

# 植物内生菌 011 粗提液对番茄采后保鲜效果的影响

周金伟<sup>1</sup>, 周红丽<sup>1</sup>, 易有金<sup>1</sup>, 柏连阳<sup>2</sup>, 李高阳<sup>3</sup>, 隆丽林<sup>1</sup>, 程远渡<sup>1</sup>, 夏菠<sup>1</sup>

(1. 湖南农业大学食品科技学院/食品科学与生物技术湖南省重点实验室, 湖南长沙 410128)

(2. 湖南省农业科学院, 湖南长沙 410128) (3. 湖南省农业科学院农产品加工研究所, 湖南长沙 410128)

**摘要:** 本文以湘粉 1 号番茄为试材, 研究了植物内生菌 011 粗提液对番茄保鲜效果的影响。试验结果表明, 贮藏 25 d 后, 粗提液处理显著降低了番茄采后腐烂率, 与无菌水对照组比较, 其腐烂率降低了 52.17%。在整个贮藏期间, 粗提液处理延缓了番茄果实的质量损失率, 显著减小了番茄果实的维生素 C (Vc)、还原糖、可溶性蛋白以及可滴定酸含量的降低, 较好的维持了番茄果实的风味, 显著抑制了丙二醛(MDA)的积累和超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)的上升, 保持了细胞膜的完整性; 显著提高了抗逆性酶过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性。因此, 011 粗提液能较好的保持番茄的营养价值和商业价值, 显著提高番茄的贮藏效果, 为果蔬采后生物防治和贮藏保鲜提供了理论参照。

**关键词:** 内生菌; 粗提液; 番茄; 采后; 保鲜

文章编号: 1673-9078(2015)7-223-229

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.9.037

## Effect of Crude Extract of Endophytic Strain 011 on Fresh-keeping of Tomatoes after Harvest

ZHOU Jin-wei<sup>1</sup>, ZHOU Hong-li<sup>1</sup>, YI You-jin<sup>1</sup>, BO Lian-yang<sup>2</sup>, LI Gao-yang<sup>3</sup>, LONG Li-lin<sup>1</sup>, CHENG Yuan-du<sup>1</sup>, XIA Bo<sup>1</sup>

(1.Hunan Provincial Key Laboratory of Food Science and Biotechnology/College of Food Science and Technology, Hunan

Agricultural University, Changsha 410128, China) (2.Hunan Agriculture Academy of Science, Changsha 410128, China)

(3.Institute of Agro-product Processing Science and Technology, Hunan Provincial Academy of Agricultural Science, Changsha 410128, China)

**Abstract:** The effect of post-harvest treatment of Xiangfenyihao tomatoes with endophytic strain 011 crude extract in comparison to sterile water on the fresh-keeping of tomatoes was investigated in this study. The results indicated that after 25-d storage, the decay rate of the tomatoes treated with crude extract significantly decreased by 52.17% compared to that with sterile water. The results also showed that crude extract treatment slowed the mass-loss rate, significantly delayed the decline in Vitamin c, reducing sugar, soluble protein and the titratable acid content, and satisfactorily maintained the flavor of tomato fruits during storage. The accumulation of malonic dialdehyde and increase of superoxide anion radical ( $\cdot\text{O}_2^-$ ) were significantly inhibited, integrity of the cell membrane was maintained, and activities of peroxidase (POD), catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), and phenylalanine ammonia-lyase (PAL) were significantly enhanced. Therefore, the crude extract satisfactorily maintained the nutritional and commercial value as well as significantly improved the preservation of tomatoes. These results provide a theoretical basis for biological control and fresh-keeping of fruits and vegetables after harvest.

**Key words:** endophytes; crude extracts; tomato; postharvest; fresh-keeping

收稿日期: 2014-11-25

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2015BAD16B00, 2015BAD16B01); 国家自然科学基金项目 (31071738, 31000827); 湖南省教育厅重点项目 (10A051); 湖南省自然科学基金项目 (09JJ-3032); 湖南农业大学稳定人才项目 (07WD18); 长沙市科技局项目 (K1308044-21); 湖南省研究生科研创新项目 (CX2013B310)

作者简介: 周金伟 (1986-), 男, 硕士, 研究方向为植物内生菌抗菌活性物质; 周红丽, 并列第一作者

通讯作者: 易有金 (1968-), 女, 博士, 教授, 研究方向为微生物活性物质;

柏连阳 (1967-), 男, 博士, 教授, 研究方向为农药加工与应用

番茄作为世界上最重要的果蔬作物之一, 因其营养价值高、产量高、需求量大, 近年来种植面积不断扩大。然而, 番茄在采后贮藏过程中一方面由于自身的衰老而造成损失, 另一方面也常因为病虫害的侵染而导致腐烂变质, 给番茄市场造成了严重的经济损失<sup>[1,2]</sup>。长期以来, 番茄多采用化学保鲜剂进行采后果实的保鲜, 然而, 化学保鲜剂的长期使用容易造成环境污染, 破坏生态平衡, 越来越多的植物病原菌产生了耐药性, 并且农药残留给人类健康也带来了危害<sup>[3-4]</sup>。因此, 开发出新型、安全、高效的保鲜剂成为当务之

