

# 新型液态壳聚糖处理对‘纽荷尔’脐橙果实感病指数、抗病物质含量和抗病相关酶活性的影响

曾玲玲<sup>1,2,3</sup>, 邓礼艳<sup>1,2,3</sup>, 林育钊<sup>1,2,3</sup>, 林河通<sup>1,2,3\*</sup>, 林艺芬<sup>1,2,3\*</sup>

[1. 福建农林大学食品科学学院, 福州 350002; 2. 亚热带特色农产品采后生物学(福建农林大学)福建省高校重点实验室, 福州 350002; 3. 福建农林大学农产品产后技术研究所, 福州 350002]

**摘要:** **目的** 研究新型液态壳聚糖(稀释800倍的卡多赞)处理对采后‘纽荷尔’脐橙果实贮藏期间果实感病指数、抗病物质含量和抗性相关酶活性的影响。**方法** 采后‘纽荷尔’脐橙果实分别经新型液态壳聚糖和蒸馏水(对照)浸泡处理5 min, 在相对湿度85%、(18±1)°C下贮藏, 每隔30 d测定脐橙果实的感病指数和抗病物质代谢相关指标。**结果** 与对照脐橙果实相比, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实能够保持较低的果实感病指数, 维持较高的抗病物质(木质素、类黄酮和总酚)含量和抗病相关酶[过氧化物酶(peroxidase, POD)、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia lyase, PAL)、肉桂酸-4-羟化酶(cinnamate-4-hydroxylase, C4H)、香豆酰-辅酶A连接酶(4-coumarate CoA ligase, 4-CL)、肉桂醇脱氢酶(cinnamyl alcohol dehydrogenase, CAD)、几丁质酶(chitinase, CHI)和 $\beta$ -1,3葡聚糖酶( $\beta$ -1,3-glucanase, GLU)]活性。**结论** 新型液态壳聚糖处理能有效延缓脐橙果实采后病害的发生, 这可能与壳聚糖处理提高脐橙果实抗病相关酶活性和抗病相关物质含量及诱导脐橙果实抗病性有关。

**关键词:** ‘纽荷尔’脐橙; 新型液态壳聚糖; 感病指数; 抗病物质; 抗病相关酶

## Effects of a novel liquid chitosan treatment on the disease index, the content of disease-resistant substances and the activities of disease resistance related-enzymes in harvested ‘Newhall’ navel orange fruit

ZENG Ling-Zhen<sup>1,2,3</sup>, DENG Li-Yan<sup>1,2,3</sup>, LIN Yu-Zhao<sup>1,2,3</sup>, LIN He-Tong<sup>1,2,3\*</sup>, LIN Yi-Fen<sup>1,2,3\*</sup>

[1. College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 2. Key Laboratory of Postharvest Biology of Subtropical Special Agricultural Products (Fujian Agriculture and Forestry University), Fujian Province University, Fuzhou 350002, China; 3. Institute of Postharvest Technology of Agricultural Products, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China]

**ABSTRACT: Objective** To study the effects of the treatment of a novel liquid chitosan, that Kadozan diluted 800 times, on the fruit disease index, the content of disease-resistance substances, and the activities of disease resistance-associated enzymes in ‘Newhall’ navel orange fruit during storage. **Methods** The harvested ‘Newhall’ navel

基金项目: 福建省高校产学研合作项目(2019N5005)、福建农林大学科技创新专项基金项目(KFb22078XA、KFb22079XA)

**Fund:** Supported by the University-industry Cooperation Projects in Fujian Province, China (2019N5005), and the Science and Technology Innovation Foundation of Fujian Agriculture and Forestry University, China (KFb22078XA, KFb22079XA)

\*通信作者: 林河通, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为果蔬采后生物学与保鲜技术。E-mail: hetonglin@163.com

林艺芬, 博士, 副教授, 博士生导师, 主要研究方向为农产品加工及贮藏工程。E-mail: yifenlin@126.com

\*Corresponding author: LIN He-Tong, Ph.D, Professor, College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China. E-mail: hetonglin@163.com

LIN Yi-Fen, Ph.D, Associate Professor, College of Food Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China. E-mail: yifenlin@126.com

oranges were respectively treated with the novel liquid chitosan and distilled water (the control) for 5 min, then stored at 85% relative humidity and (18±1)°C. The fruit disease index, and the indices related to the metabolism of disease resistance substances in ‘Newhall’ navel orange fruit were evaluated every 30 days of storage. **Results** Compared to control navel oranges, the navel oranges with a novel liquid chitosan treatment could keep the lower fruit disease index, maintain the higher content of disease-resistance substances such as lignin, flavonoids and total phenols, and retain the higher activities of disease resistance-associated enzymes including peroxidase (POD), phenylalanine ammonia lyase (PAL), cinnamate-4-hydroxylase (C4H), 4-coumarate CoA ligase (4-CL), cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD), chitinase (CHI) and  $\beta$ -1,3-glucanase (GLU) in navel orange fruit. **Conclusion** A novel liquid chitosan treatment can effectively delay the disease occurrence in harvested navel orange fruit, which is associated with chitosan treatment increasing the activities of disease resistance-related enzymes, raising the content of disease resistance-related substances, and thus inducing the disease resistance of navel orange fruit.

