

# 体内和体外条件下不同浓度硅酸钠 和对应 pH 抑制粉红单端孢 (*Trichothecium roseum*) 效果比较

牛黎莉, 毕阳\*, 张盛贵, 赵冠华, 白小东, 罗荣涛, 段伟鹏  
(甘肃农业大学食品科学与工程学院, 甘肃兰州 730070)

**摘要:**本文研究了不同浓度硅酸钠和对应 pH 对 *T.roseum* 孢子萌发和菌落生长的抑制; 100mmol/L 硅酸钠和对应 pH12.60 处理孢子 3, 6, 9h 后, 损伤接种苹果对其病斑直径的影响; 以及采用扫描电镜观察处理后孢子表面形态的变化。结果表明, 不同浓度硅酸钠和对应 pH 处理均能有效抑制 *T.roseum* 孢子的萌发和菌落生长, 但硅酸钠处理的效果要更好 ( $p < 0.05$ ), 硅酸钠处理后的孢子其病斑直径明显低于对照 ( $p < 0.05$ ), 但经对应 pH12.60 处理后的孢子其病斑直径则与对照相比无显著性差异 ( $p > 0.05$ )。硅酸钠处理的孢子表面粗糙, 皱缩明显, 表面结构破坏, 有明显的内容物渗出; 对应 pH 处理虽然也能导致孢子皱缩, 但并未破坏其结构。上述结果表明, 硅酸钠比对应 pH 处理对 *T.roseum* 生长的抑制作用更为明显。

**关键词:** *T.roseum*, 硅酸钠, pH, 抑制

## Comparison of inhibitory effect of sodium silicate at different concentrations and corresponding pH on *Trichothecium roseum* in vitro and in vivo

NIU Li-li, BI Yang\*, ZHANG Sheng-gui, ZHAO Guan-hua, BAI Xiao-dong, LUO Rong-tao, DUAN Wei-peng

(College of Food Science and Engineering, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

**Abstract:** The inhibitory effect were assayed on spore germination and colony growth of *T.roseum* treated with sodium silicate at different concentration and corresponding pH. The lesion diameter was determined in apple fruits inoculated with spores treated with 100mmol/L sodium silicate and corresponding pH12.60 for 3, 6 and 9h. Morphology of spores treated with 100mmol/L sodium silicate and corresponding pH12.60 was observed by SEM. The results showed that sodium silicate at different concentration and corresponding pH significantly inhibited the spore germination and colony growth. However, sodium silicate treatments showed more effective than corresponding pH treatments ( $p < 0.05$ ). Apples inoculated with spores treated with sodium silicate had a smaller lesion diameter when compared with the control; however, no difference was found in lesion diameter treated with corresponding pH and the control. Spores treated with sodium silicate appeared rough, significant shrinkage, damaged structure and contents exudate. The treatment with corresponding pH also caused the shrinkage of spores, but the structure was not damaged. It was suggested that sodium silicate treatment caused more severe damage than corresponding pH treatment against *T.roseum*.

**Key words:** *T.roseum*; sodium silicate; pH; inhibition

中图分类号: TS201.3

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)13-0157-05

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2015.13.024

粉红单端孢 (*Trichothecium roseum*) 是重要的果蔬采后病原物, 主要引起苹果心腐病<sup>[1]</sup>和甜瓜的粉霉病<sup>[2-3]</sup>。此外, 该病原还会引起梨<sup>[4-5]</sup>、葡萄<sup>[6]</sup>、番茄<sup>[7]</sup>、芒果<sup>[8]</sup>和坚果<sup>[9]</sup>等多种果蔬的腐烂。除了造成

腐烂外, 该病原物还具备较强的产生单端孢霉烯族毒素的能力, 存在对人畜健康的潜在危害<sup>[10-11]</sup>。目前, 控制由 *T.roseum* 引起的病害主要依赖于人工合成的杀真菌剂<sup>[8,12]</sup>。但长期使用不仅存在药物残留

