

曹森, 王瑞, 赵成飞, 等. 采前喷施哈茨木霉菌对采后蓝莓贮藏品质及生物活性的影响[J]. 江苏农业学报, 2017, 33(2): 424-431.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2017.02.029

采前喷施哈茨木霉菌对采后蓝莓贮藏品质及生物活性的影响

曹森^{1,2}, 王瑞^{1,2}, 赵成飞^{3,4}, 龙晓波⁵, 吉宁^{1,2}, 谢国芳^{1,2}, 马立志^{1,2}, 赵明芝^{1,2}

(1. 贵阳学院食品与制药工程学院, 贵州 贵阳 550003; 2. 贵州省果品加工工程技术研究中心, 贵州 贵阳 550003; 3. 江西德宇集团, 江西 景德镇 333000; 4. 景德镇市农牧渔业科学研究所, 江西 景德镇 333000; 5. 贵州省麻江县果品办公室, 贵州 麻江 557600)

摘要: 为探讨哈茨木霉菌对采后蓝莓的保鲜作用, 寻找安全、有效的有机蓝莓采后保鲜方法, 通过采前对蓝莓喷施不同浓度 (5.0×10^6 CFU/ml, 3.0×10^6 CFU/ml, 2.1×10^6 CFU/ml) 的哈茨木霉菌, 采后在 $(0 \pm 0.3)^\circ\text{C}$ 冷藏条件下研究其对果实的贮藏品质、生理生化和生物活性的影响。结果表明: 哈茨木霉菌能够明显抑制果实腐烂率的上升, 更好地保持果实的硬度、可溶固形物、可滴定酸、花色苷、总酚和黄酮, 降低果实的呼吸强度、乙烯释放速率、多酚氧化酶 (PPO) 活性和果胶酶 (PG) 活性, 延缓过氧化物酶 (POD) 活性、抗坏血酸 (ASA) 含量、谷胱甘肽 (GSH) 含量、总抗氧化能力和 α -葡萄糖苷酶活性抑制率的下降。其中, 3.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理蓝莓效果最好。说明, 哈茨木霉菌能够有效地保持蓝莓贮藏期的贮藏品质和生物活性, 并且采前喷施浓度为 3.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌效果最好。

关键词: 蓝莓; 哈茨木霉菌; 贮藏品质; 生物活性

中图分类号: S663.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2017)02-0424-08

Effects of *Trichoderma harzianum* preharvest application on postharvest storage quality and biological activity of blueberry

CAO Sen^{1,2}, WANG Rui^{1,2}, ZHAO Cheng-fei^{3,4}, LONG Xiao-bo⁵, JI Ning^{1,2}, XIE Guo-fang^{1,2}, MA Li-zhi^{1,2}, ZHAO Ming-zhi^{1,2}

(1. School of Food and Pharmaceutical Engineering, Guiyang College, Guiyang 550003, China; 2. Guizhou Engineering Research Center for Fruit Processing, Guiyang 550003, China; 3. Jiangxi Deyu Group, Jingdezhen 333000, China; 4. Jingdezhen Research Center of Agriculture, Livestock and Fishery Science, Jingdezhen 333000, China; 5. Guizhou Majiang Fruit Office, Majiang 557600, China)

Abstract: The quality of blueberry stored at $(0 \pm 0.3)^\circ\text{C}$ after different concentrations (5.0×10^6 CFU/ml, 3.0×10^6 CFU/ml, 2.1×10^6 CFU/ml) of *Trichoderma harzianum* spraying was studied by detecting the physiological and chemical indices and biological activities. All three *T. harzianum* treatments could inhibit the fruit decay, maintaining high levels of firmness, soluble solids content, titratable acid content, anthocyanin content, total phenolic content and flavonoid con-

tent. The applications of *T. harzianum* not only reduced respiration rate, ethylene production rate, polyphenol oxidase activity, and pectinase activity, but decreased the drop of peroxidase activity, ascorbic acid content, glutathione content, total antioxidant capacity and α -glucosidase activity. Among three concentrations, *T. harzianum* at 3.0×10^6 CFU/ml showed the best effect.

Key words: blueberry; *Trichoderma harzianum*; storage quality; biological activity

收稿日期: 2016-11-08

基金项目: 贵州省黔东南州蓝莓产业科技合作计划项目[黔东南科合字(2015)04号]; 黔东南州蓝莓产业科技合作专项[(2014)02号]; 2015年度贵州省“千”层次创新型人才培养对象项目; 贵州省教育厅2011协同创新中心建设项目[黔教合协同中心(201306)]

作者简介: 曹森(1988-), 男, 辽宁营口, 硕士, 讲师, 主要从事农产品贮藏与保鲜研究。(E-mail) cs5638myself@126.com

通讯作者: 王瑞, (E-mail) wangrui060729@126.com

蓝莓(Blueberry)又称越橘、蓝浆果,属于杜鹃花科(Ericaceae)越橘属(Vaccinium)植物,果实酸甜可口,香气清爽宜人,含有丰富的花色苷、黄酮类化合物等多种活性成分,具有抗衰老和提高免疫力等保健功能,有“世界水果之王”的美誉,深受消费者的欢迎^[1-2]。但由于采后蓝莓果实耐贮性差^[3],这极大地限制了果实的鲜销期,随着贵州省黔东南州蓝莓栽培面积逐年扩大和产量迅速增加,生产上需要适宜的蓝莓保鲜理论和技术。许多研究结果表明,灰霉病菌是导致蓝莓采后病害的主要原因^[4],而目前关于灰霉病菌引起的病害主要以化学防治为主^[5-6],但黔东南州蓝莓属于有机种植,生产过程中不得使用化学杀菌剂,并且化学防治会造成农药残留、环境污染以及影响人们的健康等一系列问题。因此,寻找有效的生物防治是有机蓝莓产业发展的重要问题。

