



Studies on the Control of Postharvest Diseases of Muskmelons and the Induction of Resistance Related Enzymes and Defense Substances by Salicylic Acid Treatment

Jing Yuanyuan, Li Na, Li Lihua, Zhu Xuan*

Department of Food Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, China

Email address:

785738415@qq.com (Jing Yuanyuan), zx9927@126.com (Zhu Xuan)

*Corresponding author

To cite this article:

Jing Yuanyuan, Li Na, Li Lihua, Zhu Xuan. Studies on the Control of Postharvest Diseases of Muskmelons and the Induction of Resistance Related Enzymes and Defense Substances by Salicylic Acid Treatment. *Science Discovery*. Vol. 4, No. 4, 2016, pp. 226-231.

doi: 10.11648/j.sd.20160404.14

Received: June 30, 2016; Accepted: July 1, 2016; Published: July 20, 2016

Abstract: The enzymes activity related muskmelon disease resistance by salicylic acid treatment in pro-harvest muskmelon fruits was investigated in this paper. The plants of “Jin tian mi” muskmelon as test materials, muskmelons were sprayed at four growing seasons: young fruit period (two weeks after flowering), fruit enlarging period (three weeks after flowering), netting period (four weeks after flowering) and 48 h before picking by the 1.0 mmol/L salicylic acid solution, respectively. The harvest fruits were storage at 7°C after precooling. The incidence of disease, disease index; the content of total phenols, flavonoids and lignin of muskmelon, CHT, GLU and PAL activities of muskmelon were measured during the storage every 7 days. The results showed that: compared with the control, the disease time of muskmelon was delaywd, fruit disease incidence and disease index were decreased, chitinase and β -1,3-glucanase were induced, phenylalanine ammonia lyase activity was increased, and the total phenolic, flavonoid, lignin content were better maintain by 1.0 mmol/L salicylic acid treatment. It is suggested that the increase of the related enzymes activity induced by salicylic acid were closely related to the increase of disease resistance in pro-harvest muskmelons.

Keywords: Salicylic Acid, Muskmelon, Resistance Related Enzymes, Induction, Disease Resistance

采前水杨酸处理对甜瓜采后病害的控制及抗性相关酶和防卫物质诱导的研究

敬媛媛, 李娜, 李丽花, 朱璇*

食品科学与药学院, 食品科学系, 新疆农业大学, 乌鲁木齐, 中国

邮箱

785738415@qq.com (敬媛媛), zx9927@126.com (朱璇)

摘要: 为了探究采前水杨酸处理诱导甜瓜果实采后抗病性及相关酶活性的变化, 以“金甜蜜”甜瓜果实为试材, 采用1.0 mmol/L的水杨酸溶液分别在甜瓜幼果期(花后2周)、膨大期(花后3周)、网纹形成期(花后4周)及采收前48 h的四个生长期进行喷施处理, 采摘后置于7°C贮藏。定期对甜瓜果实的发病率、病情指数、总酚含量、类黄酮含量、木质素含量、苯丙氨酸解氨酶活性、几丁质酶活性、 β -1,3-葡聚糖酶活性进行测定。试验结果表明: 1.0 mmol/L水杨酸处理能够推迟甜瓜果实的发病时间, 降低果实发病率和病情指数; 诱导甜瓜果实几丁质酶、 β -1,3-葡聚糖酶、苯丙氨酸解氨酶活性的升高; 较好地

