



1-辛烯-3-醇防治采后桃果实软腐病的作用

王晓钊¹, 黄明明¹, 王玉宁², 杨文腾¹, 石晶盈^{1*}

1 山东农业大学食品科学与工程学院, 山东省高校食品加工技术与质量控制重点实验室, 山东 泰安 271018

2 山东省济宁市疾病预防控制中心, 山东 济宁 272500

王晓钊, 黄明明, 王玉宁, 杨文腾, 石晶盈. 1-辛烯-3-醇防治采后桃果实软腐病的作用. 微生物学报, 2022, 62(12): 4878–4893.

Wang Xiaozhao, Huang Mingming, Wang Yuning, Yang Wenteng, Shi Jingying. Effect of 1-octen-3-ol on soft rot of postharvest peach fruit. *Acta Microbiologica Sinica*, 2022, 62(12): 4878–4893.

摘要:【目的】桃果实易受匍枝根霉(*Rhizopus stolonifer*)侵染引起软腐病, 导致果实采后腐烂损失严重。目前人工合成的化学杀菌剂是控制桃果实采后病害的主要方法, 但长期使用容易带来食品安全隐患、病原菌抗药性和环境污染等问题。通过研究生物源抑菌成分 1-辛烯-3-醇对桃果实软腐病的控制作用, 为减少化学农药使用和控制采后桃果实软腐病提供理论基础。【方法】使用 1-辛烯-3-醇熏蒸接种匍枝根霉(*R. stolonifer*)后的桃果实, 对果实抗病相关基因表达和酶活性进行测定。通过离体试验, 研究 1-辛烯-3-醇熏蒸对匍枝根霉(*R. stolonifer*)菌丝和孢子的影响。【结果】55.80 μg/mL 1-辛烯-3-醇熏蒸处理可以显著降低桃果实的发病率和病斑直径($P < 0.05$), 提高几丁质酶(chitinase, CHI)和 β -1,3 葡聚糖酶(β -1,3-glucanase, GLU)的活性以及病程相关基因非表达子 1 (nonexpressor of pathogenesis-related protein 1, *NPRI*)、病程相关蛋白 1 (pathogenesis-related protein 1, *PRI*)、*CHI* 和 *GLU* 的基因表达量。离体试验结果显示, 1-辛烯-3-醇可抑制平板上匍枝根霉(*R. stolonifer*)菌丝的生长, 使菌丝体细胞结构遭到破坏, 同时显著降低麦角固醇含量($P < 0.05$), 抑制孢囊孢子的萌发和芽管伸长, 并通过破坏孢子的膜结构, 引起活性氧(reactive oxygen species, ROS)暴发与线粒体损伤。【结论】以上结果证实, 1-辛烯-3-醇熏蒸处理不仅能直接破坏匍枝根霉(*R. stolonifer*)的菌丝与孢子, 还可通过诱导桃果实的系统获得性抗性(systemic acquired resistance, SAR)抑制采后软腐病的蔓延。

关键词: 1-辛烯-3-醇; 桃果实; 软腐病; 匍枝根霉; 采后抗病

基金项目: 山东省高等学校“青创科技计划”项目(2020KJE007); 山东省自然科学基金(ZR2021MC024)

Supported by the Shandong College and Universities Plan of Youth Innovation Science and Technology Program (2020KJE007) and by the Shandong Provincial Natural Science Foundation (ZR2021MC024)

*Corresponding author. E-mail: jyshi80@163.com

Received: 29 March 2022; Revised: 5 June 2022; Published online: 26 July 2022

Effect of 1-octen-3-ol on soft rot of postharvest peach fruit

WANG Xiaozhao¹, HUANG Mingming¹, WANG Yuning², YANG Wenteng¹, SHI Jingying^{1*}

¹ Key Laboratory of Food Processing Technology and Quality Control in Shandong Province, College of Food Science and Engineering, Shandong Agricultural University, Tai'an 271018, Shandong, China

² Jining Center for Disease Control and Prevention, Jining 272500, Shandong, China

Abstract: [Objective] Soft rot of postharvest peach fruit, induced by *Rhizopus stolonifer*, causes huge economic loss. Synthetic fungicides, which are effective for controlling postharvest diseases of peach fruit, pose a threat to food safety, trigger resistance development in the pathogen, and pollute the environment in the instance of long-term use. In this study, we explored the potential inhibitory effect of the biogenic fungicide 1-octen-3-ol on soft rot of peach fruit, hoping to provide an environmentally friendly fungicide for this disease and a reference for the control of soft rot in postharvest peach fruit.

[Methods] The peach fruit was fumigated with 1-octen-3-ol after the inoculation with *R. stolonifer*, and the expression of disease resistance-related genes and activities of related enzymes were determined. The effect of 1-octen-3-ol on the hyphae and spores of *R. stolonifer* was investigated *in vitro*. **[Results]** Fumigation with 1-octen-3-ol at 55.80 $\mu\text{g/mL}$ reduced ($P < 0.05$) the incidence of the disease and lesion diameter and improved the expression of nonexpressor of pathogenesis-related 1 (*NPRI*), pathogenesis-related protein 1 (*PR1*), chitinase (*CHI*), and β -1,3-glucanase (*GLU*) genes, and the activities of *CHI* and *GLU*. The *in vitro* experiment showed that 1-octen-3-ol could inhibit the growth of *R. stolonifer* hyphae on the plate and destroy the cell structure of mycelium. Moreover, 1-octen-3-ol could reduce the content of ergosterol in mycelium ($P < 0.05$) and effectively suppress the germination of *R. stolonifera* sporangiospores and the elongation of germ tubes. It caused reactive oxygen species (ROS) burst and mitochondrial damage by destroying the membrane structure of spores, resulting in apoptosis.

[Conclusion] 1-octen-3-ol can not only directly destroy the hyphae and spores of *R. stolonifer*, but also induce systematic acquired resistance (SAR) of peach fruit to inhibit the spread of postharvest soft rot.

Keywords: 1-octen-3-ol; peach fruit; soft rot; *Rhizopus stolonifer*; postharvest disease resistance

桃 [*Prunus persica* (L.) Batsch] 属于蔷薇科 (*Rosaceae*)、李属 (*Prunus* L.)、桃亚属 (*Amygdalus* L.) 植物。桃果实汁多味美、营养丰富, 深受人们的喜爱^[1]。但因其多采收在高温高湿季节, 后熟软化导致其易受机械伤和病原菌侵染, 不利于贮藏运输。链核盘菌 (*Monilinia fructicola*)、灰葡萄孢 (*Botrytis cinerea*)、扩展青霉 (*Penicillium expansum*) 和匍枝根霉 (*Rhizopus stolonifer*) 是导致桃果实采后病害的主要病原菌, 其中匍枝根霉寄主范围广泛、发病率高、病程短, 极易造成果实相互侵染。因此抑制匍枝根霉引起的桃

果实软腐病, 探究其抑菌机理, 对桃果实采后贮藏保鲜具有重要的意义。人工合成化学杀菌剂的使用可有效抑制果实采后病害的发展, 但长期施用会对农业生产、环境及食品安全造成严重的影响。目前使用天然的植物提取物来抑制采后病害是一个减少或替代合成杀菌剂的安全手段。植物精油 (essential oils) 是从芳香植物的根、茎、叶、花、果皮等不同部位提取到的富含多种活性成分的挥发性物质, 对病原生物的抑制活性较高。Tian 等^[2]的研究发现, 150 $\mu\text{g/mL}$ 的百里香 (*Thymus vulgaris*) 精油对黄曲霉 (*Aspergillus*

flavus)抑制率可以达到 98.1%, 在此浓度下对黄曲霉毒素 B1 和黄曲霉毒素 B2 的产生有完全抑制作用。郑海洋等^[3]的研究表明, 白色念珠菌(*Candida albicans*)对香雪兰(*Freesia hybrid*)精油极度敏感, 可通过引起菌体形态改变、提高活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量、降低线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)起到抑制作用。国内外不少学者针对植物精油的抑菌机理进行研究, 普遍认为植物精油可破坏微生物细胞膜的完整性, 导致菌体内容物外泄, 而后精油进入细胞内, 造成细胞器结构的破坏和功能的紊乱, 最终导致微生物细胞的死亡^[3]。鲁萌萌等^[4]指出, 生姜(*Zingiber officinale* Roscoe)精油可以改变细菌细胞膜通透性, 对枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)、表皮葡萄球菌(*Staphylococcus epidermidis*)、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)及肺炎克雷伯菌(*Klebsiella pneumoniae*)均有一定的抑制作用。陈雪昱等^[5]通过扫描透射电镜研究发现, 茶树精油会破坏扩展青霉(*P. expansum*)菌体内部线粒体结构, 导致三羧酸循环和能量代谢异常, 是抑菌的主要机制。

1-辛烯-3-醇又被称作蘑菇醇, 是从植物和真菌中提取的天然产物。Liu 等^[6]的研究证实了余甘子(*Phyllanthus emblica*)精油对所测细菌及病原真菌具有广谱的抗菌作用, 通过 GC-MS 分析得出 1-辛烯-3-醇为其主要挥发性成分之一。张晓君等^[7]发现, 食品级挥发性有机化合物 1-辛烯-3-醇在浓度为 15 $\mu\text{L/L}$ 时可完全抑制黄曲霉(*A. flavus*)的生长, 对 *A. flavus* 菌丝体和孢子形态具有明显的致畸作用, 可破坏线粒体膜, 抑制黄曲霉毒素 B1 的合成。根据 Xiong 等^[8]的研究, 1-辛烯-3-醇可以抑制真菌的生长和孢子的萌发, 且对革兰氏阳性细菌具有较强的抗菌能力, 最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC)为 1.0 mg/mL,

