

# $\epsilon$ -聚赖氨酸对西番莲果实采后病害与抗病物质代谢的影响

林育钊<sup>1</sup>, 陈蕾伊<sup>1</sup>, 陈佳怡<sup>1</sup>, 蒋璇靓<sup>1</sup>, 郑金水<sup>2</sup>, 陈洪彬<sup>1,3,\*</sup>

(1.泉州师范学院海洋与食品学院, 福建 泉州 362000; 2.泉州市农业科学研究所, 福建 泉州 362212;

3.近海资源生物技术福建省高校重点实验室(泉州师范学院), 福建 泉州 362000)

**摘要:** 为研究 $\epsilon$ -聚赖氨酸( $\epsilon$ -poly-L-lysine,  $\epsilon$ -PL)抑制可可毛色二孢(*Lasiodiplodia theobromae*)侵染所致黄金西番莲果实采后病害的发生及其与果实采后抗病性的关系,以‘福建百香果3号’黄金西番莲果实为研究对象,以无菌水浸泡处理10 min后接种*L. theobromae*的西番莲果实为对照组,以100 mg/L  $\epsilon$ -PL溶液浸泡处理10 min后接种*L. theobromae*的西番莲果实为处理组,在(28±1)℃、90%相对湿度下贮藏7 d,每天取样测定果实病斑直径、果皮细胞膜透性、木质素含量和抗病相关酶活性等的变化。结果表明,与接种*L. theobromae*的西番莲果实对比, $\epsilon$ -PL可延缓果皮细胞膜透性与果实病斑直径的上升。此外, $\epsilon$ -PL还能提高接种*L. theobromae*西番莲果实的果皮木质素含量,提高果实果皮肉桂酸-4-羟化酶、多酚氧化酶、苯丙氨酸解氨酶、过氧化物酶、 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶、4-香豆酰辅酶A连接酶、几丁质酶、肉桂醇脱氢酶等抗病相关酶活性。因此, $\epsilon$ -PL通过减缓西番莲果实果皮细胞膜透性的上升而保持果皮细胞膜的完整性,还能提高西番莲果实果皮抗病相关酶活性及促进木质素累积,进而提升果实采后抗病性,抑制*L. theobromae*侵染所致采后病害的发生。

**关键词:** 西番莲果实;  $\epsilon$ -聚赖氨酸; 可可毛色二孢; 采后病害; 抗病物质代谢

## Effect of $\epsilon$ -Poly-L-lysine on Postharvest Diseases and Disease-Resistant Substance Metabolism in Passion Fruits

LIN Yuzhao<sup>1</sup>, CHEN Lei<sup>1</sup>, CHEN Jiayi<sup>1</sup>, JIANG Xuanjing<sup>1</sup>, ZHENG Jinshui<sup>2</sup>, CHEN Hongbin<sup>1,3,\*</sup>

(1. College of Oceanology and Food Science, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000, China;

2. Quanzhou Institute of Agricultural Sciences, Quanzhou 362212, China; 3. Key Laboratory of Inshore Resources Biotechnology

(Quanzhou Normal University), Fujian Province University, Quanzhou 362000, China)

**Abstract:** In order to investigate the inhibitory effect of  $\epsilon$ -poly-L-lysine ( $\epsilon$ -PL) on the occurrence of *Lasiodiplodia theobromae*-induced diseases and its correlation with disease resistance in postharvest passion fruits, harvested golden passion fruits (cv. Fujian Baixiangguo 3) were immersed in either sterile distilled water (as control group) or 100 mg/L  $\epsilon$ -PL solution for 10 min, inoculated with *L. theobromae*, and stored at (28±1)℃ and 90% relative humidity for up to 7 days. The changes of fruit lesion diameter, cell membrane permeability, lignin content and disease resistance-related enzyme activities in the pericarp were assayed every day. The results showed that compared to the control group,  $\epsilon$ -PL delayed the increase in cell membrane permeability and lesion diameter, and enhanced the content of lignin and the activities of disease resistance-related enzymes including cinnamate-4-hydroxylase (C4H), polyphenol oxidase (PPO), phenylalanine ammonia-lyase (PAL), peroxidase (POD),  $\beta$ -1,3-glucanase (GLU), 4-coumarate CoA ligase (4-CL), chitinase (CHI) and cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD), thereby maintaining cell membrane integrity by delaying the increase of cell membrane permeability, enhancing disease resistance, and inhibiting the occurrence of *L. theobromae*-induced diseases in harvested passion fruits.

**Keywords:** passion fruit;  $\epsilon$ -poly-L-lysine; *Lasiodiplodia theobromae*; postharvest disease; disease-resistant substance metabolism

DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230406-043

中图分类号: TS255.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2024)03-0142-08

收稿时间: 2023-04-06

基金项目: 福建省自然科学基金面上项目(2023J01902; 2021J01976)

第一作者简介: 林育钊(1992—)(ORCID: 0000-0002-6973-6919),男,讲师,博士,研究方向为果蔬采后病理生理与保鲜技术。E-mail: lyzlyp@qq.com

\*通信作者简介: 陈洪彬(1989—)(ORCID: 0000-0003-4607-1018),男,副教授,博士,研究方向为食品加工与贮藏。E-mail: yummyway@qq.com

引文格式:

林育钊, 陈蕾伊, 陈佳怡, 等.  $\epsilon$ -聚赖氨酸对西番莲果实采后病害与抗病物质代谢的影响[J]. 食品科学, 2024, 45(3): 142-149. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230406-043. <http://www.spkx.net.cn>