维持果实总酚、类黄酮、木质素的含量。说明采前水杨酸处理诱导果实抗性相关酶活性的升高与提高果实采后抗病性密切相关。

关键词：水杨酸，甜瓜，抗性相关酶，诱导，抗病性

1. 引言

新疆（中国）甜瓜以其“品质优良、风味独特”而驰名中外。新疆是中国甜瓜的主产区之一，甜瓜在中国栽培历史悠久，栽培面积和产量均居世界前列。但甜瓜果实糖度较高，水分含量较大，采后代谢旺盛，加之采收期相对集中且正值高温夏季，极易受外界病菌侵染而发生腐烂变质，造成巨大的经济损失[1]。引起甜瓜采后腐烂的病原菌主要有链格孢(*Alternaria alternata*)、镰刀菌(*Fusarium sp.*)、粉霉病(*Trochothecium roseum*)、软腐病(*Rhizopus sp.*)、青霉病(*Penicillium sp.*) [2]，其中，链格孢(*Alternaria alternata*)和镰刀菌(*Fusarium sp.*)是引起甜瓜低温贮运过程中腐烂的优势病原菌，并且在甜瓜生长期就可能侵染果实，以潜伏状态存在于果皮组织中，加剧果实采后腐烂[3]。化学杀菌剂虽然可有效控制甜瓜的采后病害[4]，但由于残留问题、环境污染及诱导病原菌产生抗药性等问题而受到限制[5]。因此，寻求新型安全有效的防腐保鲜措施已成为甜瓜贮运产业中亟待解决的问题。

水杨酸(salicylic acid, SA)是一种小分子酚类物质，普遍存在于植物体内。SA也是植物受病原菌侵染后活化一系列防卫反应信号传导途径中的重要组成部分[6-7]，还能够作为信号分子诱发系统获得性抗性(Systemic Acquired Resistance, SAR)，而SAR能够诱导植物持续抵御病原微生物的侵害[8]。研究表明，外源SA不仅能够诱导多种果蔬对真菌、细菌和病毒等病原菌产生局部或系统抗性[9]，还能够提高果蔬的采后抗病性。范存斐[10]等研究发现SA处理通过对厚皮甜瓜苯丙烷代谢的调控抑制其采后病害，外源SA处理还能诱导芒果[11]、苹果[12]、马铃薯[13]等果蔬抗病能力的提高，控制果蔬的采后腐烂。

目前，关于SA采前处理的应用较少，采前SA处理诱导甜瓜采后抗病性的研究鲜见报道。因此，本试验采用1.0 mmol/L SA在甜瓜采前进行喷施处理，以探讨SA处理对甜瓜采后抗病性及相关酶活性的影响，为采前SA处理对甜瓜采后病害的控制及其作用机理的研究提供理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

甜瓜品种为“金甜蜜”。

2.2. 试验方法

试验于五家渠市103团7连进行，参照李梅[14]等的方法并修改，选择地势、光照、通风一致的地块，每处理两垄进行区组试验设计。分别在甜瓜幼果期(花后2周)、果实迅速膨大期(花后3周)、网纹形成期(花4周)和采前48 h

四个时期用手动式喷雾器均匀喷洒浓度为1.0 mmol/L的SA，并以清水处理为对照。每升药液处理甜瓜35株，每处理70株，重复3次。采收后的果实选择无病虫害和机械损伤、果柄处带T形蔓的果实，外套发泡塑料网套，防止运输过程中甜瓜的碰撞损伤，随后将果实装箱置新疆农业大学食品科学与药学院冷库中，低温(7±1℃，RH85%)贮藏，贮藏期间每7d对各项指标进行测定。

2.3. 测定项目及方法

2.3.1. 自然发病率测定

采后病害调查：果实采收后，发泡网袋单果包装，装入瓦楞纸板箱，每箱4个瓜，汽车当天运抵实验室，置于冷库(7±1℃，85% RH)贮藏，观察采后病害的发病情况和病情指数。每处理6个瓜，重复3次。采后病害分级参照Huang[15]等的方法。方法：0级-无任何症状，1级-一个病斑，直径小于1cm，2级-直径在1~3cm的病斑一个或直径小于2cm的病斑2个，3级-直径在3~5cm的病斑一个或直径小于2~3cm的病斑两个，4级-病斑直径大于5cm或3个以上的病斑。发病瓜定义为出现二级及以上级别的病害。

$$\text{发病率}(\%) = \text{发病瓜个数} / \text{总瓜数} \times 100\%$$

2.3.2. 病情指数的计算方法及数据处理

按下列公式计算病情指数：

$$\text{病情指数} = \sum \frac{(\text{发病瓜数} \times \text{发病级别})}{(\text{总瓜数} \times \text{最高级别})}$$

