

# 松属素对柑橘青霉病菌呼吸作用的影响

周洁 彭丽桃 贤欢 柳丽梅 杨书珍

环境食品学教育部重点实验室/华中农业大学食品科技学院, 武汉 430070

**摘要** 采用 Clark 型氧电极法研究松属素对柑橘青霉病菌(*Penicillium italicum*) 菌丝体呼吸作用的影响, 结果表明: 松属素处理对柑橘青霉病菌菌丝体呼吸具有显著的抑制作用, 且抑制效应呈显著的浓度效应。随着松属素处理时间的延长, 菌丝体呼吸作用的抑制效应也随之增强, 当松属素处理菌丝体时间延长至 2 h 时, 松属素对菌丝体呼吸作用的抑制率由最初的 53.37% 增至 84.35%。松属素对幼嫩菌丝体(培养 12 h) 的呼吸抑制效果最显著, 呼吸抑制率达 78.97%; 随着菌龄的增加, 松属素对菌丝体呼吸的抑制作用下降, 对培养 60 h 的菌丝体呼吸抑制率仅为 29.25%。进一步研究表明, 松属素在较低浓度下即对柑橘青霉病菌线粒体呼吸表现出显著的抑制作用。通过比较呼吸电子传递链典型呼吸抑制剂(抗霉素 A、鱼藤酮、水杨羟肟酸和叠氮化钠) 对松属素抑制呼吸的叠加率, 发现松属素与鱼藤酮的叠加率最低, 其抑制柑橘青霉病菌呼吸作用部位可能在线粒体呼吸电子传递链上 NADH 向辅酶 Q 的传递过程。

**关键词** 松属素; 柑橘青霉病菌; 菌丝呼吸; 抑制作用; 线粒体

**中图分类号** S 896.6 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2014)04-0119-05

柑橘属于芸香科柑橘亚科果树, 是世界上第三大贸易农产品。柑橘果实营养丰富, 但容易感染病原微生物。由柑橘青霉病菌(*Penicillium italicum*) 侵染引起的柑橘青霉病是柑橘贮运和销售过程中的主要病害<sup>[1]</sup>, 导致果实大量腐烂变质, 给生产和经营者带来很大的损失。控制柑橘青霉病的方法主要有物理方法、化学方法和生物方法。目前, 化学农药广泛使用带来的环境污染、农药残留、抗性菌株等问题日渐突出, 迫切需要安全、高效的果蔬采后病害控制方法。天然产物农药具有低毒、无残留、选择性高、不易使病原微生物产生抗药性等特点, 是一种与环境有良好相容性的新型环保农药, 其中黄酮类化合物是广泛存在于自然界中的一大类化合物, 由于其具有广谱的抑菌作用和生理活性而成为近年来研究天然抗菌剂的热点之一<sup>[2]</sup>。但目前对于黄酮类化合物的抑菌研究主要集中在抑菌活性的评价上, 对于黄酮类化合物的抑菌作用机制的研究相对较少。松属素(pinocembrin), 又名乔松素, 是蜂胶中的主要黄酮化合物之一, 同时也是蜂胶中主要的抗菌活性物质<sup>[3]</sup>。笔者所在实验室前期研究发现, 松属素是

中国蜂胶及其杨树芽中抑制柑橘青霉病菌的活性物质, 并对柑橘青霉病菌的呼吸作用表现出强烈的抑制作用<sup>[4-6]</sup>。本试验以柑橘青霉病菌为研究对象, 主要考察松属素对柑橘青霉病菌呼吸作用的抑制特性及作用部位, 为进一步明确松属素抑制柑橘青霉病的作用靶点和作用机制提供基础和依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

供试病原菌分离于自然发病的柑橘果实, 经鉴定为柑橘青霉病菌(*Penicillium italicum* Web.)。将柑橘青霉病菌置入 PDA 培养基于 4 °C 下保存待用。松属素(标准品), 成都贝斯特试剂有限公司; 蔗糖、氯化钾、氯化钠、磷酸二氢钾、氯化镁、牛血清蛋白、甘露醇、HEPES、EDTA 二钠、乙醇、琼脂、吐温-20 均为分析纯; 鱼藤酮、叠氮化钠、水杨羟肟酸均为分析纯, 阿拉丁试剂公司; 抗霉素 A 为色谱纯, Sigma 公司。

