

果蔬采后病原真菌分泌胞外酶的研究进展

葛永红, 李灿婴, 吕静祎, 励建荣*

(渤海大学食品科学与工程学院, 辽宁省食品安全重点实验室, 生鲜农产品贮藏加工及安全控制技术国家地方联合工程研究中心, 辽宁 锦州 121013)

摘 要: 果蔬采后腐烂大部分由真菌引起, 真菌侵染寄主后能否导致发病, 取决于病原菌的致病能力、寄主自身的防卫反应和环境条件。在适宜的环境条件下, 病原菌大量繁殖, 并通过分泌胞外酶、产生毒素和病原物激素从而引起寄主发病。在发病过程中, 胞外酶是最重要的致病因子。本文综述了病原真菌产生胞外酶的种类、致病机理及影响因素, 为果蔬采后病害的控制提供理论依据。

关键词: 胞外酶; 真菌; 致病性

Progress in Extracellular Enzymes Secreted by Postharvest Decay Fungi in Fruits and Vegetables

GE Yonghong, LI Canying, LÜ Jingyi, LI Jianrong*

(National & Local Joint Engineering Research Center of Storage, Processing and Safety Control Technology for Fresh Agricultural and Aquatic Products, Food Safety Key Laboratory of Liaoning Province, College of Food Science and Engineering, Bohai University, Jinzhou 121013, China)

Abstract: Postharvest decay of fruits and vegetables is mainly caused by fungi. The pathogenicity of the fungi, host defense responses and environmental conditions can affect decay severity of fruits and vegetables. Generally, under appropriate environmental conditions, the pathogens multiply, secrete extracellular enzymes and produce toxins and hormones that cause the decay of their host fruits and vegetables. Extracellular enzymes secreted by the fungi play the most important role in the occurrence of postharvest diseases. This paper reviews the classification of extracellular enzymes produced pathogenic fungi as well as the mechanism and influencing factors of their pathogenicity aiming to provide a theoretical basis for postharvest disease control of fruits and vegetables.

Key words: extracellular enzyme; fungus; pathogenicity

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201615045

中图分类号: TS255.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2016)15-0265-06

引文格式:

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.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201615045. <http://www.spkx.net.cn>

GE Yonghong, LI Canying, LÜ Jingyi, et al. Progress in extracellular enzymes secreted by postharvest decay fungi in fruits and vegetables[J]. Food Science, 2016, 37(15): 265-270. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201615045. <http://www.spkx.net.cn>

采后病害是果蔬在采收、分级、包装、运输、贮藏和销售等过程中发生的病害, 包括生理性病害和侵染性病害, 直接导致果蔬贮藏品质大大降低, 造成巨大的经济损失^[1]。在侵染性病害的发病过程中, 病原菌首先要识别寄主并建立寄生关系, 然后从寄主获得必要的营养物质和水分, 才能进一步繁殖和扩展, 从而导致病害症状

的出现。病原菌侵染寄主后能否引起发病并表现症状, 主要取决于寄主自身的防卫反应、病原菌的致病能力及环境条件^[2]。病原菌通过分泌对寄主有害的代谢物质, 如胞外酶、毒素和病原物激素来干扰寄主细胞正常生理代谢并破坏细胞, 在致病过程中起着重要作用^[3]。胞外酶是病原真菌在侵染寄主后分泌到细胞外的可以降解寄主细

收稿日期: 2015-12-24

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31401554); 渤海大学博士启动基金项目(bsqd201405)

作者简介: 葛永红(1979—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为果蔬采后生物学与技术。E-mail: geyh1979@163.com

*通信作者: 励建荣(1964—), 男, 教授, 博士, 研究方向为果蔬、水产品贮藏加工与质量安全控制。

E-mail: lijr6491@163.com

胞壁的酶类,在大多数采后病害的发病过程中,胞外酶是最重要的致病因子^[4-5]。

本文主要论述了果蔬采后病原真菌产生胞外酶的种类、作用机制及影响因素,以期为采后病害控制提供理论依据。

1 胞外酶的种类

在病原菌与寄主识别的过程中,植物表皮覆盖的角质层和细胞壁是其主要的保护屏障^[6-7]。不同的植物其细胞壁结构和组成不尽相同,但是基本都由蛋白质、多糖、芳香族聚合物组成。病原菌针对细胞壁中的不同成分分泌相应的胞外酶引起寄主细胞壁的分解,降低其防御能力,从而提高了病菌的侵入和扩展速度^[8]。根据胞外酶的作用底物,将胞外酶分为角质酶、果胶酶、纤维素酶、半纤维素酶和其他酶类^[9]。