2.3.3. 总酚、类黄酮含量测定

参照曹建康[16]等的方法。

2.3.4. 木质素含量的测定

参照朱海英的方法并修改[17]，取甜瓜果肉12 g，于研钵中研碎后，用12.0 mL的70%硫酸溶解均浆液于100 mL的小烧杯中。将小烧杯在40℃下恒温水浴1h，其间不断搅拌。反应一小时后，用200 mL蒸馏水冲洗均浆液于500 mL三角瓶中，用牛皮纸（或报纸）、纱布封口后，于立式压力蒸汽灭菌器中121℃保温1 h，然后将所得热溶液通过砂心漏斗进行真空抽滤，并用热水冲洗残渣。最后将所得残渣于60℃的电热恒温鼓风干燥箱中烘至恒重后用电子天平称量所得残渣重。木质素含量(%)=残渣重/样品质量×100%，测定3次重复。如上，重复三次平行实验，取平均数作为木质素含量值。

2.3.5. 苯丙氨酸解氨酶活性测定

参照曹建康[16]等的方法。

2.3.6. 几丁质酶的活性的测定

参照曹建康[16]等的方法。

2.3.7. β-1,3-葡聚糖酶活性测定

参照曹建康[16]等的方法。

2.4. 数据统计

全部试验数据用Microsoft Excel 2007和DPS 7.55数据处理系统进行统计处理，计算标准偏差(±SE)或进行Duncan’s多重差异显著分析。

3. 结果与分析

3.1. SA处理对甜瓜发病率的影响

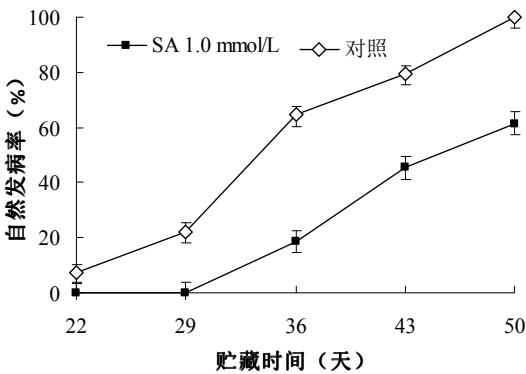


图1 SA处理对甜瓜发病率的影响。

在贮藏18天时，对照果实开始发病，而1.0 mmol/L SA处理在贮藏31天才开始发病。如图1所示，贮藏50天时，1.0 mmol/L SA处理和对照果实的发病率分别是60%、100%，1.0 mmol/L SA处理发病率比对照低40% ($p<0.05$)。1.0 mmol/L不仅可以降低甜瓜果实的发病率，且可以推迟甜瓜果实的发病时间。说明采用1.0 mmol/L SA能明显抑制甜瓜果实贮藏期间病害的发生。

3.2. SA处理对甜瓜病情指数的影响

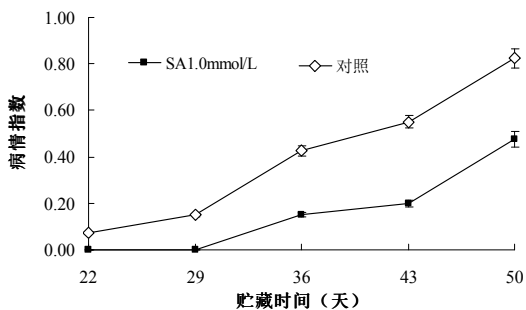


图2 SA处理对甜瓜贮藏期间病情指数的影响。

如图2所示，随着贮藏时间的延长，果实的病情指数不断上升，且在整个贮藏过程，对照果实的病情指数明显高于SA处理组。在贮藏50天时，对照果实和SA处理果实的病情指数分别为82.5%和47.5%，SA处理的病情指数比对照

