

BABA处理对葡萄果实采后灰霉病的影响及机理

龙清红, 高 梵, 李晓安, 金 鹏, 郑永华*

(南京农业大学食品科技学院, 江苏 南京 210095)

摘 要:以‘巨峰’葡萄果实为实验材料, 研究 β -氨基丁酸(β -aminobutyric acid, BABA)处理对葡萄果实灰霉病、抗病相关酶活性和总酚含量的影响。葡萄果实先用75 mmol/L的BABA溶液处理后刺伤接种灰霉葡萄孢菌, 然后转入25 °C贮藏60 h。结果发现, BABA处理有效抑制了‘巨峰’葡萄果实的腐烂和病斑的扩展; 同时BABA处理还诱导了果实中几丁质酶、 β -1,3葡聚糖酶、苯丙氨酸解氨酶、4-香豆酰辅酶A连接酶和肉桂酸羟化酶等抗病相关酶活性以及总酚含量的提高。结果表明, BABA可诱导葡萄果实产生抗病性, 从而减少灰霉病的发生。

关键词:葡萄果实; β -氨基丁酸; 灰霉病; 抗病相关酶; 诱导抗病性

Effect and Mechanism of β -Aminobutyric Acid on Incidence of Grey Mold Decay in Postharvest Grapes

LONG Qinghong, GAO Fan, LI Xiao'an, JIN Peng, ZHENG Yonghua*

(College of Food Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The effects of β -aminobutyric acid (BABA) treatment on postharvest grey mold decay, the activities of defense-related enzymes and total phenolics content in Kyoho grapes were investigated. The grape fruits were pretreated with 75 mmol/L BABA, inoculated with *Botrytis cinerea*, and then stored at 25 °C for 60 h. The results showed that BABA treatment resulted in significantly lower disease incidence and smaller lesion diameter compared with the control fruit. Meanwhile, BABA treatment enhanced the activities of defense-related enzymes including chitinase, β -1,3 glucanase, phenylalanine ammonia-lyase, 4-coumarate coenzyme A ligase and cinnamate-4-hydroxylase and increased the content of total phenolics. These results suggest that BABA treatment can reduce the incidence and severity of gray mold decay by inducing disease resistance in grapes.

Key words: grape fruit; β -aminobutyric acid; gray mold decay; defense-related enzymes; induced disease resistance

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201614039

中图分类号: TS255.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2016)14-0213-06

引文格式:

龙清红, 高梵, 李晓安, 等. BABA处理对葡萄果实采后灰霉病的影响及机理[J]. 食品科学, 2016, 37(14): 213-218.

DOI:10.7506/spkx1002-6630-201614039. <http://www.spkx.net.cn>

LONG Qinghong, GAO Fan, LI Xiao'an, et al. Effect and mechanism of β -aminobutyric acid on incidence of grey mold decay in postharvest grapes[J]. Food Science, 2016, 37(14): 213-218. (in Chinese with English abstract) DOI:10.7506/spkx1002-6630-201614039. <http://www.spkx.net.cn>

葡萄属于浆果类果实, 果实皮薄多汁, 酸甜可口, 营养丰富^[1]。但葡萄成熟于高温多雨的夏季, 采后易遭受灰霉葡萄孢等病原菌的侵染而发生腐烂, 同时贮藏期间也易发生果梗变色和果粒脱落等现象^[2], 造成严重的经济损失。目前国内外主要采用冷藏结合SO₂熏蒸技术对葡萄果实进行长期保鲜, 但SO₂处理易产生果实漂白和对人体健康可能造成损害^[3], 许多欧美国家逐渐限制SO₂在葡萄采后保鲜中的应用。因此, 寻找安全、有效的葡萄果实采后保鲜方法显得尤为必要。