1.1 角质酶

角质酶是病原真菌直接侵入寄主时用以突破果实角质层的关键酶,是一种酯酶,分子质量为22~26 kD,含有一条肽链,一个二硫键,都含有一个蛋氨酸、一个组氨酸和一个色氨酸^[10]。角质酶的活性中心是组氨酸的咪唑基和丝氨酸残基上的羟基、羧基组成的一种三分体结构^[11]。引起果蔬采后病害的病原菌主要通过角质层、伤口和衰老的表皮侵入寄主,其中通过角质层直接侵入的病原真菌接触识别寄主表面后快速分泌高活性角质酶,快速降解寄主表皮的角质层,加速病原菌侵入过程。盘长孢状刺盘孢(*Colletotrichum gloeosporioides*)对角质层的渗透是将病原菌的角质酶基因插入以更快地感染完好的寄主^[12]。随着分泌的角质酶直接渗透进入寄主,一种附着胞随之感染寄主,这种附着胞是由刺盘孢(*Colletotrichum*)产生的^[13]。尽管已有角质酶在病原菌致病中的研究,但目前的研究还不够深入,并且研究种类的相对较少。

1.2 果胶酶

果胶物质是构成中胶层的重要组成部分,由半乳糖醛酸分子链组成,起到植物细胞和植物组织整体之间紧密联系的作用。采后水果或蔬菜中病害的发展很大程度上依赖于病原菌分泌果胶酶的能力,以及分解不溶性果胶和导致细胞分裂、组织分解的能力。果胶酶是一组复合酶,主要降解细胞壁中的果胶成分,在果蔬采后侵染性病害发生过程中起关键作用^[14]。根据 α -糖苷键在果胶分子上的断裂位置可以将果胶酶分为果胶水解酶、果胶甲基酯酶(pectin methylesterase, PME)和果胶裂解酶(pectate lyase, PL)^[15]。多聚半乳糖醛酸酶(polygalacturonase, PG)和果胶甲基半乳糖醛酸酶(polymethyl-galacturonase, PMG)是分别以果胶酸和

果胶质为底物的两种重要水解酶,多聚半乳糖醛酸反式消除酶(polygalacturonic acid trans-eliminase, PGTE)和果胶甲基反式消除酶(pectin methyl-trans-eliminase, PMTE)是两种重要的裂解酶,分别以果胶酸和果胶质为底物^[16-17]。

果胶酶被认为是受意大利青霉(*Penicillium italicum*)和指状青霉(*P. digitatum*)侵染的柑橘属水果变软的主要原因^[18]。有报道表明,胶孢炭疽菌(*Colletotrichum gloeosporioides*)和球状炭疽菌(*Colletotrichum coccodes*)分泌的PL对鳄梨和番茄炭疽病的发生具有重要的影响^[19-22]。用带有PL抗体和缺失了PL的胶孢炭疽菌(*C. gloeosporioides*)孢子接种鳄梨,抑制了果实病害的发生^[19]。扩展青霉(*Penicillium expansum*)、指状青霉(*P. digitatum*)和意大利青霉(*P. italicum*)分泌的果胶酶更有利于这些病原菌对苹果和柑橘果实的侵染^[23]。还有研究发现,灰葡萄孢(*Botrytis cinerea*)和柑橘链格孢(*Alternaria citri*)在侵染不同果实过程中PG基因具有重要的作用^[24-25]。马铃薯块茎受到镰刀菌(*Fusarium sulphureum*)侵染后产生的PME、PL、PG、PMG等在其致病中发挥了重要的作用^[26]。可可球二孢菌(*Botryodiplodia theobromae*)在侵染芒果果实过程中产生的PG、PMG等与其致病性有关^[27]。桃褐腐病菌(*Monilinia fructicola*)分泌的PG和PME引起的细胞壁浸解在其侵染过程中具有重要作用^[28]。此外,尖孢镰刀菌(*Fusarium oxysporum* f. sp. cubense race 4)在体外能够产生PG^[29],胶孢炭疽菌(*C. gloeosporioides*)侵染苹果果实过程中产生的PMG与其致病力相关^[30]。由此可见,不同真菌在侵染寄主过程中产生的果胶酶种类不同,但分泌的果胶酶在病原真菌致病中具有重要的作用。然而,PG在病原菌致病中的作用受多聚半乳糖醛酸酶抑制蛋白(polygalacturonase inhibiting protein, PGIPs)的影响,该蛋白不影响寄主本身PG的活性,但会抑制病原菌产生的PG活性^[31-33]。