最小杀菌浓度(minimum bactericidal concentration, MBC)为 4.0 mg/mL。目前, 1-辛烯-3-醇在采后果实抗病方面的研究与应用较少, 并且对其抑菌机理研究不够充分。因此, 使用 1-辛烯-3-醇处理桃果实并探究其抑制匍枝根霉及其引起的果实软腐病的机理, 对于采后桃果实软腐病的有效防治具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用的桃果实采摘于山东省淄博市沂源县, 为晚熟品种映霜红。挑选大小、形状、成熟度一致, 无病虫害和机械伤的果实, 在 10 $^{\circ}\text{C}$ 下放置 24 h 散去田间热后, 入库备用^[9]。

匍枝根霉(*R. stolonifer*)分离于具有典型软腐病症状的桃果实, 纯化鉴定后接种于马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基斜面上, 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。接种处理前, 将斜面上的菌种转接至 PDA 平板中, (25 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 培养 7 d 后用无菌水将病原菌的孢囊孢子洗出, 用血细胞计数板将浓度稀释至 1×10^5 个孢子/mL, 备用。

1.2 1-辛烯-3-醇熏蒸处理对采后桃果实软腐病的影响

1.2.1 桃果实的处理

桃果实于 100 $\mu\text{L/L}$ 次氯酸钠溶液中浸泡消毒 10 min, 捞出自然晾干。用无菌接种针在桃果实的赤道部位刺 3 个孔(呈等边三角形, 深 4 mm, 宽 2 mm), 接种 20 μL 1×10^5 个孢子/mL 悬浮液, 放入密封盒中(301 mm \times 188 mm \times 144 mm), 每个盒中放置 4 个桃子, 各密封空间中 1-辛烯-3-醇(Fluka-Sigma Aldrich)的最终浓度分别为 0 (对照, control)、37.20、55.80、74.40 $\mu\text{g/mL}$, 采用连续熏蒸的方法处理桃果实。参考张正敏等^[10]的方法, 在接种病原菌后第 48、60、72、84、96 h 统计果实发病率及病斑直径。确定 1-辛

烯-3-醇的最佳处理浓度后, 后续处理组如下:
 (1) *R. stolonifer*, 接种匍枝根霉菌后直接密封;
 (2) *R. stolonifer*+1-octen-3-ol, 接种匍枝根霉菌后添加 1-辛烯-3-醇, 密封连续熏蒸。每个取样时间点, 每种处理打开 3 个密封盒, 每种处理浓度准备 20 组, 置于恒温恒湿箱[(25±1) °C, 85%-90% RH]中, 在 0、6、12、24、48、72 h 去除病斑周围组织后迅速切成小块放入液氮中取样, 用于后续指标测定。

1.2.2 基因表达量的测定

参考 Yu 等^[11]的方法, 桃果实总 RNA 的提取参照天根 RNAPrep 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒(DP441)的说明书进行。使用康为世纪 HiFiScript cDNA 合成试剂盒(CW2596)进行反转录。参考文献[12]进行引物设计, 选择 *TEF2* (TC3544)作为内参基因, 引物列于表 1。使用诺唯赞通用型高灵敏度染料法 qPCR 检测试剂盒(Q711-02/03)进行检测, 反应体系为 25 μL。

表 1 实时 qPCR 分析所用引物

Gene name	Primer sequences
<i>TEF2</i>	F: GGTGTGACGATGAAGAGTGATG
	R: TGAAGGAGAGGGAAGGTGAAAAG
<i>NPR1</i>	F: GGAACCTCGCCAAGGAATACG
	R: GAAATCAACGACGGGTCTACAA
<i>PR1</i>	F: TGCCCAAAACTCACCCC
	R: TTCTCCGCCACCCACAT
<i>CHI</i>	F: GTTGCTACAGACCCTGTTAT
	R: TGGAGCCGACAAGTCAGCAG
<i>GLU</i>	F: CCCATCATCCGCTTCAT
	R: CCCAGGTTCCCATCTTGT

1.2.3 桃果实 CHI 和 GLU 酶活性的测定

以胶状几丁质为底物, 参照 Boller 等^[13]的方法, 根据标准曲线计算生成的 Glc-NAc 量计算样品 CHI 活性, 以每增加 0.01 个光密度值所需量为 1 个酶活性单位(U), CHI 单位为 U/g FW。

以昆布多糖为底物, 参照 Ghaouth 等^[14]的方法测定 GLU 活性, 以每克样品 30 min 从还原糖中释放出 1 mg 葡萄糖量为 1 个酶活力单位(U), GLU 单位为 U/g FW。

1.3 1-辛烯-3-醇对匍枝根霉菌丝的抑制试验

1.3.1 平板抑菌试验

采用倒置培养法, 将不同剂量的 1-辛烯-3-醇滴在直径为 5 mm 的无菌滤纸上, 放于培养皿内, 使培养皿剩余空间终浓度分别为 0 (对照, control)、37.20、55.80、74.40 μg/mL。将直径为 6 mm 的菌饼置于 PDA 培养基上, 密封后(25±1) °C 培养。分别在 12、24、36、48、60、72 h 测量菌斑直径。

1.3.2 1-辛烯-3-醇对匍枝根霉菌丝体超微结构的影响

将上述对照组与 55.80 μg/mL 1-辛烯-3-醇处理组的匍枝根霉菌在(25±1) °C 培养 72 h 后, 将培养基切成正方形的小块, 在 2.5%的戊二醛溶液中浸泡, 并在 4 °C 下固定过夜。用磷酸缓冲液漂洗后, 使用 1%锇酸固定液于 4 °C 下固定 6 h。使用浓度梯度乙醇逐级脱水后, 固定、切片、喷金。使用透射电子显微镜(JEM-1200 EX)对菌丝进行观察。

1.3.3 菌体麦角固醇含量的测定

用打孔器从培养 1 周的根霉菌边缘切下新鲜的菌块, 转移入 20 mL 马铃薯葡萄糖液体(potato dextrose broth, PDB)培养基中, (25±1) °C 静置培养 3 d。收集菌丝体, 用无菌水洗涤, 转移到新的玻璃培养皿中, 保证每皿的菌丝体湿重为 2 g。将 1-辛烯-3-醇滴加在培养皿盖上, 使菌丝体暴露于 0 (对照, control)、37.20、55.80、74.40 μg/mL 的 1-辛烯-3-醇中, 分别于处理后的 24、48、72 h 收集菌丝体备用。采用 Liu 等^[15]的方法, 取上述菌丝 1.0 g, 加入 10% KOH 的甲醇溶液 15 mL 混匀, 80 °C 水浴皂化 90 min, 冷却至室温后加入石油醚(沸程: 30–60 °C) 15 mL, 提取 3 次, 合并提取液, 用去离子水洗涤, 醚层于

60 °C 挥干后用甲醇溶解, 定容至 10 mL。所有标准品及样品用 $\phi=0.45\ \mu\text{m}$ 孔径的聚四氟乙烯膜过滤。使用 C18 色谱柱(250 mm \times 4.6 mm, 5 μm), 流动相为色谱甲醇, 检测波长为 282 nm, 流速 1 mL/min, 进样量 20 μL , 每个试验重复 3 次, 根据麦角固醇标品(上海源叶生物有限公司)的标准曲线, 计算菌丝中麦角固醇的含量。

1.4 孢子萌发率和芽管长度的统计

用无菌刷轻轻扫下培养基表面的孢囊孢子, 收集于培养皿中。将 1-辛烯-3-醇滴在培养皿底部, 使空间终浓度分别为 37.20、55.80、74.40 $\mu\text{g/mL}$, 以不添加 1-辛烯-3-醇的处理为对照(control)。分别于处理后的 24、48、72 h 用 0.01 mol/L PBS (pH 7.2) 冲洗下培养皿中的孢子, 于(25 \pm 1) °C 孵育 0、12、24、36、48 h。根据 Olmedo 等^[16]的方法, 将收集好的孢囊孢子重悬于 1 mL 0.01 mol/L PBS (pH 7.2) 中, 用血球计数板调整浓度为 1×10^5 个孢子/mL, 取 200 μL 制片。在研究级荧光倒置显微镜(IX73, 奥林巴斯)的明场下观察孢囊孢子的萌芽情况, 每个孔位至少观察 100 个孢子, 拍照并记录相应数据。孢子的萌发率按公式(1)计算。

$$\text{孢子萌发率(\%)} = \frac{\text{萌发孢子数量}}{\text{所观察孢子总数}} \times 100 \quad \text{公式(1)}$$

孵育 4、6、8、10、12 h 后, 对孢子的芽管长度进行测定, 每个视野统计 100 个孢子的芽管长度, 对所统计的芽管长度求平均值即可得芽管平均长度。

1.5 孢子通透性、ROS 和线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)的测定

根据 1.4 中所述, 用 55.80 $\mu\text{g/mL}$ 的 1-辛烯-3-醇熏蒸处理孢囊孢子, 参考 Ji 等^[17]的方法, 将碘化丙啶(PI)添加到孢子悬浮液中, 使其终浓度为 1 $\mu\text{g/mL}$; 根据 Hartwig 等^[18]的方法, 将

