

柑橘果实乙烯褪绿技术研究进展

尹保凤¹, 曾凯芳^{1,2}, 张昭其³, 邓丽莉^{1,2,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.西南大学 国家食品科学与工程实验教学中心, 重庆 400715;

3.华南农业大学园艺学院, 广东 广州 510642)

摘 要: 果皮色泽及其均匀性是柑橘外观品质的两个主要指标。为了避免一些果皮果肉不能同步成熟的早熟或早采柑橘果实采收后存在的果皮着色差问题, 目前, 国内外在生产上普遍采用乙烯对上述柑橘果实进行褪绿处理。本文对柑橘果实乙烯褪绿技术的参数条件、褪绿机理、影响因素、对品质的影响, 以及存在的问题和可能的解决方法等方面的研究进展进行综述, 为柑橘果实乙烯褪绿技术的进一步优化提供一定的理论参考依据。

关键词: 柑橘; 乙烯; 褪绿处理; 着色; 品质

Advances in Ethylene Degreening Treatment of Citrus Fruits

YIN Baofeng¹, ZENG Kaifang^{1,2}, ZHANG Zhaoqi³, DENG Lili^{1,2,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. National Food Science and Engineering Experimental Teaching Center, Southwest University, Chongqing 400715, China;

3. College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: The skin color and its uniformity are two main indicators of the appearance quality of citrus fruits. However, the peels and pulps of some early-season or earlier harvested citrus fruits are often mature with acceptable eating quality while the rind is still green. In order to improve the external skin color and the export market acceptance, citrus fruit are usually treated with ethylene (a degreening agent) in the citrus industry in both China and abroad. This paper reviews the recent advances in citrus degreening by ethylene treatment with respect to parameter conditions, degreening mechanism, influencing factors, its impact on the quality of citrus and the existing problems as well as possible solutions. Therefore, this review will provide a theoretical reference for further optimization of ethylene degreening treatment of citrus fruits.

Key words: citrus; ethylene; degreening treatment; color formation; quality

中图分类号: TS255

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630 (2015) 03-0245-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201503047

柑橘 (*Citrus sinensis* L.) 营养价值丰富, 含有多种人体所需的功能成分, 在我国农业经济中占有十分重要的地位。果皮色泽是柑橘的主要外观品质指标之一, 也是消费者衡量柑橘果实可接受性 (新鲜、适口性和营养价值) 的主要参数^[1-3]。一些柑橘早熟品系, 如佛罗里达州的“Navels”、“Grapefruit”和“Tangelos”, 多存在着果肉和果皮不能同步成熟的问题^[4-5], 当果肉的色泽及风味都达到消费要求时, 果皮仍为绿色或只有3~4成泛黄^[5-7]。另外, 生长在温带气候条件下的柑橘, 如我国浙江地区的椪柑, 果皮着色时间晚而且着色程度比较弱^[7-8]。为了避免低温对果实造成的危害, 这类柑橘果

实通常在果皮充分着色前就已经被采收。虽然上述两类果实采收时果肉已经达到市场的成熟度需求, 但由于果皮中叶绿素仍然存在, 类胡萝卜素积累不足, 果皮着色较差, 在外观上不能满足消费者的消费心理, 从而影响其经济效益^[9-10]。为了促进这些柑橘果皮的转色, 减少早采损失、提高果实的商品性, 商业上通常对上述柑橘果实进行乙烯褪绿处理, 以加速果皮中叶绿素的分解, 促进类胡萝卜素的积累, 从而改善果实的外观品质^[11-12]。本文将综述近年来国内外学者在柑橘果实乙烯褪绿技术的机理、影响因素、对果实品质的影响等方面的研究进展及存在的问题。

收稿日期: 2014-03-26

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金项目 (SWU113047); 重庆市科技攻关 (应用技术研发类/重点) 项目 (cstc2012gg-yyjsB80003); 重庆市博士后科研项目特别资助项目 (Xm2014106); 国家自然科学基金青年科学基金项目 (31401540)

作者简介: 尹保凤 (1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为食品生物技术。E-mail: swuyinbaofeng@163.com

