

窦 勇, 闫怀忠, 孔令伟, 等.  $\epsilon$ -聚赖氨酸对苹果采后灰霉病防治效果及机理[J]. 江苏农业科学, 2024, 52(23): 187-194.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.23.026

# $\epsilon$ -聚赖氨酸对苹果采后灰霉病防治效果及机理

窦 勇<sup>1</sup>, 闫怀忠<sup>1</sup>, 孔令伟<sup>2</sup>, 董 静<sup>1</sup>, 姚妙爱<sup>1</sup>

(1. 江苏财经职业技术学院粮食与食品药品学院, 江苏淮安 223003; 2. 淮安快鹿牛奶有限公司, 江苏淮安 223311)

**摘要:**为探寻高效、安全的苹果采后灰霉病的控制方法, 研究  $\epsilon$ -聚赖氨酸( $\epsilon$ -poly-L-lysine, 简称  $\epsilon$ -PL) 对苹果采后灰霉病的防治效果及其抗性诱导机制, 以无菌水为对照, 采用不同浓度的  $\epsilon$ -PL 诱导处理苹果 24 h 后, 探究  $\epsilon$ -PL 控制苹果灰霉病的最佳使用浓度。将  $\epsilon$ -PL 分别用打孔注入和整果浸泡的方法处理苹果, 研究其对苹果抗性物质分泌、抗性酶活性及其编码基因表达的诱导机制, 同时考察其对苹果自然腐烂和贮藏品质的影响。结果表明, 400 mg/L 的  $\epsilon$ -PL 防治苹果采后灰霉病的效果最佳, 其能诱导苹果酚类化合物、类黄酮和木质素含量显著升高 ( $P < 0.05$ ), 同时能诱导提高多酚氧化酶 (PPO)、苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、过氧化物酶 (POD) 和过氧化氢酶 (CAT) 编码基因的表达, 提高抗性酶活性。此外, 该浓度  $\epsilon$ -PL 浸果处理 0.25 h 贮藏 50 d 后, 苹果的自然腐烂率相对于对照组降低了 77.26%, 贮藏品质相比对照组更好。因此,  $\epsilon$ -PL 能有效控制苹果采后灰霉病, 具有较高的应用价值。

**关键词:**  $\epsilon$ -PL; 生理机制; 灰霉病; 苹果; 诱导抗性; 防治效果

**中图分类号:** TS255.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2024)23-0187-07

苹果含有丰富的维生素和膳食纤维, 是人们喜爱的水果之一。在贮藏和运输过程中, 苹果易受损伤而被霉菌侵染。由灰霉 (*Borytis cinerea*) 引起的灰霉病是苹果的采后主要病害之一, 采用化学防腐剂来控制灰霉病, 效果虽好, 但存在环境污染和食品安全问题<sup>[1]</sup>。为此, 研发安全性高的苹果灰霉病控制方法, 市场前景广阔<sup>[1]</sup>。 $\epsilon$ -聚赖氨酸 ( $\epsilon$ -poly-L-lysine, 简称  $\epsilon$ -PL) 是一种无毒防腐剂, 具有较强的抗菌效力, 其作为一种天然的食品保鲜剂, 已广泛应用于面包、饮料等食品<sup>[2]</sup>。近年来,  $\epsilon$ -PL 在水果采后病害防治领域的研究也已有开展。Sun 等的研究发现  $\epsilon$ -PL 能提高龙眼 ATP 酶活性, 增加 ATP、ADP 含量和能荷水平, 进而提高龙眼的抗病能力<sup>[3]</sup>。Shu 等研究结果表明,  $\epsilon$ -PL 对苹果、冬枣和番茄的采后黑斑病的防治效果显著<sup>[4]</sup>。Jiao 等报道了  $\epsilon$ -PL 能显著抑制草莓、樱桃番茄、葡萄和青椒灰霉病的发生。此外, 有研究发现  $\epsilon$ -PL 可以作为一种生物源性化学激发子来诱导提高水果对采后病害的抗病能力<sup>[5]</sup>。Liu 等研究发现  $\epsilon$ -PL 处理能诱导烟草苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、过氧化物酶

(POD) 等抗性酶活性的提高, 增强烟草的抗病毒能力<sup>[6]</sup>。Sun 等的研究结果表明,  $\epsilon$ -PL 处理能诱导抗病物质 (木质素和  $H_2O_2$ ) 含量和多酚氧化酶 (PPO)、PAL、POD 等抗病酶活性的提高<sup>[7]</sup>。Li 等在研究  $\epsilon$ -PL 对冬枣灰霉病的防治效果中, 发现  $\epsilon$ -PL 能诱导呼吸爆发氧化酶同源物编码基因 *RBOH* 的上调表达, 产生活性氧 (ROS) 来抑制冬枣中灰霉菌的生长<sup>[8]</sup>。

然而,  $\epsilon$ -PL 在苹果采后病害的防治中的应用研究较少, 特别是在  $\epsilon$ -PL 控制苹果采后灰霉病及其机制方面的研究较少。为探索安全、高效的苹果采后灰霉病的防治方法, 本研究通过打孔和整果浸泡的方法, 用  $\epsilon$ -PL 诱导处理苹果, 探究其对灰霉病和自然腐烂的防治效果及机理, 并考察其对苹果品质指标的影响, 以期对苹果采后灰霉病的防治提供试验参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验时间与地点