**KEY WORDS:** ‘Newhall’ navel orange; novel liquid chitosan; fruit disease index; disease resistance substances; disease resistance-associated enzymes

## 0 引言

脐橙是世界上种植最广泛的柑橘品种<sup>[1-3]</sup>。脐橙果实肉质脆嫩,化渣率高,且富含人体所必需的各类营养成分(如维生素C、维生素A、铁和钙等),具有较高的食用价值<sup>[2-3]</sup>。除此之外,脐橙还有降低胆固醇和血脂、软化保护血管以及预防胆囊疾病等药用价值<sup>[2-3]</sup>。但是,脐橙在采摘时容易受到机械损伤,加剧果实呼吸作用和代谢反应,从而造成病原菌侵染而发生采后病害,严重影响脐橙果实经济价值<sup>[3]</sup>。其中,意大利青霉(*Penicillium italicum*)和指状青霉(*Penicillium digitatum*)引起的青霉病和绿霉病为脐橙果实最主要的采后病害<sup>[3]</sup>。因此,亟需解决采后脐橙果实抑菌保鲜、减少经济损失等问题。目前,国内外对脐橙果实采后病害的防治主要是冷藏保鲜和化学试剂保鲜等。其中,对脐橙果实采后病害的防治主要是采用化学合成杀菌剂如噻菌灵、抑霉唑和苯并咪唑等,这些化学合成杀菌剂对绿霉病和青霉病有较好的防治效果;而冷藏保鲜能有效抑制致病原微生物的侵染<sup>[3]</sup>。但是,长期使用化学合成杀菌剂会导致果实表面化学药物残留,对人体健康造成危害,以及增强病原菌对化学杀菌剂的抗药性,对环境造成污染;而冷藏保鲜会大大增加脐橙果实保鲜成本。所以,亟需寻求采后脐橙果实的绿色保鲜技术,以控制脐橙果实采后病害发生、提高果实耐贮性。

壳聚糖是天然多糖甲壳素脱除部分乙酰基的产物,因其具有抗菌性、生物相容性和生物可降解性而被应用于采后果蔬保鲜中<sup>[4-6]</sup>。前人研究发现,壳聚糖可通过提高采后果蔬细胞木质素和酚类物质的合成速度,促使细胞产生乳突、侵填体等结构,进而增强采后果蔬抗病性<sup>[6-10]</sup>。其中,木质素和酚类物质的合成与苯丙烷代谢密切相关。当采后果蔬受到机械和病害胁迫时,苯丙烷代谢会产生积极有效的防御抗性作用,并且通过调节苯丙氨酸解氨酶

(phenylalanine ammonia lyase, PAL)、肉桂酸-4-羟化酶(cinnamate-4-hydroxylase, C4H)、4-香豆酰-辅酶A连接酶(4-coumarate CoA ligase, 4-CL)等关键酶调控木质素、酚类物质等抗病物质的合成与积累,进而提高采后果蔬的贮藏品质和耐贮性<sup>[8,10-12]</sup>。本课题组近年来的研究发现,卡多赞(新型液态壳聚糖)能够有效提高采后荔枝<sup>[6]</sup>、西番莲<sup>[10]</sup>等果实的采后耐贮性,这与卡多赞能有效地激活荔枝、西番莲等果实苯丙烷代谢途径,增强关键酶活性、促进抗病相关物质含量的合成与积累有关。但是,目前有关新型液态壳聚糖(卡多赞)对采后脐橙果实感病指数和抗病物质代谢影响的研究未见报道。因此,本研究以‘纽荷尔’脐橙为试验材料,研究新型液态壳聚糖(卡多赞)对采后脐橙果实感病指数和抗病物质代谢的影响,旨在阐明新型液态壳聚糖处理控制脐橙果实采后病害发生及其调控机制,为提高脐橙果实采后贮藏品质和耐贮性提供理论依据和适用技术。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

供试材料‘纽荷尔’脐橙[*Citrus sinensis* (L.) Osbeck. cv. Newhall navel orange](九成熟:果皮 $h$ 值为74.63±0.39)采摘于福建省三明市尤溪县久泰现代农业公司果园,果实采收后,运输至福建农林大学食品贮藏保鲜实验室(常温条件下运输),选取无病害,无机械损伤,成熟度、形状、色泽一致的‘纽荷尔’脐橙果实进行试验。

新型液态壳聚糖(卡多赞)(上海利统公司);考马斯亮蓝G-250、十二水磷酸氢二钠、几丁质、*p*-香豆酸、3,5-二硝基水杨酸(分析纯,国药集团化学试剂有限公司)。

### 1.2 设备与仪器

HH-4 电热恒温水浴锅(北京市永光明医疗仪器厂);

DRX-260 人工气候箱、LFP-800T 型多功能粉碎机(宁波江南仪器厂); KH19A 高速冷冻离心机(上海美普达仪器有限公司); FA1104N 电子天平(精度 0.0001 g)、ST-360 酶标仪(杭州托普仪器有限公司)。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 ‘纽荷尔’脐橙预处理

本课题组在预试验中采用蒸馏水(对照)和不同浓度新型液态壳聚糖(卡多赞稀释 200、400、600、800 及 1000 倍)溶液浸泡处理脐橙果实 5 min, 晾干之后进行包装(每袋 6 个脐橙果实)。因脐橙果实集中采收于 11~12 月, 所以将贮藏甜橙果实的温度模拟室温, 设定为(18±1)°C, 且相对湿度(relative humidity, RH)设为 85%。在贮藏 180 d 时, 不同处理组的果实感病指数从高到低分别为 79%(对照组)、68%(稀释 1000 倍)、62%(稀释 200 倍)、60%(稀释 600 倍)、48%(稀释 400 倍)、37%(稀释 800 倍), 故把卡多赞稀释 800 倍作为后续试验研究的最佳浓度。

挑选 900 个‘纽荷尔’脐橙果实进行正式试验。将果实随机分成两组并进行以下处理: (1)浸泡在蒸馏水(对照组)中 5 min; (2)浸泡在新型液态壳聚糖(稀释 800 倍的卡多赞)溶液中 5 min。晾干后进行包装(每袋 6 个果实, 每组共 75 袋)。果实包装之后放置在与预试验相同条件下贮藏 180 d。贮藏期间, 每隔 30 d 取 10 袋(60 个果实)‘纽荷尔’脐橙果实, 用于测定果实抗病物质代谢相关指标。此外, 对照组和新型液态壳聚糖处理组分别用 15 袋(90 个果实)用于定期测定‘纽荷尔’脐橙果实感病指数。

#### 1.3.2 测定指标和方法

##### (1)果实感病指数测定

选取 90 个‘纽荷尔’脐橙果实, 参照纪颖等<sup>[13]</sup>的方法测定果实感病指数, 计算公式如式(1)。

$$\text{感病指数} = \frac{\sum(\text{感病级数} \times \text{该级果数})}{(\text{总果数} \times \text{发病最重级的代表数值})} \quad (1)$$