收稿日期: 2014-10-27

作者简介: 牛黎莉 (1979-), 女, 在职博士, 讲师, 研究方向: 采后防腐和保鲜。

\* 通讯作者: 毕阳 (1962-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 采后防腐和保鲜。

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (31371869); 国家自然科学基金面上项目 (31071835)。

危害、污染环境、而且会增加病原物的抗药性<sup>[13]</sup>。因此,亟需寻找新的、更为安全有效的控制方法。

硅是地球表面最为丰富的元素之一,可溶性硅酸盐对植物的生长和发育具有多种重要的影响<sup>[14]</sup>,其中已被 FDA 认定为一般公认安全的(GRAS)化学物质的硅酸钠已广泛用于控制多种作物的田间和采后病害<sup>[15-17]</sup>,其该药物对采后病害的控制作用机理涉及直接抑制病原物以及诱导寄主的防卫反应两个方面,其对病原物的抑制作用具有广谱性<sup>[18-20]</sup>。由于溶液呈碱性,因此推测硅酸钠的抑菌机理可能与其所呈的碱性直接相关<sup>[18,21]</sup>。有报道表明,环境 pH 对真菌的生长具有重要的影响<sup>[22]</sup>,环境 pH 能直接改变孢子体内的 pH 从而影响细胞代谢和能量合成<sup>[23]</sup>。但硅酸钠对真菌的抑制机理是缘于 pH 还是硅酸根尚缺乏明确的报道。

本文拟研究不同浓度硅酸钠和对应 pH 处理在体外条件下对 *T.roseum* 孢子萌发和菌丝生长的影响;通过采用不同浓度硅酸钠和对应 pH 处理的孢子损伤接种,比较体内条件下苹果果实病斑直径的差异;采用扫描电镜观察硅酸钠和对应 pH 处理后孢子的形态变化。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

*T.roseum* 由甘肃农业大学食品科学与工程学院采后生物实验室保存;苹果(品种:红星)于 2013 年 10 月采自甘肃省景泰县条山农场,单果包装后装箱,80 个/箱;硅酸钠、氢氧化钠为分析纯 天津光复精细化工有限公司。

CX21 光学显微镜 中国奥林巴斯;剑桥立体 5-150 扫描电镜 英国剑桥 LEO 电子显微镜有限公司;PHS-3C 酸度计 上海雷磁仪器厂。

### 1.2 孢子的收集

*T.roseum* 划线接种于马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)上,28℃ 避光培养,培养 10d 后,加入含 0.05% Tween-80 的无菌水,用玻璃棒刮下平板上的病原菌孢子,然后转入 50mL 三角瓶中,在 WYX-A 微型漩涡混合器上振荡 15s,再用双层纱布过滤,滤液用血球计数板计数算出孢子悬浮液的浓度后,最后稀释至所需浓度。

### 1.3 硅酸钠溶液 pH 的测定

用无菌蒸馏水和液态的马铃薯葡萄糖培养基分别配制 20、40、60、80、100mmol/L 的硅酸钠溶液,然后在 28℃ 恒温水浴锅中恒温 30min 后,用 pH 计测定溶液的 pH,每个处理测定 3 次,求平均值。以下实验中的对应 pH 溶液是用高压灭菌的 10mol/L 的氢氧化钠溶液调节无菌蒸馏水或培养基的 pH 与相应浓度的硅酸钠溶液的 pH 相同。

### 1.4 硅酸钠和对应 pH 对孢子萌发的影响

参照 Li 等<sup>[24]</sup>方法并稍加修改,用 1% 的水琼脂倒板,等凝固后,用 5mm 的打孔器打孔,然后用无菌的镊子将水琼脂饼夹到灭菌的载玻片上(放置在灭菌的加了滤纸的培养皿中,并在各培养皿中加入 2mL 的无菌水),每个载玻片上放置 3 个,在每个琼脂饼上分别滴加 10 $\mu$ L 的不同浓度(20、40、60、80、100mmol/L)的硅酸钠溶液和对应 pH 溶液(11.96、

