

柠檬形克勒克酵母复合CaCl₂处理对采后黄花梨果实轮纹病的控制

张 婕¹, 周雅涵¹, 闫师杰², 曾凯芳^{1,*}

(1.西南大学食品科学学院, 重庆 400715; 2.天津农学院食品科学与生物工程学院, 天津 300384)

摘 要: 研究柠檬形克勒克酵母复合CaCl₂处理对采后黄花梨果实轮纹病的控制效果及相关机理。结果表明: 采用1×10⁸ CFU/mL柠檬形克勒克酵母结合2% CaCl₂处理黄花梨果实对其采后轮纹病有显著的控制效果, 且明显优于酵母或CaCl₂单独处理。在20℃条件下培养, 柠檬形克勒克酵母能在果实伤口处迅速定殖生长, 并持续保持较高水平, 2% CaCl₂对酵母生长状态无显著性影响。同时, 柠檬形克勒克酵母与CaCl₂结合使用能显著诱导黄花梨果实过氧化物酶、苯丙氨酸解氨酶、几丁质酶、β-1,3-葡聚糖酶活性的增强。研究结果说明了柠檬形克勒克酵母结合2% CaCl₂处理能够用于控制黄花梨果实采后轮纹病, 诱导果实抗病性是其作用机制之一。

关键词: 柠檬形克勒克酵母; CaCl₂; 黄花梨; 轮纹病; 生物防治

Biocontrol of Huanghua Pear Ring Rot by *Kloeckera apiculata* Combined with CaCl₂

ZHANG Jie¹, ZHOU Ya-han¹, YAN Shi-jie², ZENG Kai-fang^{1,*}

(1. College of Food Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. College of Food Science and Biological Engineering, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

Abstract: Huanghua pear is highly susceptible to infection by infectious microorganisms during postharvest storage. Pear ring rot, caused by *Botryosphaeria berengeriana* f.sp. *piricola*, is one of the major postharvest diseases. The ability of the yeast *Kloeckera apiculata* combined with CaCl₂ to control ring rot of Huanghua pear fruit during storage and its possible biocontrol mechanism were examined in this study. The results indicated that *K. apiculata* combined with CaCl₂ inhibited pear ring rot more effectively than *Kloeckera apiculata* or CaCl₂ used alone at 20℃. *K. apiculata* around the wounds could multiply quickly at the beginning of incubation and then remain at higher levels, while 2% CaCl₂ had no negative impact on its growth. Combined treatment with *K. apiculata* and 2% CaCl₂ caused the accumulation of defense-related enzymes such as polyphenol oxidase (PPO), peroxidases (POD), phenylalanine ammonia-lyase (PAL), chitinase (CHI), and β-1, 3-glucanase (GLU) in Huanghua pear fruit. These results indicated that *K. apiculata* combined with 2% CaCl₂ could effectively reduce the incidence of ring rot in Huanghua pear. The induction of resistance is one of the most important mechanisms by which *K. apiculata* combined with CaCl₂ controls pear ring rot.

Key words: *Kloeckera apiculata*; CaCl₂; Huanghua pear; pear ring rot; biocontrol

中图分类号: S609.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2014)12-0228-05

doi:10.7506/spkx1002-6630-201412047

黄花梨(*Pyrus pyrifolia* Nakai cv. Huanghua)属砂梨系统,是我国南方地区特色水果之一。黄花梨果实成熟时期正值盛夏高温、高湿季节(每年7—8月),加之其果皮较薄,汁液丰富,损伤后极易受病原微生物的侵染导致腐烂,造成严重经济损失^[1]。其中,轮纹病是黄花梨果实贮藏期间的主要侵染性病害,病果初期以皮孔

为中心发生水渍状、褐色、近圆形的斑点,有明显的同心轮纹,逐渐扩大终至全果腐烂^[2]。目前,对于轮纹病的控制主要依赖于化学杀菌剂,如甲基托布津、多菌灵等^[3]。然而,长期频繁使用化学杀菌剂会导致病原菌产生抗药性、环境和农产品的污染,危害人类健康等一系列问题^[4-5]。