于 2023 年 5 月 1 日至 9 月 30 日, 在江苏财经职业技术学院粮食与食品药品学院微生物实验室进行试验。

### 1.2 材料与试剂

1.2.1 供试水果 商品熟的红富士苹果采自山东烟台某果园, 选择未经化学处理, 大小基本一致, 无

收稿日期: 2024-05-26

基金项目: 2024 年江苏高校“青蓝工程”中青年学术带头人项目。

作者简介: 窦 勇 (1979—), 安徽巢湖人, 博士, 副教授, 研究方向为果蔬采后保鲜技术。E-mail: douyong1979@163.com。

病虫害,未受机械损伤的果实作为供试苹果。用 0.1% (体积比) 次氯酸钠浸洗 120 s,再用无菌水清洗残留表皮的氯酸钠和微生物后,晾干备用。

1.2.2 供试病原菌 从自然发病的苹果上分离、纯化 1 株病原菌,经鉴定为 *B. cinerea*,为苹果的致病菌。将 *B. cinerea* 孢子接种于马铃薯葡萄糖(PDB)培养基中,于 25 ℃ 培养 1 d,再将孢子悬液涂布接种于马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养上,于 25 ℃ 继续培养 7 d,进行菌种活化。用无菌钢制角匙轻刮表面孢子,加入无菌水后再用移液器吸取孢子悬液经 4 层无菌纱布过滤,用血球计数板法测定孢子浓度,并用无菌水调节孢子悬浮液浓度至  $1 \times 10^5$  个/mL,备用<sup>[9]</sup>。

1.2.3 主要试剂 戊二醛、乙二胺四乙酸(EDTA)、愈创木酚、苯丙氨酸、聚乙烯吡咯烷酮(PVP),分析纯,淮安市科密化学试剂有限公司;ε-PL,化学纯,美国 Sigma 公司。PrimeScript RT reagent kit with gDNA Eraser 试剂盒,大连 TaKaRa 公司。

### 1.3 主要仪器与设备

D-50 型移液器,德国 BRAND 公司;CFX96 型荧光定量 PCR 仪,美国应用生物系统公司(ABI);JIDI-16R 型冷冻离心机,广州吉迪仪器有限公司;JSF-7001 型热场发射扫描电子显微镜,日本电子株式会社;LHP-400 型恒温恒湿培养箱,常州普天仪器制造有限公司;HT-1112M 型立式恒温摇床,上海赫田科学仪器有限公司;TA-XT2i 型物性测试仪,英国 Stable Micro System 公司。

### 1.4 试验方法

1.4.1 ε-PL 对苹果灰霉病的防治效果 用打孔器在苹果中央均匀打孔 4 个,大小为 5 mm × 4 mm,处理组每孔分别注入 25 μL 的 ε-PL (浓度分别为 100、200、400、800、1 000 mg/L),以无菌水为对照(CK),将所有供试苹果置于无菌框中,用聚乙烯(PE)膜密封,于室温、相对湿度(RH)95% 条件下贮存 24 h<sup>[1]</sup>。所有供试苹果每孔接种 25 μL 的  $1 \times 10^5$  个/mL 的 *B. cinerea* 孢子悬浮液,于相同条件下贮存<sup>[10]</sup>。从第 3 天开始,每隔 1 d,采用十字交叉法测定伤口腐烂直径,并统计腐烂率。

1.4.2 ε-PL 在苹果体内对 *B. cinerea* 菌丝生长的影响 按照“1.4.1”节中方法处理供试苹果,每孔注入 25 μL 的 400 mg/L 的 ε-PL,以无菌水为对照,于 RH 95%、室温下贮存 24 h。所有供试苹果每孔注入 25 μL  $1 \times 10^5$  个/mL 的 *B. cinerea* 孢子悬液,相同条件下继续贮存<sup>[1]</sup>。分别在接种后的 8、14、

20 h 取样,制备扫描电子显微镜(scanning electron microscopy,简称 SEM)样品。用经火焰灭菌并冷却后的手术刀削取伤口孔内圈厚约 1 mm 的组织,用 2.5% 的戊二醛浸泡,避光 5 h,再将组织薄片浸没在 0.1 mol/L (pH 值 = 7.2) 的磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution,简称 PBS)中 5 次,每次 30 s。依次用 30%、60%、90%、100% 的乙醇溶液浸洗,每次 6 min<sup>[1,11-12]</sup>。处理好的苹果切片经真空冷冻干燥 20 h 后,固定于 SEM 样品台上,在 SEM 下观察 *B. cinerea* 在苹果体内的生长情况。

1.4.3 ε-PL 对苹果抗性相关酶活性的影响 试验设置 CK 组和处理组,采用“1.4.2”节中的方法处理供试苹果,CK 组经无菌水处理后接种 *B. cinerea* 孢子,处理组经 ε-PL 处理后接种 *B. cinerea* 孢子。分别于试验当天和随后每隔 1 d 取样,用无菌手术刀削取伤口处组织薄片 2 g,于事先灭菌并冷冻的研钵中,加入约 2 g 石英砂和 1 mL 含 0.038% EDTA 和 1% PVP 的 50 mmol/L (pH 值为 7.8) 的 PBS 溶液,充分研磨后加入 9 mL PBS,将所有组织转入无菌离心管中,于 0 ℃、10 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,用于测定酶活性,以 U/g 鲜重(fresh weight,简称 FW)表示<sup>[1,13]</sup>。PPO 活性测定参考 Godana 等的方法,略作修改,酶活定义为  $D_{398 \text{ nm}}$  每分钟增加 0.01 为 1 个酶活单位(U)<sup>[1,14]</sup>。PAL 活性的测定参考 Xi 等的方法,稍作改动,酶活定义为  $D_{290 \text{ nm}}$  每小时增加 0.01 为 1 U<sup>[15]</sup>。POD 活性的测定参照 Godana 等的方法,略作改动,酶活定义为  $D_{470 \text{ nm}}$  每分钟增加 0.01 为 1 U<sup>[16]</sup>。CAT 活性的测定参考 Zhou 等的方法,稍作调整,酶活定义为  $D_{420 \text{ nm}}$  每分钟降低 0.01 为 1 U<sup>[17]</sup>。

1.4.4 苹果抗性相关酶编码基因表达量的测定 采用“1.4.3”节中使用的苹果组织样品约 2 g,于事先灭菌并冷冻的研钵中,立刻倒入液氮,快速磨成粉末,分别用试剂盒提取总 RNA,并对 RNA 进行反转录。参考 Dou 等的方法,测定苹果抗性酶编码基因相对表达量<sup>[2,18]</sup>。用 Primer Premier 5.0 软件设计苹果抗性相关酶编码基因的 RT-qPCR 特异性引物,见表 1。