##### (2)果实抗病物质含量测定

从 6 个脐橙果实中取样 50 g, 参照郭欣等<sup>[10]</sup>的方法测定木质素含量, 结果以 g/kg 表示。从 6 个脐橙果实中取样 1 g, 参照 JIANG 等<sup>[6]</sup>和曹建康等<sup>[14]</sup>的方法测定类黄酮和总酚含量。其中, 类黄酮含量以儿茶素当量(catechin equivalents, CE)计算, 结果用 g CE/kg 表示; 总酚含量以没食子酸(gallic acid, GA)计算, 结果用 g GA/kg 表示。

##### (3)果实抗病相关酶活性测定

从 6 个脐橙果实中取样 1 g, 参照 JIANG 等<sup>[6]</sup>和张菊华等<sup>[15]</sup>的方法测定 PAL 和过氧化物酶(peroxidase, POD)活性; 参照 JIANG 等<sup>[6]</sup>的方法测定几丁质酶(chitinase, CHI)和  $\beta$ -1,3 葡聚糖酶( $\beta$ -1,3-glucanase, GLU)活性; 参照 LI 等<sup>[16]</sup>的方法测定 C4H 和 4-CL 活性; 参照宋小飞等<sup>[17]</sup>的方法测定肉桂醇脱氢酶(cinnamyl alcohol dehydrogenase, CAD)活

性。参照 BRADFORD<sup>[18]</sup>的方法测定酶提取液可溶性蛋白质含量。上述结果都以 U/mg protein 表示。

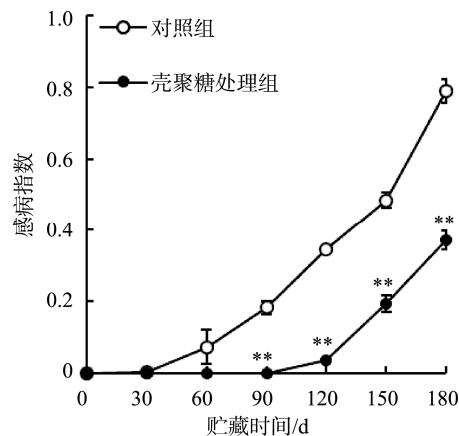
### 1.4 数据处理

以上每个指标均重复测定 3 次, 使用 21.0 版 IBM SPSS Statistics 和 2016 版 Microsoft Office Excel 对数据进行统计分析及其他相关分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 果实感病指数结果分析

对照组和新型液态壳聚糖处理组的脐橙果实感病指数在贮藏期 0~180 d 内不断地增加(图 1)。其中, 对照组的脐橙果实感病指数在 0~30 d 内基本保持不变, 在 30~180 d 内快速增加。新型液态壳聚糖处理的脐橙果实感病指数在 0~90 d 内基本保持不变, 在 90~120 d 内缓慢增加, 在 120~180 d 内快速增加。其中, 在贮藏 90~180 d 内, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实感病指数极显著( $P < 0.01$ )低于对照组果实。上述结果表明, 新型液态壳聚糖处理可以有效地延缓脐橙果实病害的发生。



注: 同一贮藏时间, \*表示壳聚糖处理与对照组之间差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\*表示壳聚糖处理与对照组之间差异极显著 ( $P < 0.01$ ), 下同。

图 1 壳聚糖处理对采后脐橙果实感病指数的影响 (n=3)  
Fig.1 Effects of chitosan treatment on the disease index of harvested navel orange fruit (n=3)

### 2.2 果实抗病物质含量结果分析

如图 2A 和 2B 所示, 脐橙果实木质素(图 2A)和类黄酮含量(图 2B)都在贮藏 0~120 d 内呈现上升的趋势, 在 120~180 d 内呈现下降的趋势。与对照组果实相比, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实木质素(图 2A)和类黄酮含量(图 2B)含量在贮藏 30~180 d 内都保持较高水平。新型液态壳聚糖处理的脐橙果实木质素含量在贮藏 60~90 d 内和第 150 d 显著( $P < 0.05$ )高于对照组果实; 在贮藏第 120 和第

180 d 时极显著 ( $P < 0.01$ ) 高于对照组果实 (图 2A)。另外, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实类黄酮含量在贮藏期第 90 d 显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照组果实; 在贮藏 120~180 d 内极显著 ( $P < 0.01$ ) 高于对照组果实 (图 2B)。

如图 2C 所示, 对照组的脐橙果实总酚含量在贮藏 0~120 d 内不断地增加, 在 120~180 d 内急剧下降。而新型液态壳聚糖处理的脐橙果实总酚含量在贮藏 0~90 d 内快速增加, 在 90~180 d 内不断地下降。其中, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实总酚含量在整个贮藏期都高于对照组果实, 且在贮藏第 90 和第 180 d 时极显著 ( $P < 0.01$ ) 高于对照组果实, 在贮藏第 120 d 时显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照组果实。

以上结果显示, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实能够保持较高的抗病物质(木质素、类黄酮和总酚)含量。

### 2.3 果实抗病相关酶活性结果分析

如图 3A 所示, 对照组和新型液态壳聚糖处理组的脐橙果实 PAL 活性都在贮藏 0~150 d 内呈现上升的趋势, 在 150~180 d 内呈现下降的趋势。与对照组脐橙果实相比, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实 PAL 活性在贮藏 30~180 d 内都保持较高水平, 且在贮藏第 60、120 d 时显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照组果实。

如图 3B 所示, 脐橙果实 POD 活性在贮藏 0~90 d 内不断地增加, 在 90~180 d 内快速减少。其中, 新型液态壳聚糖处理组的脐橙果实 POD 活性在整个贮藏期都高于对照组果实, 且在 60~180 d 内极显著 ( $P < 0.01$ ) 高于对照组果实。

如图 3C 所示, 脐橙果实 C4H 活性在贮藏 0~120 d 内快速增加, 在 120~180 d 内急剧下降。其中, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实 C4H 活性在整个贮藏期都高于对照组果实, 且在贮藏 30~180 d 内极显著 ( $P < 0.01$ ) 高于对照组果实。