收稿日期: 2013-11-30

基金项目: 重庆市科技攻关(应用技术研发类/重点)项目(cstc2012gg-yyjsB80003); 公益性行业(农业)科研专项(201303075); 国家级大学生创新创业训练计划项目(201210635027)

作者简介: 张婕(1990—),女,本科生,研究方向为食品贮藏工程。E-mail: zhangjie_libra@163.com

*通信作者: 曾凯芳(1972—),女,教授,博士,研究方向为食品贮藏工程。E-mail: zengkaifang@163.com

生物防治剂作为替代化学杀菌剂的采后防治方法在控制果蔬采后腐烂的应用上显示出较大的应用潜力^[6]。已研究可作为水果采后病害生防拮抗菌的微生物有细菌、霉菌和酵母菌等^[7-8]。柠檬形克勒克酵母具备拮抗效果好,不产生毒素,和其他化学物质有良好生物相容性等优点,有可能代替化学杀菌剂,克服化学药剂毒性,保证人体安全^[9-10]。可以作为诱导果蔬抗病性的重要因子,诱导果实中几丁质酶(chitinase, CHI)、 β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-glucanase, GLU)等防御性物质的产生与积累,从而提高果蔬对病原菌的抗性。 CaCl_2 在延缓果实衰老和控制生理病害方面有较好的效果,并可作为信号传导物质,对酵母细胞增殖有明显促进作用^[11-12]。

目前有关柠檬形克勒克酵母(*Kloeckera apiculata*)诱导抗病性的研究主要集中在单独酵母悬浮液处理诱导植物果实的诱抗反应上。研究^[13-14]发现,柠檬形克勒克酵母对柑橘青霉病、草莓灰霉病有良好的防控效果。但是对于酵母复合其他物质诱导采后梨果实抗病性的研究不多。本实验以柠檬形克勒克酵母作为研究主体,重点研究柠檬形克勒克酵母单独或复合 CaCl_2 使用对黄花梨果实采后轮纹病的控制效果,并通过研究黄花梨贮藏中防御相关的酶如多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)、过氧化物酶(peroxidase, POD)、苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、CHI、GLU等活性的变化,从诱导抗病性的角度,探讨柠檬形克勒克酵母复合 CaCl_2 控制黄花梨采后轮纹病的作用机制。以此,期望为新型生物保鲜剂的开发和应用提供一定的指导,达到减少化学杀菌剂用量,挖掘以酵母菌为主体的生物保鲜剂的商业化应用潜质,提高果实贮藏安全性,进一步提高黄花梨果实商品价值的目的。

1 材料与方法

1.1 材料与菌种

1.1.1 果实

黄花梨于2012年8月12日采自重庆永川区吉安镇铜凉村果园,挑选大小均匀、成熟度一致、无机械伤和无病虫害的果实,于10℃条件下预冷48 h后,放入4℃冷库中贮藏待用。

1.1.2 拮抗菌

柠檬形克勒克酵母(*Kloeckera apiculata*)购于中国工业微生物菌种保藏管理中心,将该酵母菌株活化后接入含50 mL营养酵母葡萄糖液体培养基(NYDB:牛肉浸膏8 g,酵母浸膏5 g,葡萄糖10 g,定容至1 000 mL,121℃灭菌15 min)的三角瓶中^[15]。在28℃条件下培养24 h后,在5 000 r/min、4℃离心10 min,并用无菌水洗涤2次,除去培养介质,用无菌

水重新悬浮,血球计数板计数,临用前再用无菌水稀释至所需浓度。

1.1.3 病原菌

黄花梨轮纹病病原菌(*Botryosphaeria berengeriana* f. sp. *piricola*),为本实验室自行分离和保存菌种,将病原菌接种在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA:200 g去皮马铃薯加水煮沸20 min后过滤,滤液中加入20 g葡萄糖、20 g琼脂粉,定容至1 000 mL,121℃灭菌15 min)上,于27℃条件下培养7 d后,用无菌水将孢子洗下,4层纱布过滤,血球计数板计数,并用无菌水调整浓度至 1×10^4 孢子/mL的孢子悬浮液,待用^[16]。