低了35% ($p<0.05$)。说明SA处理可以降低甜瓜果实的病情指数。

3.3. SA处理对甜瓜总酚和类黄酮的影响

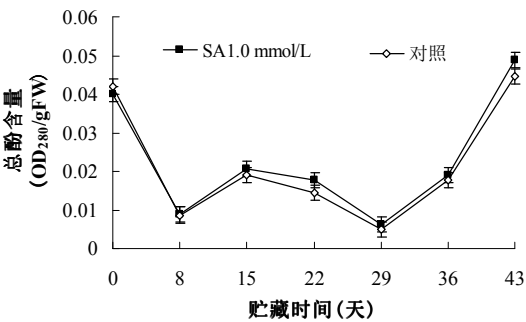


图3 SA处理对甜瓜总酚含量的影响。

如图3所示，甜瓜果实采收时，对照果实总酚含量比SA处理略高。但是在整个贮藏过程中，经SA处理果实的总酚含量高于对照果实。这说明，在贮藏前期，采前SA处理有助于贮藏过程中总酚含量的保持；而在贮藏后期，SA处理有利于总酚含量的积累。

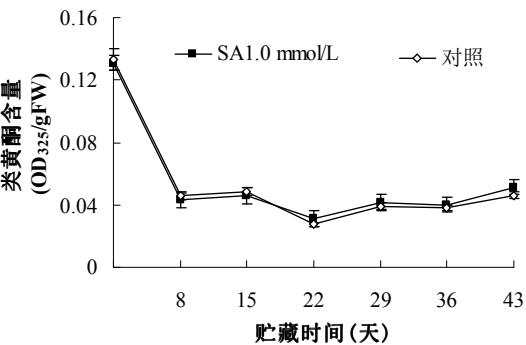


图4 SA处理对甜瓜类黄酮含量的影响。

如图4所示，在贮藏前8天内，类黄酮含量显著下降，而在贮藏8天以后，类黄酮整体趋势呈先下降后升高的趋势，但变化幅度不显著。贮藏22天以前对照果实的类黄酮含量比SA处理的果实高，而22天以后，经SA处理的类黄酮含量比对照果实高。由此可见，SA处理可以诱导类黄酮的含量的积累。

3.4. SA处理对甜瓜木质素的影响

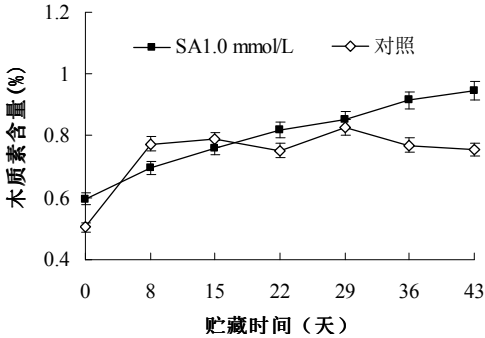


图5 SA处理对甜瓜木质素含量的影响。

如图5所示,在整个贮藏过程中,随着贮藏时间的延长,SA处理果实的木质素含量逐渐增加;而对照果实贮藏前8天上升较快,之后趋于平稳状态。在贮藏22天后,经SA处理果实的木质素含量高于对照组。贮藏43天时,1.0 mmol/L SA处理和对照果实的木质素含量分别是0.947%、0.755% ($p<0.05$)。说明1.0 mmol/L SA处理能够诱导甜瓜果实中木质素含量的积累。

3.5. SA处理对甜瓜苯丙氨酸解氨酶的影响

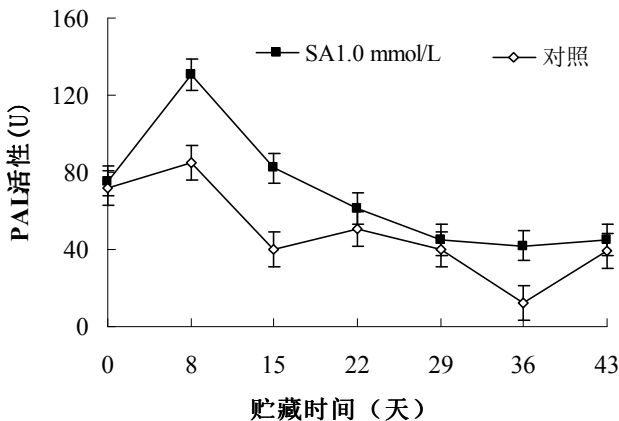


图6 SA处理对甜瓜苯丙氨酸解氨酶活性的影响。

如图6所示,贮藏过程中PAL活性整体呈先上升后下降趋势。在整个贮藏过程中,经1.0 mmol/L SA处理果实的PAL活性明显高于对照果实,在贮藏第8天和第15天时,SA处理果实的PAL活性分别是对照果实的1.5倍和2倍 ($p<0.05$)。说明采前1.0 mmol/L SA处理能够诱导甜瓜果实采后PAL活性的升高。