如图 3D 所示, 对照组和新型液态壳聚糖处理组的脐橙果实 4-CL 活性在贮藏 0~180 d 内呈现不断上升的趋势。其中, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实 4-CL 活性在整个贮藏期都高于对照组果实, 且在贮藏第 120、180 d 时显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照组果实, 在第 150 d 时极显著 ( $P < 0.01$ ) 高于对照组果实。

如图 3E 所示, 对照组的脐橙果实 CAD 活性在贮藏 0~90 d 内不断地增加, 90~120 d 内缓慢下降, 120~150 d 内缓慢增加, 150~180 d 内又逐渐减少。新型液态壳聚糖处理组的脐橙果实 CAD 活性在贮藏 0~150 d 内急剧增加, 在 150~180 d 内快速降低。其中, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实 CAD 活性在整个贮藏期都高于对照组果实, 且在贮藏 120~180 d 内极显著 ( $P < 0.01$ ) 高于对照组果实。

如图 3F 所示, 对照组和新型液态壳聚糖处理组的脐橙果实 CHI 活性都在贮藏 0~120 d 内呈现上升的趋势, 在 120~180 d 内呈现下降的趋势。与对照组果实相比, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实 CHI 活性在 30~180 d 内都保持较高水平, 且在贮藏 30~60 d 内、第 150 d 时极显著 ( $P < 0.01$ ), 在第 120、180 d 时显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照组果实。

如图 3G 所示, 脐橙果实 GLU 活性在贮藏 0~30 d 内快速增加, 30~180 d 内快速减少。其中, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实 GLU 活性在整个贮藏期都高于对照组果实, 且在贮藏第 90 d 时显著 ( $P < 0.05$ )、在 120~180 d 内极显著 ( $P < 0.01$ ) 高于对照组果实。

上述结果表明, 新型液态壳聚糖处理的脐橙果实能够保持较高的 PAL、POD、C4H、4-CL、CAD、CHI、GLU 等抗病相关酶活性。

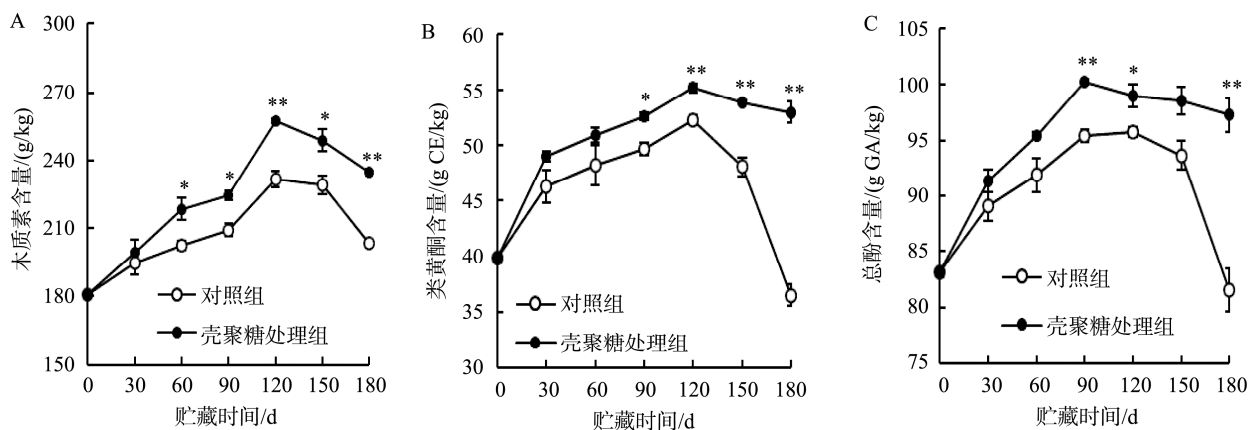


图 2 壳聚糖处理对采后脐橙果实木质素(A)、类黄酮(B)和总酚(C)含量的影响( $n=3$ )  
 Fig.2 Effects of chitosan treatment on the content of lignin (A), flavonoids (B) and total phenolics (C) in harvested navel orange fruit ( $n=3$ )