1.4.5 ε-PL 对苹果抗性物质分泌的影响 采用“1.4.3”节中使用的苹果组织样品,测定苹果抗性物质含量。参照 Deng 等的方法,测定苹果总酚和类黄酮的含量,分别用  $D_{280 \text{ nm}}$ /g FW 和  $D_{325 \text{ nm}}$ /g FW 表示<sup>[19]</sup>。参考 Morrison 等的方法,测定苹果木质素的

表 1 苹果抗性酶编码基因表达的 RT-qPCR 引物

基因	基因编号	引物序列 (5' → 3')
PPO	LOC103444817	F: AAGCCTATAGCCCCACCAGA; R: CTTGAAGCTACGTGGGTCGT
PAL	LOC103446446	F: GGCATTTGGAGGAGAACTTG; R: AGAACCTTGAGGGGTGAAGC
POD	LOC103419198	F: ATGCCAAGTCCAAGAGCCAA; R: CCAGTGCCGGATTGTTGTA
CAT	LOC103419282	F: AGACACCTGTCATTGTGCGT; R: ACACGAGGGTCGGATAGGG
ACTIN	LOC103447714	F: CCCAAAGGCTAATCGGGAGAAA; R: ACCACTGGCGTAGAGGAAAGA

含量,用  $D_{280\text{ nm}}/\text{g FW}$  表示<sup>[20]</sup>。

1.4.6  $\varepsilon$ -PL 对苹果采后自然腐烂和贮藏品质的影响 选择未经化学处理,大小基本一致,无病虫害,未受机械损伤的苹果,用 400 mg/L  $\varepsilon$ -PL 溶液浸泡苹果 0.25 h,以无菌水为对照。随后,置于无菌塑料框中密封,于 RH 95%、室温下贮藏 50 d。然后,统计腐烂率并测定贮藏品质指标。参照彭贞贞等的方法,测定苹果的可滴定酸(titrable acidity,简称 TA)含量<sup>[21]</sup>;参照 Semyalo 等的方法,测定苹果的可溶性固形物(soluble solid content,简称 SSC)含量<sup>[22]</sup>;参照 Tokala 等的方法,使用物性仪测定苹果的硬度<sup>[23]</sup>;参照 Wang 等的方法,测定苹果的维生素 C 含量<sup>[24]</sup>;失重率参照 Li 等的方法<sup>[25]</sup>进行测定。

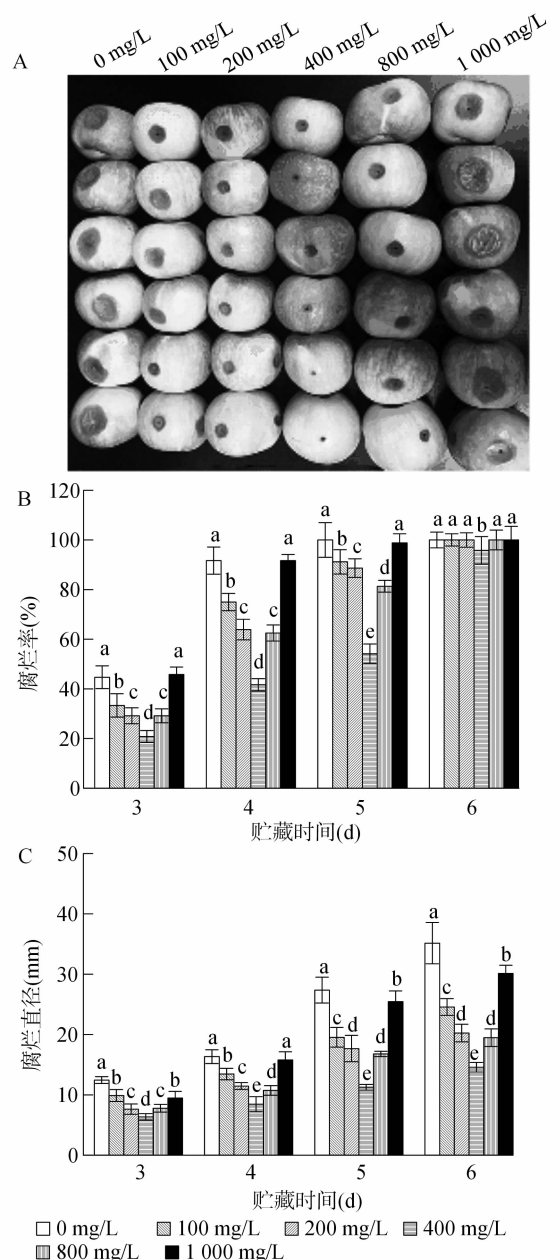
## 2 结果与分析

### 2.1 $\varepsilon$ -PL 对苹果灰霉病的控制效果

图 1 是苹果经不同浓度  $\varepsilon$ -PL 处理 24 h 后,接种灰霉菌孢子,贮存 6 d 的腐烂情况。可以看出,当  $\varepsilon$ -PL 浓度在 100 ~ 800 mg/L 时,能够有效地抑制灰霉菌引起的腐烂,其中 400 mg/L 处理组苹果的腐烂率和腐烂直径显著低于其他试验组( $P < 0.05$ )。 $\varepsilon$ -PL 浓度升到 800 mg/L 时,苹果伤口腐烂率和腐烂直径开始增大;浓度升到 1 000 mg/L 时,腐烂率和贮藏 4 d 的腐烂直径与 CK 组相比差异不显著( $P > 0.05$ )。这说明,400 mg/L 的  $\varepsilon$ -PL 对苹果灰霉病的抑制效果最佳,过高的浓度可能引起苹果自身组织细胞的损伤,反而加速伤口腐烂进程,不利于  $\varepsilon$ -PL 控制苹果采后灰霉病。

### 2.2 $\varepsilon$ -PL 对苹果自然腐烂和贮藏品质的影响

用 400 mg/L 的  $\varepsilon$ -PL 对苹果浸果处理 0.25 h,于 20 ℃、RH 95% 条件下贮藏 50 d,考察苹果腐烂情况及品质指标。如表 2 所示,处理组自然腐烂率显著低于 CK 组,相较于 CK,苹果自然腐烂率降低了 77.26%;失重率降低了 17.75%;相反,硬度提高了 10.22%。与 CK 相比,处理组的 TA、SSC、