β -氨基丁酸(β -aminobutyric acid, BABA)是一种具有多种生理活性的非蛋白质氨基酸, 它可诱导多种植物产生胍胍质、活性氧和病程相关(pathogenesis related, PR)蛋白等抗性相关物质, 从而提高植物的抗病性^[4-5]。已有研究表明, BABA处理可诱导辣椒^[6]、马铃薯^[7]和黄瓜^[8]等多种作物对多种病害产生抗性。在采后果蔬方面的研究发现, BABA处理可诱导采后葡萄柚^[9]、砂糖橘^[10]和香蕉^[11]等果实分别对绿霉病、青霉病和炭疽病菌等

收稿日期: 2016-01-12

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(31172003)

作者简介: 龙清红(1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail: 2013108072@njau.edu.cn

*通信作者: 郑永华(1963—), 男, 教授, 博士, 研究方向为农产品加工与贮藏。E-mail: zhengyh@njau.edu.cn

产生抵抗力;同时BABA处理诱导了采后苹果中几丁质酶(chitinase, CHI)、 β -1,3葡聚糖酶(β -1,3-glucanase, GLU)及苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)等抗病相关酶活性的提高^[11],诱导提高了采后芒果中PAL等防御酶的活性^[13],从而增强了这些果实的抗病性,有效减轻贮藏病害的发生。但有关BABA对葡萄果实抗病保鲜的作用的研究鲜见报道。为此,本实验以‘巨峰’葡萄果实为实验材料,研究了BABA处理对葡萄果实灰霉病发生和抗病相关酶活性的影响,以探究BABA处理对葡萄果实灰霉病的抑制作用及其可能机理,为BABA处理在葡萄果实采后保鲜中的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与菌种

供试材料为‘巨峰’葡萄(*Vitis vinifera* L. \times *Vitis labrusca* L. ‘Kyoho’),采摘于江苏省南京市江心洲葡萄园,采后立即运回实验室。选择无病害、无机械损伤、大小均匀、色泽统一和成熟度一致的果穗,摊晾去除田间热后将葡萄果粒剪下。

灰霉病原菌(*Botrytis cinerea*)分离于腐烂的葡萄果实,经鉴定后回接实验室,从发病的葡萄果实病健交界处再次分离纯化,挑取单孢进行扩大培养,接入到马铃薯葡萄糖琼脂(potato dextrose agar, PDA)培养基试管斜面的培养基上,置于25℃培养箱中培养2周,取出后置于4℃冰箱中保存待用。接种前,将斜面菌种活化2周后用灭菌生理盐水调整至 1×10^5 个/mL,现配现用。

1.2 试剂与仪器

碳酸钠、 β -巯基乙醇、昆布多糖、3,5-二硝基水杨酸、二硫苏糖醇、柠檬酸、乙二胺四乙酸二钠 国药集团化学试剂有限公司;过氧化氢、福林酚试剂 南京寿德试剂器材有限公司;氮蓝四唑、核黄素、L-苯丙氨酸、L-蛋氨酸 上海瑞永生物科技有限公司;BABA、几丁质、*p*-香豆酸、反式肉桂酸 美国Sigma公司;丙酮、冰醋酸、三氯化铝、无水乙醇、乙酸乙酯均为国产分析纯。

GL-20G-H型冷冻离心机 上海安亭科学仪器有限公司;UV-1600型分光光度计 上海美普达仪器有限公司;FA1104N电子天平 上海精密科学仪器有限公司。

1.3 方法

1.3.1 处理分组

将葡萄果粒随机分成2组。先用70%的酒精溶液擦拭果实表面需要接种的位置,然后用灭菌的移液枪枪头在果实赤道部位刺尺寸深2 mm、直径2 mm的孔,处理组用微量移液枪注入20 μ L浓度为75 mmol/L的BABA溶液(在预实验中采用0、25、50、75、100 mmol/L的BABA

处理葡萄果实,然后接种灰霉葡萄孢菌,发现75 mmol/L的BABA处理抑制果实灰霉病的效果最好,故本实验采用此浓度研究相关机理),24 h后用微量移液枪向孔中注入15 μ L预先配制好的浓度为 1×10^5 个/mL的灰霉葡萄孢子悬浮液。接种结束后将葡萄果粒分装到塑料盒中,贮藏于室温(25 ± 1)℃条件下60 h,每12 h观察果粒的发病率和病斑直径。同时取果实病斑外围2~10 mm的果肉样品,切碎混匀后用液氮速冻并置于一80℃保存,以测定其他指标。每个处理选用350个果粒,重复3次。