1.2 方法

1.2.1 不同处理液对黄花梨果实采后轮纹病的控制效果

果实用2% NaClO溶液浸泡2 min后,用自来水冲洗干净,自然晾干。用无菌铁钉在果实赤道部位均匀刺2个孔(直径5 mm,深3 mm),在每个伤口分别接种30 μ L以下溶液: I. 无菌水; II. 1×10^8 CFU/mL的酵母细胞悬浮液; III. 2% CaCl_2 溶液; IV. 酵母复合 CaCl_2 保鲜液(1×10^8 CFU/mL酵母细胞悬浮液复合2% CaCl_2 溶液)。2 h后,再在每个伤口接种15 μ L, 1×10^4 孢子/mL病原菌孢子悬浮液。待菌液吸收后,单果包装,贮藏在20℃,相对湿度85%~90%环境下,并用聚乙烯膜覆盖保湿处理。每天统计发病率和病斑直径。每个处理5个果实,重复3次。

1.2.2 CaCl_2 对酵母在果实伤口处生长动态的影响

果实经表面消毒后,用无菌铁钉在果实赤道部位均匀的刺2个孔(直径5 mm,深3 mm),在每个伤口分别接种30 μ L以下溶液: I. 1×10^8 CFU/mL的酵母细胞悬浮液; II. 酵母复合 CaCl_2 保鲜液(1×10^8 CFU/mL酵母细胞悬浮液复合2% CaCl_2 溶液)。待菌液吸收后,单果包装,贮藏在20℃,相对湿度85%~90%环境下,以接种后1 h测定的酵母菌数为起始值,每2 d取一次样。取样时用消毒的打孔器取伤口处直径为10 mm的果肉组织,放入含10 mL无菌水的消毒钵内研磨至匀浆。用稀释平板法测定酵母数目,28℃条件下培养48 h后计数。每处理4个果实,实验重复3次,结果以每伤口处酵母数量为单位(lg CFU/伤口)表示。

1.2.3 酵母复合 CaCl_2 处理对黄花梨果实防御酶活性的影响

1.2.3.1 样品处理及取样

果实用2% NaClO溶液浸泡2 min后,用自来水冲洗干净,自然晾干。用无菌铁钉在果实赤道部位均匀刺2个孔(直径5 mm,深3 mm),在每个伤口分别接种30 μ L以下溶液: I. 无菌水(对照); II. 1×10^8 CFU/mL酵母细胞悬浮液复合2% CaCl_2 溶液,待处理液吸收干净后,单果包装,贮藏于20℃,相对湿度85%~90%环境下,于

贮藏第0、3、6、9、12、15天取果实伤口处1 cm组织进行各项相关指标测定。每个处理重复3次,每个重复5个果实,整个实验重复2次。

1.2.3.2 POD和PPO活性测定

参考Zauberman等^[17]的方法测定并改进。POD以每30 s吸光度变化0.001为一个酶活力单位(U)。PPO以每30 s吸光度变化0.01为一个酶活力单位(U)。重复3次。

1.2.3.3 PAL活性测定

参考Assis等^[18]方法测定并改进。以每分钟吸光度变化为一个酶活力单位(U)。重复3次。

1.2.3.4 CHI和GLU活性测定

CHI活性测定参考Boller等^[19]的方法并修改。以每秒钟每克蛋白分解胶状几丁质产生 1×10^{-9} mol Glc-NAc为一个酶活性单位(U)。重复3次。

GLU活性测定参考Abeles等^[20]的方法测定并改进:以每秒钟每毫克蛋白分解昆布多糖产生 1×10^{-9} mol Glc-NAc葡萄糖为一个酶活性单位(U)。重复3次。