木霉菌(*Trichoderma harzianum*)是一种对多种植物病原菌都有很强拮抗作用的生防菌,由于木霉菌具有广谱性、多机制性和无毒等多种特点,并且占领营养空间快,迅速生长繁殖,所以木霉菌作为生防菌的应用潜力巨大^[7]。目前,关于木霉菌研究主要集中在栽培病害的防治^[8-10],而木霉菌在果实贮藏保鲜应用中鲜有报道。因此,本研究选取纯微生物杀菌剂的哈茨木霉菌作为蓝莓的保鲜剂,研究采前喷施对果实贮藏品质的影响,旨在为延长有机蓝莓的贮藏期以及可工程化的有机蓝莓保鲜提供更为有效、安全、快捷的保鲜方法。

1 材料和方法

1.1 材料与试剂

哈茨木霉菌(由美国拜沃股份有限公司生产,叶部型, 3×10^8 CFU/g),带孔PE蓝莓保鲜盒(0.11 m×0.11 m×0.04 m,由山东潍坊百乐源保鲜包装有限公司生产),PE保鲜膜(20 μ m,购自山东潍坊百乐源保鲜包装有限公司),所使用化学试剂均为分析纯,水为二次蒸馏水。

1.2 仪器与设备

精准控温保鲜库[温度(0 ± 0.3)℃、湿度(90 ± 5)%],UV-2550紫外分光光度计(日本Shimadzu公司生产),AUW120D电子分析天平(日本Shimadzu公司生产),TGL-16A台式高速冷冻离心机(长沙平凡仪器仪表有限公司生产),

JJ-2型组织捣碎机(金坛市易晨仪器制造有限公司生产),PAL-1型迷你数显折射计(日本ATA-GO公司生产),pHS-25型数显酸度计(上海虹益仪器仪表有限公司生产),6600 O₂/CO₂顶空分析仪(美国ILLINOIS公司生产),TA.XT.Plus质构仪(英国SMS公司生产)。

1.3 试验方法

1.3.1 果实采收与处理 2015年7月21日10:00–11:00在贵州省麻江县宣威镇陡坡坪蓝莓果园,选择八到九成熟,萼片未倒伏的健康蓝莓(粉蓝)做好标记,用蒸馏水配置不同稀释倍数的哈茨木霉菌处理(Y1为 5.0×10^6 CFU/ml的哈茨木霉菌处理,Y2为 3.0×10^6 CFU/ml的哈茨木霉菌处理,Y3为 2.1×10^6 CFU/ml的哈茨木霉菌处理)通过手持喷雾器均匀喷布在果实表面,以蓝莓表面均着药液、开始滴液即可,对照处理(CK)喷洒相同量的蒸馏水,自然晒干,3 d后对处理的果实进行采摘,并立刻运回贵州省果品加工工程技术研究中心果蔬贮藏与保鲜研究室,挑选大小、成熟度相对一致,无机械伤、无病虫害果实分装于带孔聚乙烯塑料盒内[每盒(120 ± 3)g],用大功率风扇吹去田间热,然后用20 μ m的PE保鲜膜分装(每袋10盒),每组设3个重复,分装后的蓝莓放置在(0 ± 0.3)℃的环境中预冷24 h后扎袋贮藏,每隔20 d随机取样测定各项指标,结果取平均值,测定周期为80 d。

1.3.2 测定指标及方法 腐烂率:采用称质量法测定蓝莓的腐烂率,针对所有果实以果皮凹陷、流水、长霉和破裂为标准判定腐烂,从而计算腐烂率,计算公式如下:

$$\text{腐烂率} = \frac{\text{腐烂果质量}}{\text{总质量}} \times 100\%$$

硬度采用英国TA.XT.Plus物性仪测定,将果实横向放置在质构仪上,有萼片的一头朝向质构仪左边,采用P/2N探头对其进行穿刺测试,测试参数如下:穿刺深度为6 mm,测前速度2 mm/s,测中速度1 mm/s,测后速度2 mm/s,触发力5.0 g,各处理重复测定15次,取其平均值,单位为g。可溶性固形物含量:每处理随机取50个蓝莓完好果实,高速捣碎后10 000 r/min离心10 min取上清液使用PAL-1迷你数显折射仪测定。可滴定酸含量参照GB/T12456-2008测定。花色苷含量采用pH示差法^[11]测定。总酚含量采用福林-酚比色法^[11]测定。黄酮含量参照Ramful等^[12]的比色法测定。呼吸强度采用静置法^[13]经顶空分析仪测定。乙烯

生成速率采用气相色谱仪程序升温法^[14]测定。果实中多酚氧化酶(PPO)、过氧化物酶(POD)和多聚半乳糖醛酸酶(PG)均按曹建康^[15]的方法测定(规定 0.01 A/min = 1U)。抗坏血酸(ASA)含量采用高效液相色谱法^[16]测定。谷胱甘肽(GSH)参照 Coban 等^[17]的方法测定。总抗氧化能力采用 ABTS 方法^[18]测定。

α -葡萄糖苷酶抑制活性测定参考 Huang 等^[19]的方法略加修改。试验分为空白组、样品组和背景组,各反应物在 96 孔板中进行加样,每组 3 个平行。依次加入 pH = 7 的磷酸缓冲液、抑制剂溶液和底物,混合均匀,于 37 °C 水浴保温 10 min,结束后取出,加入 37 °C 水浴的酶溶液,充分混匀,于 37 °C 水浴反应 20 min,结束后加入 150 μ l 0.2 mol/L 的 Na₂CO₃ 溶液中止反应。由于 PNP 在 α -葡萄糖苷酶的作用下能水解产生葡萄糖和 PNP,PNP 在 405 nm 处有最大吸收,测定其吸光度,根据下列公式可计算出各样品 α -葡萄糖苷酶的抑制率: α -葡萄糖苷酶的抑制率 = $[A_{\text{空白}} - (A_{\text{样品}} - A_{\text{背景}})] / A_{\text{空白}} \times 100\%$