1.3 纤维素酶和半纤维素酶

纤维素酶是一组水溶性胞外复合酶,能降解纤维素中 β -1,4-葡萄糖苷键的一类酶的总称。纤维素的降解至少有3种酶的共同参与,C1酶(内切1,2- β -D葡聚糖酶)、羧甲基纤维素酶(1,4- β -D-葡聚糖纤维二糖水解酶,Cx酶)和 β -葡萄糖苷酶(又称为纤维二糖酶)^[8]。半纤维素酶是专一性降解植物细胞壁中木葡聚糖、半乳甘露聚糖、木聚糖等非纤维素多糖的复合酶,主要包括内切- β -1,4-葡聚糖酶、内切- β -1,4-木聚糖酶、 β -木糖苷酶、 α -阿拉伯呋喃糖酶、甘露聚糖酶(β -甘露聚糖酶和 β -甘露糖苷酶)等,植物细胞壁成分的复杂性决定了多酶参与降解半纤维素的过程^[34]。

在病害发展期间, 尽管植物组织的腐烂和细胞的死亡与细胞外果胶酸酶的活性相关性很强, 但是病原菌的纤维素酶和半纤维素酶一样, 也在这个复杂过程中起必要的作用。在发病期间, 纤维素酶通常是在后期阶段起作用, 即病原菌发展到腐生阶段^[35]。在对柑橘类水果中的指状青霉 (*P. digitatum*) 和意大利青霉 (*P. italicum*) 产生的Cx酶的研究表明, 在病害症状出现之前的病害潜育期酶的活性较高; 此外, 人们发现病害的严重程度和水果中病原菌分泌的纤维素酶的活性之间存在关联。尖孢镰刀菌 (*Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* race 4) 在体外能够产生内切葡萄糖苷酶和 β -葡萄糖苷酶^[29]。胶孢炭疽菌 (*C. gloeosporioides*) 侵染苹果果实过程中产生的Cx酶有利于加快侵染速度^[30]。硫色镰刀菌 (*F. sulphureum*) 侵染马铃薯块茎期间产生的Cx、 β -葡萄糖苷酶等在其致病中发挥了重要的作用^[26]。可可球二孢菌 (*B. theobromae*) 在侵染芒果果实过程中产生的Cx与其致病性有关^[27]。由此可见, 病原真菌在侵染寄主过程中也能够产生Cx酶用于后期降解寄主组织, 但有关半纤维素酶在病原真菌侵染中的作用研究很少。

1.4 其他酶

病原菌除了分泌上述胞外酶以外, 还能产生蛋白酶、脂酶、淀粉酶等降解蛋白质、类脂、淀粉等细胞膜和细胞内物质的酶^[8]。磷脂酶主要通过降解细胞膜中的磷脂, 从而破坏细胞膜的完整性, 增强病原菌的侵染能力^[35]。蛋白酶是催化肽键水解的一类酶, 可以根据其最适pH值、活性中心和酶切位置的不同进行分类。Delgado-Jarana等^[36]研究发现哈茨木霉离体条件下能够分泌碱性、中性以及酸性蛋白酶。

2 胞外酶的作用机制

植物细胞壁主要由果胶质、纤维素和半纤维素构成, 是阻碍病原菌侵入的天然屏障。实验证明病原菌产生的胞外酶能够帮助其侵入、组织浸离、病害扩展及破坏寄主超微结构从而引起细胞死亡^[37]。病原菌接触、识别寄主后首先分泌角质酶分解寄主的角质层, 便于病菌的侵入; 然后大量分泌多种果胶酶使组织中细胞分离, 导致组织浸离、细胞壁成分降解、细胞膜破裂、细胞死亡等^[38]。Amadioha^[39]研究发现丝核菌 (*Rhizoctonia bataticola*) 在侵染马铃薯组织过程中分泌的PG常常引起组织的软烂, 从而导致细胞的死亡。匍枝根霉 (*Rhizopus stolonifer*) 分泌的PME、PMG、PG可迅速溶解甜瓜果肉组织中胶层, 导致质壁分离、细胞电解质外渗, 从而引起果实软腐病的发生^[40]。陈尚武等^[40]研究发现半裸镰刀菌 (*Fusarium semitectum*) 在侵染甜瓜果实过程中很少分泌果胶水解酶类, 而是分泌高活力的PL、PME和纤维素

酶, 因此不会导致中胶层的消解, 但菌丝可以直接穿透细胞壁引起组织腐烂。观察寄主组织超微结构的变化发现, 胞外酶能够引起叶绿体、线粒体等细胞器内部空泡化、细胞壁变薄、内质网受损、中胶层分解等^[41-42]。由此表明, 胞外酶在病原菌侵染寄主过程中主要通过降解细胞壁成分、分解中胶层、破坏细胞器结构等引起细胞死亡, 从而导致病害症状的出现。