### 1.2 试验方法

1) 霉菌孢子悬液制备及菌丝培养。分别将供试

收稿日期: 2014-01-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(31271969)

周洁, 硕士研究生, 研究方向: 果蔬贮藏保鲜。E-mail: zj5259558@163.com

通信作者: 杨书珍, 博士, 副教授, 研究方向: 果蔬贮藏保鲜。E-mail: yszhen@mail.hzau.edu.cn

菌种斜面接种到 PDA 培养基中, 26 °C 培养 72 h, 取活化好的斜面菌种用无菌生理盐水配制成  $1.0 \times 10^6$  cfu/mL 的霉菌孢子菌悬液。取菌悬液 1.0 mL 接入至 250 mL PDA 液体培养基上, 26 °C 下 150 r/min 振荡培养。

2) 不同浓度松属素对柑橘青霉病菌菌丝体呼吸作用的影响。参考 Clark 型氧电极的极谱法<sup>[7]</sup>测定菌丝体的呼吸作用。在反应杯中加入呼吸缓冲液 2 mL (pH 7.2, KCl 150 mmol/L, Tris-HCl 10 mmol/L,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  5 mmol/L,  $\text{MgCl}_2$  1 mmol/L, 蔗糖 250 mmol/L), 搅拌 2 min 后加入 0.2 g (湿质量) 培养 24 h 的柑橘青霉病菌菌丝体, 分别加入一定的松属素, 使其终浓度分别为 0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mmol/L, 以 80% 乙醇作为对照, 悬浮均匀后开始测定。每个处理设 3 次重复, 以纳摩尔氧每分钟每毫克菌丝体鲜质量 ( $\text{nmol O}_2 / (\text{min} \cdot \text{mg})$ ) 为菌丝体的呼吸速率, 以  $\text{nmol} / (\text{min} \cdot \text{mg})$  表示呼吸速率的单位。

3) 松属素不同处理时间对柑橘青霉病菌菌丝体呼吸作用的影响。称取 0.2 g (湿质量) 生长旺盛的菌丝体, 用 PBS 缓冲液将菌丝体表面培养基冲洗干净, 置于装有 10 mL 灭菌 PDB 液体培养基的三角瓶中, 加入 0.8 mmol/L 松属素溶液, 每 30 min 取出处理组中的菌丝体, 参照本文“1.2.2)”方法测定其呼吸耗氧速率。

4) 松属素处理对不同菌龄菌丝体呼吸作用的影响。称取 0.2 g (湿质量) 分别培养 12、24、36、48、60 h 的菌丝体, 用 PBS 缓冲液将菌丝体表面培养基冲洗干净后, 参照本文“1.2.2)”方法, 加入 0.8 mmol/L 松属素溶液, 测定不同菌龄菌丝体在药物处理前后呼吸速率的改变。

5) 松属素处理对柑橘青霉病菌线粒体呼吸作用的影响。将培养 60 h 的菌丝体用 3 层纱布过滤, PBS 冲洗 3 次, 称取一定量菌丝体, 每份加提取介质 (牛血清蛋白 1 g/L, 蔗糖 0.25 mol/L, pH 7.4) 于低温条件下研磨, 4 000 r/min 冷冻离心 10 min, 然后取上清液在 12 000 r/min 下离心 20 min, 取沉淀用 2 mL 呼吸缓冲液悬浮即得柑橘青霉病菌线粒体悬浮液。将提取的线粒体悬浮液 2 mL 加入反应杯, 分别加入一定量松属素溶液, 使终浓度分别为 0.2、0.4、0.8 mmol/L, 以 80% 乙醇作为对照, 于氧呼吸仪中测定加入松属素前后的呼吸强度。

6) 松属素与不同呼吸抑制剂相互作用对柑橘青

霉病菌菌丝体呼吸作用的影响。称取 0.2 g (湿质量) 菌丝体加到 2 mL 反应杯中, 先加入 0.8 mmol/L 松属素溶液, 再分别加入鱼藤酮、抗霉素 A、叠氮化钠和水杨脞酸, 使其终浓度 (或质量浓度) 分别为 20  $\mu\text{mol/L}$ 、10 mg/L、0.01 mol/L 和 2 mmol/L, 分别测定呼吸抑制剂加入前和加入后菌丝体的呼吸速率, 80% 乙醇作为对照。通过计算求出其呼吸抑制位点。