12.30、12.41、12.50、12.60),并以无菌蒸馏水为对照,等药液进入琼脂,20min 后,每个琼脂饼分别加入 10 $\mu$ L 的孢子悬浮液( $1 \times 10^6$  个孢子/mL),放入 28℃ 的培养箱中进行培养。15h 后用光学显微镜进行孢子萌发的观察,每个琼脂饼观察 200 个孢子,芽管长度达到孢子直径的一半时,认为是萌发。

### 1.5 硅酸钠和对应 pH 对菌丝生长的影响

参照 Liu 等<sup>[18]</sup>方法并做修改,将灭菌后 PDA 培养基冷却至温度 60℃,分别加入不同质量的硅酸钠使得硅酸钠的终浓度为 20、40、60、80、100mmol/L,充分溶解后,倒板。用灭菌的 10mol/L 的氢氧化钠溶液调节 PDA 的 pH 与不同浓度硅酸钠溶液的 pH 相同,约 20mL 均匀平铺于直径 9cm 的培养皿,以自然的 PDA 平板为对照,然后将培养 10d 的 *T.roseum* 平板,在边缘用 5mm 的打孔器打取菌饼接于培养基中央,28℃ 黑暗培养 5d 后,用十字交叉法测定菌落直径,每个浓度重复实验 3 次。

### 1.6 硅酸钠和对应 pH 处理后对苹果损伤接种后病斑直径的影响

参照 Bi 等<sup>[20]</sup>方法。选择外观整齐、大小均一、无损伤、无病虫害的苹果,用 2% 的次氯酸钠溶液浸泡 2min 后用自来水冲洗后室温晾干,再用 75% 的酒精对果实表面消毒,再用直径 3mm 的无菌打孔器在果实上均匀刺 5mm  $\times$  3mm 的伤口 4 个,立即接入 10 $\mu$ L 经 100mmol/L 硅酸钠溶液和对应 pH 溶液分别处理 3、6、9h 的孢子悬浮液,浓度为  $1 \times 10^6$  个孢子/mL,用保鲜袋包装,在室温条件下贮藏 20d 后,用十字交叉法测定病斑直径。每个处理 10 个苹果,3 次重复,以接入同体积的无菌水作为对照。

### 1.7 硅酸钠和对应 pH 处理后对孢子表面形态的影响

以 100mmol/L 硅酸钠、对应 pH 以及无菌水处理,处理 3、6、9h 的孢子( $5 \times 10^6$  个)为样本。孢子表面形态变化参照 Li 等<sup>[19]</sup>方法,在 4℃ 下用 2% 戊二醛固定 2h,PBS 溶液洗 3 次,每次 10min;再浸泡于体积分数为 1% 钼酸溶液中,4℃ 下 2h 左右。用 50%、70%、95% 和 100% 的系列乙醇各脱水 10min。醋酸异戊酯置换 20min。临界点干燥,真空镀金。制好的扫描电镜标本在扫描电镜下观察,并采集照片。

### 1.8 数据处理

全部实验数据用 Microsoft Excel 2007 和 SPSS 16.0 数据处理系统进行统计处理,计算标准偏差( $\pm$ SE)并进行 Duncan s 多重差异显著分析,图中的不同字母表示 0.05 水平上的差异显著性。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同浓度硅酸钠溶液的 pH

20、40、60、80 和 100mmol/L 的硅酸钠添加于培养基溶液后,pH 在 10.44~12.30 之间变化,而相应浓度硅酸钠的水溶液的 pH 在 11.96~12.60 之间变化(表 1);在相同的硅酸钠浓度下,培养基中加入硅酸钠的 pH 稍低于添加于无菌蒸馏水中的 pH。

### 2.2 硅酸钠和对应 pH 处理对孢子萌发的影响

不同浓度硅酸钠和对应 pH 处理均能有效抑制孢子萌发,但是硅酸钠和对应 pH 处理之间存在差异。硅酸钠浓度越高,其抑制效果便越好;而对应

表1 不同浓度硅酸钠在液态培养基和无菌蒸馏水中的 pH(±SE)

