核农学报 2021,35(4):0846~0853
Journal of Nuclear Agricultural Sciences

文章编号:1000-8551(2021)04-0846-08

伞形花内酯处理对采后徐香猕猴桃果实灰霉病抗的影响

徐文雅[1] 朱玉燕[2] 徐启航[1] 李生娥[1] 沈淑铃[1] 姚兰英[1,*] 郑小林[1,*]

([1]浙江工商大学食品与生物工程学院,浙江 杭州 310018;[2]德清秋水果汁有限公司,浙江 德清 313216)

摘 要:为探讨伞形花内酯处理对猕猴桃果实采后灰霉病的控制效应,本试验研究了伞形花内酯对灰霉菌孢子和生长的影响,以及对美味猕猴桃徐香损伤接种灰霉菌后果实病害发展、抗病相关酶活性和抗性物质的影响。结果表明,离体条件下,0.5 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯能够显著抑制灰霉菌孢子的萌发和生长;0.5 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理能够抑制损伤接种灰霉菌猕猴桃果实病斑的扩张,显著提高果肉几丁质酶(CHT)、β-1,3 葡聚糖酶(GLU)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、4-香豆酰辅酶 A 连接酶(4CL)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)的活性,提高果实贮藏后期总酚、类黄酮和木质素的含量,因而诱导了猕猴桃采后果实对灰霉病的抗性。本研究为应用外源伞形花内酯控制猕猴桃采后果实灰霉病害提供了理论依据。

关键词:猕猴桃果实;伞形花内酯;灰霉病;抗病性

DOI:10.11869/j.issn.100-8551.2021.04.0846

猕猴桃(*Actinidia* spp)采后的主要病害有软腐病、蒂腐病、青霉病、炭疽病和灰霉病等[1]。其中,灰霉病可在猕猴桃的花期、幼果期和贮藏期等各个时期发生,对我国猕猴桃产业造成较大的经济损失[2]。研究表明,灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)引起的猕猴桃采后腐烂率高达 30%以上[3-4]。灰霉菌不仅具有较强的潜伏侵染能力,而且其生长温度范围较宽,在低温条件下也能正常生长发育,如在 0℃ 条件下可依旧保持致病力[5]。目前,生产实践中常采用化学杀菌剂来防治灰霉病,但化学杀菌剂残留影响果品的食用安全性。因此,开发安全、有效、无毒的天然杀菌诱抗剂已成为猕猴桃采后研究的热点之一。

伞形花内酯,又名伞形酮、7-羟基香豆素,是芸香科和伞形科香豆素类中最简单的一种多酚物质,主要存在于瑞香狼毒、雪莲等中草药中,具有抗菌、抗氧化、抗癌等多种药理作用,但其含量在天然植物中较低,提取比较困难,目前获得伞形花内酯的途径多为化学合成[6]。伞形花内酯抗细菌和抗真菌活性中等,其中对真菌的最小抑制浓度(minimal inhibit concentration, MIC)为 500~1 000 μg·mL^{-1},其对小鼠的半致死量(median lethal dose, LD_{50})为 450 mg·kg^{-1}[7]。研究表明伞形花内酯对桃褐腐病菌、棉花红腐病菌、草莓灰霉病菌、辣椒炭疽病菌均有抑菌作用,其中对草莓灰霉菌的 MIC 为 2 000 μg·mL^{-1}[8],说明伞形花内酯具有广谱抑菌性。浙江工商大学郑小林课题组前期研究发现伞形花内酯能够诱导提高猕猴桃采后果实对青霉病的抗性,有助于保持猕猴桃采后果实品质[9]。为了进一步明确伞形花内酯对猕猴桃果实采后主要病害的控制效果,本试验研究了伞形花内酯处理对采后损伤接种灰霉菌猕猴桃果实的抗病机理,以期为伞形花内酯应用于猕猴桃果实采后病害防治提供理论依据和技术参数。

收稿日期:2019-11-19 **接受日期**:2020-01-03

基金项目:国家重点研发计划课题(2016YFD0400901),国家自然科学基金项目(31671908),浙江工商大学食品科学与工程一流学科建设项目(2017SIAR207)

作者简介:徐文雅,女,主要从事农产品贮藏与加工研究。E-mail:782717410@qq.com

* **通讯作者**:姚兰英,女,实验师,主要从事食品化学的教学及研究。E-mail:yaoorchid@163.com;

郑小林,男,教授,主要从事农产品贮藏与加工研究。E-mail:zheng9393@163.com。同为通讯作者。

1　材料与方法

1.1　材料与试剂

美味猕猴桃徐香果实于 2018 年 10 月 9 日采摘自浙江省台州市花积山猕猴桃种植基地，当天运回杭州实验室进行处理。

灰霉菌，浙江省果蔬保鲜与加工技术研究重点实验室保存菌株；伞形花内酯（纯度为 99%），杭州阿拉丁试剂公司。

1.2　仪器与设备

UV-1800 型紫外分光光度计，日本岛津公司；TGL-16M 型高速离心机，湘仪离心机仪器有限公司；HH-S 型数显恒温水浴锅，郑州长城科工贸有限公司；SW-CJ-2D 型超净工作台，上海沪粤明科学仪器有限公司；MIR-553 型恒温培养箱，日本 SANYO 公司；FMH-5 型灭菌锅，日本 Takemura 公司；DM4000 型高倍显微镜，德国徕卡显微系统公司；Milli-Q 型超纯水装置，美国 MILLIPORE 公司。

