

‘红阳’猕猴桃果实花青素含量变化及环剥和 ABA 对其形成的影响

刘仁道^{1*}, 黄仁华¹, 吴世权², 余中树², 李新贤³

(¹西南科技大学生命科学与工程学院, 四川绵阳 621010; ²四川苍溪县猕猴桃研究所, 四川苍溪 628400; ³日本青旗株式会社果品加工研究中心, 日本广岛 729-2392)

摘要: 以‘红阳’猕猴桃为试材, 研究了果实发育过程中花青素含量的变化及环剥结果枝和喷施 ABA 对果实花青素含量的影响。结果表明, 6月5日红阳猕猴桃果实中已检测出花青素, 7月27日—8月22日花青素含量增长速度最快, 9月4日达到最大值, 之后开始下降; 环剥结果枝能显著增加果实花青素含量, 且在环剥宽度为结果枝直径 1/3 ~ 1/1 范围内增幅随环剥宽度的增加而增加; 喷施 ABA 也显著增加果实花青素含量, 且在 500 ~ 3 000 mg · L⁻¹ 范围内, 处理浓度越大效果越明显。

关键词: 猕猴桃; 花青素; 环剥; ABA

中图分类号: S 663.4; Q 945 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2009) 06-0793-06

Changes of Anthocyanin Content in Hongyang Kiwifruits and Effects of Girdling and ABA on Its Accumulation

LIU Ren-dao^{1*}, HUANG Ren-hua¹, WU Shi-quan², YU Zhong-shu², and LI Xin-xian³

(¹College of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang, Sichuan 621002, China; ²The Kiwifruit Institute of Cangxi County, Sichuan Province, Cangxi, Sichuan 628400, China; ³Fruit Processing Research Center, Aohata Corporation, Hiroshima 729-2392, Japan)

Abstract: The changes of anthocyanin content and the influences of girdling and spraying abscisic acid (ABA) on anthocyanin content in kiwifruits (*Actinidia chinensis* ‘Hongyang’) were studied. The anthocyanin could be detected on June 5, and the anthocyanin content increased rapidly from July 27 to August 22, appeared to be reaching a maximum value on September 4, and then decreased a few. The anthocyanin content was significantly increased with girdling on bearing shoots and spraying ABA. Furthermore, wider girdling (range in 1/3 to 1/1 of shoot diameter) and higher treatment concentration of ABA (500 - 3 000 mg · L⁻¹) resulted in higher anthocyanin contents.

Key words: kiwifruit; anthocyanin; girdling; abscisic acid

‘红阳’猕猴桃 (*Actinidia chinensis* ‘Hongyang’) 是从野生猕猴桃实生单株中选育而成的优良品种, 栽培面积日益扩大, 商品果产量连年增加 (董官勇等, 2003)。

‘红阳’猕猴桃鲜果横剖面沿果心有紫红色线条呈放射状分布, 其紫红色为花青素的着色 (宁允叶等, 2003, 2005; Montefiori et al, 2005)。而花青素作为食品的一种功能性成分, 日渐受到消费者的重视 (Bao et al, 2005)。有关猕猴桃花青素的含量变化未见报道。另外, 有研究表明, 在葡萄、草莓等花青素含量较高的果树种类上, ABA 处理能有效提高果实花青素含量 (松岛二良等, 1989; Jiang & Joyce, 2003; Mori et al, 2005)。

收稿日期: 2008 - 12 - 18; 修回日期: 2009 - 04 - 29

基金项目: 西南科技大学与日本青旗株式会社合作项目 (06zh0163)

* E-mail: liurendao@svust.edu.cn

为了探索‘红阳’猕猴桃花青素含量的变化规律,寻求提高猕猴桃果实花青素含量的措施,为生产高花青素含量的猕猴桃提供理论和实践依据,开展本研究。

1 材料与方法

1.1 材料及其处理

1.1.1 材料

试验在苍溪县双田镇柴坡村进行,年平均气温 16.9, 1月平均气温 6, 7月平均气温 27, 极端最低气温 -4.6, 最高气温 39.3, 全年无霜期 288 d, 年平均降雨量 1 100 mm以上, 海拔高度 725 m。以 2001年定植的‘红阳’猕猴桃嫁接植株为试验材料, 株行距 1.5 m ×2.0 m, 栽培方式为水平棚架, 土壤为紫色土, pH 6.6。