急。而采用生物防治剂对采后果蔬进行贮藏保鲜,可大大降低化学保鲜剂带来的危害。

植物内生菌寄生在植物组织内,在长期进化过程中与寄主植物形成了互利共生关系。植物内生菌通过产生大量的生物活性物质从而保护寄主植物免受病害的侵染<sup>[10]</sup>。目前,植物内生菌用于果蔬保鲜已有相关报道。例如,百部内生菌 EJS 的发酵液对油桃采后青霉病的抑制效果显著<sup>[5]</sup>;内生菌 BS-2-gfp 和 TP2-gfp 对采后荔枝具有很好的保鲜效果<sup>[6]</sup>。然而,由于植物内生菌的种类繁多,包括了植物内生细菌、内生真菌和内生放线菌,其应用潜力巨大,当前对于植物内生菌的研究仍处于初级阶段。植物内生菌用于番茄采后保鲜的报道较少,且目前尚未见到有关内生短芽孢杆菌(*Brevibacillus brevis*)用于果蔬防腐保鲜的报道。因此,本试验旨在探讨植物内生菌 011 发酵液对番茄采后的保鲜效果,以及对番茄采后贮藏过程中其营养品质和防御酶等生理生化指标的影响,以期为新型生物防治剂的开发提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

番茄:供试番茄湘粉 1 号,2014 年 9 月 2 日采自长沙市农家菜园,选取表面光鲜、大小均匀、无机械损伤、九成熟的番茄,采用 Novuswater20 (Nw20)专用保鲜剂,将其稀释成体积分数为 10% 的药液待用。

拮抗菌:内生菌 011 分离自烟草植物组织,经鉴定为短芽孢杆菌(*Brevibacillus brevis*),GenBank 登录号为 DQ444285,由湖南农业大学食品科技学院保藏。

培养基:BPY 液体培养基。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 011 粗提液的制备

将活化后的 011 菌接入 BPY 液体培养基,28 ℃、180 r/min 培养 48 h,发酵液于 10000 r/min 离心 10 min 后去除菌体,上清液用 4 倍体积的乙腈萃取,弃去沉淀,上清液于 50 ℃ 旋转蒸发去除乙腈,得粗提液待用。

#### 1.2.2 011 粗提液对番茄采后保鲜效果的影响

实验设粗提液、保鲜液 Nw20 和无菌水 3 个处理。将采后新鲜的番茄洗净,晾干,分别在不同的处理液中浸泡 5 min,自然晾干后,装入保鲜袋内,封口,20 ℃、75% 的湿度下恒温培养,每隔 5 d 检测指标。每个处理 20 个果实,3 次重复。

#### (1) 番茄烂果率的测定

$$\text{烂果率}(\%) = \frac{\text{腐烂果实的个数}}{\text{处理的总个数}} \times 100\%$$

#### (2) 质量损失率的测定

质量损失率的测定参照靳敏等<sup>[7]</sup>的方法,

$$W(\%) = \frac{m_0 - m_n}{m_0} \times 100\%$$

其中 W 为处理 n 天后的质量损失率,  $m_0$  为原质量,  $m_n$  为处理 n 天后的质量。

#### (3) 营养品质的测定

Vc 含量的测定采用 2,6-二氯酚法<sup>[8]</sup>; 蛋白含量的测定参照 GB/T5009.5-2003<sup>[8]</sup>; 还原糖参照 GB/T5009.7-2003<sup>[8]</sup>; 可滴定酸参照李合生的酸碱滴定法<sup>[8]</sup>。

#### (4) 丙二醛(MDA)的测定

MDA 含量的测定采用硫代巴比妥酸法(TBA)比色法<sup>[8]</sup>。

#### (5) 防御性酶活性及超氧阴离子自由基( $O_2^-$ )的测定

过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性参照 De Rodriguez<sup>[9]</sup>的方法; 过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性和  $O_2^-$  参照李合生<sup>[8]</sup>的方法; 苯丙氨酸解氨酶(PAL)参考 Assis 等<sup>[10]</sup>的方法;

### 1.3 数据处理

实验数据以  $\bar{x} \pm SD$  表示,采用 Excel 和 SPSS 软件进行数据处理和差异显著性分析,  $P < 0.05$  表示具有统计学意义。

## 2 结果与讨论

### 2.1 粗提液对番茄采后保鲜效果的影响

由表 1 可知,随着贮藏时间的延长,番茄腐烂率不断上升。在整个贮藏期间,无菌水对照组其腐烂率上升显著( $P < 0.05$ ),贮藏 25 d 与 5 d 相比,无菌水组升高了 5.57 倍。而保鲜液组和粗提液组上升幅度较缓,粗提液的保鲜效果略低于保鲜液,二者差异不显著( $P > 0.05$ )。贮藏 25 d 后,保鲜液组和粗提液组的腐烂率均为 36.67%,与对照组相比降低了 52.17%,呈显著性差异( $P < 0.05$ )。表明粗提液的保鲜效果良好。

