

苹果黄绿品种着色规律的研究

成钰厚^① 刘国杰 孟昭清 李绍华

(中国农业大学植物科技学院)

摘要 以8年生苹果品种(王林、陆奥和宫藤富士)的果实为试材,采用套袋处理对黄绿品种的果实着色规律进行了研究,并采用纸层析技术分析了着色果皮的色素种类。结果表明:苹果的黄色和绿色品种具有合成花青苷的潜能,经套袋处理,着色潜能就能发挥出来,果皮可以由非红转变为红色。摘袋后,富士套袋果的花青苷含量迅速上升,经6d即达到非套袋果水平;而黄绿品种套袋果的花青苷合成对光反应迟钝,在摘袋后16d才开始增加。黄绿品种果皮形成红色是由于花青苷合成的增加;而套袋处理改善红色品种着色,并非由于提高花青苷含量。着色的黄绿品种果皮上的色素种类与正常红色品种果皮的大致相同。

关键词 苹果;着色;花青苷;色素

分类号 S166.1;S604.7

Characteristics of Red Color Development in Yellow and Green Apple Cultivars

Cheng Yuhou Liu Guojie Meng Zhaoqing Li Shaohua

(College of Plant Science and Technology, CAU)

Abstract Characteristics of red color development and the kind of pigments in the red fruit skin were studied on three 8-year-old apple trees: 'Orin', 'Mutsu' and 'Kyuu-ton Fuji' cultivars. A potential capacity of anthocyanin synthesis in the skin of non-red apple cultivars was observed, and this potential capacity could be brought into play by bagging. The skin color then turned red from yellow or green along with the increase of anthocyanin formation. It was the decrease of non-red pigments, instead of the increase of anthocyanin formation that the skin color of red cultivar was enhanced by bagging. Anthocyanin synthesis of non-red cultivars was not so susceptible for light as that of red one and only began to increase at the 16th days after bag removal. The groups of pigments were same in red skins of both non-red and red cultivars, but the specific variety and quantity of anthocyanins need be further studied.

Key words apple; coloring; anthocyanin content; pigments

果实色泽是外观品质的重要组成部分,国内外对苹果果皮红色形成的外部调控机理有广泛、大量的研究^[1];同时,其内部调节机制的研究近年也有很大进展^[2]。以往的学者多选用红色品种研究着色,而黄绿品种在世界范围也有一定的栽培面积,其着色规律的研究尚属空白。现已证实黄色品种陆奥的未成熟果经光照射后,果皮可合成花青苷而成为红色^[3]。非红色品种着

收稿日期:1998-11-26

^①成钰厚,北京圆明园西路2号中国农业大学(西校区),100094

色,是一个从无到有的质变过程。为此本试验选用黄、绿、红 3 个颜色的苹果品种,跟踪测定果实生长过程中的果皮红色发育,以期对黄绿品种的着色规律做一初步研究。另外,通过套袋处理,得到黄绿品种的着红色果实,可以大大提高这些品种的商品价值,增强市场竞争力^[4,5]。

1 试材与方法

1.1 试材

1996 年为预备试验,1997 年于北京市南口农场果园进行正式试验。该果园树体发育良好,土壤为沙壤土,管理条件正常。试材选用 8 年生苹果树的果实,品种为:绿色品种王林(*Malus pumila* Miller cv. Orin)、黄色品种陆奥(*M. pumila* Miller cv. Mutsu)和作为对照的红色品种宫滕富士(*M. pumila* Miller cv. Kyuutou Fuji),砧木均为八棱海棠(*M. micromalus* Makino)。试验所用纸袋为天津市现代信息纸研究所生产。

1.2 处理

每个品种,选取生长势、负载量较一致的树 12 株,随机分为 2 组,每组 6 株。第 1 组为非套袋组,第 2 组为套袋处理组。06-04 对第 2 组每株树上的所有果实套袋。王林和陆奥在 08-27 摘除外层黑袋,同时铺反光膜、摘叶;09-03 去除内层红袋、第 2 次摘叶;09-12 第 3 次摘叶。富士属晚熟品种,09-18 摘除外层黑袋,同时铺反光膜、摘叶;09-21 摘掉内层红袋、第 2 次摘叶;09-27 第 3 次摘叶。其他管理措施与第 1 组相同。

1.3 测定与分离方法

1.3.1 果皮表色的测定 果实采收时,每个品种随机选取套袋果和非套袋果各 30 个,测定阳面表皮颜色,取平均值作为色阶值。测定使用日本色研事业株式会社生产的果实颜色检测比色卡。着色果实使用表面色比色卡(红色系列),非着色果实、着色果实的阳面下半部未着色部分使用地色比色卡(黄绿色系列)。