1.3.2 发病率和病斑直径的测定

$$\text{发病率}/\% = \frac{\text{发病果粒数}}{\text{总果粒数}} \times 100$$

病斑直径用游标卡尺测量果实病斑的直径大小。葡萄接种处病斑直径大于1 mm即为发病。

1.3.3 总酚和总黄酮含量的测定

总酚含量采用Folin-Ciocalteu法^[14]测定,总黄酮含量测定参照Toor等^[15]的方法,单位均为mg/kg(以鲜质量计)。

1.3.4 活性氧代谢相关酶活性和H₂O₂含量的测定

过氧化氢酶(catalase, CAT)活性测定参照Cakmak等^[16]的方法,以每分钟在240 nm波长处吸光度变化0.001为1个酶活性单位,单位为U/mg pro;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性测定参照Rao等^[17]的方法,以抑制NBT光还原50%为1个酶活性单位,单位为U/mg pro;抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)活性测定参照Amako等^[18]的方法测定,以反应溶液的吸光度在290 nm波长处每分钟变化0.001定义为1个酶活性单位,单位为U/mg pro。H₂O₂含量测定参照Patterson等^[19]的测定方法,单位为 μ mol/g(以鲜质量计)。

1.3.5 抗病相关酶活性的测定

CHI活性参照Abeles等^[20]的方法测定,称取1.0 g果肉,加入5 mL pH 5.0的柠檬酸-磷酸氢二钠缓冲液,冰浴条件下研磨,4℃、12 000 \times g离心20 min,取上清液测定酶活性,以每分钟增加0.001光密度值所需要的酶量为1个CHI活力单位,单位为U/mg pro;GLU活性参照Abeles等^[20]的方法测定,以每小时生成1 mg葡萄糖为1个GLU活力单位,结果以U/mg pro表示。

1.3.6 苯丙烷代谢相关酶活性的测定

PAL活性参照Assis等^[21]的方法测定,略有改动,以反应液每小时在290 nm波长处吸光度变化0.001为1个酶活单位,结果用U/mg pro表示;4-香豆酸辅酶A连接酶(4-coumarate coenzyme A ligase, 4-CL)活性测定参照Knobloch等^[22]的方法测定,以333 nm波长处每分钟吸光度变化0.01为1个酶活单位,结果以U/mg pro表示;肉桂酸4-羟化酶(cinnamate-4-hydroxylase, C4H)活性测定

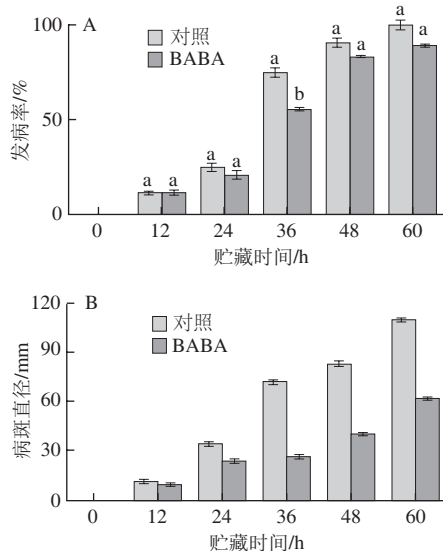
参照Lamb等^[23]的方法测定,酶活性以反应液在340 nm波长处的吸光度每分钟变化0.01为1个酶活性单位,结果以U/mg pro表示。

1.4 数据处理与分析

采用Origin 8.5统计分析软件对实验数据进行处理,用邓肯氏多重比较方法进行差异显著性检验,5%为显著水平。

2 结果与分析

2.1 BABA处理对葡萄果实发病率与病斑直径的影响



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图1 BABA处理对葡萄果实发病率(A)和病斑直径(B)的影响
Fig. 1 Effects of BABA treatment on disease incidence (A) and lesion diameter (B) of grapes during storage