2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)添加到孢子悬浮液中, 使其终浓度为 10 $\mu\text{mol/L}$; 根据 Zheng 等^[19]的方法, 将 CBIC2(3)(JC-1)添加到孢子悬浮液中, 使其终浓度为 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 。将上述体系在黑暗中 25 °C 条件下孵育 20 min, 用 0.01 mol/L PBS 缓冲液(pH 7.2)洗涤 3 次, 6 000 \times g 离心 5 min 收集孢子, 重悬于 1 mL 0.01 mol/L PBS 缓冲液(pH 7.2)中。在研究级荧光倒置显微镜下观察孢子的染色情况, PI 染色后在激发波长 488 nm、发射波长 630 nm 条件下观察红色荧光; DCFH-DA 染色后在激发波长 504 nm、发射波长 529 nm 条件下观察绿色荧光; JC-1 染色后在激发波长 514 nm、发射波长 529 nm 下观察绿色荧光。

1.6 1-辛烯-3-醇熏蒸处理对桃果实品质的影响

参照 Nava 等^[20]与 Li 等^[21], 取 5.0 g 果肉放入研钵中, 研磨过滤后分别使用手持糖度计(WYT-32)和水果酸度测定仪(G-WON GMK-835N)测量可溶性固形物(%)与可滴定酸含量(%)。

1.7 数据处理

使用 Microsoft Excel 2013 整理试验数据, 用 SigmaPlot 13.0 软件作图、计算均值及标准偏差。采用 IBM SPSS Statistics 20.0 软件进行数据统计分析, 用 Duncan 新复极差法进行显著性($P<0.05$)水平检验。所有试验均包含 3 次生物重复, 每个生物重复进行 3 次技术重复。

2 结果与分析

2.1 1-辛烯-3-醇熏蒸处理对采后桃果实软腐病发病率和病斑直径的影响

接种匍枝根霉的桃果实经不同浓度 1-辛烯-3-醇熏蒸后, 在贮藏 4 d 内的发病情况如图 1 所示, 1-辛烯-3-醇熏蒸处理可显著抑制桃果实软腐病的发病速率($P<0.05$), 并且在高浓度条件下

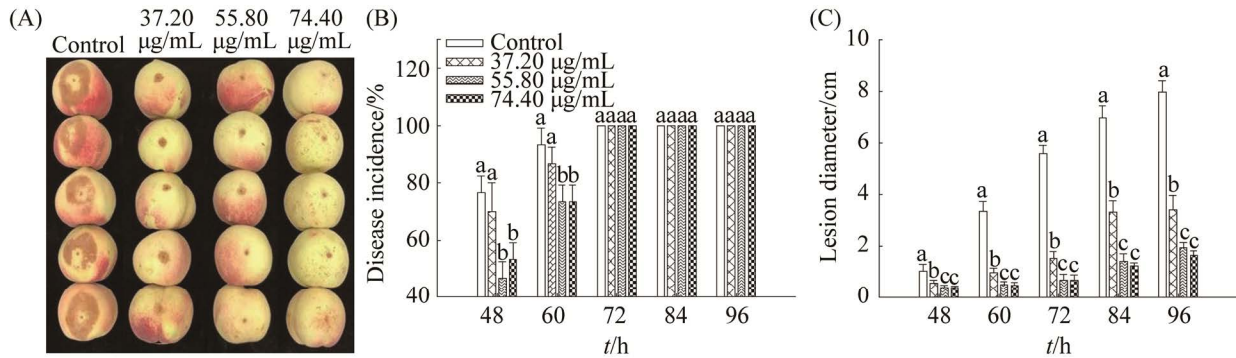


图 1 不同浓度 1-辛烯-3-醇熏蒸处理对桃果实软腐病的影响

Figure 1 Effect of 1-octen-3-ol fumigation at different concentrations on soft rot of peach fruit. A: picture of peach fruit inoculated with *R. stolonifer* after 72 h; B: disease incidence; C: lesion diameter. Means±SE of three replicate experiments are shown. Means with different letters are significantly different at $P<0.05$.

效果更为明显(图 1B)。在贮藏到 48 h 时, 37.20、55.80 和 74.40 µg/mL 1-辛烯-3-醇熏蒸处理组与对照组相比发病率分别下降了 6.67%、30.00%、23.33%。在 72 h 后, 发病率虽然都是 100%, 但从图 1C 可以看出, 处理组病斑面积均显著低于对照组($P<0.05$)。虽然 37.20 µg/mL 1-辛烯-3-醇对桃果实软腐病具有一定的抑制效果, 但效果比 55.80 µg/mL 和 74.40 µg/mL 处理组的稍差, 但高浓度处理会对桃果实产生伤害, 表现为果实表面出现褐色斑点(图 1A), 同时 55.80 与 74.40 µg/mL 2 个处理组间菌斑直径没有显著性差异($P>0.05$)。因此在后续的试验中以 55.80 µg/mL 的 1-辛烯-3-醇熏蒸浓度作为处理。

2.2 1-辛烯-3-醇对桃果实抗病相关基因表达和酶活性的影响

55.80 µg/mL 的 1-辛烯-3-醇熏蒸处理可显著诱导桃果实 *NPR1* 基因的表达水平($P<0.05$), 48 h 后处理组 *NPR1* 的表达水平是对照组的 10.23 倍(图 2A)。PR 蛋白的相关表达与 SAR 密切相关, 但是本研究结果显示, 1-辛烯-3-醇熏蒸处理后 *PR1* 表达量仅在 12、24、48 h 上调, 且上调水平较小(图 2B)。1-辛烯-3-醇处理后 *CHI* 基因表达水平在 48 h 为对照组的 1.90 倍(图 2C), 且此时 *CHI* 的酶活性达到峰值, 是对

照组的 1.45 倍(图 2E)。*GLU* 的基因表达在早期变化相对稳定, 在 48 h 时突然增加, 是对照组的 3.78 倍(图 2D)。*GLU* 酶活性先升高后降低, 在 48 h 时达到最高, 处理组为对照组的 1.20 倍(图 2F)。因此 1-辛烯-3-醇熏蒸处理可通过增加桃果实 *CHI*、*GLU* 酶活性与抗病相关基因表达量, 增强对匍枝根霉的抵抗力。

2.3 1-辛烯-3-醇熏蒸对匍枝根霉菌丝生长的影响

如图 3 所示, 1-辛烯-3-醇熏蒸处理显著抑制了 PDA 平板上匍枝根霉菌丝体的生长($P<0.05$), 且随着 1-辛烯-3-醇作用浓度的增加抑制效果愈加明显。在 72 h 时对照组的菌斑直径达到了 86.62 mm, 而 55.80 µg/mL 的处理浓度下的根霉菌生长直径仅为 24.07 mm。当 1-辛烯-3-醇的空间浓度达到 74.40 µg/mL 时, 在 72 h 内根霉菌的生长被完全抑制。

2.4 1-辛烯-3-醇熏蒸对菌丝体微观结构的影响

透射电镜结果表明, 对照组的菌丝体细胞壁光滑完整, 细胞基质均匀, 细胞器形态较清晰, 线粒体、脂质体数量较多且清晰可见(图 4A、4C)。熏蒸处理组中, 匍枝根霉菌丝体细胞壁变薄, 部分区域出现漏洞, 细胞内部组成紊乱, 线