1.3　试验方法

1.3.1　*孢子悬浮液的制备*　灰霉菌孢子悬浮液的制备参考邵兴锋等[10]的方法。将灰霉菌菌种在马铃薯葡萄糖琼脂培养基（potato dextrose agar，PDA）上进行多次活化，将活化好的灰霉菌接种于新 PDA 平板，在培养箱中培养 7 d，将含 0.05% Tween-20 的无菌水放于长满灰霉菌的平板，并用无菌涂布棒刮菌，刮完用三层无菌纱布过滤，收集孢子于无菌锥形瓶，调节孢子悬浮液浓度为 1.5×10^6 个·mL^{-1}，待用。

1.3.2　*试验处理*　选取表面无机械损伤、无病虫害、无斑且大小和成熟度基本一致的徐香猕猴桃果实，用 1%次氯酸钠溶液浸泡 2 min 后，再分别用 0、0.5 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯溶液浸泡 10 min，其中以 0 mg·mL^{-1}组为对照（CK）。浸泡完毕自然晾干后放入 22℃环境中贮藏 48 h，之后用含 75% 酒精棉球对猕猴桃赤道部位消毒，用灭菌的铁钉在猕猴桃赤道部位等间距刺 3 个 3 mm×3 mm 大小的伤口，1 h 后于每个伤口接种 20 μL 1.3.1 中制备的灰霉菌孢子悬浮液，分批按每框 35 个放入框中，框里放入湿润的纸巾以保持高湿度（相对湿度为 85%～90%），在框外套厚度为 0.05 mm 的聚乙烯薄膜袋，袋上扎数个小孔，袋口不封口且自然合拢，置于 22℃条件下贮藏。接菌当天按 0 d 算，之后每 2 d 取一次样，每次取 40 个果，取病斑周围 1 cm 处果肉作为试验样品，果肉切碎混匀，将 CK 和处理果实果肉分成三组，用液氮进行速冻并保存在-80℃冰箱，用于后续相关指标的测定。每个指标重复测定 3 次。

1.3.3　*灰霉菌孢子萌发率和体外菌落直径的测定*

孢子萌发率：灰霉菌孢子萌发率的测定参考郑剑等[9]的方法。用直径 7 mm 无菌打孔器选取无菌的 PDA 饼，将 PDA 饼放置在灭过菌的玻片上，然后将玻片置于中央有润湿滤纸片的培养皿中。在 PDA 饼上分别加入 30 μL 清水（含无水乙醇）、0.5 mg·mL^{-1}和 1.0 mg·mL^{-1} 伞形花内酯溶液，待干后，加入 20 μL 1.3.1 制备的灰霉菌孢子悬浮液，培养 8 h 后，在显微镜下观察灰霉菌孢子的萌发情况并测定其萌发率（孢子芽管长度等于或大于孢子直径的一半即视为萌发），每组重复 3 次。

体外菌落直径的测定：灰霉菌体外菌落直径的测定参考郑剑等[9]的方法。经灭菌后的 PDA 冷却至 55～60℃时，加入清水（含无水乙醇）和伞形花内酯使 PDA 中伞形花内酯浓度为 0、0.5 和 1.0 mg·mL^{-1}，然后倒入培养基中，待冷却凝固后备用。在培养皿中央放入直径为 1 cm 的无菌圆形滤纸片，并在上面加入 100 μL 1.3.1 制备的灰霉菌孢子悬浮液，26℃培养箱中培养 7 d，并分别于第 3、第 5、第 7 天用十字交叉法测定菌落直径。每组重复 5 次。

1.3.4　*猕猴桃病斑面积的测定*　猕猴桃经损伤接种灰霉菌后，于 22℃条件下贮藏，分别在第 0、第 2、第 4、第 6、第 8 天观察果实发病情况并用十字交叉法测定其病斑直径，计算病斑面积，每组每次 30 个果，10 个果为 1 次重复。

1.3.5　*几丁质酶和 β-1,3-葡聚糖酶活性的测定*

几丁质酶（chitinase，CHT）活性的测定参考 Boller 等[11]的方法。以每秒钟每克样品（鲜重）中酶分解胶状几丁质所产生的 1 μmol *N*-乙酰葡萄糖胺作为一个 CHT 活性单位（U），用 U·g^{-1} FW 表示。每个样品重复测定 3 次。

β-1,3-葡聚糖酶（β-1,3-glucanase，GLU）活性的测定参考 Zong 等[12]的方法。以每秒钟每克样品（鲜重）中酶分解昆布多糖产生 1×10^{-9} mol 葡萄糖作为一个 GLU 活性单位（U），用 U·g^{-1} FW 表示。