*通信作者: 邓丽莉 (1983—), 女, 讲师, 博士, 研究方向为果蔬采后生理与生物技术。E-mail: denglili_361@163.com

1 柑橘果实乙烯褪绿处理方法

佛罗里达地区采用特制的褪绿设施对柑橘果实进行褪绿处理，推荐的乙烯气体褪绿处理条件为：温度28~29℃，相对湿度90%~95%。在这个条件下，3~5 μL/L的乙烯可以达到最大褪绿速率。温度过高和过低都不利于果皮的褪绿。此外，CO₂体积分数达到0.1%时会降低褪绿速率，达到1.0%以上时，褪绿几乎终止，通过通风换气可以降低褪绿过程中环境中的CO₂含量。适当的空气流速（视设备而定）是保证褪绿过程中果实表面温度、湿度和乙烯浓度均匀的必要措施^[13]。但由于乙烯常温下是气体，易挥发，难溶于水，且易燃，使用时对设备的气密性等方面要求较高。国内在生产上多采用乙烯释放剂——乙烯利（2-氯乙基膦酸）对柑橘果实进行褪绿处理^[10]，但是不同的柑橘品种其适用的乙烯利处理剂量不同。表1为几种常见柑橘品种的乙烯褪绿处理方法。

表1 不同柑橘品种乙烯处理方法
Table 1 Ethylene degreening methods for different citrus varieties

柑橘品种	方式	处理剂量	处理时间	温度/℃	相对湿度/%	参考文献
“Carrizo” 枳橙	熏蒸	3 μL/L	72 h	20~22	>90	[14]
“Nules Clementine” 柑橘	熏蒸	2 μL/L	72 h	23	95	[15]
“Michal” 蜜橘	熏蒸	4 μL/L	48 h	20	—	[8]
“Lee×Orlando” / “Fallglo” 柑橘	熏蒸	(5±0.5) μL/L	24 h	27±0.04	—	[7]
“Navel” 柑橘	熏蒸	4 μL/L	48/72 h	20	—	[16]
椪柑	熏蒸	5~10 μL/L	48 h	28±1	—	[10]
	浸泡	1 000 mg/L	1 min	10	—	

2 乙烯促进柑橘果实果皮褪绿转色的机理

虽然柑橘为非呼吸跃变型果实，但柑橘果实对外源乙烯处理具有明显的响应。不同柑橘品种对乙烯褪绿处理的敏感性不同。果实内源乙烯信号转导和生物合成相关基因的表达差异决定了“Fallglo”和“Lee×Orlando”柑橘果实褪绿性能的差别^[7]。转录组学分析结果表明，乙烯处理72 h内，在蜜橘果实（*Citrus unshiu* Marc.）中检测到1 493 个对乙烯处理有明显响应的基因（>3 倍）。乙烯处理抑制了大部分光合作用、与糖代谢相关基因的表达，以及与果实诱导抗性、防御反应、氨基酸合成、蛋白质降解和次生代谢相关的一些基因的表达。大部分乙烯生物合成相关基因和信号转导元件对外源乙烯处理无显著响应（<2 倍）。成熟果实中，与其他两类 I 型乙烯受体（*CsETR1*和*CsERS1*）相比，II 型乙烯受体（*ETR2*）对乙烯高度敏感。外源乙烯处理后，1-氨基环丙烷-1-羧酸（1-aminocyclopropanecarboxylic acid, ACC）氧化酶基因（*CsACO1*）和*ETR2*表达水平上调2 倍以上，表明*ETR2*可能与成熟果实对低浓度乙烯的敏感性有关^[17]。