1.4 数据处理与分析

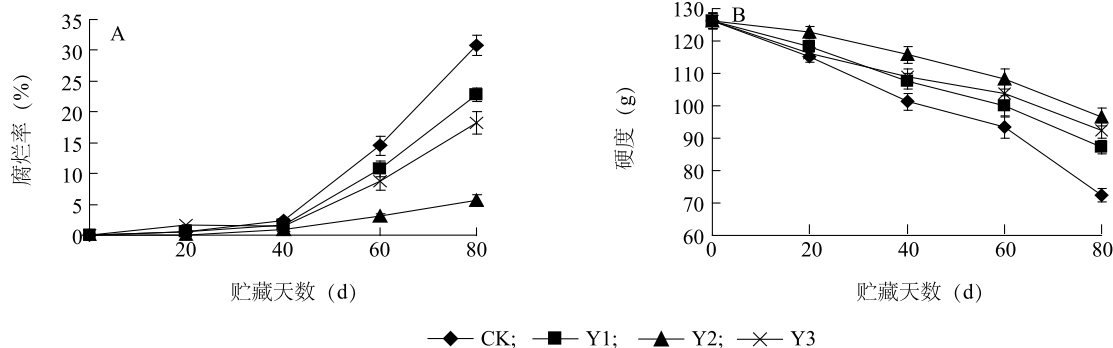
采用 OriginPro 8.0 软件对数据进行统计处理,采用 SPSS19.0 软件的 Duncan's 新复极差法进行数据差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 哈茨木霉菌对蓝莓品质的影响

2.1.1 哈茨木霉菌对蓝莓腐烂率和硬度的影响

腐烂率能够直接反映蓝莓贮藏期间的外观品质,硬度是蓝莓软果率的体现,二者可以直接反映蓝莓的商品价值。由图 1 可知,在贮藏 20 d 时不同处理的腐烂率和硬度没有显著差异($P > 0.05$),而在贮藏 40 d 时,哈茨木霉菌处理的腐烂率与对照没有显著差异($P > 0.05$),而对照硬度显著($P < 0.05$)低于 Y1、Y2 和 Y3 处理,从 40 d 开始,CK 的腐烂率开始快速上升,在贮藏 60 d 时,CK 的腐烂率达到 14.51%,而 Y1、Y2、Y3 处理的腐烂率为 10.76%、3.08% 和 8.78%,与 CK 差异显著($P < 0.05$),Y1 处理的硬度与 CK 没有显著差异($P > 0.05$),Y2、Y3 处理均显著($P < 0.05$)高于 CK,在贮藏 80 d 时,CK 腐烂率达到 30.81%,Y1、Y2、Y3 处理的腐烂率比 CK 极显著($P < 0.01$)减少了 26.06%、81.82%、40.80%,此时 CK 硬度达到了 72.56 g, Y1、Y2、Y3 处理的硬度比 CK 极显著($P < 0.01$)高 20.19%、33.08%、27.27%。由此可知,哈茨木霉菌可以有效地抑制蓝莓腐烂率的升高和硬度的下降,并且 Y2 处理对控制蓝莓的腐烂率和保持硬度的效果最好。



CK: 对照; Y1: 5.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理; Y2: 3.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理; Y3: 2.1×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理。

图 1 哈茨木霉菌对蓝莓腐烂率(A)和硬度(B)的影响

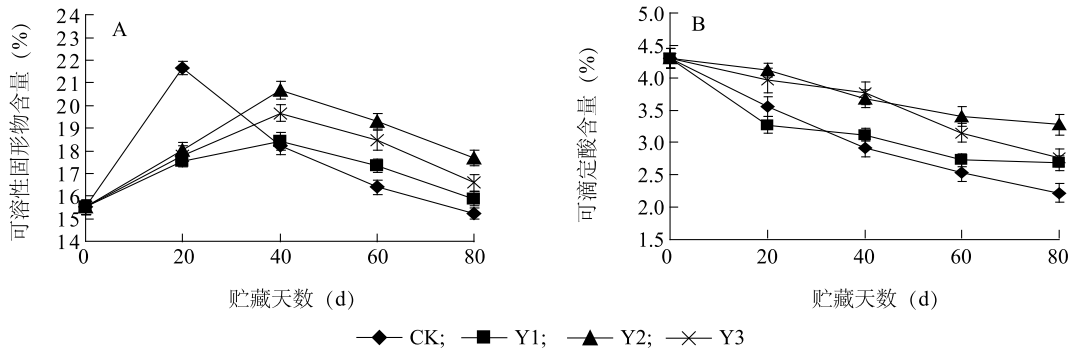
Fig.1 Effects of *Trichoderma harzianum* on the rot ratio (A) and hardness (B) of blueberry

2.1.2 哈茨木霉菌对蓝莓可溶性固形物和可滴定酸含量的影响 果实在贮藏初期,原果胶转化为可溶性果胶,淀粉、纤维素等多糖降解转化为可溶性糖,此时可溶性固形物含量会上升,随后又因新陈代谢消耗而使可溶性固形物含量下降,由图 2A 可知,在贮藏 20 d 时,CK 的可溶性固形物含量达到峰值,随后下降,而 Y1、Y2、Y3 处理继续上升,到贮藏 40d

时,CK 的可溶性固形物含量为 18.21%,而 Y1、Y2、Y3 处理的可溶性固形物含量分别为 18.42%、20.68%、19.66%,Y1 处理与 CK 没有显著差异($P > 0.05$),Y2 和 Y3 处理与 CK 均有显著差异($P < 0.05$),在贮藏 60 d 时,CK、Y1、Y2、Y3 处理相互之间均有显著差异($P < 0.05$)。在贮藏 80 d 时,CK 的可溶性固形物含量为 15.21%,Y1、Y2、Y3 处理分别