3 胞外酶分泌的影响因子

3.1 pH值

病原菌在侵染寄主过程中可以通过分泌酸性和碱性物质来改变环境pH值, 以增强其致病因子的表达和活性, 从而完成对寄主的侵染^[43-44]。一些病原菌在酸性条件下致病力强, 而另一些却在碱性条件下表现出良好的致病性。例如, 扩展青霉 (*P. expansum*)、灰葡萄孢 (*B. cinerea*)、指状青霉 (*P. digitatum*)、意大利青霉 (*P. italicum*)、核盘菌 (*Sclerotinia sclerotiorum*)、芒果拟茎点霉 (*P. mangiferae*)、桃褐腐病菌 (*Monilinia fructicola*) 等侵染寄主时, 可通过分泌有机酸来增强致病性^[3,28,43,45-48]。而胶孢炭疽菌 (*C. gloeosporioides*)、尖孢炭疽菌 (*C. acutatum*)、球状炭疽菌 (*C. coccodes*)、互隔交链孢 (*A. alternata*) 等在侵染期间会通过分泌氨提高环境pH值, 从而提高致病性^[4,49-51]。进一步的研究表明, pH值的变化对病原菌胞外酶的活性和基因表达起着关键的调控作用^[23]。当pH值达到5.7时 (与病斑组织的pH值相似), 胶孢炭疽菌 (*C. gloeosporioides*) 中 *pelB* 基因及其编码的PL的表达和分泌水平增加^[20,52]。当pH值超过6.0 (与病斑组织的pH值相似) 时互隔交链孢 (*A. alternata*) 的 *Aak1* 高表达^[4]。扩展青霉 (*P. expansum*) 的PG编码基因 *pepg1* 以及尖孢镰刀菌 (*F. oxysporum*) 的 *pg1* 和 *pg5* 基因在低pH值条件下表达^[23,53-54]。在体外液体培养条件下, 桃褐腐病菌 (*M. fructicola*) 的PG编码基因 *mfpg2* 和 *pfpg3* 在pH 3.6~3.7时表达量是正常组织pH值下的12倍和6倍^[28]。因此本课题组认为, 病原菌在侵染过程中分泌的酸性和碱性物质调节的pH值对其致病性具有重要的影响, pH值对病原菌致病性的影响与其调控病原菌胞外酶的基因表达和酶活性有关。

3.2 温度和湿度

温度和湿度不仅影响病原菌的生长速率, 而且也影响病原菌分泌胞外酶的活性。在病原菌最适温度范围内, 温度越高病原真菌分泌胞外酶的活性越高, 并且随着湿度的增加, 胞外酶活性也升高, 这与其对发病的影响一致。如在湿度为80%, 温度为15、20、25、30℃条件下, *B. cinerea* 侵染番茄叶片过程中产生的细胞壁降解酶活性不同, 在20℃时PG、PMG、Cx酶和 β -葡萄糖苷酶的活性

最高,随着温度的升高,各种酶的活性都开始下降^[55]。研究也发现,在温度一定时,随着湿度的增加,*B. cinerea*产生的细胞壁降解酶活性也增加^[55]。刘志恒等^[56]研究发现多主棒孢(*Corynespora cassiicola*)在18~33℃均能分泌胞外酶,在其侵染黄瓜叶片过程中PG和PMG的活性在25℃时最高,而PGTE、PMTE和 β -葡萄糖苷酶活性在28℃时最高。由此可见,不同病原菌分泌的胞外酶种类不同,并且每种胞外酶出现活性高峰的温度和时间也不同,这也进一步证明了不同胞外酶在病原菌侵染寄主过程中作用于不同底物,最终引起细胞死亡、组织腐烂。

3.3 金属离子

金属离子不仅是微生物生长代谢的必需因子,许多金属离子也是细胞中酶的激活因子或组成部分。但有关金属离子对病原菌体内和体外分泌胞外酶的影响还存在争议。张学君等^[57]研究报道8种金属离子对马铃薯软腐欧氏杆菌体外产生胞外酶的种类和活性具有不同的影响, Zn^{2+} 、 Ca^{2+} 、 Ni^{2+} 、 Mn^{2+} 、 Al^{3+} 均能促进离体条件下PG、PL和蛋白酶活性增加,提高 Mg^{2+} 浓度有利于PL的产生。Cabanne等^[58]研究认为 Ca^{2+} 会部分抑制灰葡萄孢(*B. cinerea*)产生的PG酶活性,但能促进裂解酶的产生^[59]。也有研究发现 Ca^{2+} 的存在可以激活尖孢镰刀菌(*F. oxysporum*)、假单胞菌(*Pseudomonas marginalis*)产生果胶酶^[60-61]。但是目前还缺乏有关金属离子如何调控病原菌胞外酶活性及基因表达方面的研究,从而影响其致病性。