从果实着色角度看，外源乙烯对柑橘果实的褪绿作用涉及果实叶绿素的降解和类胡萝卜素的合成积累两个方面。外源乙烯处理后，柑橘果实叶绿素降解和类胡萝卜素合成加速，果皮颜色由绿色变为果实成熟时特有的橙黄色^[18-20]。柑橘果实成熟过程中，果皮叶绿素含量逐渐减少，乙烯处理加速这一过程。乙烯通过激活叶绿素酶基因表达及其活性诱导叶绿素分解。Trebitsh等^[21]用80 mL/L乙烯处理成熟的绿色“Valencia”柑橘，24 h和72 h后其叶绿素酶活性分别增加5 倍和12 倍。7 d后，对照组果实中没有检测到叶绿素蛋白，而乙烯处理24 h后的果实中则发现了叶绿素蛋白的合成，这表明外源乙烯在触发叶绿素酶基因表达和蛋白质合成的过程中起重要作用^[7]。叶绿素酶活性的增加幅度因柑橘品种不同而异。乙烯处理后，温州蜜橘的叶绿素酶活力最大增加了18 倍^[22]，四季橘的叶绿素酶活力最大增大了3 倍^[23]，红橘是4 倍^[24]，而脐橙则是5 倍^[21]，但是由于乙烯处理的剂量和时间不同，不同柑橘品种间因叶绿素酶响应不同而无法进行比较^[7]。乙烯处理后，“Satsuma”蜜橘果实叶绿体数目减少且叶绿体迅速变小，其内膜系统在其他单元结构解体之前瓦解，层状和基粒膜双层结构降解，膜层分离^[19]。叶绿素降解产物中，乙烯处理柑橘果皮中脱植基叶绿素含量没有下降，而自然成熟柑橘果皮中该物质含量显著下降，且在自然成熟果实中检测到少量焦脱镁叶绿酸a（pyropheophorbide a）^[4]。在自然成熟和乙烯褪绿处理椪柑果实中，组织中叶绿素a/b结合蛋白基因（*CitCAB1*、*CitCAB2*）的下调表达与果实叶绿素含量减少高度相关。自然成熟果实中，*CitCABs*以及*CitPao*和*CitChlase*表达下调。乙烯加速椪柑果实褪绿的过程中，*CitCABs*的表达水平更低，从而促进了结合态叶绿素分子向游离态的转化。而叶绿素降解相关基因*CitChlase*和*CitNYC*转录水平的增加则进一步促进了叶绿素的降解^[25]。

在蜜橘类胡萝卜素代谢过程中，不同的类胡萝卜素生物合成基因对外源乙烯处理的敏感度和响应方式不同，外源乙烯可能改变这些基因转录水平的平衡，进而影响果实类胡萝卜素的代谢^[17]。乙烯褪绿处理对果实部分类黄酮单组分有影响，但对总含量无影响^[6]。Rodrigo等^[26]研究表明，外源乙烯处理会刺激“Navelate”脐橙果皮中八氢番茄红素、六氢番茄红素、(9Z)-紫黄质和β-橙色素的含量增加（这3 类物质是晚熟柑橘果皮的主要类胡萝卜素），乙烯对上述物质代谢相关基因表达的影响与物质含量的变化一致。乙烯处理特异性地增加类胡萝卜素裂解双加氧酶基因（*CitCCD1*、*CitNCED2*）的表达水平，其表达量最大时为对照组果实的39 倍。其最大响应值出现在乙烯处理后24 h时，并且直到72 h时，该基因仍保持一个高的转录水平。24 h内，八氢番茄红素合酶基因（*CitPSY*），β-羟化酶基因（*CitHYb*）和ζ-胡萝卜素脱

氢酶基因 (*CitZDS*) 表达也上调, 而玉米黄质环氧酶基因 (*CitZEP*) 表达水平未受乙烯处理影响。上述基因表达水平的变化可进一步解释乙烯处理后紫黄质等类胡萝卜素含量的变化^[17]。而能够延缓乙烯褪绿效果的赤霉素处理, 抑制了乙烯诱导的类胡萝卜素生物合成相关基因的表达和八氢番茄红素、六氢番茄红素及 β -橙色素的积累^[26]。乙烯或乙烯利处理优先刺激柑桔中类胡萝卜素中橘色物质 (β -胡萝卜素、 β -隐黄质) 的积累; 减少类胡萝卜素中黄色色素 (叶黄素、紫黄质和9-cis-紫黄质) 的含量。乙烯处理抑制 β -胡萝卜素羟化酶活性, 与上述物质含量变化对应^[10]。对于不同品种的柑桔果实, 乙烯处理对 β -胡萝卜素、紫黄质和9-cis-紫黄质的影响不同。

