

外源褪黑素对杏果实采后黑斑病的调控作用

张亚琳, 王慧慧, 芦玉佳, 任新雅, 张 昱, 马海娟, 张文娜, 朱 璇*
(新疆农业大学食品科学与药学院 乌鲁木齐 830052)

摘要 为探究外源褪黑素对杏果实采后黑斑病的影响,以“赛买提”杏为试验材料,采用不同浓度的褪黑素(50,100,200 $\mu\text{mol/L}$)在 0.05 MPa 条件下减压处理 2 min,常压状态下浸泡 8 min。以蒸馏水处理为对照组,自然晾干表面水分,在温度(0 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度 90%~95%条件下放置 48 h 后,损伤接种交链格孢菌于相同条件下贮藏。定期测定杏果实接种发病率和病斑直径,苯丙氨酸解氨酶(PAL)、肉桂酸-4-羟化酶(C4H)、4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL)、多酚氧化酶(PPO)、肉桂醇脱氢酶(CAD)活力及总酚、类黄酮、木质素含量。结果表明:外源褪黑素处理显著降低了杏果实接种发病率和病斑直径的上升。在贮藏 42 d 时,不同浓度的褪黑素处理组(50,100,200 $\mu\text{mol/L}$)的病斑直径分别为 8.41,7.20,8.01 mm,比对照组病斑直径低 5.68%,19.32%,9.45%($P<0.05$),接种发病率分别比对照组低 10.00%,21.11%,12.22%($P<0.05$),100 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素处理组抑制杏果实交链格孢菌生长效果最佳。褪黑素处理可提高杏果实 PAL、C4H、4CL、PPO、CAD 酶活力,促进杏果实总酚、类黄酮和木质素含量的积累。贮藏结束时,褪黑素处理组 PAL、C4H、4CL、PPO、CAD 酶活力分别为 400.75,0.95,0.48,0.52,0.61 U,比对照组高 15.18%,41.04%,18.51%,15.63%,65.04%($P<0.05$),褪黑素组的总酚、类黄酮和木质素含量分别是对照组的 1.10 倍,1.22 倍,1.30 倍($P<0.05$)。结论:外源褪黑素处理可调控苯丙烷代谢,增强杏果实采后对黑斑病的抗性。

关键词 褪黑素; 杏; 抗病性; 苯丙烷代谢

文章编号 1009-7848(2024)03-0201-09 DOI: 10.16429/j.1009-7848.2024.03.020

杏(*Prunus armeniaca* L.)属于蔷薇科杏属植物^[1]。据 2020 年统计,新疆杏果实种植面积约为 11.42 万 hm^2 ,占据新疆水果及坚果种植总面积的 7.24%,总产量约为 91.85 万 t,是新疆水果总产值的 5.31%^[2]。杏果实成熟季节早,采收主要集中在夏季高温季节,采收后的杏果实极易遭受各种病原菌的侵染,其中交链格孢菌(*Alternaria alternata*)引起的黑斑病是杏果实采后腐烂变质的常见病害^[3]。目前,主要采用化学杀菌剂控制杏果实采后黑斑病的发生,然而长期使用不仅病原菌易产生耐药性,而且杏果实会残留杀菌剂,危害人体健康,因此化学杀菌剂的使用受到限制。迫切需要寻求一种安全、可靠的防治技术。

近年来,越来越多的研究表明,采用物理、化学和生物激发子等方法可诱导果蔬提高防御能力,从而控制采后病害^[4]。褪黑素是一种新型植物

生长调节剂,广泛分布于不同的植物器官中,在对抗各种不利环境因素的多种生理机制中发挥重要作用。研究表明,外源褪黑素通过抑制果实采后呼吸强度和乙烯释放量,减缓了猕猴桃^[5]、甜樱桃^[6]、枣^[7]等果实后熟衰老,延长了果实贮藏期。也有研究表明褪黑素处理加速了乙烯的产生,反而促进了番茄果实后熟^[8]。外源褪黑素处理还可延缓果实采后细胞膜脂过氧化,通过调控果实能量代谢、多胺代谢,维持细胞膜结构完整性,增强桃^[9]、荔枝^[10]、李^[11]在低温贮藏条件下的耐受性,减轻果实冷害的发生。此外,褪黑素还可作为一种信号分子,通过相互作用协调茉莉酸、活性氧和水杨酸等信号分子,提高果实防御酶活性,促进抗菌物质的形成,增强番茄^[12,34]、草莓^[13]、枣^[14]等果实对病原微生物的抗病性,降低果实腐烂变质,然而,有部分研究表明外源褪黑素处理柑橘果实,反而会促进青霉菌的扩展^[15]。

目前,外源褪黑素对果蔬贮藏保鲜的影响主要集中在延缓果蔬采后后熟衰老,增强果蔬采后低温贮藏抗冷性。在果蔬采后侵染性病害方面虽已有研究,但外源褪黑素对果蔬采后抗病性的影响可能因果蔬品种、处理浓度、处理方法、处理时

收稿日期: 2023-03-29

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2022 D01A196); 国家自然科学基金地区科学基金项目(31860462)

第一作者: 张亚琳,女,硕士生

通信作者: 朱璇 E-mail: 13999877961@126.com

间的不同而存在差异^[3],甚至不同浓度褪黑素处理不同品种果实出现相反的结果^[8,15]。本文为促进褪黑素用于杏果实贮藏保鲜,以新疆“赛买提”杏为试材,探究外源褪黑素处理调控苯丙烷代谢,诱导杏果实对黑斑病的抗性,以期外源褪黑素用于杏果实采后贮藏保鲜提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