1.1.2 果实花青素含量变化测定取样

选择生长结果正常的红阳猕猴桃植株, 于 2005年 6月 5日、6月 18日、7月 1日、7月 14日、7月 27日、8月 9日、8月 22日、9月 4日、9月 17日和 9月 30日在植株的东、南、西、北、中不同方位采摘 10个果样, 装入冰瓶带回实验室进行冷冻保存。在进行花青素分析测定时将果实分为 3组, 每组 3~4个果实进行混合作为测定的样品。

1.1.3 环剥处理

采取单因素随机区组试验设计。2005—2006年连续两年选生长健壮, 生长势和结果量基本一致的植株, 单株小区, 3次重复。2005年 6月 18日和 7月 6日进行了两次不同时间的环剥。设 3个处理: 不环剥、环剥宽度为结果枝直径的 1/5和 3/5。每株选择 3个枝势相当, 结果量大体一致的结果枝进行处理。环剥部位均为结果枝基部靠近结果部位, 距离基部分枝处 2~3 cm, 环剥深度达木质部。2006年 5月 22日进行环剥, 设 4个处理: 不环剥、环剥宽度为结果枝直径的 1/3、1/2和 1/1, 处理方法与 2005年相同。

1.1.4 ABA处理

采取单因素随机区组试验设计。2005—2006年连续两年选生长健壮, 生长势和结果量基本一致的植株, 单株小区, 3次重复。2005年 6月 18日和 7月 6日进行了两次不同时间的 ABA处理。设置 3个浓度: 0、500和 1 000 mg · L⁻¹。用微型喷雾器对果实进行 ABA溶液喷施处理。2006年 5月 22日进行 ABA处理, 其浓度设置为 0、1 000、2 000和 3 000 mg · L⁻¹, 处理方法与 2005年相同。

1.1.5 处理样品的果实采收和性状测定

对环剥和 ABA处理于 2005年和 2006年的 9月 10日采果, 每处理随机采果 10个, 用冰瓶盛装带回实验室进行冷冻保存。在进行花青素分析测定时将果实分为 3组, 每组 3~4个果实进行混合作为测定的样品。2006年还对单果质量、纵横径和果柄长度进行了测量, 同时测定其可溶性固形物含量。

1.2 花青素的提取与测定

将猕猴桃果实去皮后置于家用打浆机中打碎 2 min, 再用高速匀浆机破碎细胞结构 (15 000 r · min⁻¹, 2 min)。称取 1 g破碎物于离心管中, 加入提取液 (丙酮 蒸馏水 甲酸 =80 20 0.2) 14 mL, 振荡 20 min后 20 000 r · min⁻¹离心 10 min, 上清液用于花青素的测定。

参照 Prior等 (2001) 的方法, 取上清液 1 mL, 加入 pH 4.5的 0.4 mol · L⁻¹醋酸钠缓冲液或 pH 1.0的 0.25 mol · L⁻¹氯化钾缓冲液 4 mL, 摇匀混合, 转入光路长 1 cm的比色皿后, 分别以 520 nm和 700 nm为吸收波长测定其吸光度。提取液的花青素浓度 (mg · L⁻¹) = A / L × 10³ × MW × 稀释倍数。式中: 最终吸光度 A = (A_{520 nm, pH 1.0} - A_{700 nm, pH 1.0}) - (A_{520 nm, pH 4.5} - A_{700 nm, pH 4.5}); 以猕猴桃主要花青素矢车菊定 3-O-半乳糖苷 (cyanidin-3-O-galactoside) 为标准, MW为摩尔质量 502.5; 为摩尔吸光系数 30 200, L为比色皿光路长 (cm), 最终以 1 g试样含有花青素的量 (mg) 来表示 (Gius-

ti et al, 1999; Montefiori et al, 2005)。

1.3 数据分析

花青素含量的变化测定数据采用 Excel 作图法分析, 环剥和喷施 ABA 试验数据采用 SAS 软件 (8.1 版本) ANOVA 过程做差异显著性测验, 并用 LSD 法做多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 红阳猕猴桃果实花青素含量的变化

图 1 显示了红阳猕猴桃花青素含量的变化规律。6 月 5 日, 果实已检测出含有花青素, 说明红阳猕猴桃花青素在果实发育初期已经开始形成。在 6 月 5 日—7 月 27 日, 花青素含量缓慢增加, 随后至 8 月 22 日增长速度明显加快, 最高值出现在 9 月 4 日, 其含量达到 $0.0262 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 。9 月 4 日以后, 花青素含量开始下降, 到 9 月 30 日接近 8 月 22 日的水平。因此, 如果想要通过栽培技术措施提高花青素含量, 应考虑在 5 月下旬至 8 月中旬进行。从花青素含量的角度决定最适采收期的话, 应在 9 月 4 日左右。

