

DOI: 10.13652/j.spjx.1003.5788.2024.80131

百里香酚对蜂糖李采后真菌多样性的影响

张昊¹ 王瑞¹ 田一鸣¹ 马超¹ 马玉华²

(1. 贵阳学院食品科学与工程学院, 贵州 贵阳 550005; 2. 贵州省农业科学院, 贵州 贵阳 550006)

摘要: [目的] 提高对蜂糖李果实采后病害的防控能力。[方法] 采用 200 $\mu\text{L/L}$ 百里香酚浸泡蜂糖李果实 60 s, 贮藏于 $(2.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 检测其腐烂率、呼吸强度、硬度、外果皮 h° 、果肉 h° 和表面真菌多样性。[结果] 贵州蜂糖李果实侵染性病害的致病真菌主要为葡萄孢属 (*Botrytis* sp.)、镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.)。百里香酚处理可改变蜂糖李果实表面真菌群落结构, 降低采后贮藏阶段表面真菌群落丰度和复杂性。并通过抑制上述 4 种致病菌属的增殖以及果实呼吸强度的上升, 延缓蜂糖李果实硬度、外果皮 h° 、果肉 h° 的下降, 从而显著抑制蜂糖李果实腐烂率, 保证果实品质。[结论] 百里香酚处理能有效降低蜂糖李果实贮藏过程中真菌群落丰度和复杂性, 并有效抑制相关致病菌增殖, 从而有效维持蜂糖李果实采后品质。

关键词: 蜂糖李; 百里香酚; 采后贮藏; 品质; 生物多样性; 高通量测序

Effect of thymol on fungal diversity of postharvest Fengtang plum

ZHANG Hao¹ WANG Rui¹ TIAN Yiming¹ MA Chao¹ MA Yuhua²

(1. Food Science and Engineering, Guiyang University, Guiyang, Guizhou 550005, China;

2. Guizhou Academy of Agricultural Sciences, Guiyang, Guizhou 550006, China)

Abstract: [Objective] This study aimed to improve the prevention and control of postharvest diseases of Fengtang plum fruit. [Methods] The fruits were soaked in 200 $\mu\text{L/L}$ thymol for 60 s and stored at $(2.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$. The decay rate, respiration intensity, firmness, h° of pericarp and flesh, and fungal community diversity were analyzed. [Results] High-throughput sequencing indicated that the primary rot-causing fungi on Fengtang plum fruits were *Botrytis*, *Fusarium*, *Penicillium*, and *Alternaria*. Thymol treatment reduced the diversity and abundance of microbial communities on the surface of Fengtang plum fruits. It inhibited the proliferation of the four main pathogenic fungal genera mentioned earlier and the increase in respiratory intensity of the fruits. Additionally, it delayed the decline in fruit firmness, h° of pericarp and flesh, significantly reducing the rate of decay in Fengtang plum fruits, so that maintaining Fengtang plum fruits quality. [Conclusion] Thymol treatment can effectively reduce the abundance and complexity of fungal community and inhibit the proliferation of related pathogens during storage of plum fruit, thereby effectively maintain the quality of plum fruit after harvest.

Keywords: Fengtang plum; thymol; postharvest storage; quality; biodiversity; high-throughput sequencing

李子 (*Prunus salicina* Lindl.) 是蔷薇科李属木本植物。贵州特色名李——蜂糖李, 因味道甘甜、果肉酥脆, 富含蔗糖、葡萄糖、果糖和山梨醇等多种碳水化合物, 风味独特而成为深受消费者喜爱的鲜食品种^[1]。截至 2022 年, 蜂糖李在贵州省安顺市镇宁布依族苗族自治县种植面积高达 1.47 万 hm^2 , 总产量约 5.73 万 t, 总销售额约 26.1 亿元, 同时在贵州省六盘水市、黔南布依族苗族自治州等地区也形成了一定的产业规模^[2]。蜂糖李果实一般

成熟于高温多雨季节, 极易受真菌病原体的侵染而软化腐烂, 随着种植规模和产量的增大, 侵染性病害逐渐成为蜂糖李产业发展的限制因子之一。因此, 亟待开展蜂糖李真菌多样性的研究和提供有效的采后侵染性病害控制方法。

据报道^[3-4], 引起李果实采后病害的主要致病真菌包括美澳型核果褐腐病菌 (*Monilinia fructicola*)、匍匐根霉菌 (*Rhizopus stolonifer*)、葡萄座腔菌 (*Botryosphaeria*

基金项目: 贵州省高层次创新型人才计划 (编号: GCC[2023]063); 贵州省科技支撑计划重点项目 (编号: 黔科合支撑[2022]重点 018 号); 贵阳学院硕士研究生科研基金项目 (编号: GYV-YJS[2022]-51)

通信作者: 王瑞 (1979—), 男, 贵阳学院教授, 博士。E-mail: wangrui060729@126.com

收稿日期: 2024-02-04 **改回日期:** 2024-06-29

dothidea)、尖孢炭疽病菌(*Colletotrichum acutatum*)等。而在蜂糖李采后病害方面,罗冬兰等^[5]研究发现,引起蜂糖李果实采后腐烂的病原真菌包括扩展青霉菌(*Penicillium expansum*)、意大利青霉菌(*Penicillium italicum*)、多子座链核盘菌(*Monilinia polystroma*)、黄囊孔菌(*Flavodon flavus*)和烟管属真菌(*Bjerkandera adusta*)。目前,化学杀菌剂仍然是控制果实采后真菌感染病害的主要方法,但随着致病真菌耐药性的提升以及农药残留量检测标准的日益严格,安全、环保型的生物防治剂已经被开发研究,并成为新的替代品。