Table 1 pHs of sodium silicate at different concentration in PDB solution and sterile distilled water(±SE)

| 硅酸钠浓度 (mmol/L) | 0    | 20           | 40           | 60           | 80           | 100          |
|----------------|------|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 培养基 pH         | 7.01 | 10.44 ± 0.03 | 10.96 ± 0.05 | 11.34 ± 0.03 | 11.86 ± 0.06 | 12.30 ± 0.03 |
| 无菌水 pH         | 8.08 | 11.96 ± 0.01 | 12.30 ± 0.02 | 12.41 ± 0.01 | 12.50 ± 0.02 | 12.60 ± 0.02 |

pH 处理虽然也能显著抑制孢子萌发,但其抑制效果远不及硅酸钠(图1)。当硅酸钠浓度在 20mmol/L 时,没有抑制孢子萌发,而对应 pH 溶液则显著抑制了孢子萌发;当硅酸钠浓度达到 40mmol/L 时,其抑制效果开始显现,且作用明显,其孢子萌发率分别比对照和对应 pH 低 48% 和 8%;随着硅酸钠浓度的进一步增加,其对孢子萌发率的抑制效果便显著增强。相比而言,当对应 pH 从 12.30 增至 12.50 时,其抑制效果保持稳定,并未进一步增强;当硅酸钠浓度在 100mmol/L 时几乎完全抑制孢子萌发,处理孢子的萌发率仅为对照和对应 pH12.60 的 2% 和 4%。

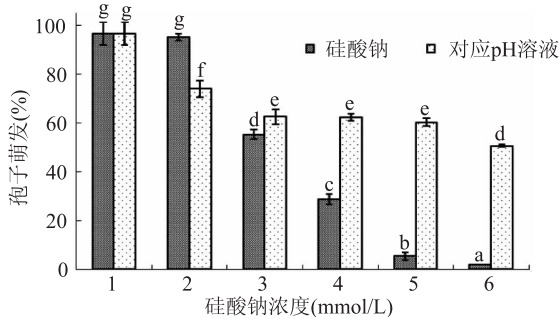


图1 不同浓度硅酸钠和对应 pH 处理对 *T.roseum* 孢子萌发的影响

Fig.1 Effect of sodium silicate at different concentration and corresponding pH on conidia germination of *T.roseum*

注:1~6 分别表示硅酸钠浓度 0、20、40、60、80、100mmol/L; 对应 pH 溶液的 pH 分别为 8.08、11.96、12.30、12.41、12.50、12.60; 标有不同字母表示有显著性差异  $p < 0.05$ 。

### 2.3 硅酸钠和对应 pH 处理对菌落直径的影响

不同浓度硅酸钠和对应 pH 处理均能显著抑制 *T.roseum* 的菌落生长,但抑制效果存在差异,硅酸钠处理的抑制效果要显著优于对应 pH 处理(图2)。当硅酸钠在 20mmol/L 时,就对菌落生长表现抑制,但不及对应 pH10.44 处理;随着硅酸钠处理浓度的增加,对菌落生长的抑制效果也显著增强,且各硅酸钠浓度处理的效果均显著优于对应 pH 处理。当硅酸钠浓度为 40mmol/L 时,其菌落生长仅分别为对照和对应 pH 的 31.4% 和 42.5%;当硅酸钠浓度为 100mmol/L 时,则完全抑制了菌落直径的扩展。

硅酸钠所显示的真菌抑制活性,与其溶液本身的碱性有关<sup>[18,21]</sup>。由于硅酸钠属于强碱弱酸盐,当溶液 pH 大于 11 时,能够解离出  $\text{Na}^+$  和硅酸根离子<sup>[25]</sup>。孢子萌发和菌落直径结果显示,当硅酸钠的浓度为 40mmol/L 时,此时溶液的 pH 接近 11,硅酸钠的抑制作用明显增强。而且浓度越高,其抑菌效果越好。对照 PDA 培养基的自然 pH 为 7.01,而 20mmol/L 硅酸钠对应的 pH 为 10.44,其 pH 变化较大,这种环境