“赛买提”杏果实采收于2021年6月28日采自新疆库车县乌恰镇果园,采后当天迅速运回果蔬采后生理实验室,在 $(8\pm 1)^\circ\text{C}$ 条件下预冷12 h后,去除机械损伤及病虫害,选取大小均匀,色泽及成熟度[硬度为 (20.18 ± 0.1) N,可溶性固形物 $16.24\%\pm 0.2\%$]相对一致的杏果实作为试验原料。

所用菌种交链格孢菌由果蔬采后生理研究室提供。

褪黑素,采自上海源叶生物科技有限公司;氧化型辅酶Ⅱ、葡萄糖-6-磷酸钠、亮抑酶肽、溴化乙酰、羟胺盐酸、反式肉桂酸、正己烷等均为国产分析纯。

1.2 仪器与设备

紫外分光光度计(UV-1700),上海美析仪器有限公司;高速粉碎研磨机(A11),德国IKA公司;智能高速冷冻离心机(3H16RI),湖南赫西仪器装备有限公司;电热恒温水浴锅(DZKW-S-6),北京市永光明医疗仪器厂;全自动制冰机(MS-AT25F),佛山市猛世科技有限公司。

1.3 方法

1.3.1 原料处理方法 分别采用50,100和200 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素溶液对杏果实进行减压(0.05 MPa)处理2 min,后常压状态下浸泡8 min,以蒸馏水处理为对照组,每组处理20.0 kg。将处理晾干后的杏果实置于温度 $(0\pm 1)^\circ\text{C}$,相对湿度90%~95%条件下贮藏48 h后,进行损伤接种交链格孢菌。

1.3.2 损伤接种 参照赵亚婷等^[16]的方法稍作修改。取经马铃薯葡萄糖琼脂培养基培育7 d的交链格孢菌,加入10 mL无菌水(含体积分数0.05% Tween-80),用经灭菌后的玻璃棒轻轻刮取表面孢子,转入100 mL三角玻璃瓶中,随后经漩涡混合器摇匀后用纱布过滤,采用含0.05% Tween-80

(体积分数)的无菌水调节悬液浓度至 1×10^6 个/mL,得到孢子悬浮液备用。损伤接种前,采用75%乙醇溶液和无菌水分别擦拭杏果实表面,待果实表面无水分后,用经灭菌后的铁钉在果实表面赤道中心位置扎1个孔径为3.0 mm,深度为4.0 mm的小孔,向孔内注射15 μL 孢子悬浮液,注射完成后将接种面有序放在塑料筐内,转入温度 $(0\pm 1)^\circ\text{C}$ 、RH 90%~95%条件下冷藏,每7 d进行1次取样,并测定后续相关指标。

1.3.3 指标测定

1.3.3.1 损伤接种交链格孢菌发病率和病斑直径的测定 参照赵亚婷等^[16]方法。以损伤接种的杏果实菌斑直径大于损伤接种孔径3.0 mm时即为接种发病果实,计算公式见公式(1);病斑直径测量采用十字交叉法,每处理组3.0 kg,重复3次。

$$\text{接种发病率}(\%) = \frac{\text{接种发病果实个数}}{\text{接种果实总个数}} \times 100 \quad (1)$$

1.3.3.2 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活力的测定 参照范存斐等^[17]的方法,以每小时每克杏果实(FW)内在290 nm吸光度变化0.01为1个酶活力单位(U),酶活力单位为 $U = \Delta OD_{290\text{nm}} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ FW

1.3.3.3 肉桂酸羟化酶(C4H)活力测定 参考范存斐等^[17]方法,稍作修改。以每分钟每克杏果实(FW)在340 nm吸光度变化1为1个酶活力单位(U),酶活力单位为 $U = \Delta OD_{340\text{nm}} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ FW。

1.3.3.4 4-香豆酰-辅酶A连接酶(4CL)活力测定 参考Li等^[18]的方法,稍加修改。以每分钟每克杏果实(FW)于333 nm吸光度变化1为1个活力单位(U),酶活力单位为 $U = \Delta OD_{333\text{nm}} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

1.3.3.5 肉桂醇脱氢酶(CAD)活力测定 参考Ascensao等^[19]方法,以每分钟每克杏果实在340 nm处吸光度变化1为1个酶活力单位(U),结果以 $U = \Delta OD_{340\text{nm}} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ FW表示。测定3次重复。

1.3.3.6 多酚氧化酶(PPO)活力测定 参考陈莲等^[20]方法,以每分钟每克杏果实样品在420 nm处吸光度变化值变化1为1个活力单位(U),结果以 $U = \Delta OD_{420\text{nm}} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ FW表示。测定3次重复。

1.3.3.7 总酚和类黄酮含量的测定 参考曹建康等^[21]方法,取1.0 g杏组织,加入5 mL经预冷的1% HCl-甲醇获取上清液。分别于280 nm和

325 nm 测定总酚和类黄酮含量。总酚含量表示为 $OD_{280nm} \cdot g^{-1} FW$, 类黄酮含量表示为 $OD_{325nm} \cdot g^{-1} FW$, 每组样品重复测定 3 次。

1.3.3.8 木质素含量的测定 参考范存斐等^[17]方法, 取 1.0 g 杏组织与预冷的 5 mL 95%乙醇充分研磨离心并去除上清液, 剩余残渣经 95%乙醇冲洗 3 次, 再采用 1:2(体积比)乙醇正己烷混合液洗涤 3 次后干燥, 干燥物溶于 1.5 mL 25%溴化乙酰冰醋酸溶液中, 70 °C 保温 0.5 h, 后加入 1.5 mL 2 mol/L NaOH 终止反应。取出后分别加入 2 mL 冰醋酸和 0.1 mL 7.5 mol/L 羟胺盐酸并离心, 取上清液 20 μL , 用冰醋酸定容 5 mL, 各处理组重复 3 次。木质素含量表示为 $OD_{280nm} \cdot g^{-1} FW$ 。