高于对照 4.40%、16.24%、和 9.01%,Y1 处理与 CK 没有显著差异($P>0.05$),Y2 和 Y3 处理与 CK 均有显著差异($P<0.05$)。可滴定酸含量在贮藏过程中因呼吸代谢消耗而呈现下降趋势。由图 2B 可知,在贮藏前 60 d,CK 和 Y1 处理的可滴定酸含量一直低于 Y2 和 Y3 处理,并且在 20 d、40 d、60 d,Y2、Y3 的可滴定酸含量显著高于 CK 和 Y1 处理($P<$

0.05),但 CK 和 Y1 处理没有显著差异($P>0.05$),在贮藏 80 d,CK、Y1、Y2、Y3 处理的可滴定酸含量分别为 2.22%、2.68%、3.28%和 2.76%,并且 Y1、Y2、Y3 处理与 CK 均有显著差异。因此,Y1、Y2、Y3 处理均不同程度地延缓了蓝莓可溶性固形物和可滴定酸含量的下降,其中 Y2 处理的效果最好。



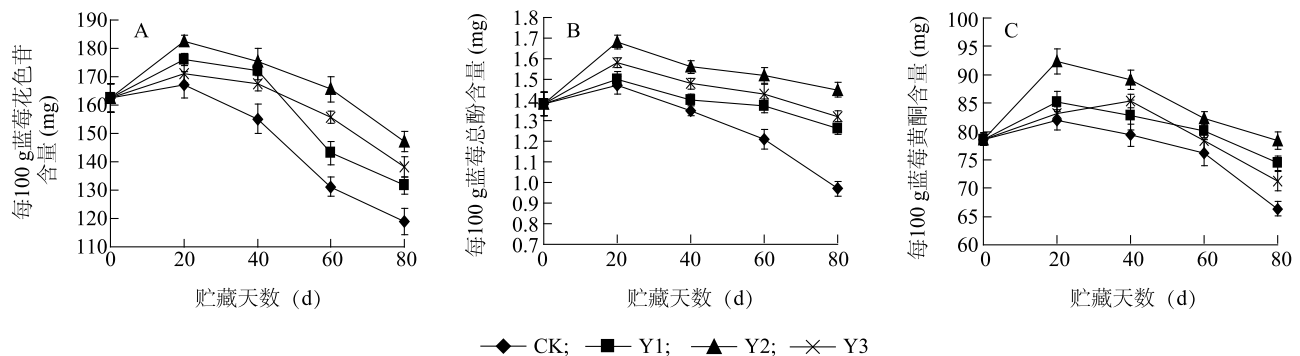
CK:对照;Y1: 5.0×10^6 CFU/ml哈茨木霉菌处理;Y2: 3.0×10^6 CFU/ml哈茨木霉菌处理;Y3: 2.1×10^6 CFU/ml哈茨木霉菌处理。

图2 哈茨木霉菌对蓝莓可溶性固形物(A)和可滴定酸含量(B)的影响

Fig.2 Effects of *T. harzianum* on the soluble solids content (A) and the titratable acid content (B) of blueberry

2.1.3 哈茨木霉菌对蓝莓花色苷、总酚和黄酮含量的影响 花色苷、总酚和黄酮是蓝莓的重要营养物质,具有促进视红素再合成、提高免疫力、清除自由基、延缓衰老及抗癌等生理活性。由图 3 可知,随着贮藏期间的延长,花色苷、总酚和黄酮总体来说呈现先上升后下降的趋势,花色苷、总酚和黄酮在贮藏 20 d 时达到峰值,此时,Y2 处理与其他处理比较均有显著差异($P<0.05$),而其他处理之间均没有显著差异($P>0.05$)。在贮藏 80 d 时,由图 3A 可知,CK、Y1、Y2、Y3 处理每 100 g 蓝莓花色苷含量分别为 118.86 mg、131.67 mg、147.12 mg、138.12 mg,并

且 Y2 处理与 CK 差异极显著($P<0.01$),Y1、Y3 处理与 CK 差异显著($P<0.05$);由图 3B 可知,在贮藏 80 d 时,CK、Y1、Y2、Y3 处理总酚含量分别为 0.97 mg/g、1.26 mg/g、1.45 mg/g、1.32 mg/g,Y1、Y2、Y3 处理均与 CK 差异极显著($P<0.01$);由图 3C 可知,在贮藏 80 d 时,CK、Y1、Y2、Y3 处理每 100 g 蓝莓的黄酮含量分别为 66.31 mg、74.42 mg、78.32 mg、71.21 mg,Y1、Y2、Y3 处理与 CK 均差异显著($P<0.05$)。因此,Y1、Y2、Y3 处理均在不同程度上抑制了花色苷、总酚和黄酮含量的下降,其中,Y2 处理保持贮藏期间蓝莓营养物质的效果最好。



CK:对照;Y1: 5.0×10^6 CFU/ml哈茨木霉菌处理;Y2: 3.0×10^6 CFU/ml哈茨木霉菌处理;Y3: 2.1×10^6 CFU/ml哈茨木霉菌处理。