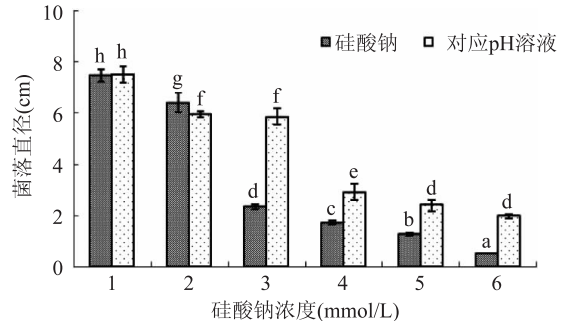


图2 不同浓度硅酸钠和对应 pH 处理对 *T.roseum* 菌落生长的影响

Fig.2 Effect of sodium silicate at different concentration and corresponding pH on colony diameters of *T.roseum*  
注:1~6 分别表示硅酸钠浓度 0、20、40、60、80、100mmol/L; 对应 pH 溶液的 pH 分别为 7.01、10.44、10.96、11.34、11.86、12.30; 标有不同字母表示有显著性差异,  $p < 0.05$ 。

pH 的突然改变,使得菌丝生长和孢子萌发均受到显著的抑制。随着硅酸钠浓度的提高,其对应 pH 的增幅不大,对其菌丝生长和孢子萌发的抑制效果也变化不大。硅酸钠浓度为 100mmol/L 时,溶液中  $\text{Na}^+$  的浓度仅为 200mmol/L,略高于生理盐水中的 154mmol/L  $\text{Na}^+$  浓度。因此,  $\text{Na}^+$  通过渗透影响所引起的抑菌作用不大。硅酸钠对孢子萌发和菌丝生长的抑制则主要缘于硅酸根离子。

### 2.4 硅酸钠和对应 pH 处理的孢子对损伤接种苹果病斑直径的影响

孢子经 100mmol/L 硅酸钠处理后再损伤接种苹果,其病斑直径明显低于对照;但孢子经对应 pH12.60 处理后再损伤接种苹果,则与对照之间无显著差异。随着硅酸钠处理时间的延长,处理孢子损伤接种后的病斑直径会进一步缩小,当处理 9h 时,几乎完全抑制了病斑的扩展(图3)。由于苹果果肉中 4 左右的低 pH 可中和对应 pH 处理的碱性孢子,使孢子微环境趋于正常 pH。同时,果肉本身的高含水量可使得表面皱缩、渗透势发生改变的孢子重新吸收水分而恢复正常活性。而硅酸钠处理由于破坏了孢子的结构,即使外界环境提供大量水分并中和碱性 pH,孢子正常活性也难以恢复,从而导致其致病力明显减弱或消失。在硼酸盐<sup>[26]</sup>、氯化铝和焦亚硫酸钠<sup>[13]</sup>等无机盐处理导致 *Botrytis cinerea* 和 *Fusarium sambucinum* 孢子形态破坏、以及菌体致死的现象时也观察到类似的结果。

### 2.5 硅酸钠和对应 pH 处理对孢子表面形态的影响

100mmol/L 硅酸钠及对应 pH12.60 处理显著改变了孢子的表面形态,处理时间越长,形态的改变也

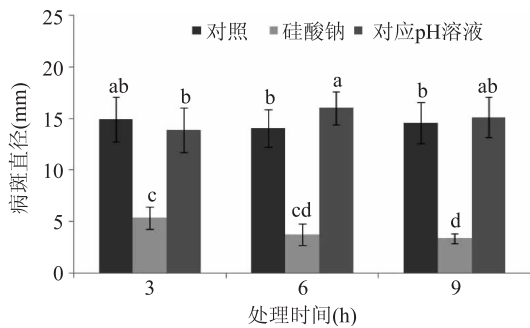


图3 100mmol/L 硅酸钠和对应 pH 溶液处理不同时间的孢子对损伤接种苹果病斑直径的影响

Fig.3 Effect of wound-inoculated with spores of *T.roseum* treated with sodium silicate at 100mmol/L and corresponding pH at 12.60 for different time on lesion diameter of apple fruits

