

柑橘采后生理代谢对胶孢炭疽菌粗毒素的动态响应

黄小兰¹, 王日葵^{1,2,*}, 韩 冷^{1,2}, 贺明阳^{1,2}, 周 炼^{1,2}

(1.西南大学柑桔研究所, 重庆 400712; 2.国家柑桔工程技术研究中心, 重庆 400712)

摘 要:目的: 探究胶孢炭疽菌毒素对柑橘生理代谢的动态影响, 为研究胶孢炭疽菌的致病机理提供理论参考。方法: 在有机溶剂浸提法获得胶孢炭疽菌粗毒素的基础上, 采用针刺接种法进行毒素的生物测定, 分析粗毒素和病原菌对柑橘采后生理代谢(总酚、类黄酮含量; 过氧化物酶(peroxidase, POD)、多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、 β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-glucanase, GLU)活性; 丙二醛(malondialdehyde, MDA)、果皮细胞壁成分含量)的动态影响。结果: 胶孢炭疽菌粗毒素能使柑橘果实产生典型的病斑症状, 且使MDA含量显著增高, 细胞壁成分含量降低。当毒素浓度较低时, 果实病斑直径与PPO活性、POD活性、类黄酮以及木质素含量呈正相关; 与纤维素、半纤维素和果胶含量呈负相关。毒素浓度增高时, 果实机体及防御酶系统遭到破坏, 酶活性急剧下降。结论: 胶孢炭疽菌粗毒素能影响柑橘果实生理代谢, 引起果实发病, 最终导致病斑的形成。由此证明毒素在胶孢炭疽菌对柑橘的致病过程中起到重要作用。

关键词: 炭疽菌; 毒素; 生理代谢; 柑橘

Dynamic Response of Physiological Metabolism in Postharvest Citrus to Crude Toxin from *Colletotrichum gloeosporioides*

HUANG Xiaolan¹, WANG Rikui^{1,2,*}, HAN Leng^{1,2}, HE Mingyang^{1,2}, ZHOU Lian^{1,2}

(1. Citrus Research Institute, Southwest University, Chongqing 400712, China;

2. National Citrus Engineering Research Center, Chongqing 400712, China)

Abstract: Objective: The dynamic response of physiological metabolism in postharvest citrus to toxin from *Colletotrichum gloeosporioides* was studied to obtain a better understanding of the interaction between citrus and *C. gloeosporioides*. Methods: The crude toxin was isolated by organic solvent extraction, and its bioassay was performed by the acupuncture method in postharvest citrus. Moreover, the dynamic effects of the crude toxin and pathogenic bacteria on physiological metabolism of citrus fruits in terms of the contents of phenols, flavonoids, and malondialdehyde (MDA), cell wall components in citrus peel and the activities of polyphenol oxidase (PPO), peroxidase (POD), superoxide dismutase (SOD), phenylalanine ammonia-lyase (PAL), and β -1,3-glucanase (GLU) were analyzed. Results: Typical lesion caused by the toxin was observed, and the content of MDA was significantly increased, while the content of cell wall compounds was decreased. Upon treatment with the crude toxin at a low concentration, there was a positive correlation of lesion diameter with the content of flavonoids, lignin and the activities of PPO and POD, whereas a negative correlation existed between cell wall compounds and lesion diameter. However, the defense enzyme system and citrus fruits were damaged by the crude toxin at a high concentration, causing a dramatic decrease in the enzyme activities. Conclusion: Physiological metabolism of citrus fruits can be influenced by the crude toxin of *C. gloeosporioides*, and thus it plays an important role in the pathogenicity of *C. gloeosporioides*.

Key words: *Colletotrichum gloeosporioides*; toxin; physiological metabolism; citrus

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201707039

中图分类号: TS201.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2017)07-0247-06

收稿日期: 2016-06-07

基金项目: 重庆市科技计划项目(cstc2016shms-ztxx80005); 国家科技支撑计划项目(2015BAD16B07)

作者简介: 黄小兰(1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工及贮藏。E-mail: 793105210@qq.com

*通信作者: 王日葵(1962—), 男, 副研究员, 学士, 研究方向为果蔬贮藏保鲜及物流。E-mail: ewrk@163.com

引文格式:

黄小兰, 王日葵, 韩冷, 等. 柑橘采后生理代谢对胶孢炭疽菌粗毒素的动态响应[J]. 食品科学, 2017, 38(7): 247-252.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201707039. <http://www.spkx.net.cn>