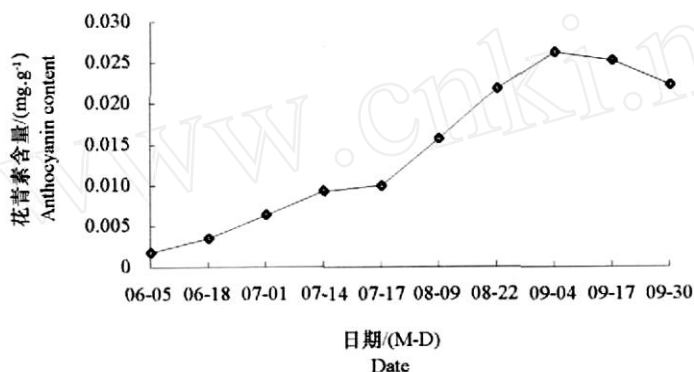


图 1 红阳猕猴桃果实发育过程中花青素含量的变化

Fig 1 Changes of anthocyanin content in Hongyang kiwifruit

2.2 环剥对红阳猕猴桃果实花青素含量的影响

图 2 显示了 2005 年两次不同时期环剥和 2006 年环剥处理对红阳猕猴桃果实花青素含量的影响。

从 2005 年的两次环剥来看, 环剥宽度为结果枝直径 $3/5$ 的处理, 花青素含量均比对照显著提高, 6 月 18 日和 7 月 6 日环剥分别比对照提高 24.9% 和 14.2%。

为了进一步确认环剥对红阳猕猴桃花青素含量的影响, 基于 2005 年的结果, 2006 年加大了环剥宽度并提前了处理时期, 结果与 2005 年的趋势一致, 随着环剥宽度的增加, 花青素含量提高。当环剥宽度增加到结果枝直径的 $1/2$ 时, 显著提高了花青素含量至 $0.031 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 与对照差异达到显著水平, 当环剥宽度与结果枝直径相同时, 花青素含量较对照增加了 50.0%, 达到了 $0.040 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 与对照差异达到极显著水平。

2.3 ABA 处理对红阳猕猴桃果实花青素含量的影响

图 3 显示了 2005 年两次不同时期和 2006 年喷施 ABA 处理对红阳猕猴桃果实花青素含量的影响。

2005 年两次不同时期处理的结果显示, 均是随着 ABA 浓度的提高, 花青素含量增加, 当 ABA 浓度提高到 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 花青素含量与对照达到显著差异。

2006 年结果表明, 当浓度为 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理与对照未达到显著差异, 而浓度为 $2000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $3000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理均极显著增加了果实花青素含量, 与对照相比分别增加了 28.4% 和 32.1%, 其花青素含量分别达到 $0.034 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ 和 $0.035 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$, 两者之间也达到显著差异水平。

