

## 外源褪黑素和棕榈酸处理对杧果叶片表皮蜡质的影响<sup>1</sup>

吴婧波<sup>1,2</sup>, 黄玉玉<sup>1</sup>, 吴潇<sup>1</sup>, 王鹏<sup>1</sup>, 谷超<sup>1</sup>, 殷豪<sup>1</sup>, 齐开杰<sup>1</sup>, 詹儒林<sup>3</sup>, 张绍铃<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>南京农业大学三亚研究院, 海南三亚 572024; <sup>2</sup>中国热带农业科学院南亚热带作物研究所, 海南省热带园艺产品采后生理与保鲜重点实验室, 农业部热带果树生物学重点实验室, 广东湛江 524091; <sup>3</sup>中国热带农业科学院三亚研究院, 海南三亚 572025)

**摘要:** 【目的】为揭示外源试剂对杧果叶片蜡质合成的影响。【方法】本研究以‘金煌’和‘台农1号’两个杧果品种盆栽苗为材料, 通过不同浓度的褪黑素(MT)、棕榈酸(PA)以及组合试剂喷施杧果叶片, 利用氯仿提取叶片表皮蜡质, 叶面积仪测量叶片表面积, 气相色谱质谱联用仪(GC-MS)测定叶片表皮蜡质的含量和化学组分。【结果】结果表明除100 μM MT+200 μM PA组合试剂处理后的‘金煌’杧果叶片蜡质含量略有降低, 其他外源试剂处理组合均提高了两个杧果品种叶片表皮蜡质含量。100 μM MT+200 μM PA组合试剂处理对‘台农1号’杧果叶片表皮蜡质含量提升效果最明显, 是对照组的3.2倍, 其中酯类化合物含量增加了11.95倍。150 μM PA处理可提高‘金煌’杧果叶片表皮蜡质中C28、C29和C32醛类以及‘热农1号’杧果中萜类化合物的含量, 使其蜡质含量分别提高了1.87和2.05倍。【结论】不同外源试剂处理可改变杧果叶片蜡质脂肪族化合物的碳链分布和萜类化合物含量, 从而影响总含量的变化。100 μM MT+200 μM PA组合试剂对‘台农1号’杧果叶片表皮蜡质处理效果最显著, 150 μM PA对‘金煌’和‘台农1号’两个杧果品种叶片表皮蜡质处理效果均较好。

**关键词:** 杧果叶片; 外源试剂; 表皮蜡质含量; 化学组分

中图分类号: S667.7 文献标志码: A 文章编号: 1009-9980(2025)05-0001-08

## Effects of melatonin and palmitic acid on the wax content of mango leaf epidermis

WU Jingbo<sup>1,2</sup>, HUANG Yuyu<sup>1</sup>, WU Xiao<sup>1</sup>, GU Chao<sup>1</sup>, YIN Hao<sup>1</sup>, QI Kaijie<sup>1</sup>, ZHAN Rulin<sup>3</sup>, ZHANG Shaoling<sup>1\*</sup>

(<sup>1</sup>Sanya Institute of Nanjing Agricultural University, Sanya 572024, Hainan, China; <sup>2</sup>South Subtropical Crop Research Institute, CATAS, Key Laboratory of Hainan Province for Postharvest Physiology and Technology of Tropical Horticultural Products, Key Laboratory of Tropical Fruit Biology, Ministry of Agriculture & Rural Affairs, Zhanjiang 524091; <sup>3</sup>Sanya Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agriculture Sciences Sanya, Sanya 572025)

**Abstract:** 【Objective】The plant epidermal wax serves as the primary barrier for plants against external environmental stresses. It plays an important role in preventing water loss from the plant epidermis, inhibiting pathogen invasion, and extending the storage period of fruits. Currently, many studies have

收稿日期: 2024-10-12

接受日期: 2025-02-18

基金项目: 三亚亚州湾科技城科技专项(SCKJ-JYRC-2022-60); 中央级公益性科研院所基本业务费专项(1630062024012); 海南省自然科学基金项目(322QN379)

作者简介: 吴婧波, 女, 助理研究员, 在读博士研究生, 研究方向为热带亚热带果树抗病育种。Tel: 0759-2859194, E-mail: 01233210wujingbo@163.com

\*通信作者 Author for correspondence. Tel: 025-84395022, E-mail: nnzsl@njau.edu.cn

been conducted to regulate and control the synthesis of the plant epidermal wax, with the aim of increasing wax content of plant and subsequently improving the plant's resistance to adverse external environments. Exploring the influence of exogenous reagents on wax content and chemical composition of the mango can provide a reference for the synthesis regulatory mechanism of exogenous reagents on the wax of mango leaf epidermis. **【Methods】** In this study, the sapling of two mango cultivars, 'Chiin Hwang' and 'Tainoung No.1', were used as materials. One-year-old saplings planted in the experimental base were selected, and all saplings were managed according to conventional field measures to ensure consistent growth conditions. After the mango saplings completed sprouting, the upper and lower epidermal surfaces of the light green leaves at growth stage were respectively sprayed with 50 ml of melatonin (100 $\mu$ M MT), palmitic acid (150 $\mu$ M PA, 200 $\mu$ M PA), and their combination reagents (100 $\mu$ M MT + 150 $\mu$ M PA, 100 $\mu$ M MT + 200 $\mu$ M PA), while the mango leaves in the control group were sprayed with the same amount of clear water. During the process of preparing exogenous reagents, melatonin and palmitic acid were separately dissolved in a small amount of absolute ethanol, and an appropriate amount of OP-10 emulsifier was added to assisting dissolution. After thorough mixing, ultrapure water was added in accordance with the molar concentration ratio. Approximately 1mL of absolute ethanol was used for each 1L of exogenous reagent, and approximately 20 $\mu$ L of emulsifier was added. Three mango saplings were included in each treatment, and three replicates were set for each treatment. The exogenous reagents were sprayed every two days for a total of three times. On the seventh day after the exogenous reagent treatment, three leaves of the same position were taken from each plant. The wax of mango leaf epidermis were extracted using the chloroform dissolution, and the leaves surface area were measured using the portable leaf area measuring instrument. The n-tetracosane solution (10mg/mL) was used as an internal standard. The epidermal wax extracts were dried by the termovap sample concentrator to obtain the crude epidermal wax extract and undergo derivatization reactions. The wax content and chemical composition of mango leaf epidermis were analyzed and determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS), and statistical data were analyzed to investigate the influence of exogenous reagents on the wax of mango leaf epidermis. **【Results】** The GC-MS detection results revealed the epidermal wax of 'Chiin Hwang' and 'Tainoung No.1' mango leaf was mainly composed of aliphatic compounds (alkanes, alcohols, aldehydes, and fatty acids), terpenoids, esters, and other unclassified compounds. The PCA results showed that for 'Chiin Hwang', PC1 and PC2 were 34.8% and 28.6%, respectively, explaining 63.4% of the variation; for 'Tainoung No.1', PC1 and PC2 were 44.1% and 24.8%, respectively, explaining 68.9% of the variation. Different exogenous reagent treatments exerted specific regulatory effects on the wax components and content of mango leaf. The wax of mango leaf epidermis of the control group sprayed with clear water was 9.72  $\mu$ g/cm<sup>2</sup> for 'Chiin Hwang' and 11.76  $\mu$ g/cm<sup>2</sup> for 'Tainoung No.1'. After different exogenous reagent treatments, except for the 'Chiin Hwang' mango leaf treated with 100 $\mu$ M MT + 200 $\mu$ M PA mixed reagent where the wax content slightly decreased, the wax content of mango leaf epidermis in other treatments increased.