百里香酚是一种存在于百里香精油中的单萜酚类物质,目前已经被中国、欧盟、美国食品药品监督管理局列入食品添加剂名单^[6-7]。百里香酚已经在食品领域被报道具有广谱抗菌性和维持果实采后品质的效果,如维持果实采后硬度、提高抗氧化性能等^[7]。已有研究^[8-10]表明,百里香酚可以有效抑制胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)、美澳型核果褐腐病菌(*Monilinia fructicola*)、青霉属(*Penicillium* sp.)、链格孢菌(*Alternaria alternata*)、灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)、镰刀菌属(*Fusarium* sp.)等真菌的生长。此外,百里香酚还可以抑制导致太阳李和意大利李果实腐烂的主要致病菌核果褐腐病菌(*Monilinia laxa*)和灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)的菌丝生长,从而降低果实腐烂率的发生^[11]。

高通量测序可以高效、方便地获取微生物群落多样性信息,准确地掌握微生物的多样性和丰度^[12]。Kioroglou等^[13]使用高通量测序技术研究了不同产区、品质及采收成熟度对葡萄采后真菌群落的影响,结果表明,所有样本中相对丰度最高的真菌为短梗霉属(*Aureobasidium* sp.)和球孢菌属(*Mycosphaerella* sp.),且葡萄采后真菌群落组成和多样性主要受不同产区的影响,而品种及成熟度对其影响较小。张旭等^[14]使用高通量测序技术研究了脱氢乙酸钠、香芹酚及纯水对鲜天麻表面真菌多样性变化的影响,结果表明,所有处理均能有效延缓鲜天麻贮藏期和货架期的腐烂率,脱氢乙酸钠和香芹酚处理能够改变鲜天麻表面真菌群落结构,降低鲜天麻病原菌镰刀菌属、青霉素和土赤壳属的相对丰度,抑制天麻腐烂。

迄今为止,未见贵州省不同产区蜂糖李果实表面真菌多样性的相关报道。研究拟选取贵州省3个县(安顺市镇宁布依族苗族自治县、安顺市关岭布依族苗族自治县、六盘水市水城县)5个产区的蜂糖李果实为试验材料,采后使用百里香酚浸泡处理后低温贮藏40 d,通过高通量测序技术对贮藏期间蜂糖李果实表面真菌群落组成进行分析,探究百里香酚处理对蜂糖李果实贮藏期间真菌多样性与品质的影响,为蜂糖李果实采后病害防控提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 材料与试剂

蜂糖李果实:3个样品采集于2023年6月20日贵州省安顺市镇宁布依族苗族自治县(105.48°E,25.41°N)3个产区,1个样品采集于2023年6月20日贵州省安顺市关岭布依族苗族自治县(105.33°E,25.96°N),1个样品采集于2023年6月21日贵州省六盘水市水城县(104.95°E,26.54°N),分别于采摘当天运回贵州省农产品产地初加工关键技术研发与应用科技创新基地实验室;

MagPure Soil DNA LQ Kit(D6356-02):广州美基生物科技有限公司;

双链DNA荧光定量检测试剂盒(12642ES76):翌圣生物科技股份有限公司;

常规PCR酶Takara Ex Taq(RR001Q):日本Takara公司;

百里香酚:99%,国药集团化学试剂有限公司。

1.1.2 主要仪器设备

便携式残氧仪:Check Point III型,丹麦Dansensor公司;

生物力学测试仪:EZ-SX型,日本岛津公司;

便携式色差仪:CR-410型,日本Konica Minolta公司;

台式高速离心机:Centrifuge 5418型,德国Eppendorf公司;

PCR仪:580BR10905型,美国Bio-rad公司;

QIAextractor:SN 002358型,德国QIAGEN公司;

电泳仪:HE-120型,上海天能生命科学有限公司;

凝胶成像仪:2500型,上海天能生命科学有限公司;

Bioanalyzer:2100型,美国Aglient公司。

1.2 方法

1.2.1 样品处理与贮藏 每个产区,挑选大小均匀、无病虫害和机械损伤的蜂糖李果实分为5组(每组180个)。对照组果实使用蒸馏水浸泡60 s,其中贵州省安顺市镇宁布依族苗族自治县3个产区(产区间直线距离>3 km)样品,分别命名为CK1、CK2、CK3;贵州省安顺市关岭布依族苗族自治县样品,命名为CK4;贵州省六盘水市水城县样品,命名为CK5。Thymol组使用200 μL/L的百里香酚溶液浸泡处理60 s,其中贵州省安顺市镇宁布依族苗族自治县3个产区样品,分别命名为Thymol1、Thymol2、Thymol3;贵州省安顺市关岭布依族苗族自治县样品命名为Thymol4;贵州省六盘水市水城县样品命名为Thymol5。随后,置于周转筐中,于(25±3)℃下避光沥干8 h,随后装入PE20自发气调袋(每袋20个),敞口预冷24 h后封袋,所有处理均在(2.0±0.5)℃下保存40 d,分别

于第20天和第40天检测相关指标。

1.2.2 生理、硬度指标测定

(1) 腐烂率:根据 Huan 等^[15]的方法并修改。以果实表面出现明显破裂、病斑或菌丝生长记为腐烂果。按式(1)计算腐烂率。

$$Y_m = \frac{m_0 - m_t}{n_0} \times 100\%, \quad (1)$$

式中:

Y_m ——样品的腐烂率,%;

m_0 ——初始果实数量,个;

m_t ——贮藏第 t 天的果实腐烂数量,个。

(2) 呼吸强度:根据田一鸣等^[16]的方法。

(3) 硬度:根据田一鸣等^[16]的方法。

(4) 色泽:根据田一鸣等^[16]的方法。

1.2.3 真菌群落分析 根据张旭等^[14]的方法。

2 结果与分析

2.1 腐烂率

如图1所示,随着贮藏时间的推移,所有处理组蜂糖李果实腐烂率逐渐增加,但百里香酚处理均能显著抑制各地区蜂糖李果实腐烂率的上升($P < 0.05$)。贮藏20 d时,各产区CK组(CK1、CK2、CK3、CK4、CK5)腐烂率比Thymol组(Thymol1、Thymol2、Thymol3、Thymol4、Thymol5)分别高12.00%,6.67%,8.67%,9.33%,8.67% ($P < 0.05$),而贮藏40 d时分别高14.67%,12.67%,10.67%,13.33%,10.00% ($P < 0.05$)。贮藏过程中病原真菌感染是引起果实腐烂的主要原因。Liu等^[17]研究发现,李果实接种 *M. fructicola* 孢子悬浮液后,经百里香酚熏蒸能使 *M. fructicola* 孢子皱缩塌陷,并使其原生质层脱水,从而显著降低李果实贮藏阶段由 *M. fructicola* 引起褐腐病的发生。相类似的研究中,百里香酚可有效抑制百香果和草莓果实腐烂率^[18-19]。