2 结果与分析

2.1 不同处理对黄花岗果实采后轮纹病发病率和病斑直径的影响

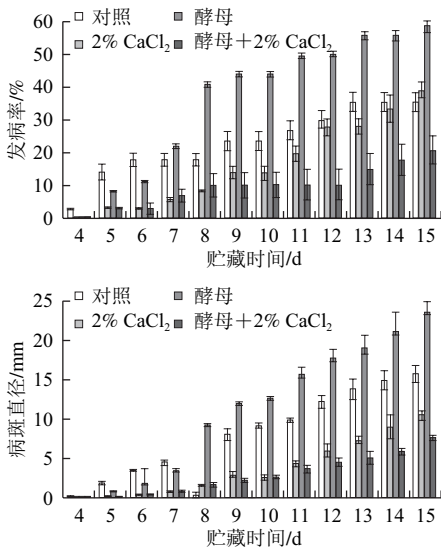


图1 不同处理对黄花岗果实发病率和病斑直径的影响
Fig.1 Effects of different treatments on disease incidence and diameter of Huanghua pear

如图1所示,对照组黄花岗果实贮藏4 d时开始发病,在贮藏14 d内发病率和病斑直径呈现缓慢上升趋势。与对照相比,柠檬形克勒克酵母单独处理显著降低了黄花岗果实的发病率和病斑直径。然而,2% CaCl_2 处理却在梨果实贮藏7 d后增强了果实的发病率和病斑直径,促

进了果实轮纹病的发生。酵母复合 CaCl_2 处理组果实发病率和病斑直径显著低于其他处理组,在贮藏15 d时,复合处理组果实的发病率分别比对照和酵母单独处理组果实低42%和47%,说明2% CaCl_2 处理能够增强酵母对黄花岗果实轮纹病的生防效果。

2.2 CaCl_2 对柠檬形克勒克酵母生长动态的影响

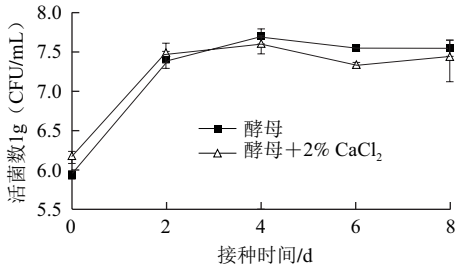


图2 CaCl_2 对黄花岗果实伤口处柠檬形克勒克酵母生长动态的影响
Fig.2 Population of *Kloeckera apiculata* in the wounds of Huanghua pear treated with CaCl_2

如图2所示,接种后,柠檬形克勒克酵母在黄花岗果实伤口处迅速繁殖,后期,酵母菌数量呈平稳趋势,48 h后数量增加了30倍左右,说明柠檬形克勒克酵母能适应黄花岗果实伤口处的生存环境。酵母复合 CaCl_2 处理组的酵母菌数量在贮藏前期略高于酵母单独处理组,4 d后略低于酵母单独处理组,但两者之间的区别并没有达到显著性差异。说明 CaCl_2 对柠檬形克勒克酵母在果实伤口处的快速定殖生长没有显著影响。

2.3 酵母复合 CaCl_2 处理对黄花岗果实采后防御酶活性的影响

2.3.1 对POD和PPO活性的影响

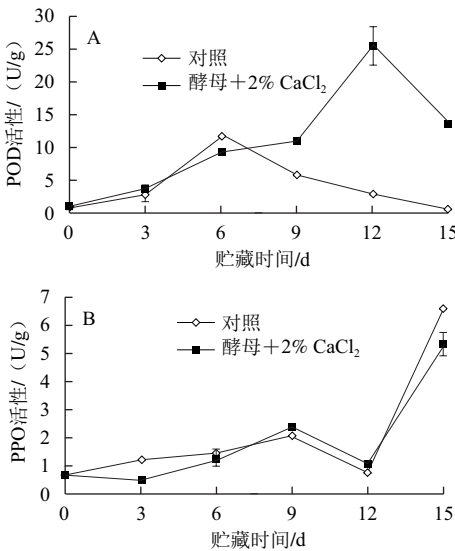


图3 酵母复合 CaCl_2 处理对黄花岗果实POD (A) 和PPO (B) 活性的影响
Fig.3 Effects of *Kloeckera apiculata* combined with CaCl_2 on the activities of POD and PPO in Huanghua pear