### 2.2 粗提液对番茄质量损失率的影响

水果在贮藏过程中由于呼吸作用,导致水分散失,引起重量减少,果皮皱缩,因此失重率的变化是果蔬保鲜的重要指标。由图 1 可知,贮藏 5~10 d,三

个处理组的失重率均上升缓慢, 10 d 后, 失重率上升, 且无菌水对照组失重率的上升速率显著高于保鲜液和粗提液组( $P<0.05$ )。贮藏 25 d, 保鲜液组的失重率为 4.29%, 略高于粗提液组的 4.00%, 与无菌水对照组

(6.75%)相比分别降低了 36.44%和 40.74%, 呈显著性差异( $P<0.05$ )。粗提液为棕黄色油状液体, 果实浸泡后能在其表层形成保护层, 有效抑制果实的呼吸作用, 从而降低了水分的蒸发, 较好的保持了果实的重量。

表 1 粗提液对番茄保鲜效果的影响 ( $\bar{x}\pm SD$ )

**Table 1 Influence of crude extract on the fresh-keeping of tomato**

处理	腐烂率/%				
	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d
无菌水	11.67±2.89 <sup>b</sup>	25.00±5.00 <sup>b</sup>	40.00±5.00 <sup>b</sup>	63.33±2.89 <sup>b</sup>	76.67±2.89 <sup>b</sup>
保鲜液	0 <sup>a</sup>	11.67±2.89 <sup>a</sup>	21.67±2.89 <sup>a</sup>	31.67±2.89 <sup>a</sup>	36.67±2.89 <sup>a</sup>
粗提液	0 <sup>a</sup>	13.33±2.89 <sup>a</sup>	23.33±2.89 <sup>a</sup>	30.67±2.89 <sup>a</sup>	36.67±2.89 <sup>a</sup>

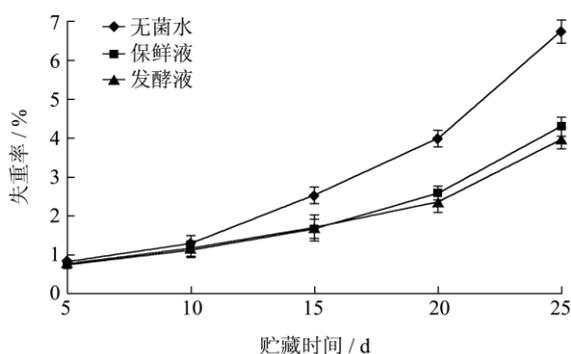


图 1 粗提液对番茄质量损失率的影响

Fig.1 Effect of crude extract on the mass-loss rate of tomato

### 2.3 粗提液对贮藏期间番茄营养价值的影响

#### 2.3.1 粗提液对贮藏期间番茄 Vc 含量的影响

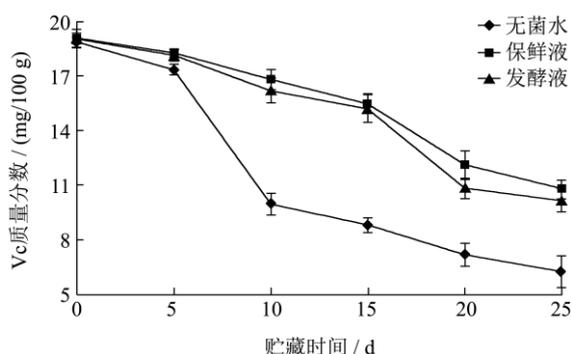


图 2 粗提液对贮藏期间番茄 Vc 含量的影响

Fig.2 Influence of crude extract on Vc value of tomato during storage

由图 2 可知, 贮藏 5 d, 不同处理组的 Vc 含量有所下降, 但下降速度较缓。5 d 后, 无菌水对照组的 Vc 含量迅速下降, 而保鲜液和粗提液组 Vc 含量的迅速下降时间延迟至 15 d 之后。贮藏 25 d, 无菌水组的 Vc 含量为 6.26%, 比 0 d 时降低了 66.70%; 粗提液组和保鲜液组的 Vc 含量分别比 0 d 时降低了 46.67%和 43.38%, 二者 Vc 含量分别高于无菌水组 62.30%和 72.04, 差异极显著( $P<0.01$ )。贮藏 25 d, 粗提液组的

Vc 含量略低于保鲜液组, 二者差异不显著( $P>0.05$ )。Vc 含量是果蔬新鲜程度的一个重要指标, 该结果表明, 在贮藏过程中, 粗提液具有很强的抗氧化效果, 能显著降低果实中 Vc 的氧化, 减缓 Vc 质量分数的下降, 较好的保持了果实的营养品质。