1.3.6　*苯丙氨酸解氨酶和 4-香豆酰-辅酶 A 连接酶活性的测定*　苯丙氨酸解氨酶（phenylalanine ammonia-lyase，PAL）活性的测定参考 Liu 等[13]的方法。以每小时每克样品（鲜重）酶促反应体系吸光度值增加 0.01 为一个 PAL 活性单位（U），用 U·g^{-1} FW 表示。

4-香豆酰-辅酶 A 连接酶（4-coumarate coenzyme A ligase，4-CL）活性的测定参考黄玉平等[14]的方法。以每

分钟每克样品(鲜重)酶促反应体系吸光度值增加 0.01 为一个 4-CL 活性单位(U),用 U·g^{-1} FW 表示。

1.3.7 过氧化物酶和多酚氧化酶活性的测定 过氧化物酶(peroxidase,POD)活性的测定参考 Srivastava 等[15]的方法。以每分钟每克样品(鲜重)的吸光度值变化 0.01 为一个 POD 活性单位(U),用 U·g^{-1} FW 表示。

多酚氧化酶(polyphenol oxidase,PPO)活性的测定参考 Sugumaran 等[16]的方法。以每分钟每克样品(鲜重)的吸光度值变化 0.001 为一个 PPO 活性单位(U),用 U·g^{-1} FW 表示。

1.3.8 总酚、类黄酮和木质素的测定 总酚含量的测定参考 Kaur 等[17]的方法。测定样品液在 765 nm 波长处的吸光度值,根据吸光度值在标准曲线上查得相应的没食子酸含量(μg),计算总酚含量。

类黄酮含量的测定参考 Wang 等[18]的方法。测定样品液在 325 nm 波长处的吸光度值,根据吸光度值在标准曲线上查得相应的芦丁含量(mg),计算类黄酮含量。

木质素含量的测定参考 Syros 等[19]的方法,略作修改。测定样品液在 280 nm 波长处的吸光度值,木质素含量用 OD_{280}·g^{-1} FW 表示。

1.4 数据分析与统计

采用 Microsoft Office Excel 2016 绘图,SPSS statistics 23.0 软件进行数据的统计分析,显著性水平设置为 $P<0.05$。

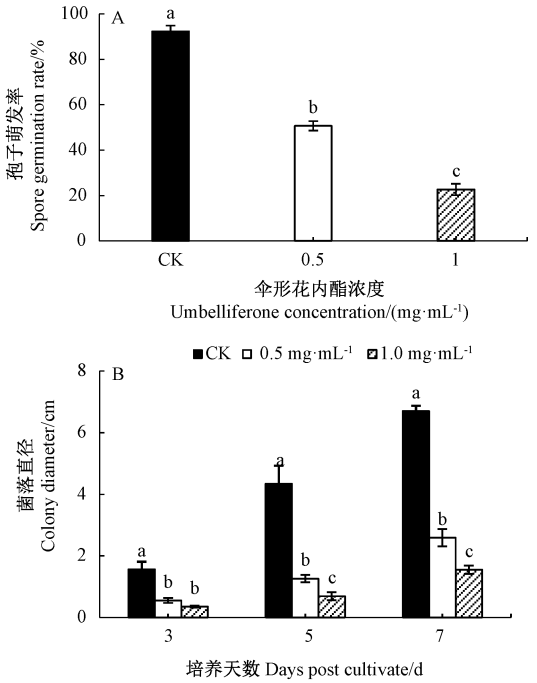
2 结果与分析

2.1 伞形花内酯对灰霉菌孢子萌发率和体外菌落直径生长的影响

由图 1-A 可知,灰霉菌经 8 h 培养后,CK、0.5 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理组的灰霉菌孢子萌发率分别是 92.33%、54.87% 和 24.54%,表明 0.5 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理均能显著抑制灰霉菌孢子的萌发($P<0.05$)。由图 1-B 可知,离体条件下,灰霉菌菌落直径随着培养时间的延长而扩展,但 2 个浓度伞形花内酯处理组在整个培养过程中均显著抑制了灰霉菌菌落直径的扩展($P<0.05$)。

2.2 伞形花内酯处理对猕猴桃果实损伤接种灰霉菌后病斑面积的影响

由图 2 可知,猕猴桃采后果实损伤接种灰霉菌后,果实的病斑面积随着贮藏时间的延长而不断扩大。与 CK 相比,0.5 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理均显著抑制整个贮藏期间果实病斑面积的扩展($P<0.05$);但 2 个浓度伞形花内酯处理的抑制效果在接种后 4~8 d 无显著差异。说明适当浓度伞形花内酯处理能够有效抑制果实损伤接种灰霉菌后的病情发展。



注:不同小写字母表示同一贮藏时间不同处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level among treatments at the same storage time. The same as following.