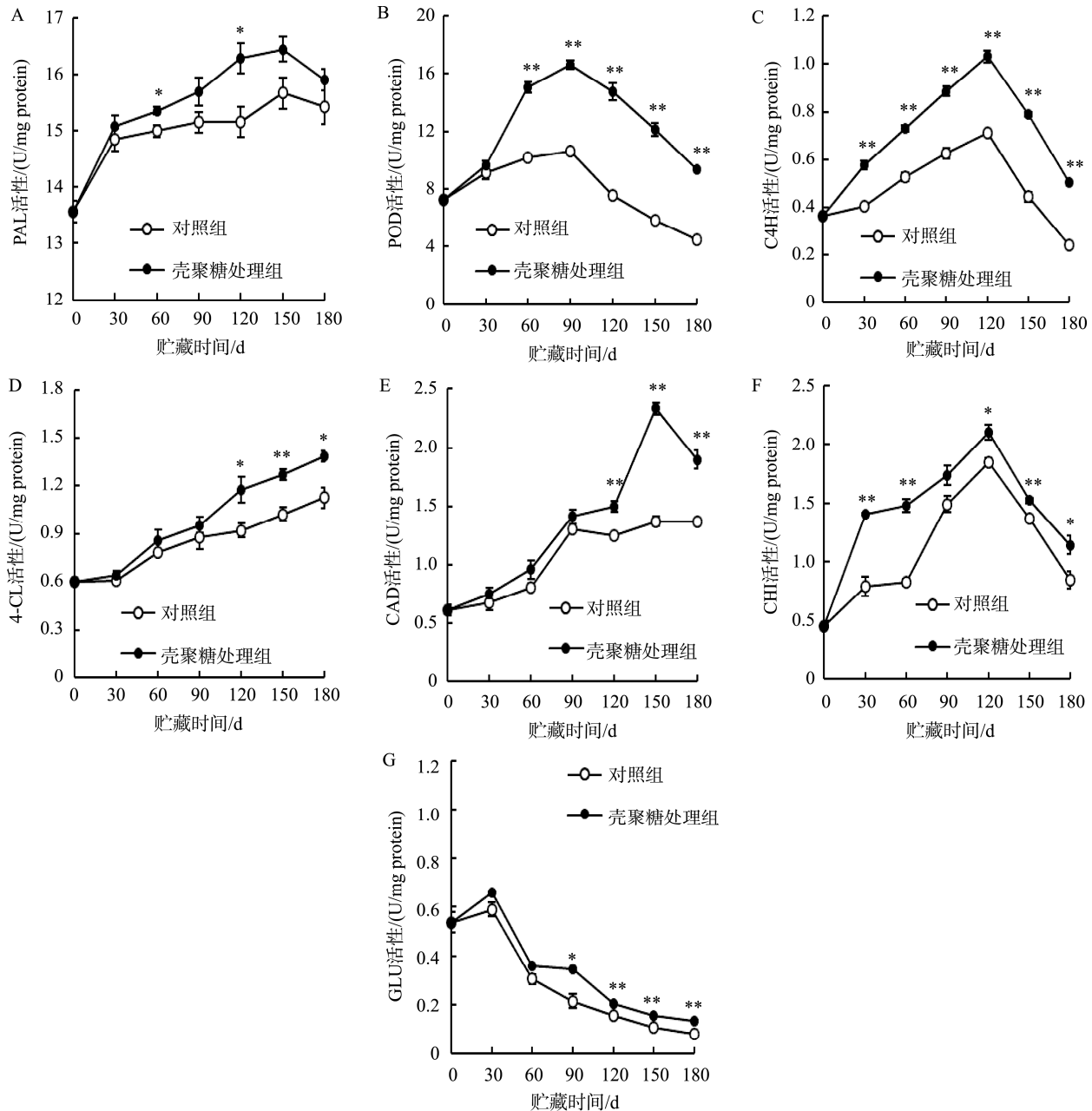


图3 壳聚糖处理对采后脐橙果实 PAL (A)、POD (B)、C4H (C)、4-CL (D)、CAD (E)、CHI (F)和 GLU (G)活性的影响( $n=3$ )

Fig.3 Effects of chitosan treatment on activities of PAL (A)、POD (B)、C4H (C)、4-CL (D)、CAD (E)、CHI (F) and GLU (G) in harvested navel orange fruit ( $n=3$ )

### 3 讨论

#### 3.1 新型液态壳聚糖处理对‘纽荷尔’脐橙果实采后病害控制及其与抗病物质含量的关系

当采后果蔬受到病原菌侵染时,采后果蔬会产生一系列的防御反应,包括抗病性相关物质(木质素、酚类、植物抗毒素等)的合成和积累,以免受病原菌的攻击<sup>[10,19]</sup>。其中,木质素在采后果蔬抵抗生物胁迫和细胞壁增厚中起着关键作用<sup>[19-20]</sup>。酚类物质是植物体内重要的次生代谢产物,

是保护植物免受病原菌侵染的重要物质<sup>[19]</sup>。类黄酮是重要的植色素,具有抗氧化性和抗菌性<sup>[21-22]</sup>。有研究表明,橙果实中的多甲氧基黄酮、柑橘黄酮等物质对 *Penicillium digitatum* 有抑制作用<sup>[22]</sup>。另外,还有研究发现,罗伦隐球酵母和一氧化氮(nitric oxide, NO)处理<sup>[23-24]</sup>能使果实保持较高的木质素和总酚含量,从而提高果实的抗病能力,有效地提高果实贮藏品质和耐贮性。此外,ZHANG等<sup>[21]</sup>研究发现,毕赤酵母(*Pichia guilliermondii*)处理能够提高苹果果实创伤部位的总酚、类黄酮、木质素含量,从而提高苯

丙烷代谢,促进苹果果实创伤愈合。因此,提高采后果实中木质素、类黄酮和总酚含量有利于提高抗病能力,延缓采后病害的发生。

本研究发现,对照组脐橙果实感病指数随采后贮藏时间的增加呈现上升的趋势(图 1),木质素、类黄酮和总酚含量在贮藏前期不断地增加,而在贮藏后期不断地下降(图 2)。且经过相关性分析可知,对照组脐橙果实感病指数(图 1)与木质素、类黄酮和总酚含量(图 2)在贮藏期 120~180 d 内呈显著( $P<0.05$ )负相关,其  $r$  值分别为-0.975、-0.999 和 -0.985。以上结果表明,采后脐橙果实贮藏前中期因病原菌侵染而产生应激反应,激发抗病相关物质(木质素、类黄酮和总酚)的合成,以此增强自身的抵御能力;而在贮藏后期,抗病相关物质(木质素、类黄酮和总酚)含量不断下降而导致脐橙果实抗病性下降,从而导致果实感病指数不断增加,加速采后病害的发生。

此外,与对照组果实比较,新型液态壳聚糖处理的脐橙果实保持较低的果实感病指数(图 1)、较高的木质素、类黄酮和总酚含量(图 2)。据此认为,新型液态壳聚糖处理的脐橙果实通过维持较高的木质素、类黄酮和总酚等抗病物质含量,提高脐橙果实抗病能力,从而减缓果实采后病害发生进程、提高果实贮藏品质和耐贮性。