Among them, after treatment with 100 $\mu$ M MT + 200 $\mu$ M PA, the ester wax compounds of 'Tainoung No.1' mango leaf by 11.95 times, and its proportion in the total wax content increased from 23.59% to 87.88%, with total content increase by 3.2 times, which was the main reason for the total wax increase. The 150 $\mu$ M PA reagent could increase the content of aldehydes with carbon chains of C28, C29, and C32 in the wax of 'Chiin Hwang' mango leaf epidermis, and the terpenoid compounds in 'Tainoung No.1' mango leaf. The effect on increasing the wax content of both mango cultivars was significant, with increase by 1.87 and 2.05 times, respectively. **【Conclusion】** Different exogenous reagent treatments can change the carbon chain distribution of aliphatic compounds and the content of each component of terpenoids in mango leaf epidermis, influencing the variation in the total wax content. The 150  $\mu$ M PA reagent can effectively increase the total wax content of both 'Chiin Hwang' and 'Tainoung No.1' mango cultivars.

**Keywords:** Mango leaf; Exogenous reagents; Wax content; Wax components

植物表皮蜡质是植物抵御外界环境胁迫的第一道屏障，在减缓水分散失、抑制病原菌侵害及延长水果贮藏期等方面发挥重要作用<sup>[1-4]</sup>。目前，大量研究表明通过外源试剂处理可以提高植物表皮蜡质含量，进而提高植物对外界不良环境的抵抗能力。例如，外源多巴胺处理显著提高了黄瓜叶片表皮蜡质含量，增强了叶片抗病性<sup>[5]</sup>。外源茉莉酸甲酯（MeJA）处理增加了甜樱桃果实蜡质中长链烷烃化合物含量<sup>[6]</sup>。喷施氨基乙酰丙酸（ALA）和 MeJA 增加了‘玉露香’叶片蜡质含量<sup>[7]</sup>。水杨酸（SA）处理有效延缓了蓝莓果实总蜡含量的降低，显著影响了果实表皮蜡质组分占比<sup>[8]</sup>。2,4-表油菜素内酯（EBR）处理种子，可以提高甜高粱和青贮玉米叶片角质蜡在干旱条件下 C28 和 C30 醛的相对含量、甜高粱中 C29 烷的相对含量以及青贮玉米 C30 和 C32 烷的相对含量<sup>[9]</sup>。褪黑素（Melatonin, MT）作为内源性植物激素，在植物生长、抵抗生物和非生物胁迫等过程中发挥重要作用，MT 对植物表皮蜡质合成的影响也已有广泛报道。例如，适当浓度的 MT 处理可以维持芒果果皮完整性延缓果实衰老<sup>[10]</sup>，降低枇杷果实日灼病果率及病害等级，缓解高温胁迫对果皮组织结构伤害<sup>[11]</sup>，增加番茄叶片表皮蜡质组分中烷烃和萜类含量，缓解叶片水分散失<sup>[12]</sup>以及维持蓝莓果实三萜类化合物含量，有效延缓果实蜡质含量的减少<sup>[13,14]</sup>；‘空心李’经 MT 处理后，长链烷烃含量显著增加，维持了果实硬度，耐储性提高<sup>[15]</sup>。棕榈酸（Palmitic acid, PA）作为蜡质合成前体之一，也是植物蜡质的主要组分之一，喷施 PA 对于提高植物表皮蜡质含量具有重要作用。例如，PA 处理分别显著提高了‘玉露香’、‘丰水’和‘翠冠’三个梨品种果实表皮蜡质含量 71.7%、65.3%和 38.6%<sup>[16]</sup>。本研究选用褪黑素、棕榈酸以及两种试剂的混合组合处理‘金煌’和‘台农 1 号’芒果叶片，通过 GC-MS 分析测定表皮蜡质含量和化学组分，探究外源试剂对芒果叶片表皮蜡质含量和组分的影响。改变芒果果皮蜡质组分，提高蜡质含量，有望成为改善芒果品质和提高芒果产量的重要手段，具有重要的科学意义和应用价值。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 参试杧果材料

以海南省三亚市主栽杧果品种‘金煌’和‘台农1号’为实验材料。选取实验基地内按照常规田间管理栽种的一年生大小一致健康杧果幼苗，杧果苗嫁接所用砧木一致，为‘鹰嘴芒’。待到抽梢结束，在杧果浅绿幼叶转变为深绿新叶期间进行后续外源试剂处理。（砧木是否一致，是什么？请加以说明）-已按要求说明

### 1.2 外源试剂的配制

依次配制外源试剂 100  $\mu\text{M}$  MT、150  $\mu\text{M}$  PA 和 200  $\mu\text{M}$  PA。配制方法如下：利用 1mL 无水乙醇分别溶解褪黑素和棕榈酸，加入 20 $\mu\text{L}$  OP-10 乳化剂助溶，混合均匀后，用超纯水补齐至 1L。取 500ml 100  $\mu\text{M}$  MT 外源试剂分别与 500ml 的 150  $\mu\text{M}$  PA 和 500ml 的 200  $\mu\text{M}$  PA 试剂等体积混合，配制 100  $\mu\text{M}$  MT+150  $\mu\text{M}$  PA 和 100  $\mu\text{M}$  MT+200  $\mu\text{M}$  PA 混合溶液。对照组：1mL 无水乙醇，加入 20 $\mu\text{L}$  OP-10 乳化剂，用超纯水补齐至 1L。

### 1.3 外源试剂的处理

分别取 50 ml 的对照组、100  $\mu\text{M}$  MT、150  $\mu\text{M}$  PA、200  $\mu\text{M}$  PA、100  $\mu\text{M}$  MT+150  $\mu\text{M}$  PA 和 100  $\mu\text{M}$  MT+200  $\mu\text{M}$  PA 溶液，均匀喷施在杧果叶片的上表皮和下表皮，每 2 天喷施一次，总共进行 3 次喷施。每品种每处理重复 3 次，每重复 3 株杧果幼苗。在外源试剂处理后第 7d，在每株参试杧果植株相同部位取 3 片叶片待测，每个处理共 27 片杧果叶片用于后续蜡质含量和组分分析。（每处理共喷施多少株幼苗？）-已按要求说明

### 1.4 表皮蜡质的提取

利用氯仿提取杧果叶片表皮蜡质，使用叶面积仪测量叶片表面积。每个杧果品种每个处理组共 27 片待测叶片，平均分为 3 组，用清水清洗干净，放置阴凉处晾干。每组共 9 片叶片分别测定叶面积后，在通风橱中用 80 ml 氯仿充分浸泡 1 min。将浸泡后滤液转移至棕色样品瓶中，再加入 2  $\mu\text{L}$  内标正二十四烷溶液（10 mg/mL），通过氮吹仪吹干溶液获得蜡质粗提物。