1.4 数据处理分析

采用 Excel 2010 软件进行所有数据结果计算, 使用 SPSS 19.0 软件进行差异性分析, 采用邓肯氏多重比较法进行差异性分析 ($P < 0.05^*$ 表示差异性显著), 绘图采用 Origin 2017 软件。

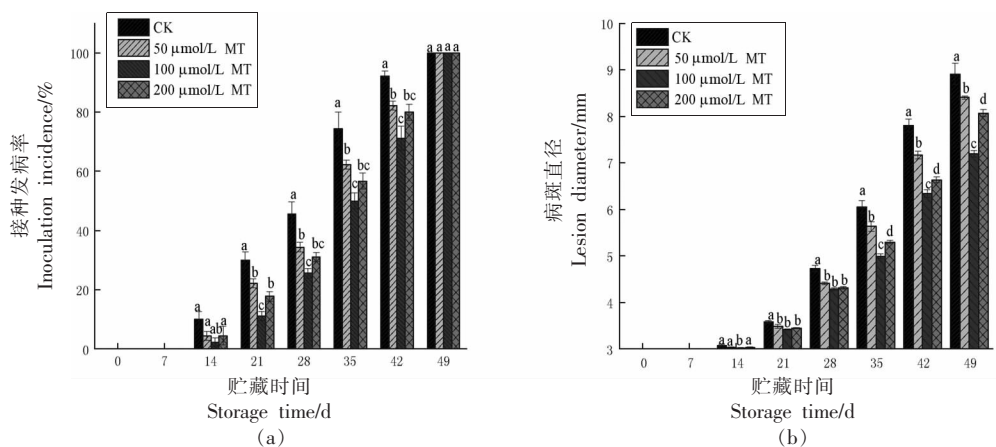
2 结果与分析

2.1 外源褪黑素处理对杏果实采后接种发病率和病斑直径的影响

如图 1a 所示, 各处理组杏果实贮藏过程中接种发病率不断升高, 贮藏 0~7 d 各处理组未见发病, 贮藏第 14 天时陆续开始发病, 由图 1a 可知不同浓度褪黑素组 (50, 100, 200 $\mu mol/L$) 杏果实接种

发病率贮藏 21 d 时分别比对照组低 7.78%, 18.89%, 12.22% ($P < 0.05$), 不同浓度褪黑素组 (50, 100, 200 $\mu mol/L$) 杏果实贮藏第 28 天分别比对照组接种发病率低 11.11%, 20.00%, 14.45% ($P < 0.05$), 贮藏第 42 天时对照组接种发病率比不同浓度褪黑素组 (50, 100, 200 $\mu mol/L$) 杏果实分别高 10.00%, 21.11%, 12.22% ($P < 0.05$), 其中 100 $\mu mol/L$ 褪黑素组杏果实贮藏过程中接种发病率低于其它处理组, 直至贮藏结束所有处理组均发病。

尽管在贮藏结束时各处理组损伤接种果实均发病, 但接种交链格孢菌的杏果实病斑直径的扩展存在显著差异。如图 1b 所示, 各处理组杏果实贮藏 0~49 d 之间病斑直径逐渐增大, 各处理组杏果实贮藏 0~14 d 时病斑直径扩展速度缓慢, 贮藏 21 d 时, 不同浓度褪黑素处理组 (50, 100, 200 $\mu mol/L$) 杏果实病斑直径显著低于对照组, 在贮藏第 35 天时不同浓度褪黑素组 (50, 100, 200 $\mu mol/L$) 杏果实分别比对照组病斑直径低 6.90%, 17.49%, 12.48% ($P < 0.05$), 对照组杏果实贮藏至 42 d 时病斑直径比不同浓度褪黑素组 (50, 100, 200 $\mu mol/L$) 分别高 8.90%, 23.16%, 17.64% ($P < 0.05$), 在贮藏第 49 天时不同浓度褪黑素处理组 (50, 100, 200 $\mu mol/L$) 分别比对照组病斑直径低 5.68%, 19.32%, 9.45% ($P < 0.05$), 其中 100 $\mu mol/L$ 褪黑素组接种杏果实贮藏结束时病斑直径最小。综上所述表明了, 外源褪黑素处理诱导增强了杏



注: 图中小写字母不同表示组间差异显著 ($P < 0.05$), 反之则差异不显著 ($P > 0.05$)。

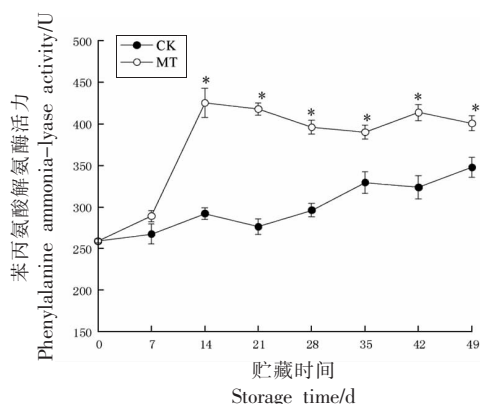
图 1 外源褪黑素处理对杏果实采后接种交链格孢菌发病率和病斑直径的影响

Fig.1 Effect of MT treatment on inoculation incidence and lesion diameter in inoculated apricot fruit