1.3.2 花青苷的提取和测定 从盛花后 10 d(05-05)到摘袋,每 15 d 取样 1 次;果实进入成熟期(本试验为从摘袋至采收的一段时间)每 3 d 取 1 次样。每次取样时,同一组的 6 株树,每株树采向阳面大小近似的果实 1~4 个(依果个大小而定),组成混合样品。为了克服果实阴阳面光照不同的影响,每个果用直径为 1.2/0.6 cm 的打孔器在阴阳两面及两侧面各打取一果皮圆片(厚度<1 mm),混合后测定花青苷含量。所用方法参照全月澳和周厚基的“果实色泽的鉴定”法^[6]。使用 722 光栅分光光度计,以浸提液作参比液,在 535 nm 波长测定光密度值。1 个样品取 3 个数的平均值。花青苷含量用 $\text{nmol}\cdot\text{cm}^{-2}$ 表示。

1.3.3 着色果皮色素的分离 采用纸层析技术进行色素分离。果实采收时,非套袋富士以及经过套袋处理的富士、王林、陆奥分别多采数个果,削下红色果皮用浸提液(测定花青苷时所用)浸提,分别用 4 种不同的展开剂做纸层析。层析纸长 30 cm,宽 8 cm,每张同时点上上述的 4 个样品,点样后放置在 25℃ 保温箱内进行层析。纸条风干后,测量并计算 R_f 值(相对迁移率)。

4 种展开剂的体积分数为: AHW-1—— $\varphi_{\text{醋酸}} : \varphi_{\text{浓盐酸}} : \varphi_{\text{水}} = 30 : 3 : 10$;

BAW—— $\varphi_{\text{正丁醇}} : \varphi_{\text{醋酸}} : \varphi_{\text{水}} = 4 : 1 : 5$,上层;

AHW-2—— $\varphi_{\text{醋酸}} : \varphi_{\text{浓盐酸}} : \varphi_{\text{水}} = 5 : 1 : 5$;

BHW——正丁醇 : 2 mol·L⁻¹ 盐酸 = 1 : 1,上层。

2 结果与分析

2.1 黄绿品种的着色

供试的绿色品种王林和黄色品种陆奥经过套袋等一系列处理,果实部分着红色。王林套袋果色阶值为表色 2.5,非套袋果为地色 4.3;陆奥的套袋与非套袋果的色阶值分别为:表色 4.7,地色 3.8,证实二者均着红色。在 1996 年的预备试验中,套袋处理的王林、陆奥、金冠和澳洲青苹均获得部分着红色的果实。本研究证实:苹果的绿色和黄色品种具有合成花青苷的潜能,并且在一定条件下,着色潜能就能发挥出来,果皮可以由非红转变为红色。

2.2 花青苷含量变化

果皮花青苷含量与果实发育时期关系密切,且不同品种之间存在一定差异(图 1)。富士、王林和陆奥 3 个品种,无论成熟时是红色、绿色或黄色,花青苷在幼果期迅速增加,约在花后 40 d 形成一高峰,王林的最高,达到 $36.7 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-2}$,富士次之为 $28.7 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-2}$,陆奥最低仅 $\text{nmol} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。高峰期后,其含量迅速下降。在整个果实膨大期间,3 个品种的花青苷含量均很低,并且套袋果的含量变化均平行于各自的非套袋果,但值略低于后者。

红色品种富士,摘袋后其套袋果的花青苷含量迅速上升,经 6 d 就达到非套袋的水平。成熟期套袋果与非套袋果均又形成一个花青苷含量高峰,套袋处理为 $14.1 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-2}$,非套袋为 $14.0 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。说明套袋处理改善红色品种着色,并非由于提高花青苷含量。值得注意的是,富士非套袋果在花后 130 d(临摘袋前),果实表皮花青苷含量开始迅速增加,但套袋果仍处于较低含量状态。表明在缺少光照条件下,花青苷不能形成。

王林、陆奥套袋果实表皮的花青苷含量变化动态与非套袋的变化动态相同。摘袋后,二者套袋果不象红色品种富士那样花青苷含量迅速上升,而是在摘袋后 16 d 才开始缓慢增加。这表明黄绿品种果皮上花青苷合成对光的反应不如富士敏感,但最终套袋果花青苷含量略高于非套袋果,使黄绿品种果实部分着红色。