如图3所示, 对照组和酵母复合2% CaCl_2 处理组黄花梨果实POD活性均呈先升高后下降的变化趋势, 对照组POD活性在贮藏6 d时达到峰值; 酵母复合 CaCl_2 处理组果实的POD活性在贮藏9 d时迅速增强, 贮藏12 d时达到较对照组高2.5倍左右的峰值。说明POD对贮藏后期酵母复合 CaCl_2 处理诱导黄花梨果实的抗病性起了重要作用。

贮藏前期, 对照和复合处理组果实的PPO活性均呈缓慢上升然后下降的趋势, 贮藏12 d后, 两组果实的PPO活性急剧上升。但是, 贮藏期间酵母复合 CaCl_2 处理的黄花梨果实PPO活性与对照组相比没有显著差异。

2.3.2 对PAL活性的影响

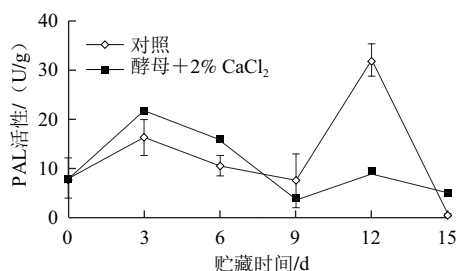


图4 酵母复合 CaCl_2 处理对黄花梨果实PAL活性的影响
Fig.4 Effects of *Kloeckera apiculata* combined with CaCl_2 on PAL activity in Huanghua pear

如图4所示, 贮藏期间对照和酵母复合 CaCl_2 黄花梨果实的PAL活性均呈现两次先升高后下降的变化趋势。贮藏前期, 与对照相比, 酵母复合 CaCl_2 处理组PAL活性一直处于较高水平, 贮藏3 d比对照果实的高31.7%。贮藏后期, 对照组果实PAL活性急剧升高后下降, 整体活性明显高于酵母复合 CaCl_2 处理组, 说明复合处理只能诱导黄花梨果实贮藏前期的PAL活性。

2.3.3 对CHI和GLU活性的影响

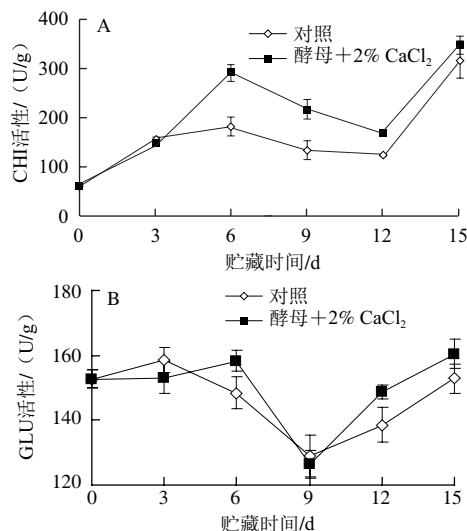


图5 酵母复合 CaCl_2 处理对黄花梨果实CHI (A) 和GLU (B) 活性的影响
Fig.5 Effects of *Kloeckera apiculata* combined with CaCl_2 on the activities of CHI and GLU in Huanghua pear

如图5所示, 对照和酵母复合 CaCl_2 处理组黄花梨果实的CHI活性均呈先上升后下降, 于贮藏后期迅速又上升的变化趋势。贮藏3 d以后, 酵母复合 CaCl_2 处理组的黄花梨CHI活性一直明显高于对照组, 贮藏6 d时达到一个较对照组CHI活性高62%的峰值。说明在贮藏期间, 酵母与 CaCl_2 复合处理能够诱导黄花梨果实中CHI的活性。

