

L-谷氨酸对樱桃番茄果实病程 相关蛋白的影响

杨佳丽,王乐,相玉婷,王茜,王愈*

(山西农业大学食品科学与工程学院,山西太谷 030801)

摘要:为研究L-谷氨酸(谷氨酸)对果实采后病害的抗性机制,以樱桃番茄为对象,将其浸泡于100 mg/L谷氨酸溶液10 min,经不同诱导时间(0、12、24、36 h)处理后接种 *Alternaria alternata*,定期测定果实的发病率,同时研究谷氨酸对果实病程相关蛋白(pathogenesis-related proteins, PRs)及其编码基因的影响。在体外条件下,观察谷氨酸对病原菌生长状态的影响。结果表明:谷氨酸诱导时间在24 h及以上时,番茄发病率显著下降;体外试验中,谷氨酸对病原菌的孢子萌发率和生长无明显影响;谷氨酸可迅速提高果实 β -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶(chitinases, CHI)和过氧化物酶(peroxidase, POD)的活力,且诱导 *LePR1*、*LePR5*、*LeCHI3*、*LeCHI9* 和 *LePOD* 上调表达。综上,谷氨酸对 *Alternaria alternata* 的作用机制可能与其诱导了果实体内的病程相关蛋白有关。

关键词:L-谷氨酸,诱导抗性,采后病害,病程相关蛋白,樱桃番茄

Effect of L-glutamate on Pathogenesis-related Proteins in Cherry Tomato Fruit

YANG Jia-li, WANG Le, XIANG Yu-ting, WANG Qian, WANG Yu*

(College of Food Science and Engineering, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: To decipher the mechanism of L-glutamate on postharvest diseases of fruit, cherry tomatoes were treated with L-glutamate solutions at the concentration of 100 mg/L for 10 min and then incubated for various time (0, 12, 24, 36 h). After inoculating with *Alternaria alternata*, disease incidence of tomato was measured. The effect of L-glutamate on pathogenesis-related proteins (PRs) and its coding gene were investigated. Moreover, the growth of *Alternaria alternata* in the presence of L-glutamate was observed *in vitro*. The results suggested that disease incidence decreased significantly when the time interval between treatment and inoculation increased to 24 h. L-glutamate showed no effect on the spore germination and the survival of pathogen *in vitro*. Meanwhile, L-glutamate could increase the activity of β -1,3-glucanase, chitinase (CHI) and peroxidase (POD), and induce the expression of *LePR1*, *LePR5*, *LeCHI3*, *LeCHI9* and *LePOD*. In conclusion, the activation of pathogenesis-related proteins might be related to resistance mechanism underpinning L-glutamate induced fruit immunity.

Key words: L-glutamate; induced resistance; postharvest diseases; pathogenesis-related proteins; cherry tomato fruit

中图分类号: TS205.9

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2020)14-0254-06

doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2020.14.041

引文格式: 杨佳丽,王乐,相玉婷,等.L-谷氨酸对樱桃番茄果实病程相关蛋白的影响[J].食品工业科技,2020,41(14): 254-259.

作为呼吸跃变型果实,樱桃番茄(*Solanum lycopersicum* L.)采后生理品质变化迅速,且因其营养丰富、含水量高,很容易遭受病原菌的侵染^[1],尤其是由真菌引起的侵染性病害,是造成其损失的重要因素^[2-3]。其中,由腐生型病原菌 *Alternaria alternata* 引起的黑斑病是引起番茄果实发生腐烂的重要病害^[4]。因长期施用化学杀菌剂会对食品安全和环境带来不容

忽视的负面影响,当前利用诱导因子激发植物自身抗性已成为减少或替代化学杀菌剂的有效途径^[5-7]。

植物体内存有大量抗逆境的基因或蛋白,当受到外界环境刺激或胁迫时,会诱导启动植物自身抗性相关基因或蛋白的表达,从而使其获得对逆境的抗性^[8-9]。已有研究显示,病程相关蛋白(Pathogenesis-related proteins, PRs)是参与植物抗病

收稿日期:2019-11-18

作者简介:杨佳丽(1984-),女,博士,讲师,研究方向:果蔬保鲜与新型病害控制技术,E-mail:jiayang@sxau.edu.cn。

*通讯作者:王愈(1968-),男,博士,教授,研究方向:果实贮藏与加工,E-mail:sxtgwy@126.com。

基金项目:山西省高等学校科技创新项目(2019L0398);山西省重点研发计划重点项目(201703D1001-06-03);山西农业大学科技创新基金(2017YJ31);山西省优秀博士来晋工作奖励资金科研项目(SXYBK201716)。

