

磷酸钠对粉红单端孢离体生长和细胞壁降解酶分泌的影响

温晓丽*

(鞍山师范学院化学与生命科学学院, 鞍山 114000)

摘 要: **目的** 探讨外源磷酸钠对粉红单端孢(*Trichothecium roseum*)菌丝生长、孢子超微结构及分泌细胞壁降解酶活性的影响。**方法** 同一浓度的 *T. roseum* 孢子悬浮液等量接种到含不同质量浓度的磷酸钠(0.12、0.25、0.50、1.00、2.00 mg/mL)培养基中恒温培养, 并定期测定菌落直径。制备孢子悬浮液用于孢子表面形态和超微结构观察及细胞壁降解酶活性测定。**结果** 磷酸钠处理明显抑制了 *T. roseum* 的菌丝生长, 扫描电镜和透射电镜结果显示, 磷酸钠明显抑制了 *T. roseum* 孢子生长, 表现为表面粗糙且皱缩凹陷, 同时孢子的超微结构发生了不规则变化。此外, 磷酸钠还显著抑制了培养 2 d 后 *T. roseum* 分泌的果胶裂解酶、多聚半乳糖醛酸酶、多聚半乳糖醛酸转移消除酶、果胶甲基反式消除酶、果胶甲基半乳糖醛酸酶和纤维素酶活性。**结论** 磷酸钠处理可直接抑制 *T. roseum* 生长, 并有效抑制其分泌细胞壁降解酶的活性。

关键词: 磷酸钠; 菌丝生长; 粉红单端孢; 超微结构; 细胞壁降解酶

Effects of trisodium phosphate on *in vitro* growth and cell wall degrading enzyme secretion of *Trichothecium roseum*

WEN Xiao-Li*

(College of Chemistry and Life Science, Anshan Normal University, Anshan 114000, China)

ABSTRACT: Objective To explore the effects of exogenous trisodium phosphate on hyphal growth, ultrastructure of *Trichothecium roseum* spore and secretory cell wall degrading enzymes activities. **Methods** The same concentration of *T. roseum* was inoculated in equal quantities into the medium containing sodium phosphate of different mass concentrations (0.12, 0.25, 0.50, 1.00, 2.00 mg/mL) for constant temperature culture, and the colony diameter was determined periodically. Spore suspension was prepared for observation of spore surface morphology, ultrastructure and determination of cell wall degradation enzymes activity. **Results** Trisodium phosphate distinctly suppressed hyphal growth of *T. roseum*, scanning electron microscopy and transmission electron microscopy results showed that trisodium phosphate strongly inhibited the spore growth, as indicated rough surfaces and shrinking, the ultrastructure of the spores was irregularly changed. Moreover, trisodium phosphate had a significant suppression effect on pectate lyase, polygalacturonase, polygalacturonic acid transeliminase, pectin methyl transeliminase, pectin methyl-galacturonase, and cellulose activities secreted by *T. roseum* after incubation for 2 d. **Conclusion** Trisodium phosphate has direct antifungal ability on *T. roseum* growth and effectively inhibits the secretion of cell wall degrading enzymes.

*通信作者: 温晓丽, 硕士, 讲师, 主要研究方向为采后生物学与技术和食品营养学。E-mail: wengxiaoli2003@163.com

*Corresponding author: WEN Xiao-Li, Master, Lecturer, Anshan Normal University, No.43, Pingan Road, Tiedong District, Anshan 114000, China. E-mail: wengxiaoli2003@163.com

KEY WORDS: trisodium phosphate; hyphal growth; *Trichothecium roseum*; ultrastructure; cell wall degrading enzymes

0 引言

真菌侵染引起的病害会导致果蔬贮藏期品质的降低,并严重影响其货架期,造成巨大的经济损失^[1]。植物细胞壁由果胶、纤维素和半纤维素组成,是植物抵御病原菌入侵的一道天然屏障^[2]。已有研究证明,许多病原真菌主要依赖其分泌的细胞壁降解酶侵染果蔬,在适宜的环境下,夺取寄主组织中的营养物质并破坏寄主细胞^[3-5]。GAWADE 等^[6]研究发现,广生亚大茎点菌(*Rhizoctonia bataticola*)分泌的多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase, PG)、果胶甲基半乳糖醛酸酶(pectin methyl-galacturonase, PMG)和纤维素酶(cellulose, Cx)活性与其致病性密切相关。瓜类蔓枯病菌(*Didymella bryoniae*, *D. bryoniae*)侵染哈密瓜果实过程中,也检测到其高活性的 PG 和 Cx^[7]。此外,PG、PMG 和果胶裂解酶(pectate lyase, PL)在疏色镰刀菌(*Fusarium sulphureum*)侵染的马铃薯块茎中表现出较高的活性^[8]。这些结果均证明,细胞壁降解酶可引起细胞壁组分的变化,其活性升高可加速病原菌侵染速度^[6,9]。粉红单端孢(*Trichothecium roseum*)是一种寄主范围广泛的致病真菌,可引起苹果、芒果、甜瓜和番茄等果蔬的采后腐烂^[10-13]。此外,*T. roseum* 还能分泌对人类和动物有危害的单端孢菌素^[14-16]。施用化学杀菌剂是目前控制 *T. roseum* 侵染的主要措施,但其在植物体内的残留会对环境和人体健康造成不利影响^[17]。因此,亟待开发绿色天然的防腐保鲜技术,以控制由 *T. roseum* 引起的采后病害^[18]。