3 影响柑桔果实乙烯褪绿效果的因素

乙烯对柑桔果实的褪绿效果依赖于乙烯处理过程的多种因素, 包括乙烯处理的剂量、环境的温度和相对湿度、以及柑桔的品种和处理时果实的成熟度等。柑桔果皮褪绿速率随乙烯利剂量增大而提高, 但高剂量之间的差异不显著。温度对柑桔果皮着色和类胡萝卜素积累的作用已得到广泛研究。果实生长期, 温和的昼温和冷凉的夜温及土壤温度是柑桔果皮叶绿素降解和类胡萝卜素合成的最佳温度条件^[27]。研究表明, 柑桔果皮黄皮层的类胡萝卜素积累的最适温度为15~25℃^[28]。且温度对柑桔果皮类胡萝卜素积累的作用存在组织依赖性。在无外源乙烯存在情况下, 20℃贮藏可迅速增加黄皮层类胡萝卜素含量, 而对果汁中类胡萝卜素含量则无明显影响。而5℃和30℃条件下贮藏能够逐步降低果汁中类胡萝卜素的含量, 且能够缓慢增加果皮类胡萝卜素含量^[20]。低温冷激能够促进蜜橘果实着色, 乙烯褪绿处理后, 低温运输能够抑制果皮色素的变化^[29]。适宜的低温条件有利于运输果实色泽的保持, 温度过高或过低均会加剧果实类胡萝卜素降解^[29]。此外, 以乙烯利作为处理方式时, 环境温度在20~25℃范围内有利于乙烯的释放。商业上建议乙烯褪绿时给予较高的相对湿度 (90%~95%), 且此湿度条件能够延缓褪绿柑桔果实褐斑病的发生。除葡萄柚外, 湿度不会延缓柑桔果实的褪绿过程^[13]。

果实处理时的成熟度是决定乙烯褪绿着色效果的重要因素之一。Rodrigo等^[26]研究指出, 乙烯对成熟阶段采收的柑桔果实的类胡萝卜素积累以及叶绿素酶基因表达的影响, 较对成熟早期采收的果实影响更显著; (5±0.5) $\mu\text{L/L}$ 乙烯利处理24 h对在成熟中期采收的“Fallglo”果实叶绿素酶基因表达和总叶绿素降解的影响, 较对在成熟初期采收的果实影响更显著^[7]。在夏橙转黄期可以用乙烯促进果皮转黄着色, 而在果实返青期

利用乙烯处理果实则不能达到褪绿的效果^[30]。柑桔果实对外源乙烯的响应也因品种不同而不同: 大部分果实差别不大, 部分果实差异明显^[31]。Kitagawa等^[31]报道了7种柑桔品种乙烯褪绿效果的差异。在同一褪绿条件下, 7个柑桔品种的叶绿素降解速率不同, 叶绿素酶的合成和活性因品种不同而对乙烯的响应有所差异; 外源乙烯处理后, 在相似的成熟度条件下, “Fallglo”柑桔比“Lee×Orlando”颜色变化的初始速率快^[7]。此外, 在柑桔果实乙烯褪绿过程中, 达到预期果皮颜色所需的时间也是影响果皮着色重要因素之一。该时间主要取决于处理果实的品种和处理时果实的颜色 (由果实的成熟度和果园的条件决定)^[5]。因此, 在进行乙烯褪绿处理时, 应根据果实成熟度不同和对乙烯的敏感性不同, 选择不同的褪绿处理时间^[5]。

4 乙烯褪绿处理对柑桔果实贮藏品质的影响

大量研究表明, 商业化的外源乙烯褪绿处理方式, 在改善早熟柑桔果实外部品质 (着色等) 的同时, 不会引起果实内部营养价值的损失。1~5 $\mu\text{L/L}$ 剂量范围内, 乙烯褪绿处理在促进柑桔果皮着色的同时, 对果实品质无显著影响^[32-33]。为了判断乙烯褪绿是否影响柑桔果实的内部品质, 有研究报道了乙烯对脐橙、“红宝石”西柚和温州蜜橘在内的柑桔品种口感、香气、风味及其营养物质含量的影响, 外源乙烯加快所有受试品种果实果皮转色并提高果实呼吸作用及乙烯产生速率; 但是乙烯褪绿对柑桔果汁可溶性固形物和酸含量没有影响, 对果汁含量和芳香挥发成分有轻微影响; 此外, 感官分析测试结果表明, 乙烯褪绿不影响柑桔和西柚的风味, 但在20℃贮存5 d会部分地影响柑桔感官接受度。乙烯褪绿不会使果实产生异味或积累异味挥发物, 对如VC、总酚和类黄酮这些对健康有益的化合物的含量, 以及柑桔汁的抗氧化活性水平也没有任何影响。因此, 乙烯不参与柑桔类水果的内部成熟机制, 不会影响内部果实品质^[16]。另外, Sdiri等^[6]对经乙烯褪绿处理的多个早熟柑桔品种的品质进行研究, 在乙烯褪绿处理、冷藏和货架期等不同时期, 乙烯褪绿处理对果实的抗氧化能力相关指标1,1-二苯基-2-三硝基苯肼 (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, DPPH) 自由基清除能力、铁离子还原/抗氧化力 (ferric reducing antioxidant potential assay, FRAP)、VC和总酚含量等没有不良影响。