3.4 酚类物质的影响

酚类物质是植物体内苯丙烷代谢的产物,与植物的抗病性有关,对病原真菌具有抑制作用。研究发现,邻苯二酚、对苯二酚、对羟基苯甲酸丁酯等酚类物质能明显降低匍枝根霉(*R. stolonifer*)与半裸镰刀菌(*F. semitectum*)产生多聚半乳糖醛酸酶、果胶甲酯酶与纤维素酶的能力^[62]。一定浓度的间苯二酚、邻苯二酚、咖啡因和绿原酸可抑制香蕉果实中的香蕉炭疽病菌(*Colletotrichum musae*)和胶孢炭疽菌(*C. gloeosporioides*)的生长和发育^[63]。儿茶酚和香草醛能够完全抑制棕色固氮菌(*Azotobacter vinelandii*)产生的 β -1,4-葡萄糖内切酶和木聚糖酶的活性^[64]。这些实验结果表明,一定浓度的酚类物质处理能够抑制病原真菌分泌的胞外酶活性,这与其对病原真菌有直接的抑制作用一致,但是酚类物质是如何影响胞外酶的活性还缺乏深入的研究。

4 结 语

许多研究表明病原菌分泌的胞外酶在寄主-病原物互作过程中具有重要作用,但目前的研究主要集中于果胶酶类及基因调控水平上,其他胞外酶的研究很少。今后的研究应该重点关注转录因子如何调控胞外酶基因表达及寄主通过何种信号传导途径提高抗侵染能力。

参考文献:

- [1] 李碧鹰, 贺伟. 果蔬产后病害病原菌胞外酶的启动及其调控[J]. 河北林果研究, 2005, 20(2): 174-178. DOI:10.3969/j.issn.1007-4961.2005.02.019.
- [2] ŁAŻNIEWSKA J, MACIOSZEK V K, KONONOWICZ A K. Plant-fungus interface: the role of surface structures in plant resistance and susceptibility to pathogenic fungi[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2012, 78(78): 24-30. DOI:10.1016/j.pmpp.2012.01.004.
- [3] KARS I, van KAN J A L. Extracellular enzymes and metabolites involved in pathogenesis of *Botrytis*[M]. Netherlands: Springer, 2007: 99-118.
- [4] ESHEL D, MIYARA I, AILINNG T, et al. pH regulates endoglucanase expression and virulence of *Alternaria alternata* in persimmon fruits[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2002, 15(8): 774-779. DOI:10.1094/MPMI.2002.15.8.774.
- [5] JIA Y J, FENG B Z, SUN W X, et al. Polygalacturonase, pectate lyase and pectin methylesterase activity in pathogenic strains of *Phytophthora capsici* incubated under different conditions[J]. Journal of Phytopathology, 2009, 157(10): 585-591. DOI:10.1111/j.1439-0434.2008.01533.x.
- [6] HEMATY K, CHERK C, SOMERVILLE S. Host-pathogen warfare at the plant cell wall[J]. Current Opinion in Plant Biology, 2009, 12(4): 406-413. DOI:10.1016/j.pbi.2009.06.007.
- [7] UNDERWOOD W. The plant cell wall: a dynamic barrier against pathogen invasion[J]. Frontiers in Plant Science, 2012, 3: 85. DOI:10.3389/fpls.2012.00085.
- [8] KUBICEK C P, STARR T L, GLASS N L. Plant cell wall-degrading enzymes and their secretion in plant-pathogenic fungi[J]. Annual Review of Phytopathology, 2014, 52(1): 427-451. DOI:10.1146/annurev-phyto-102313-045831.
- [9] 王金生. 分子植物病理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 33-36.
- [10] EGMOND M R, de VLIEG J. *Fusarium solani* pisi cutinase[J]. Biochimie, 2000, 82(11): 1015-1021. DOI:10.1016/S0300-9084(00)01183-4.
- [11] SONIA L, CHRISTIAN C. Structure-activity of cutinase, a small lipolytic enzyme[J]. Biochimica et Biophysica Acta-Molecular and cell Biology of Lipids, 1999, 1441(2/3): 185-196. DOI:10.1016/S1388-1981(99)00159-6.
- [12] DICKMAN M B, PODILA G K, KOLATTUKUDY P E. Insertion of cutinase gene into a wound pathogen enables it to infect an intact host[J]. Nature, 1989, 342: 446-448. DOI:10.1038/342446a0.
- [13] PODILA O K, ROSEN E, SAN FRANCISCO M J D, et al. Targeted secretion of cutinase in *Fusarium solani* f. sp. *pesi* and *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Phytopathology, 1995, 85(2): 238-242. DOI:10.1094/phyto-85-238.
- [14] GUMMADI S N, PANDA T. Purification and biochemical properties of microbial pectinases: a review[J]. Process Biochemistry, 2003, 38(7): 987-996. DOI:10.1016/S0032-9592(02)00203-0.
- [15] 黄俊丽, 李常军, 王贵学. 微生物果胶酶的分子生物学及其应用研究进展[J]. 生物技术通讯, 2006, 17(6): 992-994. DOI:10.3969/j.issn.1009-0002.2006.06.045.
- [16] POOVAIAH B W, NUKAYA A. Polygalacturonase and cellulase enzymes in the normal Rutgers and mutant rin tomato fruits and their relationship to the respiratory climacteric[J]. Plant Physiology, 1979, 64(4): 534-537. DOI:10.1104/pp.64.4.534.
- [17] MARIN-RODRIGUEZ M C, ORCHARD J, SEYMOUR G B. Pectate lyases, cell wall degradation and fruit softening[J]. Journal of Experimental Botany, 2002, 53(377): 2115-2119. DOI:10.1093/jxb/erf089.