粒体形态异常，脂质体肿胀，出现较大的空洞(图4B、4D)。因此 1-辛烯-3-醇熏蒸处理破坏了菌丝

体原有的形态结构，并对内部细胞器造成了损伤，破坏了菌体膜结构，进而影响匍枝根霉的生长。

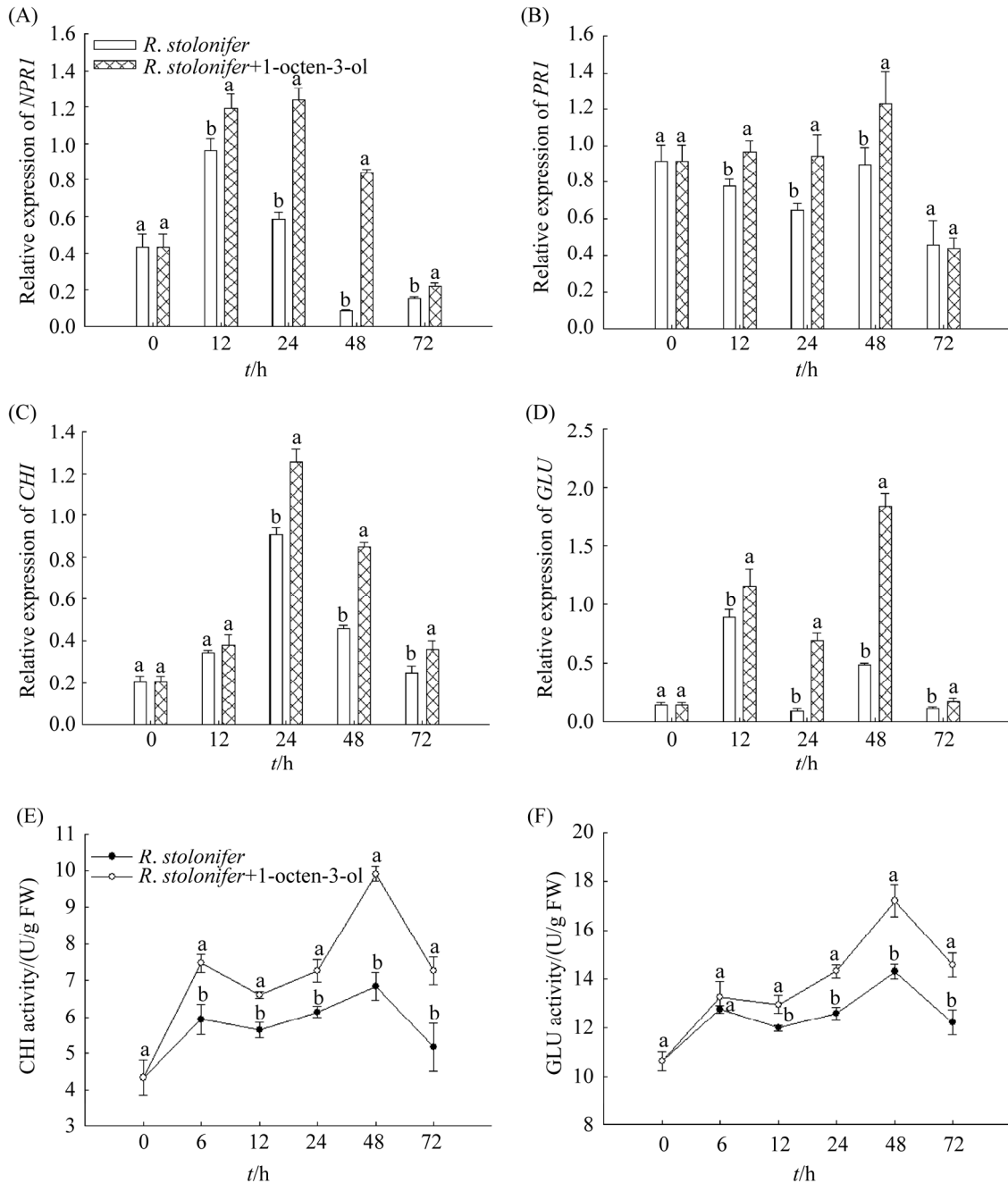


图 2 1-辛烯-3-醇熏蒸处理对桃果实抗病相关基因表达量和防御酶活性的影响

Figure 2 Effect of 1-octen-3-ol fumigation treatment on the relative genes expression and defensive enzyme activities in peach fruit. Genes expression of *NPR1* (A), *PRI* (B), *CHI* (C), *GLU* (D), and the enzymes activities of *CHI* (E) and *GLU* (F). Means \pm SE of three replicate experiments are shown. Means with different letters are significantly different at $P < 0.05$.

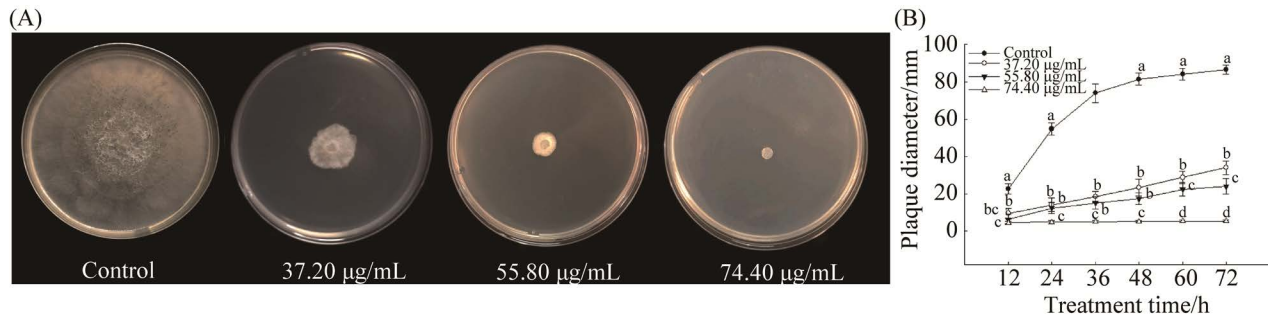


图 3 1-辛烯-3-醇对匍枝根霉菌丝生长的影响

Figure 3 Effect of 1-octen-3-ol on the growth of *R. stolonifer* hyphae on the plate. A: picture of the growth inhibition of *R. stolonifer* on the plate after 72 h; B: plaque diameter (mm). Means±SE of three replicate experiments are shown. Means with different letters are significantly different at $P<0.05$.

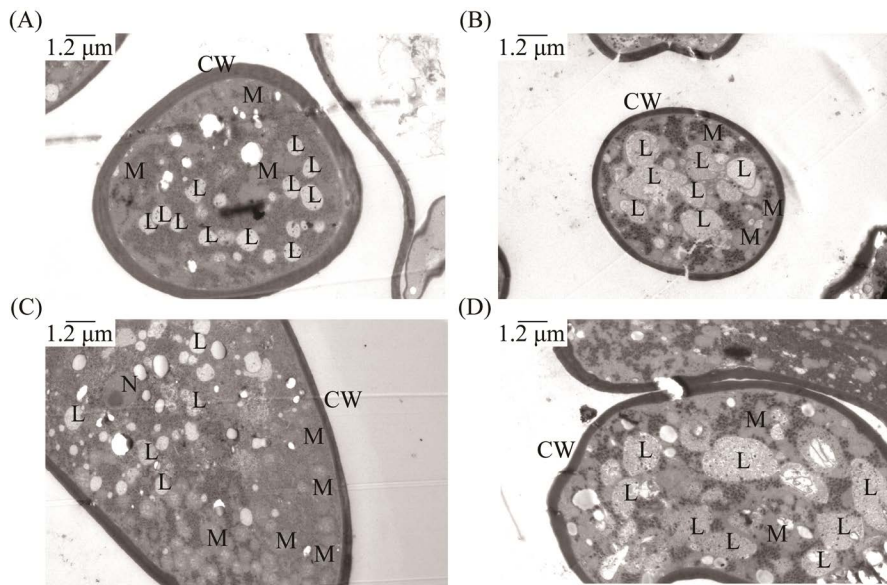


图 4 1-辛烯-3-醇熏蒸处理对匍枝根霉微观结构的影响

Figure 4 Effect of 1-octen-3-ol fumigation treatment on the microstructure of *R. stolonifera*. A: cross section of control group, magnify 25 000 times; B: cross section of treatment group, magnify 25 000 times; C: longitudinal section of control group, magnify 25 000 times; D: longitudinal section of treatment group, magnify 25 000 times. CW: cell wall; L: liposomes; M: mitochondria; N: nucleus.

2.5 1-辛烯-3-醇对匍枝根霉麦角固醇含量的影响

1-辛烯-3-醇对菌丝体麦角固醇的影响如图 5 所示, 随着处理浓度的增加与处理时间的延长, 麦角固醇的含量显著降低($P<0.05$)。且随时间的推移, 高浓度处理效果愈加显著。72 h 时,

在 37.20 µg/mL 1-辛烯-3-醇处理下, 麦角固醇含量为对照组的 61.14%; 当浓度增加到 74.40 µg/mL 时, 麦角固醇含量急剧下降, 仅为对照组的 25.15%。以上结果表明, 1-辛烯-3-醇熏蒸处理减少了匍枝根霉菌体麦角固醇的含量, 说明菌体膜结构可能是 1-辛烯-3-醇的一个重要作用位点。

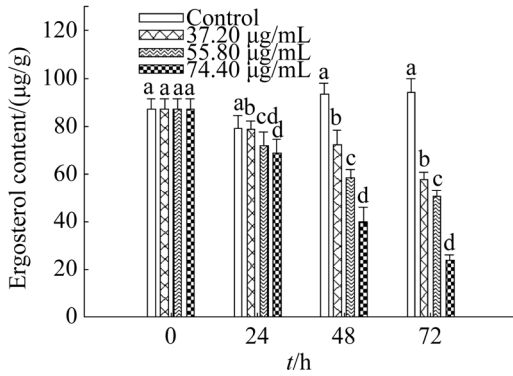


图 5 1-辛烯-3-醇熏蒸对匍枝根霉菌丝体麦角固醇含量的影响

Figure 5 Effect of 1-octen-3-ol fumigation on the content of ergosterol of *R. stolonifera*. Means±SE of three replicate experiments are shown. Means with different letters are significantly different at $P<0.05$.

2.6 1-辛烯-3-醇对匍枝根霉孢子萌发和芽管伸长的影响

关于匍枝根霉孢子对 1-辛烯-3-醇的敏感性

进行了研究, 结果发现孵育 48 h 后, 对照组的孢子发芽率约为 99.74%。随着 1-辛烯-3-醇浓度的增加, 孢子萌发率逐渐降低, 当添加浓度增加到 74.40 $\mu\text{g/mL}$ 时, 孢子萌发率降低到 66.51% (图 6A), 说明 1-辛烯-3-醇可有效抑制匍枝根霉孢子的萌发。1-辛烯-3-醇浓度为 74.40 $\mu\text{g/mL}$ 时, 孢子的芽管伸长受到显著抑制($P<0.05$), 孵育 12 h 后芽管平均长度仅为对照组的 24.77% (图 6B)。由此可知, 1-辛烯-3-醇熏蒸处理抑制了匍枝根霉孢子的萌发与芽管伸长。为了更加直观地观察 1-辛烯-3-醇熏蒸对孢子萌发与芽管伸长的影响, 在显微镜下观察了 55.80 $\mu\text{g/mL}$ 1-辛烯-3-醇熏蒸处理不同时间后孢子孵育 6 h 后图片, 结果如图 6C 所示, 随着熏蒸时间的延长, 孢子的萌发和芽管的长度明显降低。

