



孙泽鑫,郎丰亭,于川,刘博,郝智慧.肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌抑制作用及机理的初步研究[J].中国农业大学学报,2024,29(07):103-113.
SUN Zexin, LANG Fengting, YU Chuan, LIU Bo, HAO Zhihui. Inhibitory effect of *Cinnamon* essential oil on *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* and the preliminary study of its mechanism[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(07): 103-113.
DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.07.10

肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌抑制作用 及机理的初步研究

孙泽鑫¹ 郎丰亭² 于川² 刘博³ 郝智慧^{4*}

(1. 青岛农业大学 植物医学学院, 山东 青岛 266109;

2. 新疆农业大学 动物医学院, 乌鲁木齐 830099;

3. 青岛农业大学 化学与药学院, 山东 青岛 266109;

4. 中国农业大学 中兽医药创新中心, 北京 100193)

摘 要 为探明肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌的抑制作用并初步探究其对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌的抑制机理,使用菌丝生长速率法和熏蒸法观察不同质量浓度肉桂精油处理下苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌的菌落直径,测定肉桂精油对苹果腐烂病和番茄灰霉病的活体组织抑制效果,探究肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌菌体的形态变化、细胞膜通透性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)、可溶性蛋白和还原糖含量的变化规律。结果表明:1)菌丝生长速率法测得肉桂精油质量浓度为250 mg/L时,对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌抑菌率分别为98.31%和99.06%;熏蒸法测得肉桂精油质量浓度为8 000 mg/L时,对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌抑菌率分别为50.57%和58.79%。2)当肉桂精油质量浓度为5 000 mg/L时,对苹果腐烂病和番茄灰霉病活体抑制效果分别为54.30%和64.10%。3)经肉桂精油处理后的苹果腐烂病菌菌丝和番茄灰霉病菌菌丝干瘪、坍塌,表面有分叉,菌液电导率上升,菌体SOD酶活性下降,MDA含量上升,可溶性蛋白和还原糖含量下降,最终扰乱菌体各项生理生化反应,进而达到抑菌效果。本研究可为开发防治苹果腐烂病和番茄灰霉病的植物源农药提供依据。

关键词 肉桂精油; 苹果腐烂病菌; 番茄灰霉病菌; 抑菌作用; 酶活性; 膜通透性

中图分类号 S482.2

文章编号 1007-4333(2024)07-0103-11

文献标志码 A

Inhibitory effect of *Cinnamon* essential oil on *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* and the preliminary study of its mechanism

SUN Zexin¹, LANG Fengting², YU Chuan², LIU Bo³, HAO Zhihui^{4*}

(1. College of Plant Medicine, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China;

2. College of Veterinary Medicine, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830099, China;

3. College of Chemistry and Pharmacy, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China;

4. Innovation Center for Traditional Chinese Veterinary Medicine, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract In order to investigate the inhibitory effect of *Cinnamon* essential oil (CEO) on *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* and investigate its inhibitory mechanism, the mycelial growth rate and fumigation methods were adopted to observe the colony diameters of *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* in different mass concentrations of CEO and the inhibitory effects of CEO on *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* *in vivo* were determined. The effects of CEO on the morphology, cell membrane permeability, superoxide dismutase

收稿日期: 2024-01-03

基金项目: 国家高层次人才计划项目(096-1717001)

第一作者: 孙泽鑫(ORCID:0009-0000-6870-9209),硕士研究生, E-mail:2961825636@qq.com

通讯作者: 郝智慧(ORCID:0000-0002-7282-2340),教授,主要从事中药材综合利用相关研究, E-mail:haozhihui@cau.edu.cn

(SOD) enzyme activity, malondialdehyde (MDA) content, soluble protein content and reducing sugar content of the mycelium of *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* were investigated. The results showed that: 1) When the mass concentration of CEO was 250 mg/L, the inhibition rates of *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* measured by mycelial growth rate method reached 98.31% and 99.06%, respectively; When the mass concentration of CEO was 8 000 mg/L, the inhibition rates of *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* measured by fumigation method were 50.57% and 58.79%, respectively. 2) When the mass concentration of CEO was 5 000 mg/L, the *in vivo* inhibitory effects on *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* was 54.30% and 64.10%, respectively. 3) The mycelia of *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* treated with CEO were dried out, collapsed with bifurcation on the surface, and the bacterial liquid conductivity increased, the bacterial SOD enzyme activity decreased, MDA content increased, soluble proteins and content of reducing sugar decreased. Ultimately disturbed the physiological and biochemical reactions of the bacterium and achieved the effect of bacterial inhibition. This study provided a scientific basis for the development of plant-derived pesticides for the control of *Valsa mali* and *Botrytis cinerea*.

Keywords Cinnamon essential oil; *Valsa mali*; *Botrytis cinerea*; bacteriostatic effect; enzyme activity; membrane permeability

苹果和番茄在水果与蔬菜中最为常见,是我国重要的经济作物。我国是世界第一大苹果和番茄生产国,苹果种植面积及产量约占世界40%以上,番茄年产量可达6 700万t^[1-2]。苹果腐烂病又称苹果树腐烂病,由苹果黑腐皮壳菌(*Valsa mali*)侵染引起,在我国分布范围广且防治困难。该病不仅会造成果实严重减产,还会危害苹果树主干和枝干,最终导致苹果树死亡,甚至整个果园毁灭,因此又被称为苹果树的“癌症”^[3-6]。番茄灰霉病是由灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)引起的一种传播速度快且危害严重的世界性番茄真菌性病害。番茄灰霉病感染能力强,蔓延速度快,可导致番茄减产60%左右,严重时整株果实全部腐烂,对番茄种植和番茄产量产生极大威胁^[7]。苹果腐烂病和番茄灰霉病严重影响苹果和番茄产量,造成巨大经济损失,因此如何安全有效地防治苹果腐烂病和番茄灰霉病成为提高苹果和番茄产量的一个重要前提。

目前,防治苹果腐烂病和番茄灰霉病的主要方式是使用化学药剂。然而,化学农药的长期不合理使用不仅严重破坏了生态环境,对人类健康和农业生产构成了严重威胁,还易使病菌产生抗药性,从而极大地降低了防治效果。植物源农药因不易产生抗药性,对非靶标生物安全,环境相容性好,是未来农药研究发展的一个重要方向。植物精油是一种存在于植物不同组织中的一类次生物质,由于精油的生物活性,近年来在农药领域中的研究与应用日渐增多,现有研究表明因其富含萜类和酚类化合物,具有抑制病原微生物生长和防腐保鲜的作用^[8]。