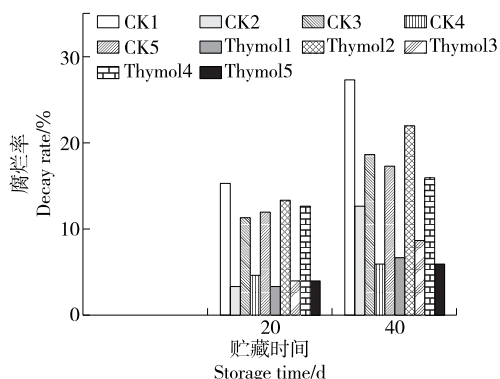


图1 百里香酚处理对不同产区蜂糖李果实腐烂率的影响
Figure 1 Effects of thymol treatment on fruit decay rate of Fengtang plum in different orchards

2.2 呼吸强度

如图2所示,整个贮藏过程中,百里香酚处理能有效抑制果实的呼吸强度,贮藏20 d时各产区CK组(CK1、CK2、CK3、CK4、CK5)呼吸强度分别为(6.85±0.14), (7.08±0.23), (7.31±0.17), (7.75±0.38), (7.80±0.14) mg CO₂/(kg·h);各产区Thymol组(Thymol1、Thymol2、Thymol3、Thymol4、Thymol5)呼吸强度均显著低于CK组,分别为(6.03±0.17), (6.19±0.05), (6.37±0.16), (6.71±0.34), (6.95±0.20) mg CO₂/(kg·h)。贮藏40 d时,各产区CK组(CK1、CK2、CK3、CK4、CK5)呼吸强度相比Thymol组(Thymol1、Thymol2、Thymol3、Thymol4、Thymol5)分别高11.01%,9.35%,10.86%,11.22%,11.37% ($P < 0.05$)。Navarro等^[20]研究发现,桃果实采后腐烂面积与呼吸强度呈正相关,随着果实腐烂程度加剧,呼吸强度显著上升。Vicente等^[21]研究发现,百里香酚通过激发柠檬果实过氧化氢酶、过氧化物酶、抗坏血酸过氧化物酶活性,从而提高抗真菌感染能力,抑制腐烂率上升,从而维持果实较低的呼吸速率。由图1和图2可见,蜂糖李果实的呼吸强度与腐烂率呈正相关,百里香酚能够抑制腐烂率上升,从而使蜂糖李果实保持较低的呼吸强度。

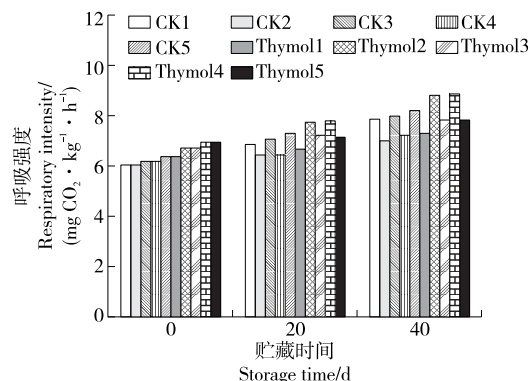


图2 百里香酚处理对不同产区蜂糖李果实呼吸强度的影响
Figure 2 Effects of thymol treatment on respiration intensity of Fengtang plum fruit in different orchards

2.3 硬度

如图3所示,贮藏过程中,百里香酚处理均显著延缓了蜂糖李果实硬度的下降($P < 0.05$),贮藏20 d时各产区CK组(CK1、CK2、CK3、CK4、CK5)硬度分别下降至(11.21±0.45), (10.02±0.30), (11.61±0.36), (11.48±0.20), (9.74±0.90) N;而Thymol组(Thymol1、Thymol2、Thymol3、Thymol4和Thymol5)贮藏20 d时仍保持较高的硬度(12.07±0.50), (11.46±0.43), (12.04±0.46), (11.98±0.27), (10.65±0.58) N。贮藏40 d时,各产区

CK 组 (CK1、CK2、CK3、CK4、CK5) 相比 Thymol 组 (Thymol1、Thymol2、Thymol3、Thymol4 和 Thymol5) 硬度分别低 8.25%、9.15%、8.58%、12.63%、7.35% ($P < 0.05$)。Ding 等^[22]研究发现,百里香酚处理接种黑曲霉 (*Aspergillus niger*) 孢子的蓝莓果实,能有效抑制蓝莓果实腐烂的发生,延缓果实硬度下降。

2.4 色差

由图 4(a)可知,不同产区的蜂糖李果实采后外果皮 h° 均呈下降趋势,说明蜂糖李果实贮藏期间外果皮由绿转黄。然而不同产区各组处理之间在贮藏 20 d 时果皮转黄的现象均没有显著差异 ($P > 0.05$)。贮藏至 40 d,CK1、CK2、CK5 组与 Thymol1、Thymol2、Thymol5 组 h° 值出现显著差异 ($P < 0.05$),Thymol 组与 CK 组相比分别高 0.91%、1.24%、0.92% ($P < 0.05$)。仅贮藏 40 d 时,CK3 与 Thymol3 和 CK4 与 Thymol4 未出现显著差异 ($P > 0.05$)。由图 4(b)可知,所有产区 CK 组及其 Thymol 组的果肉 h° 变化趋势呈下降趋势,与外果皮 h° 变化趋势相似。贮藏至 20 d,Thymol 组与 CK 组果肉 h° 值差异不显著 ($P > 0.05$)。然而贮藏至 40 d,不同产区 Thymol 组样品 h° 值均