根据松属素加入前后菌体的呼吸速率, 求出松属素对呼吸抑制剂的叠加率, 即  $\text{IR}/\% = [(R_1 - R_2)/R_1] \times 100\%$ ;  $\text{RR}/\% = [(R_2 - R_3)/R_2] \times 100\%$ 。其中, IR 为呼吸抑制剂对菌体呼吸的抑制率,  $R_1$ 、 $R_2$  分别为呼吸抑制剂加入前后菌体的呼吸速率; RR 为松属素对呼吸抑制剂的叠加率,  $R_3$  为加入呼吸抑制剂后菌体的呼吸速率。

### 1.3 数据分析

数据结果以平均值  $\pm$  标准误表示 (Mean  $\pm$  SE) 表示, 用 SAS 8.0 软件进行 One-ANOVA 单因素方差分析, 并用 Duncan's 进行多重比较分析, 以  $P < 0.05$  作为差异显著性判断标准。

## 2 结果与分析

### 2.1 松属素对柑橘青霉病菌菌丝体呼吸作用的抑制特性

1) 不同浓度松属素对柑橘青霉病菌菌丝体呼吸的影响。松属素处理显著抑制了柑橘青霉病菌菌丝体的呼吸作用, 并且随着药液浓度的增加, 菌丝体的呼吸速率呈降低趋势, 而松属素的呼吸抑制率呈增加趋势, 当松属素浓度为 1.6 mmol/L 时, 松属素对柑橘青霉病菌的呼吸抑制率可达 71.821% (表 1)。根据毒力回归方程  $y = 0.2811x + 0.2892$  分析表明, 松属素的浓度与其抑制柑橘青霉病菌的呼吸作用的效果具有显著正相关关系, 其抑制呼吸作用的半抑制浓度  $\text{IC}_{50}$  为 0.750 mmol/L。以上结果表明松属素对柑橘青霉病菌具有强烈的抑制作用, 同时这种抑制作用具有显著的浓度效应。

2) 松属素不同处理时间对柑橘青霉病菌菌丝体呼吸的影响。由图 1 可知, 在处理之初, 松属素对柑橘青霉病菌即表现出显著的抑制作用, 抑制率达 53.37%, 随着处理时间的延长, 松属素对菌丝体呼吸的抑制率呈增加趋势, 当松属素的处理时间达到 2 h 时, 其呼吸抑制率达 84.35%, 表明松属素处理对柑橘青霉病菌呼吸作用的抑制具有持效性。

表 1 不同浓度松属素对柑橘青霉病菌菌丝体呼吸的影响<sup>1)</sup>

Table 1 Effect of pinocembrin concentration on the mycelia respiration of *P. italicum*

浓度/(mmol/L) Concentration	呼吸速率/ (nmol/(min·mg)) Respiration rate	抑制率/% Inhibition rate
0.0	0.327±0.018 a	0
0.1	0.240±0.007 b	26.617±0.020 e
0.2	0.219±0.010 c	33.710±0.006 d
0.4	0.176±0.011 d	46.209±0.003 c
0.8	0.152±0.002 e	53.365±0.019 b
1.6	0.092±0.009 f	71.821±0.026 a

1)数值用平均值±标准误差表示,n=3;同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05),下同。Results are means and standard errors from three replications. Values followed by different letter differ significantly (P<0.05). The same as below.

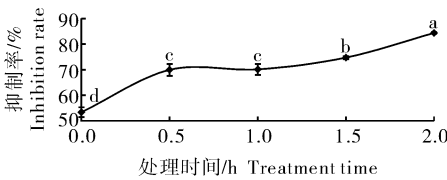


图 1 松属素不同处理时间对柑橘青霉病菌菌丝体呼吸的影响

Fig.1 Effect of treatment time of pinocembrin against mycelia respiration of *P. italicum*

3)松属素对柑橘青霉病菌不同菌龄菌丝体呼吸的影响。松属素对不同菌龄的菌丝体呼吸作用均表现出一定的抑制作用,同时随着菌龄的增加,松属素对柑橘青霉病菌的呼吸抑制率呈下降趋势;松属素对培养 12 h 的菌丝体的呼吸抑制率为 78.97%;而对培养 60 h 的菌丝体的呼吸抑制率仅为 29.25%(图 2),表明柑橘青霉病菌的幼嫩菌丝体对松属素更为敏感。