注:标注不同字母表示有显著差异性, $p < 0.05$ 。

就越明显,但硅酸钠处理对孢子的破坏作用更大(图3)。用无菌蒸馏水处理的对照孢子在3、6和9h三个处理时间段其形态变化不大,孢子表面形态完整,形状饱满(图4A~图4C);经100mmol/L硅酸钠处理后,孢子皱缩,表面粗糙,凹陷明显(图4D~图4F),处理9h时甚至可以观察表面结构破坏,有明显的内容物渗出(图4F);同样,对应pH12.60处理3h的孢子其形态变化与对照相比差异不大(图4G),随着处理时间的延长,孢子皱缩显著增强,当处理9h时,表面粗糙,凹陷现象突出,但结构依然完整(图4H,I)。

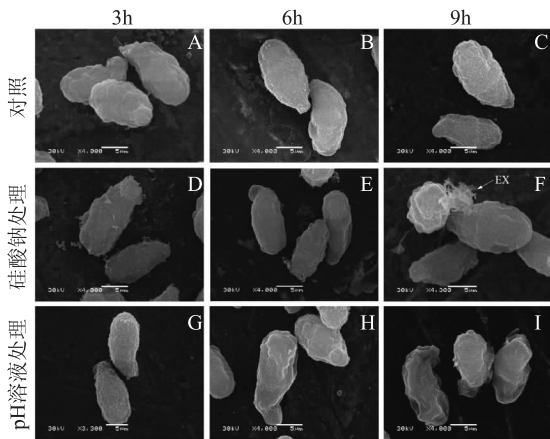


图4 100mmol/L的硅酸钠和对应 pH 处理对 *T.roseum* 孢子表面形态的影响

Fig.4 Effect of sodium silicate at 100mmol/L and corresponding pH at 12.60 treatments on spore morphology of *T.roseum*

注:图 A,B 和 C 为对照分别处理 3,6,9h;

图 D,E 和 F 为 100mmol/L 硅酸钠分别处理 3,6,9h;

G,H 和 I 为 pH12.60 分别处理 3,6,9h,

图中 EX 表示渗出物。

### 3 结论

本研究首次发现,不同浓度硅酸钠和对应 pH 处理均能有效抑制 *T.roseum* 孢子的萌发和菌落生长,但硅酸钠处理的效果更好。用经 100mmol/L 硅酸钠处

理后的孢子损伤接种苹果,其病斑直径明显低于对照,但经对应 pH12.60 处理后的孢子损伤接种,其病斑直径则与对照相比无显著性差异。扫描电镜观察发现,硅酸钠处理的孢子表面粗糙,皱缩明显,表面结构破坏,有明显的内容物渗出;对应 pH 处理虽然也能导致孢子皱缩,但并未破坏其结构。由此表明,硅酸钠比对应 pH 处理对 *T.roseum* 生长的抑制作用更为明显。

综上所述,硅酸钠对 *T.roseum* 孢子的萌发和菌落生长的良好抑制效果除了与其改变环境 pH 外,更多地涉及硅酸根离子的影响;*T.roseum* 孢子致病力的显著降低则完全决定于硅酸根离子对孢子结构的破坏。至于硅酸根离子如何破坏孢子的结构并在抑菌中发挥作用尚有待进一步研究。