贮藏期间, 对照和酵母复合 CaCl_2 处理组黄花梨果实的GLU活性均呈先下降后上升的趋势。贮藏4 d后, 酵母与复合 CaCl_2 处理组果实的GLU活性一直明显高于对照组。说明GLU也参与了酵母复合 CaCl_2 处理诱导黄花梨果实的抗病反应。

3 讨论

本研究结果表明, 酵母单独处理组果实在20℃贮藏条件下发病率与病斑直径均低于对照组, 说明酵母单独处理能一定程度抑制黄花梨果实轮纹病, 但是效果次于酵母复合 CaCl_2 处理, 说明2% CaCl_2 处理能够增强酵母对黄花梨果实轮纹病的生防效果。钙处理是果实采后常规处理方法之一, CaCl_2 可以有效提高酵母菌控制果实病害的生防效果^[21]。其作用机理存在着多种不同意见: Wisniewski等^[22]研究认为 CaCl_2 通过对病原菌产生毒害作用而加强拮抗菌的拮抗效果; Conway^[23]、田世平^[24]等认为 CaCl_2 是通过增强寄主抗性来提高拮抗效果; McLaughlin等^[25]则认为 CaCl_2 通过与拮抗菌的代谢产物的相互作用阻碍了病害的发展。本实验中, 2% CaCl_2 单独作用不能达到控制黄花梨果实轮纹病的目的, 甚至起了反效果, 可能因为外源Ca浓度高于一定范围时, 由于细胞膜Ca结合位点的限制, 过量Ca会改变细胞质Ca浓度, 造成膜伤害, 果实抗病能力下降, 容易造成病原菌感染^[26]。但是 CaCl_2 处理可以增强柠檬形克勒克酵母对黄花梨果实采后轮纹病的防治效果, 说明 CaCl_2 并未对病原菌产生直接毒害作用或增强寄主的抗性^[27]。因此推断钙可能是通过与拮抗菌的代谢产物相互作用阻碍了病害的发展。同时, CaCl_2 可维持酵母菌细胞内外电荷处于稳态状态, 并作为信号传递物质, 对贮藏期间酵母菌生长繁殖有促进作用^[22]。

通过观察黄花梨果实伤口处柠檬形克勒克酵母生长动态可以发现, 酵母复合 CaCl_2 处理组及酵母单独处理组黄花梨果实伤口处酵母菌数量迅速增长, 并在中、后期保持稳定状态。说明2% CaCl_2 对酵母菌增长繁殖无抑制作用。

植物在抵御病原微生物的侵染过程中, 抗性相关酶发挥了重要作用。POD可促进木质素和植保素的合成^[28], 使黄花梨果实内石细胞含量增加, 提高果实硬度, 增强贮藏能力^[29]。本实验结果表明, 贮藏后期, 酵母复合2% CaCl_2 处理组果实POD活性明显高于对照组, 说明POD对

贮藏后期酵母复合CaCl₂处理诱导黄花梨果实的抗病性起了重要作用。与对照相比,复合处理组果实的PPO活性并无明显升高,说明它对酵母复合CaCl₂处理诱导黄花梨果实产生抗病反应无明显效果。

PAL是苯丙烷类代谢途径中的关键酶,该反应最终生成的次生代谢产物如植保素、黄酮体、木质素等对增强果实硬度、杀死病原微生物有重要作用^[30-31]。本实验中,贮藏前期酵母复合2% CaCl₂处理组PAL活性显著提高,说明酵母菌与CaCl₂共同作用可增强PAL活性,可能原因:CaCl₂通过影响酵母菌生理活性使其迅速繁殖后诱导PAL活性增强;或者是其直接刺激黄花梨果实细胞,使PAL含量增加^[28]。然而这一作用主要出现于贮藏前期,对后期黄花梨果实抗病性并无明显效果。

