

# 热处理结合 $\beta$ -氨基丁酸对苹果采后青霉病的控制

李永才, 尹 燕, 陈松江, 毕 阳, 申晓晶, 吴岳华  
(甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃 兰州 730070)

**摘 要:** 研究热处理、 $\beta$ -氨基丁酸(BABA)及其复合处理对苹果青霉病控制效果的影响, 并对其复合处理条件进行优化。研究表明 45℃ 热处理和 BABA 单独处理均能降低处理后损伤接种 *Penicillium expansum* 的苹果病斑直径的扩展, 45℃ 热处理 8min 与 50mmol/L BABA 处理 5min 其病斑直径仅为对照的 82.86%、80.76%。初步复合处理实验表明热与 BABA 复合处理先后顺序对青霉病控制效果无显著性差异, 处理间隔时间对控制效果有一定的影响。对复合处理条件进行正交试验优化, 结果表明热处理时间对试验结果的影响最大, 最优处理条件为 45℃ 热处理 6min、间隔 10min 后以 50mmol/L BABA 浸泡处理。验证实验表明, 热与 BABA 复合处理能有效缩短热处理时间并显著地提高对苹果采后青霉病的控制效果。

**关键词:** 苹果; 青霉病; 热处理;  $\beta$ -氨基丁酸

## Effect of Hot Water Treatment Combined with $\beta$ -Aminobutyric Acid on Incidence of Blue Mold Rot Disease in Postharvest Apple Fruits

LI Yong-cai, YIN Yan, CHEN Song-jiang, BI Yang, SHEN Xiao-jing, WU Yue-hua  
(College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** The effects of hot water treatment and/or  $\beta$ -aminobutyric acid (BABA) treatment on the incidence of blue mold rot disease in postharvest apple fruits were studied. Combined hot water and BABA treatment conditions were also optimized by orthogonal array design. The results showed that hot water and BABA treatment alone could effectively reduce lesion diameter of apple inoculated with *Penicillium expansum*. The lesion diameters of apple fruits treated with 45 °C hot water alone for 8 min and with 50 mmol/L BABA alone for 5 min were 82.86% and 80.76%, respectively, when compared with the control. In addition, the combined order of hot water and BABA had no significant effect on disease control; however, the interval time had an obvious effect on disease control. The optimal conditions for combined hot water and BABA treatment were hot water treatment at 45 °C for 6 min and then 50 mmol/L BABA treatment for 5 min with an interval of 10 min. Validation experiments also indicated that combined treatment with hot water and BABA can effectively shorten duration time of heat treatment and significantly improve disease control capability for blue mold rot in postharvest apple fruits.

**Key words:** apples; blue mold; heat treatment;  $\beta$ -aminobutyric acid

中图分类号: TS255.3; S668.4

文献标识码: A

文章编号: 1002-6630(2011)06-0265-05

扩展青霉(*Penicillium expansum*)引起的青霉病是苹果贮藏期间的主要侵染性病害之一, 即使在低温贮藏条件下苹果感病后也会发生腐烂。到目前为止, 生产实践中仍主要依靠人工合成杀菌剂来防治水果采后病害的发生。但是, 长期使用化学药剂导致病菌产生的抗药性, 降低了化学药剂的防病效果, 同时生产上频繁使

用化学药剂造成农药残毒量增加不但威胁着人类的健康, 而且会造成环境污染。因此, 研究并利用化学杀菌剂的替代物来防治果蔬的病害已势在必行<sup>[1-3]</sup>。

$\beta$ -氨基丁酸( $\beta$ -aminobutyric acid, BABA)是从经暴晒的番茄根系中分离得到的一种次生代谢非蛋白氨基酸。Oort 等<sup>[4]</sup>在 1960 年最早发现用 BABA 处理番茄植株

收稿日期: 2010-06-04

基金项目: 国家自然科学基金项目(30960243)

作者简介: 李永才(1973—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为果蔬采后生物学。E-mail: liyongcai@gsau.edu.cn

后能诱导番茄对晚疫病的抗性,通过利用拟南芥突变体作为实验材料开展BABA诱导植物抗病性的研究,越来越显示出BABA作为一种高效、广谱的非蛋白氨基酸植物诱抗剂的潜能。近年来,研究还发现BABA能诱导葡萄、马铃薯等多种作物产生对多种病害的抗性<sup>[5-8]</sup>。