柱上不同小写字母表示同一时间处理组间差异显著( $P < 0.05$ )

图 1  $\varepsilon$ -PL 对灰霉菌侵染苹果后伤口腐烂的影响

维生素 C 含量的差异均不显著。可见,400 mg/L 的  $\varepsilon$ -PL 防止苹果自然腐烂效果显著,且能提高苹果的贮藏品质。

表 2  $\epsilon$ -PL 浸果处理对苹果自然腐烂和贮藏品质的影响

处理	自然腐烂率 (%)	失重率 (%)	硬度 (N)	TA 含量 (%)	SSC 含量 (%)	维生素 C 含量 (mg/100 mg)
CK	$18.34 \pm 1.25b$	$3.38 \pm 0.01b$	$7.24 \pm 0.07a$	$0.56 \pm 0.02a$	$13.11 \pm 0.13a$	$4.38 \pm 0.03a$
$\epsilon$ -PL	$4.17 \pm 0.32a$	$2.78 \pm 0.02a$	$7.98 \pm 0.58b$	$0.53 \pm 0.03a$	$14.97 \pm 0.21a$	$4.19 \pm 0.15a$

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

### 2.3 $\epsilon$ -PL 在苹果体内对 *B. cinerea* 菌丝生长的抑制效果

苹果经 400 mg/L 的  $\epsilon$ -PL 处理后再接种 *B. cinerea* 孢子,其菌丝生长情况见图 2。CK 组 *B. cinerea* 在接种后的 8 h 内孢子均未萌发,14 h 后孢子已萌发且出现明显的菌丝生长,20 h 后菌丝已布满苹果组织表面。从 CK 组 SEM 图可以看出,在

接种 14 h 后,苹果组织变得粗糙,代谢物增多,*B. cinerea* 孢子能正常生长并侵染未经  $\epsilon$ -PL 处理的苹果组织。处理组 SEM 图显示,*B. cinerea* 孢子在接种后的 20 h 内均未萌发,孢子干瘪,苹果组织表面较为完整,未见明显代谢物。可见,在苹果体内,400 mg/L 的  $\epsilon$ -PL 对 *B. cinerea* 菌丝生长控制效果明显。

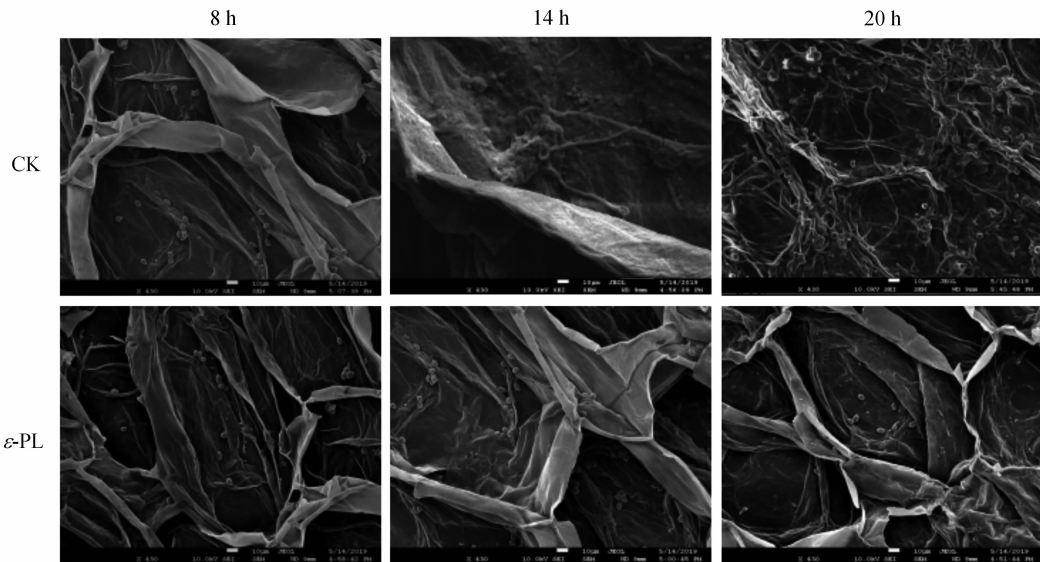
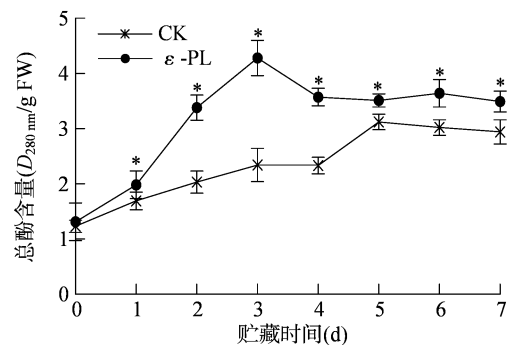


图 2  $\epsilon$ -PL 在苹果体内对灰霉菌菌丝生长影响的 SEM 图

### 2.4 $\epsilon$ -PL 对苹果抗性物质分泌的影响

2.4.1  $\epsilon$ -PL 对苹果总酚含量的影响 酚类物质是水果抵御真菌侵染的重要的抗病物质,在苯丙烷代谢途径中合成,该途径受到 PAL 和 POD 活性的调控<sup>[1,25]</sup>。由图 3 可知,从 1 d 起,处理组的总酚含量显著高于 CK( $P < 0.05$ ),其中在 3 d 时总酚含量最高,在随后的 4~7 d,维持着较高的水平。可以看出, $\epsilon$ -PL 能诱导苹果酚类物质的分泌,来提高其对灰霉病的抗病力。

2.4.2  $\epsilon$ -PL 对苹果类黄酮含量的影响 类黄酮包括查尔酮、根皮苷、高圣草素和表儿茶素等物质,它是水果体内一类重要的抗菌物质,当水果受到病原菌侵染时,会释放此类物质,来抵御外来胁迫作用。由图 4 可知, $\epsilon$ -PL 处理组苹果类黄酮含量在贮藏的 1~3 d 不断上升,在 3~7 d 维持着较高的水