### 1.5 表皮蜡质衍生化反应

取 1 mg 蜡质粗提物，加入 200  $\mu\text{l}$  吡啶和 200  $\mu\text{l}$  N,O-双(三甲基硅烷基)三氟乙酰胺(BSTFA)，放入 70  $^{\circ}\text{C}$  烘箱内静置 1 小时，通过氮吹仪再次吹干溶液，加入 1 ml 色谱级氯仿重新溶解。使用 1 ml 无菌注射器将溶液通过 0.45  $\mu\text{m}$  有机过滤膜过滤至 2 mL 棕色进样瓶中等待上机测样。

### 1.6 表皮蜡质组分分析

通过气相色谱-质谱仪（GC-MS，Bruker 450-GC，Bruker 320-MS）和色谱柱（BR-5MS，30  $\times$  0.25  $\times$  0.25）分析杧果叶片表皮蜡质化学组分。以 1.2 mL/min 氮气作为载气。仪器参数如下：进样口和传输线温度均设为 280  $^{\circ}\text{C}$ ；离子源温度和四级杆温度分别为 250  $^{\circ}\text{C}$  和 150  $^{\circ}\text{C}$ ；电子能量（EI）为 70 eV；扫描范围为 50-650 m/z。样品注入 GC-MS 后，50  $^{\circ}\text{C}$  运行 2 min，接着，以 40  $^{\circ}\text{C}$  /min 的速度升温至 200  $^{\circ}\text{C}$  运行 2 min。最后，以 3  $^{\circ}\text{C}$  /min 升温至 320  $^{\circ}\text{C}$ ，保持 30 min。

## 1.7 数据分析

GraphPad prism 9 和 Origin 2021 软件用于制作柱状图, Origin 2021 软件进行主成分分析, SPSS V23.0 软件用于差异显著性分析, 标注的小写字母表示  $p < 0.05$  的显著差异。每个处理三个生物学重复, 数据以平均值 $\pm$ SD 表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 外源试剂对杧果叶片表皮蜡质主成分的调控

GC-MS 检测结果表明‘金煌’和‘台农 1 号’杧果叶片表皮蜡质主要由脂肪族化合物、萜类和其他未分类化合物组成, 不同外源试剂处理后的不同杧果品种叶片表皮蜡质含量和组分存在差异(表 1)。对不同处理后的两种杧果主成分进行分析(PCA), 结果显示处理组和对照组‘金煌’杧果叶片表皮蜡质组分的 PC1 和 PC2 分别为 34.8%和 28.6%, 可以解释 63.4%的变异; 而‘台农 1 号’PC1 和 PC2 分别为 44.1%和 24.8%, 可以解释 68.9%的变异(图 1)。不同外源试剂处理对杧果叶片表皮蜡质组分和含量发挥的调控作用存在差异, 其中 100  $\mu$ M MT 对杧果叶片蜡质主成分影响最小, 其他处理组杧果叶片蜡质主成分发生显著变化。

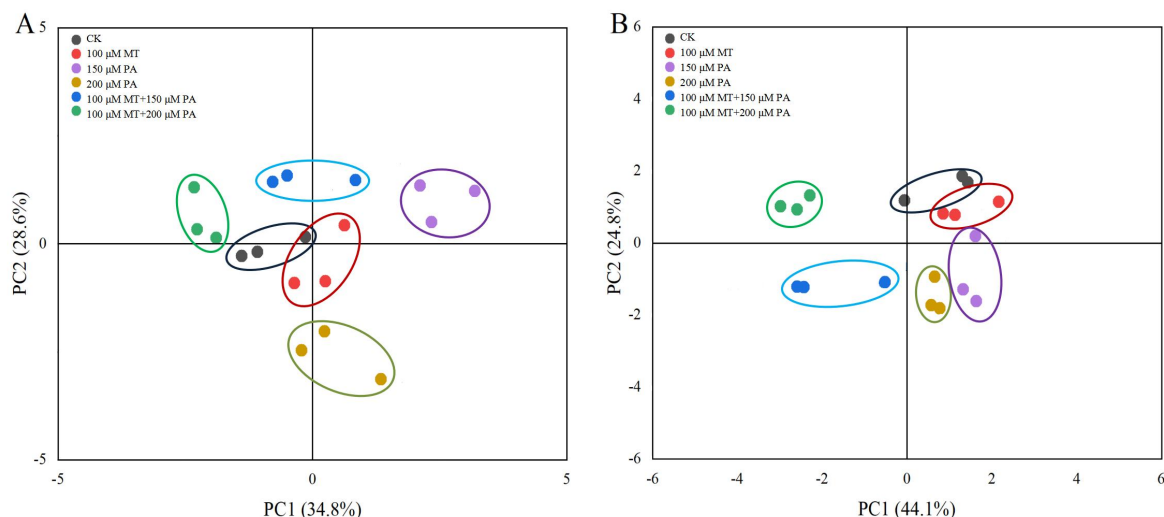


图 1 不同处理后杧果叶片表皮蜡质组分主成分分析图

Fig.1 Principal component analysis of wax components on mango leaf after different treatments

(A) ‘金煌’品种不同处理结果; (B) ‘台农 1 号’品种不同处理结果。

(A) Results of different treatments of 'Chiin Hwang' variety; (B) Results of different treatments of 'Tainoung No.1' variety.

### 2.2 外源试剂对杧果叶片表皮蜡质含量的影响

不同外源试剂处理对不同品种杧果叶片表皮蜡质含量的影响存在差异(表 1)。对照组‘金煌’和‘台农 1 号’杧果叶片表皮蜡质总量分别为 9.72  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>和 11.76  $\mu$ g/cm<sup>2</sup>。除 100  $\mu$ M MT+200  $\mu$ M PA 混合试剂处理后的‘金煌’杧果叶片表皮蜡质含量略有降低, 其他处理后的杧果叶片蜡质含量均有提高。其中 150  $\mu$ M PA 对‘金煌’和‘台农 1 号’两个杧果品种叶片蜡质含量提高

均有显著效果，分别提高了 1.87 和 2.05 倍。200  $\mu\text{M}$  PA、100  $\mu\text{M}$  MT+150  $\mu\text{M}$  PA 和 100  $\mu\text{M}$  MT +200  $\mu\text{M}$  PA 试剂处理均可显著提高‘台农 1 号’叶片表皮蜡质，较对照组分别提高了 1.57, 1.34 和 3.2 倍，而处理后的‘金煌’叶片表皮蜡质含量与对照组无显著性差异。

表 1 不同处理下芒果叶片表皮蜡质组分含量 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )

Table1 The content of wax components on mango leaf under different treatments ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )

品种 Species	处理 Treatments	烷烃 Alkanes	醇类 Alcohols	醛类 Aldehydes	脂肪酸 Fatty acids	酯类 Esters	萜类 Terpenes	其他 Others	蜡质总量 Total
金煌 Chiin Hwang	CK	1.51±0.15b	1.25±0.24cd	1.20±0.65bc	0.04±0.01d	3.824±0.30b	1.85±0.18c	0.06±0.02a	9.72±1.50bc
	100 $\mu\text{M}$ MT	2.04±0.12ab	1.65±0.45bc	0.92±0.05c	0.16±0.02a	4.43±1.36b	1.67±0.05c	0.12±0.06a	10.98±1.71b
	150 $\mu\text{M}$ PA	2.02±0.45ab	2.01±0.18ab	4.88±1.07a	0.06±0.01c	6.05±0.92a	2.97±0.40b	0.14±0.04a	18.13±1.53a
	200 $\mu\text{M}$ PA	0.87±0.10c	1.11±0.36cd	1.43±0.36bc	0.13±0.02b	3.06±0.29bc	4.02±0.90a	0.11±0.07a	10.73±1.31bc
	100 $\mu\text{M}$ MT+150 $\mu\text{M}$ PA	2.16±0.13a	2.27±0.45a	1.99±0.21b	ND	3.69±0.64b	2.12±1.01bc	0.05±0.02a	12.28±1.99b
	100 $\mu\text{M}$ MT+200 $\mu\text{M}$ PA	2.49±0.55a	0.82±0.04d	1.14±0.01bc	ND	2.12±0.45c	1.25±0.04c	0.10±0.03a	7.92±0.77c
台农 1 号 Tainoung No.1	CK	2.49±0.46a	1.52±0.16a	2.41±0.75ab	0.18±0.02cd	2.77±0.72b	2.14±0.53d	0.23±0.01ab	11.76±1.48e
	100 $\mu\text{M}$ MT	1.95±0.55ab	1.48±0.41a	2.90±0.52a	0.22±0.02bc	2.77±0.60b	4.48±0.51c	0.30±0.14a	14.09±0.90de
	150 $\mu\text{M}$ PA	1.74±0.54bc	1.21±0.57a	3.06±0.43a	0.24±0.05ab	3.12±0.57b	14.40±1.84a	0.29±0.07ab	24.06±2.54b
	200 $\mu\text{M}$ PA	1.70±0.11bc	0.91±0.28ab	1.80±0.17bc	0.29±0.02a	1.66±0.76b	11.81±0.56b	0.26±0.03ab	18.43±1.03c
	100 $\mu\text{M}$ MT+150 $\mu\text{M}$ PA	1.02±0.31cd	0.54±0.17b	1.17±0.39c	0.16±0.02d	1.76±0.58b	10.98±1.12b	0.14±0.11b	15.77±2.28cd
	100 $\mu\text{M}$ MT+200 $\mu\text{M}$ PA	0.88±0.01d	0.91±0.16ab	1.30±0.18c	0.19±0.01cd	33.09±1.13a	1.13±0.02d	0.15±0.02ab	37.66±1.48a

### 2.3 外源试剂对杧果叶片表皮蜡质组分的影响

喷施不同外源试剂对不同品种杧果叶片表皮蜡质组分含量影响不同（表 1 和图 2）。与对照相比，100  $\mu\text{M}$  MT 处理对‘金煌’杧果叶片蜡质组分中的脂肪酸化合物显著增加了 4.00 倍，其在总蜡质占比从 0.39% 提升至 1.41%；150  $\mu\text{M}$  PA 处理醇类、醛类、脂肪酸、酯类、萜类蜡质化合物含量均显著提高，其中醛类化合物增幅最显著，是对照组的 4.07 倍，其在总蜡质占比从 12.31% 提升至 26.94%；200  $\mu\text{M}$  PA 处理蜡质组分中的烷烃、脂肪酸、萜类均有显著提高，其中最显著的是脂肪酸，提升倍数为 3.25，其在总蜡质占比从 0.39% 提升至 1.21%；100  $\mu\text{M}$  MT+150  $\mu\text{M}$  PA 和 100  $\mu\text{M}$  MT+200  $\mu\text{M}$  PA 处理‘金煌’杧果叶片表皮蜡质均未检测到脂肪酸化合物。100  $\mu\text{M}$  MT、150  $\mu\text{M}$  PA、200  $\mu\text{M}$  PA 和 100  $\mu\text{M}$  MT+150  $\mu\text{M}$  PA 处理显著增加了‘台农 1 号’杧果叶片表皮蜡质中萜类化合物含量，分别是对照组的 2.09、6.73、5.52 和 5.13 倍，而经 100  $\mu\text{M}$  MT+200  $\mu\text{M}$  PA 处理后该品种杧果叶片表皮蜡质酯类化合物增加了 11.95 倍，其总蜡质占比从 23.59% 提升至 87.88%，是其总蜡提升的主要原因。

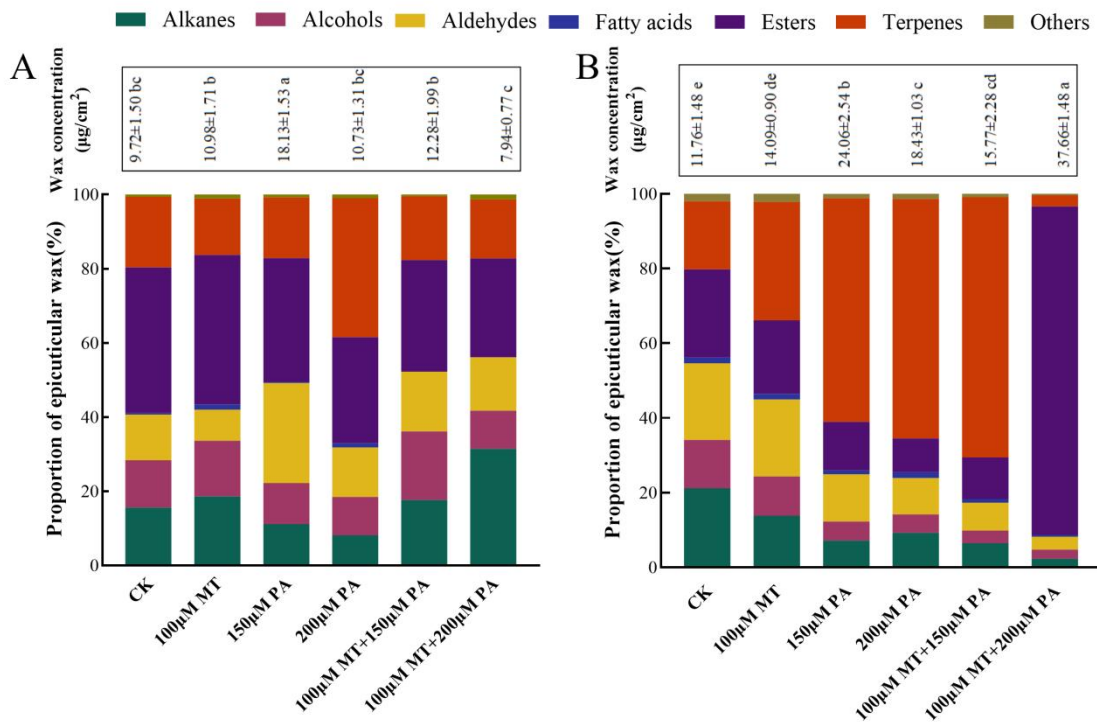


图 2 不同处理对杧果叶片表皮蜡质组分占比的影响

Fig. 2 Effect of different treatments on the proportion of wax components on mango leaf