幼果时王林的花青苷含量高峰高于富士 $8.0 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-2}$,相反成熟时其套袋果、非套袋果却分别低于富士 $11.2 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-2}$ 和 $11.8 \text{ nmol} \cdot \text{cm}^{-2}$ 。说明幼果果皮的红色与成熟果的颜色是不相关的。本研究表明,正常条件下成熟时,红色品种又出现一个花青苷形成高峰,而黄绿品种未能出现此高峰,因而黄绿品种没有着红色。

2.3 着色果皮的色素种类

通过对非套袋富士(F)和套袋后的富士(Fb)、王林(Ob)、陆奥(Mb)的果皮色素进行纸层析,结果表明(表 1),在 4 种展开剂中,AHW-1 对 F 和 Fb 果皮色素的浸提液可分离形成 2 条

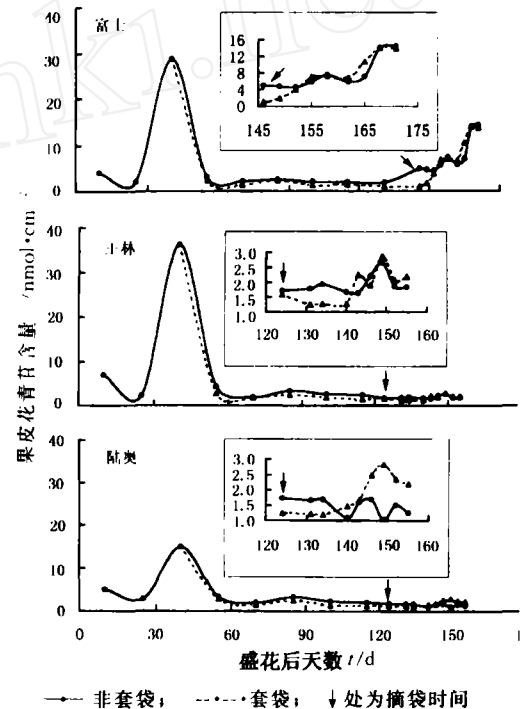


图 1 果实发育期间果皮花青苷含量的变化

带,1条粉红,1条黄色;而对Ob、Mb只分离出1条黄色带,未清楚看到红色带,可能是因为红色素含量太少。BAW是一种有机溶剂,能使F和Fb分离出3条带,比其他多1个粉红色带。AHW-2、BHW对所有品种处理均完全分离出2条带,1条粉红,1条黄色。

表1 不同品种的着色果皮色素纸层析带的Rf值

展开剂	套袋品种	对照品种	带 I		带 II		带 III	
			Rf 值	颜色	Rf 值	颜色	Rf 值	颜色
AHW-1		富士	0.66	粉红	0.78	淡黄		
	富士		0.66	粉红	0.78	淡黄		
	王林				0.76	淡黄		
	陆奥				0.78	淡黄		
BAW		富士	0.36	粉红	0.42	粉红	0.62	黄
	富士		0.36	粉红	0.42	粉红	0.62	黄
	王林		0.30	粉红			0.60	黄
	陆奥		0.32	粉红			0.61	黄
AHW-2		富士	0.50	粉红	0.64	黄绿		
	富士		0.53	粉红	0.65	黄绿		
	王林		0.46	粉红	0.57	黄绿		
	南奥		0.50	粉红	0.65	黄绿		
BHW		富士	0.25	粉红	0.69	黄		
	富士		0.23	粉红	0.68	黄		
	王林		0.21	粉红	0.68	黄		
	陆奥		0.20	粉红	0.66	黄		

成熟时苹果果皮的色泽为花青苷、类胡萝卜素和叶绿素的综合颜色。在层析纸上呈现出粉红的色带是花青苷类物质,呈现以黄色为主的色带是类胡萝卜素的黄色和叶绿素的绿色的综合颜色。BAW展开剂跑出2条粉红色带,第1条分离效果很好,第2条可能是含量少而不太清楚。苹果果皮的红色物质是花青素类,且主要结合3-半乳糖,因此推断第1条带为花青素-3-半乳糖苷,第2条为其他糖的花青素苷。实验所用4种展开剂均可把红色的花青苷与非红色物质分开,但是非红色物质在不同展开剂中所呈现的颜色略有不同。这是因为类胡萝卜素和叶绿素在不同展开剂中各自溶解性不同,形成不同的比例关系,而使二者综合后颜色发生变化。总体看来,苹果的黄绿品种经过套袋处理而发育形成的红色果皮,其色素种类与正常的红色品种果皮色素大致相同。说明苹果不同品种果实表皮色素的组成具有相对稳定性。