性的一类重要物质^[10]。PRs 家族蛋白具有潜在的抑菌作用,直接或者间接的抑制病原菌的生长及传播^[11]。如 PR2、PR5 蛋白具有 β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-glucanase, GLU)特性,PR3 和 PR4 蛋白则具有几丁质酶(chitinases, CHI)活性。因葡聚糖和几丁质是病原真菌细胞壁的主要成分,GLU 和 CHI 可通过催化这两种物质的水解或通过释放寡糖诱导植物抗性,有效抑制病原菌的侵染^[12]。大量研究报道表明,利用拮抗菌或其它激发子诱导果实产生抗性的同时,GLU 和 CHI 活性也显著提高^[13]。PR9 蛋白则具有过氧化物酶(peroxidase, POD)活性,在植物体内 POD 一方面作为活性氧清除剂,与超氧化物歧化酶和过氧化氢酶组成了抗氧化酶保护系统,另一方面,参与合成细胞壁木质素,有效提高病原菌侵染宿主细胞时细胞壁强度,在植物的防御反应中发挥重要的作用^[14]。PR1 蛋白一般认为是系统获得性抗性(systemic acquired resistance, SAR)激活的标志蛋白^[15]。PRs 广泛存在于各类植物中,不仅可由病虫害诱导产生,也可被一些化学物质,如水杨酸、氨基酸衍生物等诱导合成,其在植物体内的积累已被认为是诱导抗性的重要生化机制之一^[16]。

L-谷氨酸(以下简称“谷氨酸”)在生物体内氨基酸代谢中具有中心地位,参与合成多种与抗性密切相关的代谢物质,如精氨酸、脯氨酸和 γ -氨基丁酸^[17]。目前,已有研究报道了谷氨酸在植物响应非生物胁迫时发挥着重要作用,然而有关谷氨酸在参与响应病原菌侵染中的作用鲜有报道^[18]。谷氨酸因其安全环保,生产、保存成本低,使用简单等优点,成为一种具有广阔应用前景的理想诱导因子。前期研究发现,谷氨酸作为外源激发子可有效抵御 *Penicillium expansum* 对梨果实的侵染^[19]。为进一步明确谷氨酸对采后果实的抗性调控机制,本试验拟以樱桃番茄为研究对象,探究其对果实病程相关蛋白及其编码基因表达的影响,为开发基于谷氨酸的绿色保鲜剂提供充分的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

樱桃番茄 品种为“千禧”(*Solanum lycopersicum* L.cv.Qianxi),采收于山西太谷当地的温室大棚,挑选无病虫害侵染、无机械损伤、大小统一且均处以红熟阶段的果实; *Alternaria alternata* (CGMCC3.4578) 中国普通微生物菌种保藏管理中心; L-谷氨酸 分析纯,上海阿拉丁生化科技股份有限公司,调整其溶液 pH 至 7 左右;几丁质酶检测试剂盒 南京建成生物工程研究所; Trizol 试剂、Primescript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒、SYBR® Premix Ex Taq™ 试剂盒 日本 TaKaRa 公司。

Spectra max plus 384 酶标仪 美国 MD 公司; NanoDrop 1000 分光光度计 美国 Thermo 公司; PTC-225 型 Thermal Cycler PCR 仪 美国 Bio-Rad 公司; StepOne Real-Time PCR 仪 美国 ABI 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 病原菌孢子悬浮液制备 将病原菌 *A.alternata*

在 PDA 培养基上 25 °C 条件下培养 7~10 d 后,将 *A.alternata* 孢子用无菌水洗出,而后用血球计数板方法调整孢子悬浮液至所需浓度。

1.2.2 体外实验

1.2.2.1 谷氨酸对 *A.alternata* 生长的影响 将定量的 *A.alternata* 孢子悬浮液分别与不同浓度的谷氨酸溶液(0、10、100、1000 mg/L)混合 1 min 后,吸取 100 μ L 混合液涂布在 PDA 表面,并将其置于 25 °C 条件下培养 72 h 后统计每个平板中的菌落数。每个处理 3 个重复,每个重复不少于 3 个平板,统计结果单位用 CFU/plate 表示。

1.2.2.2 谷氨酸对 *A.alternata* 孢子萌发的影响 将谷氨酸溶液加入 PDB 培养基后使其最终浓度分别达到 0、10、100 和 1000 mg/L,随即接入最终浓度为 10^5 spores/mL 的 *A.alternata* 孢子悬浮液,25 °C 条件下摇床震荡培养 24 h 后,对至少 100 个孢子的萌发情况在显微镜下进行统计分析。每个处理 3 个重复,每个重复不少于 3 个样品,平均孢子萌发率用%表示。