#### 2.3.2 粗提液对贮藏期间番茄还原糖含量的影响

还原糖含量是鉴别果实品质的重要指标, 其含量高影响果实的风味。由图 3 可知, 贮藏 5 d, 保鲜液组合粗提液组的还原糖含量略有上升, 5 d 后其含量缓慢下降。无菌水组在 0~10 d 内, 其还原糖含量下降显著, 10 d 后下降速度减缓。贮藏 25d, 保鲜液组还原糖含量为 1.66%, 降低了 36.52%; 粗提液组还原糖含量为 1.83%, 降低了 31.65%; 无菌水组还原糖含量为 1.19%, 降低了 55.92%。粗提液组的还原糖含量显著高于保鲜液组和无菌水组( $P<0.01$ )。贮藏过程中, 呼吸作用引起果实还原糖含量不断消耗, 因此, 整个贮藏期间, 番茄的还原糖含量整体呈下降趋势。粗提液通过有效抑制果实的呼吸强度, 减缓了还原糖的降解, 从而较好的保持了番茄的品质。

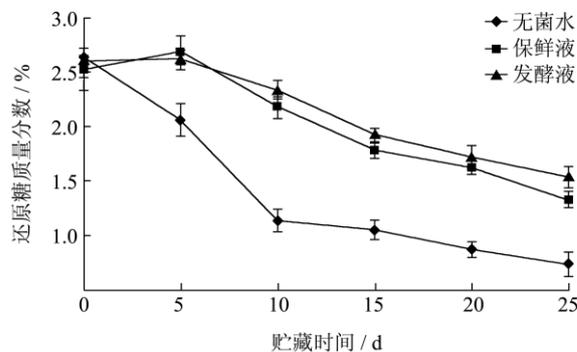


图 3 粗提液对贮藏期间番茄还原糖含量的影响

Fig.3 Influence of crude extract on reducing sugar content of tomato during storage

#### 2.3.3 粗提液对贮藏期间番茄可溶性蛋白质含量的影响

细胞质可溶性蛋白含量的降低是细胞衰老的一个重要标志。由图 4 可知,随着贮藏时间的延长,各处理组的可溶性蛋白含量均呈下降趋势,无菌水对照组的下降幅度最大。贮藏 10 d 后,无菌水对照组的蛋白含量比 5 d 时降低了 31.14%。至 25 d,粗提液组的蛋白含量比初始时降低了 49.37%,保鲜液和粗提液组则分别降低了 27.56%和 31.88%,此时,保鲜液和粗提液组的蛋白含量分别比无菌水对照组高 41.54%和 33.40%,差异极显著( $P<0.01$ )。细胞可溶性蛋白含量是细胞抵御胁迫的重要生理指标,随着贮藏期间的延长,番茄细胞内有害物质累积,对细胞产生毒害作用。细胞通过分泌可溶性蛋白,调节特异性的相关代谢酶的活性,从而降低细胞的毒害。粗提液组处理能显著提高可溶性蛋白含量,增强细胞的抗性,延长了番茄保鲜期。

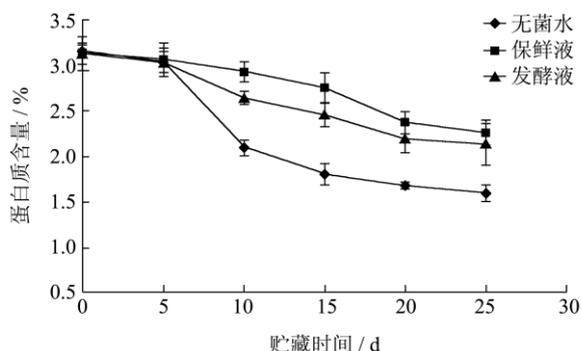


图 4 粗提液对贮藏期间番茄蛋白质含量的影响

Fig.4 Influence of crude extract on protein content of tomato during storage

### 2.3.4 粗提液对贮藏期间番茄可滴定酸含量的影响

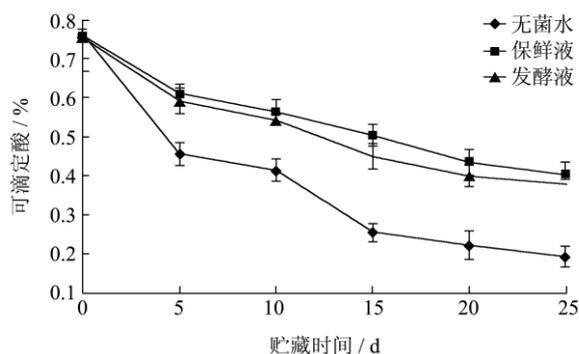


图 5 粗提液对贮藏期间番茄可滴定酸含量的影响

Fig.5 Influence of crude extract on titratable acid content of tomato during storage

番茄果实中的有机酸可作为呼吸作用的底物,在成熟过程中逐渐转化成可溶性糖,因此在贮藏过程中,有机酸含量的变化在一定程度上反映了细胞代谢的强度。由图 5 可知,无菌水对照组可定丁酸含量下降最