### 参考文献

- [1]呼丽萍,马春红.苹果霉心病菌的侵染过程[J].植物病理学报,1995,25(4):351-356.
- [2]Huang Y,Deverall B J,Tang W H,et al.Foliar application of acibenzolar-S-methyl and protection of postharvest rock melons and Hami melons from disease[J].European Journal of Plant Pathology,2000,106(7):651-656.
- [3]Bi Y,Tian S P,L H X,et al.Effect of temperature on chilling injury,decay and quality of Hami melon during storage[J].Postharvest Biology and Technology,2003,29(2):229-232.
- [4]English W H.Taxonomic and pathogenicity studies of the fungi which cause decay of Pears in Washington[J].Research Studies.Washington State University,1940,8(3):127-128.
- [5]Sommer N F,Fortlage R J,Edwards D C.THE PATHOGEN [J].Postharvest technology of horticultural crops,2002,3311:197.
- [6]Serra R,Braga A,Venancio A.Mycotoxin-producing and other fungi isolated from grapes for wine production, with particular emphasis on ochratoxin A[J].Research in Microbiology,2005,156(4):515-521.
- [7]Welch Jr A W,Jenkins Jr S F,Averre C W.Trichotheicum fruit rot on greenhouse tomatoes in North Carolina[*Trichotheicum roseum*,fungus diseases][J].Plant Disease Reporter,1975.
- [8]杨波,杨冬平,高兆银,等.杀菌剂对芒果果腐病原粉红单端孢菌的室内毒力测定[J].热带生物学报,2013,4(1):45-49.
- [9]Hong C X,Michailides T J.Prune, plum, and nectarine as hosts of *Trichotheicum roseum* in California orchards[J].Plant Disease,1997,81(1):112-112.
- [10]Tang Y M,Xue H L,Bi Y,et al.A method of analysis for T-2 toxin and neosolaniol by UHPLC-MS/MS in apple fruit inoculated with *Trichotheicum roseum*[J].Food Additives & Contaminants:Part A,2014(just-accepted).
- [11]魏晋梅,周围,毕阳.粉红单端孢体外产毒条件的探讨及粗毒素活性测定[J].食品工业科技,2007(5):110-112.
- [12]王慧,桑维钧,倪云跃,等.不同杀菌剂对苹果霉心病菌的室内毒力测定[J].湖北农业科学,2013(6):1309-1311.
- [13]Avis T J,Rioux D,Simard M,et al.Ultrastructural alterations in *Fusarium sambucinum* and *Heterobasidion annosum* treated with aluminum chloride and sodium metabisulfite[J].Phytopathology,2009,99(2):167-175.

[14] Epstein E. The anomaly of silicon in plant biology [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1994, 91(1): 11-17.

[15] Code of Federal Regulations, Title 21, Part 182.90.

[16] Belanger R R, Bowen P A, Ehret D L, et al. Soluble silicon: its role in crop and disease management of greenhouse crops [J]. Plant Disease, 1995, 79: 329-336.

[17] Liang Y, Sun W C, Si J, et al. Effects of foliar- and root-applied silicon on the enhancement of induced resistance to powdery mildew in *Cucumis sativus* [J]. Plant Pathology, 2005, 54(5): 678-685.

[18] Liu J, Zong Y Y, Qin G Z, et al. Plasma membrane damage contributes to antifungal activity of silicon against *Penicillium digitatum* [J]. Current Microbiology, 2010, 61(4): 274-279.

[19] Li Y C, Bi Y, Ge Y H, et al. Antifungal activity of sodium silicate on *Fusarium sulphureum* and its effect on dry rot of potato tubers [J]. Journal of Food Science, 2009, 74(5): 213-218.

[20] Bi Y, Tian S P, Guo Y R, et al. Sodium silicate reduces postharvest decay on Hami melons: induced resistance and fungistatic effects [J]. Plant Disease, 2006, 90(3): 279-283.

[21] Guo Y R, Liu L, Zhao J, et al. Use of silicon oxide and sodium silicate for controlling *Trichothecium roseum* postharvest

rot in Chinese cantaloupe (*Cucumis melo* L.) [J]. International Journal of Food Science & Technology, 2007, 42(8): 1012-1018.

[22] Manteau S, Abouna S, Lambert B, et al. Differential regulation by ambient pH of putative virulence factor secretion by the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea* [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2003, 43(3): 359-366.

[23] Li B Q, Lai T F, Qin G Z, et al. Ambient pH stress inhibits spore germination of *Penicillium expansum* by impairing protein synthesis and folding: a proteomic-based study [J]. Journal of Proteome Research, 2009, 9(1): 298-307.

[24] Li Y C, Yang Z M, Bi Y, et al. Antifungal effect of borates against *Fusarium sulphureum* on potato tubers and its possible mechanisms of action [J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 74: 55-61.

[25] Halasz I, Agarwal M, Li R, et al. What can vibrational spectroscopy tell about the structure of dissolved sodium silicates? [J]. Microporous and Mesoporous Materials, 2010, 135(3): 74-81.