HUANG Xiaolan, WANG Rikui, HAN Leng, et al. Dynamic response of physiological metabolism in postharvest citrus to crude toxin from *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Food Science, 2017, 38(7): 247-252. (in Chinese with English abstract)

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201707039. <http://www.spkx.net.cn>

炭疽病是严重影响柑橘采后贮藏的重要病害^[1], 半知菌亚门炭疽菌属的胶孢炭疽菌 (*Colletotrichum gloeosporioides*) 为柑橘炭疽病的主要致病菌, 有较强的致病能力, 能引起贮藏期间的柑橘产生病斑甚至腐烂, 造成严重的经济损失^[2]。目前国内对柑橘炭疽病的研究主要集中于病原菌的生长特性^[3]及其拮抗菌筛选^[4-5]等方面, 对于胶孢炭疽菌毒素致病机制报道较少。国外有关胶孢炭疽菌毒力大小的研究指出, 环境pH值、病原菌的分泌蛋白和编码与致病力有关的基因是病原菌的毒力因子, 改变pH值等条件会影响病原菌的致病力^[6-8]。然而, 这些报道主要集中在毒素的产生条件、结构分析和是否具有寄主专化性等^[9-11], 对于毒素对寄主生理代谢影响等方面的探索较少, 为此, 本实验在使用有机溶剂浸提法提取粗毒素的基础上, 研究其对柑橘在贮藏期间生理代谢的影响, 旨在进一步解释胶孢炭疽菌的致病机理和柑橘的抗性分析。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

胶孢炭疽菌由本实验室从北碚447[#]锦橙 (*Citrus sinensis* L. Osbeck cv. Jincheng 447[#]) 果实上分离并保藏。锦橙采于重庆市歇马镇冯家槽果园, 品种为北碚447[#]锦橙。

改良察氏培养基: NaNO₃ 3 g、K₂HPO₄ 1 g、KCl 0.5 g、MgSO₄ 0.5 g、FeSO₄ 0.01 g、蔗糖 20 g, 蒸馏水 1 L。

1.2 仪器与设备

SPX-150-Z振荡培养箱 上海博泰实验设备有限公司; ZHWY-200B恒温培养振荡器 上海智械分析仪器有限公司; SW-CJ-1F超净工作台 苏泰集团苏州安泰空气技术有限公司; TU-1901紫外分光光度计 北京普析通用仪器有限公司; MIR-352H-PC通用环境实验箱、MDF-U4186S医用低温培养箱 松下健康医疗器械株式会社; H1850R台式高速冷冻离心机 长沙湘仪离心机仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 胶孢炭疽菌粗毒素的制备

根据文献^[12]方法并适当修改以制备胶孢炭疽菌粗毒素。将保存于4℃冰箱的菌株于马铃薯琼脂培养基中

活化, 28℃连续培养7 d。用打孔器取出3块直径5 mm的菌饼于500 mL液体改良察氏培养基中。28℃, 黑暗, 135 r/min连续培养20 d。培养液先用4层无菌纱布过滤, 再经冷冻离心机离心 (10 000 r/min、10 min), 得上清液。在分液漏斗中加入等体积的甲醇, 振荡使得两种液体充分混合后移除有机相, 连续萃取3次, 将合并的有机相使用旋转蒸发器减压蒸发浓缩, 即得到胶孢炭疽菌粗毒素, 加入无菌水使得粗毒素体积为100 mL。

1.3.2 胶孢炭疽菌孢子悬浮液的制备

取活化的菌平板, 将无菌水滴加于平板上, 制备孢子悬浮液并用血球计数板于显微镜下观察, 计算孢子悬液浓度, 使得终浓度为 1×10^6 spores/mL, 备用。

1.3.3 粗毒素的活性检测

选用大小均一的无伤锦橙果实, 清洗干净后用75%的酒精擦拭消毒, 晾干备用。针刺接种10 μL粗毒液, 以无菌水为对照, 单果包装后置于28℃、相对湿度为85%的培养箱内贮藏, 测定果实的病斑直径。每个处理设3次重复, 每个重复10个果实, 每个果实针刺数10针。