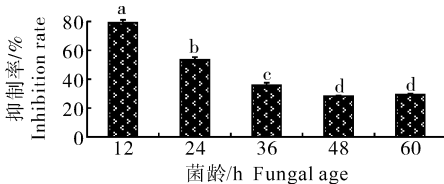


图 2 松属素处理对不同菌龄菌丝体呼吸强度的影响

Fig.2 Effect of pinocembrin on the different fungal age mycelia respiration of *P. italicum*

2.2 松属素对柑橘青霉病菌线粒体呼吸的影响

不同浓度的松属素对柑橘青霉病菌菌丝线粒体

呼吸均表现出不同程度的抑制作用,随着处理浓度的增加,松属素对线粒体呼吸的抑制作用增强,当浓度增加至 0.8 mmol/L 时,松属素对线粒体呼吸的抑制率达最大值(图 3)。因此,松属素对柑橘青霉病菌线粒体呼吸具有直接的抑制作用,表明松属素作用位点存在于柑橘青霉病菌线粒体呼吸链上。

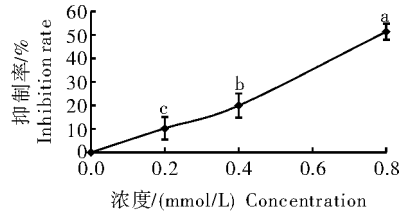


图 3 不同浓度松属素对柑橘青霉病菌线粒体呼吸的影响

Fig.3 Effect of pinocembrin concentration on the mitochondrial respiration of *P. italicum*

2.3 松属素与线粒体呼吸链电子传递抑制剂对柑橘青霉病菌菌丝呼吸的协同抑制作用

松属素与 4 种呼吸抑制剂具有不同程度的协同效应,与 4 种呼吸抑制剂的协同作用的强弱顺序为水杨羟肟酸>抗霉素 A>叠氮化钠>鱼藤酮(表 2,表 3)。因此,松属素与鱼藤酮对柑橘青霉病菌呼吸作用抑制的协同作用最弱,叠加率也最低。

表 2 松属素与呼吸抑制剂对柑橘青霉病菌呼吸的协同抑制作用

Table 2 Synergistic inhibition of the respiratory inhibitors and pinocembrin on the repiration of *P. italicum*

处理 Treatment	呼吸速率/( nmol/ (min·mg)) Oxygen consumption
空白 CK	0.248 1±0.002 4 a
松属素 Pinocembrin	0.156 9±0.007 4 b
抗霉素 A Antimycin A	0.142 1±0.007 6 c
鱼藤酮 Rotenone	0.154 8±0.002 6 b
水杨羟肟酸 Salicylhydroxamic acid	0.099 2±0.013 0 d
叠氮化钠 Sodium azide	0.107 1±0.001 3 d
抗霉素 A+松属素 Antimycin A+Pinocembrin	0.021 1±0.006 5 g
鱼藤酮+松属素 Rotenone+Pinocembrin	0.085 8±0.010 9 e
水杨羟肟酸+松属素 Salicyl hydroxamic acid+Pinocembrin	0.012 2±0.002 1 g
叠氮化钠+松属素 Sodium azide+Pinocembrin	0.050 5±0.008 5 f

表 3 呼吸抑制剂和松属素对柑橘青霉病菌菌丝呼吸作用的抑制率及叠加率

Table 3 Inhibition rate and superpose rate of the respiratory inhibitors and pinocembrin on the respiration of *P. italicum* %

抑制剂 Inhibitors	抑制率 Inhibition rate	叠加率 Superpose rate
松属素 Pinocembrin	36.77±2.35 c	
抗霉素 A Antimycin A	42.71±1.80 b	86.56±2.21 a
鱼藤酮 Rotenone	37.59±2.13 c	45.34±2.20 c
水杨羟胺酸 Salicyl hydroxamic acid	60.01±2.65 a	92.22±3.22 a
叠氮化钠 Sodium azide	56.83±2.23 a	67.79±2.17 b