CHI、GLU普遍存在于高等植物中,是植物抗病系统中重要的防御酶,可通过水解病原菌细胞壁直接杀死真菌,其作用具有“协同性”^[32]。贮藏期间,酵母与CaCl₂复合处理组果实CHI活性与对照相比一直处于较高水平,说明酵母菌及CaCl₂可以显著诱导CHI活性增强^[11]。同时,复合处理组果实的GLU活性略高于对照果实,说明GLU也参与了酵母复合CaCl₂处理诱导黄花梨果实的抗病反应。其作用结果与Droby^[10]、万亚坤^[33]等研究结果一致。

综上所述,2% CaCl₂复合柠檬形克勒克酵母处理可以有效提高黄花梨果实POD、PAL、CHI、GLU等防御酶的活性,降低黄花梨果实发病率和病斑直径;酵母菌可在黄花梨果实伤口处迅速定殖、生长也是其有效防控黄花梨果实轮纹病的前提条件。

参考文献:

- [1] 周炼,王日葵,韩爱华. 黄花梨CA贮藏中气体成分对果实呼吸和发病率的影响[J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2007, 29(8): 72-74.
- [2] 王艳娜. 鸭梨果实轮纹病病原菌互作机理[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2007.
- [3] 梁瑞郑, 阳爱民. 桂林早熟梨果实轮纹病发生规律及其防治[J]. 广西园艺: 植保园地, 2008, 19(6): 33-36.
- [4] YOSHIDA S, HIRADATE S T, SUKAMOTO T, et al. Antimicrobial activity of culture filtrate of *Bacillus amyloliquefaciens* RC isolated from mulberry leaves[J]. Biological Control, 2001, 91: 181-182.
- [5] JANISIEWICZ W J, KORSTEN L. Biological control of postharvest diseases of fruits[J]. Annual Review of Phytopathology, 2002, 40: 411-441.
- [6] NUNES C, USALL J, TEIXIDO N, et al. Post-harvest biological control by *Pantoea agglomerans* (CRA-2) on Golden Delicious apples[J]. Journal of Applied Microbiology, 2002, 92: 247-255.
- [7] ZHOU T, NORTHOVER J, SCHNEIDER K E, et al. Interactions between *Pseudomonas syringae* MA-4 and cypodiniol in the control of blue mold and gray mold of apples[J]. Plant Pathology, 2002, 24: 154-161.
- [8] MERCIER J, JIMENZ J I. Control of fungus decay of apples and peaches by the *Biofumigant fungus Muscodor albus*[J]. Postharvest Biology and Technology, 2004, 31: 1-8.
- [9] VERO S, MONDINO P, BURGUNEO J, et al. Characterization of biocontrol activity of two yeast strains from Uruguay against blue mold of apple[J]. Postharvest Biology and Technology, 2002, 26: 91-98.
- [10] DROBY S, WISNIEWSKI M, GHAOUTH A E, et al. Influence of food additives on the control of postharvest rots of apple and peach and efficacy of the yeast-based biocontrol product Aspire[J]. Postharvest Biology and Technology, 2003, 27: 127-135.
- [11] 汪洋. 李果实低温及浸钙贮藏保鲜机理研究[D]. 重庆: 西南大学, 2009.
- [12] HUANG Yan, MING Jian, DENG Yuyan, et al. Induction of *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. resistance through oligochitosan treatment and active oxygen change in citrus fruits[J]. Food Science, 2009, 30(22): 344-349.
- [13] 王华利, 戴葵英, 邓伯勋. 柠檬形克勒克酵母对柑橘的防腐保鲜技术试验[J]. 湖北农业科学, 2006, 45(3): 372-374.
- [14] 陈敏, 阿如娜, 罗玮, 等. 柠檬形克勒克酵母用于草莓果实防腐保鲜的研究[J]. 中国南方果树, 2007, 36(3): 83-85.
- [15] YU Ting, YU Chen, MABUBA Z, et al. Effect of *Cryptococcus laurentii* and calcium chloride on control of *Penicillium expansum* and *Botrytis cinerea* infections in pear fruit[J]. Biological Control, 2012, 61: 169-175.
- [16] HONG Yin, SONG Jiang, YING Dong, et al. Biocontrol of gray mold decay in peach fruit by integration of antagonistic yeast with salicylic acid and their effects on postharvest quality parameters[J]. Biological Control, 2008, 47: 60-65.