磷酸钠是一种磷酸盐,属于一般公认安全的化学物质,并作为食品添加剂应用于各种食品的贮藏中^[19]。相关研究表明,应用磷酸钠可以有效减少植物产品上的细菌数量,抑制沙门氏菌在家禽、莴苣和辣椒上生物膜的形成^[20-21]。CAI 等^[22]报道磷酸钠能控制桃和枣果实由褐腐病菌(*Monilinia fructicola*)引起的采后病害,并能够破坏侵染真菌细胞膜的完整性。磷酸钠还可以通过增强抗氧化酶活性和激活苯丙烷代谢来抑制由互隔交链孢(*Alternaria alternata*)引起的苹果黑斑病^[23-24]。已有研究证明,*T. roseum* 能在体外分泌 PL、PMG、PG、果胶甲基反式消除酶(pectin methyl transeliminase, PMTE)、多聚半乳糖醛酸转移消除酶(polygalacturonic acid transeliminase, PGTE)和 Cx^[10]。许多研究已证实,PMG 和 PL 与真菌的感染过程密切相关,Cx 可降解纤维素大分子,活性与病原菌的毒力有关^[6,10]。在腐烂的哈密瓜果实中,*D. bryoniae* 产生的 PMG 和 Cx 活性比中等毒力的菌株要高^[7]。PGTE 和 PMTE 能够促进果胶中 α -1,4-糖苷键的降解^[7]。据报道,胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)和马铃薯炭疽病

(*Colletotrichum coccodes*)产生的 PL 也会影响番茄和鳄梨炭疽病的感染程度^[25-26]。细胞壁降解酶是 *F. sulphureum* 侵染马铃薯块茎过程中的主要致病因素,不同的细胞壁降解酶在致病机制中起不同的作用^[8]。XUE 等^[27]也证明立枯丝核菌(*Rhizoctonia solani*)产生的 PG 和 PMG,其活性越高越有利于加速侵染过程。然而,在体外条件下,关于磷酸钠对 *T. roseum* 生长的抑制作用和细胞壁降解酶分泌的影响的相关研究鲜见报道。

本研究以 *T. roseum* 为对象,研究磷酸钠在离体条件下对 *T. roseum* 菌丝生长、孢子表面形态结构、超微结构及分泌细胞壁降解酶活性的影响,以期增加其在果蔬防腐保鲜方面的可能作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

粉红单端孢(*Trichothecium roseum*)分离于自然发病的苹果果实,经纯化、致病性检验及鉴定后保存于马铃薯葡萄糖琼脂培养基(potato dextrose agar, PDA)上,使用前在 24 °C 活化培养 5~7 d。

马铃薯葡萄糖培养基(上海广锐生物科技有限公司);察式培养基(青岛高科园海博生物技术有限公司);磷酸钠、戊二醛、乙酸钠、甘氨酸、乙酸、氢氧化钠、氯化钙(CaCl_2)(分析纯,北京索莱宝科技有限公司);磷酸二氢钠、磷酸氢二钠(分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司);饿酸、醋酸双氧铈、柠檬酸铅(分析纯,美国 Sigma-Aldrich 公司);乙醇(分析纯,天津市风船化学试剂科技有限公司);盐酸(HCl)(分析纯,天津致诚化学制品有限公司);3,5-二硝基水杨酸(3,5-dinitrosalicylic acid, DNS)(分析纯,国药集团化学试剂有限公司);考马斯亮蓝(G-250,北京瑞尔欣德科技有限公司);多聚半乳糖醛酸、多聚半乳糖醛酸(分析纯,上海士峰生物科技有限公司);水杨苷(分析纯,上海聚源生物科技有限公司);羧甲基纤维素钠(分析纯,西亚化学科技山东有限公司);果胶(分析纯,美国 Sigma 公司)。

1.2 仪器与设备

UV-1801 紫外分光光度计(北京北分瑞利分析仪器集团);TGL-16G 离心机、TDL-5-A 离心机(上海安亭科学仪器有限公司);HZQ-X300C 恒温振荡培养箱、生化培养箱(上海一恒科学仪器有限公司);S-4800 扫描电镜、JEM-1230 透射电镜(日本日立公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 磷酸钠对 *T. roseum* 菌丝生长的影响