肉桂属于樟科植物,原产于中国,是一种药用价值极高的中国传统中药。肉桂精油是从干燥的肉桂皮中萃取得到的挥发油,是一类具有广谱抑菌性能的物质^[9]。作为一种无毒害、无污染、无残留、低成本且活性高的天然的具有较强抑菌活性的提取物,肉桂精油在食物保鲜防腐及防治水果采摘后致腐菌感染方面已经有广泛应用^[10-13]。在植物保护方面,现有研究证实肉桂精油对苹果灰霉病菌具有抑菌活性,肉桂精油主要成分肉桂醛对番茄灰霉病菌具有抑菌活性,可以抑制病原菌菌丝生长^[14-15]。但是肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌抑制效果及机理方面的研究却鲜有报道。

本研究通过测定肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌抑菌活性及活体抑制效果,从显微结构、细胞膜通透性、超氧化物歧化酶(SOD)酶活性、丙二醛(MDA)含量、可溶性蛋白含量和还原糖含量方面初步探究肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌的作用机理,为肉桂精油农药的开发与应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2种植物病原真菌(苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌)由青岛农业大学绿色农药研究所提供,于4℃条件下保存。将保存的菌种转接到马铃薯葡萄糖琼脂培养基(Potato dextrose agar, PDA)培养平板上进行活化,置于26℃恒温培养箱中培养至菌丝长满整个平板,使用直径6 mm打孔器沿菌落边缘打

取菌饼,备用。肉桂精油购于江西中环新材料有限公司,PDA培养基和马铃薯葡萄糖液体培养基(Potato dextrose broth,PDB)购于青岛海博生物技术有限公司,SOD试剂盒购于碧云天生物技术有限公司,磷酸氢二钠、磷酸二氢钠和葡萄糖(无水)购于国药集团化学试剂有限公司,3,5-二硝基水杨酸(DNS)购于上海麦克林生化科技有限公司,MDA试剂盒、考马斯亮蓝-G250和牛血清蛋白购于北京索莱宝有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 肉桂精油溶液的配制

准确称取肉桂精油 800 mg,使用 2% 吐温-80 溶解,配置成 8 000 mg/L 的肉桂精油储备液。

1.2.2 2种植物病原真菌抑菌活性测定

1.2.2.1 生长速率法 采用生长速率法^[16]测定肉桂精油对病原菌的抑菌活性。使用储备液配制质量浓度为 250、200、150、100、50 和 25 mg/L 的含药 PDA 培养基,摇匀后倒板,另设空白对照组。待琼脂凝固后在平板中央分别接种直径为 6 mm 的真菌菌饼(苹果腐烂病菌、番茄灰霉病菌),每个平板每次处理 3 次重复,置 26 °C 恒温培养。4 d 后用十字交叉法测量菌落直径,按照公式(1)计算抑制率。采用浓度对数-抑制率概率值法求取毒力回归方程及半数效应浓度(EC_{50})^[17-18]。

$$\text{抑制率} = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \times 100\% \quad (1)$$

式中: D_1 为对照组菌落生长直径,cm; D_2 为处理组菌落生长直径,cm。

1.2.2.2 熏蒸法 采用熏蒸法^[19]测定肉桂精油对病原菌的抑菌活性。在 PDA 平板中央分别接种直径为 6 mm 的真菌菌饼(苹果腐烂病菌、番茄灰霉病菌),在培养皿盖内放置无菌滤纸片,在滤纸片上滴加 100 μ L 肉桂精油药剂,质量浓度分别为 8 000、6 000、4 000、2 000 和 1 000 mg/L,另设空白对照组。每个平板每次处理 3 次重复,置 26 °C 恒温培养。4 d 后用十字交叉法测量菌落直径,计算抑制率。

1.2.3 2种植物真菌病活体抑制效果测定

肉桂精油对苹果腐烂病、番茄灰霉病抑制效果采用活体试验进行检测。使用 6 mm 打孔器分别在苹果和番茄表皮上打孔,在孔内分别接种苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌菌饼,置于塑料保鲜盒中,

25 °C 培养。使用肉桂精油储备液配制质量浓度分别为 5 000、4 000、3 000、2 000、1 000、500、250 和 125 mg/L 的肉桂精油溶液装入喷壶中,另设空白对照组,每个浓度 3 组重复。待空白组创孔周围开始生长菌丝或者开始腐烂,将对应精油均匀喷洒在果实表面,每日重复 1 次,5 d 后测量病斑直径,计算抑制率。

1.2.4 菌丝形态测定

配制含药 PDA 培养基,质量浓度分别为 50 和 150 mg/L,另设空白对照组。在培养基表面铺上一层无菌玻璃纸,将苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌菌饼分别接种在平板中央,2 d 后取下玻璃纸上的菌丝,固定、冲洗、脱水、干燥,通过扫描电镜观察菌丝形态。

1.2.5 细胞膜通透性测定

采用电导率法^[20],将菌丝放入 PDB 培养基中摇晃培养 3 d,分离琼脂,吸干水分。分别称取 2 种病原真菌各 1.5 g 菌丝均分为 6 份,分别加到肉桂精油质量浓度为 100、75、50、25 和 12.5 mg/L 的去离子水中,对照组加上等量的去离子水,在环境条件为 25 °C 分别测定 0、1、2、4、6 和 8 h 电导率。根据电导率变化,观察肉桂精油对细胞膜通透性的影响。

1.2.6 超氧化物歧化酶活性测定

配制含肉桂精油溶液的 PDB 培养基,质量浓度分别为 100、75、50、25 和 12.5 mg/L,摇匀后每个锥形瓶倒入 100 mL 含药培养基,另设空白对照组。每个锥形瓶中放入 3 个 6 mm 菌饼,每个处理 3 次重复,封口置 25 °C 摇床中摇晃培养;3 d 后将菌团取出,分离琼脂,冲洗 3 次;将菌丝冰浴研磨成匀浆后离心;取上清液,使用 SOD 试剂盒处理上清液。SOD 酶活性测定将 450 和 600 nm 吸光度下以黄嘌呤氧化酶偶联反应体系中抑制百分率为 50% 时定义为 1 个活性单位(unit)。

1.2.7 丙二醛含量测定

按照 1.2.6 取菌丝方法,将菌丝冰浴研磨成匀浆后离心,取上清液,使用 MDA 试剂盒处理上清液,使用酶标仪在 532 nm 波长下检测样本中 MDA 的含量。