LIN Yuzhao, CHEN Lei, CHEN Jiayi, et al. Effect of  $\epsilon$ -poly-L-lysine on postharvest diseases and disease-resistant substance metabolism in passion fruits[J]. Food Science, 2024, 45(3): 142-149. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-20230406-043. <http://www.spkx.net.cn>

西番莲 (*Passiflora caerulea* L.), 亦称鸡蛋果或者百香果, 在我国广西、福建、广东、台湾等地区广泛栽培<sup>[1-2]</sup>。西番莲果实含有丰富的矿物质、酚类、有机酸、维生素等营养成分<sup>[2-3]</sup>, 因而具有较高的食用价值。此外, 香气也是影响西番莲果实品质的重要特性, 丁酸乙酯、己酸乙酯、丁酸己酯、醋酸乙酯、 $\alpha$ -松油醇、己醛、 $\beta$ -月桂烯等是果实中重要的香味成分, 使得果实具有浓郁的香气<sup>[4-5]</sup>。然而, 西番莲果实大多成熟和采收于高温高湿季节, 采后极易发生果实感病、腐烂等品质败坏现象, 不利于采后贮藏及品质保持<sup>[2]</sup>。病原菌的侵染是诱导西番莲果实采后感病、腐烂发生的关键因素, 严重限制果实采后贮藏、远距离贮运与销售, 也是西番莲果实产业健康发展需要迫切解决的关键问题<sup>[6]</sup>。目前, 使用化学杀菌剂(例如丙氯灵、二氯异氰尿酸钠等)虽然能够控制西番莲果实采后病害发生, 但是由此带来的药物残留、人体健康损伤及环境污染等问题突出, 因而化学杀菌剂不适于西番莲果实采后病害控制<sup>[7]</sup>。因此, 很有必要寻找一种安全、有效的采后处理技术, 以控制西番莲果实采后病害、腐烂发生, 进而提高西番莲果实采后贮藏品质。

$\epsilon$ -聚赖氨酸 ( $\epsilon$ -poly-L-lysine,  $\epsilon$ -PL) 是从白色链霉菌 (*Streptomyces albulus*) NO. 346中分离而得<sup>[8-9]</sup>。它是一种安全、有效的抑菌多肽<sup>[10-11]</sup>, 由25~35个L-赖氨酸残基通过 $\epsilon$ -氨基和 $\alpha$ -羧基之间形成的酰胺键所形成<sup>[11-12]</sup>。 $\epsilon$ -PL因其具备强抗菌能力、安全性、生物降解性等特性, 可在食品中应用<sup>[11,13]</sup>。有研究报道,  $\epsilon$ -PL可控制龙眼<sup>[9-10]</sup>、草莓<sup>[14]</sup>等果实采后病害发生, 进而稳定果实品质。此外,  $\epsilon$ -PL控制采后果实病害的发生, 可能是由于 $\epsilon$ -PL能提高果实采后抗病相关酶的活性或者提升木质素等抗病物质的含量, 进而诱导果实采后抗病性<sup>[10,15-16]</sup>。

另外, 笔者在前期研究中发现, 可可毛色二孢 (*Lasiodiplodia theobromae*) 是致使福建黄金西番莲果实采后腐烂的主要病原菌之一, 严重降低了果实采后品质。然而, 目前鲜见 $\epsilon$ -PL提高黄金西番莲果实抗病物质代谢水平而增强采后抗病性, 进而抑制果实采后发生病害的研究报道。因此, 本研究以福建省近年来快速发展的黄金西番莲果实为研究对象, 研究 $\epsilon$ -PL抑制 *L. theobromae* 接种黄金西番莲果实采后病害发生及其与果皮细胞膜透性、果实抗病性及抗病物质代谢的关系, 旨

在阐明 $\epsilon$ -PL抑制 *L. theobromae* 侵染所致黄金西番莲果实采后病害发生的作用机制, 为 $\epsilon$ -PL维持黄金西番莲果实采后品质提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料、菌株与试剂

以福建省主栽黄金西番莲品种‘福建百香果3号’ (*Passiflora caerulea* L. cv. Fujian Baixiangguo NO. 3) 果实为研究对象, 果实(8成熟)采摘于福建南安溪美镇缘味家庭农场, 挑选色泽一致、大小均一、无感病、无损伤、健康的果实, 将经过清水清洗、次氯酸钠浸泡10 s (表面消毒)、无菌水 (sterile distilled water, SDW) 清洗等步骤后的果实用于后续研究。

*L. theobromae* 由本课题组自主分离、鉴定及保存。另外, 参考Zhang Shen等<sup>[17]</sup>的方法制备 *L. theobromae* 孢子悬浮液, 将 *L. theobromae* 接种至燕麦米糠琼脂培养基, 在光照下连续培养21 d, 用SDW洗脱成熟孢子, 制成  $1 \times 10^5$  mL 的悬浮液。

$\epsilon$ -PL 郑州拜纳佛生物工程股份有限公司; 氯化钡、苯丙氨酸、葡萄糖-6-磷酸二钠、磷酸氢二钠、邻苯二酚、磷酸二氢钠、氯化镁、抗坏血酸、亮抑酶肽、丙三醇、三氯乙酸、反式肉桂酸、三磷酸腺苷、昆布多糖、柠檬酸、辅酶A、*p*-香豆酸、愈创木酚、四硼酸钾、3,5-二硝基水杨酸等(化学纯) 国药集团化学试剂有限公司。