### 3.2 新型液态壳聚糖处理对‘纽荷尔’脐橙果实采后病害控制及其与抗病相关酶活性的关系

采后果蔬受到病原体感染后,其细胞壁成分会进行修饰,从而起到防止病原体生长的作用,这主要表现在细胞壁木质化以及酚类物质的合成和累积<sup>[10,25-27]</sup>。木质素和酚类物质是通过苯丙烷代谢途径合成。在此代谢中, PAL、C4H 和 4-CL 是其关键酶<sup>[10,19,27]</sup>。其中, PAL 是苯丙烷代谢途径的第一限速酶,影响细胞木质化和色素形成<sup>[10,19]</sup>; C4H 位于 PAL 的下游, C4H 水解肉桂酸生成对香豆酸、咖啡酸和阿魏酸等单体。这些单体合成总酚、黄酮类化合物和木质素<sup>[25]</sup>; 4-CL 位于苯丙烷代谢途径的转折点,催化香豆酸形成香豆酰辅酶 A,从而加速类黄酮的合成<sup>[25]</sup>。此外, POD 是合成木质素和增强细胞壁结构的关键酶<sup>[19]</sup>。而 CAD 主要作用于木质素合成的最后一步,且被认为是木质化的标志<sup>[26]</sup>。前期研究发现,经酸性电解水处理后的龙眼果实能保持较高的抗病能力和较低的果实感病指数,这与酸性电解水处理能提高龙眼果实果皮 PAL、C4H 和 4-CL 活性有关<sup>[27]</sup>。XIA 等<sup>[28]</sup>研究发现, 1-甲基环丙烯(1-methylcyclopropene, 1-MCP)处理能有效地延缓猕猴桃果实的腐败变质,这与其提高猕猴桃果实的酚类化合物含量和防御相关酶活性有关<sup>[20]</sup>。此外, ZHOU 等<sup>[29]</sup>研究发现,经 NO 处理的柑橘果实能增强对炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)的抗性,这与 NO 处理增强柑橘果实果皮 PAL 和 POD 活性,刺激酚类物质的合成有关。因此,果实

抗病相关酶活性与果实采后病害的发生密切相关。

本研究发现,不断累积的脐橙果实木质素含量(图 2A)与不断上升的脐橙果实 PAL、POD 和 C4H 活性(图 3A、B、C)分别在贮藏期 0~90 d、0~90 d 和 0~120 d 内呈显著( $P<0.05$ )正相关,其  $r$  值分别为 0.945、0.993 和 0.958。不断上升的脐橙果实类黄酮(图 2B)与不断上升的脐橙果实 PAL、C4H 和 4-CL 活性(图 3A、C、D)分别在贮藏期 0~120 d、30~120 d 和 0~120 d 内呈显著( $P<0.05$ )正相关,其  $r$  值分别为 0.949、0.936 和 0.912。不断上升的脐橙果实总酚含量(图 2C)与不断上升的脐橙果实 PAL、C4H 活性(图 3A、C)在贮藏期 0~120 d 内呈显著( $P<0.05$ )正相关,其  $r$  值分别为 0.935 和 0.931。此外,在贮藏后期,不断下降的脐橙果实 PAL、POD 和 C4H(图 3A、B、C)伴随着不断下降的脐橙果实木质素、类黄酮和总酚含量(图 2),而脐橙果实感病指数(图 1)急剧地增加。经过相关性分析可得,不断升高的脐橙果实感病指数(图 1)与不断下降的脐橙果实 PAL、POD 和 C4H 活性(图 3A、B、C)分别在贮藏期 150~180 d、90~180 d 和 120~180 d 内呈显著( $P<0.05$ )负相关,其  $r$  值分别为-1、-0.939 和-0.956。以上结果表明,在贮藏前中期,随着脐橙果实抗病相关酶(PAL、POD、C4H、4-CL 和 CAD)活性的增加,促进脐橙果实木质素、类黄酮和总酚含量不断累积,进而增强了脐橙果实的采后抗病性,抵御病原菌的入侵。然而,在贮藏后期,随着脐橙果实抗病相关酶(PAL、POD、C4H 和 CAD)活性的下降,脐橙果实抗病物质含量也不断下降,进而导致果实抗病性下降,加速脐橙果实采后病害的发生。另外,与对照组果实相比,新型液态壳聚糖处理的脐橙果实保持较高的木质素、类黄酮和总酚含量(图 2),较高的抗病相关酶(PAL、POD、C4H、4-CL 和 CAD)活性(图 3A~E),而较低的果实感病指数(图 1)。因此,新型液态壳聚糖处理能通过维持较高的脐橙果实抗病相关酶(PAL、POD、C4H、4-CL 和 CAD)活性和抗病物质含量,有效地提高脐橙果实抗病性,减缓脐橙果实采后病害发生,最终提高果实采后贮藏品质与耐贮性。

另外, CHI 和 GLU 是重要的病程相关蛋白,具有直接水解病原体细胞壁的能力,从而释放激发子,激活宿主防御反应<sup>[10,19,30]</sup>。CHI 和 GLU 可分别降解病原菌细胞壁中的几丁质和  $\beta$ -1,3-葡聚糖,进而导致病原菌细胞壁结构的破坏。高志强等<sup>[31]</sup>研究发现,经纸片型 1-MCP 处理的‘朝霞’水蜜桃果实能保持较高的 CHI 和 GLU 活性,进而减缓‘朝霞’水蜜桃果实病害的发生。LU 等<sup>[32]</sup>研究发现,枯草芽孢杆菌 KLBC BS6 可以诱导蓝莓果实对灰霉病的抗性,这与枯草芽孢杆菌 KLBC BS6 增强蓝莓果实的 CHI 活性有关。孙莹<sup>[33]</sup>研究发现,经 NO 处理的脐橙果实能保持较高的果皮 GLU 和 CHI 活性,增强果实的抗病性,降低采后病害的发生。因此,较高的 CHI 和 GLU 活性有利于抑制果实采后病害的发生、增强果实采后贮藏品质。

本研究发现,不断下降的脐橙果实 CHI 和 GLU 活性(图 3F、G)与不断上升的脐橙果实感病指数(图 1)分别在贮藏期 120~180 d 和 60~180 d 内呈显著( $P < 0.05$ )负相关,其  $r$  值分别为-0.982 和-0.920。以上结果显示,在贮藏前期,脐橙果实 CHI 和 GLU 活性的增加,激活了脐橙果实的防御反应,减缓采后病害发生。在贮藏后期,脐橙果实 CHI 和 GLU 活性不断下降,果实抗病性下降,加速果实感病指数的增加、采后病害的发生。与对照组脐橙果实相比,新型液态壳聚糖处理的脐橙果实能保持较高的 CHI 和 GLU 活性(图 3F、G),较低的脐橙果实感病指数(图 1)。据此认为,新型液态壳聚糖处理提高脐橙果实 CHI 和 GLU 活性,增强果实采后抗病性,从而加快降解病原体细胞壁中的几丁质与  $\beta$ -1,3-葡聚糖、破坏病原体细胞壁结构,最终降低果实感病指数、延缓果实病害发生。