1.2.8 可溶性蛋白含量测定

配制磷酸盐缓冲液、牛血清蛋白液和考马斯亮蓝 G-250 溶液,制作可溶性蛋白标准曲线。按照 1.2.6 取菌丝方法,将菌丝冰浴研磨成匀浆后离心,

取上清液,加入考马斯亮蓝工作液,于595 nm吸光度下测定数值。可溶性蛋白含量计算公式如下:

可溶性蛋白含量 =

$$\frac{\text{OD值对应蛋白质含量} \times \text{提取液体积}}{\text{测定液体积} \times \text{样品鲜重}} \times 10^3 \quad (2)$$

1.2.9 还原糖含量测定

配制葡萄糖溶液、3,5-二硝基水杨酸溶液,制作还原糖标准曲线。按照1.2.6取菌丝方法,将菌丝冰浴研磨成匀浆后离心,取上清液,加入DNS工作液,于540 nm吸光度下测定数值。还原糖含量计算公式如下:

还原糖含量 =

$$\frac{\text{OD值对应还原糖含量} \times \text{提取液体积}}{\text{测定液体积} \times \text{样品鲜重}} \times 10^3 \quad (3)$$

1.3 数据处理及分析

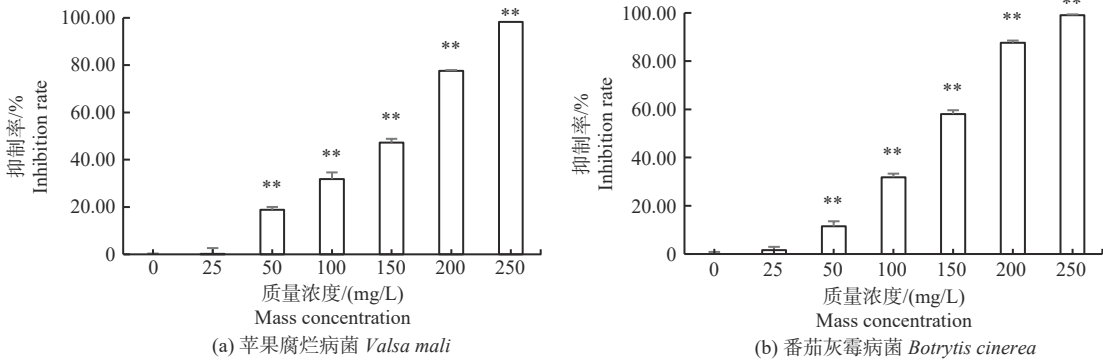
采用SPSS和Excel 2021进行数据统计和绘图;利用GraphPad Prism 8.0进行数据的方差分析, $P<0.05$ 表示差异显著, $P<0.01$ 表示差异极显著。

2 结果与分析

2.1 肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌生长的抑制作用

2.1.1 生长速率法测定对2种植物病原真菌生长的抑制作用

生长速率法可评价杀菌剂直接接触病原菌的杀菌活性。由图1可知,肉桂精油对苹果腐烂菌和番茄灰霉菌的抑制率呈剂量依赖性,抑制效果随肉桂精油质量浓度升高而增强,当质量浓度大于50 mg/L时抑制率极显著高于对照组($P<0.01$)。当肉桂精油质量浓度达到250 mg/L时,对苹果腐烂菌和番茄灰霉菌的抑制率分别达到98.31%和99.06%。进一步建立其毒力回归方程,计算 EC_{50} ,结果见表1。可知肉桂精油对苹果腐烂菌和番茄灰霉菌的 EC_{50} 分别为119.85和113.39 mg/L,对番茄灰霉病菌的抑制效果略强于苹果腐烂病菌。



**表示与质量浓度为0 mg/L的对照相比差异极显著($P<0.01$)。
** represents significant extremely differences compared to the control at a mass concentration of 0 mg/L($P<0.01$).

图1 不同质量浓度肉桂精油对2种植物病原真菌抑制率

Fig. 1 Inhibition rate of *Cinnamon* essential oil against two types of plant pathogenic fungi

表1 肉桂精油对2种植物病原真菌毒力回归方程及 EC_{50}

Table 1 Virulence regression equation and EC_{50} of *Cinnamon* essential oil against two types of plant pathogenic fungi

病菌 Fungi	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(R^2) Correlation coefficient	EC_{50} /(mg/L)	置信界限/(mg/L) Confidence limit
苹果腐烂病菌 <i>Valsa mali</i>	$y=-7.136+3.433x$	0.905	119.85	75.04~181.39
番茄灰霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i>	$y=-8.308+4.044x$	0.914	113.39	82.40~147.81

2.1.2 熏蒸法测定对 2 种植物病原真菌生长的抑制作用

由于肉桂精油具有挥发性,因此选用熏蒸法评价肉桂精油在气体状态下的抑菌效果,对肉桂精油的抑菌效果进行再次验证(图 2)。当肉桂精油质量浓度升高,2 种病原真菌生长繁殖受到抑制;当肉桂精油质量浓度达到 8 000 mg/L 时,抑制率极显著高于对照组

($P<0.01$),其对苹果腐烂菌和番茄灰霉菌的抑制率分别为 50.57% 和 58.79%。进一步建立其毒力回归方程,计算 EC_{50} ,结果见表 2。肉桂精油对苹果腐烂菌和番茄灰霉菌的 EC_{50} 分别为 8 221.36 和 6 975.05 mg/L。比较生长速率法和熏蒸法测定效果,生长速率法抑菌效果明显强于熏蒸法,说明肉桂精油虽然具有挥发性,但是并不适用于熏蒸法抑菌。

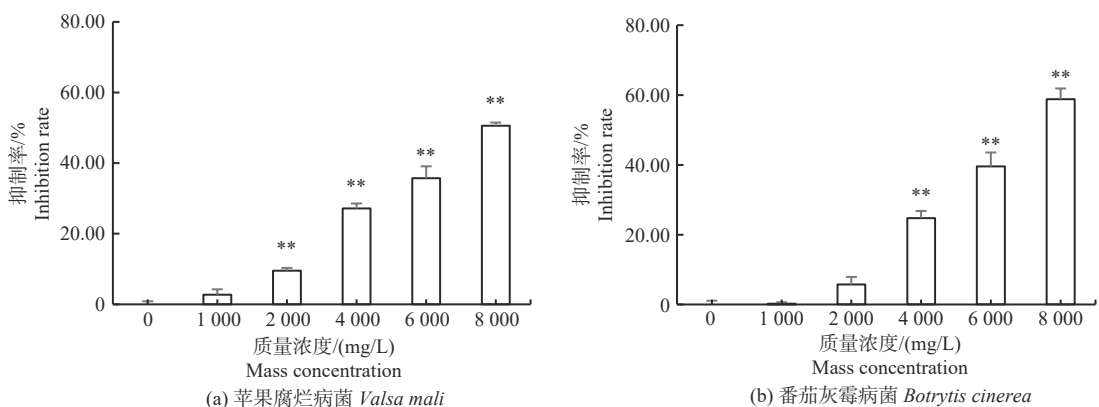


图 2 不同质量浓度的肉桂精油对 2 种植物病原真菌抑制率

Fig. 2 Inhibition rate of *Cinnamon* essential oil against two types of plant pathogenic fungi