### 1.2 仪器与设备

CP224C型分析天平 奥豪斯仪器上海有限公司; Infinite M 200 Pro型酶标仪 瑞士帝肯公司; SQ510C型高压灭菌器 重庆雅马拓科技有限公司; S230型电导率仪 梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司; H2050R型离心机 湖南湘仪仪器有限公司; PRX-450A型智能人工气候箱 浙江宁波赛福实验仪器有限公司; HH-4型数显恒温水浴锅 国华电器有限公司。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 果实采后处理与损伤接种

在预实验中, 采用0(对照)、50、100、150 mg/L和200 mg/L  $\epsilon$ -PL浸泡西番莲果实10 min (浸泡时间参照Sun Junzheng等<sup>[10]</sup>的方法), 晾干, 采用无菌打孔器在

果实赤道面打孔1个(直径5 mm, 深度3 mm, 下同), 并在孔中接种20  $\mu\text{L}$  *L. theobromae*孢子悬浮液, 晾干之后装盘(10个/盘), 再用聚乙烯薄膜袋包装, 置于(28 $\pm$ 1)  $^{\circ}\text{C}$ 、90%相对湿度(relative humidity, RH)的恒温箱中贮藏7 d。结果发现, 100 mg/L  $\epsilon$ -PL处理再接种*L. theobromae*的西番莲果实具有较低的病斑直径, 果实感病症状不明显。因此, 选用100 mg/L  $\epsilon$ -PL进行后续实验。

在获得 $\epsilon$ -PL最佳浓度的基础上, 将挑出来的西番莲果实分成2组, 进行以下处理(每组均设3个重复): 1) 接种*L. theobromae*组: SDW浸泡果实10 min后, 晾干, 打孔, 接种20  $\mu\text{L}$ 浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 的*L. theobromae*孢子悬浮液; 2)  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组:  $\epsilon$ -PL浸泡果实10 min后, 晾干, 打孔, 接种20  $\mu\text{L}$ 浓度为 $1 \times 10^5/\text{mL}$ 的*L. theobromae*孢子悬浮液。

西番莲果实经上述处理之后, 晾干, 装盘(10个/盘), 包装聚乙烯薄膜袋, 贮藏(28 $\pm$ 1)  $^{\circ}\text{C}$ 、90% RH的恒温箱中。在贮藏期, 随机取样观察果实外观变化, 测定果实病斑直径, 并从果实发病部位外10~30 mm内取样, 测定相关指标。

### 1.3.2 果皮细胞膜透性的测定

参考Gong Di等<sup>[18]</sup>的方法测定西番莲果实的果皮细胞膜透性, 结果用%表示。

### 1.3.3 果实病斑直径的测定

参考Gong Di等<sup>[18]</sup>的方法使用十字交叉法测定西番莲果实的病斑直径。

### 1.3.4 果皮木质素质量分数的测定

参照郭欣<sup>[7]</sup>与Sun Junzheng<sup>[10]</sup>的方法测定西番莲果皮木质素质量分数, 结果以%表示。

### 1.3.5 果皮抗病相关酶活力的测定

参考Sun Junzheng等<sup>[10]</sup>的方法进行测定西番莲果皮苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)活力; 果皮4-香豆酰辅酶A连接酶(4-coumarate CoA ligase, 4-CL)、肉桂酸-4-羟化酶(cinnamate-4-hydroxylase, C4H)、肉桂醇脱氢酶(cinnamyl alcohol dehydrogenase, CAD)活力的测定均参照郭欣<sup>[7]</sup>、Sun Junzheng<sup>[10]</sup>与Tang Jinyan<sup>[19]</sup>的方法; 果皮多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)和过氧化物酶(peroxidase, POD)活力参考郭欣等<sup>[7]</sup>的方法进行测定; 果皮几丁质酶(chitinase, CHI)、 $\beta$ -1,3-葡聚糖酶( $\beta$ -1,3-glucanase, GLU)活力参照Tang Jinyan等<sup>[19]</sup>的方法进行测定。另外, 参照Bradford<sup>[20]</sup>的方法测定蛋白质含量, 上述酶活力均以蛋白质含量进行计算。

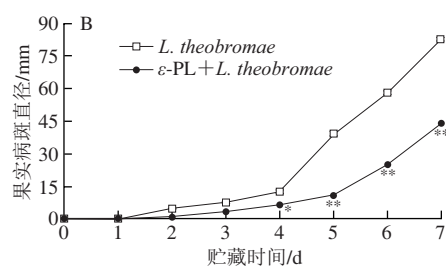
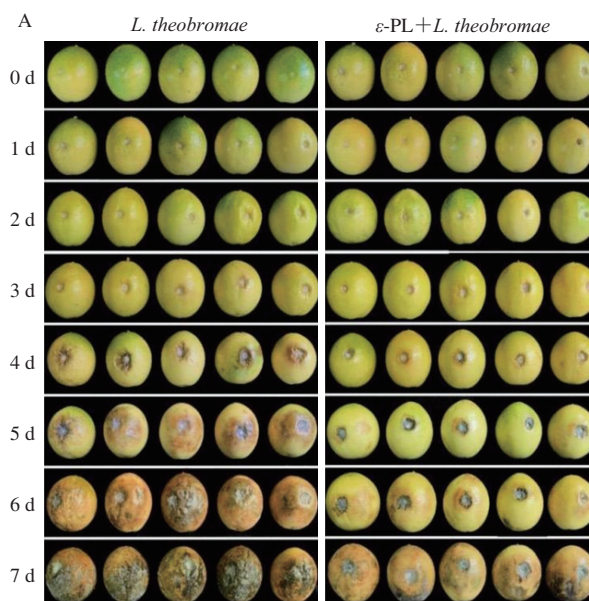
## 1.4 数据处理