20世纪八九十年代, 我国科研工作者对以乙烯利为主要处理手段的柑桔乙烯褪绿技术进行了大量研究。对不同主栽柑桔品种乙烯利采前和采后处理的方式、处理剂量、时机和处理条件等进行了研究。结果表明, 乙烯利处理 (特别是乙烯利结合2,4-二氯苯氧乙酸

(2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D)等试剂)在促进柑橘果实着色的同时,能够促进果实可溶性固形物的积累和酸的降低,从而改善果实品质^[34-36]。此外,乙烯利结合活性炭^[37]、“果彤红”等矿质叶面肥^[38],在改善乙烯利褪绿效果方面的研究也有报道。

5 柑橘乙烯褪绿技术存在的问题

乙烯通过加快果实呼吸速率等作用加速柑橘果实衰老^[3]。采后乙烯褪绿处理会导致果实失水、果蒂的褐变和脱落、增加果实的冷害症状和腐烂指数等^[39-42]。由蒂腐真菌 *Diplodia natalensis* 引起的蒂腐病多发生于花萼和花盘表面的坏死组织^[40],且该病原菌多在果实采收时附着于果实表面。而乙烯褪绿处理可促进果蒂的脱落和蒂腐真菌的侵入^[43]。当褪绿过程使用的乙烯剂量高于所需剂量时,蒂腐病发病率明显增加。商业化的乙烯处理过程中,使用的乙烯剂量通常超过降解叶绿素所需的剂量,因而可能引起蒂腐病的发生导致经济损失。该病是部分柑橘产区乙烯褪绿鲜食柑橘的主要采后病害,该病害的发生可能与脱落相关酶多聚半乳糖醛酸酶 (polygalacturonase, PG) 和纤维素酶 (cellulase, CX) 活性正相关^[44],且由于这些酶的作用,果蒂离层内大量细胞降解^[45]。这些不良影响主要是与不合适的褪绿工艺条件相关,且处理时间越长越容易产生不良影响^[5,46]。

生长素类物质,如2,4-D、2-(2,4-二氯苯氧基)丙酸 (2-(2,4-dichlorophenoxy) propionic acid, 2,4-DP) 或3,5,6-三氯-2-吡啶氧乙酸 (3,5,6-trichloro-2-pyridyloxyacetic acid, 3,5,6-TPA),在采前被橘农广泛用于增加果实大小、出汁率、糖酸含量,防止果实脱落和衰老,以及控制皱果和裂果的产生等^[47-48]。褪绿前2,4-D或硫代硫酸银 (silver thiosulfate, STS) 处理能显著抑制果实中蒂腐病的发生^[45]。噻苯咪唑 (thiabendazole, TBZ)、抑霉唑 (imazalil) 或2,4-D,结合尽可能低的乙烯处理剂量 (达到脱绿效果),在控制该病害发生方面也均具有明显的效果^[34]。其中,2,4-D在控制果实蒂腐病发病的同时,还能够降低乙烯褪绿处理引起的果实质量损失、延缓乙烯褪绿引起的果蒂衰老、褐变和脱落,进而保持果实的品质^[39-40,49],在柑橘果实褪绿生产中得到广泛应用。转录组学和蛋白组学的研究表明,2,4-D处理通过调控柑橘果实的成熟衰老、激素水平、抗逆能力和信号分子水平,维持果皮较高的木质素含量,从而达到上述作用^[49]。然而,由于2,4-D对人体健康和环境安全性的影响,以及2,4-D生产上的使用常造成果实着色不均等问题,在很多国家,2,4-D在柑橘产业中的采后应用是禁止的^[49],欧盟已经立法限制其使用^[43]。