果实抗病性,显著降低了接种交链格孢菌 a 杏果实发病率,延缓了病斑直径进一步扩展,其中 100 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素处理组杏果实延缓交链格孢菌侵染效果最好。因此,后续选取 100 $\mu\text{mol/L}$ 褪黑素处理组的杏果实,探究褪黑素诱导增强杏果实采收后对交链格孢菌的抗性与苯丙烷代谢的关系。

2.2 外源褪黑素处理对杏果实苯丙氨酸解氨酶(PAL)活力的影响

PAL 可催化苯丙氨酸转化为反式肉桂酸^[23],如图 2 所示各处理组杏果实贮藏期间 PAL 活力逐渐上升,贮藏前 7 d 时各处理组之间无显著性差异,由图 2 可知对照组 PAL 活力在贮藏 14~49 d 之间较褪黑素处理组杏果实存在显著性差异($P<0.05$),褪黑素组杏果实 PAL 活力贮藏第 14 天时快速上升是对照组 PAL 活力的 1.46 倍($P<0.05$),杏果实贮藏结束时对照组 PAL 活力比褪黑素处



注:图中标注*表示组间差异显著($P<0.05$),下同。

图2 外源褪黑素处理后对杏果实 PAL 活性影响
Fig.2 Changes in PAL activity of apricot fruits after exogenous melatonin treatment

2.4 外源褪黑素处理对杏果实 4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4CL)活力的影响

4CL 位于苯丙烷途径的转折点^[23],如图 4 杏果实整个贮藏过程 4CL 活力总体趋势为先上升后下降。对照组比褪黑素组杏果实贮藏第 7 天时 4CL 活力高 57.14% ($P<0.05$),杏贮藏至 21 d 时 4CL 活力出现峰值褪黑素组比对照组大 1.83 倍 ($P<0.05$),褪黑素组 4CL 活力在贮藏 35 d 时比对照组高 68.13% ($P<0.05$),由此表明外源褪黑素处理后提高了杏果实内 4CL 活力,加速了中间产物的合成。

理组低 13.18% ($P<0.05$),由此表明外源褪黑素处理组可显著提高杏果实贮藏期间 PAL 活力。

2.3 外源褪黑素处理对杏果实肉桂酸-4-羟化酶(C4H)活力的影响

C4H 是一种单加氧酶,位于 PAL 之后,催化肉桂酸转化为香豆酸^[24]。如图 3 所示杏果实处理完成后直至贮藏结束褪黑素处理组杏果实的 C4H 活力均显著大于对照组杏果实,贮藏第 14 天时褪黑素处理组 C4H 活力急剧上升是对照组杏果实酶活力 1.62 倍 ($P<0.05$)。在贮藏第 28 天对对照组酶活力比褪黑素处理组杏果实低 43.49% ($P<0.05$),直至贮藏结束褪黑素组 C4H 活力仍显著高于对照组,是对照组 C4H 活力的 1.41 倍 ($P<0.05$)。由此表明外源褪黑素处理后可显著提高杏果实 C4H 活力的上升。

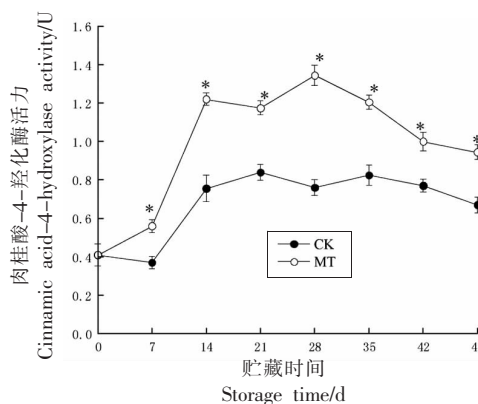


图3 外源褪黑素处理后对杏果实 C4H 的影响
Fig.3 Changes in C4H activity of apricot fruits after exogenous melatonin treatment

2.5 外源褪黑素处理对多酚氧化酶(PPO)活力的影响

PPO 可能主要负责单木质素最初聚合成低聚木素^[26]。如图 5 各处理组杏果实贮藏过程中 PPO 活力总体趋势为先上升后下降,在贮藏第 21 天时褪黑素酶活力显著高于对照组,对照组杏果实 PPO 活力比褪黑素处理组低 22.14% ($P<0.05$),贮藏至 28 d 时褪黑素处理杏果实 PPO 活力出现高峰是对照组的 1.23 倍 ($P<0.05$),随后贮藏第 28~49 天之间 PPO 活力逐渐下降但褪黑素组杏果实 PPO 活力仍比对照组高。由此表明外源褪黑素处

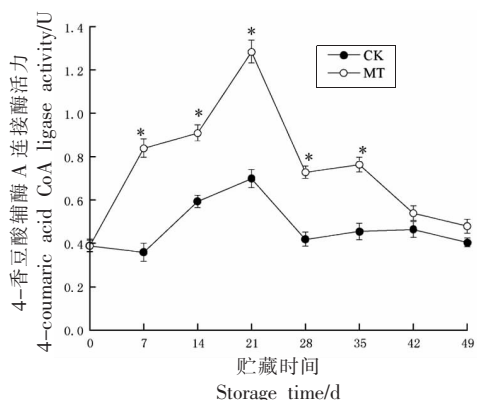


图 4 外源褪黑素处理后的杏果实 4CL 活性变化趋势

Fig.4 Changes in 4CL activity of apricot fruits after exogenous melatonin treatment