在本实验中, 除测定病斑直径进行10次重复之外,

其他指标均设置3次重复。利用Microsoft Excel 2019软件进行绘图; 利用SPSS 22.0软件进行数据统计与相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 果实外观变化和病斑直径



同一贮藏时间两组相比, \* 差异显著 ( $P < 0.05$ ); \*\* 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。下同。

图1  $\epsilon$ -PL对接种*L. theobromae*西番莲果实外观(A)和病斑直径(B)的影响

Fig. 1 Effect of  $\epsilon$ -PL on appearance (A) and lesion diameter (B) of *L. theobromae*-inoculated passion fruits

由图1A可知, 在贮藏0 d时, 西番莲果实果皮呈现明亮的黄绿色, 果实外形完整。然而, 随着贮藏时间的延长, 果实果皮色泽由黄绿色变成黄色, 之后再变成褐色。对于接种*L. theobromae*组, 从贮藏2 d开始, 果实接种处快速长出菌丝, 并由白色转变为黑色, 果实感病加重; 同时接种处伴有严重的黄褐色腐烂症状, 并向周边扩散, 果实腐败程度加剧。然而, 与接种*L. theobromae*组比较,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果实接种处菌丝生长较缓, 果实感病症状较轻; 同时接种处黄褐色腐烂症

状较轻, 腐烂症状向周边扩散速度较慢, 果实腐败较不严重。

果实病斑直径是一个评价果实采后病害发生的重要指标。由图1B可知, 两个处理组的西番莲果实病斑直径在贮藏0~1 d均为0, 但是从贮藏1 d开始, 表现出不同的变化趋势。相比于接种*L. theobromae*组,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组病斑直径增大速度较为缓慢。基于显著性分析,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的病斑直径在贮藏4 d显著低于接种组 ( $P<0.05$ ), 在贮藏5~7 d极显著低于接种组 ( $P<0.01$ )。

因此,  $\epsilon$ -PL能延缓接种*L. theobromae*西番莲果实采后病害的发生。

## 2.2 果皮细胞膜透性

完整的细胞膜对植物细胞正常生命活动具有重要作用<sup>[18]</sup>, 细胞膜的损伤将影响采后抗病性, 一般用细胞膜透性表示细胞膜的损伤程度<sup>[21]</sup>。由图2可知, 西番莲果实的果皮细胞膜透性于贮藏0~7 d快速升高。相比之下,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮细胞膜透性在贮藏0~7 d低于接种*L. theobromae*组, 并在贮藏2 d达到显著水平 ( $P<0.05$ ), 在贮藏4~7 d达到极显著水平 ( $P<0.01$ )。因此,  $\epsilon$ -PL能延缓接种*L. theobromae*西番莲果实采后果皮细胞膜透性的上升。

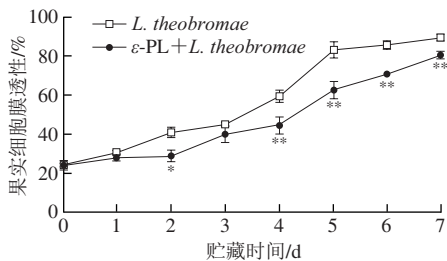


图2  $\epsilon$ -PL对接种*L. theobromae*西番莲果实果皮细胞膜透性的影响  
Fig. 2 Effect of  $\epsilon$ -PL on cell membrane permeability in pericarp of *L. theobromae*-inoculated passion fruits

## 2.3 果皮木质素质量分数

木质素作为植物抗病系统中的重要组成, 能抵抗病原菌入侵<sup>[7,10]</sup>。由图3可知, 接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮木质素质量分数在贮藏0~5 d快速升高, 随后快速下降。然而,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮木质素质量分数在贮藏0~4 d快速升高, 随后快速降低。进一步比较可知, 与接种*L. theobromae*果实的果皮木质素质量分数对比,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组具有较高水平, 并在贮藏3、5~7 d具有显著水平 ( $P<0.05$ ), 在贮藏4 d具有极显著水平 ( $P<0.01$ )。

因此,  $\epsilon$ -PL可提升接种*L. theobromae*西番莲果实果皮木质素水平。

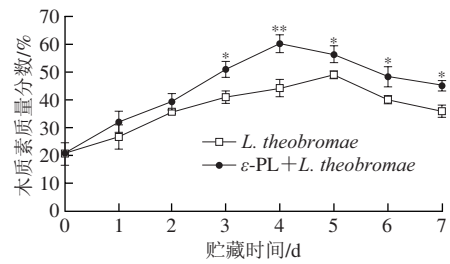


图3  $\epsilon$ -PL对接种*L. theobromae*西番莲果实果皮木质素质量分数的影响  
Fig. 3 Effect of  $\epsilon$ -PL on lignin content in pericarp of *L. theobromae*-inoculated passion fruits

## 2.4 果皮PAL、C4H、4-CL、CAD和POD活性

PAL、C4H、4-CL、CAD与POD是苯丙烷代谢途径中的重要酶, 参与合成木质素<sup>[7,10,22]</sup>。由图4A可知, 接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮PAL活性在贮藏0~1 d较快降低, 1~2 d较快升高, 2~3 d较快降低, 3~6 d加剧提高, 之后快速减少。然而,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮PAL活性于贮藏0~1 d快速上升, 1~2 d快速减小, 2~6 d急剧提高, 6~7 d快速下降。与接种*L. theobromae*果实对比可知,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮PAL活性在贮藏0~7 d具有较高水平, 同时在贮藏3、7 d具有极显著较高水平 ( $P<0.01$ ), 在贮藏4 d表现为显著较高水平 ( $P<0.05$ )。

