荷尔脐橙果实品质的影响[J]. 广东农业科学, 2015, 42(14): 74-77.
- [9] 王圣通, 戴泽翰, 鲍敏丽, 等. 健康贡柑和感黄龙病贡柑果实品质比较[J]. 南方农业学报, 2015, 46(8): 1411-1414.
- [10] 王圣通, 郑正, 鲍敏丽, 等. 柑橘黄龙病对砂糖橘果实品质的影响[J]. 浙江农业学报, 2016, 28(1): 145-149.
- [11] 刘新华, 管宽生, 侯郁辉. 沙田柚黄龙病的发生及防治[J]. 植物检疫, 1997, 11(5): 269-270.
- [12] 刘登全, 崔朝宇, 蒋军喜, 等. 不同柑橘品种对黄龙病的抗性鉴定[J]. 江西农业大学学报, 2014, 36(1): 97-101.
- [13] 田亚南, 柯穗, 李韬, 等. 柚类果树叶片斑驳病的病原鉴定与检测[J]. 福建农业学报, 1999, 14(2): 17-24.

- [14] 田亚南,李韬,徐平东.应用电镜与PCR技术检测琯溪蜜柚黄龙病病原[J].*植物病理学报*,2000,30(1): 76-81.
- [15] 黄珍琼,温华英.做好梅县金柚黄龙病防控技术,促进柚果产业健康发展[J].*农业与技术*,2017,37(16): 211.
- [16] FOLIMONOVA S Y, ROBERTSON C J, GARNSEY S M, et al. Examination of the responses of different genotypes of citrus to Huanglongbing (citrus greening) under different conditions[J]. *Phytopathology*, 2009, 99(12): 1346-1354.
- [17] LI W B, HARTUNG J S, LEVY L. Quantitative real-time PCR for detection and identification of *Candidatus Liberibacter* species associated with citrus Huanglongbing[J]. *J Microbiol Meth*, 2006, 66: 104-115.
- [18] 邵权,蔡红,陈海如.柑橘小叶病植原体的分子检测及鉴定[J].*云南大学学报*,2008,30(S1): 69-72.
- [19] 王学奎.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2006: 267-268.
- [20] OBENLAND D, COLLIN S, MACKEY B, et al. Storage temperature and time influences sensory quality of mandarins by altering soluble solids, acidity and aroma volatile composition[J]. *Postharvest Biol Tec*, 2011, 59(2): 187-193.
- [21] COHEN A. Recent developments in girdling of citrus trees[C]//Proceedings of the International Society of Citriculture. California, Riverside: International Society of Citriculture, 1982: 196-199.
- [22] SCHAFFER A A, LIU K C, GOLDSCHMIDT E E, et al. Citrus leaf chlorosis induced by sink removal: Starch, nitrogen, and chloroplast ultrastructure[J]. *J Plant Physiol*, 1986, 124(1): 111-121.
- [23] LI C Y. Girdling affects carbohydrate-related gene expression in leaves, bark and roots of alternate-bearing citrus trees[J]. *Ann Bot*, 2003, 92(1): 137-143.
- [24] 戴泽翰,吴丰年,郑正,等.沙田柚耐黄龙病的机理研究[C]//2017中国植物病理学会学术年会论文集.泰安:中国植物病理学会,2017: 307.
- [25] 单振菊,郭恒,冯震,等.沙田柚黄龙病病原β-操纵子DNA片段的克隆与序列分析[J].仲恺农业技术学院学报,2005,18(4): 45-48.
- [26] 冯震,单振菊,周根,等.沙田柚黄龙病病原16S rDNA片段的克隆与序列分析[J].基因组学与应用生物学,2006,25(2): 107-110.
- [27] DAGULOL L, DANYLUK M D, SPANN T M, et al. Chemical characterization of orange juice from trees infected with citrus greening (Huanglongbing)[J]. *J Food Sci*, 2010, 75(2): 199-207.
- [28] RAITHORE S, DEA S, PLOTTO A, et al. Effect of blending Huanglongbing (HLB) disease affected orange juice with juice from healthy orange on flavor quality[J]. *LWT-Food Sci Technol*, 2015, 62(1): 868-874.
- [29] 曾宪录,林文健,吴广霞,等.沙田柚感官品质的定量描述分析研究[J].*广东农业科学*,2019,46(6): 23-29.

【责任编辑 霍 欢】