1.3.4 粗毒素胁迫处理

选择外观无损伤、大小均一、无病虫害的柑橘果实作为实验材料。清洗干净后用75%的酒精擦拭消毒。晾干备用。本实验共分为3个处理, 每个处理设3次重复, 每个重复10个果实, 每个果实针刺数10针。第1组为针刺接种10 μL粗毒素, 第2组为针刺接种10 μL胶孢炭疽菌孢子悬浮液, 对照组为针刺接种10 μL无菌水。果实晾干后单果包装, 置于28℃、相对湿度为85%的保湿恒温培养箱内贮藏, 于第0、1、2、4、6、8天测量病斑直径后, 取接种部位周围1 cm×1 cm果皮组织, 经液氮速冻研磨成粉后于-80℃冰箱冷冻保存, 备用测定各生理指标。

1.3.5 生理生化指标测定

1.3.5.1 总酚、类黄酮含量测定

称取2 g经液氮研磨的果皮粉, 加入50%甲醇30 mL, 摇床振荡提取60 min后经冷冻离心 (10 000 r/min、10 min), 取上清液即为待测液体。总酚含量的测定采用福林-酚比色法^[13], 以没食子酸作为标准品制作标准曲线 (回归方程为 $y=0.281x-0.215$, $R^2=0.996$), 其含量用等量没食子酸 (mg/g) 表示。类黄酮含量的测定采用芦丁法^[14], 以芦丁为标准品制作标准曲线 (回归方程为 $y=1.046x-0.004$, $R^2=0.999$), 其含量用等量芦丁 (mg/g) 表示。

1.3.5.2 防御酶系活性测定

称取2 g果皮粉, 加入适量不同的提取缓冲液, 置于4 °C冰箱中放置过夜, 冷冻离心(10 000 r/min、10 min)取上清液, 即得粗酶提取液。多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)活性测定采用儿茶酚法^[15], 以每分钟吸光度变化($\Delta A_{410\text{ nm}}$) 0.01为一个酶活力单位; 过氧化物酶(peroxidase, POD)活性测定采用愈创木酚法^[15], 以每分钟每克样品吸光度变化($\Delta A_{470\text{ nm}}$) 0.01为一个酶活力单位; 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性测定采用氮蓝四唑(nitrotertrazolium blue chloride, NBT)还原法^[16], 以抑制NBT光还原反应50%所需的酶量为一个酶活性单位; 苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonialyase, PAL)活性测定采用张璐等^[17]方法, 以每小时每克果皮(鲜质量)酶促体系在290 nm波长处吸光度增加0.01为一个酶活力单位。 β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-glucanase, GLU)采用Luo Yang等^[18]的方法, 以每秒钟每克样品(鲜质量)中分解昆布多糖产生 1×10^{-7} mol葡萄糖为一个酶活性单位。每组实验3个重复。

1.3.5.3 丙二醛含量测定

参照李姝江^[19]的方法, 并做适当修改。称取2 g果皮粉, 加入30 mL 5%三氯乙酸, 浸提过夜, 离心(10 000 r/min、10 min)取上清液用于测定。丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量单位为mmol/g。

1.3.5.4 纤维素、半纤维素、木质素、果胶含量测定

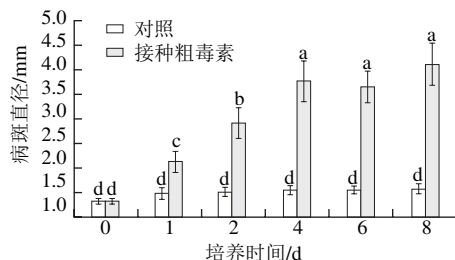
纤维素、木质素含量测定采用硫酸亚铁铵-重铬酸钾滴定法, 半纤维素含量测定采用DNS法^[20-22], 纤维素、半纤维素、木质素的含量以其占样品总量的质量百分数表示; 果胶含量测定采用烘干的果皮粉进行测定, 其含量以生成半乳糖醛酸的质量分数(%)表示。

1.4 数据处理

采用SPSS 17.0和Excel软件对实验数据分析, 因素间差异显著性采用邓肯法分析, 并用Origin 8.1软件绘图, 实验处理数据以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示。

2 结果与分析

2.1 粗毒素的活性检测结果



不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图1 培养期间柑橘的病斑直径变化

Fig. 1 Changes in lesion diameter in citrus during storage

针刺法检测中, 胶孢炭疽菌粗毒素具有较高的活性, 能引起柑橘果实产生深褐色、圆形病斑, 随着时间的延长, 粗毒素对柑橘的伤害程度呈加重趋势, 其病斑逐渐增大(图1)。当培养至第8天时, 其病斑直径为4.11 mm, 与对照组相比具有显著差异($P < 0.05$)。对照组在整个实验期间无明显变化。