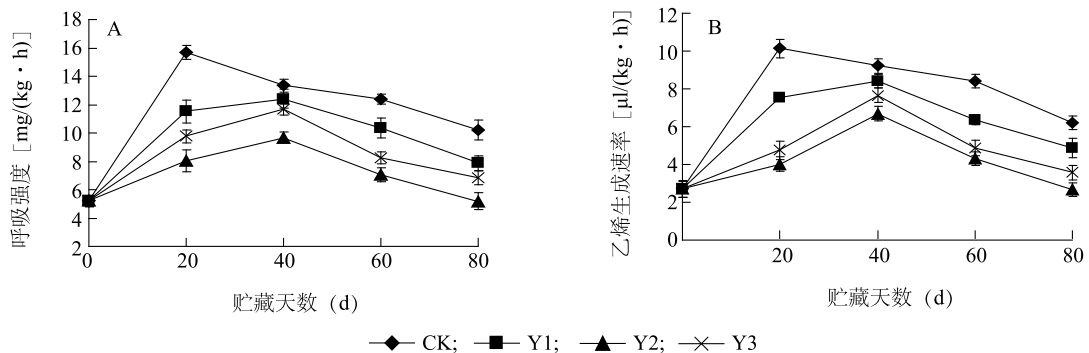
图3 哈茨木霉菌对蓝莓花色苷(A)、总酚(B)和黄酮(C)的影响

Fig.3 Effects of *T. harzianum* on the anthocyanin content (A), the total phenolic content (B) and the flavonoid content (C) of blueberry

2.2 哈茨木霉菌对蓝莓生理生化的影响

2.2.1 哈茨木霉菌对蓝莓呼吸强度和乙烯生成速率的影响 由图4可知,贮藏期间蓝莓果实的呼吸强度和乙烯生成速率均呈现先上升后下降的趋势,CK在贮藏20 d时出现峰值,而Y1、Y2、Y3处理在贮藏40 d时出现峰值。由图4A可知,在贮藏60 d时,Y1、Y2和Y3处理的呼吸强度比CK低16.46%、43.18%、33.25%,差异显著($P<0.05$),在贮藏80 d

时Y1、Y2和Y3处理与CK比较,均有显著性差异($P<0.05$)。由图4B可知,在贮藏80 d时,Y1、Y2和Y3处理的乙烯生成速率比CK低21.29%、56.77%、42.26%,差异显著($P<0.05$)。由此可知,哈茨木霉菌可以延缓蓝莓呼吸强度和乙烯生成速率的峰值出现,并且能够保持二者处于较低的水平,其中Y2处理的效果最好。



CK:对照;Y1: 5.0×10^6 CFU/ml哈茨木霉菌处理;Y2: 3.0×10^6 CFU/ml哈茨木霉菌处理;Y3: 2.1×10^6 CFU/ml哈茨木霉菌处理。

图4 哈茨木霉菌对蓝莓呼吸强度(A)和乙烯生成速率(B)的影响

Fig.4 Effects of *T. harzianum* on the respiration rate (A) and the ethylene production rate (B) of blueberry

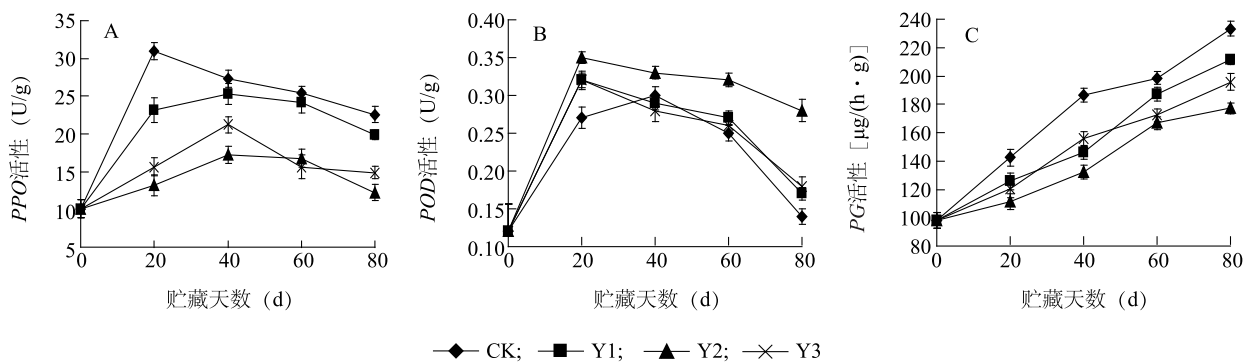
2.2.2 哈茨木霉菌对蓝莓PPO、POD、PG活性的影响 果实的贮藏效果与PPO、POD和PG的活性变化密不可分。其中PPO能够把简单酚类催化生成醌类化合物,影响贮藏期间果实的褐变。由图5A可知,PPO活性呈现先升高后下降的趋势,并且CK一直高于Y1、Y2、Y3处理。在贮藏20 d,CK PPO活性极显著($P<0.01$)高于Y1、Y2和Y3处理,在贮藏40 d和60 d时,Y1处理与CK没有显著差异($P>0.05$),Y2和Y3处理与CK差异显著($P<0.05$)。在贮藏80 d时各处理与CK差异显著($P<0.05$)。POD能够将SOD作用产物过氧化氢催化分解成对体内细胞没有伤害的氧气与水,使体内不受过氧化氢伤害,所以POD的活性是衡量系统清除自由基能力的重要指标。由图5B可知,CK的POD活性呈现先升高后下降的趋势,贮藏20 d时,POD活性快速上升,说明蓝莓刚入库环境温度较低,导致草莓受到低温胁迫使其POD活性变大,而通过哈茨木霉菌处理的蓝莓POD活性上升较小,说明哈茨木霉菌对蓝莓起到了保护作用。从贮藏20 d时开始到贮藏结束,CK的POD活性一直显著($P<0.05$)高于其他处理。PG可通过催化裂解果胶分子中的1,4-2-D-半乳糖苷键,使细胞壁解体,影响果实的软化程度,且