参照 GE 等^[10]的方法并修改,将不同质量浓度的磷酸

钠(0.12、0.25、0.50、1.00、2.00 mg/mL)分别加入 PDA 培养基中制成 PDA 平板, 分别接种直径为 5 mm 的 *T. roseum* 菌饼, 置于 24 °C 恒温培养箱中培养 6 d。于培养第 3 d 开始每天采用十字交叉法测定菌落直径。每个浓度接种 10 个 PDA 平板。由此筛选最佳的抑菌浓度进行后续实验。

1.3.2 磷酸钠对 *T. roseum* 孢子超微结构的影响

参照 LI 等^[28]方法并修改。从含 1.00 mg/mL 磷酸钠的察氏培养基中制备浓度为 1×10^8 个/mL 的孢子样品, 不含磷酸钠为对照, 在 4 °C 下用 2% 戊二醛固定 24 h, 并在 50 mmol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.2)中洗涤 3 次(每次 10 min)。空气干燥后, 样品镀金, 保存在干燥器中, 制好的扫描电镜样本在 S-4800 扫描电镜下观察并采集照片。

透射电子显微镜样品, 上述初固定的样品在 1% 锇酸中固定 3 h。而后样品分别在 50%、70%、80%、90% 和 100% 的乙醇梯度中脱水 10 min, 并用 Spurr 树脂包埋。使用 Reichert OMU3 切片机切割超薄切片(70 nm), 分别用 2% 的醋酸双氧铀和 0.5% 的柠檬酸铅溶液对切片进行染色。制好的透射电镜标本用 JEM-1230 透射电镜下观察并采集照片。

1.3.3 粗酶液的提取

参照 GE 等^[10]方法并修改。将 *T. roseum* PDA 平板用 10 mL 无菌蒸馏水洗涤制备孢子悬浮液(1×10^8 个/mL)。然后将 5.0 mL 孢子悬液转移到 20 mL 无菌察氏培养基(含有 0 和 1.00 mg/mL 磷酸钠), 置于 24 °C 恒温振荡培养箱(120 r/min) 孵育。于孵育第 0、1、2、3、4、5 d 各取 10 mL 培养液, 低温离心 20 min (4 °C, 12000×g), 上清液用于酶活性测定。对照和处理每次从 3 个培养瓶中分别取样 3 份。

1.3.4 细胞壁降解酶活性测定

(1) PL 活性测定

参照 GE 等^[10]方法并修改。PL 反应体系含有 2.0 mL 0.5 g/L 的果胶、0.5 mL 的酶提取液和 4.5 mL 0.01 mol/L HCl 溶液, 40 °C 孵育 10 min 后冷却, 以不含酶提取液(无菌水代替)的反应液为对照, 在 235 nm 处测定吸光值。PL 活性以 *U* 表示, 定义为每分钟每毫克蛋白质产生 1.0 mg 半乳糖醛酸。

(2) PGTE 和 PMTE 活性测定

参照 GE 等^[10]方法并修改。测定反应体系包括 1.0 mL 3.0 mmol/L CaCl₂、4.0 mL 50 mmol/L 甘氨酸-氢氧化钠缓冲液(pH 9.0)、3.0 mL 反应底物(其中 PMTE 的底物为 1.0 g/L 果胶, PGTE 的底物为 1.0 g/L 多聚半乳糖醛酸)和 0.1 mL 粗酶液, 30 °C 孵育 5 min 后冷却, 以不含酶提取液(无菌水代

替)的反应液为对照, 然后在 232 nm 处测定溶液的吸光值。PMTE 和 PGTE 活性定义为 *U*, 定义为每分钟每毫克蛋白吸光度的变化。

(3) PMG 和 PG 活性测定

参照 GE 等^[10]方法并修改。反应体系包括 0.5 mL 1.0 mg/mL 果胶(测定 PMG)或 1.0 mg/mL 聚半乳糖醛酸(测定 PG)、1.0 mL 50 mmol/L 醋酸缓冲液(pH 5.5)和 0.5 mL 粗酶液。反应溶液在 37 °C 下孵育 1 h, 冷却后迅速加入 1.0 mL DNS 并沸水浴保温 5 min, 以不含酶提取液(无菌水代替)的反应液为对照, 冷却到室温后按照 DNS 法测定 540 nm 波长下吸光值。PMG 和 PG 的活性以 *U* 表示, 是指每分钟每毫克蛋白质产生 1.0 mg 半乳糖醛酸。