### 3 讨论

研究表明,黄酮类化合物的抑菌活性与自身结构尤其是黄酮芳环上的羟基数目和位置有关。Brunskole 等<sup>[8]</sup>在研究黄酮类化合物对三环唑类杀菌剂的作用靶酶三羟基萜还原酶的抑制活性时,发现 5-位和 7-位羟基化的黄酮类化合物是最有效的抑制剂,而在 3-位引入羟基即成为黄酮醇后则活性有所下降;进一步的分子对接试验表明靶酶分子中的氨基酸与黄酮类化合物中的 5-位羟基、7-位羟基有可能形成氢键而发挥抑菌作用。我们在前期研究中发现,松属素是蜂胶提取物中抑制柑橘青霉病的活性成分,而其分子结构中同时具备 4-位羰基、5-位羟基、7-位羟基 3 个抗菌活性的基团是研究新型、低毒、高效的柑橘采后抑菌剂的重要黄酮类化合物,有必要对其抑菌作用机理进行深入研究<sup>[5-6]</sup>。目前发现的抗真菌药物的作用机制主要有抑制真菌细胞壁合成、抑制真菌细胞膜的合成、抑制蛋白质和氨基酸合成、抑制核酸合成、抑制呼吸作用和能量代谢<sup>[9]</sup>。Haraguchi 等<sup>[10]</sup>报道甘草中的黄酮类化合物 licochalconesA 和 C 也是通过抑制微球菌和金黄色葡萄球菌的呼吸作用达到抑菌的效果。5,7-二羟基黄酮-3,8-二甲氧基黄酮强烈的抑制了灰霉菌孢子萌发过程中的呼吸作用<sup>[11]</sup>。本试验中松属素显著抑制了柑橘青霉病菌菌丝体的呼吸作用。因此,呼吸作用和能量代谢是黄酮类化合物实现抗菌作用的重要途径,但目前对于黄酮类化合物抑制微生物尤其是真菌呼吸的作用靶点报道较少。

线粒体是真核细胞的重要能量代谢中心,是细胞进行呼吸作用的场所。三羧酸循环和糖酵解途径产生的 NADH 通过线粒体的呼吸电子传递链氧化,将电子传递给氧,同时在线粒体内膜形成质子梯度,即质子电动势,该电动势通过氧化磷酸化过程形成能量,从而为生命活动和代谢提供能量<sup>[12]</sup>。位于

线粒体内膜上的呼吸电子传递链是能量代谢过程中重要的组成部分,由 4 个酶复合体(复合物 I、II、III、IV)、泛醌以及细胞色素 C 共同组成质子或电子传递体。理论上讲,抑制任何一个酶复合体的活性都将导致生物体不能正常地合成 ATP,进而衰竭死亡。licochalconesA 和 C 抑制线粒体传递链上 NADH-细胞色素 C 还原酶的活性,其作用位点是在电子传递链辅酶 Q 向细胞色素 C 的传递过程<sup>[10]</sup>。抗霉素 A、鱼藤酮、水杨羟胺酸、叠氮化钠分别是电子传递链上 Ctyb 到 Ctyc1、NADH 向辅酶 Q 的传递体、抗氰呼吸、细胞色素 aa3 的典型呼吸抑制剂<sup>[13]</sup>。Li 等<sup>[14]</sup>报道黄酮类化合物槲皮素和杨梅素可以有效抑制植物线粒体抗氰呼吸途径。为了确定松属素抑制柑橘青霉病菌呼吸作用的部位,本试验进一步研究了松属素对柑橘青霉病的线粒体呼吸的作用及其在呼吸电子传递链上的作用部位,结果发现松属素对柑橘青霉病菌线粒体呼吸具有强烈的抑制作用;通过研究松属素与电子传递链典型呼吸抑制剂的协同抑制作用,发现松属素与鱼藤酮的协同作用最弱,表明二者具有相同的抑制呼吸的作用部位,松属素抑制柑橘青霉病菌呼吸作用部位可能在线粒体呼吸电子传递链上 NADH 向辅酶 Q 的传递过程。

本试验的研究表明,松属素对柑橘青霉病菌的呼吸作用表现出强烈的抑制作用,同时这种抑制效应表现出显著的浓度效应和时间效应。幼龄菌丝的呼吸作用对松属素处理较老龄菌丝更敏感。松属素对柑橘青霉病菌的线粒体呼吸表现出直接的抑制作用,其作用部位可能在 NADH 向辅酶 Q 的传递过程,但松属素抑制柑橘青霉病菌的作用靶点及分子机制的需要进一步深入研究。