1.2.3 樱桃番茄果实处理与取样

1.2.3.1 谷氨酸诱导处理时间对樱桃番茄果实黑斑病的影响 在大量预实验和前期研究基础上^[19],继续选用下述谷氨酸浓度和诱导时间开展后续试验。将果实浸泡于 0.1% 次氯酸钠 2 min 后,用水清洗干净,晾干备用。番茄果实随机分为 2 组:对照组浸泡于水 10 min 后取出晾干;谷氨酸处理组浸泡于谷氨酸溶液(100 mg/L)10 min 后取出晾干。在 25 °C,相对湿度高于 95% 条件下分别诱导处理 0、12、24 和 36 h 后,在果实表面赤道部位制造 1 个伤口(直径 3 mm,深 2 mm),随即接入浓度为 10^4 spores/mL 的 *A.alternata* 孢子悬浮液 20 μ L。将处理后的果实密封并置于恒温恒湿箱内,定时观察果实的发病情况,每个处理 3 个平行,每个平行 25 个果实。

1.2.3.2 取样 为了测定果实的酶活性和基因表达量,将经过上述 2 个处理(对照组和谷氨酸处理组)的番茄置于恒温恒湿条件下(25 °C,相对湿度高于 95%),分别于 0、12、24、36 和 48 h 切取果实表皮组织并立即用液氮冷冻,置于 -80 °C 下保存备用。

1.2.4 指标测定

1.2.4.1 孢子萌发率的测定

$$\text{孢子萌发率}(\%) = \frac{\text{孢子萌发个数}}{\text{孢子总数}} \times 100$$

1.2.4.2 果实发病率的测定

$$\text{发病率}(\%) = \frac{\text{果实发病个数}}{\text{果实总个数}} \times 100$$

1.2.4.3 病程相关蛋白编码基因表达丰度的测定 果实组织总 RNA 提取参照 Luan 等^[20] 的 Trizol 方法。通过 Primescript™ RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒合成 cDNA 后,参照 SYBR® Premix Ex Taq™ 试剂盒说明,利用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 方法测定病程相关蛋白编码基因的表达式。目的基因引物设计利用 Primer Premier 7.0 软件 (PREMIER Biosoft International) 进行,具体引物序列如表 1 所示,以 *LeActin* 为内参基因。基因的相对定

表1 病程相关蛋白编码基因引物序列
Table 1 Primer sequences of PR genes

基因(序号)	引物序列(F 5'-3')	引物序列(R 5'-3')
<i>LeActin</i> (AB199316)	TCGGAATGGGACAGAAGGATGCG	TGCCTCAGTCAGGAGAACAGGG
<i>LePR1</i> (X71592)	TGGTATGGCGTAAGTCGGTA	CTTGAATCAAAGTCCGGT
<i>LePR5</i> (GU184125)	TGAATGCCCTGGTTTCGCT	CATCGGGACATCTTTGTTTGA
<i>LeCH3</i> (NM_001247475)	CAATTCGTTTCCAGGTTTTG	ACTTTCGCTGCAGTATTTG
<i>LeCH9</i> (NM_001247474)	AATTGTCAGGCCAGTGTCC	TCCAAAAGACCTCTGATTGC
<i>LePOD</i> (X94943)	TGAGAGAACAGCTCCTCCGA	AAACTCGTCCATCTGTGCGT

量利用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算^[21]。当处理组目的基因转录水平为对照组的2倍及以上时,表示该基因上调表达;当处理组基因表达量为对照组的0.5倍以下时,则认为该基因下调表达。

1.2.4.4 酶活性测定 β -1,3-葡聚糖酶(β -1,3-glucanase, GLU)活性测定参照 Zheng 等^[22]的方法,几丁质酶(chitinases, CHI)活性利用南京建成生物工程研究所试剂盒测定,过氧化物酶(peroxidase, POD)活力依据 Lurie 等^[23]的愈创木酚法测定。按照 Bradford^[24]方法检测组织中蛋白质的含量。果实组织酶活性以每毫克蛋白中的酶活力表示,单位为 U/mg。

1.3 数据处理

整个实验至少重复2次,直到2次实验结果保持一致。实验数据利用 SPSS/PC ver.II.x 软件进行邓肯氏(Duncan's)差异分析, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 谷氨酸对病原菌 *A. alternata* 体外生长的影响

为进一步明确谷氨酸对病原菌的作用,研究了在体外条件下不同浓度谷氨酸对 *A. alternata* 生长的影响。结果如表2所示,在 PDA 培养基上,谷氨酸对病原菌的存活菌落数没有产生明显的影响;同时,在 PDB 培养条件下,各个浓度的谷氨酸对病原菌的孢子萌发也无显著抑制效果。显然,在本次试验条件下,谷氨酸不会对病原菌 *A. alternata* 产生直接的抑制作用。