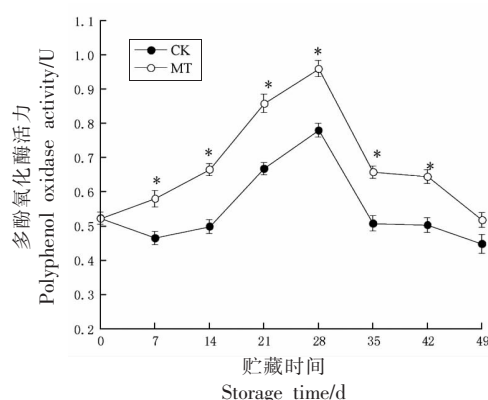


图 5 外源褪黑素处理后的杏果实 PPO 活性变化趋势

Fig.5 Changes in PPO activity of apricot fruits after exogenous melatonin treatment

理可显著提高杏果实 PPO 活力，促进木质素合成。

2.6 外源褪黑素处理对肉桂醇脱氢酶 (CAD) 活力的影响

CAD 参与木质素合成最后阶段,如图 6 所示褪黑素处理组杏果实 CAD 活力在贮藏期间显著高于对照组整体呈上升趋势,从图 6 可知褪黑素处理组杏果实贮藏 21 d 时 CAD 活力比对照组高 1.89 倍 ($P<0.05$), 对照组比褪黑素处理组低 47.22% ($P<0.05$), 直至贮藏至 49 d 时褪黑素处理组仍显著高于对照组杏果实 CAD 活力, 对照组 CAD 活力比褪黑素处理组低 39.40% ($P<0.05$)。由

此表明外源褪黑素处理可显著提高杏果实贮藏期间 CAD 活力促进木质素合成。

2.7 外源褪黑素处理对杏果实类黄酮含量的影响

杏果实贮藏期间类黄酮含量积累速度逐渐加快,从图 7 可知外源褪黑素处理组杏果实内快速积累类黄酮,在贮藏第 21 天时对照组杏果实内类黄酮含量比褪黑素处理组低 24.83%,且显著低于褪黑素处理组类黄酮含量 ($P<0.05$),贮藏第 35 天时褪黑素处理组杏果实内类黄酮含量比对照组高 1.21 倍 ($P<0.05$),从图 7 可知对照组杏果实类黄酮含量显著低于褪黑素处理组。由此表明褪黑素处理后可促进杏果实内类黄酮含量的积累。

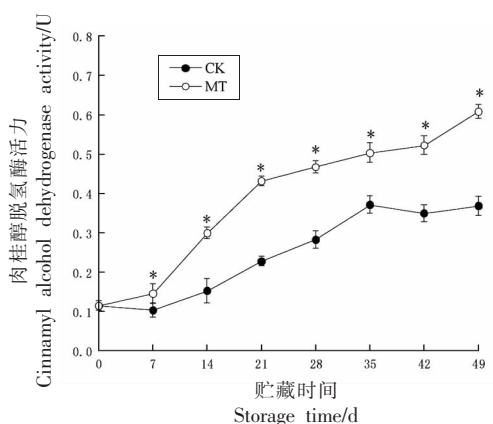


图 6 外源褪黑素处理后的杏果实 CAD 活性变化趋势

Fig.6 Changes in CAD activity of apricot fruits after exogenous melatonin treatment

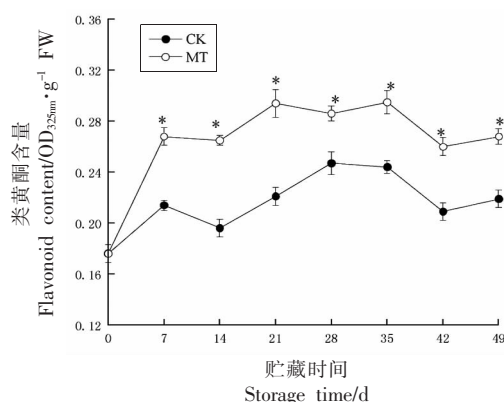


图 7 外源褪黑素处理后对杏果实类黄酮含量影响

Fig.7 Changes in flavonoid contents of apricot fruits after exogenous melatonin treatment

2.8 外源褪黑素处理对杏果实总酚含量的影响

由图 8 可知外源褪黑素处理可显著提高杏果

实内总酚含量的积累, 对照组杏果实总酚含量在贮藏过程中积累速度低于褪黑素组。褪黑素处理

组杏果实总酚含量在贮藏第28天时是对照组的1.60倍($P<0.05$),贮藏至35 d时褪黑素处理组杏果实总酚含量逐渐减少,但仍显著高于对照组杏果实内总酚含量,对照组比褪黑素处理组低13.04%($P<0.05$)。对照组杏果实内总酚含量直至贮藏结束仍显著低于褪黑素处理组(图8),在贮藏结束时对照组杏果实总酚含量比褪黑素处理组含量低9.40%($P<0.05$)。由此表明褪黑素处理可显著提高杏果实内总酚含量。

2.9 外源褪黑素处理对杏果实采后木质素含量的影响

木质素是一种复杂的酚类聚合物,可增强果

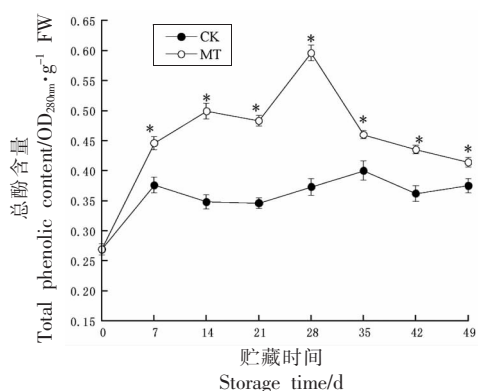


图8 外源褪黑素处理后的杏果实中总酚含量变化趋势
Fig.8 Changes in total phenolic contents of apricot fruits after exogenous melatonin treatment