(4) Cx 活性测定

参照 GE 等^[10]的方法并修改。反应体系包括 500 μL 1.0 g/L 羧甲基纤维素钠和 500 μL 粗酶液。反应体系在 37 °C 保温 1 h 后迅速加入 2.5 mL DNS, 沸水浴保温 5 min, 以不含酶提取液(无菌水代替)的反应液为对照, 冷却后测定 540 nm 波长下吸光值。Cx 活性表示为 *U*, 是指 37 °C 下每毫克蛋白质每分钟产生 1.0 mmol 葡萄糖。

粗酶液中蛋白含量采用 BRADFORD^[29]的方法于测定当天进行。

1.4 数据分析

全部实验进行 3 次生物学重复, 数据用 Microsoft Excel 2010 计算平均值和标准偏差并作图。使用 SPSS 统计软件 15.0 版(SPSS Inc, Chicago, 1 L)进行单因素方差分析比较平均值。在 $\alpha=0.05$ 的显著性水平下, 通过 Duncan's 多重差异检验进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 磷酸钠对 *T. roseum* 菌丝生长的影响

由表 1 可知, 在恒温培养期间, *T. roseum* 菌落直径随着磷酸钠浓度的增加而降低, 并且所有质量浓度都和对照之间存在显著性差异($P<0.05$)。然而, 0.12 mg/mL 和 0.25 mg/mL 的磷酸钠处理之间没有显著性差异($P>0.05$), 0.50 mg/mL 的磷酸钠在培养第 5 和 6 d 与低浓度(0.12 mg/mL 和 0.25 mg/mL) 有显著性差异($P<0.05$)。1.00 和 2.00 mg/mL 的磷酸钠在整个培养期间均显著抑制了 *T. roseum* 的菌丝生长($P<0.05$)。因此, 选择 1.00 mg/mL 磷酸钠进行后续实验。

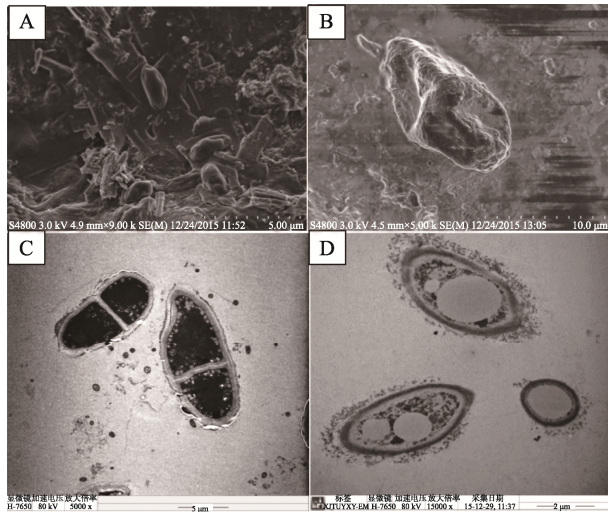
表 1 不同浓度磷酸钠对 *T. roseum* 菌落直径的影响(mm)
Table 1 Effects of trisodium phosphate at different concentration on colony diameter of *T. roseum* (mm)

培养时间/d	磷酸钠质量浓度/(mg/mL)					
	0	0.12	0.25	0.50	1.00	2.00
3	34.5±2.26 ^a	30.7±2.05 ^b	30.0±1.55 ^{bc}	28.5±1.90 ^{bc}	27.5±2.87 ^c	18.2±1.57 ^d
4	45.2±1.47 ^a	40.8±1.55 ^b	39.7±1.92 ^b	39.4±1.67 ^b	32.9±2.22 ^c	23.4±1.21 ^d
5	56.0±0.84 ^a	51.1±1.88 ^b	49.5±1.53 ^b	46.5±1.06 ^c	44.3±2.28 ^c	28.2±2.42 ^d
6	63.4±1.43 ^a	57.4±2.92 ^b	57.5±1.24 ^b	52.4±2.10 ^c	49.0±2.24 ^d	33.4±2.48 ^e

注: 同一行不同字母表示显著性差异($P<0.05$)。

2.2 磷酸钠对 *T. roseum* 孢子超微结构的影响

扫描电镜观察结果显示正常生长的 *T. roseum* 孢子呈圆形, 表面光滑(图 1A), 而磷酸钠处理后孢子生长受到强烈抑制, 表面粗糙、萎缩凹陷(图 1B)。透射电镜观察发现, 对照组孢子轮廓平滑完整、胞质分布均匀、细胞壁完整(图 1C), 而经磷酸钠处理的孢子细胞膜和细胞壁发生不规则变化, 孢子细胞内出现空洞, 细胞膜边缘开始模糊(图 1D)。由此说明, 磷酸钠破坏了 *T. roseum* 细胞壁和细胞膜, 从而抑制孢子的生长。