表2 谷氨酸对病原菌 *A. alternata* 在 PDA 和 PDB 培养基中生长的影响

Table 2 Effect of glutamate on *A. alternata* survival in PDA and PDB

谷氨酸浓度(mg/L)	PDA 上菌落数(CFU/plate)	PDB 中孢子萌发率(%)
0	10.0 ± 2.6 ^a	68.3 ± 4.3 ^a
10	9.3 ± 3.5 ^a	62.0 ± 5.7 ^a
100	10.3 ± 1.9 ^a	69.0 ± 5.1 ^a
1000	9.8 ± 3.2 ^a	63.9 ± 4.8 ^a

注:不同的字母表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 谷氨酸诱导处理时间对樱桃番茄果实黑斑病的影响

如图1所示,谷氨酸对番茄果实黑斑病的抑制效果与其诱导处理时间密切相关。当果实未经谷氨酸诱导直接接入病原菌 *A. alternata* 时,其发病率与对照组相比无明显差异,即谷氨酸对番茄黑斑病并无

直接抑制作用。然而当谷氨酸诱导时间延长至24和36 h时,果实的发病率显著低于对照组,分别降低了约30.8%和29.5%。

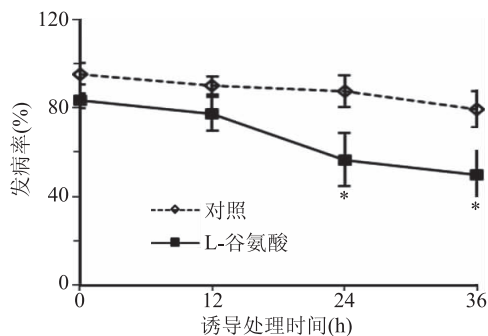


图1 谷氨酸诱导处理时间对番茄果实发病率的影响

Fig.1 Effect of glutamate on disease incidence of tomato fruit
注: *表示对照组与处理组差异显著($P < 0.05$)。

2.3 谷氨酸对病程相关蛋白编码基因的影响

谷氨酸处理组的 *LePR1* 基因被迅速诱导表达,在12和24 h时,其转录水平分别为对照组的9.1倍和14.2倍(图2A)。由图2B所示, *LePR5* 基因在被谷氨酸诱导处理24 h时上调表达约2.8倍。PRs家族中PR3和PR4具有几丁质酶特性,结果显示编码几丁质酶的基因 *LeCH3* 和 *LeCH9* 变化规律一致,尤其是在48 h时,谷氨酸处理组 *LeCH3* 转录水平为对照组的3.7倍(图2C)。PR9具有过氧化物酶活性,RT-qPCR检测结果表明, *LePOD* 与 *LePR1* 表达趋势类似,可被谷氨酸快速激活,尤其在12 h时基因相对表达量约为对照组的16.0倍(图2E)。

2.4 谷氨酸对 β -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶和过氧化物酶活性的影响

病程相关蛋白PRs是参与植物诱导抗性的重要机制之一,图3显示了经谷氨酸处理后, β -1,3-葡聚糖酶、几丁质酶和过氧化物酶等在果实组织内的变化趋势。由图3A可知,对照组在整个贮藏期间GLU无明显变化,而果实经谷氨酸处理12 h后,GLU活性逐渐上升,24 h时达到酶活高峰,约为对照组的1.3倍。CHI显示了与GLU相近的变化规律,谷氨酸处理果实后可快速提高CHI活性,同样在24 h时达到峰值(图3B)。谷氨酸处理组POD活性整体呈先升后降趋势,至24 h时达到峰值,而后虽然开始下降,但其酶活性依然高于对照组(图3C)。