## 4 结论

新型液态壳聚糖(稀释 800 倍的卡多赞)处理能通过诱导脐橙果实的抗病相关酶(PAL、POD、C4H、4-CL 和 CAD)活性的上升,活化了苯丙烷代谢,促进抗病相关物质(木质素、类黄酮和总酚)的合成和积累;此外,新型液态壳聚糖处理还增强了脐橙果实 CHI 和 GLU 活性,加快病原体细胞壁降解速度,抑制病原菌生长。因此,新型液态壳聚糖处理能提高脐橙果实抗病相关酶活性,促进抗病相关物质的合成和积累,进而增强脐橙果实抗病性,延缓果实采后病害发生,提高果实采后贮藏品质和耐贮性。

## 参考文献

- [1] 熊琪, 杨书珍, 曹正清, 等. 毛霉诱导脐橙产抗病物质对指状青霉和酸腐菌的抑制[J]. 农业工程学报, 2020, 36(9): 315-322.  
XIONG Q, YANG SZ, CAO ZQ, *et al.* Inhibition of induced citrus peel disease-resistant components against *Penicillium digitatum* and *Geotrichum citri-aurantii* [J]. Trans Chin Soc Agric Eng, 2020, 36(9): 315-322.
- [2] 陈婷, 蔡艳, 段凯文, 等. 脐橙贮藏保鲜研究进展[J]. 农产品加工, 2019, (20): 83-85.  
CHEN T, CAI Y, DUAN KW, *et al.* Research on preservation of navel orange [J]. Farm Prod Process, 2019, (20): 83-85.
- [3] 卢山, 杨坤, 黄超, 等. 中草药复配液在脐橙保鲜中的应用研究[J]. 保鲜与加工, 2020, 20(4): 9-14.  
LU S, YANG K, HUANG C, *et al.* Study on application of Chinese herbal compound solution in preservation of navel orange [J]. Storage Process, 2020, 20(4): 9-14.
- [4] LIN YZ, LI N, LIN HT, *et al.* Effects of chitosan treatment on the storability and quality properties of longan fruit during storage [J]. Food Chem, 2020, 306: 125627.
- [5] 付亮, 刘诗扬, 徐方旭. 壳聚糖涂膜处理对沙糖桔采后生理及品质的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(8): 3274-3277.  
FU L, LIU SY, XU FX. Effects of chitosan coating on postharvest physiology and quality of Shatang mandarin [J]. J Food Saf Qual, 2015, 6(8): 3274-3277.
- [6] JIANG XJ, LIN HT, LIN MS, *et al.* A novel chitosan formulation treatment induces disease resistance of harvested litchi fruit to *Peronophythora litchii* in association with ROS metabolism [J]. Food Chem, 2018, 266: 299-308.
- [7] 朱莉, 李远颂. 壳聚糖在热带水果贮藏保鲜中的应用研究进展[J]. 农产品加工, 2017, (12): 40-42.  
ZHU L, LI YS. Research progress of chitosan in storage and freshness preservation of tropical fruits [J]. Farm Prod Process, 2017, (12): 40-42.
- [8] BENHAMOU N, LAFONTAINE PJ, NICOLE M. Induction of systemic resistance to *Fusarium* crown and root rot in tomato plants by seed treatment with chitosan [J]. Phytopathology, 1994, 23(12): 1432-1444.
- [9] 刘清玮, 黄曦漫, 李想, 等. 壳聚糖在作物栽培中的研究进展[J]. 吉林农业, 2018, (9): 59-60.  
LIU QW, HUANG XM, LI X, *et al.* Research progress of chitosan in crop cultivation [J]. Agric Jilin, 2018, (9): 59-60.
- [10] 郭欣, 林育钊, 林河通, 等. 壳聚糖处理对西番莲果实感病指数、抗病相关酶活性和抗病物质含量的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(15): 206-212.  
GUO X, LIN YZ, LIN HT, *et al.* Effect of chitosan treatment on disease index, disease resistant-related enzyme activities and disease resistance-related substance contents in *Passiflora caerulea* L. fruit during storage [J]. Food Sci, 2021, 42(15): 206-212.
- [11] ZHANG HY, LIU FR, WANG JJ, *et al.* Salicylic acid inhibits the postharvest decay of goji berry (*Lycium barbarum* L.) by modulating the antioxidant system and phenylpropanoid metabolites [J]. Postharvest Biol Technol, 2021, 178: 111558.
- [12] WEI XB, GUAN WL, YANG YJ, *et al.* Methyl jasmonate promotes wound healing by activation of phenylpropanoid metabolism in harvested kiwifruit [J]. Postharvest Biol Technol, 2021, 175: 111472.
- [13] 纪颖, 林河通, 蒋璇靓, 等. 壳聚糖处理对采后建阳桔柚果实品质和贮藏特性的影响[J]. 热带作物学报, 2019, 40(4): 758-765.  
JI Y, LIN HT, JIANG XJ, *et al.* Effects of different concentrations of chitosan treatment on quality attributes and storage behavior of harvested 'jianyang tangelo' fruit [J]. Chin J Trop Crops, 2019, 40(4): 758-765.
- [14] 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.  
CAO JK, JIANG WB, ZHAO YM. Experiment guidance of postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables [M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007.
- [15] 张菊华, 王伟, 林树花, 等. 丁香、五味子及壳聚糖复合保鲜剂对蓝莓贮藏品质及抗病酶活性的影响[J]. 中国食品学报, 2017, 17(12): 139-148.  
ZHANG JH, WANG W, LIN SH, *et al.* Effect of cloves, *Schisandra chinensis* and chitosan compound preservative on storage quality and disease-resistant enzyme activity of blueberries [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2017, 17(12): 139-148.
- [16] LI XA, LI ML, LEI W, *et al.* Methyl jasmonate primes defense responses against wounding stress and enhances phenolic accumulation in fresh-cut pitaya fruit [J]. Postharvest Biol Technol, 2018, 145: 101-107.
- [17] 宋小飞, 芮伟康, 陶书田. 不同浓度外源钙对梨果实石细胞的影响[J].