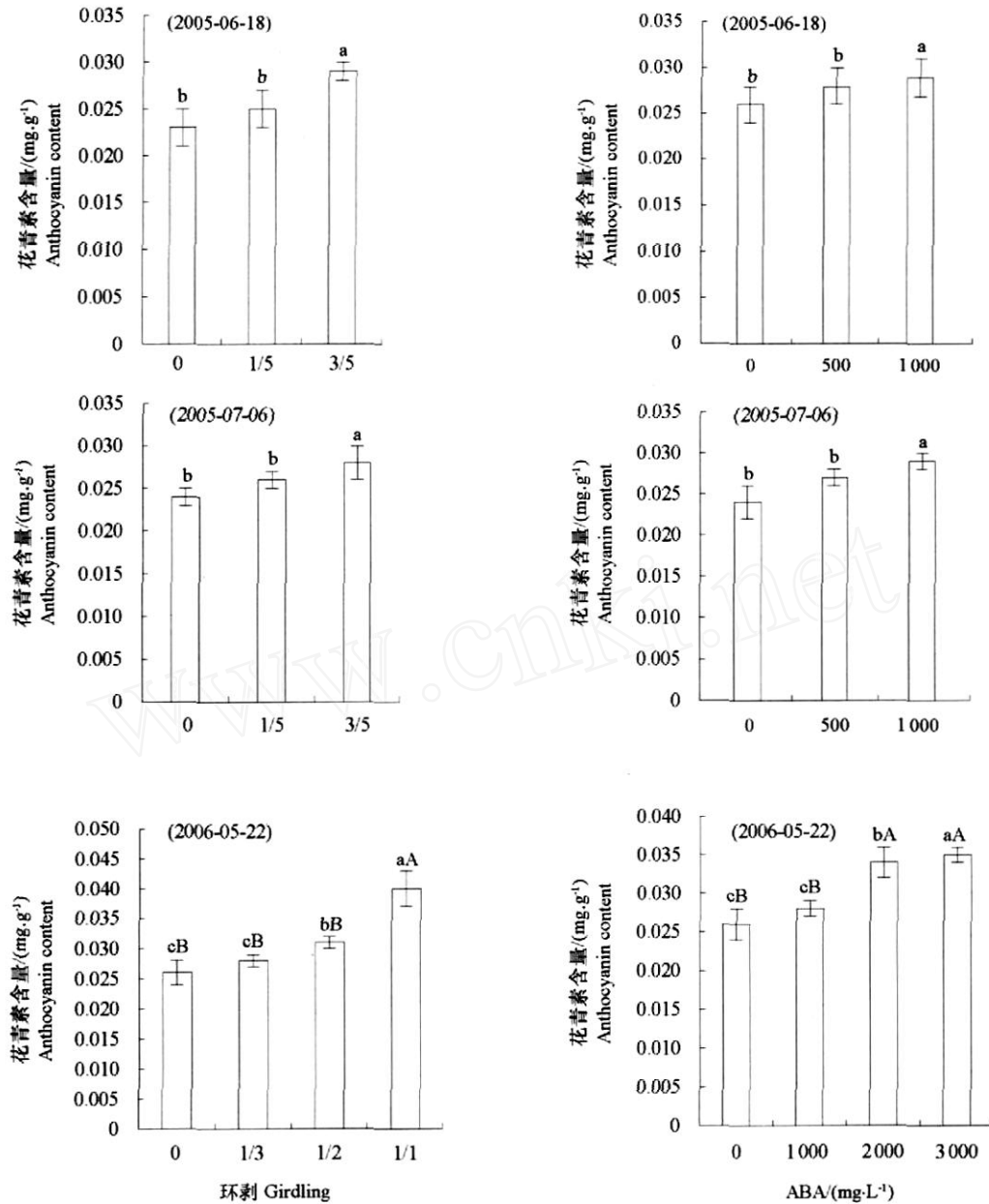


图2 环剥对红阳猕猴桃果实花青素含量的影响
不同大写字母表示0.01水平差异显著,
不同小写字母表示0.05水平差异显著。

Fig. 2 Effects of girdling on anthocyanin content in Hongyang kiwifruits

The same capital or small letters indicate no significant difference at $P=0.01$ or $P=0.05$.

图3 ABA处理对红阳猕猴桃果实花青素含量的影响
不同大写字母表示0.01水平差异显著,
不同小写字母表示0.05水平差异显著。

Fig. 3 Effects of abscisic acid treatments on anthocyanin content in Hongyang kiwifruits

The same capital or small letters indicate no significant difference at $P=0.01$ or $P=0.05$.

2.4 环剥和 ABA 处理对红阳猕猴桃其它性状的影响

从表 1 可以看出, 环剥宽度为结果枝直径的 1/1 处理能显著增加红阳猕猴桃果实采收时平均单果质量、果实横径和可溶性固形物含量, 增幅分别为 15.8%、10.0%和 7.7%, 但其它环剥处理与对照无显著差异, 同时, 所有环剥处理均未影响果实纵径和果柄长度。

表 1 环剥处理对红阳猕猴桃果实性状的影响 (2006 - 05 - 22)

Table 1 Effects of girdling on the characteristics of Hongyang kiwifruit (2006 - 05 - 22)

| 处理 Treatment | 单果质量 /g Fruit weight | 纵径 /cm Length | 横径 /cm Diameter | 果柄长度 /cm Peduncle length | 可溶性固形物 /% Soluble solid content |
|------------------|-------------------------|------------------|--------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| 对照 Control | 98.2 b | 5.5 a | 5.1 c | 4.2 a | 17.0 b |
| 环剥 Girdling(1/3) | 100.5 b | 5.5 a | 5.3 bc | 4.3 a | 16.1 b |
| 环剥 Girdling(1/2) | 104.4 ab | 5.7 a | 5.4 ab | 4.2 a | 17.4 b |
| 环剥 Girdling(1/1) | 113.7 a | 5.7 a | 5.6 a | 4.3 a | 18.3 a |

注:表中数据为 3 次重复的平均值,同列不同小写字母显示 0.05 水平差异显著。

Note: The data are the means of 3 replicates. Different letters within the same column indicate significant difference ($P < 0.05$).