3 讨论与结论

本研究中,谷氨酸作为外源因子可以有效抑制

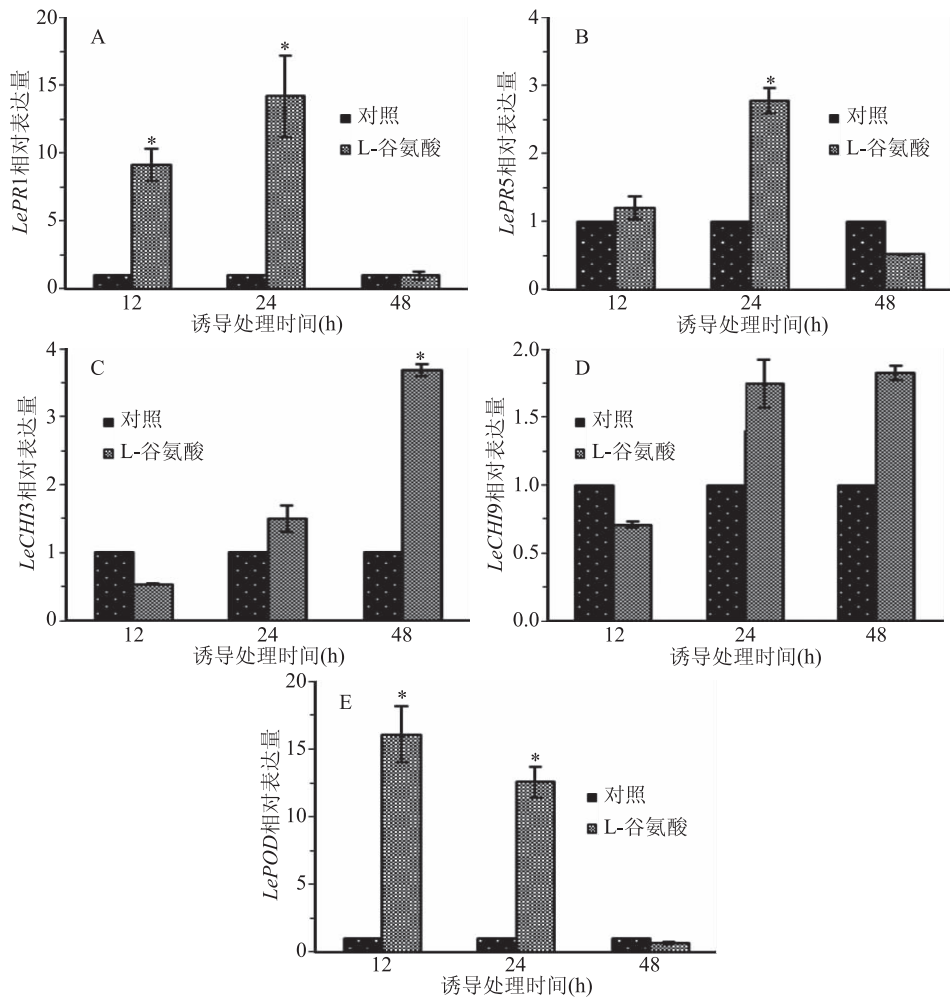


图2 谷氨酸对樱桃番茄果实 PRs 基因的影响

Fig.2 Effect of glutamate on the gene expression of PRs in cherry tomato fruit

注: *表示目的基因显著上调表达, $P < 0.05$ (Fold change ≥ 2)。

由 *A.alternata* 引起的番茄黑斑病,且其抑制效果与对果实的诱导处理时间密切相关。当番茄未经谷氨酸诱导时,其对 *A.alternata* 的侵染无任何抵御能力,然而随着诱导时间的增加,尤其是达到 24 h 及以上时,果实对黑斑病的防御能力显著提升。事实上,在外源因子的激发下,果实诱导抗性的形成通常需要一定的时间响应^[25]。如利用外源草酸处理甜瓜时,当诱导时间达到 48 h 以上才可以有效启动果实自身抗性抵御 *Trichothecium roseum* 的侵染^[26]。同时,体外试验结果显示谷氨酸对 *A.alternata* 在 PDA 上的生长以及在 PDB 中的孢子萌发状态并无任何影响。以上结果暗示,谷氨酸有效抵御病原菌的侵染可能是通过诱导提高果实自身抗性,而非直接的抑菌作用。

病程相关蛋白被认为是植物诱导抗性的重要生化机制之一,可以直接或者间接的抑制病原菌的生长、传播,具有潜在的抑菌活性。大量研究表明,PR1 蛋白是植物诱导系统获得性抗性激活的标志蛋白,并与水杨酸信号路径紧密相关^[27]。本研究结果显示,编码 PR1 蛋白的 *LePR1* 基因可被谷氨酸快速强烈诱导表达,这与 Kadotani 等^[28]报道结果类似,当用谷氨酸处理过水稻根部后,不论是其根部组织还是叶片组织,与水杨酸相关的基因,如 *OsPR1b* 基因显

著上调表达。葡聚糖和几丁质是真菌细胞壁的主要成分,具有 β -1,3-葡聚糖酶和几丁质酶特性的 PRs 可通过分解这两种物质破坏病原真菌细胞壁的结构。已有证据显示,PR5 蛋白可特异性地与 β -1,3-葡聚糖结合,具有 β -1,3-葡聚糖酶活性^[29]。