快,贮藏 5 d,其可滴定酸含量下降了 39.91%,保鲜液和粗提液组分别下降了 19.65%和 21.46%,保鲜液和粗提液组的可滴定酸含量显著高于无菌水组( $P<0.05$ )。贮藏 25 d 时,其含量比初始时下降了 74.56%。保鲜液和粗提液组其可滴定酸含量均有下降,但其下降幅度均小于无菌水对照组。贮藏 25 d,粗提液组的可滴定酸含量比初始时降低了 49.78%,保鲜液组降低了 47.02%,粗提液组的可滴定酸含量略低于保鲜液组,但二者差异不显著( $P>0.05$ )。因此,粗提液处理通过抑制果实的呼吸作用,减少了有机酸向可溶性糖的转化,较好的保持了果实的风味。

### 2.4 粗提液对贮藏期间番茄 MDA 含量的影响

丙二醛(MDA)是细胞膜脂质过氧化的产物,其含量的高低反映了细胞膜受损害的程度。由图 6 可知,随着贮藏时间的延长,各处理组的 MDA 含量均呈上升趋势,无菌水对照组的上升幅度显著高于保鲜液和粗提液组( $P<0.01$ )。贮藏 25 d,无菌水对照组的 MDA 含量为 3.07  $\mu\text{mol/g}$ ,与初始时相比升高了 1.46 倍,保鲜液组和粗提液组则分别比初始时升高 0.67 倍和 0.52 倍,粗提液组的 MDA 含量分别比保鲜液组和无菌水组低 9.00%和 64.34%,存在差异显著性( $P<0.05$ )。粗提液处理可能通过降低果实的呼吸强度,减少水分蒸发,降低了水分胁迫,在一定程度上延缓了 MDA 的上升,从而减轻了膜损伤。

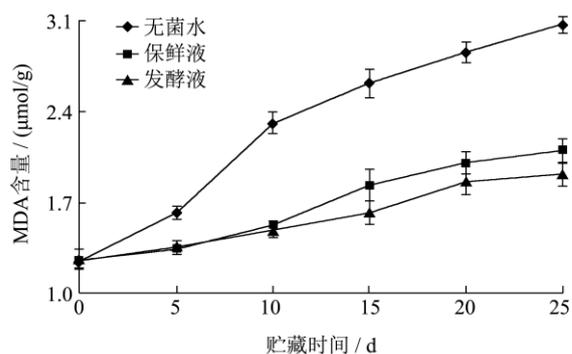


图 6 粗提液对贮藏期间番茄 MDA 含量的影响

Fig.6 Influence of crude extract on MDA content of tomato during storage

### 2.5 粗提液对贮藏期间番茄防御酶活性的影响

#### 2.5.1 粗提液对贮藏期间番茄 POD 活性的影响

POD 是普遍存在于果蔬体内的一种重要的氧化还原酶,该酶能清除细胞内的  $\text{H}_2\text{O}_2$ ,从而对植物组织

起到保护作用。不同处理对番茄 POD 活性变化的测定结果显示(图 7),在整个贮藏期间,各处理组均呈现先上升后下降趋势。从 0~5 d,各组 POD 均上升,贮藏 5 d,无菌水对照组升高了 25.64%,保鲜液组升高了 88.89%,粗提液组升高了 64.29%,保鲜液和粗提液组 POD 活性显著高于无菌水对照组( $P<0.01$ )。5~10 d 后,各组 POD 活性均下降,10 d 后,各处理组均呈上升趋势。其中无菌水对照组的第二个高峰出现在 15d,而保鲜液组和粗提液组的活性高峰延长至 20 d,之后缓慢下降。至 25 d,无菌水对照组的 POD 活性值为 0.14 U/(g min),保鲜液组和粗提液组分别为 0.20 和 0.19 U/(g min),高于无菌水组 40.94%和 33.87%,差异极显著( $P<0.01$ )。因此,随着贮藏期的延长,细胞内  $H_2O_2$  累积,粗提液中可能含有能激活细胞 POD 活性的物质,在果实贮藏期间,通过激活 POD 酶的活性,及时清除  $H_2O_2$ ,降低细胞的毒害。