3.6. SA处理对甜瓜几丁质酶活性的影响

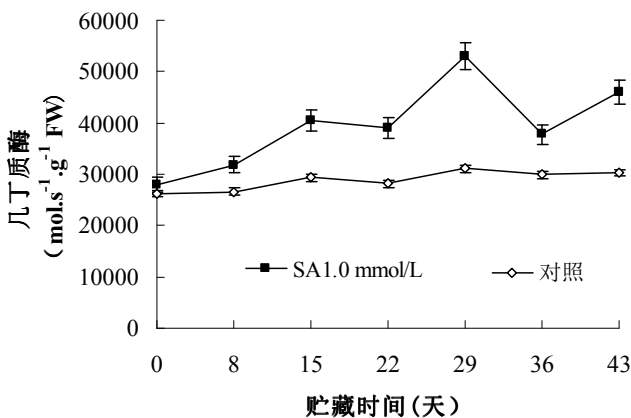


图7 SA处理对甜瓜几丁质酶活性的影响。

如图7所示,随着贮藏时间的延长,甜瓜果实的CHT活性总体上呈上升趋势,对照组果实变化幅度较小。SA处理组CHT活性在整个贮藏过程期间明显高于对照果实。在贮藏第29天时,SA处理组CHT活性比对照组高了70.7% ($p<0.01$)。说明SA处理能够诱导甜瓜果实采后CHT活性的上升。

3.7. SA处理对甜瓜 β -1,3-葡聚糖酶活性的影响

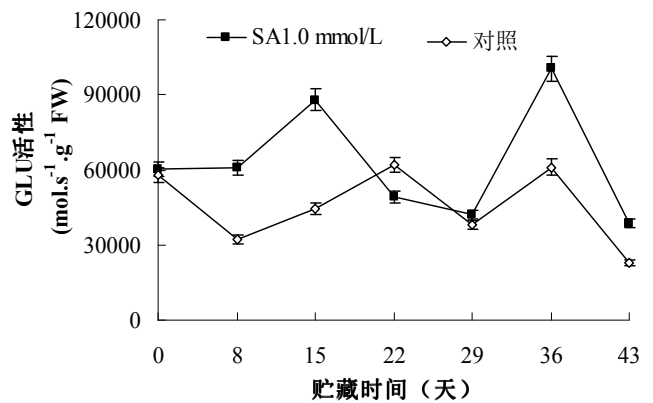


图8 SA处理对甜瓜 β -1,3-葡聚糖酶活性的影响。

β -1,3葡聚糖酶 (GLU) 在高等植物中普遍存在,能够降解真菌细胞壁中的 β -1,3-葡聚糖,该酶还能使真菌细胞释放出 β -1,3葡聚糖来源的抗性诱导因子,从而激活防卫相关酶系统。如图8所示,贮藏过程中,SA处理组甜瓜果实的GLU活性整体上高于对照果实。在贮藏第36天时,SA处理组GLU活性比对照组高了64.2% ($p<0.05$)。说明SA处理能够诱导甜瓜果实采后GLU活性的增加。

4. 讨论与结论

本研究表明,1.0 mmol/L SA处理可以推迟甜瓜果实的发病时间,降低其发病率和病情指数。这与SA处理对鸭梨[18]、厚皮甜瓜[10]和甜樱桃[19]上的结果相一致。Poole[20]和Davarynejad[21]等研究发现,采前或采后SA处理猕猴桃果实,都能够诱导果实产生抗病性。Babalar[22]等的研究也表明,在1-2 mmol/L的浓度范围内,SA处理可有效降低真菌引起的草莓类果实的腐烂。本试验是在甜瓜采前的4个重要时期用1.0 mmol/L SA进行喷施处理,不断地诱导果实抗病能力的增强,从而使果实采后具有较强的抗病性,而且这种抗病性具有一定的持久性。