\* 表示同一时间处理间差异显著( $P < 0.05$ )。图 4~图 9 同  
图 3  $\epsilon$ -PL 对灰霉菌侵染苹果后总酚含量的影响

平,且从 2 d 开始,处理组苹果类黄酮含量均显著高于 CK 组( $P < 0.05$ ),这说明  $\epsilon$ -PL 处理能诱导提高苹果抗菌物质类黄酮的含量。

2.4.3  $\epsilon$ -PL 对苹果木质素含量的影响 木质素是构成水果细胞壁的主要成分,为细胞壁纤维素骨

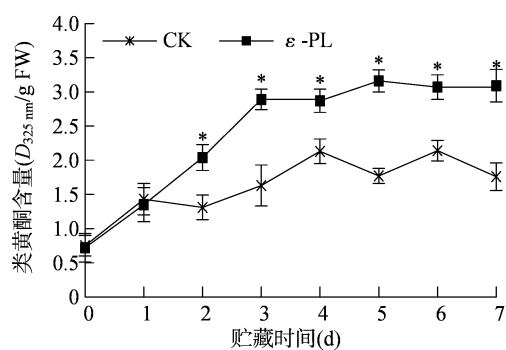


图4 ε-PL 对灰霉菌侵染苹果后类黄酮含量的影响

架的填充物,它能提高细胞壁机械强度,加速组织木质化,来抵御外来胁迫作用<sup>[1,26]</sup>。从图 5 可以看出,在贮藏的 2~5 d,经 ε-PL 处理的苹果木质素含量维持较高水平,其中 2 d 时含量最高,5 d 后含量开始下降。由此可见,ε-PL 能诱导苹果木质素分泌,提高细胞壁强度,增强其对灰霉病的抗病力。

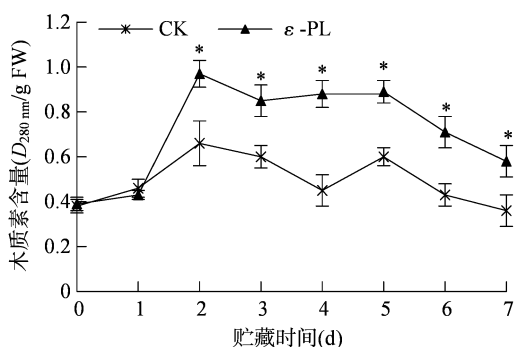


图5 ε-PL 对灰霉菌侵染苹果后木质素含量的影响

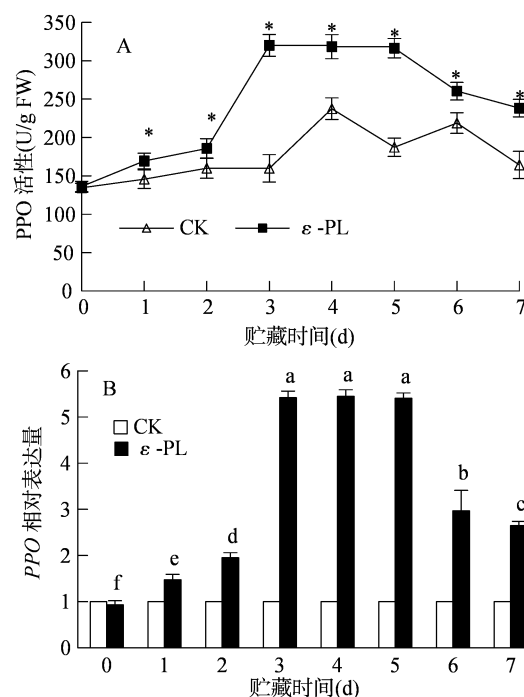
## 2.5 ε-PL 对苹果抗性酶活性及其编码基因表达的影响

### 2.5.1 ε-PL 对苹果 PPO 活性及其编码基因表达的影响

PPO 能催化水果组织中多酚物质氧化成醌,醌类物质可以形成含棕黑素的痂来保护自身组织细胞,在水果抗病中发挥着重要作用<sup>[27-28]</sup>。图 6-A 显示,ε-PL 处理组苹果的 PPO 活性显著高于 CK,且在贮藏的 3~5 d 其活性处于较高的水平,6 d 时开始,活性下降。同样,图 6-B 显示其编码基因 *PPO* 相对表达量呈现相应的变化趋势。

### 2.5.2 ε-PL 对苹果 PAL 活性及其编码基因表达的影响

PAL 是水果苯丙素合成过程中首步反应的关键限速酶,其活性直接影响苹果酚类化合物等抗性物质的合成。由图 7-A 可知,随着贮藏时间的延长,PAL 活性不断升高,在贮藏 4 d 时达到峰值 103.59 U/g FW,随后开始下降;从 2 d 开始,经 ε-PL 诱导处理的苹果 PAL 活性显著高于 CK。从