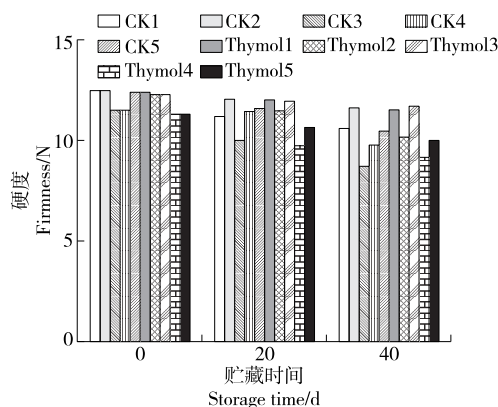


图 3 百里香酚处理对不同产区蜂糖李果实硬度的影响
Figure 3 Effects of thymol treatment on fruit firmness of Fengtang plum in different orchards

显著高于 CK 组 ($P > 0.05$)。Khan 等^[23]研究发现,百里香酚通过抑制龙眼果实多酚氧化酶、过氧化物酶活性,有效控制了果实褐变和衰老的发生。据此推测,百里香酚处理能抑制蜂糖李果实外果皮和果肉转黄现象的发生,最终保持较好的商品外观。

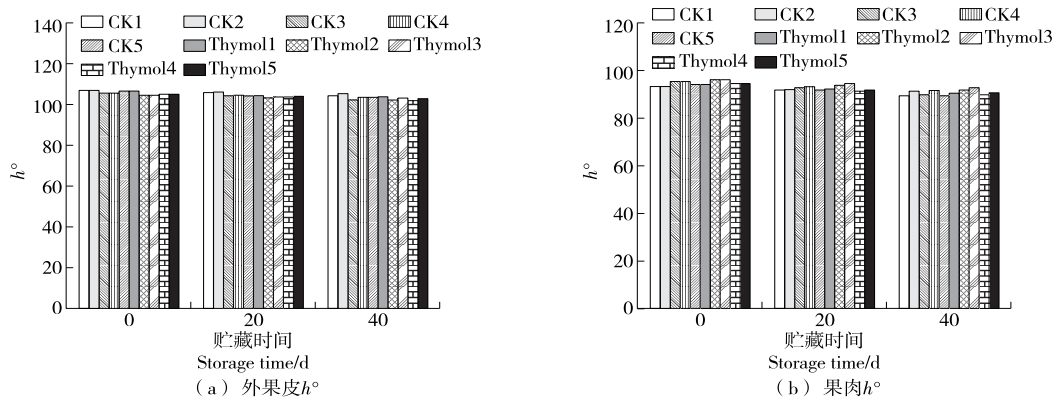


图 4 百里香酚处理对不同产区蜂糖李果实外果皮和果肉 h° 的影响
Figure 4 Effects of thymol treatment on h° of pericarp and flesh of Fengtang plum in different orchards

2.5 百里香酚对蜂糖李果实表面真菌群落的影响

2.5.1 Alpha 多样性分析 采用 Shannon、Simpson、Chao1、ACE 和 Coverage 指数对蜂糖李果实外果皮微生物群落相对丰度和多样性进行评估。由表 1 可知,根据样品的 Coverage 指数分析,所有样品的 Coverage 指数覆盖率均高达 99% 以上,说明测序结果能有效反映蜂糖李果实外果皮样品微生物多样性。样本的 Shannon、Simpson、ACE 和 Chao1 指数均呈下降趋势,反映了随着贮藏时间的延长,5 个不同产区的蜂糖李果实 CK 组与 Thymol 组之间,样品的微生物群落丰度和多样性均有所下降。其中贮藏 40 d 时各产区 CK 组 (CK1、CK2、CK3、CK4、CK5) 的 Chao1 指数分别为 50.44 ± 0.51 , 538.73 ± 12.06 , 429.19 ± 47.44 ,

116.35 ± 9.26 , 148.37 ± 11.65 , 显著高于其对应的 Thymol 组 ($P < 0.05$)。Shannon、Simpson 和 ACE 指数与 Chao1 指数整体下降趋势相似,说明百里香酚处理能有效降低蜂糖李果实采后贮藏阶段表面真菌群落丰度和复杂性。

2.5.2 百里香酚处理对蜂糖李果实真菌群落的影响 高通量测序结果表明,整个贮藏过程中,5 个产区果实表面共检测出 16 个真菌门类和 286 个真菌属类。图 6(a) 为 CK 组及其 Thymol 组中相对丰度前 5 的真菌门类。

在整个贮藏期间,子囊菌门在 CK 组和 Thymol 组均为优势菌门,贮藏初期 (0 d) 不同产区 CK 组 (CK1、CK2、CK3、CK4、CK5) 的子囊菌门相对丰度分别为 67.29%、68.36%、71.43%、79.01%、66.67%。其次为担子菌门和罗

