

过氧化氢调控菜心采后木质化的机理初探

王玲¹, 陈锐雯¹, 陈敏惠¹, 叶明强¹, 陈飞平¹, 戚英伟¹, 罗政¹, 戴凡炜¹, 吴继军¹, 袁兆飞², 陈于陇^{1*}
(1. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业农村部功能食品重点实验室, 广东省农产品加工重点实验室, 广东广州 510610) (2. 广东全农农业科技投资有限公司, 广东东莞 523290)

摘要: 为研究过氧化氢 (Hydrogen peroxide, H₂O₂) 在菜心贮藏保鲜中的作用, 该研究用 5 mmol/L H₂O₂ 浸泡处理鲜切菜心, 置于 4 °C 下贮藏, 对贮藏期内菜心茎的品质变化、酶活性、基因表达差异进行分析, 初步明确 H₂O₂ 信号对鲜切菜心茎木质素合成的调控作用。结果显示: H₂O₂ 处理导致菜心的呼吸速率、茎木质素含量及内源 H₂O₂ 含量增加, 贮藏 12 d 时, 茎木质素含量增加了 35.78%, H₂O₂ 含量提高 2.71 倍; 木质素合成途径关键酶的苯丙氨酸解氨酶 (phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、肉桂醇脱氢酶 (Cinnamyl alcohol dehydrogenase, CAD) 在贮藏 9 d 比对照组酶活性分别提高 85.70%、15.53%。基因水平分析发现, H₂O₂ 处理提高了木质素合酶基因 (*POD37*、*PAL4*、*PAL8*)、活性氧生成酶基因 (*RbohB*、*RbohG*) 及其清除酶基因 (*SOD1*、*SOD2*、*SOD3*、*CAT3*) 在不同贮藏时期内的表达。综上所述, 5 mmol/L H₂O₂ 处理导致了采后茎木质素的增加, 加快品质劣变, 不利于菜心贮藏保鲜效果, 推测 H₂O₂ 处理通过影响活性氧平衡系统, 对内源 H₂O₂ 含量进行调节, 影响木质素合成。该研究结果说明 H₂O₂ 在采后贮藏保鲜过程中具有重要调节作用。

关键词: 菜心; 木质化; 过氧化氢; 活性氧; 贮藏品质

文章编号: 1673-9078(2022)05-96-107

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.5.0895

Regulation of Hydrogen Peroxide on the Lignification of Chinese Flowering Cabbage after Harvest

WANG Ling¹, CHEN Ruiwen¹, CHEN Minhui¹, YE Mingqiang¹, CHEN Feiping¹, QI Yingwei¹, LUO Zheng¹,
DAI Fanwei¹, WU Jijun¹, YUAN Zhaofei², CHEN Yulong^{1*}

(1. Sericultural & Agri-Food Research Institute Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Key Laboratory of Functional Foods, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Agricultural Products Processing, Guangzhou 510610, China)

(2. Guangdong Quannong Agricultural Technology Investment Co. Ltd., Dongguan 523290, China)

Abstract: The effect of hydrogen peroxide on the storage and preservation of Chinese flowering cabbage were investigated by soaking in 5 mmol/L hydrogen peroxide and stored at 4 °C. The changes of lignin content, activity of enzymes and relative expression levels of genes that involved in lignin biosynthesis in stem were carried out to explore the influence of H₂O₂ signal on the regulation of lignin synthesis of Chinese flowering cabbage. The results showed that respiration rate, lignin content, and endogenous H₂O₂ content of Chinese flowering cabbage were promoted by the hydrogen peroxide treatment. When stored for 12 days, the stem lignin content increased by 35.78% and H₂O₂ content increased by 2.71 times. Meanwhile, the activity of enzymes involved in lignin biosynthesis were accelerated by H₂O₂ treatment i.e., the activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD) was increased by 85.70% and 15.53%, respectively, after

引文格式:

王玲, 陈锐雯, 陈敏惠, 等. 过氧化氢调控菜心采后木质化的机理初探[J]. 现代食品科技, 2022, 38(5): 96-107

WANG Ling, CHEN Ruiwen, CHEN Minhui, et al. Regulation of hydrogen peroxide on the lignification of chinese flowering cabbage after harvest [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(5): 96-107

收稿日期: 2021-08-15

基金项目: 国家自然科学基金-青年基金项目 (31901756); 广东省农业科学院院长基金项目 (202012); 广东省农业科学院农产品保鲜物流产业研究院项目 (2021 研究院 06); 广东省农业科学院科技创新战略专项资金 (高水平农科院建设) 项目 (R2019QD-012)