国内外针对柑橘果实新的褪绿技术已经进行了许多

研究。目前大量相关研究主要集中在三方面,即减少外源乙烯处理时间和新的褪绿技术的研究^[5],以及为减少果蒂萼片衰老和改善果实品质而进行的生长素类物质的应用研究^[39,50]。Tietel等^[51]采用高温结合乙烯处理柑橘果实,通过高温的降酸作用和乙烯的褪绿作用,实现对果实品质和着色的双重改善。但是该过程引起果实的质量损失较为严重。2007年以来, HF-Calibra[®]作为一种植物生长调节物质被注册用于果实的采前处理, Sdiri等^[44]用其研究早熟柑橘品种褪绿过程中果蒂萼片的衰老,发现货架期后,不同剂量的 HF-Calibra[®]均能够显著减轻乙烯褪绿处理对柑橘花萼衰老的影响,甚至比2,4-D效果更好,并且其对果实的着色无不良影响。且10、20、40、60 mL/L HF-Calibra[®]对果实的质量损失和感官品质 (硬度、可溶性固形物、可滴定酸、乙醛、乙醇含量和果实风味) 均无影响。Sdiri等指出其可作为2,4-D的替代品在柑橘果实褪绿和品质保持方面进行应用。

6 结 语

外源乙烯在促进柑橘果皮褪绿转色的同时,不参与果实内部成熟机制,对果肉内部品质无显著不良影响,在解决柑橘果肉果皮不同步成熟问题方面具有重要作用。目前,相关研究已初步明确其促进柑橘果皮褪绿转色的机理,但柑橘果皮乙烯褪绿过程受多种因素影响,针对乙烯褪绿处理带来的失水、果蒂脱落和蒂腐病等负面作用,传统上广泛应用的2,4-D等辅助处理手段的应用限制不可避免,且目前尚没有可以有效替代2,4-D的安全处理方式,有必要寻求新的可以作为2,4-D替代品的活性物质。此外,为了更好地利用乙烯褪绿处理对柑橘果实果皮色泽形成方面的作用,需要进一步开展乙烯的合成、代谢及其调控机理的研究。

参考文献:

- [1] BAPAT V A, TRIVEDI P K, GHOSH A, et al. Ripening of fleshy fruit: molecular insight and the role of ethylene[J]. Biotechnology Advances, 2010, 28(1): 94-107.
- [2] HAISMAN D R, CLARKE M W. The interfacial factor in the heat-induced conversion of chlorophyll to pheophytin in green leaves[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1975, 26(8): 1111-1126.
- [3] CATARINA C P, SALVADOR A, NAVARRO P, et al. Effect of auxin treatments on calyx senescence in the degreening of four mandarin cultivars[J]. HortScience, 2008, 43(3): 747-752.
- [4] YAMAUCHI N, AKIYAMA Y, KAKO S, et al. Chlorophyll degradation in Wase satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruit with on-tree maturation and ethylene treatment[J]. Scientia Horticulturae, 1997, 71(1): 35-42.
- [5] SDIRI S, NAVARRO P, MONTERDE A, et al. New degreening treatments to improve the quality of citrus fruit combining different periods with and without ethylene exposure[J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 63(1): 25-32.