- [18] PICCOLI-VALLE R H, PASSOS F J V, BRANDI I V, et al. Influence of different mixing and aeration regimens on pectin lyase production by *Penicillium griseoroseum*[J]. Process Biochemistry, 2003, 38(6): 849-854. DOI:10.1016/s0032-9592(02)00064-x.
- [19] YAKOBY N, KOBILER I, DINOOR A, et al. pH regulation of pectate lyase secretion modulates the attack of *Colletotrichum gloeosporioides* on avocado fruits[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(3): 1026-1030. DOI:10.1128/aem.66.3.1026-1030.2000.
- [20] YAKOBY N, BENO-MOUALEM D, KEEN N T, et al. *Colletotrichum gloeosporioides pelB* is an important virulence factor in avocado fruit-fungus interaction[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2001, 14(8): 988-995. DOI:10.1094/mpmi.2001.14.8.988.
- [21] DRORI N, KRAMER-HAIMOVICH H, ROLLINS J, et al. External pH and nitrogen source affect secretion of pectate lyase by *Colletotrichum gloeosporioides*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2003, 69(6): 3258-3262. DOI:10.1128/aem.69.6.3258-3262.2003.
- [22] BEN-DANIEL B H, BAR-ZVI D, TSOROR L. Pectate lyase affects pathogenicity in natural isolates of *Colletotrichum coccodes* and in *pelA* gene-disrupted and gene-overexpressing mutant lines[J]. Molecular Plant Pathology, 2012, 13(2): 187-197. DOI:10.1111/j.1364-3703.2011.00740.x.
- [23] PRUSKY D, MCEVOY J L, SAFTNER R, et al. Relationship between host acidification and virulence of *Penicillium* spp. on apple and citrus fruit[J]. Phytopathology, 2004, 94(1): 44-51. DOI:10.1094/phyto.2004.94.1.44.
- [24] TEN HAVE A, MULDER W, VISSER J, et al. The endopolygalacturonase gene *Bcpg1* is required for full virulence of *Botrytis cinerea*[J]. Molecular Plant-Microbe Interaction, 1998, 11(10): 1009-1016. DOI:10.1094/mpmi.1998.11.10.1009.
- [25] ISSHIKI A, AKIMITSU K, YAMAMOTO M, et al. Endopolygalacturonase is essential for citrus black rot caused by *Alternaria citri* but not brown spot caused by *Alternaria alternata*[J]. Molecular Plant-Microbe Interaction, 2001, 14(6): 749-757. DOI:10.1094/mpmi.2001.14.6.749.
- [26] 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. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2012.01.015.
- [27] 李敏, 高兆银, 胡美姣, 等. 可可球二孢(*Botryodiplodia theobromae*) 细胞壁降解酶对芒果果实致病作用[J]. 果树学报, 2011, 28(6): 1054-1058.
- [28] de CAL A, SANDÍN-ESPAÑA B P, MARTINEZA F, et al. Role of gluconic acid and pH modulation in virulence of *Monilinia fructicola* on peach fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2013, 86(7): 418-423. DOI:10.1016/j.postharvbio.2013.07.012.
- [29] 李梅婷, 张绍升. 香蕉枯萎病菌细胞壁降解酶的诱导及其对香蕉组织的降解[J]. 中国农学通报, 2010, 26(5): 228-231.
- [30] 薛莲, 檀根甲, 徐先松, 等. 苹果炭疽病菌对苹果果实致病机制初探[J]. 安徽农业大学学报, 2006, 33(4): 522-525. DOI:10.3969/j.issn.1672-352X.2006.04.019.
- [31] CERVONE F, de LORENZO G, PRESSEY R, et al. Can *Phaseolus* PGIP inhibit pectic enzymes from microbes and plants?[J]. Phytochemistry, 1990, 29(2): 447-449. DOI:10.1016/0031-9422(90)85094-v.
- [32] CERVONE F, HAHN M G, de LORENZO G, et al. Host-pathogen interactions: XXXIII. A plant protein converts a fungal pathogenesis factor into an elicitor of plant defense responses[J]. Plant Physiology, 1989, 90(2): 542-548. DOI:10.1104/pp.90.2.542.