采后热处理是用来控制采后果蔬的成熟衰老,减少病害与损失的一种处理方法,作为一种可替代化学防腐的安全无毒的物理方法,已在多种果蔬的采后病害控制中进行了研究和应用<sup>[9-10]</sup>。热处理可通过促使病原物细胞果胶酶钝化或相关蛋白变性、脂质降解、激素破坏、营养耗竭或有毒中间产物积累导致代谢失调而直接作用于采后病原物<sup>[11]</sup>。研究发现,38、42℃和46℃的热水处理能有效地抑制*P. expansum*孢子的萌发<sup>[12]</sup>,且38℃、96h热空气处理能较好控制在处理前接种*P. expansum*的苹果青霉病的发生<sup>[12-16]</sup>。热处理还能通过产生抗菌物质或病程相关蛋白,或提高抗性酶活性等而诱导果实产生抗病性<sup>[17-18]</sup>。邵兴锋等<sup>[19]</sup>研究发现热处理后再接种病原菌能显著降低苹果青霉病的发病率,且能显著提高果实组织中苯丙氨酸解氨酶(PAL)和过氧化物酶(POD)活性、木质素和总酚含量。

热水和BABA处理虽然是代替化学合成杀菌剂的潜在采后病害控制方法,但其单独使用在控制效果上相对于化学杀菌剂仍存在一定的局限性,因此必须加强采后病害的综合控制方法研究。本实验旨在研究热水与BABA复合处理对苹果青霉病的防治效果,并对其最佳的复合处理方案进行探讨。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、试剂与仪器

国光苹果(*Malus domestica* Borkh. cv. Ralls Janet)为市购,剔除病、伤果,选择大小、果色均匀且成熟度一致的果实,分组待用;病原菌扩展青霉(*Penicillium expansum*)分离于腐烂的苹果上。扩展青霉在马铃薯培养基(马铃薯200g、葡萄糖20g、琼脂20g、水1000mL。115℃灭菌20min)28℃培养7d,用接种环在培养好的霉菌试管斜面上刮取适量孢子,转移到无菌生理盐水中,用血球计数板计数,并用无菌生理盐水调整至所需浓度,待用。

$\beta$ -氨基丁酸 美国Sigma公司。

HH-4型恒温水浴锅 金坛市荣华仪器制造有限公司;超净工作台 苏净集团苏州安泰技术有限公司;高压灭菌锅 北京广顺科技发展有限公司;电热恒温培养箱 上海一恒科技有限公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 热处理温度和时间确定

苹果先用体积分数2%的次氯酸钠溶液浸泡2min,清水冲洗,晾干。然后分两组处理。第1组:在20(常温,对照)、40、45℃和50℃的恒温水浴锅中处理8min;第2组:在45℃恒温水浴锅中分别处理3、8、13min和18min,以不处理(0min)为对照。处理后晾干,48h后用灭菌接种器(直径3mm),在苹果赤道部位均匀刺4个深2mm的孔,随后取20 $\mu$ L  $5 \times 10^5$ CFU/mL扩展青霉孢子悬浮液接入孔内。经以上处理的果实经聚乙烯(PE)袋包装后,室温(20℃ $\pm$ 2℃)贮藏7d,测病斑直径。

#### 1.2.2 BABA处理浓度的确定

选择均匀一致、无伤病的果实,用2%次氯酸钠浸泡2min,清水冲洗后,在0、25、50、100mmol/L BABA溶液中浸泡5min,自然风干后,用PE袋包装后室温存放,48h后接种病原物,接种方法同1.2.1节。处理的果实PE袋包装后室温(20℃ $\pm$ 2℃)贮藏7d,测病斑直径。

#### 1.2.3 热与BABA复合处理顺序与间隔时间确定

在1.2.1节和1.2.2节最佳条件的基础上,对消毒的果实分别进行45℃热浸泡8min后,间隔10、15、20、25min用50mmol/L BABA浸泡处理;50mmol/L BABA浸泡后,间隔10、15、20、25min进行45℃热处理8min,自然风干后,用PE袋包装后室温下存放,48h后接种病原物,接种方法同1.2.1节。以常温处理为对照。处理后果实PE袋包装后室温(20℃ $\pm$ 2℃)贮藏7d,测病斑直径。