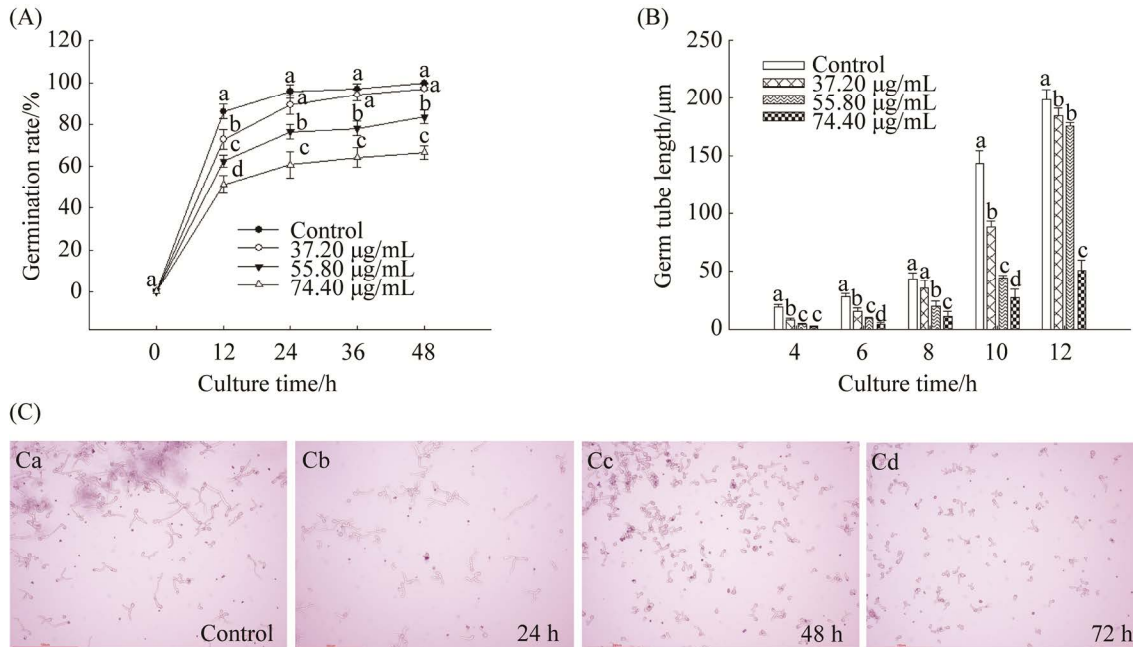


图 6 不同浓度 1-辛烯-3-醇对匍枝根霉孢子萌发、芽管伸长的影响

Figure 6 Effect of 1-octen-3-ol fumigation at different concentrations on *R. stolonifera* spores germination and tube length. A: germination rate; B: tube length; C: the pictures of spores incubated for 6 h after 55.80 $\mu\text{g/mL}$ 1-octen-3-ol treatment, (Ca) control group, (Cb) fumigated for 24 h, (Cc) fumigated for 48 h, (Cd) fumigated for 72 h. Means±SE of three replicate experiments are shown. Means with different letters are significantly different at $P<0.05$.

2.7 1-辛烯-3-醇对匍枝根霉孢子通透性、ROS 含量以及 MMP 的影响

用 PI 染料评估在 1-辛烯-3-醇熏蒸处理下匍枝根霉孢子的损伤情况(图 7A)。在处理 24 h 后, 对照组孢子仅检测到微弱荧光, 而随着 1-辛烯-3-醇熏蒸时间的延长, 处理组红色荧光染色率增加。当 55.80 $\mu\text{g/mL}$ 1-辛烯-3-醇处理 72 h 时, 其孢子染色率为 39.33%, 是对照组的 18.15 倍。以上结果表明, 1-辛烯-3-醇处理增加了膜通透性, 对匍枝根霉的孢子具有显著破坏作用($P<0.05$)。熏蒸时间越长, 视野下孢子的红色荧光比例越高, 对孢子的损伤越强。如图 7B

所示, 用 DCFH-DA 染料检测匍枝根霉孢子中 ROS 含量。未经 1-辛烯-3-醇处理的孢子在暗视野中绿色荧光积累显著低于处理组($P<0.05$), 当 1-辛烯-3-醇熏蒸处理 24 h 后约有 4.13%的孢子显示绿色荧光, 为对照组的 3.13 倍。随着处理时间的延长, 荧光孢子的比例逐渐增加。在 72 h 时, 约有 10.83%的孢子在暗场中发出了强烈的绿色荧光, 是对照组的 8.21 倍。图 7C 展示的是用 JC-1 染料评估的 MMP 结果, 可以看出随着处理时间的延长, 视野中绿色荧光的比率显著升高($P<0.05$)。当 1-辛烯-3-醇熏蒸处理 72 h 时, 暗视野中的染色率是对照组的 5.72 倍。

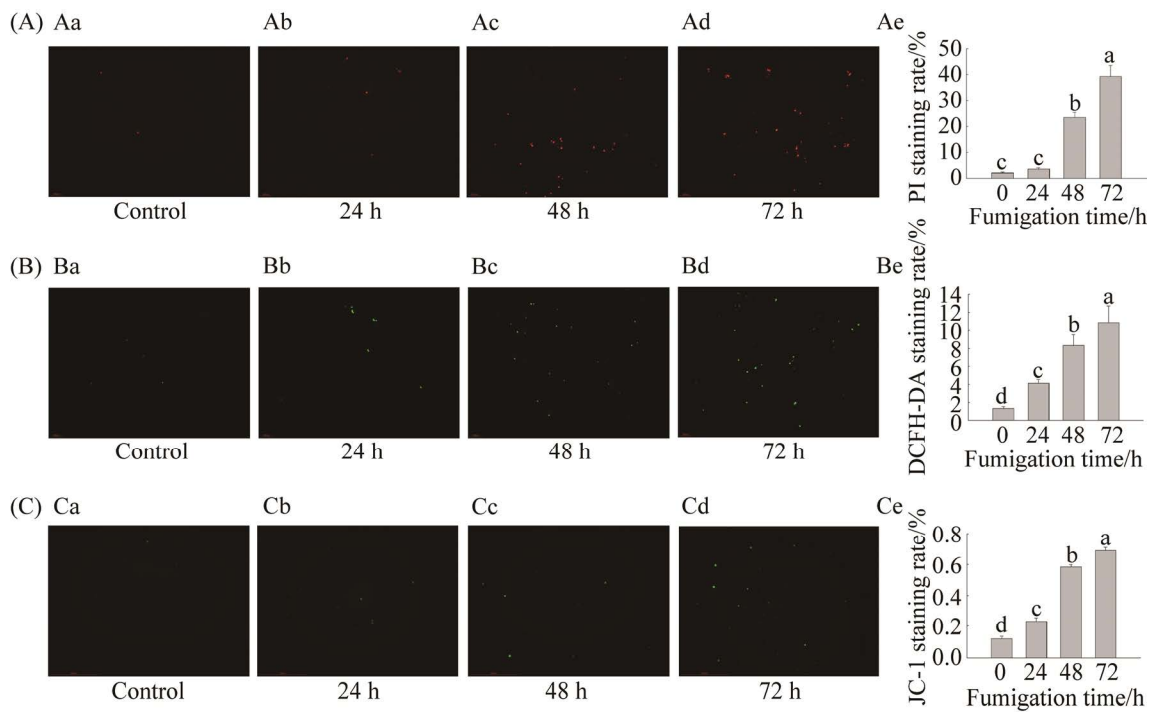


图 7 1-辛烯-3-醇熏蒸处理对匍枝根霉孢子的影响

Figure 7 Effect of 1-octen-3-ol fumigation on spores of *R. Stolonifera*. A: PI staining of control group (Aa), fumigation for 24 h (Ab), fumigation for 48 h (Ac), fumigation for 72 h (Ad), determination of spores damage by PI staining rate (Ae); B: DCFH-DA staining of control group (Ba), fumigation for 24 h (Bb), fumigation for 48 h (Bc), fumigation for 72 h (Bd), determination of ROS content in spores by DCFH-DA staining rate (Be); C: JC-1 staining of control group (Ca), fumigation for 24 h (Cb), fumigation for 48 h (Cc), fumigation for 72 h (Cd), determination of MMP by JC-1 staining rate (Ce). Means \pm SE of three replicate experiments are shown. Means with different letters are significantly different at $P<0.05$.

2.8 1-辛烯-3-醇熏蒸处理对桃果实可溶性固形物与可滴定酸含量的影响

为了进一步评估 1-辛烯-3-醇对桃果实品质的影响,测量了果实中可滴定酸和可溶性固形物含量。如图 8 所示,1-辛烯-3-醇熏蒸处理对接种匍枝根霉的桃果实品质指标没有显著影响 ($P>0.05$)。

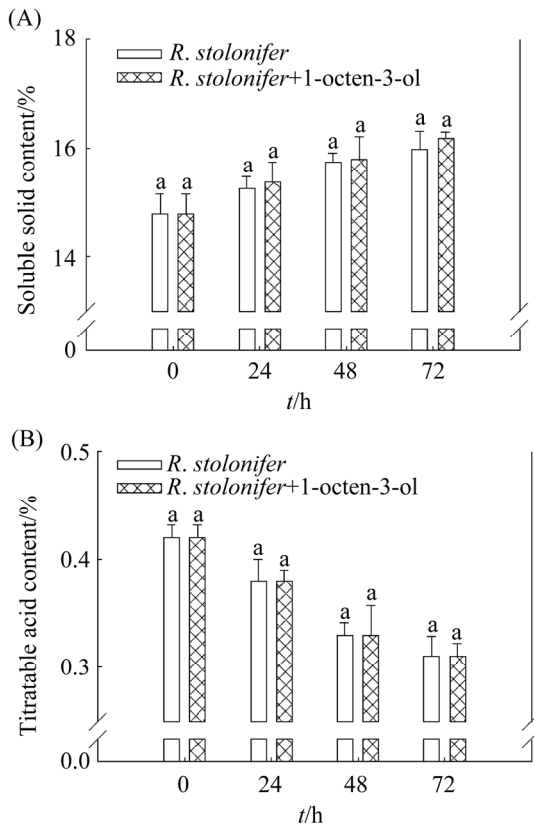


图 8 1-辛烯-3-醇熏蒸处理对接种匍枝根霉的桃果实可溶性固形物(A)与可滴定酸(B)含量的影响
Figure 8 Effect of 1-octen-3-ol fumigation on the content of soluble solid (A) and titratable acid (B) in peach fruit inoculated with *R. stolonifera*.