3 讨论

目前,已有研究表明褪黑素处理可诱导果蔬采后对病原微生物侵染产生抗病性,通过外源褪黑素处理可诱导增强荔枝^[22]对霜霉菌(*Peronophythora litchii*),梨^[23]对交链格孢菌(*Alternaria alternata*),葡萄^[24]对灰霉菌(*Botrytis cinerea*)产生抗病性,从而减轻果实腐烂变质。在本研究中,与对照组相比,不同浓度外源褪黑素处理显著降低了接种交链格孢菌杏果实贮藏过程中接种发病率和病斑直径的上升,减轻了杏果实黑斑病的发生,且筛选出褪黑素处理降低杏果实接种发病率和病斑直径上升最有效浓度为100 $\mu\text{mol/L}$ 。由此可知,外源褪黑素可增强杏果实采后抗病性,从而降低杏果实腐烂变质。

苯丙烷代谢在果蔬采后的抗病性中起着重要

疏细胞壁结构稳定性^[27]。褪黑素组和对照组杏果实从贮藏开始至贮藏结束木质素含量不断积累,褪黑素组杏果实在贮藏第0~49天时木质素含量比对照组高(图9),褪黑素组杏果实在贮藏21 d时比对照组木质素含量高38.12%($P<0.05$),且褪黑素组杏果实内木质素含量显著高于对照组($P<0.05$),在贮藏结束时对照组杏果实内木质素含量显著低于褪黑素组,对照组比褪黑素处理组杏果实内木质素含量低22.93%($P<0.05$)。由此表明外源褪黑素处理可促进杏果实贮藏期间木质素含量积累。

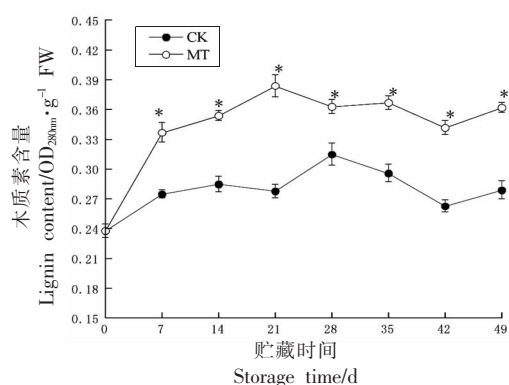


图9 外源褪黑素处理后的杏果实中木质素含量变化趋势
Fig.9 Changes in lignin contents of apricot fruits after exogenous melatonin treatment

的作用,是果蔬采后主要次生代谢途径^[26]。PAL、C4H、4CL是苯丙烷代谢关键酶,在本研究中,外源褪黑素处理诱导了杏果实中PAL酶活力上升,PAL作用底物是苯丙氨酸,在苯丙烷代谢过程中第一步就是将苯丙氨酸转化为反式肉桂酸^[25],C4H作用于PAL降解产物将肉桂酸转化为反式香豆酸等代谢产物,则4CL催化C4H代谢产物(反式香豆酸、阿魏酸和芥子酸等)形成相应的辅酶A^[27]。同时4CL处于苯丙烷代谢走向总酚、类黄酮、木质素等合成分支路线的转折点^[28],PPO和CAD作为限速酶控制木质素合成途径的最终反应^[29-30]。随贮藏时间的延长外源褪黑素处理杏果实贮藏期间PAL、C4H、4CL和PPO等酶活力上升,促进了总酚、类黄酮、木质素含量的积累。类黄酮可抑制病原孢子萌发和菌丝生长,阻碍病原微生物进一

步侵染,是植物果实重要的植保素之一^[31],酚类物质可直接抑制病原菌的生长,是合成木质素的前体物质^[9],外源褪黑素处理的杏果实类黄酮和总酚含量积累可增强杏果实对交链格孢菌侵染的抗病性,且总酚含量的积累可促进杏果实木质素的形成,木质素可与细胞壁结构中果胶多糖及纤维素等物质协同作用维持细胞壁结构稳定性,形成抵御交链格孢菌侵染的物理屏障^[32],降低了杏果实接种发病率的上升,延缓了杏果实病斑直径的扩展。由此表明,褪黑素可作为诱导因子通过调控PAL、C4H、4CL等关键酶活力,诱导了杏果实内类黄酮、总酚、木质素等抗菌物质的快速积累做出防御反应,增强了杏果实采后对黑斑病的抗性。

4 结论

研究结果表明了外源褪黑素处理提高了杏果实苯丙烷代谢关键酶PAL、C4H、4CL、PPO和CAD酶活力,促进了杏果实中总酚、类黄酮、木质素含量的积累,降低了杏果实接种发病率和病斑直径的上升,显著增强了杏果实对黑斑病的抗性。