#### 1.2.4 热和BABA复合处理条件优选

在单因素试验基础上,按L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表设计(表1)研究热处理温度、BABA浓度、热处理时间、复合处理间隔时间等因素对苹果青霉病的控制效果。

表1 热及BABA复合处理正交试验因素水平  
Table 1 Factors and levels in orthogonal array

水平	因素			
	A 热处理温度/℃	B BABA浓度/(mmol/L)	C 热处理时间/min	D 间隔时间/min
1	40	25	6	10
2	45	50	8	15
3	50	75	10	20

### 1.3 数据处理

试验结果用SPSS/PC统计软件(版本14.0)进行邓肯氏多重差异分析( $P < 0.05$ ),对于正交试验采用直观分析法分析。柱形图中竖线代表标准误,相同字母表示差异不显著( $P < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 热处理温度和时间对苹果采后青霉病防治效果比较

不同温度和时间的热处理对损伤接种的苹果青霉病的扩展均有一定影响(图1)。其中45℃的热处理控制效果最佳,其病斑直径显著低于对照( $P < 0.05$ ),仅为对照的88.55%,而50℃热处理时,其病斑直径高于对照。在对热处理温度筛选的基础上,研究热处理时间对苹果青霉病的控制,结果表明45℃热处理8min,对苹果青霉病的控制效果最佳,其病斑直径仅为24.17mmol/L,显著低于其他处理和对照( $P < 0.05$ )。

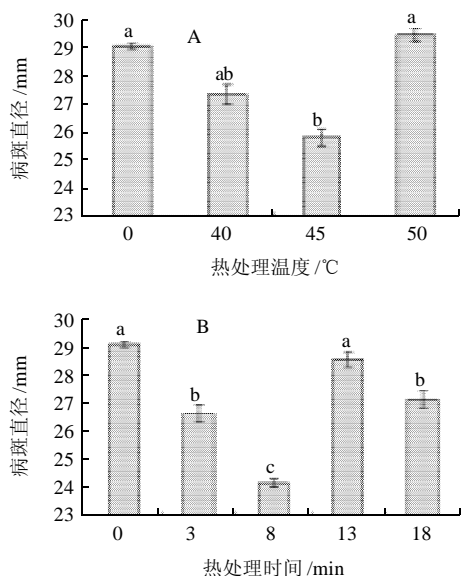


图1 热处理温度(A)和热处理时间(B)对苹果青霉病病斑的影响

Fig.1 Effect of heat treatment with different temperatures and duration time on blue mold rot lesion diameter in apple fruits

## 2.2 BABA对苹果采后青霉病的防治效果

BABA处理后在室温条件下贮藏7d对苹果青霉病病斑扩展具有一定的抑制作用。图2表明各浓度处理后的苹果果实青霉病病斑直径均低于未作任何处理的对照组,其中50mmol/L BABA处理效果最佳,病斑直径分别为23.56mmol/L,与对照(病斑直径为29.17mmol/L)相比差异显著( $P < 0.05$ ),仅为对照的80.76%。而25mmol/L和100mmol/L BABA处理果实的病斑直径略低于对照,差异不显著。

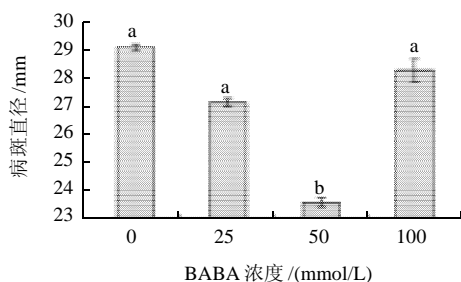


图2 BABA浓度对苹果青霉病病斑的影响

Fig.2 Effect of BABA treatment with various concentrations on blue mold rot lesion diameter in apple fruits