3 讨论

1-辛烯-3-醇最初是在真菌中发现的香气物质,此后也证实其存在于许多植物中。1-辛烯-3-醇已被美国食品与药品管理局(U. S. Food and

Drug Administration, FDA)收录于食品添加剂数据库,联合国粮食及农业组织(Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO)和世界卫生组织(World Health Organization, WHO)也批准其作为调味剂^[22]。通过对其安全性评估,发现 1-辛烯-3-醇不具备遗传毒性、光毒性与光过敏性,根据国际香水协会(The International Fragrance Association, IFRA)标准,1-辛烯-3-醇不具备持久性、生物累积性和毒性(persistent, bioaccumulative and toxic, PBT),基于其当前在欧洲和北美的使用量,即预测环境浓度/预测无影响浓度(predicted environmental concentration/predicted no effect concentration, PEC/PNEC),其风险商小于 1^[23]。有文献报道,1-辛烯-3-醇处理对甜樱桃贮藏过程中果实重量损失、可溶性固形物和可滴定酸含量等品质指标无不利影响^[24]。在本研究中也发现同样的结果,即在最适浓度(55.80 $\mu\text{g}/\text{mL}$) 1-辛烯-3-醇熏蒸处理后,桃果实可溶性固形物和可滴定酸相比于对照组没有显著性差异($P>0.05$) (图 8)。自然挥发熏蒸处理是一种简单、易操作的处理方法,可最大程度节省人力物力。王丹等^[25]使用 0.03 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 肉桂皮(*Cinnamon*)精油熏蒸处理蓝莓果实后接种链格孢菌(*A. alternata*),取得了良好的病害防治效果,当熏蒸浓度高于 0.06 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 反而会增加蓝莓果实发病率。本研究发现,空间浓度 55.80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 1-辛烯-3-醇对桃果实软腐病的防治效果最好,浓度较高反而易对果实造成伤害(图 1A)。Kishimoto 等^[26]发现,1-辛烯-3-醇处理能增强拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)对灰葡萄孢(*B. cinerea*)的抵抗力,与本研究结果一致。1-辛烯-3-醇还可通过抑制菌生轮枝菌(*Lecanicillium funccola*),降低双孢蘑菇干泡病的发生率^[27]。但目前 1-辛烯-3-醇在抑制果实采后病害的应用尚未见报道,该研究为减轻果蔬病

原真菌引起的采后病害提供了一种新颖且安全的方法。

在自然界中, 1-辛烯-3-醇参与植物细胞防御反应, 在植物-草食动物相互作用和植物-植物相互作用中充当信号分子, 通过上调甲基茉莉酸、吲哚-3-乙酸和赤霉素 A3 的合成, 诱导坛紫菜抵抗附生细菌^[28]。用 1-辛烯-3-醇处理拟南芥, 诱导了一些由于受伤或乙烯、茉莉酸信号转导而激活的防御基因, 增强了植物对灰葡萄孢的抵抗力, 通过比较发现该诱导模式与茉莉酸甲酯引起的模式相似^[26]。NPR1 是一个重要的正向调控因子, 可与转录因子 TGA 作用, 诱导植物抗病基因的表达^[29]。NPR1 作为抗病性诱导的关键基因, 处于 SAR 和 ISR 信号上游^[30]。1-辛烯-3-醇处理后桃果实 NPR1 表达量被显著诱导, 而处理组 PRI 的表达只略高于对照组并未成倍增加(图 2A, 2B), 所以推测 1-辛烯-3-醇处理下桃果实对匍枝根霉侵染的抗性应答类似于 SAR, 但该过程还需进一步的试验验证。CHI 和 GLU 可以水解真菌细胞壁中的几丁质和 β -1,3-葡聚糖, 从而破坏病原真菌的细胞结构并抵抗真菌侵染。汪开拓等^[31]发现, 较高的 CHI 和 GLU 活性可以有效减少桃果实采后灰霉病的发生。Jin 等^[32]的研究表明, 外源 L-谷氨酸处理可诱导 CHI 和 GLU 基因表达和增加酶活性, 并提高了梨果实对青霉菌的抗性。在本研究中也发现了相似的结果, 用 1-辛烯-3-醇处理后, 桃果实中的 CHI 和 GLU 活性显著高于对照, 较高的 CHI 和 GLU 活性可以有效破坏匍枝根霉细胞壁中的几丁质和 β -1,3 葡聚糖, 从而增强桃果实对匍枝根霉的抗性。

在平板上的试验发现 1-辛烯-3-醇处理抑制了匍枝根霉菌丝的扩展并对菌丝结构产生影响(图 3, 图 4), 这与 Yin 等^[33]的研究结果相似, 1-辛烯-3-醇处理抑制了产黄青霉菌(*Penicillium*

chrysogenum) 和黑曲霉(*Aspergillus niger*) 菌斑直径。Li 等^[24]的研究发现, 1-辛烯-3-醇对体外灰霉菌(*B. cinerea*) 的菌丝延伸以及采后果实灰霉病具有显著抑制作用($P < 0.05$), 1-辛烯-3-醇可通过介导相关基因表达, 抑制病原菌孢子萌发, 影响其致病性。通过透射电镜结果发现, 1-辛烯-3-醇处理后匍枝根霉菌丝形态结构发生改变, 细胞器结构遭到破坏, 线粒体形态异常(图 4), 这是菌体细胞损伤的重要因素之一。陈可欣等^[34]的研究发现, 香樟(*Cinnamomum camphora*) 精油处理抑制了灰绿曲霉(*Aspergillus glaucus*) 的生物活性, 破坏菌体膜完整性, 导致线粒体 ATP 酶活力下降。此外通过透射电镜发现, 0.3 mg/mL 丁香酚处理抑制了菌体内部细胞器的形成^[35]。Xiong 等^[8]通过扫描电镜发现 1-辛烯-3-醇使枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) 和表皮葡萄球菌(*S. epidermidis*) 表面变得粗糙, 并且出现不规则皱纹, 对菌体细胞壁和细胞膜造成破坏。这些研究结果都与本研究结果一致。

麦角固醇是真菌细胞膜的重要组成部分, 在真菌的生长过程中, 对保持细胞膜结构完整性、膜结合酶活性、膜流动性、细胞活力和物质运输方面起着重要作用^[36]。麦角固醇的缺乏或减少会导致真菌细胞膜结构的丧失甚至细胞死亡^[37]。本研究发现, 1-辛烯-3-醇处理后菌丝的细胞膜遭到破坏, 麦角固醇的合成降低(图 5)。与本研究结果类似, 白色念珠菌经茴香(*Anethum graveolens* L.) 精油处理后, 细胞膜上麦角固醇的正常生物合成被阻断, 且随着处理浓度的增加, 麦角固醇含量显著下降, 因此细胞膜被认为是茴香精油(*A. graveolens*) 抑制真菌的重要靶标^[38]。结合电镜和麦角固醇的结果, 进一步证实 1-辛烯-3-醇对菌体细胞膜的破坏作用。同时, 本研究发现 1-辛烯-3-醇熏蒸可以抑制孢囊孢子的萌发和芽管伸长, 并且具有较强的浓度依赖

性。Chitarra 等^[39]也发现了相同的结果, 1-辛烯-3-醇是青霉菌孢子发芽的抑制剂, 可降低80%的发芽率。1-辛烯-3-醇还被证实可以抑制腐烂假单胞菌(*Pseudogymnoascus destructans*)的菌丝和分生孢子生长^[40]。以上结果说明, 1-辛烯-3-醇不仅可以破坏匍枝根霉菌丝体结构, 还可以有效抑制其孢子萌发。

通过染色评估了1-辛烯-3-醇对匍枝根霉的孢子损伤。细胞膜在维持细胞内环境的平衡方面起着重要作用, 从而保证整个细胞的生命活动以有序和协调的方式进行^[41]。PI 是用于检测膜结构完整性的核染色剂, 它可以以嵌入方式与双链 DNA 结合, 当细胞正常存活时, PI 不能穿过完整细胞膜与 DNA 结合, 但是当细胞膜受损时, PI 便可穿过受损的细胞膜进入细胞, 然后与双链 DNA 结合, 并在一定条件下显示红色荧光, 用 PI 染料可以在一定程度上评估分生孢子的完整性。本研究发现, 经1-辛烯-3-醇处理过后匍枝根霉孢子的 PI 染色率显著升高, 并随着时间推移, 红色荧光比例与强度增强(图 7A)。ROS 是一种具有高化学反应活性的氧化代谢产物, 例如羟基自由基、超氧阴离子自由基和过氧化氢。ROS 含量的增加也可能导致 DNA 的破坏和片段化, 最终使细菌无法进行正常的基因复制而死亡^[42]。黑胡椒(*Piper nigrum*)精油可以诱导细菌细胞产生大量的 ROS, 引起 DNA 链断裂, 同时抑制 DNA 聚合酶的活性, 阻碍 DNA 修复并影响细胞的正常生长^[43]。DCFH-DA 是 ROS 捕获剂, 当 ROS 存在于菌丝体细胞, 可以被氧化成带有荧光的 DCF, 可以通过检测荧光强度反映菌丝体细胞的 ROS 含量。本研究发现经过1-辛烯-3-醇处理后的病原菌孢子, 随处理时间推移, 绿色荧光比率增加(图 7B)。故推测致使孢子 ROS 水平升高是引发孢子损伤的原因之一, 说明 ROS 可能是1-辛