注: A、B 代表扫描电镜观察的对照和磷酸钠处理(1.00 mg/mL); C、D 代表透射电镜观察的对照和磷酸钠处理(1.00 mg/mL)。
图 1 磷酸钠处理对 *T. roseum* 孢子表面形态(A、B)和超微结构的影响(C、D)

Fig.1 Effect of trisodium phosphate treatment on surface morphology (A, B) and ultrastructure (C, D) of *T. roseum*

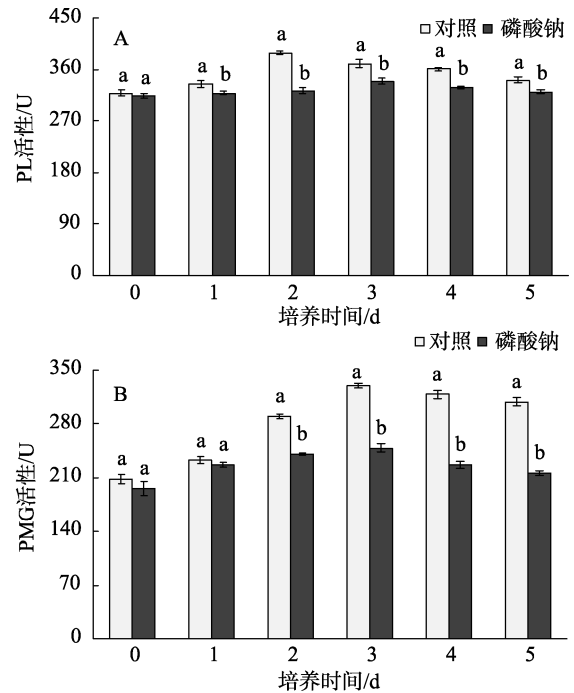
2.3 磷酸钠处理对 *T. roseum* 分泌 PL 和 PMG 活性的影响

从图 2A 可以看出, 经 1.00 mg/g 磷酸钠处理的 *T. roseum* 分泌的 PL 活性始终低于对照组。对照组在培养的第 2 d, PL 活性达到峰值, 随后缓慢下降。与对照组相比, 磷酸钠处理在培养第 1~5 d 显著抑制了 PL 活性。培养期间, 对照组 PMG 活性不断升高, 在第 3 d 达到最高, 随后一直保持较高水平(图 2B)。磷酸钠处理显著抑制了培养第 2~5 d *T. roseum* 分泌的 PMG 活性。

2.4 磷酸钠处理对 *T. roseum* 分泌 PMTE 和 PGTE 活性的影响

经磷酸钠处理的 *T. roseum* 分泌 PMTE 活性在第 0~3 d 增加, 随后逐渐下降, 而对照组在第 2 d 达到最高活性(图 3A)。磷酸钠处理在培养第 1~5 d 显著抑制了 PMTE 活性, 处理组 PMTE 活性分别是对照的 90.91%、79.94%、92.34%、82.41%和 83.0%。磷酸钠处理和对照 *T. roseum* 分泌的 PGTE 活性在第 0~3 d 逐渐升高, 随后开始下降(图 3B)。磷

酸钠处理在第 1~5 d 显著抑制了 PGTE 活性, 分别是对照的 88.30%、65.02%、78.16%、82.30%和 83.29%。



注: 不同小写字母表示不同组间差异显著($P < 0.05$), 下同。

图 2 磷酸钠处理对 *T. roseum* 分泌 PL (A)和 PMG (B)活性的影响($n=3$)

Fig.2 Effects of trisodium phosphate treatments on PL (A) and PMG (B) activities secreted by *T. roseum* ($n=3$)

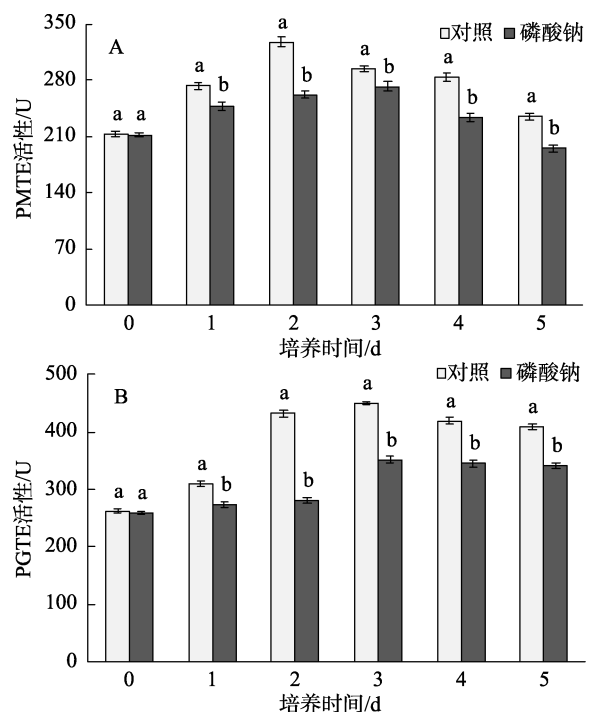


图 3 磷酸钠处理对 *T. roseum* 分泌的 PMTE (A)和 PGTE (B)活性的影响($n=3$)