如图1所示,葡萄果实在接种病菌12 h后即发病,随着时间的延长,葡萄果实的发病率呈不断上升趋势,BABA处理能够抑制接种葡萄果实的腐烂,在25℃条件下贮藏60 h后,BABA处理组果实发病率为88% (图1A),显著低于对照组的100% ($P < 0.05$)。葡萄果实接种病菌后,病斑直径随贮藏时间的推移逐渐增大,BABA处理可显著抑制果实病斑的扩展,在25℃条件下贮藏60 h后,BABA处理组的病斑直径为6.17 cm (图1B),显著低于对照组的11.03 cm ($P < 0.05$)。

2.2 BABA处理对葡萄果实总酚和总黄酮含量的影响

如图2所示,总酚含量在贮藏期间出现先急剧上升后下降的趋势,在12 h时出现快速增长,处理组在36 h达到277.8 mg/kg,显著高于对照组 ($P < 0.05$); BABA处理后,葡萄果实中总黄酮含量的下降速率降低,贮藏60 h后,处理组总黄酮含量为对照组的1.25倍,显著高于对

照组 ($P < 0.05$),说明BABA处理增加了总酚含量,延缓了总黄酮含量的降低。

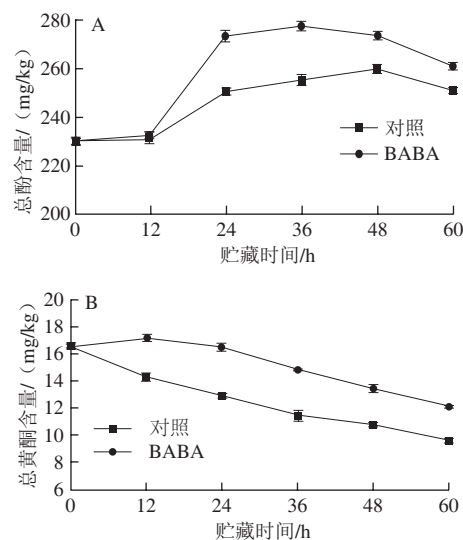
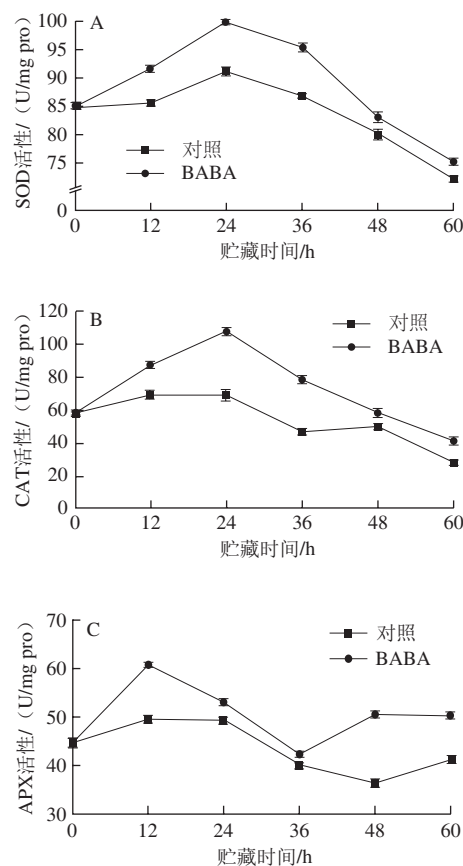


图2 BABA处理对葡萄果实贮藏期间总酚(A)和总黄酮(B)含量的影响

Fig. 2 Effects of BABA treatment on total phenolics (A) and flavonoid (B) contents of grapes during storage