表1 样品表面真菌 Alpha 多样性指数[†]
Table 1 Microbial diversity index of samples

组别	Shannon 指数	Simpson 指数	Chaol 指数	ACE 指数	Coverage 指数/%
CK1-0 d	8.16±0.08 ^a	0.99±0.00 ^a	740.46±25.06 ^a	740.94±25.06 ^a	99.97±0.00 ^b
CK1-20 d	7.76±0.19 ^b	0.98±0.01 ^a	660.62±29.93 ^b	660.04±29.17 ^b	99.98±0.01 ^a
CK1-40 d	1.54±0.09 ^d	0.38±0.01 ^c	50.44±0.51 ^d	50.55±1.84 ^d	99.99±0.01 ^a
Thymol1-20 d	6.73±0.14 ^c	0.85±0.01 ^b	567.01±53.35 ^c	567.88±53.99 ^c	99.96±0.01 ^b
Thymol1-40 d	0.24±0.04 ^e	0.04±0.00 ^d	24.91±2.67 ^d	25.09±2.47 ^d	99.98±0.01 ^a
CK2-0 d	8.44±0.25 ^a	0.98±0.01 ^a	718.36±21.46 ^a	719.26±19.61 ^a	99.97±0.02 ^a
CK2-20 d	7.35±0.01 ^b	0.97±0.00 ^a	618.62±52.64 ^b	619.36±51.54 ^b	99.96±0.02 ^a
CK2-40 d	5.23±0.08 ^c	0.99±0.01 ^a	538.73±12.06 ^c	539.15±13.99 ^c	99.97±0.01 ^a
Thymol2-20 d	2.56±0.14 ^d	0.36±0.04 ^b	280.65±15.69 ^d	279.99±16.21 ^d	99.95±0.04 ^a
Thymol2-40 d	0.64±0.10 ^e	0.17±0.01 ^c	52.26±4.66 ^e	52.70±4.97 ^e	99.98±0.02 ^a
CK3-0 d	7.89±0.07 ^a	0.99±0.01 ^a	696.28±37.78 ^a	696.61±38.16 ^a	99.98±0.01 ^a
CK3-20 d	5.67±0.24 ^b	0.80±0.02 ^b	506.45±37.37 ^b	506.87±35.07 ^b	99.96±0.03 ^a
CK3-40 d	5.21±0.20 ^c	0.61±0.02 ^c	429.19±47.44 ^c	430.48±49.94 ^c	99.96±0.02 ^a
Thymol3-20 d	2.96±0.23 ^d	0.59±0.01 ^c	320.66±5.41 ^d	325.07±7.21 ^d	99.95±0.01 ^a
Thymol3-40 d	2.50±0.19 ^e	0.43±0.02 ^d	33.36±3.27 ^e	33.54±2.87 ^e	99.94±0.01 ^a
CK4-0 d	6.55±0.27 ^a	0.93±0.01 ^a	576.82±12.16 ^a	578.70±14.31 ^a	99.97±0.03 ^a
CK4-20 d	3.40±0.28 ^b	0.52±0.01 ^b	428.01±24.37 ^b	423.96±24.43 ^b	99.94±0.03 ^a
CK4-40 d	1.50±0.12 ^c	0.43±0.01 ^c	116.35±9.26 ^c	112.66±6.11 ^c	99.96±0.01 ^a
Thymol4-20 d	0.50±0.10 ^d	0.08±0.00 ^d	73.20±5.07 ^d	74.35±2.98 ^d	99.98±0.01 ^a
Thymol4-40 d	0.14±0.08 ^e	0.03±0.00 ^e	30.99±2.81 ^e	28.54±2.93 ^e	99.98±0.01 ^a
CK5-0 d	6.54±0.02 ^a	0.96±0.00 ^a	585.92±2.20 ^a	586.18±3.87 ^a	99.97±0.02 ^a
CK5-20 d	4.28±0.12 ^b	0.66±0.04 ^b	405.53±32.59 ^b	407.19±32.26 ^b	99.96±0.02 ^a
CK5-40 d	2.49±0.18 ^c	0.36±0.01 ^d	148.37±11.65 ^c	148.98±10.44 ^c	99.97±0.02 ^a
Thymol5-20 d	3.18±0.56 ^d	0.48±0.01 ^c	351.67±23.94 ^d	349.64±19.29 ^d	99.96±0.00 ^a
Thymol5-40 d	1.04±0.04 ^e	0.25±0.01 ^e	50.47±5.06 ^e	51.67±2.78 ^e	99.97±0.02 ^a

† 同一产区不同样品之间字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

兹菌门,5个产区的平均相对丰度为12.08%和4.14%。随着贮藏时间的延长,所有样品组中子囊菌门相对丰度均上升,其他菌门均出现下降趋势。贮藏40 d时,不同产区 Thymol 组(Thymol1、Thymol2、Thymol3、Thymol4、Thymol5)相比CK组分别下降了19.38%,28.27%,6.83%,6.89%,10.83%($P<0.05$)。表明百里香酚处理能有效抑制子囊菌门的相对丰度上升,保持相对较低的水平。

蜂糖李果实中11个真菌属类相对丰度(>2.5%)分布情况见图6(b),5个不同产地的蜂糖李果实贮藏初期(0 d)优势菌属有所差异,CK1、CK2、CK4产地的优势菌属为 *Camarosporidiella*,其相对丰度分别为9.15%,7.75%,6.63%,CK3和CK5产地的优势菌属为葡萄孢属(*Botrytis* sp.),其相对丰度分别为6.07%,6.41%。随着贮藏时间的延长,所有产区果实中葡萄孢属(*Botrytis* sp.)相对丰度均逐渐上升,成为优势菌属。贮藏20 d时,不同产区CK组(CK1、

CK2、CK3、CK4、CK5)样品的葡萄孢属(*Botrytis* sp.)相对丰度分别高达73.36%,73.54%,66.51%,70.44%,59.20%,平均值为68.61%;而百里香酚处理则能有效抑制其相对丰度上升,Thymol组平均值为35.27%,相比CK组平均值低32.89%。

2.5.3 百里香酚处理对蜂糖李果实表面属水平真菌多样性及致病真菌相对丰度的影响 高通量测序结果(表2)表明,葡萄孢属(*Botrytis* sp.)、镰刀菌属(*Fusarium* sp.)、青霉属(*Penicillium* sp.)和链格孢属(*Alternaria* sp.)在CK和Thymol组中均被检出。整个贮藏过程中,CK和Thymol组其相对丰度最高的致病真菌为葡萄孢属(*Botrytis* sp.)。贮藏40 d时,不同产区CK组(CK1、CK2、CK3、CK4、CK5)相比Thymol组样品表面的葡萄孢属(*Botrytis* sp.)分别高46.52%,30.68%,21.06%,26.23%,11.06%,说明百里香酚能有效抑制葡萄孢属(*Botrytis* sp.)的相对丰度。此