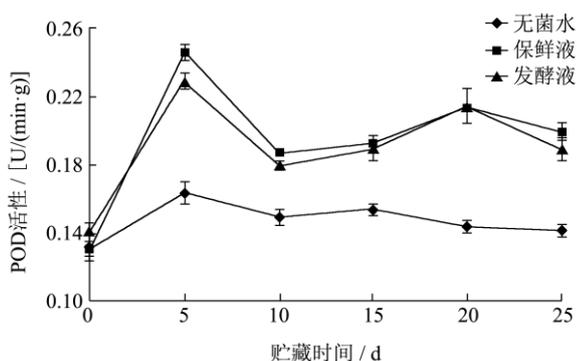


图 7 粗提液对贮藏期间番茄 POD 活性的影响

Fig.7 Influence of crude extract on POD activity of tomato during storage

### 2.5.2 粗提液对贮藏期间番茄 CAT 活性的影响

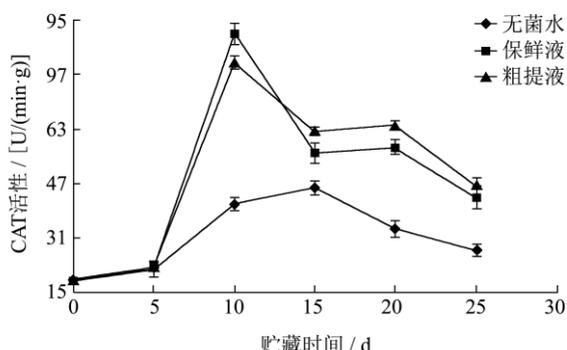


图 8 粗提液对贮藏期间番茄 CAT 活性的影响

Fig.8 Influence of crude extract on CAT activity of tomato during storage

由图 8 可知,无菌水对照组 CAT 活性变化平缓,先上升后下降,至 15 d 出现高峰。保鲜液和粗提液组在贮藏 5 d 后 CAT 活性急剧上升,至 10 d 达到峰值,

其活性分别比初始时高 3.96 倍和 3.37 倍,之后迅速下降。贮藏 25 d,粗提液组的 CAT 活性为 46.33 U/(g min),比保鲜液组高 7.75%,存在显著性差异( $P<0.05$ )。在整个贮藏期间,保鲜液和粗提液组的 CAT 活性均高于无菌水组,因此,粗提液通过提高 CAT 的活性,分解  $H_2O_2$ ,较少细胞损伤,较好的维持果实正常的生理状态,预防病害的发生。

### 2.5.3 粗提液对贮藏期间番茄 SOD 活性的影响

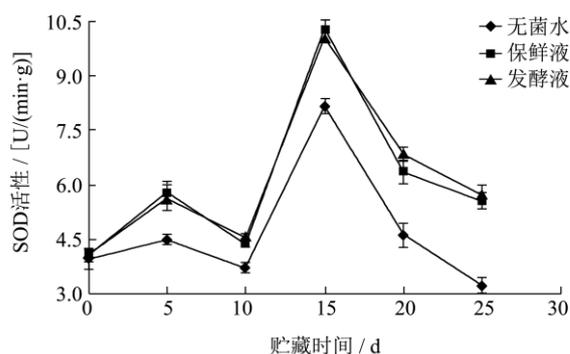


图 9 粗提液对贮藏期间番茄 SOD 活性的影响

Fig.9 Influence of crude extract on SOD activity of tomato during storage

SOD 能清除细胞内的活性氧,对于维持氧代谢平衡起到关键作用。该酶的活性变化与细胞受到的胁迫、损伤和衰老有关。本研究表明,随着贮藏时间的延长,各处理组均呈先上升后下降趋势。至 15 d,各组 SOD 活性均达到最大值,表明,贮藏 15 d,细胞受到的胁迫最大,保鲜液组 SOD 活性最高,达 10.25 U/(g min),其次为粗提液组,为 10.10 U/(g min),这两组分别比无菌水对照组高 25.76%和 23.88%,差异极显著( $P<0.01$ )。15 d 后 3 个处理组的 SOD 活性均显著降低,贮藏 25 d,粗提液组的 SOD 活性为 5.71 U/(g min),高于保鲜液组[5.55 U/(g min)],粗提液组比无菌水对照组高 75.41%,差异极显著( $P<0.01$ )。可见,贮藏后期,细胞内活性氧含量激增,粗提液中含有的活性化合物(主要为多肽类化合物)能有效激活 SOD 活性,及时清除细胞内的活性氧,减少外界胁迫对果实细胞的损伤。

### 2.5.4 粗提液对贮藏期间番茄 PAL 活性的影响

PAL 是植物次生物质苯丙烷代谢的关键酶,该酶与植物正常生长发育、抵御胁迫和抗病性密切相关。由图 10 可知,在整个贮藏期间,无菌水对照组的 PAL 活性呈下降趋势。保鲜液和粗提液组在贮藏 5 d 时达到活性高峰,其 PAL 活性分别为 1.85 和 1.78 U/(g h),高于无菌水对照组 126.26%和 151.89%,差异极显著

( $P < 0.01$ )。随着贮藏时间的延长, 保鲜液和粗提液组的 PAL 活性下降, 但均显著高于无菌水对照组 ( $P < 0.01$ )。贮藏 25 d, 保鲜液组的 PAL 活性低于粗提液组, 但二者差异不显著 ( $P > 0.05$ )。这两个处理组分别比无菌水对照组高 69.40% 和 82.09%, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。PAL 能调控植物体内次生酚类物质、类黄酮植保素和木质素等抗菌物质的合成, 其含量高低是衡量植物抗病性的重要指标。在贮藏初期, 粗提液能显著提高 PAL 活性, 增强细胞内抗病化合物的合成, 增强细胞的抗逆性, 降低细胞的损伤。