由图4B可知, 接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮C4H活性在贮藏0~4 d加速上升, 4~5 d较快降低, 随后快速提高。然而,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮C4H活性在贮藏0~5 d变化趋势与接种*L. theobromae*组类似, 但在贮藏5~7 d却较快升高。另外,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮C4H活性在贮藏0~7 d高于接种*L. theobromae*组, 且于贮藏3~5 d显著高于接种*L. theobromae*组 ( $P<0.05$ )。

由图4C可知, 接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮4-CL活性于贮藏0~4 d快速提高, 4~6 d快速下降, 随后加速升高。但是,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮4-CL活性在贮藏0~3 d加剧提升, 3~5 d快速减小, 5~6 d快速升高, 6~7 d较快减少。另外, 与接种*L. theobromae*组相比,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮4-CL活性始终处于较高水平, 且于贮藏2~3、5、7 d达到显著水平 ( $P<0.05$ ), 在贮藏6 d具有极显著水平 ( $P<0.01$ )。

由图4D可知, 接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮CAD活性于贮藏0~2 d加剧上升, 2~3 d加速降低, 3~4 d快速提高, 随后较快下降。然而,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮CAD活性于贮藏0~4 d急剧上升,

随后快速减少。此外,和接种*L. theobromae*果实对比, $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组在贮藏期维持较高果皮CAD活性,并在贮藏3~7 d具有显著较高水平( $P<0.05$ )。

由图4E可得,接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮POD活性在贮藏0~1 d加速升高,1~4 d较快降低,4~5 d快速提高,5~6 d快速下降,6~7 d缓慢上升。但是, $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮POD活性于贮藏0~4 d加剧提高,4~5 d缓慢下降,之后加速降低。另外, $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮POD活性在贮藏2~7 d高于接种组,并在贮藏3 d有极显著水平( $P<0.01$ ),在贮藏4~5、7 d有显著水平( $P<0.05$ )。

因此, $\epsilon$ -PL保持*L. theobromae*接种西番莲果实较高的果皮PAL、C4H、4-CL、CAD及POD活性。

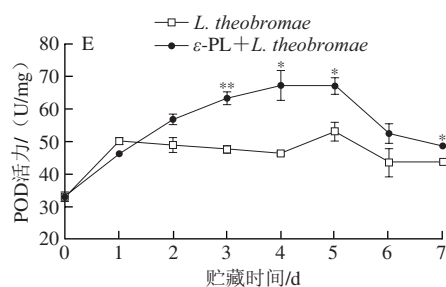
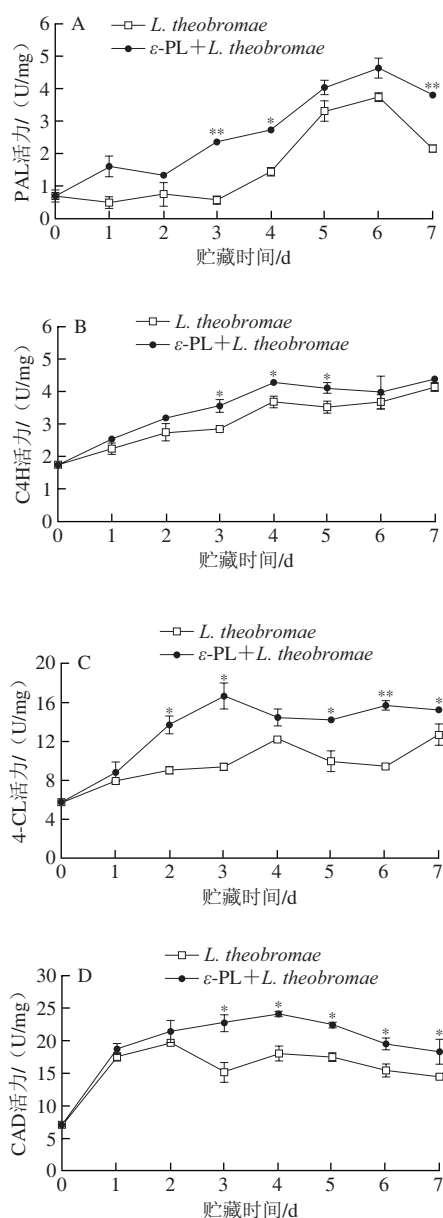


图4  $\epsilon$ -PL对接种*L. theobromae*西番莲果实果皮PAL (A)、C4H (B)、4-CL (C)、CAD (D)和POD (E)活性的影响

Fig. 4 Effect of  $\epsilon$ -PL on activities of PAL (A), C4H (B), 4-CL (C), CAD (D) and POD (E) in pericarp of *L. theobromae*-inoculated passion fruits

## 2.5 果皮PPO活性

PPO可氧化酚类物质,从而产生对病原菌有毒的醌类物质<sup>[7,22-23]</sup>。由图5可知,接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮PPO活性在贮藏0~4 d加剧提高,4~5 d快速下降,5~6 d缓慢上升,6~7 d加速减少。然而, $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮PPO活性于贮藏0~3 d急剧上升,3~4 d快速降低,4~5 d快速提高,之后加速减少。此外,和接种组对比, $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮PPO活性均保持较高水平,同时在贮藏1 d具有显著水平( $P<0.05$ ),在贮藏3、5 d具有极显著水平( $P<0.01$ )。