2.3 BABA处理对葡萄果实SOD、CAT、APX活性和H₂O₂含量的影响



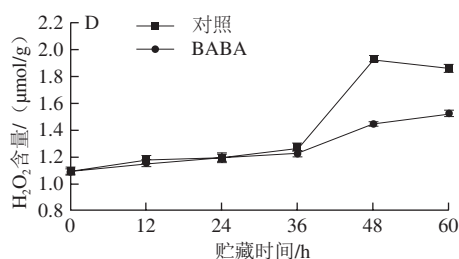


图3 BABA处理对葡萄果实在贮藏期间SOD (A)、CAT (B)、APX (C) 活性和H₂O₂含量 (D) 的影响

Fig. 3 Effects of BABA treatment on of SOD (A), CAT (B) and APX (C) activities and H₂O₂ content (D) of grapes during storage

如图3所示,在整个贮藏期间,葡萄果实SOD活性在24 h内达到最大值,CAT的活性也达到顶峰(107.7 U/mg pro);随时间逐渐延长,BABA处理显著延缓了SOD和CAT活性的降低($P<0.05$),其活性始终高于对照组。APX活性在贮藏12 h内迅速上升,贮藏后期逐渐下降,经BABA处理的葡萄果实下降速率显著低于对照组($P<0.05$)。果实刺伤以后,H₂O₂的含量随时间的延长而上升,对照组在48 h时出现峰值,是BABA处理组的1.33倍(图3D),说明BABA处理明显抑制了葡萄果实中H₂O₂的积累。

2.4 BABA处理对葡萄果实GLU和CHI活性的影响

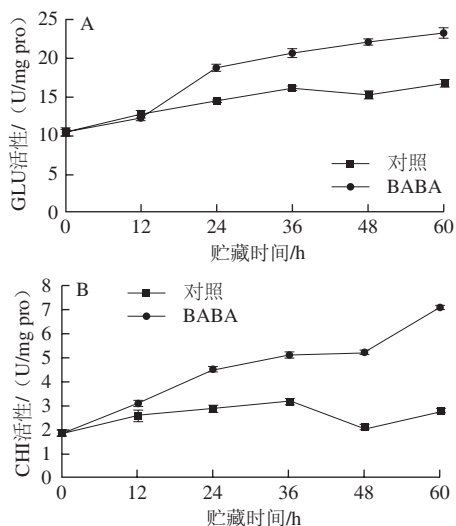


图4 BABA处理对葡萄果实在贮藏期间GLU (A) 和CHI (B) 活性的影响

Fig. 4 Effects of BABA treatment on GLU (A) and CHI (B) activities of grapes during storage

由图4可知,在整个贮藏期间,BABA处理组的GLU和CHI活性都逐渐上升,而对对照组的则上升缓慢;在60 h时,BABA处理组的GLU活性为23.3 U/mg pro,为对照组的1.38倍,显著高于对照组($P<0.05$);而BABA处理组CHI活性在贮藏期开始就被迅速激活,高于对照组。在接菌60 h后,对照组的GLU活性仅为BABA处理组的