所有浓度 ABA 喷施处理对果实采收时平均单果质量、果实纵横径、果柄长度以及可溶性固形物含量均无显著的影响(表 2)。

表 2 ABA 处理对红阳猕猴桃果实性状的影响 (2006 - 05 - 22)

Table 1 Spraying abscisic acid on the characteristics of Hongyang kiwifruit (2006 - 05 - 22)

| ABA / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) | 单果质量 /g Fruit weight | 纵径 /cm Length | 横径 /cm Diameter | 果柄长度 /cm Peduncle length | 可溶性固形物 /% Soluble solid content |
|--|-------------------------|------------------|--------------------|-----------------------------|------------------------------------|
| 对照 Control | 98.4 a | 5.5 a | 5.2 a | 4.3 a | 17.3 a |
| 1 000 | 98.3 a | 5.6 a | 5.2 a | 4.3 a | 17.3 a |
| 2 000 | 97.1 a | 5.6 a | 5.3 a | 4.2 a | 17.3 a |
| 3 000 | 100.1 a | 5.6 a | 5.2 a | 3.9 a | 17.5 a |

注:表中数据为 3 次重复的平均值,同列相同小写字母显示 0.05 水平差异不显著。

Note: The data are the means of 3 replicates. The same letters within the same column indicate no significant difference ($P < 0.05$).

果实发育初期进行环剥和 ABA 处理增加果实花青素含量的同时,各宽度的环剥和各浓度的 ABA 处理均未引起异常落果和叶片黄化等不良反应,环剥口可正常愈合。在各处理之间未发现果皮颜色的差异。

3 讨论

本研究通过对红阳猕猴桃花青素含量变化的分析可知,其整个变化过程呈不规则的 S 形,7 月下旬至 8 月下旬是红阳猕猴桃果实发育期间花青素含量增长最快的时期,其峰值出现在 9 月 4 日左右,此后花青素含量开始下降。因此,在花青素形成的高峰期之前 1 个月(6 月下旬)开始至 8 月中旬应保证猕猴桃树体营养的充足供应,并通过夏季修剪改善光照条件,调节营养生长,促进糖分积累,进而促进花青素形成。另外,还不清楚为什么 9 月 4 日以后花青素含量开始下降,但是从花青素利用的角度,采收期应在 9 月 4 日左右。

果肉颜色是品质的重要指标之一。红阳猕猴桃的红色是由于花青素的显色。本试验结果表明,环剥能增加红阳猕猴桃果实花青素含量。对葡萄的研究表明,还原糖的含量同花青素的合成密切相关,两者呈指数函数曲线关系(赵宗方等,1989)。韧皮部是有机物质沿着整个植物长距离上下运输的主要通道,环剥能够暂时中断有机物质向下运输,促进环剥口上部碳水化合物的积累。本试验结果也表明环剥处理能显著增加果实可溶性固形物的含量,这可能与最终花青素含量的提高有一定关系。

本试验还发现在 $0 \sim 3\,000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内,随着 ABA 处理浓度的增加,果实花青素含量也呈增加的趋势。这种现象在其它果树上也有报道。Hiratsuka 等(2001)通过扦插带果的葡萄枝在培养液中证明培养液中的 ABA 能增加葡萄花青素含量。松岛二良等(1989)报道喷施 ABA 于葡萄果穗能促进其着色,且与施用时期有很大关系,在果粒膨大期后 2~3 周效果最好。本研究表明猕猴桃是早、晚期处理均有效,而且环剥和 ABA 处理均增加花青素含量,但仅环剥增加了可溶性固形物的含量,

因此, 环剥和 ABA 处理对花青素的影响机制有所不同。另外, 葡萄通过 ABA 处理后果皮果肉均着色, 且果皮比果肉着色更深 (北村八祥等, 2007)。关于 ABA 处理提高花青素含量的机理, 在葡萄上已证明其直接促进花青素合成基因 *VmybA1* 的 mRNA 活性 (Jeong et al, 2004)。而 ABA 处理红阳猕猴桃仅影响了果肉花青素含量, 对果皮色泽没有影响, 因此, 两种果实的花青素积累机制上应存在差异, 这些都值得进一步研究。