因此, $\epsilon$ -PL能维持接种*L. theobromae*西番莲果实较高水平的果皮PPO活性。

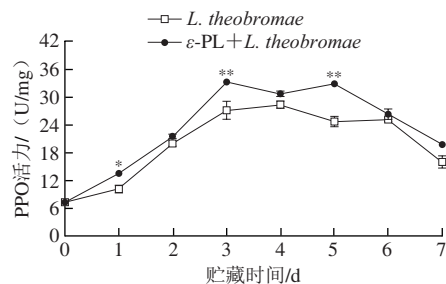


图5  $\epsilon$ -PL对接种*L. theobromae*西番莲果实果皮PPO活性的影响

Fig. 5 Effect of  $\epsilon$ -PL on PPO activity in pericarp of *L. theobromae*-inoculated passion fruits

## 2.6 果皮GLU和CHI活性

GLU与CHI也是防御病原菌入侵果实的关键酶<sup>[24]</sup>。从图6A发现,接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮GLU活性于贮藏0~1 d快速降低,1~2 d快速上升,2~3 d快速减小,随后加速升高。但是, $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮GLU活性在贮藏0~1 d缓慢上升,1~2 d缓慢降低,2~5 d加剧上升,5~6 d快速减少,6~7 d快速提高。另外,和接种组比较, $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组于贮藏0~1、3~7 d保持较高果皮GLU活性,同时在贮藏3~7 d具有极显著水平( $P<0.01$ )。

从图6B发现, 接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮CHI活性于贮藏0~1 d较快下降, 1~5 d较快上升, 5~6 d快速减小, 6~7 d快速提高。但是,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮CHI活性于贮藏0~1 d快速升高, 1~3 d缓慢上升, 3~5 d加速提升, 5~6 d较快减少, 随后急剧增高。另外, 与接种组比较,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组的果皮CHI活性在贮藏期维持较高水平, 并在贮藏4~5 d达极显著水平 ( $P<0.01$ ), 在贮藏6~7 d达显著水平 ( $P<0.05$ )。

因此,  $\epsilon$ -PL能保持接种*L. theobromae*西番莲果实较高的果皮GLU和CHI活性。

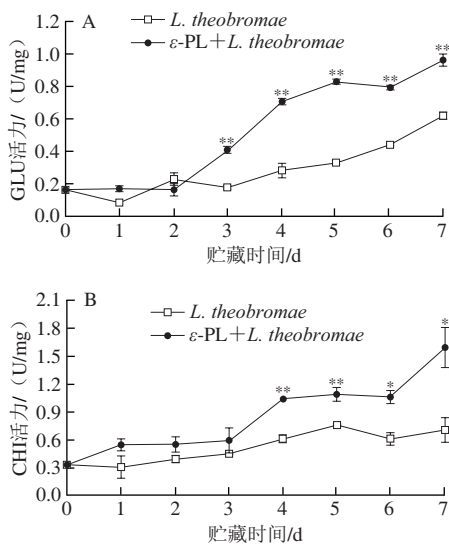


图6  $\epsilon$ -PL对接种*L. theobromae*西番莲果实果皮GLU (A) 和 CHI (B) 活性的影响

Fig. 6 Effect of  $\epsilon$ -PL on activities of GLU (A) and CHI (B) in pericarp of *L. theobromae*-inoculated passion fruits

### 3 讨论

细胞膜损伤与病原菌入侵密切相关。较高的细胞膜透性是果实采后细胞膜结构丧失、抗病性下降、病害发生的促进因素<sup>[21,25-26]</sup>。在本研究中, 接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮细胞膜透性(图2)和果实病斑直径(图1B)在贮藏期均呈现上升趋势。基于相关性分析可知, 接种果实的病斑直径(图1B)与果皮细胞膜透性(图2)具有极显著的正相关关系 ( $P<0.01$ ), 相关系数为0.917。由此可推断, *L. theobromae*侵染加速西番莲果实病害发生与细胞膜损伤有关。然而, 与接种*L. theobromae*组相比,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组在贮藏期具有较低果实病斑直径(图1B)、果皮细胞膜透性(图2)。因此,  $\epsilon$ -PL能减轻接种*L. theobromae*果实果皮细胞膜损伤程度, 稳定果实抗病性, 从而减缓果实发生