烯-3-醇的抗真菌作用介质。线粒体在呼吸氧化过程中, 将所产生的能量以电化学势能储存于线粒体内膜, 在内膜两侧造成质子及其他离子浓度的不对称分布而形成 MMP。在线粒体中, ATP 来自线粒体的氧化磷酸化过程, 而 MMP 在氧化磷酸化过程中起着至关重要的作用, MMP 的稳定有利于维持细胞的正常生理功能^[44]。当某些不利因素导致菌体呼吸链电子传递过程障碍, 影响了 H⁺跨膜梯度的形成, 就会导致外正、内负的 MMP 下降, 即去极化。线粒体是细胞中产生 ROS 的主要场所, ROS 的产生率取决于线粒体的代谢状态, 当线粒体功能异常时, 氧化磷酸化受到抑制, 并且细胞中未消耗的 O₂ 与酶复合物 I 和 III 泄漏的电子反应生成过量的 ROS, 引起细胞的一系列损伤。同时, ROS 引起的氧化应激也会导致去极化的发生, 促使线粒体释放细胞色素 C, 致使细胞损伤^[45-46]。本研究用 JC-1 染料评估1-辛烯-3-醇处理前后 MMP 的变化, 在正常细胞中 JC-1 聚集在线粒体的基质中形成聚合物, 产生红色荧光; 在 MMP 较低时, JC-1 以单体形式存在, 产生绿色荧光。本研究发现在1-辛烯-3-醇处理下, 孢子绿色荧光比率显著升高(图 7C), 验证了1-辛烯-3-醇可影响病原菌的呼吸代谢, 通过造成孢子 MMP 的去极化, 导致 ROS 暴发, 引发孢子损伤。有研究表明, 一种短抗菌肽 Sub3 可通过破坏孢子膜的完整性, 降低 MMP, 提高孢子中 ROS 水平, 促使黄曲霉孢子凋亡^[46], 这与1-辛烯-3-醇破坏匍枝根霉孢子的机制相似。

4 结论

本研究通过果实与离体试验发现, 1-辛烯-3-醇熏蒸处理对桃果实采后软腐病与匍枝根霉具有显著抑制作用。55.80 μg/mL 1-辛烯-3-醇熏蒸处理可有效抑制接种匍枝根霉的桃果实病

斑扩展, 并可通过诱导桃果实的 SAR, 增强对匍枝根霉的抵抗作用, 但具体抗病途径有待进一步研究。体外抑菌试验发现, 1-辛烯-3-醇熏蒸可抑制匍枝根霉菌丝在 PDA 平板上延伸。通过电镜发现, 55.80 $\mu\text{g/mL}$ 1-辛烯-3-醇处理虽不能完全抑制菌丝的生长, 但是对菌丝体的细胞形态产生极大破坏, 使麦角固醇含量减少, 显著抑制孢子的出芽, 并具有很强的浓度依赖性。1-辛烯-3-醇熏蒸可通过破坏匍枝根霉孢子的完整性, 增加孢子内 ROS 含量, 降低 MMP, 抑制其萌发。以上结果说明 1-辛烯-3-醇是一种高效的真菌抑制剂, 在采后桃果实抵抗匍枝根霉的侵染中具有广阔的应用前景。

参考文献

- [1] Jiang J, Gong L, Dong Q, Kang Y, Osako K, Li L. Characterization of PLA-P3, 4HB active film incorporated with essential oil: application in peach preservation. *Food Chemistry*, 2020, 313: 126134.
- [2] Tian F, Lee SY, Chun HS. Comparison of the antifungal and antiaflatoxigenic potential of liquid and vapor phase of *Thymus vulgaris* essential oil against *Aspergillus flavus*. *Journal of Food Protection*, 2019, 82(12): 2044–2048.
- [3] 郑海洋, 张译同, 曹东慧, 王丽. 香雪兰精油体外抗白色念珠菌的机制初探. 东北师大学报: 自然科学版, 2021, 53(1): 116–122.
Zheng HY, Zhang YT, Cao DH, Wang L. Inhibitory effect of essential oil from *Freesia hybrida* on *Candida albicans*. *Journal of Northeast Normal University: Natural Science Edition*, 2021, 53(1): 116–122. (in Chinese)
- [4] 鲁萌萌, 李文茹, 周少璐, 孙廷丽, 谢小保. 生姜精油化学成分及其抗菌活性. 微生物学通报, 2021, 48(4): 1121–1129.
Lu MM, Li WR, Zhou SL, Sun TL, Xie XB. Chemical component and antibacterial activity of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) essential oil. *Microbiology China*, 2021, 48(4): 1121–1129. (in Chinese)
- [5] 陈雪昱, 邹秀容, 韦莹莹, 许凤, 王鸿飞, 邵兴锋. 茶树精油对扩展青霉线粒体功能的影响. 食品科学, 2021, 42(3): 7–13.
Chen XY, Zou XR, Wei YY, Xu F, Wang HF, Shao XF. Effect of tea tree oil on mitochondrial function of *Penicillium expansum*. *Food Science*, 2021, 42(3): 7–13. (in Chinese)
- [6] Liu XL, Zhao MM, Luo W, Yang B, Jiang YM. Identification of volatile components in *Phyllanthus emblica* L. and their antimicrobial activity. *Journal of Medicinal Food*, 2009, 12(2): 423–428.
- [7] 张晓君, 路来风, 李淑华, 王昵霏, 李王强, 王安琪, 宋冠林, 李贞景, 王昌禄. *Streptomyces alboflavus* TD-1 产挥发性抑菌物质对黄曲霉菌生长及其毒素的抑制作用. 食品科学, 2021, 42(18): 51–57.
Zhang XJ, Lu LF, Li SH, Wang NF, Li WQ, Wang AQ, Song GL, Li ZJ, Wang CL. Effects of volatile organic compounds from *Streptomyces alboflavus* TD-1 against *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production. *Food Science*, 2021, 42(18): 51–57. (in Chinese)
- [8] Xiong C, Li Q, Li S, Chen C, Chen Z, Huang W. *In vitro* antimicrobial activities and mechanism of 1-octen-3-ol against food-related bacteria and pathogenic fungi. *Journal of Oleo Science*, 2017, 66(9): 1041–1049.
- [9] Wang XZ, Huang MM, Peng Y, Yang WT, Shi JY. Antifungal activity of 1-octen-3-ol against *Monilinia fructicola* and its ability in enhancing disease resistance of peach fruit. *Food Control*, 2022, 135: 108804.
- [10] 张正敏, 杨艺琳, 李美琳, 王静, 季娜娜, 郑永华. 2,4-表油菜素内酯处理对桃果实软腐病及能量代谢的影响. 食品科学, 2019, 40(5): 207–213.
Zhang ZM, Yang YL, Li ML, Wang J, Ji NN, Zheng YH. Effect of 2,4-epibrassinolide treatment on *Rhizopus* rot and energy metabolism in postharvest peach fruit. *Food Science*, 2019, 40(5): 207–213. (in Chinese)
- [11] Yu Z, Cao J, Zhu S, Zhang L, Peng Y, Shi J. Exogenous nitric oxide enhances disease resistance by nitrosylation and inhibition of S-nitrosoglutathione reductase in peach fruit. *Frontiers in Plant Science*, 2020, 11: 543.
- [12] Jiao W, Li X, Wang X, Cao J, Jiang W. Chlorogenic acid induces resistance against *Penicillium expansum* in peach fruit by activating the salicylic acid signaling pathway. *Food Chemistry*, 2018, 260: 274–282.
- [13] Boller T, Gehri A, Mauch F, Vögeli U. Chitinase in bean leaves: induction by ethylene, purification, properties, and possible function. *Planta*, 1983, 157(1): 22–31.