PG活性与可溶性果胶含量呈正相关。由图5C可知,蓝莓PG的活性随着贮藏期的延长呈现上升的趋势,并且CK的PG活性在整个贮藏期间一直显著($P<0.05$)高于Y1、Y2和Y3处理,在贮藏80 d时,CK的PG活性分别高于Y1、Y2、Y3处理9.3%、24.06%、16.10%。因此,哈茨木霉菌可以在不同程度上抑制PPO和PG的上升,延缓POD活性下降,其中Y2处理效果最好。

2.2.3 哈茨木霉菌对蓝莓抗坏血酸-谷胱甘肽循环的影响 采后果实成熟衰老与其代谢产生大量的活性氧有直接关系,如果细胞内活性氧不能及时被清除,会导致氧化胁迫,降低贮藏时间^[20-21]。ASA-GSH循环可有效抵抗自由基的积累,降低自由基对植物组织的侵害,提高果蔬的抗逆性^[22-23],郑小林等研究结果表明ASA-GSH循环可有效清除细胞内产生的自由基^[24]。由图6A可知,蓝莓的抗坏血酸(ASA)含量在整个贮藏期间呈现下降的趋势,在贮藏20 d时,CK每100 g蓝莓ASA含量为9.72 mg,而Y1、Y2、Y3处理的ASA含量分别比CK高27.33%、38.74%和24.20%,差异显著($P<0.01$),从贮藏20 d到贮藏60 d,CK的ASA含量继续快速下降,而Y1、Y2、Y3处理下降的较慢,贮藏60 d时

各个处理间差异均显著($P<0.05$),在贮藏 80 d 时, Y2 处理的 ASA 含量与 CK 有显著差异($P<0.05$), Y1 和 Y3 处理没有显著差异($P>0.05$)。由图 6B 可知, GSH 含量在蓝莓整个贮藏期间呈现下降的趋势,并且 CK 的 GSH 含量一直低于 Y1、Y2 和 Y3 处理的 GSH 含量。在贮藏 20 d 和 40 d 时, Y1 和 Y3 处理的 GSH 含量与 CK 没有显著差异($P>0.05$),而 Y2 处理的 GSH 含量与 CK 差异显著($P<0.05$)。在贮藏 60 d 时, CK、Y1、Y2、Y3 的 GSH 含量分别为 6.27 $\mu\text{mol/g}$ 、7.27 $\mu\text{mol/g}$ 、8.23 $\mu\text{mol/g}$ 、6.97

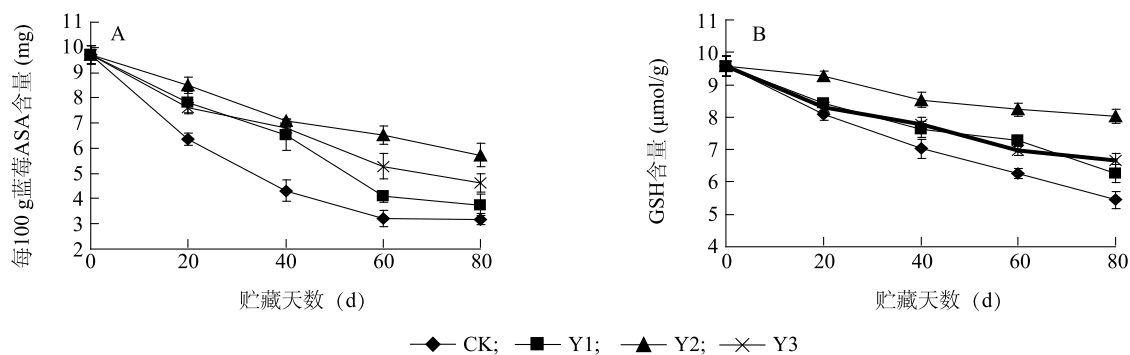
$\mu\text{mol/g}$, Y2 处理与 CK 有极显著差异($P<0.01$), Y1 和 Y3 处理与 CK 均有显著差异($P<0.05$),在贮藏 80 d 时, Y1、Y2、Y3 处理分别比 CK 高 15.05%、41.16%、22.12%, Y1、Y2 和 Y3 处理与 CK 差异均显著($P<0.05$)。由此可知,哈茨木霉菌在贮藏前期,对 ASA 含量下降的抑制效果明显,而对 GSH 含量下降的抑制在贮藏后期效果好,并且 Y2 处理对蓝莓抗坏血酸含量和谷胱甘肽含量下降的抑制效果最好。



CK:对照; Y1: 5.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理; Y2: 3.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理; Y3: 2.1×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理。

图5 哈茨木霉菌对蓝莓 PPO 活性(A)、POD 活性(B)和 PG 活性(C)的影响

Fig.5 Effects of *T. harzianum* on the polyphenol oxidase activity (A), the peroxidase activity (B) and the pectinase activity (C) of blueberry



CK:对照; Y1: 5.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理; Y2: 3.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理; Y3: 2.1×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理。

图6 哈茨木霉菌对蓝莓抗坏血酸含量(A)和谷胱甘肽含量(B)的影响

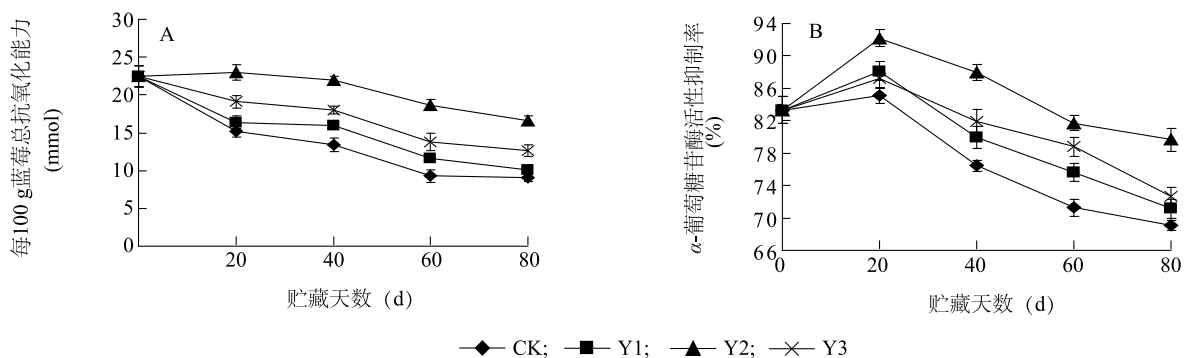
Fig.6 Effects of *T. harzianum* on the ascorbic acid content (A) and the glutathione content (B) of blueberry