2.2 粗毒素对柑橘酚代谢的影响

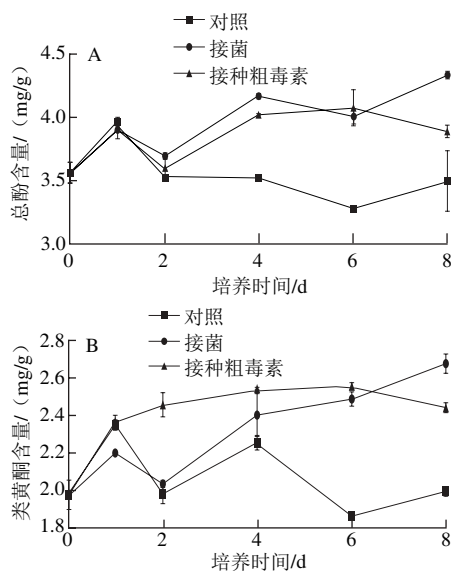
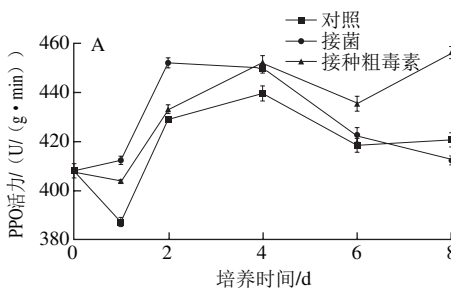


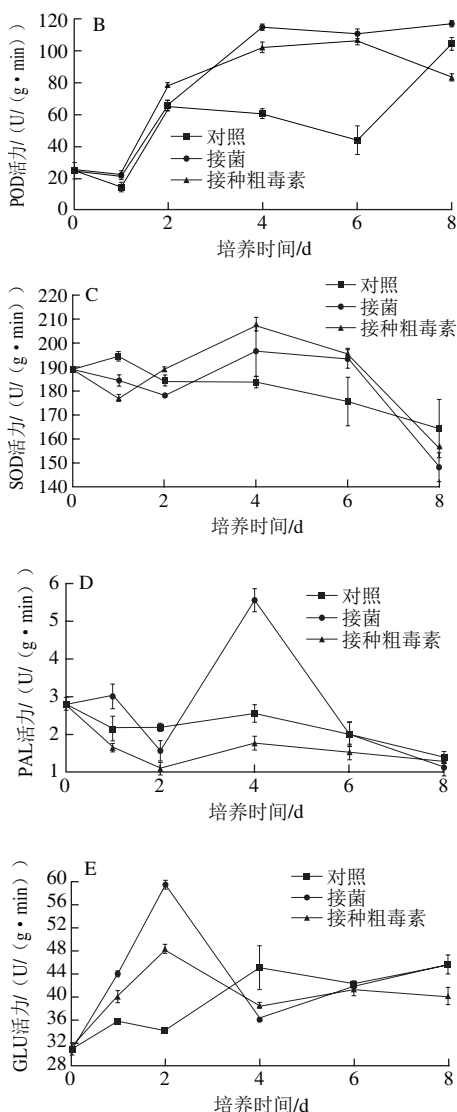
图2 不同处理对柑橘果皮总酚含量和类黄酮含量的影响

Fig. 2 Effect of different treatments on the contents of phenols and flavonoids in citrus peel

如图2所示, 粗毒素接种柑橘果实后, 总酚含量呈上升趋势, 而后下降。在第6天达到峰值, 为4.07 mg/g, 比对照组增加了27.18%, 具有显著性差异($P < 0.05$)。接种孢子悬液也可使总酚含量上升, 与接种粗毒素的趋势相似。但其高峰出现较晚, 原因可能是初期菌体生长缓慢, 对柑橘造成的伤害较小, 未能激发总酚的合成。类黄酮的含量在接种粗毒素后呈第1天急剧上升后缓慢上升再下降的趋势, 也在第6天达到峰值, 为2.55 mg/g, 相比对照组增加了37.1%。接种孢子悬液的果实中类黄酮含量呈上升趋势且在前期低于接种粗毒素的果实。说明粗毒素能对果实造成生理伤害, 激发果实积累类黄酮并保持较高浓度。