(A) ‘金煌’；(B) ‘台农 1 号’

(A) 'Chiin Hwang'; (B) 'Tainong No.1'

### 2.4 外源试剂对杧果叶片表皮蜡质脂肪族化合物碳链分布的影响

外源试剂对不同杧果叶片表皮蜡质脂肪族化合物碳链分布的影响存在差异（图 3）。杧果叶



片蜡质中烷烃碳链长度分布范围为 C16-C34，其中 C25 和 C26 烷烃是‘金煌’和‘台农 1 号’叶片蜡质中的主要烷烃化合物（图 3-A，图 3-E）。150  $\mu\text{M}$  PA 处理后的‘金煌’杧果叶片蜡质中 C16 到 C25 烷烃均减少，而 C26 烷烃和 C34 烷烃含量均有增加（图 3-A）。外源试剂处理后‘台农 1 号’杧果叶片蜡质中 C26 和 C29 烷烃减少，100  $\mu\text{M}$  MT 处理后‘台农 1 号’杧果叶片蜡质中 C18 烷烃显著增加（图 3-E）。杧果叶片蜡质中脂肪酸碳链长度分布范围主要是 C16 和 C18（图 3-B,图 3-F），100  $\mu\text{M}$  MT 处理后‘金煌’杧果叶片蜡质中 C16 和 C18 脂肪酸显著增加（图 3-B）。150  $\mu\text{M}$  PA 和 200  $\mu\text{M}$  PA 处理后‘金煌’和‘台农 1 号’杧果叶片蜡质中 C16 脂肪酸均显著增加（图 3-B,图 3-F）。杧果叶片蜡质中醛类碳链长度分布范围主要为 C24-C32（图 3-C,图 3-G），150  $\mu\text{M}$  PA 处理后‘金煌’杧果叶片蜡质中 C28，C29，C32 醛显著增加（图 3-C），100  $\mu\text{M}$  MT 和 150  $\mu\text{M}$  PA 处理‘台农 1 号’杧果叶片蜡质中 C29 和 C32 醛显著增加（图 3-G）。杧果叶片蜡质中醇类碳链长度分布范围主要为 C16-C27（图 3-D,图 3-H），外源试剂对杧果叶片蜡质醇类化合物的碳链分布影响较小，100  $\mu\text{M}$  MT 处理后‘金煌’杧果 C27 醇显著降低（图 3-D）。100  $\mu\text{M}$  MT 和 150  $\mu\text{M}$  PA 处理‘台农 1 号’杧果叶片蜡质中 C16 醇均显著降低（图 3-H）。

## 2.5 外源试剂对杧果叶片表皮蜡质萜类化合物成分的影响

不同外源试剂对杧果叶片表皮蜡质萜类成分均有影响（表 2），其中在对照组中‘金煌’杧果叶片表皮蜡质中 $\beta$ -香树脂醇未检测到，而 200  $\mu\text{M}$  PA、100  $\mu\text{M}$  MT+150  $\mu\text{M}$  PA 和 100  $\mu\text{M}$  MT+200  $\mu\text{M}$  PA 处理组中含量分别为 0.98 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，0.42 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，0.38 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。在对照组中‘台农 1 号’杧果叶片表皮蜡质中 $\alpha$ -香树脂醇未检测到，但在所有处理组均有发现，其含量为 0.76 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ -1.53 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。木栓酮在‘金煌’杧果叶片表皮蜡质中的含量为 0.36 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，150  $\mu\text{M}$  PA 和 200  $\mu\text{M}$  PA 处理可有效增加其含量至 0.52 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和 0.62 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ，其他处理未检测到该化合物。

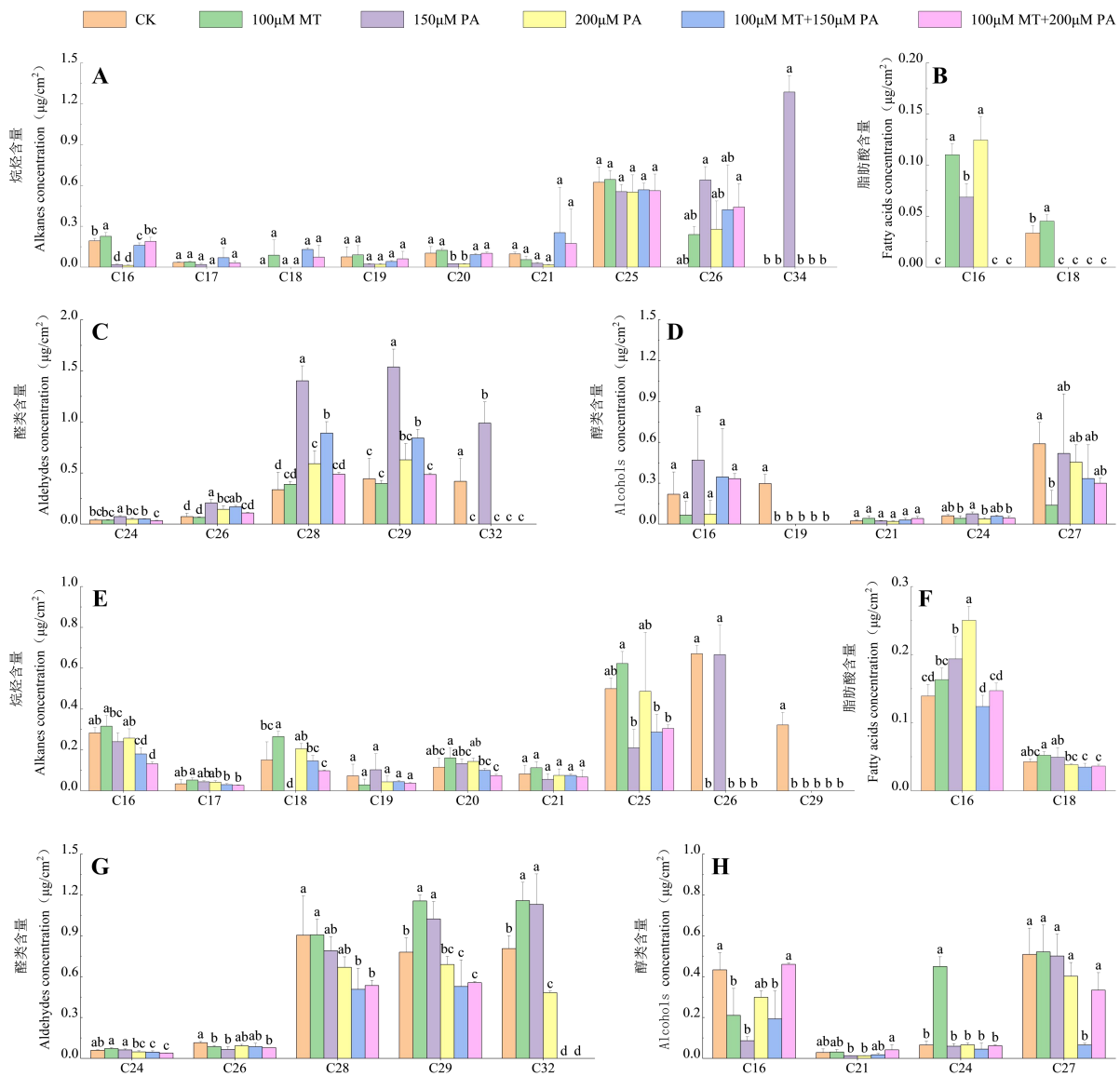


图 3 外源试剂处理对杧果叶片表皮蜡质脂肪族化合物碳链分布的影响

Figure 3. Changes in the carbon chain distribution of aliphatic wax compounds in mango leaf epidermis under the influence of exogenous reagents