柱上不同小写字母表示同一处理间不同贮藏时间下差异显著( $P < 0.05$ )。下图同

图6 ε-PL 对灰霉菌侵染苹果后 PPO 活性及其编码基因表达的影响

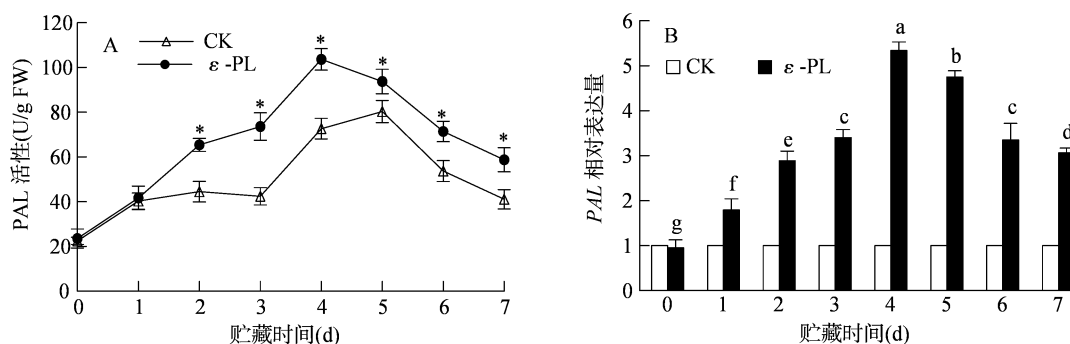
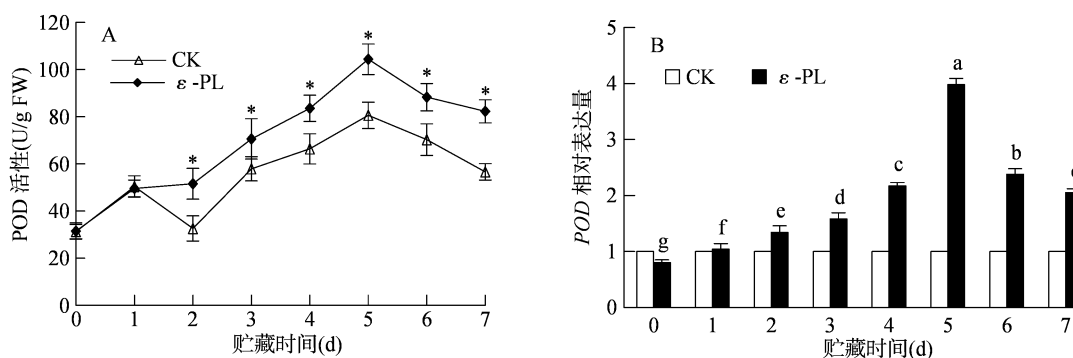
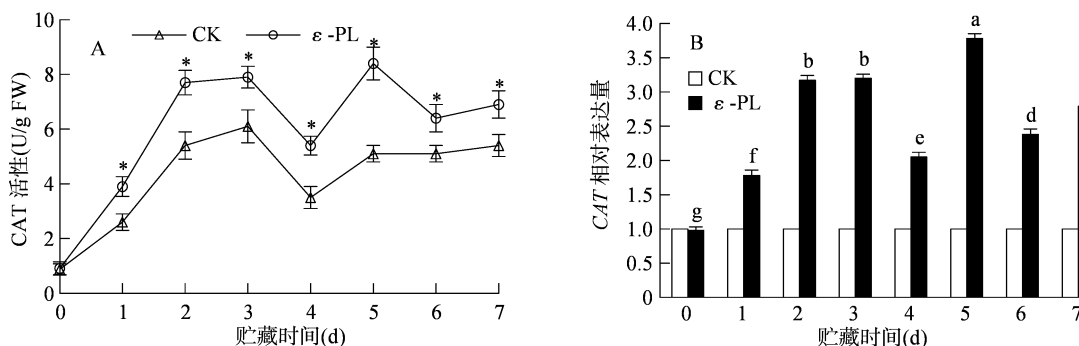
图 7-B 可以看出,从 1 d 开始 PAL 的编码基因 *PAL* 的相对表达量均高于 CK,在 4 d 时达到最大值,是 CK 组的 5.34 倍。

### 2.5.3 ε-PL 对苹果 POD 活性及其编码基因表达的影响

POD 是水果主要抗氧化防御酶之一,它能有效清除水果因外来病原菌侵染而释放过量的 ROS,其参与催化苯丙烷代谢途径中木质素的生物合成,进而增加细胞壁强度<sup>[29]</sup>。从图 8-A 可以看出,处理组 POD 活性在贮藏的 2~7 d 内均显著高于 CK,且随着贮藏时间延长,活性不断上升,在 5 d 时达到峰值 104.36 U/g FW,随后开始降低。由图 8-B 可知,*POD* 相对表达量从贮藏的 1 d 开始不断增大,到 5 d 时达到峰值,为 CK 组的 3.98 倍,随后开始下降。

### 2.5.4 ε-PL 对苹果 CAT 活性及其编码基因表达的影响

CAT 是水果体内重要的 ROS 清除酶,它能够有效清除体内过量的  $H_2O_2$ ,保护细胞免受氧化损伤,其在维持水果体内 ROS 稳态发挥着重要作用<sup>[30]</sup>。由图 9-A 可知,ε-PL 处理组苹果的 CAT 活性在贮藏的 1~7 d 内均显著高于 CK 组,且在 2、3、5 d 时 CAT 活性较高,分别达到 7.7、7.9、8.4 U/g FW。而从图 9-B 可以看出,在贮藏 1~7 d 时处理组 *CAT* 表达量高于 CK,且 2、3、5 d 的 *CAT* 相对表达量也较

图7  $\epsilon$ -PL 对灰霉菌侵染苹果后 PAL 活性及其编码基因表达的影响图8  $\epsilon$ -PL 对灰霉菌侵染苹果后 POD 活性及其编码基因表达的影响图9  $\epsilon$ -PL 对灰霉菌侵染苹果后 CAT 活性及其编码基因表达的影响

高,分别是 CK 组的 3.17、3.20、3.78 倍。

### 3 讨论与结论

400 mg/L 的  $\epsilon$ -PL 能有效控制苹果采后灰霉病,浓度低于 100 mg/L 的  $\epsilon$ -PL 无法控制苹果采后灰霉病,高于 800 mg/L 的  $\epsilon$ -PL 控制效果减弱,过高的  $\epsilon$ -PL 浓度可能引起苹果自身组织细胞的损伤,加速腐烂进程,反而不能控制由灰霉病引起的苹果腐烂。400 mg/L 的  $\epsilon$ -PL 浸泡处理苹果 15 min,能有效抑制苹果的自然腐烂,并提高苹果的贮藏品质,这一研究成果将有助于  $\epsilon$ -PL 作为一种安全的食品防腐剂应用于苹果和其他水果采后病