表 2 肉桂精油对 2 种植物病原真菌毒力回归方程及 EC_{50}

Table 2 Virulence regression equation and EC_{50} of *Cinnamon* essential oil against two types of plant pathogenic fungi

病菌 Fungi	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数(R^2) Correlation coefficient	$EC_{50}/(mg/L)$	置信界限/ (mg/L) Confidence limit
苹果腐烂病菌 <i>Valsa mali</i>	$y=-8.239+2.105x$	0.996	8 221.36	75.04~181.39
番茄灰霉病菌 <i>Botrytis cinerea</i>	$y=-11.251+2.927x$	0.995	6 975.05	6 203.31~8 155.79

2.2 肉桂精油对苹果腐烂病和番茄灰霉病活体抑制的效果

为了进一步评估肉桂精油对苹果腐烂菌和番茄灰霉菌的抑制效果,开展了肉桂精油对苹果腐烂病和番茄灰霉病活体组织抑制效果研究(图 3(a))。随着肉桂精油质量浓度升高,病斑直径减小,抑制效果呈现出增强趋势,各处理组抑制率极显著高于对照组($P<0.01$)(图 3(b)~(c))。当肉桂精油质量浓度达到 5 000 mg/L 时,对苹果腐烂病抑制率为 54.30%,对番茄灰霉病抑制率为 64.10%。通过活体试验可知,肉桂精油可以抑制苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌对果实地侵染,对苹果腐烂病和番茄灰

霉病具有一定的防治效果。

2.3 肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉菌超微结构的影响

为了探究肉桂精油的抑菌机理,使用扫描电子显微镜观察肉桂精油处理后 2 种植物病原真菌菌丝形态(图 4)。对照组菌丝形态规则,菌丝表面光滑、粗细均匀;而处理组菌丝干瘪、坍塌,表面有分叉,说明肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌菌丝形态产生了影响。

2.4 肉桂精油对细胞膜通透性的影响

为了进一步探究肉桂精油对病原菌细胞膜的影响,使用电导率仪检测不同质量浓度肉桂精油处

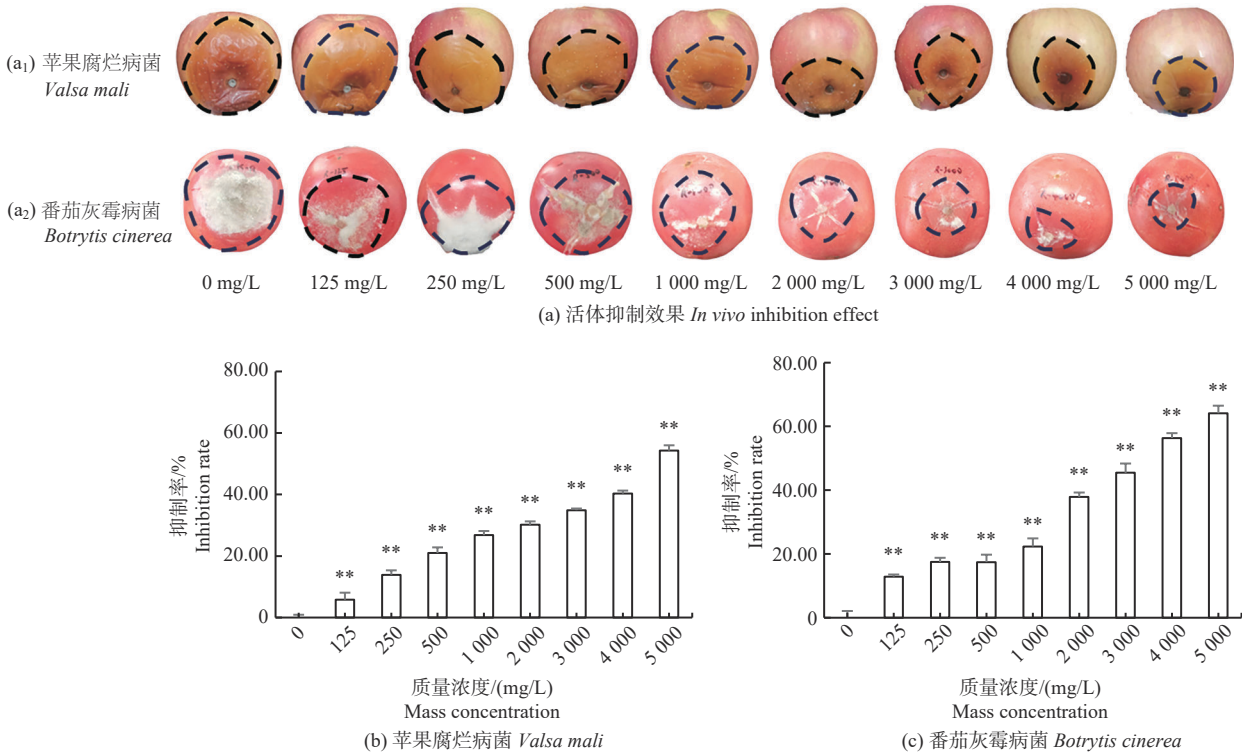


图3 不同质量浓度的肉桂精油对苹果腐烂病和番茄灰霉病活体组织抑制效果

Fig. 3 Effectiveness of *in vivo* control of *Cinnamon* essential oil against *Valsa mali* and *Botrytis cinerea* with different concentrations