- [33] de LORENZO G, D'OVIDIO R, CERVONE F. The role of polygalacturonase-inhibiting proteins (PGIPs) in defense against pathogenic fungi[J]. Annual Review of Phytopathology, 2001, 39(4): 313-335. DOI:10.1007/978-1-4615-6019-7_4.
- [34] 刘稳, 高培基. 半纤维素酶的分子生物学[J]. 纤维素科学与技术, 1998, 6(1): 9-15.
- [35] BARKAI-GOLAN R. Postharvest diseases of fruits and vegetables: development and control[M]. Amsterdam: Elsevier Science B.V., 2001.
- [36] DELGADO-JARANA J, PINTOR-TORO J A, BENÍTEZ T. Overproduction of β -1,6-glucanase in *Trichoderma harzianum* is controlled by extracellular acidic proteases and pH[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Protein Structure and Molecular Enzymology, 2000, 1481(2): 289-296. DOI:10.1016/s0167-4838(00)00172-2.
- [37] 章元寿. 植物病理生理学[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996: 50.
- [38] 杨志敏. 马铃薯干腐病菌生物学特性及其侵染过程中块茎细胞壁降解酶的活性变化[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2012: 29-30.
- [39] AMADIOHA A C. Interaction of hydrolytic enzymes produced by *Rhizoctonia bataticola* during rot development[J]. Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica, 1997, 32(1): 79-87.
- [40] 陈尚武, 张大鹏, 张维一. 匍枝根霉和半裸镰刀菌侵染甜瓜果实产生的胞壁降解酶与侵染方式[J]. 植物病理学报, 1998, 28(1): 55-60. DOI:10.3321/j.issn:0412-0914.1998.01.014.
- [41] 吴洁云, 纪兆林, 徐敬友, 等. 灰葡萄孢胞壁降解酶对番茄植株致病作用的分析[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2010, 31(3): 70-74.
- [42] 李宝聚, 周长力, 赵奎华, 等. 黄瓜黑星病菌致病机理的研究III: 细胞壁降解酶和毒素对寄主超微结构的影响及其协同作用[J]. 植物病理学报, 2001, 31(1): 63-69.
- [43] PRUSKY D, YAKOBY N. Pathogenic fungi: leading or led by ambient pH?[J]. Molecular Plant Pathology, 2003, 4(6): 509-516. DOI:10.1046/j.1364-3703.2003.00196.x.
- [44] PRUSKY D, LICHTER A. Activation of quiescent infections by postharvest pathogens during transition from the biotrophic to the necrotrophic stage[J]. FEMS Microbiological Letters, 2007, 268(1): 81-88. DOI:10.1111/j.1574-6968.2006.00603.x.
- [45] HADAS Y, GOLDBERG I, PINES O, et al. Involvement of gluconic acid and glucose oxidase in the pathogenicity of *Penicillium expansum* in apples[J]. Phytopathology, 2007, 97(3): 384-390. DOI:10.1094/phyto-97-3-0384.
- [46] KIM Y T, PRUSKY D, ROLLINS J A. An activating mutation of the *Sclerotinia sclerotiorum pac1* gene increases oxalic acid production at low pH but decreases virulence[J]. Molecular Plant Pathology, 2007, 8(5): 611-622. DOI:10.1111/j.1364-3703.2007.00423.x.
- [47] DAVIDZON M, ALKAN N, KOBILER I, et al. Acidification by gluconic acid of mango fruit tissue during colonization via stem end infection by *Phomopsis mangiferae*[J]. Postharvest Biology and Technology, 2010, 55(2): 71-77. DOI:10.1016/j.postharvbio.2009.08.009.
- [48] BILLON-GRAND G, RASCLE C, DROUX M, et al. pH modulation differs during sunflower cotyledon colonization by the two closely related necrotrophic fungi *Botrytis cinerea* and *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Molecular Plant Pathology, 2012, 13(6): 568-578. DOI:10.1111/j.1364-3703.2011.00772.x.
- [49] MIYARA I, SHAFRAN H, HAIMOVICH K K, et al. Multi-factor regulation of pectate lyase secretion by *Colletotrichum gloeosporioides* pathogenic on avocado fruits[J]. Molecular Plant Pathology, 2008, 9(3): 281-291. DOI:10.1111/j.1364-3703.2007.00462.x.