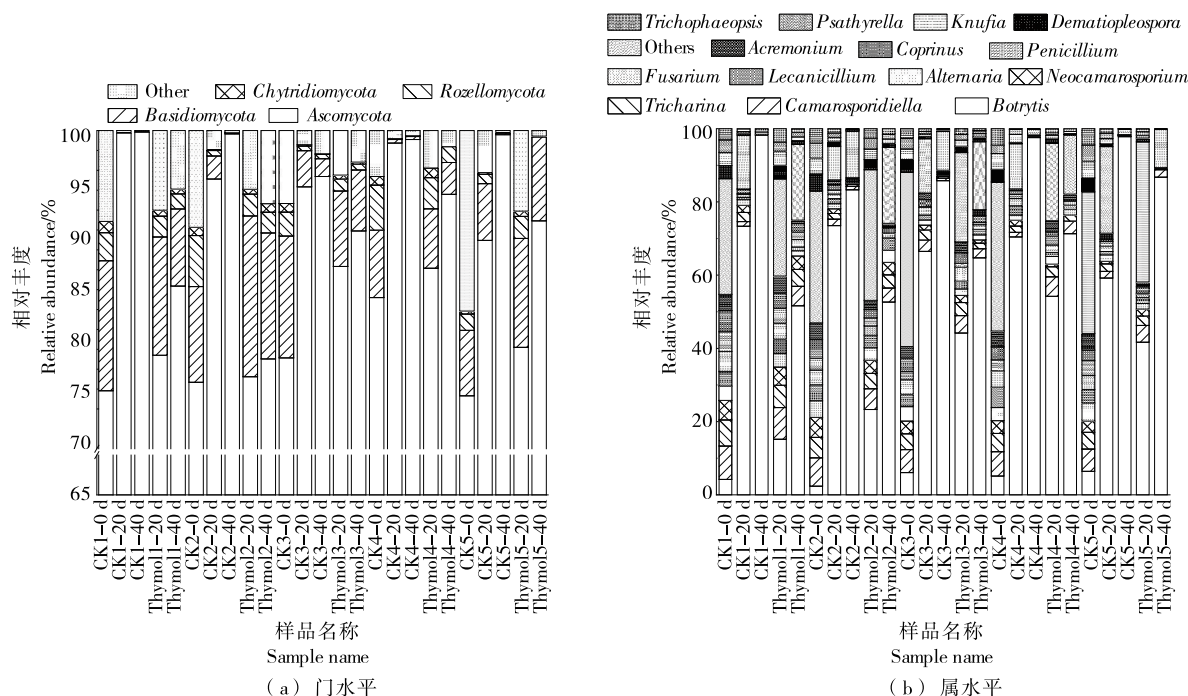


图 5 百里香酚处理对不同产区蜂糖李果实表面门和属类真菌组成的影响

Figure 5 Effects of thymol treatment on the composition of phylum and genus fungi on the surface of Fengtang plum in different orchards

外,贮藏过程中, Thymol 组与 CK 组中镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 的相对丰度均为下降趋势,而 CK 组相对丰度均低于 Thymol 组,推测是因为 CK 组中葡萄孢属 (*Botrytis* sp.) 相对丰度占绝对优势,相比 Thymol 组具有更强的竞争优势,最终通过营养物质竞争和繁殖生长空间竞争使镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 的相对丰度低于 Thymol 处理组^[24-25]。

结合现有报道^[26-27]和 Alpha 多样性分析,相较于 CK 组,百里香酚处理可能通过抑制葡萄孢属 (*Botrytis* sp.)、镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 的增殖,进而有效降低蜂糖李果实采后腐烂现象。

2.5.4 相关性分析 为了进一步诠释不同产区蜂糖李果实采后贮藏阶段指标之间及致病真菌与指标之间的关系,将蜂糖李果实贮藏阶段生理指标与蜂糖李果实采后主要致病真菌葡萄孢属 (*Botrytis* sp.)、镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 相对丰度的变化进行相关系数检验分析。如表 3 所示,在 CK 组中,腐烂率与果肉 h° 、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 的相对丰度呈极显著负相关,与葡萄孢属 (*Botrytis* sp.) 的相对丰度呈

极显著正相关;呼吸强度与硬度、外果皮 h° 、镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 的相对丰度呈极显著负相关,与葡萄孢属 (*Botrytis* sp.) 的相对丰度呈极显著正相关;葡萄孢属 (*Botrytis* sp.) 的相对丰度与镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 的相对丰度呈极显著负相关 ($P < 0.01$)。

如表 4 所示,在 Thymol 组中,腐烂率与果肉 h° 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 呈极显著负相关;呼吸强度与外果皮 h° 、镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 的相对丰度呈极显著负相关,与葡萄孢属 (*Botrytis* sp.) 的相对丰度呈极显著正相关;葡萄孢属 (*Botrytis* sp.) 的相对丰度与外果皮 h° 、果肉 h° 、镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 的相对丰度呈极显著负相关,与呼吸强度呈极显著正相关 ($P < 0.01$)。

结合 CK 组与 Thymol 组的相关性分析可知,百里香酚通过抑制蜂糖李果实表面葡萄孢属 (*Botrytis* sp.)、镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.) 的增殖,从而抑制蜂糖李果实采后腐烂的发生,最终维持果实较低的呼吸强度,缓解果实硬度、外果皮 h° 、果肉 h° 的下降。

表2 属水平致病真菌相对丰度变化

Table 2 Changes in relative abundance of pathogenic fungi at the genus level

%

组别	葡萄孢属(<i>Botrytis</i> sp.)	镰刀菌属(<i>Fusarium</i> sp.)	青霉属(<i>Penicillium</i> sp.)	链格孢属(<i>Alternaria</i> sp.)
CK1-0 d	4.20	5.53	5.36	3.91
CK1-20 d	73.36	0.88	0.21	1.55
CK1-40 d	98.17	0.67	0.00	0.29
Thymol1-20 d	15.18	4.32	4.09	3.66
Thymol1-40 d	51.65	2.04	2.00	1.40
CK2-0 d	2.38	4.06	3.19	4.53
CK2-20 d	73.54	1.25	1.09	1.36
CK2-40 d	83.32	0.19	0.05	0.32
Thymol2-20 d	23.31	2.57	2.17	3.42
Thymol2-40 d	52.64	1.31	0.00	3.31
CK3-0 d	6.07	4.00	2.19	3.88
CK3-20 d	66.51	2.21	0.05	1.39
CK3-40 d	85.80	0.23	0.04	0.31
Thymol3-20 d	44.21	3.78	1.09	1.78
Thymol3-40 d	64.74	1.26	0.56	1.36
CK4-0 d	5.16	4.37	3.08	3.56
CK4-20 d	70.44	1.98	1.10	1.44
CK4-40 d	97.58	0.03	0.00	0.05
Thymol4-20 d	54.21	2.06	2.41	2.09
Thymol4-40 d	71.35	1.12	1.15	1.53
CK5-0 d	6.41	3.82	4.06	4.92
CK5-20 d	59.20	1.44	1.26	1.77
CK5-40 d	97.83	0.00	0.04	0.04
Thymol5-20 d	41.69	0.98	0.25	1.53
Thymol5-40 d	86.77	0.04	0.01	0.06