A, B, C, D 为‘金煌’杧果；E, F, G, H 为‘台农 1 号’杧果；A, E 为烷烃类化合物含量 (µg/cm²)；B, F 为脂肪酸含量 (µg/cm²)；C, G 为醛类化合物含量 (µg/cm²)；D, H 为醇类化合物含量 (µg/cm²)。

A, B, C, D are ‘Chiin Hwang’; E, F, G, H are ‘Tainoung No.1’; A, E indicate the alkane compound content (µg/cm²); B, F indicate the fatty acid content (µg/cm²); C, G indicate the aldehyde compound content (µg/cm²); D, H indicate the alcohol compound content (µg/cm²).

表 2 不同处理后主要萜类化合物含量 ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )

Table2 Content of terpenoids after different treatments ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )

品种 Species	处理 Treatments	$\gamma$ -生育酚 $\gamma$ -Tocopherol	DL- $\alpha$ -生育酚 DL- $\alpha$ -Tocopherol	角鲨烯 Squalene	$\beta$ -香树脂酮 $\beta$ -Amyrone	$\beta$ -香树脂醇 $\beta$ -Amyrin	$\alpha$ -香树脂醇 $\alpha$ -Amyrin	木栓酮 Friedelan-3-one
金煌 Chiin Hwang	CK	1.01±0.11b	0.07±0.02a	0.06±0.01ab	1.27±0.13b	ND	ND	0.36±0.07b
	100 $\mu\text{M}$ MT	0.15±0.04b	ND	0.08±0.01a	1.42±0.11b	ND	ND	ND
	150 $\mu\text{M}$ PA	0.26±0.04a	ND	ND	2.00±0.18a	ND	ND	0.52±0.03ab
	200 $\mu\text{M}$ PA	0.13±0.04b	0.10±0.04a	0.05±0.02b	2.22±0.56a	0.98±0.23a	ND	0.62±0.12a
	100 $\mu\text{M}$ MT+150 $\mu\text{M}$ PA	0.11±0.02bc	0.08±0.01a	0.04±0.01b	0.69±0.29c	0.42±0.09b	ND	ND
	100 $\mu\text{M}$ MT+200 $\mu\text{M}$ PA	0.24±0.01c	ND	0.08±0.02a	0.63±0.05c	0.38±0.04b	ND	ND
台农 1 号 Tainoung No.1	CK	0.14±0.04ab	0.07±0.01a	0.05±0.01bc	0.42±0.03cd	1.01±0.11c	ND	ND
	100 $\mu\text{M}$ MT	0.16±0.02ab	ND	0.08±0.01a	1.42±0.34a	1.24±0.22c	1.53±0.14a	ND
	150 $\mu\text{M}$ PA	0.17±0.03a	ND	0.08±0.02a	0.86±0.14b	11.47±2.15a	1.23±0.21ab	ND
	200 $\mu\text{M}$ PA	0.10±0.03bc	ND	0.05±0.00c	0.45±0.05cd	9.31±0.93b	0.95±0.10bc	ND
	100 $\mu\text{M}$ MT+150 $\mu\text{M}$ PA	0.12±0.02abc	ND	0.07±0.01ab	0.60±0.26bc	0.30±0.03c	0.77±0.29c	ND
	100 $\mu\text{M}$ MT+200 $\mu\text{M}$ PA	0.08±0.00c	ND	0.06±0.00bc	0.24±0.01d	ND	0.76±0.02c	ND

### 3 讨论

不同植物叶片表皮蜡质组分差异较大,例如:酯类是杧果和甘蔗叶片表皮蜡质含量最高的组分<sup>[17]</sup>,烷烃是玉米、克氏针茅、稗草叶片表皮蜡质主要成分,醛类和醇类化合物分别是水稻和大麦叶片表皮蜡质主要的化合物。而节节麦、草地早熟禾、糙隐子草叶片表皮蜡质以初级醇为主,羊草叶片表皮蜡质中次级醇相对含量最高。糜子叶片表皮蜡质组成成分以烷烃和初级醇等化合物为主<sup>[18]</sup>。本研究杧果叶片表皮蜡质中烷烃和醇类的碳链分布呈奇数和偶数交替排列,醛类化合物以偶数碳链为主,与先前研究结果一致<sup>[16]</sup>。萜类化合物具有维持植物机械性能、抵抗病原菌侵害等作用<sup>[19,20]</sup>,是植物叶片表皮蜡质的重要组成成分。大量果树叶片表皮蜡质检测到萜类化合物,包括杧果、草莓<sup>[21]</sup>、苹果<sup>[22]</sup>和火龙果<sup>[23]</sup>等。 $\gamma$ -生育酚、DL- $\alpha$ -生育酚、角鲨烯、 $\beta$ -香树脂酮、 $\beta$ -香树脂醇、 $\alpha$ -香树脂醇和木栓酮是杧果叶片中检测到的主要萜类化合物。其中 $\beta$ -香树脂酮、 $\beta$ -香树脂醇、 $\alpha$ -香树脂醇也是杧果<sup>[24]</sup>、越橘<sup>[25]</sup>和蓝莓<sup>[26]</sup>果实蜡质主要的萜类化合物。生育酚和角鲨烯可以抵御病原菌入侵,具有抗氧化能力,延长果实贮藏期<sup>[27,28]</sup>。 $\gamma$ -生育酚在两个杧果品种所有样品叶片中均可以检测到,DL- $\alpha$ -生育酚可在两种杧果对照组叶片中可检测到,但含量较低。杧果叶片蜡质中角鲨烯含量较低,并且在150  $\mu$ M PA处理的‘金煌’叶片中未检测到。此外,杧果叶片表皮蜡质中还检测到了酯类和少量其他未分类的物质。杧果叶片表皮蜡质以C16和C24酯类为主。未分类化合物主要是C14和C23酚类化合物,在所有处理组中两个杧果品种叶片蜡质中无明显变化。本研究150  $\mu$ M PA处理可提高‘金煌’杧果叶片表皮蜡质中C28、C29和C32醛类化合物的含量。