2.2.4 哈茨木霉菌对蓝莓总抗氧化能力和 α -葡萄糖苷酶活性抑制率的影响 许多研究结果表明,通过饮食中获得抗氧化物质或能够激活体内抗氧化防御体系功能的物质,可以预防多种氧化损伤相关疾病的发生^[25],而 α -葡萄糖苷酶抑制剂能够抑制小肠壁 α -葡萄糖苷酶的活性,从而明显阻碍碳水化合物

的吸收速度,延缓葡萄糖的吸收,有效推迟并减轻糖尿病人餐后血糖升高的时间及进程^[26-27]。因此,果蔬的总抗氧化能力和 α -葡萄糖苷酶抑制剂具有重要的生物功能。由图 7A 可知,在贮藏 20 d 时, Y2 处理的总抗氧化能力缓慢上升,其他处理均呈现下降的趋势,CK 的总抗氧化能力下降最快,CK 与 Y1

处理差异不显著 ($P>0.05$), 而与 Y2、Y3 处理差异显著 ($P<0.05$), 从贮藏 20 d 开始, Y2 处理的总抗氧化能力也开始下降, 至贮藏 60 d 时, CK、Y1、Y2、Y3 处理每 100 g 蓝莓的总抗氧化能力分别为 9.26 mmol Trolox、11.65 mmol Trolox、18.68 mmol Trolox、13.77 mmol Trolox, 并且 CK 与其他处理差异均显著 ($P<0.05$)。在贮藏末期 (80 d), Y1、Y2、Y3 处理的总抗氧化能力分别比 CK 高 11.93%、83.76%、39.78%, Y1 处理与 CK 差异不显著 ($P>0.05$), Y2 和 Y3 处理与 CK 差异显著 ($P<0.05$)。由图 7B 可知, 在贮藏期间, 蓝莓的 α -葡萄糖苷酶活性抑制率呈现先上升后下降的趋势, 在贮藏 20 d 时蓝莓的 α -

葡萄糖苷酶活性抑制率达到峰值, Y1 和 Y3 处理的 α -葡萄糖苷酶活性与 CK 均没有显著差异 ($P>0.05$), Y2 处理与 CK 差异显著 ($P<0.05$)。从 20 d 时开始, 蓝莓的 α -葡萄糖苷酶活性抑制率开始下降, 在贮藏 60 d 时, 各个处理间的 α -葡萄糖苷酶活性抑制率关系为 $CK<Y1<Y3<Y2$, 并且各个处理间比较均有显著差异 ($P<0.05$)。在贮藏末期 (80 d), Y1、Y2、Y3 处理的 α -葡萄糖苷酶活性抑制率分别比 CK 高 3.01%、15.32%、5.21%, 差异显著 ($P<0.05$)。说明, 哈茨木霉菌能够不同程度地保持蓝莓的生物活性, 其中 Y2 处理对蓝莓的生物活性保持效果最好。



CK: 对照; Y1: 5.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理; Y2: 3.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理; Y3: 2.1×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理。

图 7 哈茨木霉菌对蓝莓总抗氧化能力 (A) 和 α -葡萄糖苷酶活性抑制率 (B) 的影响

Fig.7 Effects of *T. harzianum* on the total antioxidant capacity (A) and the α -glucosidase activity inhibition rate (B) of blueberry

3 讨论

引起蓝莓采后腐烂的主要致病菌为灰霉菌^[28], 而木霉菌的菌丝可以缠绕并且能够寄生疫霉菌或灰霉菌的菌丝, 使其断裂^[29-30], 从而抑制果实的腐烂。本研究结果表明哈茨木霉菌处理蓝莓能够抑制果实腐烂现象的发生, 明显延缓硬度和营养成分的下降, 保持更好的贮藏品质和生物活性, 各种处理的作用效果依次为 Y2 处理 (3.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理) > Y3 处理 (2.1×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理) > Y1 处理 (5.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理), 这与前人的研究结果一致。哈茨木霉菌抑制果实的呼吸强度和乙烯生成速率, 从而保持果实的硬度、营养品质, 延缓了果实的总抗氧化能力和生物活性的下降。通过比较, 采前喷施浓度为 3.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理效果最好, 这也符合木霉菌群落必须达到足够的数量才能起到理想的保鲜效果的研究

结果^[31], 而浓度为 5.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理蓝莓的保鲜效果不如 3.0×10^6 CFU/ml 哈茨木霉菌处理效果, 原因可能由于高浓度的木霉菌产生了药害, 至于相关机理还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] VIRACHNEEI L, MARY M, GEORGE S, et al. Determination of anthocyanins in various cultivars of high bush and rabbit eye blueberries[J]. Food Chemistry, 2008, 111(1): 249-254.
- [2] TSANG C, HIGGINS S, DUTHIE G G, et al. The influence of moderate red wine consumption on antioxidant status and indices of oxidative stress associated with CHD in healthy volunteers [J]. British Journal of Nutrition, 2005, 93(2): 233-240.
- [3] ANGELETTI P, CASTAGNASSO H, MICELI E, et al. Effect of preharvest calcium applications on postharvest quality, softening and cell wall degradation of two blueberry (*Vaccinium corymbosum*) varieties[J]. Postharvest Biology & Technology, 2010, 58(2): 98-103.
- [4] ANGELETTI P, CASTAGNASSO H, MICELI E, et al. Effect of preharvest calcium applications on postharvest quality, softening