2.3 粗毒素对柑橘防御酶系的影响





A. PPO活力; B. POD活力; C. SOD活力; D. PAL活力; E. GLU活力。

图3 不同处理对柑橘防御酶的影响

Fig. 3 Effect of different treatments on the activities of antioxidant defense enzymes in citrus

PPO是一种以铜为辅基的酶,能催化多种酚类物质形成醌类化合物抵御外来有害物^[23-24],如图3A所示,3种处理方式对果皮PPO活性的影响变化相似,均呈先下降后上升再下降趋势。接种粗毒素组的第1个酶活力高峰出现在第4天,相比对照增加了2.8%,第8天增加了8.4%且具有显著性差异($P<0.05$)。在前期,接菌处理的酶活力高于接种粗毒素处理组,原因可能是病原菌对PPO活性的诱导性更强,产生大量醌类化合物以杀灭病原菌。而后期接菌处理组病原菌大量繁殖,产生毒素过量,进而破坏PPO酶系统使其酶活急剧下降,这说明低浓度粗毒素可诱导PPO活性,而高浓度则会损伤机体组织。

POD是一类普遍存在于植物组织内的氧化还原酶,它与光合作用、呼吸作用等密切相关^[25-26]。如图3B所示,接种粗毒素组其酶活呈先上升后下降趋势,在第6天

达到峰值。相比对照组增加了142.8%,达到极显著差异($P<0.01$)。接菌组总体呈上升趋势,且在后期酶活大于接种粗毒素组。表明粗毒素具有与病原菌相似的致病机制,但粗毒素接种在前期能更快地激发柑橘体内POD活性的提高。

SOD存在于大多数动植物和微生物体内,能清除超氧阴离子自由基,减少植物伤害^[27]。因此常作为重要的抗性生理指标。如图3C所示,两实验组的SOD活性均为先下降再上升,且都在第4天达到峰值,接种粗毒素组相比对照组酶活性增加了12.94%,达到显著性差异($P<0.05$)。且接种粗毒素组的SOD活性整体均大于接菌组,可能是由于粗毒素对果实造成的生理伤害信号较强,产生的自由基多于接菌组,因此酶活性高于接菌组。但在后期机体组织损伤严重,酶系统受到损坏,使得SOD活性大幅下降。对照组SOD活性在第一天上升,之后缓慢下降。

PAL是苯丙烷代谢途径的关键酶和限速酶,参与众多植物次生物质(黄酮类物质、酚类物质、木质素等)的生物合成,对植物抵御病原菌及外界侵害起着至关重要的作用^[28]。如图3D中,果实接种粗毒素后,其PAL活性呈下降趋势,第2天达到最小值,相比对照酶活力下降了23.25%,为1.65 U/(g·min)。后期有所上升,但变化不显著,表明粗毒素中含有能够破坏PAL酶系统的物质,使得酶活性低于对照组。接菌组酶活性先上升到达峰值后便急剧下降,表明胶孢炭疽菌在生长后期产生了高浓度的毒素等对酶系统具有严重损伤作用的物质。

GLU能水解多聚糖,使真菌细胞壁受到损坏。当植物体被真菌侵染或受到机械损伤时,其活性可大幅度提高,以增强植物抗性。由图3E可看出,3种处理均能使GLU活性升高,两实验组达到峰值后便急剧下降,最后缓慢升高。对照组为总体缓慢上升的趋势,表明对GLU活性影响最大的依次是接种病原菌、粗毒素和机械损伤。