Fig.3 Effects of trisodium phosphate treatments on PMTE (A) and PGTE (B) activities secreted by *T. roseum* ($n=3$)

2.5 磷酸钠处理对 *T. roseum* 分泌 PG 和 Cx 活性的影响

在培养期间,磷酸钠处理和对照 *T. roseum* 分泌的 PG 活性均呈先升高后降低的趋势,但磷酸钠处理延迟了 PG 活性高峰的出现(图 4A)。此外,磷酸钠处理显著抑制了第 2~5 d 的 PG 活性,分别比对照组降低了 21.26%、20.84%、16.05%和 16.15%。在对照和磷酸钠处理组中 *T. roseum* 分泌的 Cx 活性呈先升高后降低的趋势且均第 3 d 达到峰值(图 4B)。磷酸钠处理在培养第 1~4 d 显著降低了 *T. roseum* 分泌 Cx 的活性。在培养第 3 d 时 Cx 活性差异最大,对照组是磷酸钠处理的 1.2 倍。

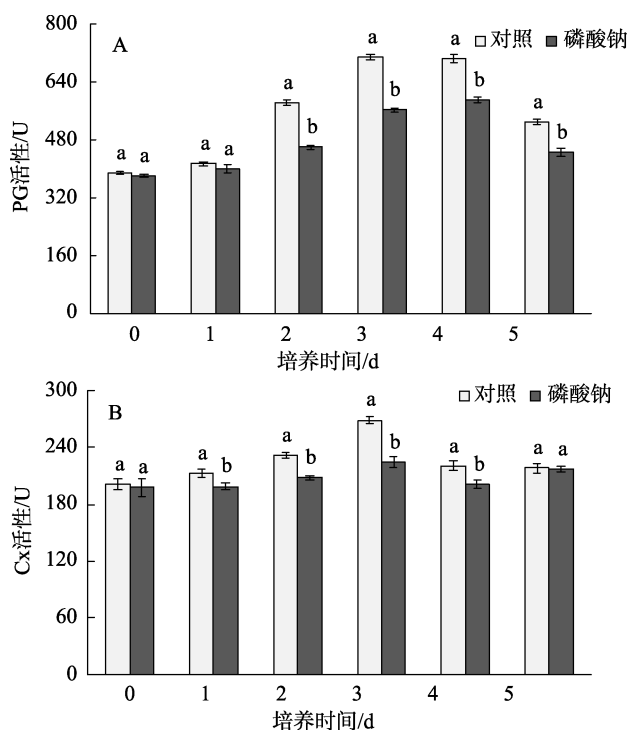


图 4 磷酸钠处理对 *T. roseum* 分泌 PG (A)和 Cx (B)活性的影响 (n=3)

Fig. 4 Effects of trisodium phosphate treatments on PG (A) and Cx (B) activities secreted by *T. roseum* (n=3)

3 讨论与结论

本研究表明,磷酸钠处理可以抑制 *T. roseum* 的菌丝生长,而且抑制效果与浓度相关。同样地, SU 等^[21]的研究显示 20~50 mg/mL 的磷酸钠处理可抑制辣椒和生菜上 *Listeria monocytogenes* 和 *Salmonella typhimurium* 的生长。本研究还发现磷酸钠处理会导致孢子发生皱缩,使细胞壁和细胞膜遭到不同程度的破坏,同时也会损伤细胞器。在 *Monilinia fruticola* 的研究中也发现,磷酸钠会破坏细胞膜结构^[22]。据报道,磷酸钠处理可以渗透并破坏细胞质和细胞膜,使细胞内的大分子物质释放到细胞外,最终导致细胞的

死亡^[30-31]。WANG 等^[32]的研究也表明,硅酸钠对 *T. roseum* 的菌丝生长和孢子萌发有明显的抑制作用,并引起部分细胞壁溶解,增加菌丝的膜透性。由此说明,钠盐类可以破坏 *T. roseum* 细胞的质膜结构和功能,从而抑制孢子的生长。