- [6] SDIRI S, NAVARRO P, MONTERDE A, et al. Effect of postharvest degreening followed by a cold-quarantine treatment on vitamin C, phenolic compounds and antioxidant activity of early-season citrus fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2012, 65: 13-21.
- [7] JOHN-KARUPPIAH K J, BURNS J K. Degreening behavior in 'Fallglo' and 'Lee×Orlando' is correlated with differential expression of ethylene signaling and biosynthesis genes[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2010, 58(3): 185-193.
- [8] MAYUONI L, SHARABI-SCHWAGER M, FELDMESSER E, et al. Effects of ethylene degreening on the transcriptome of mandarin flesh[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 60(2): 75-82.
- [9] JOHN-KARUPPIAH K J, BURNS J K. Expression of ethylene biosynthesis and signaling genes during differential abscission responses of sweet orange leaves and mature fruit[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 2010, 135(5): 456-464.
- [10] ZHOU Jingyi, SUN Chongde, ZHANG Lanlan, et al. Preferential accumulation of orange-colored carotenoids in Ponkan (*Citrus reticulata*) fruit peel following postharvest application of ethylene or ethephon[J]. *Scientia Horticulturae*, 2010, 126(2): 229-235.
- [11] POOLE N D, GRAY K. Quality in citrus fruit: to degreen or not degreen?[J]. *British Food Journal*, 2002, 104(7): 492-505.
- [12] SDIRI S, NAVARRO P, BEN ABDA J, et al. Antioxidant activity and vitamin C are not affected by degreening treatment of Clementine mandarins[J]. *Acta Horticulturae*, 2010, 37: 893-900.
- [13] RITENOUR M, MILLER W M, WARDOWSKI W F. Recommendations for degreening Florida fresh citrus fruits[DB/OL]. University of Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, EDIS, 2003. <http://edis.ifas.ufl.edu/hs195>.
- [14] CRONJE P J R, BARRY G H, HUYSAMER M. Postharvest rind breakdown of 'Nules Clementine' mandarin is influenced by ethylene application, storage temperature and storage duration[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 60(3): 192-201.
- [15] BARRY G H, van WYK A A. Low-temperature cold shock may induce rind colour development of 'Nules Clementine' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2006, 40(1): 82-88.
- [16] MAYUONI L, TIETEL Z, PATIL B S, et al. Does ethylene degreening affect internal quality of citrus fruit?[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 62(1): 50-58.
- [17] FUJII H, SHIMADA T, SUGIYAMA A, et al. Profiling ethylene-responsive genes in mature mandarin fruit using a citrus 22K oligoarray[J]. *Plant Science*, 2007, 173(3): 340-348.
- [18] IGLESIAS D J, CERCÓS M, COLMENERO-FLORES J M, et al. Physiology of citrus fruiting[J]. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 2007, 19(4): 333-362.
- [19] SHEMER T A, HARPAZ-SAAD S, BELAUSOY E, et al. Citrus chlorophyllase dynamics at ethylene-induced fruit color-break: a study of chlorophyllase expression, post-translational processing kinetics, and *in situ* intracellular localization[J]. *Plant Physiology*, 2008, 148: 108-118.
- [20] MATSUMOTO H, IKOMA Y, KATO M, et al. Effect of postharvest temperature and ethylene on carotenoid accumulation in the flavedo and juice sacs of Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) fruit[J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2009, 57(11): 4724-4732.
- [21] TREBITSH T, GOLDSCHMIDT E E, RIOV J. Ethylene induces de novo synthesis of chlorophyllase, a chlorophyll degrading enzyme, in citrus fruit peel[J]. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90(20): 9441-9445.
- [22] SHIMOKAWA K, SAKANOSHITA A, HORIBA K. Ethylene-induced changes of chloroplast structure in Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.)[J]. *Plant Cell Physiology*, 1978, 19(2): 229-236.
- [23] PURVIS A C, BRAMORE C R. Involvement of ethylene in chlorophyll degradation in peel of citrus fruits[J]. *Plant Physiology*, 1981, 68(4): 854-856.
- [24] AMIR-SHAPIRA D, GOLDSCHMIDT E E, ALTMAN A. Chlorophyll catabolism in senescing plant tissues: *in vivo* breakdown intermediates suggest different degradative pathways for citrus fruit and parsley leaves[J]. *Proceeding of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1987, 84(7): 1901-1905.
- [25] PENG Gang, XIE Xiulan, JIANG Qian, et al. Chlorophyll a/b binding protein plays a key role in natural and ethylene-induced degreening of Ponkan (*Citrus reticulata* Blanco)[J]. *Scientia Horticulturae*, 2013, 160: 37-43.
- [26] RODRIGO M J, ZACARIAS L. Effect of postharvest ethylene treatment on carotenoid accumulation and the expression of carotenoid biosynthetic genes in the flavedo of orange (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fruit [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2007, 43(1): 14-22.