表3 CK组相关性分析[†]

Table 3 Correlation analysis of CK group

指标	腐烂率	硬度	外果皮 h°	果肉 h°	呼吸速率	<i>Botrytis</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Alternaria</i>
腐烂率	1.00								
硬度	-0.74*	1.00							
外果皮 h°	-0.72*	0.95**	1.00						
果肉 h°	-0.81**	0.62	0.58	1.00					
呼吸速率	0.72*	-0.89**	-0.94**	-0.62	1.00				
<i>Botrytis</i>	0.85**	-0.72*	-0.76*	-0.76*	0.85**	1.00			
<i>Fusarium</i>	-0.73*	0.93**	0.90**	0.65*	-0.95**	-0.83**	1.00		
<i>Penicillium</i>	-0.89**	0.68*	0.73*	0.69*	-0.79**	-0.87**	0.77**	1.00	
<i>Alternaria</i>	-0.78**	0.67*	0.81**	0.66*	-0.83**	-0.83**	0.77**	0.90**	1.00

† * 显著相关($P < 0.05$); ** 极显著相关($P < 0.01$)。

3 结论

采用 200 $\mu\text{L/L}$ 百里香酚浸泡处理贵州省 3 个县 5 个产区的蜂糖李果实,并贮藏于 $(2.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 条件下,研究

其采后贮藏品质和表面真菌群落结构变化。高通量测序结果与已经报道文献^[3,5,26]分析表明,来自贵州省 3 个县 5 个产区的蜂糖李果实采后贮藏过程中主要致病真菌包

表 4 Thymol 组相关性分析[†]
Table 4 Correlation analysis of Thymol group

指标	腐烂率	硬度	外果皮 h°	果肉 h°	呼吸速率	<i>Botrytis</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Alternaria</i>
腐烂率	1.00								
硬度	-0.23	1.00							
外果皮 h°	-0.55	0.60	1.00						
果肉 h°	-0.78**	0.32	0.48	1.00					
呼吸速率	0.75*	-0.54	-0.93**	-0.71*	1.00				
<i>Botrytis</i>	0.75*	-0.45	-0.85**	-0.78**	0.98**	1.00			
<i>Fusarium</i>	-0.75*	0.58	0.84**	0.76*	-0.96**	-0.96**	1.00		
<i>Penicillium</i>	-0.69*	0.54	0.78**	0.72*	-0.83**	-0.82**	0.83**	1.00	
<i>Alternaria</i>	-0.80**	0.21	0.67*	0.83**	-0.81**	-0.81**	0.76*	0.82**	1.00

† * 显著相关($P < 0.05$); ** 极显著相关($P < 0.01$)。

括葡萄孢属 (*Botrytis* sp.)、镰刀菌属 (*Fusarium* sp.)、青霉属 (*Penicillium* sp.) 和链格孢属 (*Alternaria* sp.)，其中葡萄孢属 (*Botrytis* sp.) 为贮藏阶段所有样品表面致病真菌中的优势菌属。结合已报道文献^[8-9]，贮藏过程中，百里香酚能有效降低蜂糖李果实表面真菌群落丰度和多样性，并有效抑制相关致病菌的增殖，从而降低蜂糖李采后腐烂，最终维持蜂糖李果实采后较低的呼吸强度，延缓蜂糖李果实硬度、外果皮 h° 、果肉 h° 的下降，使蜂糖李果实保持较好的采后品质。

参考文献

[1] NIE X S, HONG C, WANG Q Y, et al. Sugar composition and transcriptome analysis in developing 'Fengtang' plum (*Prunus salicina* Lindl.) reveal candidate genes regulating sugar accumulation[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2023, 202: 107955.

[2] 罗大昌. "镇宁蜂糖李"产业高质量发展路径观察[N]. *安顺日报*, 2022-08-11(3).

LUO D C. "Fengtang plum of Zhengning" observations on the path to high-quality industrial developmen[N]. *Anshun Daliy*, 2022-08-11(3).

[3] WANG W J, LING Y, DENG L L, et al. Effect of *L*-cysteine treatment to induce postharvest disease resistance of *Monilinia fructicola* in plum fruits and the possible mechanisms involved [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2023, 191: 105367.

[4] GONCALVES P F, MARTINS M C, JUNIOR G J S, et al. Postharvest control of brown rot and Rhizopus rot in plums and nectarines using carnauba wax[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2010, 58(3): 211-217.

[5] 罗冬兰, 王小岗, 瞿光凡, 等. 蜂糖李采后病原菌分离鉴定及香芹酚对病原菌室内毒力测试[J]. *中国南方果树*, 2023, 52 (6): 205-211.

LUO D L, WANG X G, QU G F, et al. Isolation and

identification of postharvest pathogens in Fengtang plum and in vitro toxicity testing of apiol on pathogens[J]. *South China Fruits*, 2023, 52(6): 205-211.

[6] 国家卫生和计划生育委员会. 食品安全国家标准 食品添加剂使用标准: GB 2760—2014[S]. 北京: 中国质检出版社, 2014.

National Health and Family Planing Commission. National food safety standard for the use of food additives: GB 2760—2014 [S]. Beijing: China Quality Inspection Publishing House, 2014.

[7] GAO T, ZHOU H, ZHOU W, et al. The fungicidal activity of thymol against fusarium graminearum via inducing lipid peroxidation and disrupting ergosterol biosynthesis[J]. *Molecules*, 2016, 21(6): 770.