害防治和贮藏保鲜领域。 $\epsilon$ -PL 在苹果体内能有效抑制 *B. cinerea* 孢子萌发和菌丝生长,与  $\epsilon$ -PL 自身抑菌效力和其诱导苹果释放抗性酶和抗性物质有关。 $\epsilon$ -PL 能诱导苹果抗性物质的合成,增强其对灰霉病的抗病能力,如能诱导抗性酶编码基因 *PPO*、*PAL*、*POD* 和 *CAT* 的上调表达,提高抗性酶 *PPO*、*PAL*、*POD* 和 *CAT* 的活性; $\epsilon$ -PL 能诱导苹果分泌抗菌物质酚类化合物、类黄酮和木质素。本研究从生理角度探讨了  $\epsilon$ -PL 控制苹果采后灰霉病的抗性诱导机制,但在分子层面的研究不够深入,后续将开展  $\epsilon$ -PL 对苹果抗性基因表达和对 *B. cinerea* 侵染基因表达的影响等分子层面的研究。

## 参考文献:

- [1] 窦 勇.  $\epsilon$ -聚赖氨酸对苹果采后青霉病的控制及其机制研究 [D]. 镇江:江苏大学,2023.
- [2] Dou Y, Routledge M N, Gong Y Y, et al. Efficacy of epsilon - poly - L - lysine inhibition of postharvest blue mold in apples and potential mechanisms [J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 171:111346.
- [3] Sun J Z, Chen H B, Chen Y H, et al.  $\epsilon$ -Poly - L - lysine enhances fruit disease resistance in postharvest longans (*Dimocarpus longan* Lour.) by modulating energy status and ATPase activity[J]. Foods, 2022, 11(5):773.
- [4] Shu C, Cui K B, Li Q, et al. Epsilon - poly - L - lysine ( $\epsilon$ -PL) exhibits multifaceted antifungal mechanisms of action that control postharvest *Alternaria* rot [J]. International Journal of Food Microbiology, 2021, 348:109224.
- [5] Jiao W X, Liu X, Chen Q M, et al. Epsilon - poly - L - lysine ( $\epsilon$ -PL) exhibits antifungal activity *in vivo* and *in vitro* against *Botrytis cinerea* and mechanism involved [J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 168:111270.
- [6] Liu H, Zhao X X, Yu M, et al. Transcriptomic and functional analyses indicate novel anti - viral mode of actions on tobacco mosaic virus of a microbial natural product  $\epsilon$ -poly - L - lysine[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69(7):2076 - 2086.
- [7] Sun J Z, Fan Z Q, Chen Y Z, et al. The effect of  $\epsilon$ -poly - L - lysine treatment on molecular, physiological and biochemical indicators related to resistance in longan fruit infected by *Phomopsis longanae* Chi[J]. Food Chemistry, 2023, 416:135784.
- [8] Li H, He C, Li G J, et al. The modes of action of epsilon - polylysine ( $\epsilon$ -PL) against *Botrytis cinerea* in jujube fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 147:1 - 9.
- [9] 王 曼, 魏 佳, 伊丽达娜·迪力夏提, 等. 二氧化硫调控亚硫酸盐代谢对葡萄采后灰霉病的抑制作用[J]. 中国食品学报, 2022, 22(11):299 - 308.
- [10] Dou Y, Solairaj D, Guillaume L N N, et al. Transcriptome analysis provides insights into potential mechanisms of epsilon - poly - L - lysine inhibiting *Penicillium expansum* invading apples [J]. Postharvest Biology and Technology, 2024, 207:112622.
- [11] An J X, Zhang B Q, Liang H J, et al. Antifungal activity and putative mechanism of HWY - 289, a semisynthetic protoberberine derivative, against *Botrytis cinerea* [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(14):7716 - 7726.
- [12] Ayub J, Tahir A T, Iqbal U, et al. Effective biological control of lentil (*Lens culinaris*) *Fusarium* wilt and plant growth promotion through native rhizobacteria[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2024, 129:102203.
- [13] Zhao L N, Wang Y J, Wang Y, et al. Effect of  $\beta$ -glucan on the biocontrol efficacy of *Cryptococcus podzolicus* against postharvest decay of pears and the possible mechanisms involved [J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 160:111057.
- [14] Godana E A, Yang Q Y, Zhao L N, et al. *Pichia anomala* induced with chitosan triggers defense response of table grapes against post - harvest blue mold disease [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12:704519.
- [15] Xi Y N, Yang Q Y, Godana E A, et al. Study on the effect of *Debaryomyces hansenii* enhanced by alginate oligosaccharide against postharvest blue mold decay of apples and the physiological mechanisms involved [J]. Biological Control, 2022, 176:1049 - 9644.
- [16] Godana E A, Zhang X Y, Yang Q Y, et al. *Yarrowia lipolytica* increased the activities of disease defense related enzymes and anti - fungal compounds in asparagus (*Asparagus officinalis*) [J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2024, 198:105748.
- [17] Zhou Y L, Zhao L N, Chen Y Q, et al. Study on the control effect and physiological mechanism of *Wickerhamomyces anomalus* on primary postharvest diseases of peach fruit [J]. International Journal of Food Microbiology, 2024, 413:110575.
- [18] Zhou Y L, Zhao L N, Yue S Y, et al. Assay for transposase accessible - chromatin with high throughput sequencing (ATAC - seq) analysis the molecular responses of postharvest pear during *Penicillium expansum* infection [J]. Postharvest Biology and Technology, 2024, 209:112733.
- [19] Deng L L, Zeng K F, Zhou Y H, et al. Effects of postharvest oligochitosan treatment on anthracnose disease in citrus (*Citrus sinensis* L. Osbeck) fruit [J]. European Food Research and Technology, 2015, 240:795 - 804.
- [20] Morrison I M. A semi - micro method from the determination of lignin and its use in predicting the digestibility of forage crops [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 1972, 23(4):455 - 463.
- [21] 彭贞贞, 叶旗慧, 徐晓艳, 等. 1 - 甲基环丙烯处理对红富士苹果贮藏品质的影响 [J]. 浙江大学学报 (农业与生命科学版), 2020, 46(1):83 - 92.
- [22] Semyalo D, Kwon O, Wakholi C, et al. Nondestructive online measurement of pineapple maturity and soluble solids content using visible and near - infrared spectral analysis [J]. Postharvest Biology and Technology, 2024, 209(6):112706.
- [23] Tokala V Y, Singh Z, Kyaw P N. Postharvest fruit quality of apple influenced by ethylene antagonist fumigation and ozonized cold storage [J]. Food Chemistry, 2021, 341:128293.
- [24] Wang Z D, Asghari M, Zahedipour - Sheshglani P, et al. Impact of 24 - epibrassinolide and methyl jasmonate on quality of red delicious apples [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104(3):1621 - 1629.
- [25] Li T T, Shi D D, Wu Q X, et al. Sodium para - aminosalicylate delays pericarp browning of litchi fruit by inhibiting ROS - mediated senescence during postharvest storage [J]. Food Chemistry, 2019, 278:552 - 559.
- [26] Lima C P, Oster A H, Cavalcanti F R, et al. Induction of defense in apples by sulfated and deacetylated chichá gum [J]. Polímeros, 2021, 31(1):e2021010.
- [27] Li F J, Zhang X Y, Wang J H, et al. Preharvest application of 1 -