2.4 粗毒素对柑橘果皮MDA含量的影响

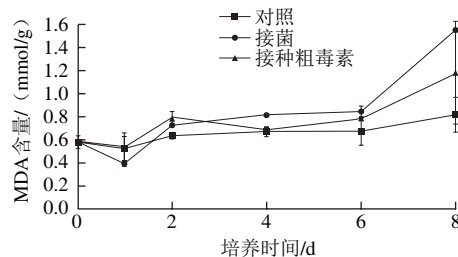


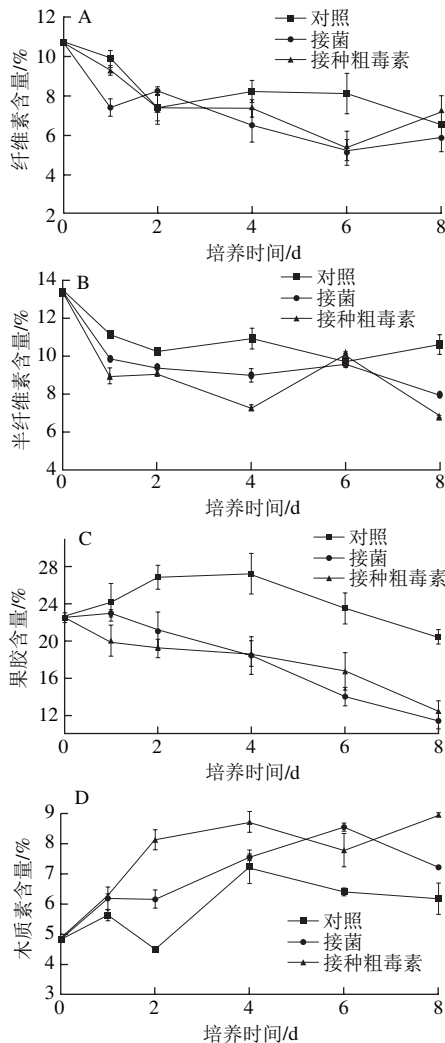
图4 不同处理对柑橘MDA含量的影响

Fig. 4 Effect of different treatments on MDA contents in citrus

MDA是膜脂氧化的主要产物之一,通常利用它的含量作为膜脂氧化指标,反映细胞膜脂氧化的程度。其含量越高,表明植物抵御外界逆境的能力越弱。图4中两实验组与对照组相比果皮中MDA含量均更

高,到第8天时,接种粗毒素组的MDA含量为对照组的1.44倍,达到显著性差异($P<0.05$);接菌组为对照组的1.89倍,达到极显著差异($P<0.01$)。说明胶孢炭疽菌粗毒素和病原菌对果实细胞膜脂过氧化水平和膜系统伤害程度均较大,但前期接种粗毒素组的MDA含量高于接菌组,后期小于接菌组。原因可能是前期接种粗毒素组有害物质较接菌组浓度高,对膜系统损伤更大。后期病原菌繁殖产生大量有害毒素,增大了膜系统的伤害。由此说明随着毒素浓度的增高,果实细胞膜损伤越大。

2.5 粗毒素对柑橘果皮细胞壁成分含量的影响



A.纤维素含量; B.半纤维素含量; C.果胶含量; D.木质素含量。

图5 不同处理对柑橘果皮细胞壁成分含量的影响

Fig. 5 Effect of different treatments on the contents of cell wall components in citrus peel

植物细胞壁的主要成分为纤维素、半纤维素、木质素和果胶。它们相互连接构成细胞壁的机械屏障,以此抵御外界环境的改变。图5为不同处理对柑橘果皮细胞壁成分的影响,可看出接种粗毒素和病原菌后,纤维素、半纤维素和果胶含量总体呈下降趋势,并且在接种前期

接种粗毒素组的下降速率大于接种病原菌组,后期逐渐变小,表明粗毒素中含有高浓度的能水解纤维素、半纤维素和果胶的酶类,这与大多数菌体在生长后期分泌多种水解酶类的报道一致^[29-30]。但前期酶类消耗过大,在后期无法降解过多的细胞壁成分,因此其下降速率变小。而接种病原菌组在后期菌体繁殖,分泌较多的水解酶类,使得纤维素等含量急剧下降。

木质素是植物重要的抗性物质,它主要填充在细胞壁内,增加细胞硬度。接种粗毒素组在1~4 d内迅速累积木质素,达到峰值,相比对照增加了18.85%,随后又下降。且相比接种病原菌组其木质素含量显著增加,表明粗毒素能引起果实产生抗性反应,诱导木质素的合成。后期木质素含量下降可能与相关降解酶的合成有关。对照组木质素含量呈上升趋势,说明机械损伤也能诱导木质素的大量累积。

2.6 接种粗毒素组各生化指标与果皮病斑直径的相关性分析

表1 各生化指标与病斑直径的相关性分析
Table 1 Correlation analysis between biochemical indexes and lesion diameter

指标	生理指标									
	PPO活性	POD活性	PAL活性	SOD活性	MDA含量	GLU活性	总酚含量	类黄酮含量	纤维素含量	半纤维素含量
病斑直径	0.929**	0.894*	-0.706	-0.09	0.738*	0.474	0.664	0.860*	-0.863*	-0.813*