图 1 体外伞形花内酯处理对灰霉菌孢子萌发率(A)和菌落直径(B)的影响

Fig.1 Effect of umbelliferone treatment on spore germination rate(A) and colony diameter(B) of *B. cinerea* (*in vitro*)

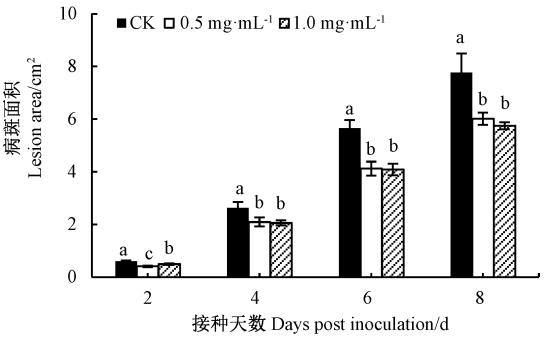


图 2 伞形花内酯处理对猕猴桃果实损伤接种灰霉菌后病斑面积的影响

Fig.2 Effect of umbelliferone treatment on lesion area in kiwifruit with inoculation of *B. cinerea* during storage

2.3　伞形花内酯处理对猕猴桃果实损伤接种灰霉菌后 CHT 和 GLU 活性的影响

由图 3-A 可知，猕猴桃果实损伤接种灰霉菌后，CK 和处理组 CHT 活性均呈先上升后下降的趋势；CK 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理组果实 CHT 活性在接种后第 4 天出现高峰，而 0.5 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理组果实的 CHT 活性在接种第 6 天出现高峰。此外，除 1.0 mg·mL^{-1}处理组果实接种后第 8 天处，2 个浓度伞形花内酯处理果实的 CHT 活性在贮藏期间均显著高于 CK(P<0.05)。

由图 3-B 可知，CK 猕猴桃果实的 GLU 活性不断上升至第 4 天后维持在相对稳定的水平，而 0.5 mg·mL^{-1} 伞形花内酯处理果实的 GLU 活性不断上升，1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的 GLU 活性不断上升至接种第 6 天后开始下降。除 1.0 mg·mL^{-1}处理在接种后第 8 天外，2 个浓度伞形花内酯处理果实的 GLU 活性在贮藏期间均显著高于 CK(P<0.05)。

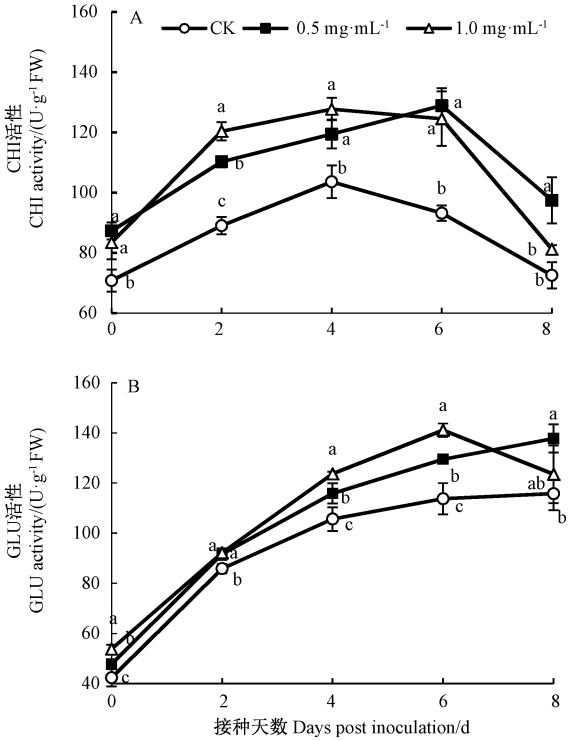


图 3　伞形花内酯处理对猕猴桃果实损伤接种灰霉病菌后 CHT(A)和 GLU(B)活性的影响

Fig.3　Effect of umbelliferone treatment on activities of CHT (A) and GLU (B) in kiwifruit with inoculation of *B. cinerea* during storage

2.4　伞形花内酯处理对猕猴桃果实损伤接种灰霉菌后 PAL 和 4-CL 活性的影响

由图 4-A 可知，CK 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的 PAL 活性变化趋势相似，呈缓慢上升趋势；而 0.5 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的 PAL 活性呈先上升后下降的趋势，在接种后第 4 天达到高峰。除 1.0 mg·mL^{-1}处理果实在接种后第 8 天外，2 个浓度伞形花内酯处理果实的 PAL 活性在贮藏期间均显著高于 CK(P<0.05)。

由图 4-B 可知，CK 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的 4-CL 活性均呈先上升后趋于平缓的趋势，而 0.5 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的 4-CL 活性呈波动上升趋势。0.5 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的 4-CL 活性在接种后第 4 和第 8 天显著高于 CK(P<0.05)，而 1.0 mg·mL^{-1} 伞形花内酯处理果实的 4-CL 活性在接种后第 0、第 2、第 8 天显著高于 CK(P<0.05)。说明伞形花内酯处理诱导提高了苯丙烷代谢途径关键酶 PAL 和 4CL 的活性。