## 2.3 热处理及BABA复合处理顺序及间隔时间对苹果采后青霉病的防治效果比较

在单因素试验基础上进行初步复合处理,结果表明无论先热处理还是先BABA处理的果实的病斑直径均显著低于对照( $P < 0.05$ ),且复合处理的病斑直径均随间隔时间的增长呈先降低后增加的趋势(图3)。其中对于热处理后BABA处理,间隔15min处理组的苹果果实的病斑直径最小,控制效果显著好于其他处理( $P < 0.05$ ),其病斑直径仅为对照组的72.57%。而对于先进行BABA处理后热处理,间隔20min效果较好,其病斑直径相当于于对照组的74.67%( $P < 0.05$ )。总的来看,复合处理先后顺序不同对苹果青霉病的控制作用效果差异不显著,但热处理后BABA处理效果较好。因此后面正交试验的复合处理顺序选择热处理后的BABA处理。

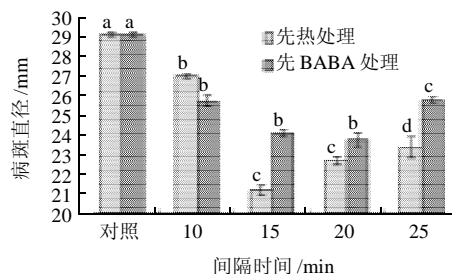
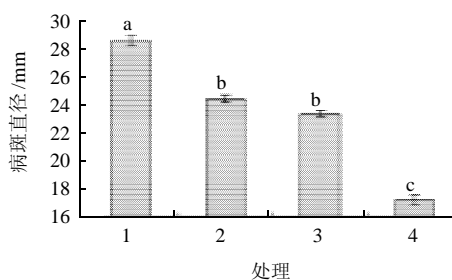


图3 热处理和BABA复合处理的不同顺序和间隔时间对苹果青霉病病斑的影响

Fig.3 Effect of combined treatment with different orders and interval times on blue mold rot lesion diameter in apple fruits

## 2.4 热处理及BABA的最佳复合处理条件



处理1: 对照; 处理2: 45℃ 8min; 处理3: 50mmol/L BABA; 处理4: 45℃热处理6min, 间隔10min后以50mmol/L BABA浸泡处理。

图4 最优条件下热和BABA复合处理对苹果青霉病病斑的影响  
Fig.4 Effect of combined treatment with hot water and BABA under optimal conditions on blue mold rot lesion diameter in apple fruits

按照表1的因素水平设计 $L_9(3^4)$ 正交试验,对复合处理条件进一步优化。由表2直观分析可见各因素对试验结果产生影响的主次顺序为 $C > B > A > D$ ,即热处理时间>BABA浓度>热处理温度>复合处理间隔时

间, 其中热处理时间对试验结果的影响最大。最佳水平组合为  $C_1B_2A_2D_1$ , 即复合处理对苹果青霉病控制的最优条件为  $45^\circ\text{C}$  热处理 6min、用 50mmol/L BABA 间隔 10min 后浸泡处理。

表 2 热及 BABA 复合处理方案正交试验设计及结果  
Table 2 Orthogonal array layout and experimental results

试验号	A 热处理 温度/ $^\circ\text{C}$	B BABA 浓 度/(mmol/L)	C 热处理时 间/min	D 间隔时 间/min	病斑直 径/mm
1	1(40)	1(25)	1(6)	1(10)	14.89
2	1	2(50)	2(8)	2(15)	13.67
3	1	3(75)	3(10)	3(20)	13.83
4	2(45)	1	2	3	14.89
5	2	2	3	1	9.39
6	2	3	1	2	11.50
7	3(50)	1	3	2	16.56
8	3	2	1	3	11.83
9	3	3	2	1	12.17
$K_1$	42.39	46.34	38.22	36.45	
$K_2$	35.78	34.89	40.73	41.73	
$K_3$	40.56	37.50	56.34	40.55	
$k_1$	14.13	15.45	12.74	12.15	
$k_2$	11.93	11.63	13.58	13.91	
$k_3$	13.52	12.50	18.78	13.52	
R	2.20	3.82	6.04	1.76	