病害。这与Chen Yihui等<sup>[21]</sup>的研究结果一致, 即水杨酸减缓龙眼果实发生病害, 是由于水杨酸维持较好的果皮细胞膜完整性。

另外, 木质素是果实抗病防御系统中的重要成分, 当果实受到病原菌侵染时, 迅速积累木质素, 形成物理屏障, 抑制病原菌进一步入侵<sup>[7,10,23]</sup>。本研究发现, 接种*L. theobromae*组的西番莲果实果皮木质素质量分数在贮藏0~5 d不断累积上升, 之后却呈现下降趋势(图3), 而病斑直径在贮藏1~7 d不断升高(图1B)。这可能是因为在贮藏前期, *L. theobromae*入侵西番莲果实后, 西番莲果实的抗病防御机制被激活, 将不断累积木质素等抗病物质, 进而提高果实抗病水平而应对病原菌早期入侵; 但在*L. theobromae*侵染后期, 由于果实的抗病物质(木质素等)水平下降, 诱导果实抗病性丧失, 进而引发果实发生病害。因此, *L. theobromae*侵染加速西番莲果实采后抗病性丧失、病害发生与其果实果皮木质素质量分数下降有关。进一步对比发现, 在贮藏期,  $\epsilon$ -PL+接种*L. theobromae*组具有较高的果皮木质素质量分数(图3), 而具有较小的果实病斑直径(图1B)。因此,  $\epsilon$ -PL抑制*L. theobromae*侵染所致西番莲果实采后病害发生, 是由于 $\epsilon$ -PL促进果实果皮累积木质素, 进而增强果实采后抗病性。这与黄晓杰等<sup>[27]</sup>的研究结果一致, 即茉莉酸甲酯延缓蓝莓果实发生病害与果实保持较高木质素水平有关。类似地, Ren Yanfang等<sup>[24]</sup>研究报道, 硝酸钠能提高芒果果实木质素含量, 进而延缓果实采后炭疽病的发生。

此外, PAL、C4H、4-CL、CAD、POD、PPO、GLU与CHI等抗病酶在果实应对病原菌入侵反应中起着重要作用<sup>[7,10,22,24]</sup>。其中, PAL、C4H、4-CL、CAD、POD等抗病酶可参与木质素的合成及累积, 在抵御病原菌侵染中具有关键作用<sup>[7,10,22-23]</sup>。PPO可催化酚类发生氧化而形成醌, 进而抑制病原菌的生长<sup>[7,10]</sup>。GLU与CHI分别能降解病原菌细胞壁的 $\beta$ -1,3-葡聚糖与几丁质, 从而抑制病原菌的生长<sup>[7,28-29]</sup>。本研究发现, 相比于接种*L. theobromae*的西番莲果实,  $\epsilon$ -PL维持接种*L. theobromae*西番莲果实在贮藏0~7 d具有较高的果皮PAL、C4H、4-CL、CAD活性, 在贮藏2~7 d具有较高的果皮POD活性(图4), 这促进了果实累积木质素;  $\epsilon$ -PL也保持接种果实在贮藏0~7 d有较高的果皮PPO活性(图5), 这有利于PPO催化酚类而生成醌, 进而抑制*L. theobromae*对果实的侵染;  $\epsilon$ -PL还维持接种果实在贮藏1、3~7 d有较高的果皮GLU活性, 在贮藏0~7 d有较高的果皮CHI活性(图6), 这有助于破坏*L. theobromae*细胞壁结构而抑制

其生长。因此,  $\epsilon$ -PL抑制*L. theobromae*侵染所致的西番莲果实采后病害发生, 是由于 $\epsilon$ -PL提高接种*L. theobromae*西番莲果实的果皮PAL、C4H、4-CL、CAD、POD、PPO、GLU及CHI等抗病相关酶的活性, 累积果皮木质素等抗病物质, 进而提高果实采后抗病性。类似地, Sun Junzheng等<sup>[10]</sup>研究表明,  $\epsilon$ -PL能提升龙眼果实的PAL、CAD、C4H、4-CL与POD等抗病酶的活性, 促进木质素的累积, 进而增强果实采后抗病能力, 延缓龙眼果实采后病害的发生。Liu Yongxiang等<sup>[28]</sup>研究发现, L-赖氨酸可以提高梨果实的GLU与CHI活性, 进而提高果实抗病性而控制采后病害发生。另外, 刘晓佳等<sup>[30]</sup>研究报告, 苯并噻二唑可提升柑橘果实的PAL、POD、PPO、CHI和GLU等抗病酶活性, 提升果实对病原菌入侵的抗性水平。

#### 4 结论

综上, 100 mg/L  $\epsilon$ -PL可有效维持接种*L. theobromae*西番莲果实的果皮细胞膜完整性, 还能提升接种果实与果皮木质素合成有关的相关酶(PAL、C4H、4-CL、CAD、POD等)活性而促进累积木质素, 提高接种果实果皮的PPO、GLU及CHI等酶活性, 从而增强果实采后抗病性, 抑制*L. theobromae*侵染所致的果实采后病害发生。因此,  $\epsilon$ -PL可作为一种安全的采后处理技术以增强西番莲果实的抗病能力, 进而抑制果实采后发生病害、稳定其采后品质。