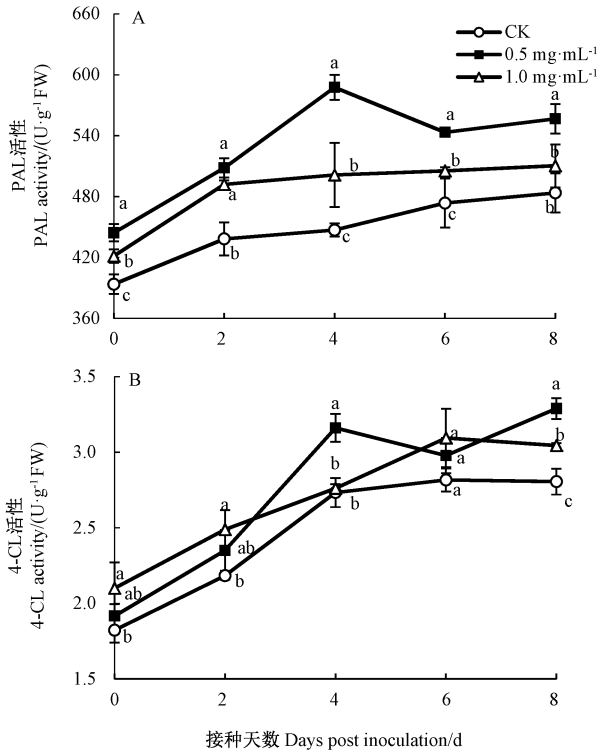


图 4　伞形花内酯处理对猕猴桃果实损伤接种灰霉病菌后 PAL(A)和 4-CL(B)活性的影响

Fig.4　Effect of umbelliferone treatment on activities of PAL (A) and 4-CL (B) in kiwifruit with inoculation of *B. cinerea* during storage

2.5　伞形花内酯处理对猕猴桃果实损伤接种灰霉菌后 POD 和 PPO 活性的影响

由图 5-A 可知，CK 果实的 POD 活性先缓慢降低

(0~6 d),随后急剧上升;0.5 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的 POD 活性急剧降低在接种第 2 天达到最低值,随后急剧增加至接种第 6 天后趋于平衡;1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的 POD 活性先呈下降趋势(0~4 d),而后急剧增加,在接种第 6 天达到最大值,随后又降低至与 CK 同水平。0.5 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的 POD 活性在接种后第 4~第 8 天显著高于 CK,1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理仅在接种后第 2 和第 6 天显著高于 CK(P<0.05)。

由图 5-B 可知,CK 和 0.5 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的 PPO 活性在贮藏期间均不断增加;1.0 mg·mL^{-1} 伞形花内酯处理果实的 PPO 活性先呈增加趋势,接种后第 6 天达到最大值,而后降低至初始水平。除 1.0 mg·mL^{-1}处理在接种后第 8 天外,2 个浓度伞形花内酯处理的果实 PPO 活性在贮藏期间均显著高于 CK(P<0.05)。说明伞形花内酯处理诱导提高了苯丙烷代谢途径末端氧化酶 POD 和 PPO 的活性。

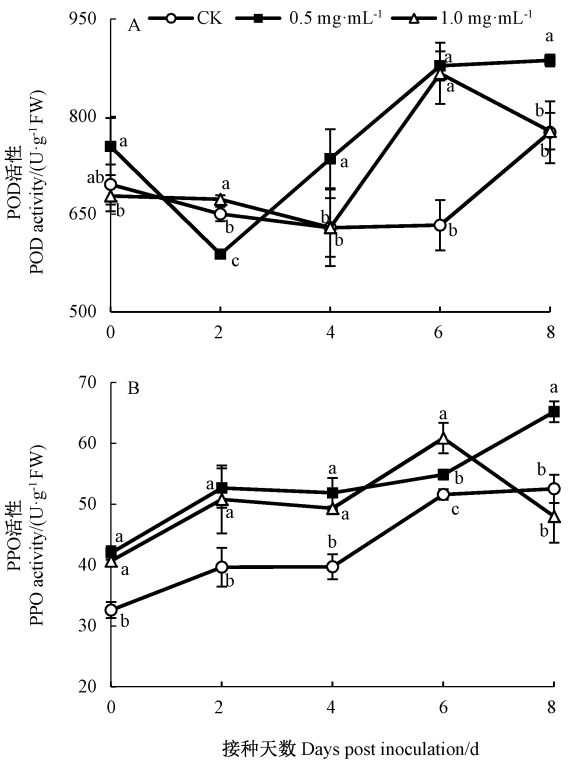


图 5 伞形花内酯处理对猕猴桃果实损伤接种灰霉病菌后 POD(A)和 PPO(B)活性的影响

Fig.5 Effect of umbelliferone treatment on activities of POD (A) and PPO (B) in kiwifruit with inoculation of *B. cinerea* during storage

2.6 伞形花内酯处理对猕猴桃果实损伤接种灰霉菌后总酚、类黄酮和木质素含量的影响

由图 6-A 可知,CK 果实的总酚含量呈波动上升趋势;0.5 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的总酚含量的变化趋势基本一致,在接种后第 0~第 6 天呈上升趋势,随后降低。0.5 和 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的总酚含量分别在接种后第 0、第 4、第 6 天和第 0、第 6 天显著高于 CK(P<0.05)。

由图 6-B 可知,CK 和处理组果实的类黄酮含量在接种后 0~2 d 变化不明显,而后不断增加;除 0.5 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实在接种后第 2 天外,2 个浓度处理果实的类黄酮含量在贮藏期间都显著高于 CK(P<0.05)。