- 江苏农业科学, 2019, 47(14): 148–152.
- SONG XF, RUI WK, TAO ST. Impacts of different concentrations of exogenous calcium on stone cells of pear fruit [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2019, 47(14): 148–152.
- [18] BRADFORD MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Anal Biochem*, 1976, 72: 248–254.
- [19] ZENG LZ, SHI LL, LIN HT, *et al.* Paper-containing 1-methylcyclopropene treatment suppresses fruit decay of fresh Anxi persimmons by enhancing disease resistance [J]. *Food Qual Saf*, 2021, 5: 1–8.
- [20] WU YJ, LIN HT, LIN YF, *et al.* Effects of biocontrol bacteria *Bacillus amyloliquefaciens* LY-1 culture broth on quality attributes and storability of harvested litchi fruit [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2017, 132: 81–87.
- [21] ZHANG XM, ZONG YY, LI ZC, *et al.* Postharvest *Pichia guilliermondii* treatment promotes wound healing of apple fruits [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2020, 167: 111228.
- [22] 左龙亚. 柑橘亚属植物果皮多酚类物质提取及其抗氧化、抑菌活性检测[D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- ZUO LY. Polyphenols extraction and antioxidant, antifungal activities test of subgenus citrus [D]. Chongqing: Southwest University, 2018.
- [23] 田登娟, 孔珊珊, 马电通, 等. 羧甲基壳聚糖诱导培养罗伦隐球酵母处理调控采后葡萄柚果实苯丙烷代谢及其抗青霉病作用[J/OL]. *食品科学*: 1-9. [2023-05-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220819.0829.004.html>
- TIAN DJ, KONG SS, MA DT, *et al.* Regulation of phenylpropane metabolism and resistance to green mould in postharvest grapefruit fruits by carboxymethyl chitosan induced cultured *Cryptococcus laurentii* treatment [J]. *Food Sci*: 1-9. [2023-05-06]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.2206.TS.20220819.0829.004.html>
- [24] 柴秀伟, 孔蕊, 李宝军, 等. 一氧化氮对苹果果实愈伤苯丙烷代谢的影响及生理机制分析[J]. *西北植物学报*, 2022, 42(4): 619–627.
- CHAI XW, KONG R, LI BJ, *et al.* Effect of nitric oxide on phenylpropanoid metabolism in healing of apple fruit and analysis of its physiological mechanism [J]. *Acta Bot Bor Occid Sin*, 2022, 42(4): 619–627.
- [25] ZHOU FH, XU DY, LIU CH, *et al.* Ascorbic acid treatment inhibits wound healing of fresh-cut potato strips by controlling phenylpropanoid metabolism [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2021, 181: 111644.
- [26] 曹佳强, 李波, 杨洋, 等. 木质素生物合成中肉桂醇脱氢酶基因(CAD)的研究进展[J]. *分子植物育种*, 2014, 12(5): 1034–1043.
- CAO JQ, LI B, YANG Y, *et al.* Advanced progress in the cinnamyl alcohol dehydrogenase gene involved in lignin biosynthesis [J]. *Mol Plant Breed*, 2014, 12(5): 1034–1043.
- [27] TANG JY, CHEN HB, LIN HT, *et al.* Acidic electrolyzed water treatment delayed fruit disease development of harvested longans through inducing the disease resistance and maintaining the ROS metabolism systems [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2021, 171: 111349.
- [28] XIA YX, ZHOU RL, LI BQ, *et al.* Effects of 1-methylcyclopropene on disease resistance of red-fleshed kiwifruit during long-term cold storage and the possible mechanisms [J]. *New Zeal J Crop Hort Sci*, 2021, 49(2–3): 182–195.
- [29] ZHOU YY, LI SM, ZENG KF. Exogenous nitric oxide-induced postharvest disease resistance in citrus fruit to *Colletotrichum gloeosporioides* [J]. *J Sci Food Agric*, 2016, 96(2): 505–512.
- [30] HUANG K, SUI Y, MIAO CL, *et al.* Melatonin enhances the resistance of ginger rhizomes to postharvest fungal decay [J]. *Postharvest Biol Technol*, 2021, 182: 111706.
- [31] 高志强, 郑江枫, 林育钊, 等. 纸片型 1-MCP 处理对‘朝霞’水蜜桃抗病物质代谢的影响[J]. *食品质量安全检测学报*, 2022, 13(16): 5329–5336.
- GAO ZQ, ZHENG JF, LIN YZ, *et al.* Effects of paper-containing 1-methylcyclopropene treatment on the disease resistance metabolism of harvested ‘Zhaoxia’ peach fruit [J]. *J Food Saf Qual*, 2022, 13(16): 5329–5336.
- [32] LU YY, MA DT, HE X, *et al.* *Bacillus subtilis* KLBC BS6 induces resistance and defence-related response against *Botrytis cinerea* in blueberry fruit [J]. *Physiol Mol Plant Pathol*, 2020, 114: 101599.
- [33] 孙莹. NO对脐橙保鲜效果及诱导抗青霉病作用机制研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2016.
- SUN Y. Effects and metabolisms of NO on storage and disease resistance against blue mold of navel oranges [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2016.

(责任编辑: 于梦娇 张晓寒)

## 作者简介



曾玲珍, 博士研究生, 主要研究方向为果蔬采后生物学与保鲜技术。

E-mail: zenglz1996@163.com



林河通, 博士, 教授, 博士生导师, 主要研究方向为果蔬采后生物学与保鲜技术。

E-mail: hetonglin@163.com



林艺芬, 博士, 副教授, 博士生导师, 主要研究方向为农产品加工及贮藏工程。

E-mail: yifenlin@126.com