通过分泌细胞壁降解酶来破坏寄主细胞为自身提供碳源是很多病原真菌的重要致病机制^[33]。本研究发现,磷酸钠显著抑制了 *T. roseum* 产生的 PL、PMG、PG、PGTE 和 PMTE 活性。*T. roseum* 产生的果胶酶是加速侵染的主要因素,磷酸钠处理可以抑制果胶酶的活性。此外,病原菌在感染过程中也会产生 Cx,在后期主要用于降解细胞壁组织^[34]。ZHANG 等^[7]研究表明, *D. bryoniae* 在侵染哈密瓜的过程中产生的 Cx 活性与果实腐烂的严重程度呈正相关。这一结果与本研究结果相似,磷酸钠有效地降低了 *T. roseum* 产生 Cx 的能力。

在离体条件下磷酸钠对 *T. roseum* 的生长有明显的抑制作用,其可能的机制包括破坏细胞壁和细胞膜的结构、抑制分泌细胞壁降解酶的活性。

参考文献

- [1] 葛永红, 李灿婴, 吕静祎, 等. 果蔬采后病原真菌分泌胞外酶的研究进展[J]. 食品科学, 2016, 37(15): 265-270.
GE YH, LI CY, LV JY, et al. Progress in extracellular enzymes secreted by postharvest decay fungi in fruits and vegetables [J]. Food Sci, 2016, 37(15): 265-270.
- [2] LI DD, ZHANG XY, GU XY, et al. The infection of grapes by *Talaromyces rugulosus* O1 and the role of cell wall-degrading enzymes and ochratoxin A in the infection [J]. Physiol Mol Plant P, 2019, 106: 263-269.
- [3] ORTIZ A, GRAELL J, LARA I, et al. Cell wall-modifying enzymes and firmness loss in ripening 'Golden Reinders' apples: A comparison between calcium dips and ULO storage [J]. Food Chem, 2011, 128: 1072-1079.
- [4] WEI J, MA F, SHI S, et al. Changes and postharvest regulation of activity and gene expression of enzymes related to cell wall degradation in ripening apple fruit [J]. Postharvest Biol Technol, 2010, 56: 147-154.
- [5] GWANPUA SG, VAN BS, VERLINDEN BE, et al. Pectin modifications and the role of pectin-degrading enzymes during postharvest softening of 'Jonagold' apples [J]. Food Chem, 2014, 158: 283-291.
- [6] GAWADE DB, PERANE RR, SURYWANSHI AP, et al. Extracellular enzymes activity determining the virulence of *Rhizoctonia bataticola*, causing root rot in soybean [J]. Physiol Mol Plant P, 2017, 100: 49-56.
- [7] ZHANG J, BRUTON BD, BILES CL, et al. Cell wall-degrading enzymes of *Didymella bryoniae* in relation to fungal growth and virulence in cantaloupe fruit [J]. Eur J Plant Pathol, 2014, 139: 749-761.
- [8] 杨志敏, 毕阳, 李永才, 等. 马铃薯干腐病菌侵染过程中切片组织细胞壁降解酶的变化[J]. 中国农业科学, 2012, 45(1): 127-134.
YANG ZM, BI Y, LI YC, et al. Changes of cell wall degrading enzymes in potato tuber tissue slices infected by *Fusarium sulphureum* [J]. Sci Agric Sin, 2012, 45(1): 127-134.
- [9] ZHOU S, LIU Y, ZHANG M, et al. Comparison of the virulence and cognate virulence factors of multinucleate, binucleate and uninucleate