作者简介: 王玲 (1989-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向: 农产品保鲜与物流, E-mail: wangl121@163.com

通讯作者: 陈于陇 (1968-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 农产品保鲜与物流, E-mail: chenylong@gdaas.cn

storage for 9 days. The relative gene expression levels of lignin biosynthesis gene and involved in reactive oxygen generating, *SOD1*, *SOD2*, *SOD3*, and *CAT3* involved in reactive oxygen scavenging were upregulated by H_2O_2 treatment during storage. These results indicated that the lignification of stalk in Chinese flowering cabbage was promoted by 5mM H_2O_2 treatment. It is concluded that H_2O_2 may alter the endogenous H_2O_2 content by affecting the homeostasis of ROS system, thereby, regulating the biosynthesis of lignin to affect the stalk lignification.

Key words: Chinese flowering cabbage; stalk lignification; hydrogen peroxide (H_2O_2); reactive oxygen species (ROS); storage quality

菜心 (*Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis* Makino), 是华南地区栽培广泛的茎、叶、花同食类蔬菜, 富含丰富的 Vc、氨基酸、黄酮类等营养物质, 深受消费者青睐^[1]。菜心采收时从基部切割, 机械损伤严重, 易造成采收后茎部失水、空心、木质化等问题, 加速采后菜心的品质劣变, 限制菜心的贮运销售。因此, 研究菜心茎部衰老木质化的机理, 探索适宜的保鲜方法以延长采后菜心的货架期亟待加强。目前, 菜心采后品质调控的保鲜报道主要通过预冷^[2]、低温贮藏^[3]、化学保鲜^[4]、气调包装^[5]等对叶片黄化延缓效果, 以及从转录调控水平探讨菜心叶片贮藏期衰老黄化机理^[6-9]。同时, 部分研究注意到贮藏期菜心茎部硬度增加, 发生空心、木质化现象^[10,11], 但并未对菜心采后茎木质化等衰老问题进一步的研究。因此, 研究菜心采后茎部品质劣变, 尤其是木质化、空心化等劣变衰老的发生及调控机制对探索针对性的贮藏保鲜技术具有重要意义。

过氧化氢 (hydrogen peroxide, H_2O_2) 是活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 的重要组成之一, 是在植物体内参与胁迫应答传导、生理调节和激素信号等多代谢途径的重要信号分子^[12]。研究报道外源施用 H_2O_2 可形成氧化胁迫, 激活植物体内 H_2O_2 信号, 可提高抗氧化和抗逆性^[13,14], 例如 1.0 $\mu\text{mol/L}$ H_2O_2 预处理的铝敏感型黑豆幼苗, 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化物酶 (peroxidase, POD) 活性增加, SOD 基因 (*Mg/Fe-SOD* 和 *Mn-SOD*) 的表达水平提高, 提高对铝的胁迫性^[15]; 水稻细胞-水稻白叶枯病菌互作体系, 外源添加 H_2O_2 胁迫条件, 显著地诱导了过氧化氢酶 (catalase, CAT) 相关基因表达, 活化 H_2O_2 降解途径^[16]。研究发现施用低浓度的 H_2O_2 可延长果蔬贮藏期, 具备无污染、无残留等优势^[17]。利用外源 H_2O_2 处理“黄冠”梨研究发现, 20 mmol/L 的 H_2O_2 抑制了多酚氧化酶 (polyphenol oxidase, PPO) 的活性, 不同程度提高了 POD、SOD、CAT、抗坏血酸过氧化物酶 (ascorbate peroxidase, APX) 活力^[18]。真空渗透 10 mmol/L H_2O_2 结合冷激处理番茄, 诱导的果实内 H_2O_2 含量的升高和谷胱甘肽转移酶的提高^[19], 20 mmol/L H_2O_2 处理香蕉, 提高了 SOD 和 POD 活性, 抑制 CAT 活性, H_2O_2

在果皮中积累增加^[20], 1.96 mmol/L H_2O_2 处理降低了龙眼果皮 CAT、SOD、APX 等 ROS 清除酶活性^[21,22], 0.1 mmol/L 的 H_2O_2 浸泡草莓后, H_2O_2 含量上升, CAT 活性和 APX 活性下降^[23]。以上研究结果表明, 不同浓度 H_2O_2 处理对采后果蔬品质影响作用不同, 对果蔬贮藏期品质变化具有重要的调控功能。此外, 在菜心采后衰老研究中, Tan 等^[24]研究发现褪黑素处理采后菜心延缓叶片衰老, 其重要机制是由于抑制呼吸爆发氧化酶 (respiratory burst oxidase homologue, Rboh) 基因催化 ROS 产生, 提高了 ROS 清除酶系统酶活性、上调抗坏血酸-谷胱甘肽代谢途径 (AsA-GSH) 等, 清除 H_2O_2 , 该研究结果表明 ROS 含量变化及其调控机制在菜心采后衰老过程中具有重要作用。