- and cell wall degradation of two blueberry (*Vaccinium corymbosum*) varieties[J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2010, 58(2):98-103.
- [5] COTA L V, MAFFIA L A, MIZUBUTI E S G, et al. Biological control by *Clonostachys rosea*, as a key component in the integrated management of strawberry gray mold[J]. *Biological Control*, 2009, 50(3): 222-230.
- [6] 陈宏州,杨敬辉,肖 婷,等.12种杀菌剂对葡萄灰霉病菌的毒力测定[J].*江苏农业科学*,2015,43(1):124-127.
- [7] 王男麒,黄建国,彭良志,等.哈茨木霉发酵液对柑桔采后绿霉病的防治效果研究[J].*中国南方果树*,2014,43(3):5-9.
- [8] KOTASTHANE A, AGRAWAL T, KUSHWAH R, et al. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* and their response towards growth of cucumber, bottle gourd and bitter melon[J]. *European Journal of Plant Pathology*, 2015, 141(3): 523-543.
- [9] 陈 捷,朱洁伟,张 婷,等.木霉菌生物防治作用机理与应用研究进展[J].*中国生物防治学报*,2011,27(2):145-151.
- [10] 刘 政,孙 艳,张学坤,等.木霉菌分离培养基的优化及对黄萎病的拮抗筛选[J].*江苏农业科学*,2015,43(2):121-123.
- [11] MOYER R A, HUMMER K E, FINN C E, et al. Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: vaccinium, rubus, and ribes[J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2002, 50(3):519-525.
- [12] RAMFUL D, BAHORUN T, BOURDON E, et al. Bioactive phenolics and antioxidant propensity of flavado extracts of Mauritian citrus fruits: potential prophylactic ingredients for functional foods application[J]. *Toxicology*, 2010, 278(1): 75-87.
- [13] SIVAKUMAR D, KORSTEN L. Fruit quality and physiological responses of litchi cultivar McLean's Red to 1-methylcyclopropene pre-treatment and controlled atmosphere storage conditions[J]. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 2010, 43(6):942-948.
- [14] 曹 森,王 瑞,钱 波,等.1-MCP对“贵长”猕猴桃模拟运输后货架品质影响研究[J].*食品工业科技*,2016,37(6):335-340.
- [15] 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.
- [16] COCETTA G, KARPPINEN K, SUOKAS M, et al. Ascorbic acid metabolism during bilberry (*Vaccinium myrtillus*, L.) fruit development[J]. *Journal of Plant Physiology*, 2012, 169(11): 1059-1065.
- [17] ÇOBAN J, DOĞAN-EKICI I, AYDIN A F, et al. Blueberry treatment decreased D-galactose-induced oxidative stress and brain damage in rats[J]. *Metabolic Brain Disease*, 2014, 30(3): 793-802.
- [18] EREL O. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation[J]. *Clinical Biochemistry*, 2004, 37(4): 277-285.
- [19] HUANG S Q, DING S D, FAN L P, et al. Antioxidant activities of five polysaccharides from *Inonotus obliquus* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2012, 50(5): 1183-1187.
- [20] CHAPARZADEH N, D'AMICO M L, KHAVARI R A. Antioxidative responses of *Calendula officinalis* under salinity conditions [J]. *Plant Physiology & Biochemistry*, 2004, 42(9):695-701.
- [21] PANDA S K. Chromium-mediated oxidative stress and ultrastructural changes in root cells of developing rice seedlings [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2007, 164(11):1419-1428.
- [22] 陈双建,王利军,刘庆昌,等.贮前外源水杨酸处理对桃果冷贮性的影响[J].*中国农学通报*,2006,22(9):219-224.
- [23] 刘建新,王 鑫,李博萍.外源一氧化氮供体对NaCl胁迫下多裂骆驼蓬幼苗叶片ASA-GSH循环的影响[J].*植物研究*,2010,30(1):37-41.
- [24] 郑小林,陈 燕,敬国兴,等.草酸处理对芒果采后果实ASA-GSH循环系统的影响[J].*园艺学报*,2011,38(9):1633-1640.
- [25] 苑林宏,肖忠新,麻微微,等.富含黄酮类蔬菜和果汁对机体抗氧化功能影响[J].*中国公共卫生*,2012,28(6):870-871.
- [26] 曾 岚,吴 晖,袁 坤,等.甘草中 α -葡萄糖苷酶抑制物的提取工艺研究[J].*现代食品科技*,2012,28(5):524-526.
- [27] SHIM Y J, DOO H K, AHN S Y, et al. Inhibitory effect of aqueous extract from the gall of *Rhus chinensis*, on α -glucosidase activity and postprandial blood glucose[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2003, 85(2/3): 283-287.
- [28] ANGELETTI P, CASTAGNASSO H, MICELI E, et al. Effect of preharvest calcium applications on postharvest quality, softening and cell wall degradation of two blueberry (*Vaccinium corymbosum*) varieties[J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2010, 58(2):98-103.
- [29] 胡丹丹.木霉菌的发酵工艺及对黄瓜立枯病的生防机理研究[D].保定:河北农业大学,2005.
- [30] SONG X Y, SUN C Y, CHEN X L, et al. Research advances on mechanism of trichoderma in biological control[J]. *Review of China Agricultural Science & Technology*, 2006, 8(6): 20-25.
- [31] GOMATHINAYAGAM S, PERSAUD S A, REKHA M. Comparative study of biological agents, *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* for controlling brown spot disease in rice [J]. *Journal of Biopesticides*, 2012, 5(suppl): 28-32.

(责任编辑:陈海霞)