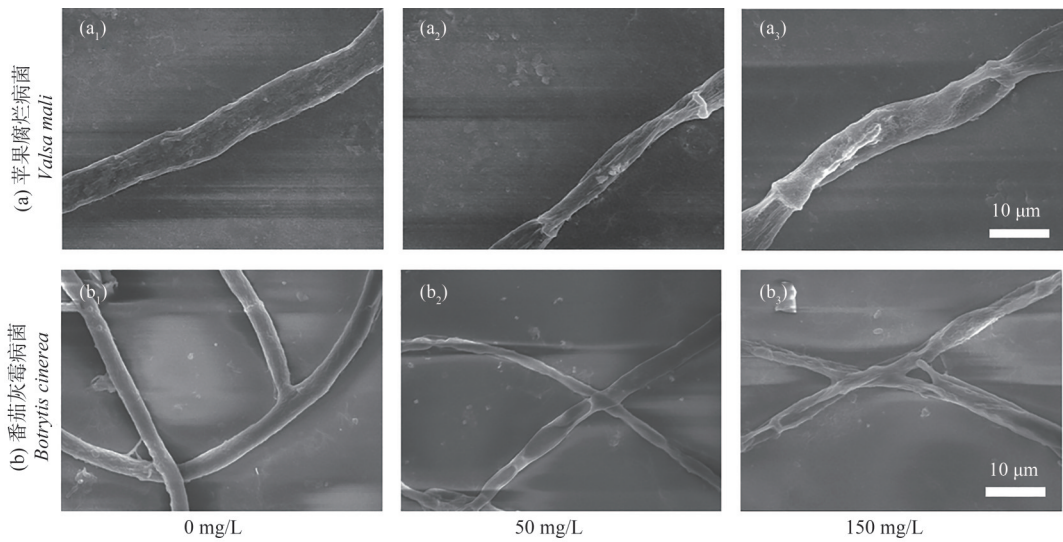


图4 不同质量浓度的肉桂精油对2种植物病原真菌菌丝形态的影响

Fig. 4 The effect of different concentrations of *Cinnamon* essential oil on the hyphae morphology of two types of plant pathogenic fungi

理后的菌液的电导率(图5)。随着肉桂精油质量浓度的升高以及处理时间的延长,2种病原真菌菌液电导率呈上升趋势,各个处理组电导率均极显著大于对照组($P<0.01$)。这一结果说明肉桂精油破坏了苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌的细胞膜,导致菌

丝内电解质的渗出,表明肉桂精油增加了2种植物病原真菌细胞膜的通透性。

2.5 肉桂精油对超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的影响

SOD和MDA是评估细胞膜脂质过氧化损伤程

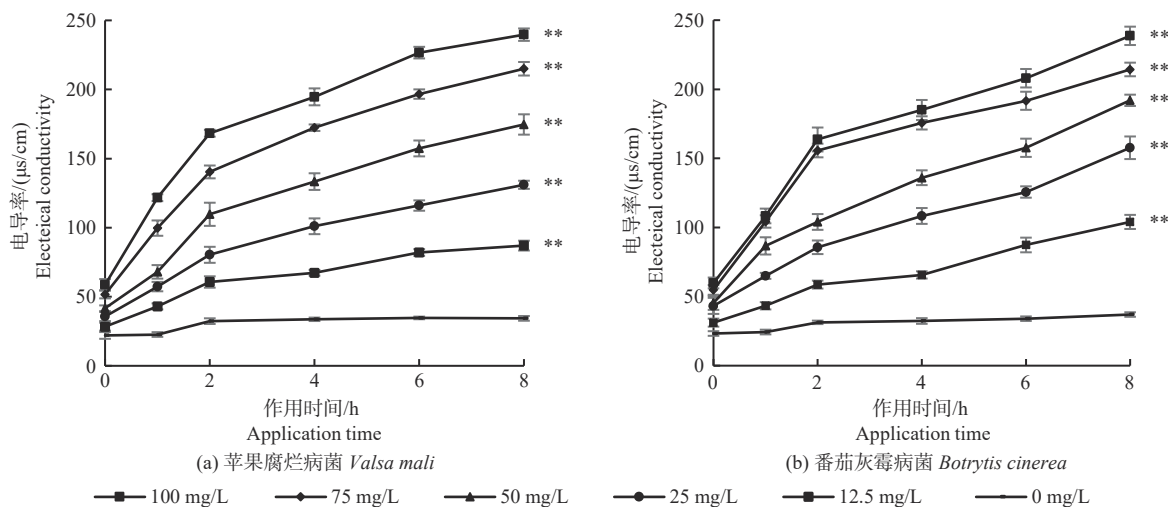


图5 不同质量浓度的肉桂精油对2种植物病原真菌细胞膜通透性的影响

Fig. 5 The effect of different concentrations of *Cinnamon* essential oil on the cell membrane permeability of two types of plant pathogenic fungi