由图 6-C 可知,CK 和 0.5 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的木质素含量变化趋势相似,呈波动变化,而 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理果实的木质素含量在接种前 6 d 略微降低,而后急剧增加。0.5 和 1.0 mg·mL^{-1} 伞形花内酯处理的果实木质素含量分别在接种后第 4~第 8 天和接种后第 4、第 8 天显著高于 CK(P<0.05)。说明伞形花内酯处理能够提高猕猴桃采后果实的总酚、类黄酮和木质素等抗性物质的含量。

3 讨论

灰霉菌是猕猴桃灰霉病的主要病原菌,可在猕猴桃果实生长期侵染,也会在果实采后贮藏期间侵染,导致果实腐烂而失去商品价值[20]。有研究表明,伞形花内酯能够通过破坏灰霉病菌孢子和菌丝体的形态结构起到抑菌效果[21]。本试验结果表明,0.5 和 1.0 mg·mL^{-1} 伞形花内酯处理均能显著抑制灰霉菌孢子的萌发,且伞形花内酯浓度越高,抑制效果越显著。此外,2 个浓度的伞形花内酯处理均能显著抑制灰霉菌体外菌落的扩展,且 1.0 mg·mL^{-1}伞形花内酯处理的抑制效果优于 0.5 mg·mL^{-1},这与伞形花内酯对扩展青霉的抑制效果[9]相似,表明伞形花内酯对一些真菌致病菌具有较好的抑菌效果。同时,接种第 2 天后,尽管 0.5 和 1.0 mg·mL^{-1} 伞形花内酯处理对损伤接种灰霉菌猕猴桃果实的病斑扩展未表现显著差异,但 2 个浓度处理均能够有效抑制损伤接种灰霉菌猕猴桃果实的病斑扩展,表明适当浓度范围的伞形花内酯处理能够有效控制猕猴桃采后果实灰霉病的病情发展,降低果实腐烂率。

CHT 和 GLU 是采后果实在受到生物或非生物胁迫时所诱导产生一类小分子蛋白,即病程相关蛋白

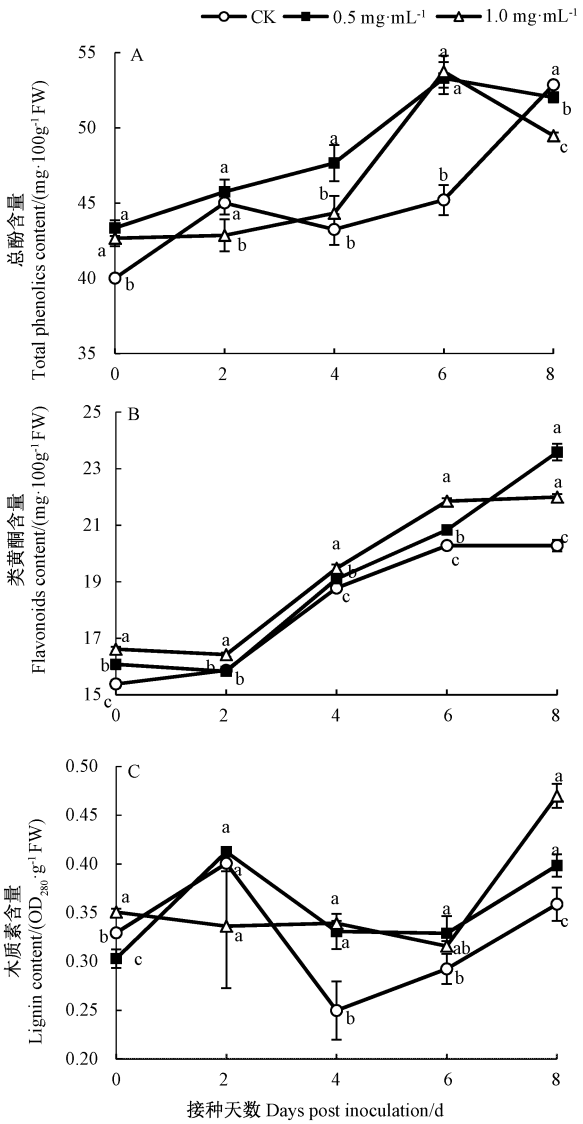


图 6　伞形花内酯处理对猕猴桃果实损伤接种灰霉病菌后总酚(A)、类黄酮(B)和木质素(C)含量的影响

Fig.6　Effect of umbelliferone treatment on contents of phenolics (A), flavonoids (B) and lignin (C) in kiwifruit with inoculation of *B. cinerea* during storage

(pathogenesis related protein,PR 蛋白)[22]。研究表明,CHT 和 GLU 对真菌细胞壁的降解有协同作用,两者能降解真菌细胞壁的主要成分几丁质和 β-1,3-葡聚糖,对病原菌有直接杀伤作用[23]。本研究发现,2 个浓度伞形花内酯处理均可显著提高损伤接种灰霉菌后徐香猕猴桃果肉中的 CHT 和 GLU 活性,表明伞形花内酯处理可能是通过诱导产生 PR 蛋白来提高果实的抗病性。