72.1%,而BABA处理组果实的CHI的活性更是对照组的2.54倍。

2.5 BABA处理对葡萄果实苯丙烷代谢相关酶活性的影响

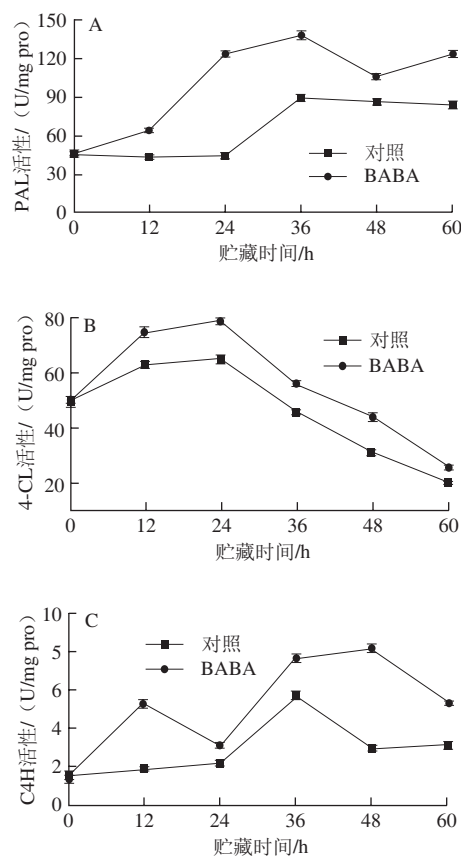


图5 BABA处理对葡萄果实在贮藏期间PAL (A)、4-CL (B) 和C4H (C) 活性的影响

Fig. 5 Effects of BABA treatment on PAL (A), 4-CL (B) and C4H (C) activities of grapes during storage

如图5所示,PAL活性在贮藏过程呈现上升趋势,而且BABA处理组的增长显著快于对照组($P<0.05$),在24 h时BABA处理组的PAL活性为对照组的2.78倍;4-CL在贮藏过程中呈现先上升后下降的趋势,贮藏60 h后,处理组的4-CL活性为25.6 U/mg pro,显著高于对照组($P<0.05$),说明BABA处理有效地抑制了其活性的降低;C4H活性整体呈现上升趋势,与PAL的变化相呼应,且BABA处理组的C4H活性始终高于对照组(图5C)。

3 讨论

诱导抗病性是植物一种重要的抗病机制,采用各种物理、化学或生物激发子处理可诱导植物组织CHI等抗病相关酶合成并提高其活性,同时刺激苯丙烷代谢途径促进总酚、木质素等抗病相关物质的合成,从而提

高植物的抗病性^[24]。近年来的研究发现BABA作为一种新型的化学激发子,可诱导采后果蔬产生抗病性。如Zhang Changfeng等^[12]发现BABA处理可以显著诱导提高苹果果实CHI、GLU和POD等抗病相关酶活性,增强果实对青霉病的抗病能力。在本研究中,BABA处理提高了CHI、GLU和PAL等抗病相关酶的活性和总酚含量,同时抑制了葡萄果实的腐烂,说明BABA处理能诱导提高葡萄果实的抗病性,从而减轻灰霉病的发生。

果蔬在受到病原菌侵染时,常产生一些PR蛋白以抵御病原菌的进一步侵染,而CHI和GLU就是两种重要的PR蛋白^[25]。Porat等^[9]发现BABA处理葡萄柚后,抗病相关酶的活性迅速升高,从而增加了果实对指状青霉侵染的抵抗力;谭卫萍等^[11]研究证明了BABA处理可以不同程度地诱导提高CHI和GLU等的活性,增强香蕉果实对于炭疽病菌的抵抗力。Marcucci等^[26]研究表明,BABA处理可诱导洋葱CHI和GLU活性的提高,增强了其抗病能力。本研究发现,BABA处理抑制了葡萄果实灰霉病的发生和病斑直径的扩展,同时诱导了葡萄果实中CHI和GLU活性的上升。这些结果表明,BABA处理诱导葡萄果实抗病相关酶活性的提高,从而抑制了灰霉病原菌的侵染。

苯丙烷代谢是许多植物次生代谢物质(如木质素、酚类、黄酮类物质等)的生物合成途径,这些次生代谢物质有着重要的抗菌作用,PAL、4-CL和C4H则是苯丙烷代谢途径的关键酶,在果蔬抵御病原菌侵害过程中起着重要的作用。弓德强等^[13]研究发现,BABA处理芒果诱导了PAL等苯丙烷代谢关键酶的活性以及总酚等抗性物质含量,有利于增强果实对采后病害的抗性;Yin等^[27]研究表明,BABA处理可诱导马铃薯PAL的活性,增强了马铃薯的抗病性;王华东等^[28]也发现,经过热处理的枇杷果实PAL的活性增加迅速,而自然腐烂率和接种后腐烂率都受到抑制,说明PAL活性的提升有助于抑制果实腐烂。本研究中,BABA处理显著提高了葡萄果实中PAL和C4H的活性,促进了果实中总酚和总黄酮物质的积累,从而增强了果实对灰霉病的抗性。但是BABA处理对提高苯丙烷代谢相关酶活性的机理还有待进一步探讨。