### 参 考 文 献

- [1] 阎晓芳,陈丽锋,邓伯勋. 柑桔青绿霉病原菌的分离及其生物学特性研究[J]. 中国南方果树, 2007, 36(3): 3-6.
- [2] 游庭活,刘凡,温露,等. 黄酮类化合物抑菌作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(21): 3645-3650.
- [3] 张翠平,胡福良. 蜂胶中类黄酮化合物分析方法的研究进展[J]. 蜜蜂杂志, 2010(3): 11-14.
- [4] 杨书珍,彭丽桃,潘思秩,等. 蜂胶乙酸乙酯提取物对意大利青霉菌的抑制作用及稳定性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(11): 87-90.
- [5] YANG S Z, PENG L T, SU X J, et al. Bioassay-guided isolation and identification of antifungal components from propolis against *Penicillium italicum* [J]. Food Chemistry, 2011, 127:

- 210-215.
- [6] PENG L T, YANG S Z, CHENG Y J, et al. Antifungal activity and action mode of pinocembrin from propolis against *Penicillium italicum*[J]. Food Science Biotechnol, 2012, 21(6): 1533-1539.
- [7] YANG S, TANT M, WEE A, et al. Mitochondrial respiratory function and antioxidant capacity in normal and cirrhotic livers following partial hepatectomy[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2004, 61: 220-229.
- [8] BRUNSKOLE M, KRISTAN K, STOJAN J, et al. Mutations that affect coenzyme binding and dimer formation of fungal 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase[J]. Mol Cell Endocrinol, 2009, 301(1/2): 47-50.
- [9] SANGAMWAR A T, DESHPANDE U D, PEKAMWAR S S, et al. Antifungals: need to search for a new molecular target [J]. Indian J Pharm Sci, 2008, 70(4): 423-430.
- [10] HARAGUCHI H, TANIMOTO K, TAMURA Y, et al. Mode of antibacterial action of retrocha lones from *Glycyrrhiza inflata*[J]. Phytochemistry, 1998, 48(1): 125-129.
- [11] COTORAS, MENDOZA L, MUNOZ A, et al. Fungitoxicity against botrytis cinerea of a flavonoid isolated from *Pseudogona phalium robustum*[J]. Molecules, 2011, 16(5): 3885-3895.
- [12] SKULACHEV V P. Functions of mitochondria: from intracellular power stations to mediators of a senescence program[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2009, 66 (11): 1785-1793.
- [13] WEI C, BEEVERR E, PARKES S L, et al. An osmoensing histidine kinase mediates dicarboximide fungicide resistance in *Botryotinia fucke liana* (*Botrytis cinerea*)[J]. Fungal Genetics and Biology, 2002, 36(3): 187-198.
- [14] LI Z, SHIMOJI M, THOMAS B, et al. Mitochondrial localization of the Parkinson's disease related protein DJ-1: implications for pathogenesis[J]. Human molecular genetics, 2005, 14 (14): 2063-2073.

## Effects of pinocembrin on the respiration of citrus blue mold

ZHOU Jie PENG Li-tao XIAN Huan LIU Li-mei YANG Shu-zhen

Key Laboratory of Environment Correlative Dietology, Ministry of Education/  
College of Food Science and Technology, Huazhong Agricultural University,  
Wuhan 430070, China

**Abstract** The effects of pinocembrin on the mycelia respiration of citrus blue mold (*Penicillium italicum*) were studied by Clark oxygen electrode. The results showed that pinocembrin treatment significantly inhibited the mycelia respiration of *P. italicum* in a concentration-dependent manner. The inhibitory effect of mycelial respiration increased with the prolonging of pinocembrin treatment. When the treatment time was extended to 2 h, the inhibition rate was changed from 53.37% to 84.35%. The inhibitory effect of pinocembrin on the respiration was most significant for young mycelia (cultured 12 h), and the inhibitory rate was up to 78.97%. With the increment of cell age, the inhibitory effect of pinocembrin on mycelia respiration declined. The respiration inhibitory rate of mycelia cultured for 60 h was only 29.25%. Results showed that pinocembrin treatment had an obvious inhibition on the mitochondria respiration of *P. italicum* at low concentration. Comparing synergistic inhibition of the typical respiratory inhibitors (antimycin A, rotenone, salicyl hydroxamic acid and sodium azide) and pinocembrin on the respiration of *P. italicum*, the results showed that pinocembrin and rotenone had the same pathway on the mycelia respiration of *P. italicum*. Therefore, pinocembrin had a significant inhibitory effect on *P. Italicum* by affecting respiration metabolism.

**Key words** pinocembrin; citrus blue mold (*Penicillium italicum*); mycelia respiration; inhibition; mitochondria