- [14] Ghaouth AE, Wilson CL, Wisniewski M. Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense responses. *Phytopathology*, 2003, 93(3): 344–348.
- [15] Liu Y, Zhu X, Li W, Wen H, Gao Y, Liu Y, Liu C. Enhancing production of ergosterol in *Pichia pastoris* GS115 by over-expression of 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase from *Glycyrrhiza uralensis*. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 2014, 4(2): 161–166.
- [16] Olmedo GM, Cerioni L, González MM, Cabrerizo FM, Rapisarda VA, Volentini SI. Antifungal activity of β -carboline on *Penicillium digitatum* and *Botrytis cinerea*. *Food Microbiology*, 2017, 62: 9–14.
- [17] Ji DC, Chen T, Ma DY, Liu JL, Xu Y, Tian SP. Inhibitory effects of methyl thujate on mycelial growth of *Botrytis cinerea* and possible mechanisms. *Postharvest Biology and Technology*, 2018, 142: 46–54.
- [18] Hartwig J, Loebel M, Steiner S, Bauer S, Karadeniz Z, Roeger C, Skurk C, Scheibenbogen C, Sotzny F. Metformin attenuates ROS via FOXO3 activation in immune cells. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 581799.
- [19] Zheng Z, Wang Y, Yu H, Li W, Wu J, Cai C, He Y. Salvianolic acid B inhibits ototoxic drug-induced ototoxicity by suppression of the mitochondrial apoptosis pathway. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 2020, 24(12): 6883–6897.
- [20] Nava G, Reisser Júnior C, Parent LÉ, Brunetto G, Moura-Bueno JM, Navroski R, Benati JA, Barreto CF. Esmeralda peach (*Prunus persica*) fruit yield and quality response to nitrogen fertilization. *Plants*, 2022, 11(3): 352.
- [21] Li GJ, Wang Y, Zhang ZQ, Chen Y, Tian SP. Mushroom alcohol controls gray mold caused by *Botrytis cinerea* in harvested fruit via activating the genes involved in jasmonic acid signaling pathway. *Postharvest Biology and Technology*. 2022, 186: 111843.
- [22] Cui K, Zhang L, He L, Zhang Z, Zhang T, Mu W, Lin J, Liu F. Toxicological effects of the fungal volatile compound 1-octen-3-ol against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 208: 111597.
- [23] Api AM, Belmonte F, Belsito D, Biserta S, Botelho D, Bruze M, Burton GA, Buschmann J, Cancellieri MA, Dagli ML, Date M, Dekant W, Deodhar C, Fryer AD, Gadhia S, Jones L, Joshi K, Lapczynski A, Lavelle M, Liebler DC, Na M, O'Brien D, Patel A, Penning TM, Ritacco G, Rodriguez-Roperio F, Romine J, Sadekar N, Salvito D, Schultz TW, Siddiqi F, Sipes IG, Sullivan G, Thakkar Y, Tokura Y, Tsang S. RIFM fragrance ingredient safety assessment, 1-octen-3-ol, CAS registry number 3391-86-4. *Food and Chemical Toxicology*, 2019, 134(Suppl 1): 110972.
- [24] Li GJ, Wang Y, Zhang ZQ, Chen Y, Tian SP. Mushroom alcohol controls gray mold caused by *Botrytis cinerea* in harvested fruit via activating the genes involved in jasmonic acid signaling pathway. *Postharvest Biology and Technology*. 2022, 186: 111843.
- [25] 王丹, 张静, 翟浩, 张倩, 关惠, 辛力. 蓝莓果实黑斑病的病原鉴定及植物精油抑菌研究. *核农学报*, 2019, 33(12): 2384–2391.
- Wang D, Zhang J, Zhai H, Zhang Q, Guan H, Xin L. Pathogenic identification of black spot rot on postharvest blueberry and antifungal activity of plant essential oils. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33(12): 2384–2391. (in Chinese)
- [26] Kishimoto K, Matsui K, Ozawa R, Takabayashi J. Volatile 1-octen-3-ol induces a defensive response in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of General Plant Pathology*, 2007, 73(1): 35–37.
- [27] Berendsen RL, Kalkhove SIC, Lugones LG, Baars JJP, Wösten HAB, Bakker PAHM. Effects of the mushroom volatile 1-octen-3-ol on dry bubble disease. *Applied Microbial and Cell Physiology*, 2013, 97(12): 5535–5543.
- [28] Chen H, Yang R, Chen J, Luo Q, Cui X, Yan X, Gerwick WH. 1-Octen-3-ol, a self-stimulating oxylipin messenger, can prime and induce defense of marine alga. *BMC Plant Biology*, 2019, 19(1): 37.
- [29] Peng AH, Zou XP, He YR, Chen SC, Liu XF, Zhang JY, Zhang QW, Xie Z, Long JH, Zhao XC. Overexpressing a NPR1-like gene from *Citrus paradisi* enhanced Huanglongbing resistance in *C. sinensis*. *Plant Cell Reports*, 2021, 40(3): 529–541.
- [30] 闫晓寒, 王向尧, 刘培源, 姬朝光, 王丽, 刘雪晴, 李晓瑞, 严汉池. NPR1 结构与功能的研究进展. *江苏农业科学*, 2021, 49(3): 46–52.
- Yan XH, Wang XY, Liu PY, Ji CG, Wang L, Liu XQ, Li XR, Yan HC. Research progress on structure and function of NPR1. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2021, 49(3): 46–52. (in Chinese)
- [31] 汪开拓, 廖云霞, 袁坤明, 盛杨, 于文英. β -氨基丁酸处理对桃果实采后灰霉病的影响及其诱导抗病模式研究. *食品与发酵工业*, 2016, 42(2): 65–71.

- Wang KT, Liao YX, Yuan KM, Sheng Y, Yu WY. Investigation on the effects of β -aminobutyric acid treatment on gray mold decay in harvested peaches and the mode of the induced disease resistance. *Food and Fermentation Industries*, 2016, 42(2): 65–71. (in Chinese)
- [32] Jin LF, Cai YT, Sun C, Huang TN, Yu T. Exogenous L-glutamate treatment could induce resistance against *Penicillium expansum* in pear fruit by activating defense-related proteins and amino acids metabolism. *Postharvest Biology and Technology*, 2019, 150: 148–157.
- [33] Yin GH, Padhi S, Lee S, Hung R, Zhao GZ, Bennett JW. Effects of three volatile oxylipins on colony development in two species of fungi and on *Drosophila* larval metamorphosis. *Current Microbiology*, 2015, 71(3): 347–356.
- [34] 陈可欣, 骆郑航, 李玲, 顾玉婷, 袁康, 胡振阳, 都立辉. 香樟精油抑制灰绿曲霉的活性与机理研究. *中国粮油学报*, 2021, 36(3): 71–78.
Chen KX, Luo ZH, Li L, Gu YT, Yuan K, Hu ZY, Du LH. Antimicrobial effect and mechanism of *Cinnamomum camphora* essential oil on *Aspergillus glaucus*. *Journal of the Chinese Cereals and Oils Association*, 2021, 36(3): 71–78. (in Chinese)
- [35] 葛达娥, 魏照辉, 图尔荪阿依·图尔贡, 潘玥, 王帆, 陶宁萍, 周剑忠, 刘小莉. 丁香酚对蓝莓链格孢霉的抑制作用. *食品科学*, 2020, 41(19): 68–73.
Ge DE, Wei ZH, Tursunay T, Pan Y, Wang F, Tao NP, Zhou JZ, Liu XL. Inhibitory effect of eugenol on *Alternaria* sp. isolated from blueberry. *Food Science*, 2020, 41(19): 68–73. (in Chinese)
- [36] Kujur A, Kumar A, Singh PP, Prakash B. Fabrication, characterization, and antifungal assessment of jasmine essential oil-loaded chitosan nanomatrix against *Aspergillus flavus* in food system. *Food and Bioprocess Technology*, 2021, 14(3): 554–571.
- [37] Kiran S, Kujur A, Prakash B. Assessment of preservative potential of *Cinnamomum zeylanicum* Blume essential oil against food borne molds, aflatoxin B₁ synthesis, its functional properties and mode of action. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 2016, 37: 184–191.
- [38] Chen Y, Zeng H, Tian J, Ban X, Ma B, Wang Y. Antifungal mechanism of essential oil from *Anethum graveolens* seeds against *Candida albicans*. *Journal of Medical Microbiology*, 2013, 62(pt 8): 1175–1183.
- [39] Chitarra GS, Abee T, Rombouts FM, Posthumus MA, Dijksterhuis J. Germination of *Penicillium paneum* conidia is regulated by 1-octen-3-ol, a volatile self-inhibitor. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70(5): 2823–2829.
- [40] Padhi S, Dias I, Korn VL, Bennett JW. *Pseudogymnoascus destructans*: causative agent of white-nose syndrome in bats is inhibited by safe volatile organic compounds. *Journal of Fungi: Basel*, 2018, 4(2): E48.
- [41] Delattin N, Cammue BP, Thevissen K. Reactive oxygen species-inducing antifungal agents and their activity against fungal biofilms. *Future Medicinal Chemistry*, 2014, 6(1): 77–90.
- [42] 罗泽萍, 潘立卫, 李丽. 赭桐提取物抗菌活性及其对金黄色葡萄球菌的抗菌机理. *南方农业学报*, 2019, 50(12): 2778–2786.
Luo ZP, Pan LW, Li L. Antimicrobial activity of extracts from *Clerodendrum japonicum* and its antibacterial mechanism on *Staphylococcus aureus*. *Journal of Southern Agriculture*, 2019, 50(12): 2778–2786. (in Chinese)
- [43] Sperotto AR, Moura DJ, Péres VF, Damasceno FC, Caramão EB, Henriques JA, Saffi J. Cytotoxic mechanism of *Piper gaudichaudianum* Kunth essential oil and its major compound nerolidol. *Food and chemical toxicology*, 2013, 57: 57–68.
- [44] Han X, Liu C, Zhang K, Guo M, Shen Z, Liu Y, Zuo Z, Cao M, Li Y. Calpain and JNK pathways participate in isoflurane-induced nucleus translocation of apoptosis-inducing factor in the brain of neonatal rats. *Toxicology Letter*, 2018, 285: 60–73.
- [45] Hwang JH, Hwang IS, Liu QH, Woo ER, Lee DG. (+)-medioresinol leads to intracellular ROS accumulation and mitochondria-mediated apoptotic cell death in *Candida albicans*. *Biochimie*, 2012, 94(8): 1784–1793.
- [46] Zhang W, Lv YY, Lv A, Wei S., Zhang SB, Li CX, Hu YS. Sub3 inhibits *Aspergillus flavus* growth by disrupting mitochondrial energy metabolism, and has potential biocontrol during peanut storage. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2020, 101(2): 486–496.