植物组织木质化是生长发育及衰老的重要生理现象之一。菜心茎部的木质化表现为茎硬度增加、空心等现象、极大地影响采后品质及商品价值。木质素的生物合成途径已经研究得比较清晰, 包括苯丙烷类代谢、木质素合成特异途径, 单体聚合过程, 并且 H_2O_2 和 O_2 参与此过程^[25]。然而, 果蔬采后木质化进程中 H_2O_2 对木质素生物合成的具体调控研究尚缺乏详细研究报道。本文主要研究了外源 H_2O_2 处理对菜心贮藏过程中呼吸速率、木质素、内源 H_2O_2 、木质素合成酶活性及其生物合成关键调节基因的相对表达水平等变化情况, 初步探讨 H_2O_2 对菜心茎木质化发生的影响及其调控机制, 为进一步阐明 H_2O_2 调控菜茎木质化机理并探索有效的、针对性的贮藏保鲜技术奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

本研究选取受广大消费者喜爱的嫩食性的宁夏菜心为研究材料, 选取播种育苗后约 60 d 的新鲜菜心, 在 1~2 h 内快速运回实验室。实验用菜心选取无机械损伤, 单菜心长度、茎粗细均匀的新鲜菜心, 存放于 4 °C 预冷 1~2 h 备用, 进行后续保鲜实验研究。

主要试剂: 上海源叶生物科技有限公司的甲硫氨酸 (MET)、愈创木酚、氧化型辅酶 II、反式肉桂酸、肉桂酸 (cinnamic acid); 南京建成生物工程研究所研发的 H_2O_2 试剂盒; 南京奥多福尼生物科技有限公

司的苯丙氨酸;天根生化科技(北京)有限公司的 RNA 提取试剂盒;湖南艾科瑞生物工程有限公司的反转录试剂,荧光定量 PCR 试剂等。

1.2 仪器与设备

紫外可见分光光度计,日本岛津;水浴锅,澳华仪器有限公司;冷冻高速离心机,美国赛默飞世尔科技;便携式二氧化碳检测仪,中国上海本杉仪器设备有限公司;荧光定量 PCR 仪,伯乐生命医学(上海)有限公司;多功能酶标仪,美国伯腾仪器有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 样品处理

将选取好的菜心分作两组,一组作为对照组完全没入清水(水温 20 ℃)中浸泡处理 15 min,捞出;另一组菜心为处理组没入 5 mmol/L 的 H₂O₂ 水溶液 15 min,捞出;然后晾干菜心表面水分,每 500 g 装入 PE 袋包装,放入 4 ℃ 低温贮藏。在预实验研究中配制了 0、5、15、20、25 mmol/L H₂O₂ 浓度处理菜心,发现 5 mmol/L H₂O₂ 处理能明显导致菜心品质劣变,木质化程度加剧。为研究 H₂O₂ 在木质化品质劣变的作用,因此在本实验中使用了 5 mmol/L H₂O₂ 处理菜心。分别于 0、3、6、9、12 d 取样,测定呼吸速率,取菜心从上往下数展开叶片第 4 片至 6 片叶之间茎部组织,液氮速冻,存-80 ℃ 冰箱待用。

1.3.2 呼吸速率测定

将菜心从包装袋取出称重,并将二氧化碳检测仪一起放入密封罐中密封,每隔 1 min 记录一次 CO₂ 浓度。根据 CO₂ 浓度变化、密封罐容积、样品鲜重、密封时间计算呼吸速率,以 mg CO₂/(kg·h) 为单位。

1.3.3 木质素含量测定

主要参考 Huang 等^[26]方法,称取茎部样品,利用乙醇溶液沸水浴直至无色,收集沉淀、干燥,溴化乙酰-冰醋酸溶解,恒温水浴,加入氢氧化钠溶液终止,在 280 nm 处测样品提取液吸光值。称取碱性木质素作为标准物,进行实验处理绘制标准曲线计算含量,用 mg/g 鲜重表示。

1.3.4 H₂O₂ 含量测定

参照 H₂O₂ 试剂盒测定说明书(南京建成生物工程研究所)进行测定。称取茎部组织粉末,加入缓冲液提取 H₂O₂,配制反应液混匀后,在 405 nm 处测定吸光度并计算 H₂O₂ 含量,用 μmol/g 鲜重表示。

1.3.5 木质素各合成酶活性测定

苯丙氨酸解氨酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)活性测定参考 Lisker 等^[27]的方法:称取 1.5 g