主次因素:  $C > B > A > D$

最优方案:  $C_1B_2A_2D_1$

验证实验结果表明以优选组合条件处理对苹果青霉病的控制效果显著优于对照和热与 BABA 单独处理(图 4)。

### 3 讨 论

热处理在果蔬采后病害的控制中已取得了一定的效果, 诸如番茄预先经  $38^\circ\text{C}$  热空气处理后, 能减少由灰霉菌(*Botrytis cinerea*)引起的烂果率<sup>[20]</sup>。 $38^\circ\text{C}$  处理也能减少苹果由青霉菌(*P. expansum*)和灰霉菌(*B. cinerea*)引起的烂果率<sup>[10]</sup>。芒果果实经  $53^\circ\text{C}$  热水浸泡处理 10min 后, 烂果率显著减少<sup>[21]</sup>。 $52^\circ\text{C}$  热处理 10min 能显著降低处理后接种炭疽病菌(*Colletotrichum musae*)的香蕉果实病斑直径的扩展<sup>[18]</sup>。但热处理不当容易导致热伤害的发生, 如高于  $42^\circ\text{C}$  红富士苹果即受热伤害, 出现内部崩溃现象<sup>[16]</sup>, 而过低的温度或者较短的处理时间不能控制病害的发生。热处理与其他方法复合控制病害的方法, 可有效地降低处理温度、缩短处理时间。本研究结果发现, BABA 与热复合处理, 虽未能降低热处理温度, 但与热单独处理相比, 处理时间缩短了 2min。研究还发现钙处理、生物防治和电离辐射等非化学处理方法协同热处理用于采后病害控制<sup>[22-24]</sup>, 效果均优于其单独处理。

复合处理顺序和间隔时间对病害的控制具有一定的影响, 本实验结果表明热与 BABA 复合处理先后顺序对控制效果无显著性差异, 而处理间隔时间对控制效果有一定的影响, 间隔 15~20min 效果较好。在柑橘和芒果上研究发现, 热与电离辐射复合处理效果与其处理顺序和间隔时间相关, 一般热处理后 24h 之内进行辐射处理效果较好<sup>[23-24]</sup>。

BABA 具有高效、广谱的非蛋白氨基酸植物诱抗剂的潜能。但由于抗病程度有限且 BABA 诱导的抗病性对病菌无直接杀伤作用, 同时其诱抗效果受植物、病原菌及环境条件的影响而存在差异。单纯用 BABA 作为诱抗剂, 生产成本低, 限制了其在生产上的推广应用<sup>[5]</sup>。本研究结果表明, 热处理能有效增强 BABA 对苹果抗病性的诱导, 有利于降低 BABA 的使用剂量, 但有关其作用机理尚待进一步研究。

### 4 结 论

4.1 热和 BABA 单独处理均能降低损伤接种 *Penicillium expansum* 的苹果病斑直径, 其中,  $45^\circ\text{C}$  热处理 8min 与 50mmol/L BABA 处理使其病斑直径仅分别为对照的 82.86%、80.76%。

4.2 热处理与 BABA 复合处理能有效控制苹果青霉病。复合处理中先后顺序对控制效果无显著性差异, 而处理间隔时间对控制效果有一定的影响, 其中热处理后 BABA 处理, 间隔 15min 处理组的果实的病斑直径最小, 控制效果显著优于其他处理( $P < 0.05$ ), 其病斑直径仅为对照组的 72.57%。

4.3 在处理条件优化试验中对控制效果产生影响的因素主次顺序为热处理时间 > BABA 浓度 > 热处理温度 > 复合处理间隔时间, 其中热处理时间对结果的影响最大。最优处理条件为  $45^\circ\text{C}$  热处理 6min、用 50mmol/L BABA 间隔 10min 后浸泡处理。验证实验表明热处理能显著增强 BABA 对苹果抗青霉病的诱导作用, 有望成为取代传统化学杀菌剂的苹果采后病害综合防治新技术。

### 参考文献:

- [1] TRIPATHI P, DUBEY N K. Exploitation of natural products as an alternative strategy to control postharvest fungal rotting of fruit and vegetables [J]. Postharvest Biology and Technology, 2004, 32(3): 235-245.
- [2] MARI M, BERTOLINI P, PRATELLA G C. Non-conventional methods for the control of postharvest pear diseases[J]. Journal of Applied Microbiology, 2003, 94(5): 761-766.
- [3] TIAN S P, CHAN Z L. Potential of induced resistance in postharvest diseases control of fruits and vegetables[J]. Acta Phytopathology Sinica, 2004, 34(5): 385-394.
- [4] OORT A J P, VAN ANDEL O M. Aspects in chemotherapy[J]. Mededel Opz Gent, 1960, 25(2): 961-992.