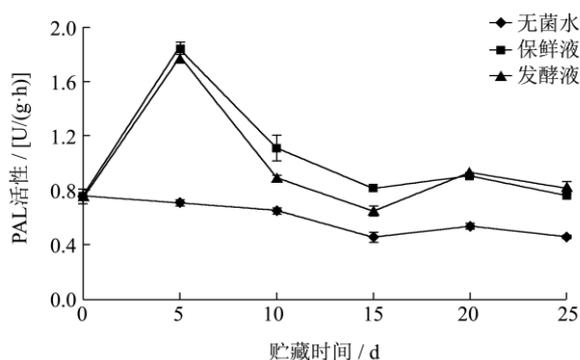


图 10 粗提液对贮藏期间番茄 PAL 活性的影响

Fig.10 Influence of crude extract on PAL activity of tomato during storage

## 2.6 粗提液对贮藏期间番茄 $O_2^-$ 的影响

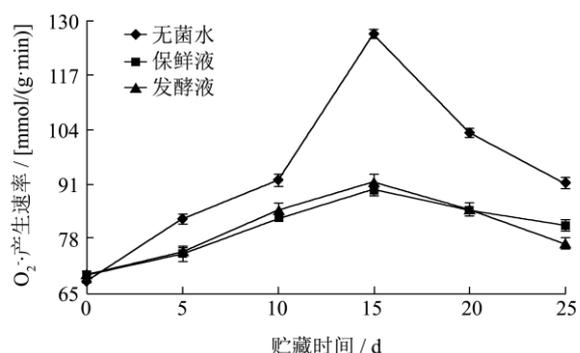


图 11 粗提液对贮藏期间番茄  $O_2^-$  含量的影响

Fig.11 Influence of crude extracts on  $O_2^-$  content of tomato during the storage period

图 11 表明, 三个处理组果实体内的  $O_2^-$  产生速率呈逐渐上升趋势, 无菌水对照组的上升速率显著高于保鲜液组和粗提液组 ( $P < 0.05$ ), 至 15 d 达到峰值。此时, 无菌水组的速率值为 127.00 nmol/(g min), 比起始时升高了 86.49%。粗提液组的速率值为 91.83 nmol/(g min), 略高于保鲜液组 [89.80 nmol/(g min)], 二者差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 粗提液和保鲜液组的速率值分别比无菌水组低 29.29% 和 27.69%, 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。贮藏 25 d, 三组的  $O_2^-$  产生速率值与 15 d

相比均明显下降, 无菌水组的速率值仍显著高于粗提液和保鲜液组 ( $P < 0.01$ )。从  $O_2^-$  产生速率的整体变化趋势来看, 粗提液能使  $O_2^-$  处于相对稳定, 显著提高果实对外界胁迫的抗性, 从而降低组织细胞的损害程度。粗提液发挥这种活性的机制可能与提高防御性酶的生理活性, 抑制呼吸强度有关。此外, 粗提液中含有的活性化合物可能具有抗氧化功能, 能有效清除细胞体内的自由基, 延缓了细胞衰老。其保鲜机理尚不明确, 有待于进一步深入研究。

## 3 结论

3.1 番茄果实经 011 粗提液处理贮藏 25d 后, 能够显著降低番茄的腐烂率, 有效抑制了采后病害的发生, 控制了果实的失重率, 其防腐保鲜效果与保鲜液接近。植物内生菌 011 是从烟草组织中分离到的一株短芽孢杆菌, 芽孢杆菌能产生多种脂肽类抗生素, 如伊枯草菌素、表面活性素、fenmgycin 等<sup>[11,12]</sup>。这些化合物具有很强的抗菌活性, 能有效控制果蔬采后病害的发生。此外, 粗提液为棕黄色油状液体, 番茄浸泡后能在其果实表面形成一层厚度适宜、具有适当透气性的保护膜, 控制  $O_2$  进入水果内部的速率, 能有效调控果实的呼吸强度, 降低水分的蒸发, 较好的保持了番茄的品质。

3.2 番茄采后仍然进行一系列的生理生化活动, 果实内的营养物质如 Vc、蛋白、还原糖和可滴定酸都在进行着生成、降解、消耗和转化等过程。粗提液处理后, 与对照组比较明显提高了果实 Vc、可溶性蛋白、还原糖和可滴定酸的含量, 降低了营养物质的消耗和降解, 较好的保持了果实的营养品质。粗提液的保鲜机理主要在于对呼吸强度的有效控制, 防止了营养物质的过快消耗, 从而有效延长了贮藏时间。