CHT和GLU是两类重要的病程相关蛋白,被认为是植物系统获得抗病性(SAR)的标志[23]。CHT和GLU水解几丁质和 β -1,3-葡聚糖的过程中,由真菌细胞壁释放出来的寡糖能够作为植物多种抗病反应的激发因子,诱导植物的全面防卫反应[24-25]。本研究表明,采前1.0 mmol/L SA处理可以诱导甜瓜果实在采后整个贮藏过程中CHT和GLU活性均显著高于对照组,这可能是SA处理诱导甜瓜启动自身抗病系统而产生抗病性的机制之一。这与张衍荣[26]对豇豆的研究中经SA处理豇豆感病品种后可以诱导GLU和CHT活性升高的结果相一致。

酚类物质本身具有抗菌素的性质,并且由酚类物质氧化而成的醌类物质是潜在的抗病因子。PAL与酚类化合物的合成有着十分密切的联系,同时也是木质素合成的关键酶和限速酶,与SAR的表达存在相关性[27-28]。木质素不仅对病原微生物的侵害起屏障作用,还能与低分子量酚类前体物质多聚作用产生游离基钝化病原真菌细胞。王媛[29]等的研究表明,SA处理可以降低拟南芥灰霉病

(*Botrytis cinerea*) 的发生率, 提高拟南芥叶片PAL的活性, 并诱导木质素大量积累。张帆[30]等研究也表明, 采用1.0 mmol/L SA处理树莓, 在贮藏后期可以提高总酚、类黄酮等酚类物质的含量。在甜樱桃[19]、芒果[31]中的研究表明, SA处理可显著增加果实PAL的活性从而降低其采后褐腐病和炭疽病的发生。本研究中, 采前1.0 mmol/L SA处理可诱导PAL活性在整个贮藏过程中都高于对照果实; 总酚含量在贮藏15天后高于对照果实; 类黄酮和木质素的含量都有不同程度的提高, 这也是SA处理能够增强果实采后抗病性的主要原因之一。

综上所述, 1.0 mmol/L水杨酸处理能够推迟甜瓜果实的发病时间, 降低果实发病率和病情指数; 诱导甜瓜果实几丁质酶、 β -1, 3-葡聚糖酶、苯丙氨酸解氨酶活性的升高; 较好地维持果实的总酚、类黄酮、木质素的含量。说明采前水杨酸处理诱导果实抗性相关酶活性的升高与提高果实采后抗病性密切相关。