本研究中,编码 PR5 蛋白的 *LePR5* 基因和 β -1,3-葡聚糖酶活性均可被谷氨酸诱导激活。同时,谷氨酸处理对果实中的几丁质酶及其编码基因 *LeCHI3* 和 *LeCHI9* 也有类似的诱导作用。另外,PR9 蛋白具有过氧化物酶活性,可通过催化合成木质素强化细胞壁抵御病原菌的侵染。谷氨酸处理不仅诱导 *LePOD* 基因上调,还使得 POD 活性大大提高。葛永红等^[30]利用苯丙噻重氮处理苹果后发现大大促进了果实体内病程相关蛋白(如 β -1,3-葡聚糖酶,几丁质酶和过氧化物酶)的积累,这与本研究结果类似。由上述结果推断,谷氨酸对 *A.alternata* 的作用机制可能与其诱导了番茄果实体内的病程相关蛋白有关。

综上,谷氨酸对病原菌 *A.alternata* 没有直接的抑制作用,其防御果实病害的机制可能是通过诱导提高番茄果实自身的抗性。谷氨酸处理可通过诱导编码病程相关蛋白的基因上调,如 *LePR1*、*LePR5*、*LeCHI3*、*LeCHI9* 和 *LePOD*,并提高 β -1,3-葡聚糖酶、

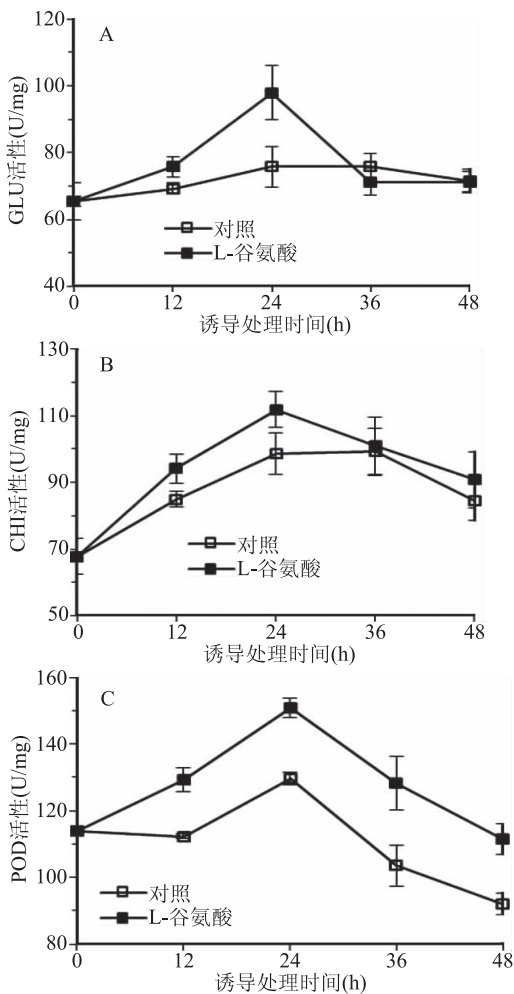


图3 谷氨酸对樱桃番茄果实 GLU, CHI 和 POD 活性的影响

Fig.3 Effect of glutamate on the activities of GLU, CHI and POD in cherry tomato fruit

几丁质酶和过氧化物酶的活性,最终增强果实抵御病原菌的能力。然而,谷氨酸作为新型的化学诱导因子,其诱导抗性机制还有待后续进一步研究,以其商业化提供坚实的理论基础。

参考文献

- [1] Diana M, Quílez J, Rafecas M. Gamma-aminobutyric acid as a bioactive compound in foods: A review [J]. Journal of Functional Foods, 2014, 10(3):407-420.
- [2] Nunes C A. Biological control of postharvest diseases of fruit [J]. European Journal of Plant Pathology, 2012, 133(1):181-196.
- [3] Louw J P, Korsten L. Impact of postharvest storage on the infection and colonization of *Penicillium digitatum* and *Penicillium expansum* on nectarine [J]. Plant Disease, 2019, 103(7):1584-1594.
- [4] Nair A, Kolet S P, Thulasiram H V, et al. Systemic jasmonic acid modulation in mycorrhizal tomato plants and its role in induced resistance against *Alternaria alternata* [J]. Plant Biology, 2015, 17(3):625-631.
- [5] Sánchez - Torres P, Vilanova L, Ballester A R, et al. Unravelling the contribution of the *Penicillium expansum* PeSt12

transcription factor to virulence during apple fruit infection [J]. Food Microbiology, 2018, 69:123-135.

[6] Tian S P, Torres R, Ballester A R, et al. Molecular aspects in pathogen - fruit interactions: Virulence and resistance [J]. Postharvest Biology & Technology, 2016, 122:11-21.

[7] Vilanova L, Teixidó N, Torres R, et al. The infection capacity of *P. expansum* and *P. digitatum* on apples and histochemical analysis of host response [J]. International Journal of Food Microbiology, 2012, 157(3):360-367.