3.3 防御酶活性的高低反映了细胞对外界胁迫的抗性强弱, 直接影响果实的贮藏寿命和品质。本研究结果表明, 粗提液处理使果实保持了较高的 SOD 活性, 提高了 POD 和 CAT 的峰值, 显著增强了果实 PAL 酶的活性, 其效果与保鲜液接近, 能有效清除贮藏过程中细胞内产生的自由基和  $H_2O_2$ , 降低了自由基和  $H_2O_2$  对细胞的毒害作用。此外, MDA 和  $O_2^-$  是细胞氧化的产物, 其含量直接反映了细胞的衰老程度。粗提液处理后, 果实细胞内 MDA 和  $O_2^-$  的含量与无菌水对照组比较显著降低, 这表明, 粗提液处理能有效抑制细胞膜脂质过氧化, 清除自由基, 延缓了果实的衰老。

3.4 通过本次试验, 表明植物内生菌 011 粗提液对番茄具有良好的防腐保鲜效果, 其保鲜作用可能与控制果实的呼吸强度, 增强相关防御酶的活性有关。此外,

粗提液为多种生物活性物质的混合物, 活性物质之间可能具有协同效应, 因此增强了粗提液的抗菌活性, 其防腐保鲜效果与保鲜剂接近, 能有效抑制采后果实病害的发生, 从而延长了果实的贮藏时间。然而, 由于其活性成分复杂, 抑菌机理尚不明确, 有待于进一步深入研究。作为芽孢杆菌的一种, 内生菌 011 产生的活性物质多为抗菌肽, 抗菌肽活性稳定, 对人体无毒害作用<sup>[13-15]</sup>。因此, 植物内生菌 011 发酵液的应用前景广阔, 有望开发成一种新型、安全、环保的生物保鲜剂。

### 参考文献

- [1] 黄应维,徐匆,马镭,等.果蔬微生物保鲜技术的研究进展[J].现代食品科技,2013,29(6):1455-1458  
HUANG YING-wei, XU Cong, MA Ke, et al. Application of microbial preservation technology in fruit and vegetable preservation [J]. Modern Food Science and Technology, 2013, 29(6): 1455-1458
- [2] Prabhukarthikeyan R, Saravanakumar D, Raguchander T. Combination of endophytic *Bacillus* and *Beauveria* for the management of *Fusarium* wilt and fruit borer in tomato [J]. Pest Management Science, 2014. Doi: 10.1002/ps.3719
- [3] Dry I B, Yuan K H, Hutton D G. Dicarboximide resistance in field isolates of *Alternaria alternata* is mediated by a mutation in a two-component histidine kinase gene [J]. Fungal Genetics and Biology, 2004, 41(1): 102-108
- [4] 郭娟华,陈明,陈楚英,等.类芽孢杆菌 YS-1 粗提液对南丰蜜橘贮藏效果的影响[J]. 现代食品科技,2014,30(1): 63-68  
GUO Juan-hua, CHEN Ming, CHEN Chu-ying, et al. Effect of *Paenibacillus brasilensis* YS-1 crude extracts on storage of Nanfeng Mandarin [J]. Modern Food Science and Technology, 2014, 30(1): 63-68
- [5] 吴士云,孙力军,周声,等.内生菌 EJS 防治油桃采后病害的研究[J].食品科技,2007,32(6):239-242  
WU Shi-yun, SUN Li-jun, ZHOU Sheng, et al. Study on the inhibition of endophytic strain EJS on penicilliosis of nectarine after harvest [J]. Food Science and Technology, 2007, 32(6): 239-242
- [6] 孙力军,陆兆新,刘俊,等.一株产胞外多糖植物内生菌 EJS-3 菌株的分离和鉴定[J].食品科学,2006,27(7): 65-68  
SUN Li-jun, LU Zhao-xin, LIU Jun, et al. Isolation and identification of an endophytic strain EJS-3 producing exopolysaccharide [J]. Food Science, 2006, 27(7): 65-68
- [7] 靳敏,夏玉宇.食品技术检验[M].北京:化学工业出版社, 2003
- [8] 李合生.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社, 2000
- [9] De Rodriguez D J. *In vitro* antifungal activity of extracts of Mexican Chihuahua Desert plants against postharvest fruit fungi [J]. Industrial Crops and Products, 2011, 34(1): 960-966
- [10] Assis J S. Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening cherimoya fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2001, 23(1): 33-39
- [11] Gond S K, Bergen M, Torres M, et al. Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize [J]. Microbiological Research, 2014
- [12] P érez-Garc á A, Romero D, De Vicente A. Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of Bacilli in agriculture [J]. Current opinion in biotechnology, 2011, 22(2): 187-193
- [13] harma R R, Singh D, Singh R. Biological control of postharvest diseases of fruits and vegetables by microbial antagonists: A review [J]. Biological Control, 2009, 50(3): 205-221
- [14] Ryan R P, Germaine K, Franks A, et al. Bacterial endophytes: recent developments and applications [J]. FEMS Microbiology Letters, 2008, 278(1): 1-9
- [15] Christina A, Christopher V, Bhore S J. Endophytic bacteria as a source of novel antibiotics: An overview [J]. Pharmacognosy Reviews, 2013, 7(13): 11