度的指标,为了证明肉桂精油破坏了病原真菌的细胞膜,本研究检测了肉桂精油处理后菌丝体SOD酶活性

及MDA含量变化(图6)。肉桂精油质量浓度大于50 mg/L时,与对照组相比苹果腐烂菌菌体和番茄灰霉

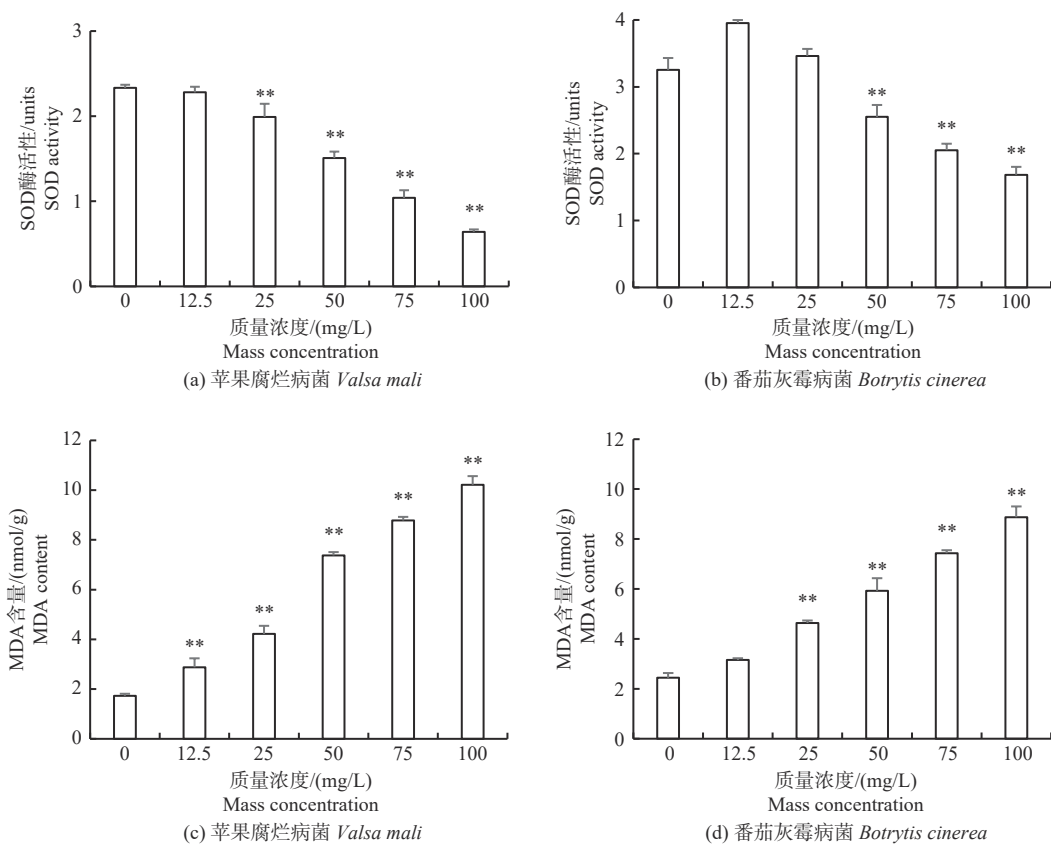


图6 不同质量浓度的肉桂精油对2种植物病原真菌菌体SOD酶活性和MDA含量的影响

Fig. 6 The effect of different concentrations of *Cinnamon* essential oil on the SOD activity and MDA level of two types of plant pathogenic fungi

菌体SOD酶活性极显著下降($P<0.01$),说明肉桂精油抑制了菌体内超氧化物歧化酶的活性。当肉桂精油质量浓度大于25 mg/L时,与对照组相比2种病菌菌体内MDA含量极显著上升($P<0.01$)。综上所述,SOD酶活性的下降和MDA含量的升高证明病菌的细胞膜发生了脂质过氧化,这一结果最终导致菌的膜损伤。

2.6 肉桂精油对可溶性蛋白和还原糖含量的影响

细胞膜的破坏会影响细胞的正常生理代谢,为了

证明肉桂精油会导致病原真菌代谢的紊乱,本研究检测了胞内蛋白和还原糖含量(图7)。当肉桂精油质量浓度升高时,与对照组相比苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌菌体可溶性蛋白含量极显著下降($P<0.01$),还原糖含量显著下降($P<0.05$)。说明肉桂精油可破坏菌丝体细胞膜结构,能造成菌丝体细胞可溶性蛋白和还原糖大量流失,扰乱菌体生理代谢过程,进而达到抑菌效果。

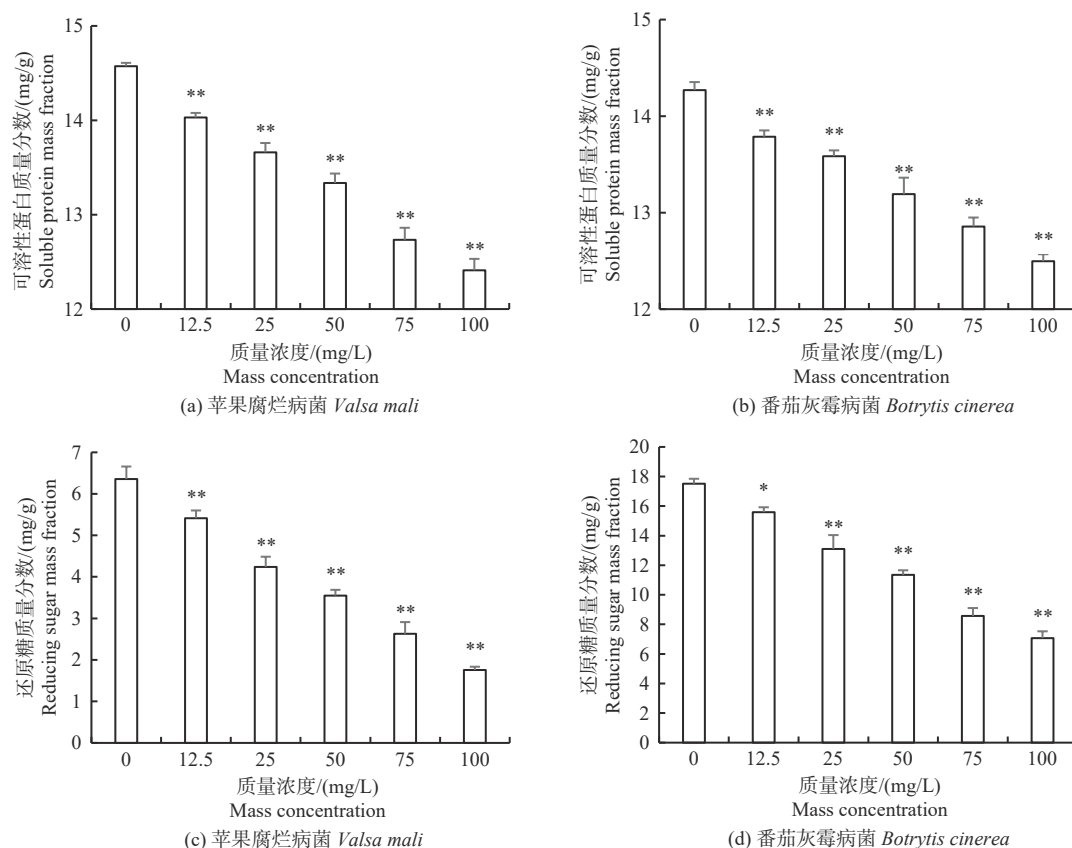


图7 不同质量浓度的肉桂精油对2种植物病原真菌菌体可溶性蛋白和还原糖含量的影响

Fig. 7 The effect of different concentrations of Cinnamon essential oil on the soluble protein and reduced sugar mass fraction of two types of plant pathogenic fungi

3 讨论与结论

本研究通过生长速率法和熏蒸法,证明肉桂精油对苹果腐烂菌和番茄灰霉菌有抑菌效果。但是生长速率法抑菌效果明显强于熏蒸法,说明肉桂精油虽然具有挥发性,但是并不适用于熏蒸抑菌,以直接接触的方式更有利于肉桂精油发挥抑制苹果腐烂菌和番茄灰霉菌的效果,这与贾会玲^[21]的研究结果一致。通过活体试验发现通过喷洒肉桂精油

溶液可有效抑制苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌感染果实。现有研究表明,肉桂精油处理后可有效降低果实贮存时的腐烂率,增强果实抗氧化能力,提升果实贮藏品质^[22-23]。鉴于其抑制病原菌侵染的特性,肉桂精油在苹果、番茄采后运输和贮藏过程中具有显著应用价值,可有效抑制病原真菌的侵染,从而保持果实的新鲜度。