[8] CAO Z X, ZHOU D D, GE X M, et al. The role of essential oils in maintaining the postharvest quality and preservation of peach and other fruits[J]. *Food Biochemistry*, 2022, 46(12): e14513.

[9] COMBRINCK S, REGNIER T, KAMATOU G P P, et al. In vitro activity of eighteen essential oils and some major components against common postharvest fungal pathogens of fruit[J]. *Industrial Crops and Products*, 2011, 33(2): 344-349.

[10] MORCIA C, MALNATI M, TERZI V J F A, et al. In vitro antifungal activity of terpinen-4-ol, eugenol, carvone, 1, 8-cineole (eucalyptol) and thymol against mycotoxigenic plant pathogens[J]. *Food Additives and Contaminants*, 2012, 29(3): 415-422.

[11] LOPEZ-REYES J G, SPADARO D, PRELLE A, et al. Efficacy of plant essential oils on postharvest control of rots caused by fungi on different stone fruits in vivo[J]. *Journal of Food Protection*, 2013, 76(4): 631-639.

[12] 李欣蔚. 基于高通量测序探究东北粳稻储藏期间真菌群落的演替[J]. *现代食品科技*, 2022, 38(7): 98-106.

LI X W. High-throughput sequencing-based analysis of the succession of fungal communities during the storage of

- northeast japonica rice[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2022, 38(7): 98-106.
- [13] KIOROGLU D, KRAEVA-DELOIRE E, SCHMIDTKE L M, et al. Geographical origin has a greater impact on grape berry fungal community than grape variety and maturation state[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(12): 699.
- [14] 张旭, 王瑞, 吉宁, 等. 两种食品添加剂对鲜天麻采后真菌多样性的影响[J]. *菌物学报*, 2023, 42(11): 2 203-2 217.
ZHANG X, WANG R, JI N, et al. Effects of two food additives on fungal diversity of postharvest fresh-keeping *Gastrodia elata*[J]. *Mycosystema*, 2023, 42(11): 2 203-2 217.
- [15] HUAN C, XU Q H, SHEN S L, et al. Effect of benzothiadiazole treatment on quality and anthocyanin biosynthesis in plum fruit during storage at ambient temperature[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2021, 101(8): 3 176-3 185.
- [16] 田一鸣, 王瑞, 马超, 等. 1-甲基环丙烯对不同成熟度蜂糖李货架品质及挥发性物质影响的研究[J]. *食品与发酵工业*, 2024, 50(12): 209-219.
TIAN Y M, WANG R, MA C, et al. Effects of 1-methylcyclopropene on shelf quality and volatile substances of Fengtang plums with different harvest maturity[J]. *Food and Fermentation Industries*, 2024, 50(12): 209-219.
- [17] LIU W T, CHU C L, ZHOU T, et al. Thymol and acetic acid vapors reduce postharvest brown rot of apricots and plums[J]. *Hortscience*, 2002, 37(1): 151-156.
- [18] 孔念晴, 陈于陇, 叶明强, 等. 大豆蛋白-百里香酚纳米复合物处理对百香果采后包装贮藏品质的提升作用[J]. *现代食品科技*, 2020, 36(10): 182-189.
KONG N Q, CHEN Y L, YE M Q, et al. Improvement effects of soy protein-thymol nanocomplexes treatment on the storage quality of passion fruit after harvest[J]. *Modern Food Science and Technology*, 2020, 36(10): 182-189.
- [19] 钟秋夏, 郑海英, 朱燕丽, 等. 百里香酚微胶囊的制备及其对草莓的保鲜效果[J]. *食品科学*, 2023, 44(11): 167-176.
ZHONG Q X, ZHENG H Y, ZHU Y L, et al. Preparation of thymol-containing microcapsules and its application in strawberry preservation[J]. *Food Science*, 2023, 44(11): 167-176.
- [20] NAVARRO D, DÍAZ-MULA H M, GUILLÉN F, et al. Reduction of nectarine decay caused by *Rhizopus stolonifer*, *botrytis cinerea* and *penicillium digitatum* with aloe vera gel alone or with the addition of thymol[J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2011, 151(2): 241-246.
- [21] VICENTE S E, SERRANO M, VALERO D, et al. Thymol encapsulated into HP- β -cyclodextrin as an alternative to synthetic fungicides to induce lemon resistance against sour rot decay[J]. *Molecules*, 2020, 25(8): 43-48.
- [22] DING J, LIU C Y, HUANG P, et al. Effects of thymol concentration on postharvest diseases and quality of blueberry fruit[J]. *Food Chemistry*, 2023, 402: 134227.
- [23] KHAN M R, HUANG C X, DURRANI Y, et al. Chemistry of enzymatic browning in longan fruit as a function of pericarp pH and dehydration and its prevention by essential oil, an alternative approach to SO₂ fumigation[J]. *Peer J*, 2021, 9: 11539.
- [24] 车丽娜, 赵良忠, 周晓洁. 基于高通量测序的湘派卤牛肉细菌多样性分析[J]. *食品与机械*, 2023, 39(2): 1-13.
CHE L N, ZHAO L Z, ZHOU X J. Bacterial diversity analysis of Xiangpai brined beef based on high-throughput sequencing [J]. *Food & Machinery*, 2023, 39(2): 1-13.
- [25] ELMER P A G, REGLINSKI T. Biosuppression of *botrytis cinerea* in grapes[J]. *Plant Pathology*, 2006, 55(2): 155-177.
- [26] ESTEVES M, LAGE P, SOUSA J, et al. Biocontrol potential of wine yeasts against four grape phytopathogenic fungi disclosed by time-course monitoring of inhibitory activities[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2023, 14: 1146065.
- [27] 龙海江. 酥李主要病害防治药剂筛选及安全性评价[D]. 贵阳: 贵州大学, 2022: 2-3.
LONG H J. Screening and safety evaluation of fungicides for controlling main diseases of crisp plum (*Prunus salicina*) [D]. Guiyang: Guizhou University, 2022: 2-3.