- [27] YOUNG L B, ERICKSON L C. Influences of temperature on color change in Valencia oranges[J]. *Proceeding American Society of Horticultural Science*, 1961, 78: 197-200.
- [28] WHEATON T A, STEWART I. Optimum temperature and ethylene concentration for postharvest development of carotenoid pigments in citrus[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1973, 98: 337-340.
- [29] van WYK A A, HUYSAMER M, BARRY G H. Extended low-temperature shipping adversely affects rind colour of 'Palmer Navel' sweet orange [*Citrus sinensis* (L.) Osb.] due to carotenoid degradation but can partially be mitigated by optimising post-shipping holding temperature[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2009, 53(3): 109-116.
- [30] 孟祥春, 高子祥, 张昭其, 等. 夏橙果实发育后期及返青期类胡萝卜素积累及乙烯的调控[J]. *中国农业科学*, 2011, 44(3): 538-544.
- [31] KITAGAWA H, KAWADA K, TARUTANI T. Effectiveness of ethylene degreening of certain citrus cultivars[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1978, 103(1): 113-115.
- [32] PETRACEK P D, MONTALVO L. The degreening of 'Fallglo' tangerine[J]. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 1997, 122(4): 547-552.
- [33] UQUERELLA J, SALVADOR A, MARTÍNEZ-JÁVEGA J M, et al. Effect of quarantine cold treatment on early-season Spanish mandarins[J]. *Acta Horticulturae*, 2005, 32: 743-747.
- [34] MESEJO C, ROSITO S, REIG C, et al. Synthetic auxin 3,5,6-TPA provokes *Citrus clementina* (Hort. ex Tan) fruitlet abscission by reducing photosynthate availability[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2012, 31(2): 186-194.
- [35] AGUSTI M, JUAN M, MARTINEZ-FUENTES A, et al. Application of 2,4-dichlorophenoxypropionic acid 2-ethylhexyl ester reduces mature fruit abscission in citrus navel cultivars[J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2006, 81(3): 532-536.
- [36] AGUSTI M, JUAN M, ALMELA V. Response of 'Clausellina' Satsuma mandarin to 3,5,6-trichloro-2-pyridyloxyacetic acid and fruitlet abscission[J]. *Plant Growth Regulation*, 2007, 53(2): 129-135.
- [37] 柳建良, 丘苑新, 何国芝, 等. 乙烯利和活性炭处理对德庆贡柑采后生理和贮藏性能的影响[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(12): 4854-4856.
- [38] 夏冰. 乙烯利和“果彤红”矿质叶面肥浓度对金橘果实催熟着色的协同效应[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(1): 68-69; 72.
- [39] COHEN E. The effect of temperature and relative humidity during degreening on the coloring of Shamouti orange fruit[J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 1978, 53: 143-146.
- [40] CRONJÉ P J R, CROUCH E M, HUYSAMER M. Postharvest calyx retention of citrus fruit[J]. *Acta Horticulturae*, 2005, 32: 369-374.
- [41] SALVADOR A, NAVARRO P, MONTERDE A, et al. Postharvest application of auxins to control calyx senescence in clementines submitted to degreening treatment[J]. *Proceedings International Society Citriculture*, 2008, 11: 1377-1382.
- [42] SALVADOR A, SDIRI S, NAVARRO P, et al. The use of auxins to maintain postharvest quality of citrus fruit[J]. *Acta Horticulturae*, 2010, 37: 671-677.
- [43] BROWN G E, WILSON W C. Mode of entry of *Diplodia natalensis* and *Phomopsis citri* into Florida oranges[J]. *Phytopathology*, 1968, 58(6): 736-739.
- [44] SDIRI S, NAVARRO P, SALVADOR A. Postharvest application of a new growth regulator reduces calyx alterations of citrus fruit induced by degreening treatment[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2013, 75: 68-74.
- [45] RIOV J. A polygalacturonase from citrus leaf explants role in abscission[J]. *Plant Physiology*, 1974, 53(2): 312-316.
- [46] BROWN G E, BURNS J K. Enhanced activity of abscission enzymes predisposes oranges to invasion by *Diplodia natalensis* during ethylene degreening[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 1998, 14: 217-227.
- [47] CARVALHO C P, SALVADOR A, NAVARRO P, et al. Effect of auxin treatments on calyx senescence in the degreening of four mandarin cultivars[J]. *HortScience*, 2008, 43(3): 747-752.
- [48] GREENBERG J, KAPLAN I, FAIZACK M, et al. Effects of auxins sprays on yield, fruit size, fruit splitting and the incidence of increasing of 'Nova' mandarin[J]. *Acta Horticulturae*, 2006, 33: 249-254.
- [49] ZHANG Jiuxu. Effect of ethylene on natural resistance of citrus fruit to stem-end rot caused by *Diplodia natalensis* and its relation to postharvest control of this decay[J]. *Proceedings of the Florida State Horticultural Society*, 2004, 117: 364-367.
- [50] MA Qiaoli, DING Yudian, CHANG Jiwei, et al. Comprehensive insights on how 2,4-dichlorophenoxyacetic acid retards senescence in post-harvest citrus fruits using transcriptomic and proteomic approaches[J]. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 65(1): 61-74.
- [51] TIETEL Z, WEISS B, LEWINSOHN E, et al. Improving taste and peel color of early-season Satsuma mandarins by combining high-temperature conditioning and degreening treatments[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2010, 57(1): 1-5.