- [17] ZAUBERMAN G, RONEN R, AKERMAN M, et al. Postharvest retention of the red color of litchi fruit pericarp[J]. Science Horticulture, 1991, 47: 89-97.
- [18] ASSIS J S, MALDONADO R, MUNOZ T, et al. Effect of high carbon dioxide concentration on PAL activity and phenolic contents in ripening cherimoya fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2001, 23: 33-39.
- [19] BOLLER T, GEHRI A, MAUEHS F, et al. Chitinase in bean leaves: induction by ethylene, purification, properties, and possible function[J]. Plant, 1983, 157: 22-31.
- [20] ABELES F B, FORRENCE L E. Temporal and hormonal control of β -1,3-glucanase in *Phaseolus vulgaris* L.[J]. Plant Physiology, 1970, 45: 395-400.
- [21] ZHOU Yahan, LUO Yang, ZENG Kaifang. Recent advances in research on approaches and mechanisms of improving biocontrol efficacy of antagonistic yeasts against postharvest diseases of fruits and vegetables[J]. Food Science, 2011, 32(17): 362-365.
- [22] WISNIEWSKI M, DROBY S, CHALUTZ E, et al. Effects of Ca²⁺ and Mg²⁺ on *Botrytis cinerea* and *Penicillium expansum* in vitro and the biocontrol activity of *Candida oleophila*[J]. Plant Pathology, 1995, 44: 1016-1024.
- [23] CONWAY W S, SAMS C E. Possible mechanisms by which postharvest calcium treatment reduces decay in apples[J]. Phytopathology, 1984, 74: 208-210.
- [24] 田世平, 范青, 徐勇, 等. 丝孢酵母 *Thrichosporon* sp. 与钙和杀菌剂配合对苹果采后病害的抑制效果[J]. 植物学报, 2001, 43(5): 516-523.
- [25] McLAUGHLIN R J, WISNIEWSKI M E, WILSON C L, et al. Effect of inoculum concentration and salt solution biological control of postharvest diseases of apple with *Candida* sp.[J]. Phytopathology, 1990, 80: 456-461.
- [26] 张秀梅, 杜丽清, 王有年, 等. 钙处理对果实采后生理病害及衰老的影响[J]. 河北果树, 2005(1): 3-6.
- [27] 董永胜, 杨亲正, 贾士儒. 压力对啤酒酵母生长及某些发酵性能的影响[J]. 酿酒科技, 2007(11): 38-40.
- [28] YANG Shuzhen, PENG Litao, PAN Siyi, et al. Effect of propolis extract treatment on induced disease resistance against blue mold in citrus fruits[J]. Food Science, 2010, 31(8): 275-279.
- [29] LIU Xiaoyang, LI Ling, GAO Guizhen, et al. Influence of light intensity on POD, PAL and PPO activity of *Pyrus bretschneideri* cv. Dangshan su fruit in its growth phase[J]. Acta Laser Biology Sinic, 2008, 17(3): 295-298.
- [30] LIU Yan, LU Xiaoyan, HUANG Xuedong, et al. Study on correlation among stone cell content PAL activity and fruit hardness[J]. Xinjiang Agricultural Science, 2011, 48(9): 57-60.
- [31] ZHANG Shaoshan, CHEN Jiaojiao, YANG Xiaoping. Induction of phenylalanine ammonium lyase, polyphenol oxidase and peroxidase in postharvest peach fruit by tea extract[J]. Food Science, 2013, 34(10): 304-307.
- [32] 童志丹, 易有金, 柏连阳, 等. 几丁质酶对果蔬采后病害生物防治的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(19): 10242-10243.
- [33] 万亚坤. 酵母拮抗菌的抑菌机理及生防效力改良的研究[D]. 北京: 中国科学院植物研究所, 2004.