蜡质的合成主要分为三个步骤:首先,质体中C16和C18脂肪酸的从头合成;其次,C16和C18脂肪酸在内质网中进一步延伸合成链长为C20-C34的超长链脂肪酸;最后,超长链脂肪酸被修饰为不同蜡质组分。脂肪酸主要通过两个途径合成角质层蜡质:一是烷类合成途径,合成醛类、烷类、仲醇类以及酮类;二是伯醇合成途径,合成伯醇类和酯类,大量基因参与了该调控过程<sup>[29]</sup>。MT可以缓解环境中的非生物胁迫对植物造成的伤害,吕夏晨等人发现,适量浓度的MT在干旱胁迫下,可通过上调大麦蜡质合成相关基因MYB94、CER6、CER10和TA6-SFT的表达提高蜡质含量,进而缓解干旱胁迫对大麦造成的伤害。本研究表明MT可以提高杧果蜡质含量,与先前研究一致<sup>[30]</sup>。PA对植物的生长调节与其喷施的浓度有关,罗晓蔓等人研究发现,PA对马尾松幼苗苗高、地径、生物量和部分氧化酶的活性等具有低促高抑效应<sup>[31]</sup>。本研究中结果显示,150  $\mu$ M PA处理对杧果叶片蜡质的提高效果均较200  $\mu$ M浓度的效果好,并且高浓度的PA处理减少了烷烃含量,我们推断PA对杧果蜡质的提高存在一个最适浓度,浓度过高反而会抑制杧果表皮蜡质的合成。相比100  $\mu$ M MT+150  $\mu$ M PA处理,100  $\mu$ M MT+200  $\mu$ M PA处理对‘台农1号’杧果叶片表皮蜡质含量提升效果最明显,是对照组的3.2倍,其中烷烃减少了64.66%,而酯类化合物含量增加了11.93倍。先前研究表明MT处理可以上调超长链脂肪酸合成通路核心基因KCS家族成员表达<sup>[32]</sup>,我们推测MT可能调节了蜡质合成前体的增加,而高浓度的PA抑制了烷类合成途径,

从而使 MT 调控积累的蜡质合成前体通过伯醇合成途径产生大量的酯类化合物。而 100  $\mu\text{M}$  MT+200  $\mu\text{M}$  PA 对‘金煌’杧果没有显著作用,可能是因为不同杧果品种对外源试剂浓度的敏感度存在差异。其具体的调控机制,有待后续研究验证。

浅绿幼叶转变为深绿新叶是杧果叶片发育的关键时期,该阶段通常需要 10-15 天,本研究处理实验设置在该阶段完成,每 2 天喷施一次,共计 3 次,且最后一次喷施距离采样时间 7 天。由于本研究重点研究外源试剂处理对杧果叶片表皮蜡质的影响,选择的植株也是种植在温室的杧果苗,旨在为未来通过蜡质研究提高杧果抗性,改善栽培条件提供理论研究。因此,本研究设置的处理条件与实际生产中的外源试剂喷施间隔期存在差异,后期需要进行相关的田间实验,结合试剂经济性进一步优化实验方案,改良喷施过程,应对生产实际。蜡质是植物长期应对外界不良环境、生物胁迫和非生物胁迫等形成的保护屏障,在抵抗植物非气孔性失水、抗旱和防止病原菌侵染等方面都具有重要的生态功能<sup>[33]</sup>。本研究表明通过喷施外源试剂可以改变杧果叶片蜡质含量和组分,进而尝试提高杧果抵御生物和非生物胁迫的能力。本研究为后续研究外源试剂对杧果叶片表皮蜡质的合成调节作用提供了参考。

#### 4 结论

不同外源试剂处理可改变杧果叶片蜡质脂肪族化合物的碳链分布和萜类化合物含量,从而影响总含量的变化。100  $\mu\text{M}$  MT+200  $\mu\text{M}$  PA 组合试剂对‘台农 1 号’杧果叶片表皮蜡质处理效果最显著,150  $\mu\text{M}$  PA 对‘金煌’和‘台农 1 号’两个杧果品种叶片表皮蜡质处理效果均较好。

#### 参考文献 References:

- [1] CHU W J, GAO H Y, CHEN H J, FANG X J, ZHENG Y H. Effects of cuticular wax on the postharvest quality of blueberry fruit[J]. Food Chemistry, 2018, 239: 68-74.
- [2] WANG P, WANG J J, ZHANG H Y, WANG C, ZHAO L N K, HUANG T, QING K. Chemical composition, crystal morphology, and key gene expression of the cuticular waxes of Goji (*Lycium barbarum* L.) Berries[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2021, 69: 7874-7883.
- [3] LIAKOPOULOS G, STAVRIANAKOU S, KARABOURNIOTIS G J E. Trichome layers versus dehaired lamina of *Olea europaea* leaves: differences in flavonoid distribution, UV-absorbing capacity, and wax yield [J]. Environmental and Experimental Botany, 2006, 55: 294-304.
- [4] ZHANG Y L, YOU C X, LI Y Y, HAO Y J. Advances in biosynthesis, regulation, and function of apple cuticular wax[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 11: 1165.
- [5] 冀泽宇. 外源多巴胺对黄瓜霜霉病的缓解效应及其机理研究[D]. 西北农林科技大学, 2022.
- JI Zeyu. Alleviating effect of exogenous dopamine on downy mildew in cucumber and its mechanism [D]. Northwest A&F University, 2022.
- [6] BALBONTÍN C, GUTIÉRREZ C, SCHREIBER L, ZEISLER-DIEHL V V, MARÍN J C, URRUTIA V, HIRZEL J, FIGUEROA C R. Alkane biosynthesis is promoted in methyl jasmonate-treated sweet cherry (*Prunus avium*) fruit cuticles.[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2024, 104: 530-535.