3 结 论

75 mmol/L BABA处理显著降低了接种灰霉病菌葡萄果实于25℃贮藏时的发病率和病斑直径,从而减轻灰霉病的发生。BABA处理可显著促进葡萄果实GLU、CHI、PAL、4-CL和C4H等抗病相关酶活性的上升,提高总酚含量,从而提高葡萄果实对灰霉病的抗性,减轻果实腐烂发生。

参考文献:

- [1] 李桂芬,刘廷松.葡萄贮藏生理研究进展[J].果树科学,2000,17(1): 63-69. DOI:10.3969/j.issn.1009-9980.2000.01.014.
- [2] 秦丹,石雪晖,胡亚平,等.葡萄采后贮藏保鲜研究进展[J].保鲜与加工,2006,6(1): 9-12. DOI:10.3969/j.issn.1009-6221.2006.01.006.
- [3] 姜璐璐,朱虹,焦凤,等.乙醇处理对葡萄果实常温保鲜的效果[J].食品科学,2013,34(18): 285-289. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201318059.
- [4] COHEN Y, RUBIN A E, KILFIN G. Mechanisms of induced resistance in lettuce against *Bremia lactucae* by *DL*- β -amino-butyric acid (BABA)[J]. European Journal of Plant Pathology, 2010, 126: 553-573. DOI:10.1007/s10658-009-9564-6.
- [5] HAMIDUZZAMAN M M, JAKAB G, BARNAVON L, et al. β -Aminobutyric acid-induced resistance against downy mildew in grapevine acts through the potentiation of callose formation and jasmonic acid signaling[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2005, 18(8): 819-29. DOI:10.1094/MPMI-18-0819.
- [6] 李惠霞,谢丙炎,冯兰香. β -氨基丁酸诱导辣椒产生PR蛋白及其酶活性的变化[J].园艺学报,2006,33(6): 1335-1337. DOI:10.3321/j.issn:0513-353X.2006.06.033.
- [7] 王静,王海霞,田振东. β -氨基丁酸诱导马铃薯对晚疫病的抗性组织化学及信号传导途径分析[J].中国农业科学,2014(13): 2571-2579. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2014.13.009.
- [8] JEUN Y C, KIM K W, KIM K D, et al. Comparative ultrastructure of cucumbers pretreated with plant growth-promoting rhizobacteria, *DL*-3-aminobutyric acid or amino salicylic acid after inoculation with *Colletotrichum orbiculare*[J]. Journal of Phytopathology, 2007, 155(7/8): 416-425. DOI:10.1111/j.1439-0434.2007.01252.x.
- [9] PORAT R, VINOKUR V, WEISS B, et al. Induction of resistance to *penicillium digitatum* in grapefruit by β -aminobutyric acid[J]. European Journal of Plant Pathology, 2003, 109(9): 901-907. DOI:10.1023/B:EJPP.0000003624.28975.45.
- [10] 徐兰英,汪跃华,庞学群,等. BTH和BABA处理对采后沙糖桔病害和品质的影响[J].广东农业科学,2010,37(8): 256-258. DOI:10.3969/j.issn.1004-874X.2010.08.103.
- [11] 谭卫萍,庞学群,张昭其,等. BABA诱导香蕉果实抗病性与贮藏期活性氧积累的关系[J].中国农业科学,2014(16): 3290-3299. DOI:10.3864/j.issn.0578-1752.2014.16.014.
- [12] ZHANG Changfeng, WANG Jiamin, ZHANG Jiaguo, et al. Effects of β -aminobutyric acid on control of postharvest blue mould of apple fruit and its possible mechanisms of action[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 61(2/3): 145-151. DOI:10.1016/j.postharvbio.2011.02.008.
- [13] 弓德强,梁清志,黄光平,等. BABA处理对采后芒果果实抗病性的影响[J].热带作物学报,2015,36(11): 2067-2072. DOI:10.3969/j.issn.1000-2561.2015.11.024.
- [14] WANG K T, JIN P, CAO S F. Methyl Jasmonate reduces decay and enhances antioxidant capacity in Chinese bayberries[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(13): 5809-5815. DOI:10.1021/jf900914a.
- [15] TOOR R K, SAVAGE G P. Antioxidant activity in different fractions of tomatoes[J]. Food Research International, 2005, 38(5): 487-494. DOI:10.1016/j.foodres.2004.10.016.
- [16] CAKMAK I, STRBAC D, MARSCHNER H. Activities of hydrogen peroxide-scavenging enzymes in germinating wheat seeds[J]. Journal of Experimental Botany, 1993, 44(1): 127-132. DOI:10.1093/jxb/44.1.127.