参考文献

- [1] 王建玉, 邓志斌, 王志鹏. 新疆五家渠地区甜瓜滴灌简易栽培技术[J]. 中国瓜菜, 2015(1): 68-68.
- [2] Bi Y, Li Y, Ge Y, et al. Induced Resistance in Melons by Elicitors for the Control of Postharvest Diseases[M]// Postharvest Pathology. Springer Netherlands, 2009: 31-41.
- [3] 葛永红, 毕阳, 马凌云. 黄河蜜甜瓜致病真菌潜伏侵染的时期与途径[J]. 中国西瓜甜瓜, 2005, (3): 1-3.
- [4] 马凌云, 赵亮. 啞菌酯处理对“银帝”甜瓜采后病害控制的研究[J]. 信阳农业高等专科学校学报, 2009, 19(4): 118-119.
- [5] Terry L A, Joyce D C. Elicitors of induced disease resistance in postharvest horticultural crops: a brief review. Postharvest Biology and Technology, 2004, 32: 1-13.
- [6] Sendon P M, Seo H S, Song J T. Salicylic Acid Signaling: Biosynthesis, Metabolism, and Crosstalk with Jasmonic Acid[J]. Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry, 2011, 54(4): 501-506.
- [7] Kumar D. Salicylic acid signaling in disease resistance [J]. Plant Science, 2014, 228: 127-134.
- [8] 张艳秋, 崔崇士. 植物系统获得性抗性研究进展[J]. 东北农业大学学报, 2008, 39(12): 113-117.
- [9] 龙亚芹, 王万东, 王美存, 等. 水杨酸(SA)诱导植物对病虫害产生抗性及其作用机制研究[J]. 热带农业科学, 2009, 29(12): 46-50.
- [10] 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.
- [11] 杨冬平, 高兆银, 李敏, 等. 水杨酸结合超声波处理对芒果采后抗病性的影响[J]. 热带作物学报, 2014, 35(5): 974-979.
- [12] 王芳芳. 水杨酸处理对苹果轮纹病的抑制效果[J]. 北方园艺, 2010, (3): 147-148.
- [13] 汤晓莉, 薛红芬, 邓国宾, 等. 水杨酸诱导马铃薯疮痂病抗性的生理机制研究[J]. 西南农业学报, 2010, 23(6): 1851-1854.
- [14] 李梅, 毕阳, 葛永红, 等. 采前Harpin处理对“银帝”甜瓜潜伏侵染的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2005, 40(2): 153-156.
- [15] Huang Y, Deverall B J, Tang W H. et al. Foliar application of acibenzolar-S-methyl and protection of postharvest rock melons and Hami melons from disease[J]. European Journal of Plant Pathology. 2000, (106): 651-656.
- [16] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 中国轻工业出版社, 2007.
- [17] 朱海英, 李人圭, 王隆华, 等. 丝瓜果实发育中木质素代谢及有关导管分化的生理生化研究[J]. 华东师范大学学报, 1997, (1): 87-94.
- [18] 曹建康. SA、ASM、INA和柠檬酸对鸭梨果实采后抗病性和品质的影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2005.
- [19] Yao H J, Tian S P. Effects of pre- and post-harvest application of salicylic acid or methyl jasmonate on inducing disease resistance of sweet cherry fruit in storage. Postharvest Biology and Technology, 2005, 35: 253-262.
- [20] Polle A, Tilman T, Seifert F. Apoplastic per-oxidases and lignification in needles of Norway Spruce (*Picea abies* L) [J]. Plant Physiology, 1994, 106: 53-60.
- [21] Davarynejad G H, Zarei M, Nasrabadi M E, et al. Effects of salicylic acid and putrescine on storability, quality attributes and antioxidant activity of plum cv. ‘Santa Rosa’ [J]. Journal of Food Science and Technology, 2015, 52(4): 2053-2062.
- [22] Babalar, M., Asghari, M., Talaei, A., & Khosroshahi, A. Effect of pre- and postharvest salicylic acid treatment on ethylene production, fungal decay and overall quality of Selva strawberry fruit. Food Chemistry, 2007, 105, 449-453.
- [23] J. -P. Métraux. Systemic Acquired Resistance[J]. Brenner’s Encyclopedia of Genetics (Second Edition), 2013, 1(4): 627-629.
- [24] Klarzynski O, Plesse B, Joubert J M, et al. Linear β -1, 3-glucanase are elicitors of defense responses in tobacco [J]. Plant Physiology, 2004, 124: 1027-1037.
- [25] Selit rennikoff C P. Antifungal proteins[J]. Apple Environ Microbiol, 2001, 67: 2883-2894.

- [26] 张衍荣, 王小菁, 张晓云, 等. 水杨酸对豇豆枯萎病的抑制作用[J]. 华中农业大学学报, 2006, 25(6): 610-613.
- [27] 张正科, 毕阳, 王军节, 等. 采前苯丙噻重氮(BTH)处理对厚皮甜瓜果实防御酶及抗性物质的诱导[J]. 甘肃农业大学学报 2006, 41(6): 122-125.
- [28] Felipini RB, Luiz C, Costa MEB, et al. Mode of action of chitosan and ASM for the control of *Cercospora* leaf spot on table beet[J]. Tropical Plant Pathology, 2015, 40(3): 176-183.
- [29] 王媛, 杨红玉, 程在全. SA诱导拟南芥对灰霉病的抗性与木质素含量的关系[J]. 植物保护, 2007, 4(33): 50-54.
- [30] 张帆, 王友升, 刘晓艳, 等. 采前水杨酸处理对树莓果实贮藏效果及抗氧化能力的影响[J]. 食品科学, 2010, 10(31): 308-312.
- [31] 朱璇. 壳聚糖和BTH对芒果(*Mangifera indica* L.)果实采后抗病性和品质的影响[D]. 中国农业大学, 2007.