- Rhizoctonia* isolates, causing sheath blight on maize plants [J]. Eur J Plant Pathol, 2016, 145: 501–506.
- [10] GE YH, CHEN YR, LI CY, *et al.* Inhibitory effects of sodium silicate on the fungal growth and secretion of cell wall-degrading enzymes by *Trichothecium roseum* [J]. J Phytopathol, 2017, 165: 620–625.
- [11] GAO LL, ZHANG Q, SUN XY, *et al.* Etiology of moldy core, core browning, and core rot of Fuji apple in China [J]. Plant Dis, 2017, 97: 510–516.
- [12] BELLO GD. First report of *Trichothecium roseum* causing postharvest fruit rot of tomato in Argentina [J]. Australas Plant Dis, 2008, 3: 103–104.
- [13] YANG B, YANG DP, GAO ZY, *et al.* Toxicity test of 8 fungicides against *Trichothecium roseum* causing mango fruit rot [J]. J Trop Biol, 2013, 4: 45–49.
- [14] TANG YM, XUE HL, BI Y, *et al.* A method of analysis for T-2 toxin and neosolaniol by UHPLC-MS/MS in apple fruit inoculated with *Trichothecium roseum* [J]. Food Addit Contam A, 2015, 32(4): 480–487.
- [15] XUE HL, BI Y, TANG YM, *et al.* Influence of storage temperature and cultivars on T-2 toxin and neosolaniol accumulation in apples inoculated with *Trichothecium roseum* [J]. J Food Proc Pres, 2017, 42: e13424.
- [16] PROCTOR RH, MCCORMICK SP, KIM HS, *et al.* Evolution of structural diversity of trichothecenes, a family of toxins produced by plant pathogenic and entomopathogenic fungi [J]. PLoS Pathog, 2018, 14: e1006946.
- [17] 赵冠华, 牛黎莉, 罗荣涛, 等. 3 种抗氧化剂对硅酸钠胁迫下粉红单端孢(*Trichothecium roseum*)孢子生存能力的保护作用比较研究[J]. 食品科学, 2015, 36(17): 191–195.
- ZHAO GH, NIU LL, LUO RT, *et al.* Comparison of protective effects of three antioxidants on spore viability of *Trichothecium roseum* under sodium silicate stress [J]. Food Sci, 2015, 36(17): 191–195.
- [18] BI Y, LI YC, GE YH, *et al.* Induced resistance in postharvest fruits and vegetables by chemicals and its mechanism [J]. Stewart Postharvest Rev, 2007, 6: 1–7.
- [19] National Health and Family Planning Commission of PRC. Standard for food additives [Z].
- [20] SARJIT A, DYKES GA. Antimicrobial activity of trisodium phosphate and sodium hypochlorite against *Salmonella* biofilms on abiotic surfaces with and without soiling with chicken juice [J]. Food Control, 2017, 73: 1016–1022.
- [21] SU XW, D'SOUZA DH. Reduction of *Salmonella typhimurium* and *Listeria monocytogenes* on produce by trisodium phosphate [J]. LWT Food Sci Technol, 2012, 45: 221–225.
- [22] CAI JH, CHEN J, LU GB, *et al.* Control of brown rot on jujube and peach fruits by trisodium phosphate [J]. Postharvest Biol Technol, 2015, 99: 93–98.
- [23] GE YH, CHEN YR, LI CY, *et al.* Effect of trisodium phosphate treatment on black spot of apple fruit and the roles of anti-oxidative enzymes [J]. Physiol Mol Plant P, 2019, 106: 226–231.
- [24] GE YH, CHEN YR, LI CY, *et al.* Effect of trisodium phosphate dipping treatment on the quality and energy metabolism of apples [J]. Food Chem, 2019, 274: 324–329.
- [25] KRAMER-HAIMOVICH H, SERVI E, KATAN T, *et al.* Effect of ammonia production by *Colletotrichum gloeosporioides* on *pelB* activation, pectate lyase secretion, and fruit pathogenicity [J]. Appl Environ Microb, 2006, 72: 1034–1039.
- [26] BEN-DANIEL BH, BAR-ZVI D, TSROR L. Pectate lyase affects pathogenicity in natural isolates of *Colletotrichum coccodes* and in *pelA* gene-disrupted and gene-overexpressing mutant lines [J]. Mol Plant Pathol, 2011, 13: 187–197.
- [27] XUE CY, ZHOU RJ, LI YJ, *et al.* Cell-wall-degrading enzymes produced *in vitro* and *in vivo* by *Rhizoctonia solani*, the causative fungus of peanut sheath blight [J]. Peer J Mater Sci, 2018, 6: e5580.
- [28] LI CY, BI Y, GE YH, *et al.* Antifungal activity of sodium silicate on *Fusarium sulphureum* and its effect on dry rot of potato tubers [J]. J Food Sci, 2009, 74: 213–218.
- [29] BRADFORD MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of micro-gram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248–255.
- [30] SAMPATHKUMAR B, KHACHATOURIAN GG, KORBER DR. High pH during trisodium phosphate treatment causes membrane damage and destruction of *Salmonella enterica* serovar enteritidis [J]. Appl Environ Microb, 2003, 69: 122–129.
- [31] MENDONCA AF, AMOROSO TL, KNABEL SJ. Destruction of gram-negative food-borne pathogens by high pH involves disruption of the cytoplasmic membrane [J]. Appl Environ Microb, 1994, 60: 4009e4014.
- [32] WANG Y, BI Y, LI YC, *et al.* Antifungal activity of sodium silicate on *Trichothecium roseum* *in vitro* [J]. Acta Hort, 2010, 877: 1683–1690.
- [33] WIETHÖLTER N, GRAEBNER B, MIERAU M, *et al.* Differences in the methyl ester distribution of homogalacturonans from near-isogenic wheat lines resistant and susceptible to the wheat stem rust fungus [J]. Molecul Plant Microbe Int, 2003, 16: 945–952.
- [34] BARKAI-GOLAN R. Postharvest diseases of fruits and vegetables: Development and control [M]. Amsterdam: Elsevier Science, 2001.

(责任编辑: 于梦娇 郑 丽)

作者简介



温晓丽, 硕士, 讲师, 主要研究方向为
采后生物学与技术和食品营养学。
E-mail: wengxiaoli2003@163.com