[8] Künstler A, Bacsó R, Gullner G, et al. Staying alive is cell death dispensable for plant disease resistance during the hypersensitive response [J]. Physiological & Molecular Plant Pathology, 2016, 93:75-84.

[9] Shores M, Harman G E, Mastouri F. Induced systemic resistance and plant responses to fungal biocontrol agents [J]. Annual Review of Phytopathology, 2010, 48:21-43.

[10] 俞振明,李家玉,林志华,等.植物抗性诱导防御病虫害的研究进展[J].农业科学研究,2013,34(2):69-76.

[11] Van Loon L C, Rep M, Pieterse C M J. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants [J]. Annual Review of Phytopathology, 2006, 44(1):135-162.

[12] Tian S P, Yao H J, Deng X, et al. Characterization and expression of beta-1,3-glucanase genes in jujube fruit induced by the microbial biocontrol agent *Cryptococcus laurentii* [J]. Phytopathology, 2007, 97(3):260-268.

[13] 路来风.海洋拮抗酵母 *Rhodospiridium paludigenum* 对柑橘果实抗性的增强效应及其生物学机理研究[D].杭州:浙江大学,2015.

[14] Ma Z, Yang L, Yan H, et al. Chitosan and oligochitosan enhance the resistance of peach fruit to brown rot [J]. Carbohydrate Polymers, 2013, 94(1):272-277.

[15] Van Loon L C, Strien E A V. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins [J]. Physiological & Molecular Plant Pathology, 1999, 55(2):85-97.

[16] 张培岭,黄伟,马玲,等.链格孢感染对甜瓜病程相关蛋白活性及基因表达的影响[J].食品工业科技,2017(18):290-294.

[17] Galili G, Tang G L, Zhu X H, et al. Lysine catabolism: A stress and development super-regulated metabolic pathway [J]. Current Opinion in Plant Biology, 2001, 4(3):261-266.

[18] Seifi H S, Van Bockhaven J, Angenon G, et al. Glutamate metabolism in plant disease and defense: Friend or foe [J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2013, 26(5):475-485.

[19] Jin L, Cai Y, Sun C, et al. Exogenous L- glutamate treatment could induce resistance against *Penicillium expansum* in pear fruit by activating defense - related proteins and amino acids metabolism [J]. Postharvest Biology and Technology, 2019, 150:148-157.

[20] Luan F L, Han Y S, Shao Y, et al. Effective isolation of high-quality total RNA from polysaccharide or polyphenol-rich fruits [J]. Food Science, 2009, 30(13):29-32.

[21] Livak K, Schmittgen T. Analysis of relative gene expression

data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method [J]. *Methods*, 2000, 25(4):402-408.

[22] Zheng Y, Sheng J, Zhao R, et al. Preharvest L-arginine treatment induced postharvest disease resistance to *Botrytis cinerea* in tomato fruits [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2011, 59(12):6543-6549.

[23] Lurie S, Fallik E, Handros A, et al. The possible involvement of peroxidase in resistance to *Botrytis cinerea* in heat treated tomato fruit [J]. *Physiological & Molecular Plant Pathology*, 1997, 50(3):141-149.

[24] Bradford M M. A rapid method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72:248-254.

[25] Sticher L B, Mauch-Mani B, Metraux J P. Systemic acquired resistance [J]. *Annual Review of Phytopathology*, 1997, 35(1):235-270.

(上接第253页)

Q-Orbitrap-MS-based metabolomics and correlation analysis [J]. *Front Pharmacol*, 2018(10):329.

[7] Yu J, Xie J, Mao X J, et al. Hepatotoxicity of major constituents and extractions of *Radix Polygoni Multiflori* and *Radix Polygoni Multiflori Praeparata* [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 137:1291-1299.

[8] Chang Y X, Ge A, Jiang Y, et al. A bioactivity-based method for screening, identification of lipase inhibitors, and clarifying the effects of processing time on lipase inhibitory activity of *Polygonum multiflorum* [J]. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, 2016:5965067.

[9] Seung R S, Gu K, Jeong W H, et al. *In vivo* hair growth-promoting efficacies of herbal extracts and their cubosomal suspensions [J]. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 2013, 19(4):1331-1139.

[10] Lee B H, Huang Y Y, Duh P D, et al. Hepatoprotection of emodin and *Polygonum multiflorum* against CCl_4 -induced liver injury [J]. *Pharmaceutical Biology*, 2012, 50(3):351-359.

[11] Xie W, Zhao Y, Du L. Emerging approaches of traditional Chinese medicine formulas for the treatment of hyperlipidemia [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2012, 140(2):345-367.