3 讨论

3.1 光照对摘袋后黄绿品种果皮着色的影响

在本研究条件下,王林和陆奥的套袋果之所以没有发育成全红,很可能是因为摘袋后最初3d的光照条件不好。王林和陆奥摘袋后,第1天为晴天有云,第2,3天为阴天。我们观察到,处于光照条件不好的部分红色发育差,如王林、陆奥着色果阳面下半部分的色阶值分别为地色3.8和地色6.0;而接受强光的部分,如王林、陆奥着色果阳面上半部分的色阶值分别为表色

2.5和表色4.7。可见强光对摘袋后的黄绿品种着红色是非常重要的。其原因有可能是长期黑暗处理,黄绿品种果皮中会生成某些活性物质,而这些物质只有在摘袋后立即暴露于强光,才会促进花青苷合成;若摘袋后不能立即提供强光,此类物质会很快分解掉,即使以后的光照再强,也不起作用。在与日本果树学者交流时,他们也发现摘袋后必须有连续3 d以上的晴天,陆奥才可着色良好。说明非红色品种只有达到较高的光阈值才能产生花青苷。许多研究表明,光质也影响苹果果皮的红色发育^[3,7~9]。日本学者 Arakawa 等。^[3]用光照射未成熟的陆奥果实后发现,白光+紫外光照射可产生少量花青苷,而单纯的白光照射,并没有花青苷合成。因此在本试验条件下,黄绿品种的果皮部分未着红色,很可能是因为促进着色的光(如紫外光)的强度不够。相对于黄绿品种,红色品种富士合成花青苷需要的光阈值较小,并且在摘袋后的最初3 d全是晴天,因此在其他管理措施与黄绿品种相同的条件下,其果皮红色即能发育很好。红色品种与非红色品种在着红色上对光要求的不同,其内在机理值得深入研究。

3.2 黄绿品种着色果皮的色素

从表1的第1条粉红色带的Rf值来看,3个品种大致相同,表明其果皮上的主要花青苷相同。展开剂BAW对富士多分离到1条较浅的粉红色带,表明在次要花青苷上,黄绿品种与红色品种可能有着不同的种类和数量。本实验选用4种不同的展开剂,其中有机溶剂BAW的分离效果最好,可进一步用于高效液相色谱分离的洗脱剂,检测套袋后形成的花青苷种类是否相同于正常情况下的红色品种。纸层析结果也表明,苹果绿色黄色品种着红色是由于花青苷的合成。这个结果支持了日本学者 Arakawa 等。^[3]的套袋着色研究结果,但是究竟生成的哪种花青苷还需进一步分离纯化验证。

参 考 文 献

- 1 Saure M C. External control of anthocyanin formation in apple. *Sci Hortic*, 1990, 42: 181~218
- 2 原永兵,刘成连,鞠志国等. 苹果果皮红色形成的机制. *园艺学年评*, 1995, (1): 121~132
- 3 Arakawa O, Hori Y, Ogata R. The colour development, anthocyanin synthesis and phenylalanine ammonia lyase activity in Starking Delicious, Fuji and Mutsu apple fruits. *J Jpn Soc Hortic Sci*, 1986, 54(4): 424~430
- 4 Kim S B, Kim W S, Kim J H, et al. Studies on chemical spray systems for apple orchards-the reduction of spray frequency by fruit bagging. *Res Rep Rural Dev Admin Hortic*, 1989, 31(2): 15~21
- 5 Kootstra A, Dong Y H, Mitra D. Apple skin colours a feast for consumer eyes. *Orchardist NZ*, 1994, 67(2): 40~43
- 6 全月澳,周厚基著. 果树营养诊断法. 北京:农业出版社, 1982, 112~115
- 7 Bae R N, Lee S K. Effects of some postharvest treatments on anthocyanin synthesis and quality in 'Fuji' apples. *J Korean Soc Hortic Sci*, 1994, 35(6): 599~609
- 8 Dong Y H, Mitra D, Loostra A, et al. Postharvest stimulations of skin color in Royal Gala apple. *J Amer Soc Hortic Sci*, 1995, 120(1): 95~100
- 9 Kubo Y, Taira S, Ishio S, et al. Colour development of 4 apple cultivars grown in the southwest of Japan, with special reference to fruit bagging. *J Jpn Soc Hortic Sci*, 1988, 57(2): 191~199