- [5] 杨宇红, 陈霄, 谢丙炎.  $\beta$ -氨基丁酸诱导植物抗病作用及其机理[J]. 农药学报, 2005, 7(1): 7-13.
- [6] REUVEN M, ZAHAVI T, COHEN Y. Controlling downy mildew (*Plasmopara viticola*) in field grown grapevine with  $\beta$ -aminobutyric acid (BABA)[J]. Phytoparasitica, 2001, 29(2): 125-133.
- [7] COHEN Y.  $\beta$ -aminobutyric acid-induced resistance against plant pathogens[J]. Plant Disease, 2002, 86(5): 448-457.
- [8] OLIVIERI F P, LOBATO M C, GONZALEZ ALTAMIRANDA E, et al. BABA effects on the behaviour of potato cultivars infected by *Phytophthora infestans* and *Fusarium solani*[J]. European Journal of Plant Pathology, 2009, 132(1): 47-56.
- [9] COUEY H M. Heat treatment for control of postharvest diseases and insect pests of fruits[J]. HortScience, 1989, 24(2): 198-202.
- [10] FALLIK E. Prestorage hot water treatments (immersion, rinsing and brushing)[J]. Postharvest Biology and Technology, 2004, 32(2): 125-134.
- [11] BARKAI-GOLAN R, PHILLIPS D J. Postharvest heat treatment of fresh fruits and vegetables for decay control[J]. Plant Disease, 1991, 75(11): 1085-1089.
- [12] FALLIK E, GRINBERG S, GAMBOURG M, et al. Prestorage heat treatment reduces pathogenicity of *Penicillium expansum* in apple fruit [J]. Plant Pathology, 1996, 45(1): 92-97.
- [13] CONWAY W S, JANISEWICZ W J, KLEIN J D, et al. Strategy for combining heat treatment, calcium infiltration, and biological control to reduce postharvest decay of 'Gala' apple[J]. HortScience, 1999, 34(4): 700-704.
- [14] TU Kang, SHAO Xingfeng, CHEN Lin, et al. Effects of pre-storage hot air treatments on the postharvest quality and blue mold control of 'Red fuji' apple fruit[J]. Acta Horticulture, 2006, 712: 793-798.
- [15] 屠康, 邵兴锋, 赵艺泽. 采后热空气处理对金冠苹果后熟衰老及病害的影响[J]. 果树学报, 2006, 23(4): 562-567.
- [16] 赵艺泽, 屠康, 潘秀娟, 等. 采后热处理对红富士苹果青霉病和灰霉病的控制[J]. 食品与发酵工业, 2004, 30(12): 129-133.
- [17] PAVONCELLO D, LURIE S, DROBY S, et al. A hot water treatment induces resistance to *Penicillium digitatum* and promotes the accumulation of heat shock and pathogenesis-related proteins in grapefruit favedo [J]. Physiologia Plantarum, 2001, 111(1): 17-22.
- [18] 庞学群, 黄雪梅, 李军, 等. 热水处理诱导香蕉采后抗病性及其对相关酶活性的影响[J]. 农业工程学报, 2008, 24(2): 221-225.
- [19] 邵兴锋, 屠康, 静玮, 等. 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.
- [20] LURIE S, FALLIK E, HANDROS A, et al. The possible involvement of peroxidase in resistance to *Botrytis cinerea* in heat-treated tomato fruit [J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1997, 50(3): 141-149.
- [21] ESGURRA E B, VALERIO-TRAYA R F, LIZADA M C C. Efficacy of different heat treatment procedures in controlling diseases of mango fruits [J]. Acta Horticulturae, 2004, 645: 551-556.
- [22] LEVERENTZ B, JANISIEWICZ W J. Combining yeasts or a bacterial biocontrol agent and heat treatment to reduce postharvest decay of 'Gala' apples[J]. Postharvest Biology and Technology, 2000, 21(1): 87-94.
- [23] BARKAI-GOLAN R, KAHAN R S, PADOVA R. Synergistic effects of gamma radiation and heat on the development of *Penicillium digitatum* in vitro and in stored citrus fruits[J]. Phytopathology, 1969, 59(7): 922-924.
- [24] SPALDING D H, REEDER W F. Decay and acceptability of mangos treated with combinations of hot water, imazalil and  $\gamma$ -radiation[J]. Plant Disease, 1986, 70(12): 1149-1151.