[12] 高淑红, 苏珍枝, 肖学凤. 制何首乌化学成分及药理作用研究进展 [J]. *山西中医学院学报*, 2012, 13(2):74-77.

[13] 贾灿潮, 李俊妮, 李荣, 等. 中药快速分析技术的发展及其前景 [J]. *药物分析杂志*, 2018, 38(09):1476-1483.

[14] 师莹, 陈娅, 符宜谊, 等. 色差计在食品品质检测中的应用 [J]. *食品工业科技*, 2009, 30(5):373-375.

[15] 张慧慧. 基于色彩色差计的中药加工炮制颜色测量的可行性考察 [C]// 中华中医药学会中药炮制分会 2008 年学术研讨会. 江西: 中华中医药学会中药炮制分会, 2008:300-305.

[16] 崔真真, 王海凌, 张冰, 等. 何首乌研究进展 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2019, 21(1):172-174.

[17] 于瑞丽, 门伟婕, 周昆, 等. 何首乌毒性物质基础及肝毒性机制研究进展 [J]. *中国药物警戒*, 2019, 16(8):496-503.

[26] Deng J, Bi Y, Zhang Z, et al. Postharvest oxalic acid treatment induces resistance against pink rot by priming in muskmelon (*Cucumis melo* L.) fruit [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2015, 106:53-61.

[27] Liu S L, Wu J, Zhang P, et al. Response of phytohormones and correlation of SAR signal pathway genes to the different resistance levels of grapevine against *Plasmopara viticola* infection [J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2016, 107:56-66.

[28] Kadotani N, Akagi A, Takatsuji H, et al. Exogenous proteinogenic amino acids induce systemic resistance in rice [J]. *BMC Plant Biology*, 2016, 16(1):60.

[29] 郭峻. 生防酵母 (*C.laurentii*) 诱导条件下 *LePR5* 基因表达、功能验证及调控方式的探索 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014.

[30] 葛永红, 李灿婴, 朱丹实, 等. 采后 BTH 处理对苹果果实苯丙烷代谢和病程相关蛋白积累的增强作用 [J]. *食品工业科技*, 2015, 36(5).

[18] Liu Y, Wan Q, Yang J B, et al. *Polygonum multiflorum* thunb: A review on chemical analysis, processing mechanism, quality evaluation, and hepatotoxicity [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2018, 9:364.

[19] 刘振丽, 李林福, 宋志前, 等. 何首乌炮制后新产生成分的分离和结构鉴定 [J]. *中药材*, 2007, 30(12):1505-1507.

[20] 戈大春, 沈多荣, 王卓君. 炮制对决明子中六种游离蒽醌含量的影响 [J]. *世界中医药*, 2018, 13(7):1763-1765.

[21] 张晓溪, 曾艳, 张泽生, 等. 果糖与氨基酸美拉德反应产物的抗氧化性研究 [J]. *食品工业科技*, 2016, 32(6):175-178.

[22] 王辉, 雷攀登, 刘亚芹, 等. 茶叶加工中美拉德反应对品质形成与安全的影响分析 [J]. *食品工业科技*, 2019, 40(5):291-294, 299.

[23] Cui H L, Zhang Y N, Shi X L, et al. The numerical classification and grading standards of daylily (*Heemerocallis*) flower color [J]. *PLoS One*, 2019, 14(6):e0216460.

[24] 杨景明, 姜华, 王紫玮, 等. 防风多糖的提取分离与含量测定方法研究 [J]. *吉林中医药*, 2016, 36(5):513-516.

[25] 林水花, 黄幼霞, 黄小艺, 等. 不同决明子炮制品蒽醌类化合物含量及抗氧化活性比较 [J]. *福建中医药*, 2019, 50(2):41-42, 50.

[26] 刘明研, 冯亚娟, 黄秋正, 等. 蒸制时间对滇黄精色泽、可溶性成分及糖含量的影响 [J]. *食品工业科技*, 2019, 40(5):37-41, 47.

[27] 成颜芬, 聂欣, 谭睿, 等. 基于经典“九蒸九晒”法不同炮制程度何首乌的化学质量概貌评价 [J]. *中国中药杂志*, 2019, 44(23):5151-5158.

[28] 李瑞琦, 吴翠, 徐靓, 等. 附子色泽与化学成分含量的相关性研究 [J]. *药物分析杂志*, 2019, 39(7):1315-1322.

[29] 白竣文, 彭泽康, 吴学岑, 等. 中短波红外干燥白果的色泽变化预测及品质研究 [J]. *食品工业科技*, 2020, 41(2):269-274, 280.

[30] 叶春, 范家佑. 何首乌营养成分分析研究 [J]. *食品研究与开发*, 2006(5):127-129.