植物可以激活体内苯丙烷代谢来抵御病原菌的侵染,从而增强自身抗病性;其中,PAL 和 4CL 是苯丙烷代谢途径的关键酶,其活性高低与寄主抗病强弱密切相关[14, 24-25];POD 和 PPO 是苯丙烷途径的末端相关酶,在抗病性中也发挥重要的作用[25-26]。研究发现一些植物诱抗剂提高采后果实的抗病性与其调控果实的苯丙烷代谢相关。例如,甲基水杨酸[27]和褪黑素[28]处理诱导提高番茄等采后果实苯丙烷代谢关键酶活性,进而提高了果实对灰霉病的抗性。本研究发现,与对照相比,伞形花内酯处理不同程度提高了损伤接种灰霉菌猕猴桃果实在贮藏期间的 PAL、4CL、PPO 和 POD 活性,表明伞形花内酯处理可以通过提高猕猴桃采后果实的苯丙烷代谢相关酶活性来提高果实的抗病力,进而抑制灰霉病的发展。

多酚和类黄酮等酚类物质是植物体内的次生代谢产物,不仅对病原菌有毒害作用,还能被氧化成毒性更高的醌类物质,进一步毒杀病原菌[29]。木质素是细胞壁的主要成分之一,同时也是苯丙烷类代谢的产物之一,细胞壁的木质化是对病原体有效的物理屏障[14, 24]。本研究发现,伞形花内酯处理能够提高损伤接种灰霉菌后猕猴桃果实贮藏期间类黄酮含量和贮藏前中期总酚含量,显著提高贮藏中后期木质素的含量。表明伞形花内酯处理能够提高这些抗性物质的含量,进而增强果实的抗病性。

4　结论

本研究发现,外源伞形花内酯能有效抑制灰霉菌孢子萌发和生长。伞形花内酯处理显著提高了损伤接种灰霉菌猕猴桃果实中 CHT、GLU、PAL、4CL、POD 和 PPO 等防御相关酶活性,以及抗性物质总酚、类黄酮和木质素含量,从而诱导猕猴桃采后果实的抗病性。适宜浓度的伞形花内酯处理能够有效抑制猕猴桃灰霉病的发展,从而降低猕猴桃果实采后腐烂率,提高果实的贮藏性。

参考文献:

[1] 高磊, 罗轩, 张蕾, 陈庆红. 猕猴桃采后真菌腐烂病害发生与防治技术研究进展[J]. 中国果树, 2018, 191(3): 72-76

[2] 李爱华, 郭晓成. 猕猴桃灰霉病发生规律及防治[J]. 西北园艺, 2003 (2): 41

[3] Michailides T J, Elmer P A G. Botrytis gray mold of kiwifruit caused by *Botrytis cinerea* in the United States and New Zealand [J]. Plant Disease, 2000, 84(3): 208-223

[4] Kulakiotu E K, Thanassoulopoulos C C, Sfakiotakis E M. Postharvest biological control of *Botrytis cinerea* on kiwifruit by volatiles of [Isabella] grapes [J]. Phytopathology, 2005, 94(12): 1280-1285

[5] 许玲, 张晟瑜, 王奕文, 李喜宏. 灰霉菌(*Botrytis cinerea*)采后致病性研究[J]. 植物病理学报, 2006, 36(1): 74-79

[6] 焦淑清, 徐成, 冯诗杨, 杨博文, 蒋婷婷, 李岩, 尚钰博. 伞形花内酯的微波合成工艺优化研究[J]. 黑龙江医药科学, 2013, 36(5): 26-27

[7] Mazimba O. Umbelliferone: Sources, chemistry and bioactivities review [J]. Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University, 2017, 55(2): 223-232

[8] 白雪娜, 卜春亚, 谷继成, 梁为, 师光禄, 王有年. 伞形花内酯对植物病原真菌的抑制作用[J]. 植物保护, 2012, 38(2): 42-45

[9] 郑剑, 蒋镇烨, 戚雯烨, 潘洁, 郑小林, 李博强. 伞形花内酯处理对美味猕猴桃果实品质和青霉病抗性的影响[J]. 园艺学报, 2018, 45(4): 734-742

[10] 邵兴锋, 屠康, 静玮, 王海, 陈育彦, 陈莉. 热处理对红富士苹果贮藏期间青霉病的抑制效果[J]. 园艺学报, 2007, 34(3): 743-746

[11] Boller T, Gehri A, Mauch F, Vogeli U. Chitinase in bean leaves: Induction by ethylene, purification, properties, and possible function [J]. Planta, 1983, 157 (1): 22-31

[12] Zong Y Y, Liu J, Li B Q, Qin G Z, Tian S P. Effects of yeast antagonists in combination with hot water treatment on postharvest diseases of tomato fruit [J]. Biological Control, 2010, 54(3): 316-321

[13] Liu H X, Jiang W B, Bi Y, Lou Y B. Postharvest BTH treatment induces resistance of peach (*Prunus persica* L. cv. Jiubao) fruit to infection by *Penicillium expansum* and enhances activity of fruit defense mechanisms [J]. Postharvest Biology and Technology, 2005, 35(3): 263-269

[14] 黄玉平, 彭文娟, 张瑜, 李园园, 王莉, 单体敏, 金鹏, 郑永华. NO 处理对草莓果实采后品质和苯丙烷类代谢的影响[J]. 核农学报, 2016, 30(10): 1959-1966