刘秀云,陈敏敏,游小英,等. 不同百合鳞茎中功能成分的代谢组学分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(23):194-205.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.23.027

# 不同百合鳞茎中功能成分的代谢组学分析

刘秀云<sup>1</sup>, 陈敏敏<sup>2</sup>, 游小英<sup>1</sup>, 肖 艺<sup>1</sup>, 罗建让<sup>3</sup>, 陈丽诗<sup>1</sup>

(1. 上海农林职业技术学院, 上海 201699; 2. 上海市农业科学院林木果树研究所, 上海 201403; 3. 西北农林科技大学, 陕西杨凌 712100)

**摘要:**百合鳞茎兼具食用与药用价值,前人针对百合鳞茎的主要营养成分开展了较多研究,但针对不同种类百合鳞茎中功能成分的比较研究较少,为此,采用超高效液相色谱(UPLC)-串联质谱(MS/MS)法对兰州百合、宜兴百合、“橙珍珠”和“八点”4种不同百合鳞茎中的代谢物种类及相对含量差异展开测定与分析。结果表明,在4种百合鳞茎中共检测到1511种代谢物,其中占比较高的代谢物分别为羧酸及其衍生物类、有机氧化合物、异戊烯醇脂质类、黄酮类、脂肪酰类,占比依次为26.67%、14.62%、13.50%、7.69%、6.24%。4类百合中的共有代谢物共954种,差异代谢物显著富集于亚油酸代谢途径、淀粉和蔗糖代谢途径以及苯丙氨酸、酪氨酸与色氨酸生物合成通路、核黄素代谢与半乳糖代谢通路。特有的代谢物共48种,如西伯利亚远志糖A3、垂盆草苷、刺梨苷F1等物质仅在兰州百合中被检测到;15,16-二-氧-乙酰基羧基苷、3,5,9-三羟基麦角甾-7,22-二烯-6-酮、黑升麻苷H1等物质仅在宜兴百合中被检测到;“橙珍珠”中的特异性代谢物为3-氧-甲基圆叶肿柄菊素D、丝瓜苷B、黑升麻苷H2等物质;澳洲茄碱、3-O-阿魏酰奎尼酸和槲皮素3-芸香苷-7-葡萄糖苷等物质仅在“八点”中被检测到。兰州百合中较高的糖和甜味氨基酸含量可能是其口感清甜的原因之一,宜兴百合中较高的甾体类生物碱可能与其药用功能相关;“橙珍珠”和“八点”中药用氨基酸和黄酮类物质的富集积累使其成为优异功能型百合新品种选育的重要亲本。综上结果,4类百合鳞茎中功能成分及其代谢物存在差异,可从中筛选特有标记代谢物,为后续选育和开发功能型百合新品种提供重要参考。

**关键词:**百合;鳞茎;代谢组学;差异代谢物;功能成分

**中图分类号:**S682.2+65.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)23-0194-12

百合为百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium* spp.)多年生球根草本植物,主要分布于北半球温带地区,全世界野生种质资源约115种,其中约55种分布于我国<sup>[1-2]</sup>。百合花朵硕大、色彩鲜艳、花型多样,观赏价值较高,在园林和家庭园艺中应用广泛。百合地下鳞茎由肉质鳞片抱合而成,洁白肥厚,味

甜清香,略有苦味,是我国卫生健康委员会审批通过的首批药食同源植物<sup>[3]</sup>,入药部位干燥鳞叶对阴虚燥咳、痰中带血、虚烦惊悸和失眠多梦等症状均有显著疗效<sup>[4-5]</sup>。有研究发现,百合花瓣中含有丰富的蛋白质、维生素C、矿物质和生物活性物质,也具有较高的食药价值<sup>[6-7]</sup>。

作为药食同源植物,百合营养物质和生物活性物质相关研究逐渐成为热点<sup>[8-9]</sup>,检测种类主要集中在兰州百合、卷丹、岷江百合、川百合和龙牙百合中,现已明确百合鳞茎中的活性成分以多糖、生物碱、甾体皂苷、黄酮与酚酸等为主,而对于不同种类

收稿日期:2024-07-25

基金项目:上海市科技兴农项目(编号:2020-02-08-00-12-F01463)。

作者简介:刘秀云(1979—),女,内蒙古乌海人,硕士,副教授,主要从事园艺植物种质资源评价利用与栽培技术研究。E-mail:shseed@126.com。

methylcyclopropene and ethephon altered cuticular wax biosynthesis and fruit quality of apples at harvest and during cold storage[J]. Horticultural Plant Journal, 2022, 8(2):143-152.

[28] Hasanuzzaman M, Borhannuddin Bhuyan M H M, Zulfiqar F, et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in plants under abiotic stress: revisiting the crucial role of a universal defense regulator[J]. Antioxidants, 2020, 9(8):681.

[29] Bai J L, Wang H H, Zhang J M, et al. Postharvest quality

maintenance of wax apple and guava fruits by use of a fermented broth of an  $\epsilon$ -poly-L-lysine producing *Streptomyces* strain[J]. PLoS One, 2022, 17(3):e0265457.

[30] Ge Y H, Wei M L, Li C Y, et al. Reactive oxygen species metabolism and phenylpropanoid pathway involved in disease resistance against *Penicillium expansum* in apple fruit induced by  $\epsilon$ -poly-L-lysine[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98(13):5082-5088.