- [7] 吴潇, 陈杨杨, 石新杰, 齐开杰, 曹鹏, 殷豪, 张绍铃. 喷施外源激素对‘玉露香’梨叶片表皮蜡质组分、结构及渗透性的影响[J]. 南京农业大学学报, 2018, 41(04): 647-654.
- WU Xiao, CHEN Yangyang, SHI Xinjie, QI Kaijie, CAO Peng, YIN Hao, ZHANG Shaoling. Effect of spraying exogenous hormones on the waxy composition, structure and permeability of leaf epidermis of 'Gyokuroxiang' pear[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2018, 41 (04): 647-654.
- [8] JIANG B, LIU R L, FANG X J, CHUAN T, CHEN H J, GAO H Y. Effects of salicylic acid treatment on fruit quality and wax composition of blueberry (*Vaccinium virgatum* Ait) [J]. Food Chemistry, 2022, 368: 130757.
- [9] 栗扬. 2,4-表油菜素内酯引发种子对甜高粱和青贮玉米抗旱生理及叶角质层的影响[D]. 西南大学, 2021.
- LI Yang. Effects of 2, 4-epibrassinolide priming on drought-resistant physiology and leaf cuticle of sweet sorghum and silage maize[D]. Southwest University, 2021.
- [10] DONG J X, MARIAMA K, RAN Y, CHEN H, JIANG T J, ZHENG X L. Melatonin treatment delays ripening in mangoes associated with maintaining the membrane integrity of fruit exocarp during postharvest[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 169: 22-28.
- [11] 高雨薇, 邓朝军, 许奇志, 李浩伟, 项于倩, 马翠兰, 蒋际谋. 外源褪黑素对新白 8 号枇杷果实日灼和果皮解剖结构的影响[J]. 果树学报, 2024, 41 (07): 1387-1400.
- GAO Yuwei, DENG Chaojun, XU Qizhi, LI Haowei, XIANG Yuqian, MA Cuilan, JIANG Jimou. Effects of exogenous melatonin on the sunburn and peel anatomical structure of Xinbai 8 loquat fruit[J]. Journal of Fruit Science, 2024, 41 (07): 1387-1400.
- [12] 丁飞. 褪黑素缓解番茄低温与水分胁迫机理研究[D]. 西北农林科技大学, 2017.
- DING Fei. Mechanism of melatonin alleviating low temperature and water stress in tomato[D]. Northwest A&F University, 2017.
- [13] LI J, CAO Y R, BIAN S C, SEUNG-BEOM H, XU K, ZANG Y X, ZHENG W W. Melatonin improves the storage quality of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*) by affecting cuticular wax profile[J]. Food Chemistry: X, 2024, 21: 101106.
- [14] LIU R L, SHANG F Z, BEN N, WU W J, HAN Y C, CHEN H J, GAO H Y. Melatonin treatment delays the softening of blueberry fruit by modulating cuticular wax metabolism and reducing cell wall degradation[J]. Food Research International (Ottawa, Ont.), 2023, 173: 113357.
- [15] LIN X, HUANG S A, HUBER D J, ZHANG Q, WAN X, PENG J S, LUO D C, DONG X Q, ZHU S L. Melatonin Treatment Affects Wax Composition and Maintains Storage Quality in 'Kongxin' Plum (*Prunus salicina* L. cv) during Postharvest[J]. Foods (Basel, Switzerland), 2022, 11: 3972-3972.
- [16] WU X, CHEN Y Y, SHI X J, QI K J, CAO P, LIU X Y, YIN H, ZHANG S L. Effects of palmitic acid (16: 0), hexacosanoic acid (26: 0), ethephon and methyl jasmonate on the cuticular wax composition, structure and expression of key gene in the fruits of three pear cultivars[J]. Functional Plant Biology: FPB, 2020, 47: 156-169.
- [17] 马莉. 甘蔗蜡质的代谢物组成、抗虫性及相关调控基因研究[D]. 广西大学, 2023.
- MA Li. Metabolite composition, insect resistance and related regulatory genes in sugarcane waxes[D]. Guangxi University, 2023.
- [18] 武瑞鑫, 刘贵波. 禾本科植物表皮蜡质形成及其与环境因素的关系 [J]. 草学, 2021, (04): 9-18.

WU Ruixin, LIU Guibo. Research progress on the epidermal wax of gramineae plants and its responses to environment stress[J].Cao Xue, 2021, (04): 9-18.

[19] MOGGIA C, GRAELL J, LARA I, GUILLERMO S H, SAMANTA T V, GUSTAVO A L. Fruit characteristics and cuticle triterpenes as related to postharvest quality of highbush blueberries[J]. Scientia Horticulturae, 2016, 211: 449-457.

[20] 张丽萍, 刘瑞玲, 韩延超, 陈杭君, 吴伟杰, 房祥军, 郇海燕. 蓝莓表皮蜡质组分对果实采后抗病性的影响[J]. 中国食品学报, 2021, 21(12): 205-213.

ZHANG Liping, LIU Ruiling, HAN Yanchao, CHEN Hangjun, WU Weijie, FANG Xiangjun, GAO Haiyan. Effect of wax components in blueberry epidermis on postharvest disease resistance in fruits[J]. Chinese Journal of Food Science, 2021, 21 (12): 205-213.

[21] JIANG Y Y, PENG Y T, HOU G Y, YANG M, HE C X, SHE M S, LI X, LI M Y, CHEN Q, ZHANG Y, LIN Y X, ZHANG Y T, WANG Y, HE W, WANG X R, TANG H R, LUO Y. A high epicuticular wax strawberry mutant reveals enhanced resistance to *Tetranychus urticae* Koch and *Botrytis cinerea* [J]. Scientia Horticulturae, 2024, 324.

[22] CAO F G, LI Z X, JIANG L J, CHEN L, QIAN Q, FENG Y, MA F W, GUAN Q M. Genome-wide association study (GWAS) of leaf wax components of apple[J]. Stress Biology, 2021, 1: 13.

[23] HUANG H, JIANG Y M. Chemical composition of the cuticle membrane of Pitaya fruits (*Hylocereus Polyrhizus*) [J]. Agriculture, 2019, 9.

[24] WU J B, YOU Y Q, WU X, LIU F, LI G P, YIN H, GU C, QI K J, WEI Q, WANG S B, YAO Q S, ZHAN R L, ZHANG S L. The dynamic changes of mango (*Mangifera indica* L.) epicuticular wax during fruit development and effect of epicuticular wax on *Colletotrichum gloeosporioides* invasion[J]. Frontiers in Plant Science, 2023, 14: 1264660.

[25] TRIVEDI P, NGUYEN N, KLAVINS L, KVIESIS J, HEINONEN E, REMES J, JOKIPII-LUKKARI S, KLAVINS M, KARPPINEN K, JAAKOLA L, HAGGMAN H. Analysis of composition, morphology, and biosynthesis of cuticular wax in wild type bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and its glossy mutant[J]. Food Chemistry, 2021, 354.

[26] CHU W J, GAO H Y, CAO S F, FANG X J, CHEN H J, XIAO S Y. Composition and morphology of cuticular wax in blueberry (*Vaccinium* spp.) fruits[J]. Food Chemistry, 2017, 253: 322-322.

[27] WANG J Q, HAO H H, LIU R S, MA Q L, XU J, CHEN F, CHENG Y J, DENG X X. Comparative analysis of surface wax in mature fruits between Satsuma mandarin (*Citrus unshiu*) and 'Newhall' navel orange (*Citrus sinensis*) from the perspective of crystal morphology, chemical composition and key gene expression[J]. Food Chemistry, 2014, 153: 177-185.

[28] WU X, YIN H, CHEN Y Y, LI L, WANG Y Z, HAO P P, CAO P, QI K J, ZHANG S L. Chemical composition, crystal morphology and key gene expression of cuticular waxes of Asian pears at harvest and after storage[J]. Postharvest Biology Technology, 2017, 132: 71-80.

[29] 李娜. 枣果实蜡质合成关键基因挖掘与验证[D]. 山西农业大学, 2021.

[30] 吕夏晨, 徐玲, 张蓝天, 张唯一, 韩涇锦, 童涛, 张晓勤, 薛大伟. 褪黑素对于旱胁迫下大麦生理及蜡质基因表达的影响[J]. 植物生理学报, 2020, 56 (05): 1073-1080.

[31] 罗晓蔓, 李敏, 丁贵杰. 三种有机酸对马尾松种子萌发及幼苗的化感作用[J]. 种子, 2024, 43 (11): 10-16.

[32] WU X, CHEN Y Y, SHI X J, QI K J, CAO P, LIU X Y, YIN H, ZHANG S L. Effects of palmitic acid (16:0), hexacosanoic acid (26:0), ethephon and methyl jasmonate on the cuticular wax composition, structure and expression of key gene in the fruits of three pear cultivars. Functional Plant Biology, 2020, 47(2): 156-169.

[33] LEWANDOWSKA M, KEYL A, FEUSSNER I. Wax biosynthesis in response to danger: its regulation upon abiotic and biotic stress[J].*The New phytologist*, 2020, 227: 698-713.