- [17] RAO M V, PALIYATH G, ORMROD D P. Ultraviolet-B and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Physiology, 1996, 110(1): 125-136. DOI:10.1104/pp.110.1.125.
- [18] AMAKO K, CHEN G X, ASADA K. Separate assays specific for ascorbate peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants[J]. Plant and Cell Physiology, 1994, 35(3): 497-504. DOI:10.1006/abbi.1997.0612.
- [19] PATTERSON B D, MACRAE E A, FERGUSON I B. Estimation of hydrogen peroxide in plant extracts using titanium (IV)[J]. Analytical Biochemistry, 1984, 139(2): 487-492. DOI:10.1016/0003-2697(84)90039-3.
- [20] ABELES F B, BOSSHART R P, FORRENCE L E, et al. Preparation and purification of glucanase and chitinase from bean leaves[J]. Plant Physiology, 1971, 47(1): 129-134. DOI:10.1104/pp.47.1.129.
- [21] ASSIS J S, MALDONADO R, MUÑOZ 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(1): 33-39. DOI:10.1016/S0925-5214(01)00100-4.
- [22] KNOBLOCH K H, HAHLBROCK K. 4-Coumarate: CoA ligase from cell suspension culture of *Petroselinum hortense* Hoffm. Partial purification, substrate specificity, and further properties[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 1977, 184(1): 233-248. DOI:10.1016/0003-9861(77)90347-2.
- [23] LAMB C Y, RUBERY P H. A spectrophotometric assay for trans-cinnamic acid 4-hydroxylase activity[J]. Analytical Biochemistry, 1975, 68(2): 554-561. DOI:10.1016/0003-2697(75)90651-X.
- [24] HAMMERSCHMIDT R. Challenge inoculation reveals the benefits of resistance priming[J]. Physiological and Molecular Plant Pathology, 2008, 73(4): 59-60. DOI:10.1016/j.pmpp.2009.06.002.
- [25] MAUCH F, MAUCH-MANI B, BOLLER T. Antifungal hydrolases in pea tissue: II. Inhibition of fungal growth by combinations of chitinase and -1,3-glucanase[J]. Plant Physiology, 1988, 88(3): 936-942. DOI:10.1104/pp.88.3.936.
- [26] MARCUCCI E, ALEANDRI M P, CHILOSI G, et al. Induced resistance by β -aminobutyric acid in artichoke against white mould caused by *Sclerotinia sclerotiorum*[J]. Journal of Phytopathology, 2010, 158(10): 659-667. DOI:10.1111/j.1439-0434.2010.01677.x.
- [27] YIN Y, LI Y C, BI Y, et al. Postharvest treatment with β -aminobutyric acid induces resistance against dry rot caused by *Fusarium sulphureum* in potato tuber[J]. Agricultural Sciences in China, 2010, 9(9): 1372-1380. DOI:10.1016/S1671-2927(09)60228-5.
- [28] 王华东, 王慧倩, 郑聪, 等. 采后热空气处理对枇杷果实抗病性的诱导[J]. 食品科学, 2014, 35(16): 227-231. DOI:10.7506/spkx1002-6630-201416044.