参 考 文 献

- [1] 张加延, 张钊. 中国果树志·杏卷[M]. 北京: 中国林业出版社, 2003.
ZHANG J Y, ZHANG Z. Chinese fruit tree journal, apricot volume [M]. Beijing: China Forestry Press, 2003.
- [2] 新疆维吾尔自治区统计局. 新疆统计年鉴[M]. 北京: 中国统计出版社, 2020.
The Xinjiang Uygur Autonomous Region Bureau of Statistics. Xinjiang statistical yearbook [M]. Beijing: China Statistics Press, 2020.
- [3] 曹建康. 杏采后黑斑病潜伏感染时期、机制及控制 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2002.
CAO J K. Period and mechanism of latent infection of postharvest *Alternaria* rot (*Alternaria alternata*) of apricot fruit (cv. Lanzhou Dajiexing) and its control [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2002.
- [4] WANG B, BI Y. The role of signal production and transduction in induced resistance of harvested fruits and vegetables[J]. Food Quality and Safety, 2021, 5(3): 1-8.
- [5] 胡苗, 李佳颖, 饶景萍. 褪黑素处理对采后猕猴桃果实后熟衰老的影响[J]. 食品科学, 2018, 39(19): 226-232.
HU M, LI J Y, RAO J P. Effect of melatonin on ripening and senescence of postharvest kiwifruits [J]. Food Science, 2018, 39(19): 226-232.
- [6] WANG F, ZHANG X P, YANG Q Z, et al. Exogenous melatonin delays postharvest fruit senescence and maintains the quality of sweet cherries[J]. Food Chemistry, 2019, 301(15): 125311.
- [7] DENG B L, XIA C B, TIAN S, et al. Melatonin reduces pesticide residue, delays senescence, and improves antioxidant nutrient accumulation in postharvest jujube fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 173(3): 111419.
- [8] QIAN Q S, NA Z, JIN F W, et al. Melatonin promotes ripening and improves quality of tomato fruit during postharvest life [J]. Journal of Experimental Botany, 2015, 232(3): 657-668.
- [9] GAO H, LU Z M, YANG Y, et al. Melatonin treatment reduces chilling injury in peach fruit through its regulation of membrane fatty acid contents and phenolic metabolism [J]. Food Chemistry, 2018, 245(15): 659-666.
- [10] LIU G S, ZHANG Y X, YUN Z, et al. Melatonin enhances cold tolerance by regulating energy and proline metabolism in litchi fruit [J]. Foods, 2020, 9(4): 454.
- [11] XU R R, WANG L M, ZHAO Z L, et al. Integrative transcriptomic and metabolomic alterations unravel the effect of melatonin on mitigating postharvest chilling injury upon plum (cv. *Friar*) fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2022, 186(6): 111819.
- [12] LIU C X, CHEN L L, ZHAO R R, et al. Melatonin induces disease resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruit by activating jasmonic acid signaling pathway [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(22): 6116-6124.
- [13] AGHDAM M S, FARD J R. Melatonin treatment attenuates postharvest decay and maintains nutritional quality of strawberry fruits (*Fragaria x ananassa* cv. Selva) by enhancing GABA shunt activity [J]. Food Chemistry, 2017, 221(2): 1650-1657.
- [14] 唐琦. 采后褪黑素处理对大枣青霉病和贮藏品质的影响 [D]. 锦州: 渤海大学, 2019.

- TANG Q. Effects of postharvest melatonin treatment on blue mould and storage quality of jujube fruit[D]. Jinzhou: BoHai University, 2019.
- [15] LIN Y L, FAN L Q, XIA X H, et al. Melatonin decreases resistance to postharvest green mold on citrus fruit by scavenging defense related reactive oxygen species[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2019, 153(7): 21–30.
- [16] 赵亚婷, 朱璇, 马玄, 等. 采前水杨酸处理对杏果实抗病性及苯丙烷代谢的诱导[J]. *食品科学*, 2015, 36(2): 216–220.
- ZHAO Y T, ZHU X, MA X, et al. Induction of disease resistance and phenylpropanoid metabolism in apricot fruits by pre-harvest salicylic acid treatment[J]. *Food Science*, 2015, 36(2): 216–220.
- [17] 范存斐, 毕阳, 王云飞, 等. 水杨酸对厚皮甜瓜采后病害及苯丙烷代谢的影响[J]. *中国农业科学*, 2012, 45(3): 584–589.
- FAN C F, BI Y, WANG Y F, et al. Effect of salicylic acid dipping on postharvest diseases and phenylpropanoid pathway in muskmelon fruits[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2012, 45(3): 584–589.
- [18] LI D, ZHANG X C, XU Y Q, et al. Effect of exogenous sucrose on anthocyanin synthesis in postharvest strawberry fruit[J]. *Food Chemistry*, 2019, 289(15): 112–120.
- [19] ASCENSAO A R D, DUBERY I A. Panama disease: cell wall reinforcement in banana roots in response to elicitors from fusarium oxysporum f. sp. cubense race four[J]. *Phytopathology*, 2000, 90(10): 1173–1180.
- [20] 陈莲, 王璐璐, 林河通, 等. 1-甲基环丙烯处理对台湾青枣果实采后病害的抑制[J]. *中国食品学报*, 2020, 20(1): 196–204.
- CHEN L, WANG L L, LIN H T, et al. Inhibitory effects of 1-methylcyclopropene on postharvest disease of indian jujube fruit during storage[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2020, 20(1): 196–204.
- [21] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 116–119.
- CAO J K, JIANG W B, ZHAO Y M. Guidance on physiological and biochemical experiment of postharvest fruit and vegetable[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007: 116–119.
- [22] ZHANG Z K, WANG T, LIU G S, et al. Inhibition of downy blight and enhancement of resistance in litchi fruit by postharvest application of melatonin[J]. *Food Chemistry*, 2021, 347(15): 129009.
- [23] 向妙莲, 吴帆, 李树成, 等. 褪黑素处理对梨果实采后黑斑病及贮藏品质的影响[J]. *中国农业科学*, 2022, 55(4): 785–795.
- XIANG M L, WU F, LI S C, et al. Effects of melatonin treatment on resistance to black spot and postharvest storage quality of pear fruit[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2022, 55(4): 785–795.
- [24] GAO S, MA W, LYU X, et al. Melatonin may increase disease resistance and flavonoid biosynthesis through effects on DNA methylation and gene expression in grape berries[J]. *BMC Plant Biology*, 2020, 20(1): 1–15.
- [25] 卢瑞雪, 韩延超, 陈杭君, 等. 褪黑素处理对小青菜贮藏品质的影响[J]. *中国食品学报*, 2022, 22(1): 198–205.
- LU R X, HAN Y C, CHEN H J, et al. Effect of melatonin treatment on storage quality of brassica chinensis L[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2022, 22(1): 198–205.
- [26] WEI Y Y, ZHOU D D, JING P, et al. Hot air treatment induces disease resistance through activating the phenylpropanoid metabolism in cherry tomato fruit[J]. *Agricultural Food and Chemistry*, 2017, 19(6): 8003–8010.
- [27] SINGH R, RASTOGI S, DWIVEDI U N. Phenylpropanoid metabolism in ripening fruits[J]. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 2010, 9(4): 398–416.
- [28] GE Y H, CHEN Y R, LI C Y, et al. Effect of sodium nitroprusside treatment on shikimate and phenylpropanoid pathways of apple fruit[J]. *Food Chemistry*, 2019, 290(30): 263–269.
- [29] LI G G, ZHU S H, WU W X, et al. Exogenous nitric oxide induces disease resistance against monilinia fructicola through activating the phenylpropanoid pathway in peach fruit[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2017, 97(9): 3030–3038.
- [30] GOFFNER D, JOFFROY I, GRIMA-PETTENATI J, et al. Purification and characterization of isoforms of cinnamyl alcohol dehydrogenase from eucalyptus xylem[J]. *Planta*, 1992, 188(1): 48–53.