病原菌细胞膜被破坏后,电解质外渗,胞外电导率增大,蛋白质类和糖类的减少也可间接反应

病原真菌细胞结构的破坏^[24]。菌丝体保护酶可清除体内活性氧及过氧化物自由基,大量的活性氧对细胞具有破坏作用;而MDA是膜脂质过氧化终产物之一,它会损坏细胞膜结构,改变膜通透性,影响细胞正常生理生化反应^[25-26]。通过扫描电镜观察发现肉桂精油可使菌丝生长畸形,这与毛雪琳^[9]的结果一致。表明肉桂精油中的活性物质可破坏真菌结构和功能的完整性,对菌丝造成不可逆损伤,从而抑制菌丝生长^[27]。本研究发现,苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌经过肉桂精油处理后菌液电导率上升,说明肉桂精油可影响细胞膜通透性,导致电解质渗漏,破坏膜脂质双分子层结构和功能,阻碍细胞代谢功能^[28]。进一步测定发现菌丝体可溶性蛋白和还原糖含量显著下降,也说明了肉桂精油会破坏细胞膜完整性,使细胞表面损伤,大量内容物渗出,生长代谢紊乱从而导致病原菌细胞死亡。肉桂精油处理后菌体SOD酶活性下降,未及时清除的活性氧作用于细胞膜,导致膜脂质过氧化,破坏细胞结构。膜脂质过氧化产生大量MDA,致使细胞膜中的膜蛋白失活,通透性增加,影响各项生理生化功能,从而抑制病原菌生长繁殖。

本研究仅对肉桂精油抑制苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌的机理进行了初步探究,为提高肉桂精油对病原菌的抑制效果及农药的合理应用,可对其抑菌机理进行深入研究。如可以通过分子层面探究肉桂精油对苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌的作用靶点。

植物源杀菌剂不易产生抗药性,对非靶标生物安全,环境相容性好,是未来农药研究发展的一个重要方向。研究表明,肉桂精油通过破坏苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌细胞膜结构影响其生理代谢功能,有效抑制了病原真菌繁殖,为苹果腐烂病菌和番茄灰霉病菌的防治提供了新方向,为新型无公害防治药剂的研制提供了基础理论依据和参考借鉴。

参考文献 References

- [1] 程小珂,李梅芳. 中国苹果种植成本收益及其影响因素分析[J]. 辽宁农业科学, 2022(3): 29-35
Cheng X K, Li M F. Analysis on production cost-benefit and its influencing factors of apple in China[J]. *Liaoning Agricultural Sciences*, 2022(3): 29-35 (in Chinese)

- [2] 周信雁,杨尚东. 番茄连作土壤中微生物群落的变化特征及其重塑研究进展[J]. 华中农业大学学报, 2024, 43(1): 1-8
Zhou X Y, Yang S D. Progress on changing characteristics and reconstruction of microbial communities in soil under tomato continuous cropping[J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2024, 43(1): 1-8 (in Chinese)
- [3] 豆雅楠. 苹果树腐烂病病原菌的分离鉴定及其拮抗芽孢杆菌的筛选鉴定[D]. 兰州: 西北师范大学, 2018
Dou Y N. Isolation and identification of pathogens of apple *Valsa canker* and screening of *Antagonistic bacillus* to the pathogens[D]. Lanzhou: Northwest Normal University, 2018 (in Chinese)
- [4] 胡静宜. 苹果树腐烂病的发生与防治[J]. 果树资源学报, 2023, 4(1): 70-72
Hu J Y. Occurrence and control of *Valsa Mali miyabe et Yamada*[J]. *Journal of Fruit Resources*, 2023, 4(1): 70-72 (in Chinese)
- [5] 郭书普. 新版果树病虫害防治彩色图鉴[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2010
Guo S P. *New Color Picture Book of Fruit Tree Pest Control* [M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2010 (in Chinese)
- [6] 周岩. 苹果树腐烂病研究分析[J]. 现代农业, 2017(6): 19-20
Zhou Y. Study and analysis of apple tree rot[J]. *Modern Agriculture*, 2017(6): 19-20 (in Chinese)
- [7] 吴仁锋. 杀菌剂及混配对番茄灰霉病室内毒力和田间防效[D]. 武汉: 华中农业大学, 2008
Wu R F. Toxicity bioassay and control of several fungicides against *Botrytis Cinerea* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2008 (in Chinese)
- [8] 葛少晖,郎玉苗,郭南,赵冬雪,杨晓溪. 基于植物精油的可食用涂层在食品保鲜中的应用[J]. 食品研究与开发, 2023, 44(16): 200-207
Ge S H, Lang Y M, Guo N, Zhao D X, Yang X X. Application of edible coatings with plant essential oils for food preservation[J]. *Food Research and Development*, 2023, 44(16): 200-207 (in Chinese)
- [9] 毛雪琳. 肉桂精油对巨峰葡萄采后部分致病菌的抑制及其保鲜效果研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2018
Mao X L. The Research on the bacteriostasis activity and preservative effect of *Cinnamic* essential oil on the post-harvest Jufeng grape [D]. Changsha: Central South University of Forestry & Technology, 2018 (in Chinese)
- [10] 姚杭村,王娟. 肉桂精油在食品防腐保鲜中的应用[C]//中国食品科学技术学会第十六届年会暨第十届中国食品工业高层论坛论文集摘要集. 广州: 华南理工大学食品科学与工程学院, 2019: 1
Yao H C, Wang J. Application of *Cinnamon* essential oil in food antiseptics and preservation [C]. In: *Abstracts of the Sixteenth Annual Conference of the Chinese Society of Food Science and Technology and the Tenth China-US High-Level Forum on Food Industry*. Guangzhou: School of Food Science and Engineering, South China University of Technology, 2019: 1 (in Chinese)
- [11] 顾仁勇,傅伟昌,李佑稷,张丽. 肉桂精油抑菌及抗氧化作用的研究[J]. 食品研究与开发, 2008, 29(10): 29-32
Gu R Y, Fu W C, Li Y J, Zhang L. Study on the anti-oxidation and bacteriostasis of *Cinnamon* essential oil [J]. *Food Research and Development*, 2008, 29(10): 29-32 (in Chinese)
- [12] El Atki Y, Aouam I, Taroq A, El Kamari F, Timinouni M, Lyoussi B, Abdellaoui A. Antibacterial effect of combination of cinnamon essential oil and thymol, carvacrol, eugenol, or geraniol[J]. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 2020, 9(1): 104