[26] Qin G Z, Zong Y Y, Chen Q, et al. Inhibitory effect of boron against *Botrytis cinerea* on table grapes and its possible mechanisms of action [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 138(1-2): 145-150.

(上接第 152 页)

and phenolic content of Chinese black-grained wheat [J]. Journal of Agriculture, 2005, 53(22): 8533-8536.

[8] Chun H, Cai Y Z, Li W, et al. Anthocyanin characterization and bioactivity assessment of a dark blue grained wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Hedong Wumai) extract [J]. Food Chemistry, 2007, 104(3): 955-961.

[9] 李伟, 姜媛, 唐晓珍等. 采用高效液相色谱串联质谱法分析黑粒小麦麸皮中的花色苷组成 [J]. 食品与发酵工业, 2011, 37(07): 161-166.

[10] 赵善仓, 刘宾, 赵领军, 等. 蓝、紫粒小麦籽粒花色苷组成分析 [J]. 中国农业科学, 2010, 43(19): 4072-4080.

[11] Hosseinian F S, Li W D, Beta T. Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat [J]. Food Chemistry, 2008, 109(47): 916-924.

[12] Abdel-Aal E-S M, Abou-Arab A A, Gamel T H, et al. Fractionation of blue wheat anthocyanin compounds and their contribution to antioxidant properties [J]. Journal of Agriculture [J]. 2008, 56(23): 11171-11177.

[13] 杨兆艳, 孙元琳, 张乃麟. 黑麦麸皮色素纯化工艺及稳定性研究 [J]. 中国粮油学报, 2010, 25(12): 111-116.

[14] 王金亭. 天然黑小麦色素研究进展 [J]. 粮食与油脂, 2013, 26(3): 45-48.

(上接第 156 页)

归方程模型来分析因子与响应的关系, 响应面方法用拟合面的方式来完成具有更直观、更清楚的优点。

### 参考文献

[1] 杜苗. HG-AFS 测定富硒水果中的硒量 [J]. 中国科技博览, 2012, 23(2): 73-74.

[2] 白文军, 邓德江. 蘑菇: 自然的馈赠-驯化的蘑菇: 人工栽培 [J]. 北京农业: 实用技术, 2013(5): 25-27.

[3] 李以暖, 薛立文. 富硒保健食品硒含量标准的探讨 [J]. 广东微量元素科学, 2000, 7(5): 18-21.

[4] 刘国平, 刘玉春, 邓正春, 等. 富硒平菇生产关键技术 [J]. 湖南农业科学, 2011, 24: 40-41.

[5] 王新风, 杨芳, 刘圣师, 等. 富硒平菇蛋白测定与氨基酸成分分析 [J]. 食品科学, 2008, 29(12): 610-613.

[6] 熊彪, 周大寨, 邓礼君. 3,3'-二氨基联苯胺比色法测定蔬菜中的微量硒 [J]. 食品研究与开发, 2013, 24(01): 84-85

[7] 杨华, 纪明山, 李广旭, 等. 不同发酵条件对苹果轮纹病拮

抗细菌生长的影响 [J]. 果树学报, 2007, 24(6): 799-802

[8] 张帅, 董基, 黄志明, 等. 响应面法优化富硒灵芝发酵培养基 [J]. 食品科学, 2013, 34(15): 208-212.

[9] 杨其义, 赵祥颖, 刘建军. 响应面法优化木糖醇发酵培养基 [J]. 山东轻工业学院学报: 自然科学版, 2013, 27(2): 34-38.

[10] CAI Menghao, ZHOU Xiangshan, SUN Xueqian, et al. Statistical optimization of medium composition for aspergillide A production by marine-derived fungus *Aspergillus glaucus* [J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2009, 36(3): 381-389

[11] REN Dadun, WANG Ling, XIE Kai, et al. Optimization of Culture C omponents for Laccase Activity from *Pleurotus Ostreatus*. [J]. Journal of Donghua University, 2013, 30(4): 305-310.

[12] 张丹鹤, 秦小冬. 利用超声波辅助酶法提取马尾藻多糖条件优化 [J]. 吉林农业: 学术版, 2011, 12: 71-73.