- [31] ZHONG Z S, YUAN Y Q, FAN L F, et al. Terpinen-4-ol enhances disease resistance of postharvest strawberry fruit more effectively than tea tree oil by activating the phenylpropanoid metabolism pathway[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68(24): 6739–6747..
- [32] CASTELLUCCIO C. Antioxidant potential of intermediates in phenylpropanoid metabolism in higher plants[J]. Febs Letters, 1995, 368(1): 188–192.
- [33] 赵雨晴, 陈涛, 袁明. 褪黑素在果实发育和采后保鲜中的作用综述[J]. 园艺学报, 2021, 48(6): 1233–1249.
- ZHAO Y Q, CHEN T, YUAN M. Review of the role of melatonin in fruit development and postharvest preservation[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2021, 48(6): 1233–1249.
- [34] LI S G, XU Y H, BI Y, et al. Melatonin treatment inhibits gray mold and induces disease resistance in cherry tomato fruit during postharvest[J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 157(11): 110962.

Regulation of Postharvest Black Spot Disease in Apricot Fruit by Exogenous Melatonin

Zhang Yalin, Wang Huihui, Lu Yujia, Ren Xinya, Zhang Yu, Ma Haijuan, Zhang Wenna, Zhu Xuan*

(College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052)

Abstract To investigate the effect of exogenous melatonin on postharvest black spot disease of apricot fruit. Using Xinjiang ‘Saimaiti’ apricot as test material, the sample were vacuum impregnated into different concentrations of melatonin (50, 100, 200 $\mu\text{mol/L}$) under pressure of 0.05 MPa for 2 min, then atmospheric pressure was restored, and the sample was maintained in the impregnation solution for 8 min, distilled water treatment was used as the control group, naturally dried, and then stored at (0 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ and 90%–95% relative humidity for 48 h, all samples inoculated with *Alternaria alternata*, and stored under the same conditions. The lesion diameter and disease incidence of apricot fruits, and the activities of phenylalanine ammonia-lyase (PAL), cinnamic acid-4-hydroxylase(C4H), 4-coumaric acid CoA ligase (4CL), polyphenol oxidase (PPO) and cinnamyl alcohol dehydrogenase(CAD), and the total phenolic, lignin and flavonoid contents were measured regularly. The results showed that exogenous melatonin treatment significantly reduced the lesion diameter and disease incidence of apricot fruits. On day 42 of storage, the diameters of lesions in different melatonin treatment groups (50, 100, 200 $\mu\text{mol/L}$) were 8.41, 7.20 mm and 8.01 mm, respectively, which were 5.68%, 19.32% and 9.45% lower than those in the control group ($P<0.05$), and the inoculation incidence was 10.00%, 21.11% and 12.22% lower than that of the control group ($P<0.05$), respectively, and 100 $\mu\text{mol/L}$ melatonin treatment group inhibited the growth of *Alternaria alternatas* best. Melatonin treatment increased the enzyme activities of PAL, C4H, 4CL, PPO, and CAD and promoted the accumulation of total phenol, flavonoid, and lignin contents in apricot fruit. At the end of storage, the activities of PAL, C4H, 4CL, PPO and CAD of the melatonin-treated group were 400.75, 0.95, 0.48, 0.52, and 0.61 U, respectively, which were 15.18%, 41.04%, 18.51%, 15.63%, and 65.04% higher than those in the control group ($P<0.05$), and the total phenol, flavonoid, and lignin contents of melatonin group were 1.10, 1.22, and 1.30 times higher than those of the control group($P<0.05$). Those findings suggested that exogenous melatonin could regulate phenylpropanoid metabolism to improved the resistance of apricot fruits to the black spot disease.

Keywords melatonin; apricot fruits; disease resistance; phenylpropanoid metabolism