#### 参考文献:

- [1] 郭欣, 林育钊, 邓礼艳, 等. 壳聚糖处理对采后西番莲果实贮藏期间果皮活性氧化代谢的影响[J]. 热带作物学报, 2020, 41(12): 2526-2533. DOI:10.3969/j.issn.1000-2561.2020.12.022.
- [2] 郭欣, 林育钊, 曾玲珍, 等. 不同浓度壳聚糖处理对采后西番莲果实耐贮性和贮藏品质的影响[J]. 热带作物学报, 2020, 41(8): 1665-1673. DOI:10.3969/j.issn.1000-2561.2020.08.022.
- [3] YOU M, DUAN X Y, LI X, et al. Effect of 1-methylcyclopropene combined with chitosan-coated film on storage quality of passion fruit[J]. Sustainable Chemistry and Pharmacy, 2022, 27: 100679. DOI:10.1016/j.scp.2022.100679.
- [4] 陈怀宇, 王钰淇, 陈洪彬, 等. 基于GC-IMS分析“黄金”和“紫香”西番莲果实挥发性风味物质的差异[J]. 中国南方果树, 2022, 51(6): 84-89. DOI:10.13938/j.issn.1007-1431.20220069.
- [5] 李巍, 李春俭, 张福锁, 等. 西番莲营养品质与功能性成分研究及应用进展[J]. 中国农业大学学报, 2022, 27(11): 79-92. DOI:10.11841/j.issn.1007-4333.2022.11.07.
- [6] 陈果, 林育钊, 郭欣, 等. 西番莲采后品质劣变及贮藏保鲜技术研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2020, 49(4): 323-328. DOI:10.3969/j.issn.1009-7791.2020.04.014.
- [7] 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(5): 206-212. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200723-315.
- [8] SUN G Z, YANG Q C, ZHANG A C, et al. Synergistic effect of the combined bio-fungicides  $\epsilon$ -poly-L-lysine and chitooligosaccharide in controlling grey mould (*Botrytis cinerea*) in tomatoes[J]. International Journal of Food Microbiology, 2018, 276: 46-53. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2018.04.006.
- [9] 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: 773. DOI:10.3390/foods11050773.
- [10] 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. DOI:10.1016/j.foodchem.2023.135784.
- [11] 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. DOI:10.1016/j.postharvbio.2018.08.009.
- [12] SHU C, CUI K B, LI Q 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. DOI:10.1016/j.ijfoodmicro.2021.109224.
- [13] LI S F, ZHANG L H, LIU M P, et al. Effect of poly- $\epsilon$ -lysine incorporated into alginate-based edible coatings on microbial and physicochemical properties of fresh-cut kiwifruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2017, 134: 114-121. DOI:10.1016/j.postharvbio.2017.08.014.
- [14] 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. DOI:10.1016/j.postharvbio.2020.111270.
- [15] 刘璐, 鲁晓翔, 陈绍慧, 等.  $\epsilon$ -聚赖氨酸采后处理对樱桃冰温贮藏期间品质的影响[J]. 食品工业科技, 2015, 36(12): 319-323. DOI:10.13386/j.issn1002-0306.2015.12.059.
- [16] 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. DOI:10.1016/j.postharvbio.2020.111346.
- [17] ZHANG S, LIN H T, LIN Y F, et al. Energy status regulates disease development and respiratory metabolism of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griff. & Maubl.-infected longan fruit[J]. Food Chemistry, 2017, 231: 238-246. DOI:10.1016/j.foodchem.2017.03.132.
- [18] GONG D, BI Y, ZHANG X M, et al. Benzothiadiazole treatment inhibits membrane lipid metabolism and straight-chain volatile compound release in *Penicillium expansum*-inoculated apple fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 181: 111671. DOI:10.1016/j.postharvbio.2021.111671.
- [19] TANG J Y, CHEN H B, LIN H T, 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 Biology and Technology, 2021, 171: 111349. DOI:10.1016/j.postharvbio.2020.111349.
- [20] BRADFORD M M. Rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities of protein utilizing principle of protein-

- dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72: 248-254. DOI:10.1016/0003-2697(76)90527-3.
- [21] CHEN Y H, SUN J Z, LIN H T, et al. Salicylic acid treatment suppresses *Phomopsis longanae* Chi-induced disease development of postharvest longan fruit by modulating membrane lipid metabolism[J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 164: 111168. DOI:10.1016/j.postharvbio.2020.111168.
- [22] HU M J, ZHU Y Y, LIU G S, et al. Inhibition on anthracnose and induction of defense response by nitric oxide in pitaya fruit[J]. Scientia Horticulturae, 2019, 245: 224-230. DOI:10.1016/j.scienta.2018.10.030.
- [23] CHEN C Y, CAI N, CHEN J Y, et al. Clove essential oil as an alternative approach to control postharvest blue mold caused by *Penicillium italicum* in citrus fruit[J]. Biomolecules, 2019, 9: 197. DOI:10.3390/biom9050197.
- [24] REN Y F, XUE Y H, TIAN D, et al. Improvement of postharvest anthracnose resistance in mango fruit by nitric oxide and the possible mechanisms involved[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 68: 15460-15467. DOI:10.1021/acs.jafc.0c04270.
- [25] 彭慧, 龚迪, 魏亚楠, 等. 扩展青霉侵染对苹果果实膜磷脂代谢的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(3): 211-218. DOI:10.7506/spkx1002-6630-20200130-287.
- [26] WANG H, CHEN Y H, SUN J Z, et al. The changes in metabolisms of membrane lipids and phenolics induced by *Phomopsis longanae* Chi infection in association with pericarp browning and disease occurrence of postharvest longan fruit[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66: 12794-12804. DOI:10.1021/acs.jafc.8b04616.
- [27] 黄晓杰, 李婧, 柴媛, 等. MeJA处理对蓝莓果实采后灰霉病的影响及机理[J]. 食品科学, 2016, 37(22): 307-312. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201622047.
- [28] LIU Y X, LI Y C, BI Y, et al. Induction of defense response against *Alternaria* rot in Zaosu pear fruit by exogenous *L*-lysine through regulating ROS metabolism and activating defense-related proteins[J]. Postharvest Biology and Technology, 2021, 179: 111567. DOI:10.1016/j.postharvbio.2021.111567.
- [29] YANG X M, WANG Y T, JIANG H Y, et al. Antimicrobial peptide CB-M exhibits direct antifungal activity against *Botrytis cinerea* and induces disease resistance to gray mold in cherry tomato fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2023, 196: 112184. DOI:10.1016/j.postharvbio.2022.112184.
- [30] 刘晓佳, 薛耀碧, 周雅涵, 等. 苯并噻二唑处理对柑橘果实采后病害控制效果及机制分析[J]. 食品科学, 2018, 39(9): 215-223. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201809033.