注:*.生化指标和病斑直径具有显著相关性($P<0.05$);**.生化指标和病斑直径具有极显著相关性($P<0.01$)。

病斑直径可用于表示果实受伤害程度,采用SPSS 17.0软件进行各生理生化指标和病斑直径之间的相关性分析。如表1所示,病斑直径与果实POD活性、MDA、类黄酮、纤维素、半纤维素和果胶含量之间有显著关系($P<0.05$),PPO活性和木质素含量与病斑直径有极显著关系($P<0.01$)。其中病斑直径与PPO活性、POD活性、类黄酮以及木质素含量呈正相关,与纤维素、半纤维素和果胶含量呈负相关,即当果皮细胞壁成分含量下降,PPO活性、POD活性、MDA、类黄酮以及木质素含量升高时,果实病斑直径增大,机体受到损伤严重。

3 结论

胶孢炭疽菌粗毒素能影响采后柑橘果实的多种生理代谢功能。酚代谢能力增强,使得总酚和类黄酮含量比对照组大幅度增加;防御酶活性上升,表明粗毒素能诱发果实的抗性反应;MDA含量增加,果实细胞膜脂过氧化加重,表明果实细胞膜受到粗毒素的损伤;果皮细胞壁成分含量降低,说明粗毒素中含有某些水解酶类降解了纤维素、半纤维素和果胶等大分子成分。粗毒素在引起果实抗性反应的同时,增加了木质素的生成量,果实的抗性得到增强。当毒素处于一定浓度范围内时,果实病斑直径与各生理代谢指标存在线性关系,而当毒素

浓度高于果实所承受的范围时, 寄主机体组织损伤, 造成严重生理伤害。其原因可能是毒素对寄主的细胞组分造成的损伤导致的。在初步弄清毒素对寄主生理代谢影响的基础上, 可以进一步将毒素提纯, 明确毒素的化学性质, 进而可将毒素用于筛选抗病品种等。

参考文献:

- [1] 焦雁翔, 王日葵, 胡军华, 等. 重庆及周边部分地区柑橘炭疽病菌鉴定[J]. 果树学报, 2014(5): 893-900. DOI:10.13925/j.cnki.gsbx.20140097.
- [2] 陈国庆. 中国柑橘炭疽病原种类及种群遗传多样性研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2010: 2-3.
- [3] 张晓媛. 脐橙炭疽病原菌生物学特性及防治药物的筛选研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2010: 52-55.
- [4] 许春青. 芒果炭疽病菌拮抗酵母的筛选、鉴定及其保护剂的评价[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013: 1-10.
- [5] 郑敏. 芒果炭疽病挥发性抑菌物质产生菌的筛选及拮抗机理研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2013: 11-12.
- [6] ALKAN N, MENG X, FRIEDLANDER G, et al. Global aspects of *pacC* regulation of pathogenicity genes in *Colletotrichum gloeosporioides* as revealed by transcriptome analysis[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2013, 26(11): 1345-1358. DOI:10.1094/MPMI-03-13-0080-R.
- [7] ALKAN N, ESPESO E A, PRUSKY D. Virulence regulation of phytopathogenic fungi by pH[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2013, 19(9): 1012-1025. DOI:10.1089/ars.2012.5062.
- [8] YOU B, CHOQUER M, CHUNG K. The *Colletotrichum acutatum* gene encoding a putative pH-responsive transcription regulator is a key virulence determinant during fungal pathogenesis on citrus[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2007, 20(9): 1149-1160. DOI:10.1094/MPMI-20-9-1149.
- [9] SHNAIDERMAN C, MIYARA I, KOBILER I, et al. Differential activation of ammonium transporters during the accumulation of ammonia by *Colletotrichum gloeosporioides* and its effect on appressoria formation and pathogenicity[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2013, 26(3): 345-355. DOI:10.1094/MPMI-07-12-0170-R.
- [10] ITAY M, HADAS S, MAAYAN D, et al. pH Regulation of ammonia secretion by *Colletotrichum gloeosporioides* and its effect on appressorium formation and pathogenicity [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2010, 23(3): 304-316. DOI:10.1094/MPMI-23-3-0304.
- [11] ALLEYNE A T, O'GARRO L W. Host selectivity of a 40 kDa phytotoxic extract from *Colletotrichum gloeosporioides* (Phyllachoraceae) on yam *Dioscorea alata* (Dioscoreaceae)[J]. Caribbean Journal of Science, 2008, 44(1): 1-12.
- [12] SINGH J, QUERESHI S, BANERJEE N, et al. Production and extraction of phytotoxins from *Colletotrichum dematium* FGCC# 20 effective against *Parthenium hysterophorus* L.[J]. Brazilian Archives of Biology and Technology, 2010, 53(3): 669-678.
- [13] 徐贵华, 胡玉霞, 叶兴乾, 等. 椪柑、温州蜜桔果皮中酚类物质组成及抗氧化能力研究[J]. 食品科学, 2007, 28(11): 171-175.
- [14] 王菁, 蒲彪, 伍红梅. 柑橘皮中主要功能性成分含量测定[J]. 食品工业科技, 2010, 31(3): 367-369.
- [15] ZHOU Yahan, MING Jian, DENG Lili, et al. Effect of *Pichia membranaefaciens* in combination with salicylic acid on postharvest blue and green mold decay in citrus fruits[J]. Biological Control, 2014, 74: 21-29.
- [16] 彭茹, 张璐, 曾凯芳. 膜醭毕赤酵母与壳聚糖复合处理对柑橘果实防御酶及防御物质的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(10): 212-217. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201410040.
- [17] 张璐, 张瑶, 刘丽丹, 等. 膜醭毕赤酵母对草莓采后灰霉病抗病性的诱导[J]. 食品科学, 2013, 34(22): 286-291. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201322058.
- [18] LUO Yang, ZENG Kaifang, MING Jian. Control of blue and green mold decay of citrus fruit by *Pichia membranaefaciens* and induction of defense responses[J]. Scientia Horticulturae, 2012, 135: 120-127.
- [19] 李姝江. 杂交竹梢枯病菌蛋白毒素及其精确作用机制研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2013: 69.
- [20] 李春光, 王彦秋, 李宁, 等. 玉米秸秆纤维素提取及半纤维素与木质素脱除工艺探讨[J]. 中国农学通报, 2011, 27(1): 199-202.
- [21] 王菁, 蒲彪, 伍红梅. 柑橘皮中主要功能性成分含量测定[J]. 食品工业科技, 2010, 31(3): 367-369.
- [22] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 68-70.
- [23] 王彩霞, 陈晓林, 李保华. 腐烂病菌感染对苹果愈伤组织防御酶活性及丙二醛含量的影响[J]. 植物生理学报, 2014, 50(7): 909-916. DOI:10.13592/j.cnki.pj.2013.0468.
- [24] 商闯, 贾银锁, 马春红, 等. HMC毒素培养滤液对专化寄主玉米叶片诱导抗病性及相关酶的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(12): 4307-4313. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2008.12.049.
- [25] 范兰兰, 姜子德, 向梅梅. 莲子草假隔链格孢毒素对空心莲子草根尖组织防御酶活性的影响[J]. 华南农业大学学报, 2010, 31(3): 28-31. DOI:10.3969/j.issn.1001-411X.2010.03.008.
- [26] 马士芳, 沈向群, 洪雅婷, 等. 根肿病(*Plasmodiophora brassicae*)菌侵染对大白菜幼苗叶片膜脂过氧化物的影响[J]. 中国农学通报, 2014, 30(1): 128-132. DOI:10.11924/j.issn.1000-6850.2013-1210.
- [27] 杨术省. 生防菌JK-2粗毒素活性物质分析及对香蕉枯萎病诱导抗性的研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2009: 25-26.
- [28] 李赤, 黎永坚, 于莉. 香蕉枯萎病菌对不同香蕉品种防御酶系的影响[J]. 中国农学通报, 2010, 26(17): 251-255.
- [29] CHAVES E, WEBER S, BAO S, et al. Analysis of *Paracoccidioides* secreted proteins reveals fructose 1,6-bisphosphate aldolase as a plasminogen-binding protein[J]. BMC Microbiology, 2015, 15(1): 53. DOI:10.1186/s12866-015-0393-9.
- [30] JAT B L, SHARMA P, GOUR H N. Production of enzymes and culture filtrates by *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. causing banana fruit rot[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences, 2013, 83(2): 177-180. DOI:10.1007/s40011-012-0125-y.