- [13] Istúriz-Zapata M A, Hernández-López M, Correa-Pacheco Z N, Barrera-Necha L L. Quality of cold-stored cucumber as affected by nanostructured coatings of chitosan with cinnamon essential oil and cinnamaldehyde [J]. *LWT*, 2020, 123: 109089
- [14] 蒋帅. 肉桂精油对苹果灰霉病防治效果的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017
- Jiang S. The influence of control effect on apple gray mold of *Cinnamon* essential oil [D]. Yangling: Northwest A&F University, 2017 (in Chinese)
- [15] 张娜娜. 肉桂醛对番茄采后灰霉病的抑制作用及其生理品质的影响[D]. 上海: 上海师范大学, 2014
- Zhang N N. Inhibition of cinnamaldehyde on gray mold of post-harvest tomatoes and quality maintain on tomato fruits [D]. Shanghai: Shanghai Normal University, 2014 (in Chinese)
- [16] 魏赛金, 杜亚楠, 倪国荣, 张慧雯, 涂国全, 潘晓华. 农抗702对植物病原真菌的抑制效果及抑菌机理[J]. 应用生态学报, 2012, 23(12): 3435-3440
- Wei S J, Du Y N, Ni G R, Zhang H W, Tu G Q, Pan X H. Inhibition effect of Ag-antibiotic 702 on plant pathogenic fungi and related mechanisms [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23(12): 3435-3440 (in Chinese)
- [17] 武怀恒, 万鹏, 黄民松. 毒力回归计算方法及相应软件使用介绍[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(27): 9335-9338, 9340
- Wu H H, Wan P, Huang M S. Toxicity regression calculation method and introduction of corresponding software utilization [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2014, 42(27): 9335-9338, 9340 (in Chinese)
- [18] 赵劲松, 于书霞. 利用概率单位法估算 EC_{50} 的研究[J]. 生态毒理学报, 2010, 5(3): 420-425
- Zhao J S, Yu S X. Estimation of probit methods on EC_{50} [J]. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2010, 5(3): 420-425 (in Chinese)
- [19] 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[J]. 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 [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2019, 33(12): 2384-2391 (in Chinese)
- [20] 沈玥. 玉米内生放线菌的筛选、鉴定及抑制玉米大斑病菌机理研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014
- Shen Y. Screening and identification of endophytic actinomycetes from maize and research on the mechanism of antigungal activity against *Exserohilum Turcicum* [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2014 (in Chinese)
- [21] 贾会玲. 植物精油及单体成分对黄瓜枯萎病的抑菌活性与机理研究[D]. 南京: 南京师范大学, 2022
- Jia H L. Research on the antibacterial activity and mechanism of plant essential oils and monomer components against cucumber wilt [D]. Nanjing: Nanjing Normal University, 2022 (in Chinese)
- [22] 方静, 谷会, 李蕊, 姚全胜, 杜丽清. 肉桂精油复合壳聚糖处理对采后芒果的保鲜效果[J]. 中国南方果树, 2023, 52(6): 97-103
- Fang J, Gu H, Li R, Yao Q S, Du L Q. Fresh-keeping effect of cinnamon essential oil combined with chitosan on postharvest mango [J]. *South China Fruits*, 2023, 52(6): 97-103 (in Chinese)
- [23] 何靖柳. 肉桂精油对红阳猕猴桃采后两种致病菌抑制机制及其应用研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2019
- He J L. Studies on antifungal mechanism of cinnamon essential oil in two pathogens isolated from 'hongyang' kiwifruit and its application [D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2019 (in Chinese)
- [24] 李亚茹. 新疆杏干储藏品质控制技术的研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2014
- Li Y R. Study on quality control technology of dried apricots during storage [D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2014 (in Chinese)
- [25] 江珊. 稻瘟病菌在氮胁迫下菌丝体酶活性及蛋白质组学研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2013
- Jiang S. Mycelial enzymatic activation and proteomics of *Magnaporthe oryzae* in nitrogen starvation [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2013 (in Chinese)
- [26] 张雪花, 李琳玲, 程华, 王晖, 艾远航, 程水源. 解淀粉芽孢杆菌 CMN1308 对栗实病原菌的诱导抗性[J]. 贵州农业科学, 2015, 43(11): 83-86
- Zhang X H, Li L L, Cheng H, Wang H, Ai Y H, Cheng S Y. Inducible resistance of *Bacillus amyloliquefaciens* CMN1308 against pathogenic fungi of chestnut [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2015, 43(11): 83-86 (in Chinese)
- [27] 贾安峰, 邹胜龙, 石林, 龚红. 肉桂醛的抑菌作用及其生物安全性[J]. 中国猪业, 2015, 10(12): 58-63
- Jia A F, Zou S L, Shi L, Gong H. Antibacterial effect of cinnamaldehyde and its biological safety [J]. *China Swine Industry*, 2015, 10(12): 58-63 (in Chinese)
- [28] Nazer A I, Kobilinsky A, Tholozan J L, Dubois-Brissonnet F. Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella* sv *Typhimurium*: A synergistic effect? [J]. *Food Microbiology*, 2005, 22(5): 391-398

责任编辑: 董金波



第一作者简介: 孙泽鑫, 硕士研究生, 青岛农业大学植物医学学院植物保护专业, 研究方向为农药学。在校期间获1次研究生二等学业奖学金、2次研究生三等学业奖学金。



通讯作者简介：郝智慧,博士,教授。主要从事中兽药药理学与毒理学、中兽药现代化、新兽药创制和兽医公共卫生相关研究工作。担任农业部新兽药审评委员会委员、农业部耐药性监控与残留委员会委员、农业部兽药典委员会委员、农业部中药材专家指导组成员。兼任中国畜牧兽医学会兽医药理学分会副秘书长、中国畜牧兽医学会动物药品学分会常务理事、中国畜牧兽医学会兽医食品卫生学会常务理事、中国畜牧兽医学会动物毒理学分会秘书长兼委员、中国兽医协会中兽医学分会副会长。主持或参与科研项目40余项,包括国家重点研发计划项目、国家948计划项目、国家十二五支撑计划项目、国际合作交流专项、国家自然科学基金项目、农业部公益性行业专项项目等,在 *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *Toxicology and Applied Pharmacology*, *Phytotherapy Research*, *Pharmaceutical Research* 等期刊发表论文130余篇;获得授权发明专利51项,作为第一发明人的有44项,有4项为实用新型专利;主导开展了包括3个国家一类新中兽药(紫锥菊药材及其散、末)在内的37个新兽药的研制,已获批22个新兽药并转化应用;主持和作为主要完成人颁布国家和地方标准27项,其中制订新兽药产品标准22项,陆续被收录到2010版、2015版《中国兽药典》中;获得各类科研奖励14项,其中省部级以上奖励5项;获得软件著作权20项。