[15] Srivastava M K, Dwivedi U N. Delayed ripening of banana fruit by salicylic acid [J]. Plant Science, 2000, 158(1): 87-96

[16] Sugumaran M, Nellaiappan K. Characterization of a new phenoloxidase inhibitor from the cuticle of *Manduca sexta* [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2000, 268 (2): 379-383

[17] Kaur C, Kapoor H C. Antioxidant activity and total phenolic content of some Asian vegetables [J]. International Journal of Food Science and Technology, 2002, 37(2): 153-161

[18] Wang K T, Jin P, Cao S F. Methyl jasmonate reduces decay and enhances antioxidant capacity in Chinese bayberries[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(13): 5809-5815

[19] Syros T, Yupsanis T, Zafiriadis H, Economoua A. Activity and isoforms of peroxidases, lignin and anatomy, during adventitious rooting in cuttings of *Ebenus cretica* L. [J]. Journal of Plant Physiology, 2004, 161(1): 69-77

[20] 吕岩. 猕猴桃灰霉病的发生与防治[J]. 西北园艺(果树), 2015 (6): 35

[21] 赵磊, 杜娟, 卜春亚, 王有年, 师光禄. 瑞香狼毒活性物质对草莓灰霉病菌的抑制作用[J]. 植物病理学报, 2012, 42(4): 411-417

[22] Ferreira R B, Monteiro S, Freitas R, Santos C N, Chen Z, Batista L M, Duarte J, Borges A, Teixeira A R. The role of plant defence proteins in fungal pathogenesis [J]. Molecular Plant Pathology, 2007, 8(5): 677-700

[23] Adams D J. Fungal cell wall chitinases and glucanases [J]. Microbiology, 2004, 150(7): 2029-2035

[24] Kombrink E, Somssich Ⅰ E. Defense responses of plants to pathogens [J]. Advances in Botanical Research, 1995, 21: 1-34

[25] Liu Y Y, Ge Y H, Bi Y, Deng H W, Hu L, Dong B Y. Effect of postharvest acibenzolar-S-methyl dipping on phenypropanoid pathway metabolism in muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit [J]. Scientia Horticulturae, 2014, 168: 113-119

[26] Nataraj K, Turrigiano G G, Nelson S B, Maffei A. Potentiation of cortical inhibition by visual deprivation [J]. Nature, 2006, 443 (7107): 81-84

[27] Min D D, Li F J, Zhang X H, Shu P, Cui X X, Dong L L, Ren C T, Meng D M, Li J. Effect of methyl salicylate in combination with 1-methylcyclopropene on postharvest quality and decay caused by *Botrytis cinerea* in tomato fruit [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2018, 98 (10):3815-3822

[28] Li S E, Xu Y H, Bi Y, Zhang B, Shen S L, Jiang T J, Zheng X L. Melatonin treatment inhibits gray mold and induces disease resistance in cherry tomato fruit during postharvest [J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 157: 110962

[29] Nicholson R L, Hammerschmidt R. Phenolic compounds and their role in disease resistance [J]. Annual Review of Phytopathology, 1992, 30(1): 369-389

Journal of Nuclear Agricultural Sciences
2021,35(4):0846~0853

Eeffect of Umbelliferone Treatment on Disease Resistance to *Botrytis cinerea* in Kiwifruit cv. Xuxiang During Storage

XU Wenya[1] ZHU Yuyan[2] XU Qihang[1] LI Sheng'e[1] SHEN Shuling[1]
YAO Lanying[1,*] ZHENG Xiaolin[1,*]

([1] *College of Food and Biotechnology, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou, Zhejiang* 310018;
[2] *De Qing Choice Fruit Juice Company, Deqing, Zhejiang* 313216)

Abstract: For investigating the control efficiency of umbelliferone application on postharvest *Botrytis cinerea* in kiwifruit, the effects of umbelliferone treatment on *B. cinerea* spores and growth, the activities of defense related enzymes and the resistance-related substances after inoculation with *B. cinerea* in kiwifruit (*Actinidia deliciosa*. cv. Xuxiang) were studied during storage at room temperature. The results showed that 0.5 and 1.0 mg·mL^{-1} umbelliferone effectively inhibited the spore germination and enlargement of colony diameter of *B. cinerea in vitro*. Also, the umbelliferone treatment with 0.5 and 1.0 mg·mL^{-1} concentration reduced the expansion of the lesion area in kiwifruit inoculated with *B. cinerea*, and effectively increased the activities of defense-related enzymes, including chitinase (CHT), β-1, 3-glucanase (GLU), phenylalanine ammonia lyase (PAL), 4-coumarate CoA ligase (4-CL), peroxidase (POD) and polyphenol oxidase (PPO) in flesh of the kiwifruit, along with the increases in contents of resistant substances in treated kiwifruit, such as total phenolics, flavonoids and lignin, and thereby, decreased the incidence of gray mold in kiwifruit during postharvest. Our present work might provide a theoretical basis for the control of gray mold in kiwifruit by application of umbelliferone during storage.

Keywords: kiwifruit fruit, umbelliferone, gray mold, disease resistance