References

- Bao J, Cai Y, Sun M, Wang G, Corke H. 2005. Anthocyanins, flavonol, and free radical scavenging activity of Chinese bayberry (*Myrica rubra*) extracts and their color properties and stability. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53 (6): 2327 - 2332.
- Dong Guan-yong, Gou Bin, Li Ming-zhang. 2003. Cultural technique of high yield in 'Hongyang' kiwifruit. *Deciduous Fruits*, 35 (5): 46 - 47. (in Chinese)
- 董官勇, 苟斌, 李明章. 2003. 红阳猕猴桃高产栽培技术. *落叶果树*, 35 (5): 46 - 47.
- Giusti M M, Rodriguez-Saona L E, Wrolstad R E. 1999. Molar absorptivity and color characteristics of acylated and non-acylated pelargonidin-based anthocyanins. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 47 (11): 4631 - 4637.
- Hiratsuka S, Onodera H, Kawai Y, Kubo T, Itoh H, Wada R. 2001. ABA and sugar effects on anthocyanin formation in grape berry cultured *in vitro*. *Scientia Horticulturae*, 90 (1): 121 - 130.
- Jeong S T, Goto-Yamamoto N, Kobayashi S, Esaka M. 2004. Effects of plant hormones and shading on the accumulation of anthocyanins and the expression of anthocyanin biosynthetic genes in grape berry skins. *Plant Science*, 167 (2): 247 - 252.
- Jiang Y M, Joyce D C. 2003. ABA effects on ethylene production, PAL activity, anthocyanin and phenolic contents of strawberry fruit. *Plant Growth Regulation*, 39 (2): 171 - 174.
- 北村八祥, 中山真義, 近藤宏哉, 西川豊, 腰岡政二, 平塚伸. 2007. ブドウ '安芸クイ4ン' 果皮の着色促進および深色化に及ぼすアブシジン酸の期別処理の影響. *園芸学研究*, 6 (2): 271 - 275.
- 松島二良, 平塚伸, 谷口典生, 輪田竜治, 須崎!高. 1989. BA 処理したブドウ 'オリンピア' の果皮中におけるアントシアニンおよび糖の変動. *園学雑*, 58 (3): 551 - 555.
- Montefiori M, McGhie T K, Costa G, Ferguson A R. 2005. Pigments in the fruit of red-fleshed kiwifruit (*Actinidia chinensis* and *Actinidia deliciosa*). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 53 (24): 9526 - 9530.
- Mori K, Saito H, Goto-Yamamoto N, Kitayama M, Kobayashi S, Sugaya S, Gemma S, Hashizume K. 2005. Effects of abscisic acid treatment and night temperatures on anthocyanin composition in Pinot noir grapes. *Vitis*, 44 (4): 161 - 165.
- Ning Yun-ye, Xiong Qing-e, Zeng Wei-guang, Zeng Guang-rong. 2003. Studies on red flesh sport from 'Red Sun' kiwifruit using RAPD marker. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (5): 511 - 513. (in Chinese)
- 宁允叶, 熊庆娥, 曾伟光, 曾光荣. 2003. 红阳猕猴桃全红芽变系的 RAPD 分析. *园艺学报*, 30 (5): 511 - 513.
- Ning Yun-ye, Xiong Qing-e, Zeng Wei-guang. 2005. Studies on fruit quality and pollen morphology of red flesh sport from 'Red Sun' kiwifruit. *Acta Horticulturae Sinica*, 32 (3): 486 - 488. (in Chinese)
- 宁允叶, 熊庆娥, 曾伟光. 2005. '红阳' 猕猴桃全红型芽变 (86-3) 的果实品质及花粉形态研究. *园艺学报*, 32 (3): 486 - 488.
- Prior R L, Lazarus S A, Cao G, Muccitelli H, Hammerstone J F. 2001. Identification of procyanidins and anthocyanins in blueberries and cranberries (*Vaccinium* spp.) using high-performance liquid chromatography/mass spectrometry. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 49 (3): 1270 - 1276.
- Zhao Zong-fang, Song Ting-hua, Gao Hong-sheng. 1989. Some rules of oenin development of Jufeng grape fruits. *Journal of Jiangsu Agricultural College*, 10 (4): 17 - 21. (in Chinese)
- 赵宗方, 宋亭华, 高红胜. 1989. 巨峰葡萄色素发育的若干规律. *江苏农学院学报*, 10 (4): 17 - 21.