- [50] PRUSKY D, MCEVOY J L, LEVERENTZ B, et al. Local modulation of host pH by *Colletotrichum* species as a mechanism to increase virulence[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2001, 14(9): 1105-1113. DOI:10.1094/mpmi.2001.14.9.1105.
- [51] ALKAN N, FLUHR R, SHERMAN A, et al. Role of ammonia secretion and pH modulation on pathogenicity of *Colletotrichum coccodes* on tomato fruit[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2008, 21(8): 1058-1066. DOI:10.1094/mpmi-21-8-1058.
- [52] MIYARA I, SHAFRAN H, DAVIDZON M, 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.
- [53] YAO C, CONWAY W S, SAMS C E. Purification and characterization of a polygalacturonase produced by *Penicillium expansum* in apple fruit[J]. Phytopathology, 1996, 86(11): 1160-1166. DOI:10.1094/phyto-86-1160.
- [54] CARACUEL Z, RONCERO M I G, ESPESO E A, et al. The pH signaling transcription factor PacC controls virulence in the plant pathogen *Fusarium oxysporum*[J]. Molecular Microbiology, 2003, 48(3): 765-779. DOI:10.1046/j.1365-2958.2003.03465.x.
- [55] 李宝聚, 陈立芹. 温湿度调控对番茄灰霉病菌产生的细胞壁降解酶的影响[J]. 植物病理学报, 2003, 33(3): 209-212. DOI:10.3321/j.issn:0412-0914.2003.03.004.
- [56] 刘志恒, 元烨, 黄欣阳, 等. 黄瓜棒孢叶斑病(褐斑病)病菌细胞壁降解酶产生条件及活性分析[J]. 中国蔬菜, 2011(8): 76-80.
- [57] 张学君, 王金生, 方中达. Ca^{2+} 、 Mn^{2+} 等8种金属离子对软腐欧文氏菌一些致病因子的影响[J]. 植物病理学报, 1995, 25(1): 79-84.
- [58] CABANNE C, DONÈCHE B. Purification and characterization of two isozymes of polygalacturonase from *Botrytis cinerea*. Effect of calcium ions on polygalacturonase activity[J]. Microbiological Research, 2002, 157(3): 183-189. DOI:10.1078/0944-5013-00147.
- [59] GUEVARA M A, GONZALEZ-JAEN M T, ESTEVEZ P. Multiple forms of pectic lyases and polygalacturonase from *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*: regulation of their synthesis by galacturonic acid[J]. Canadian Journal of Microbiology, 1997, 43(3): 245-253. DOI:10.1139/m97-034.
- [60] DAHM H, STRAELCZYK E, MANKA M. Production of cellulolytic and pectolytic enzymes by *Fusarium oxysporum*(Schlecht.), *Rhizoctonia solani* (Kühn) and *Trichoderma viride* (Pers.ex Gray)[J]. Phytopathologia Polonica, 1997, 13: 19-30.
- [61] ELUMALAI R P, MAHADEVAN A. Characterization of pectate lyase produced by *Pseudomonas marginalis* and cloning of pectate lyase genes[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 1995, 46(2): 109-119. DOI:10.1006/pmpp.1995.1009.
- [62] 张桂芝, 杨世忠, 张维一. 酚类物质对哈密瓜两种主要致病病原产生的细胞壁降解酶活性的影响[J]. 食品科学, 2006, 27(8): 125-129. DOI:10.3321/j.issn:1002-6630.2006.08.025.
- [63] 刘秀娟, 黄圣明, 杨业铜, 等. 酚类物质对两种潜伏炭疽菌生长和繁殖的影响[J]. 真菌学报, 1995, 14(4): 277-282.
- [64] MORENO J, RUBIA T D. Growth and nitrogenase activity of *Azotobacter vinelandii* on soil phenolic acids[J]. Journal of Applied Microbiology, 2008, 69(6): 850-855. DOI:10.1111/j.1365-2672.1990.tb01583.x.