茎部组织粉末,加入 3.5 mL pH 8.8 硼酸-硼砂缓冲液提取液[含少量聚乙烯吡咯烷酮(PVPP)],震荡混匀,低温离心 30 min,取上清液,测定 PAL 活性。每个样品分别取两份 0.5 mL 酶液,一份作为样品管,另一份煮沸 5 min 失活作为对照管。然后,分别加入 3.0 mL 缓冲液和 0.5 mL 20 mmol/L L-苯丙氨酸溶液,混匀。反应液置于 80 ℃ 温水浴,盐酸终止反应。测定 290 nm 处的吸光度值。计算 PAL 活性,以每克样品每小时酶促反应体系吸光度值增加 0.01 为 1 个 PAL 活性单位(U)。计算公式如下:

$$PAL_{酶活} = \frac{(OD_{样品} - OD_{对照}) \times V}{0.01 \times V_S \times t \times m}$$

式中:

OD_{样品}——样品管反应溶液的吸光度值;

OD_{对照}——对照管反应溶液的吸光度值;

V——样品提取液总体积, mL;

V_S——测定时所取样品提取液体积, mL;

t——酶促反应时间, h;

m——样品质量, g。

4-香豆酸辅酶 A 连接酶(4-Coumarate-CoAligase, 4-CL)活性测定参考 Knobloch 等^[28]的方法,称取茎部组织粉末,加入 pH 7.8 Tris-HCl 提取缓冲液及少量 β-巯基乙醇,低温离心,取上清。取 50 μL 酶液加入 5 mmol/L ATP、5 mmol/L MgCl₂、0.33 mmol/L CoA(辅酶 A)、0.2 mmol/L 4-香豆酸,适量缓冲液配制 3 mL 反应体系,37 ℃ 恒温水浴 10 min,加入 30% 三氯乙酸终止反应,以恒温水浴前加入 1 mL 30% 三氯乙酸溶液的反应液作为对照,于 333 nm 测吸光值。计算 4-CL 酶活性。计算公式:参照 PAL 的计算方法计算 4-CL 活,以每克样品每小时酶促反应体系吸光度值增加 0.01 为 1 个酶活单位(U)。

肉桂醇脱氢酶(Cinnamyl alcoholdehydrogenas, CAD)活性测定参考 Goffner 等^[29]的方法,称取茎部组织粉末,加入适量磷酸缓冲液及少量 β-巯基乙醇、PVPP、氧化型辅酶 II 震荡混匀,离心,取上清。3 mL 酶反应体系(含 10 mmol/L 氧化型辅酶 II, 5 mmol/L 反式肉桂酸),200 μL 粗酶液,对照管反应管加 200 μL 磷酸提取缓冲液,30 ℃ 水浴 30 min,1 mol/L HCl 终止反应后,于 340 nm 处测吸光值。酶活性以每小时每克吸光度变化 0.01 为 1 个酶活单位。参照 PAL 的计算方法计算 CAD 活性,以每小时每克菜心样品酶促反应体系吸光度值增加 0.01 为 1 个 CAD 活性单位(U)。

过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性测定参考 Fang 等^[30]的方法,称取茎部组织粉末,加入适量磷酸提取缓冲液,离心,取上清液。取一支试管,按顺序

先加入 2.0 mL 磷酸缓冲溶液和 0.5 mL 0.05 mol/L 愈创木酚溶液, 再加入 0.5 mL 现配的 2% H₂O₂ 溶液, 最后加入适量的酶溶液, 倾倒入混匀, 用动力学模式测定在波长 470 nm 处的吸光值。隔 1 min 再记录一次。重复三次。制作 OD₄₇₀ 值随时间变化曲线, 根据曲线的初始线性部分计算每分钟吸光度变化值 ΔOD₄₇₀, 计算公式如下:

$$\Delta OD_{470} = \frac{OD_{470F} - OD_{470I}}{t_P - t_I}$$

式中:

ΔOD₄₇₀——每分钟反应吸光度变化值;

OD_{470F}——反应混合液吸光度终止值;

OD_{470I}——反应混合液吸光度初始值;

t_p——反应终止时间, min;

t_i——反应终止时间, min;

计算 POD 酶活性。以每克果蔬样品(鲜重)每分钟吸光度变化值增加 1 时为 1 个过氧化物酶活性单位。

计算公式:

$$POD \text{ 酶活} = \frac{\Delta OD_{470} \times V}{V_S \times m}$$

式中:

V——样品提取液总体积, mL;

V_S——测定时所取样品提取液体积, mL;

m——样品质量, g。

表 1 荧光定量 PCR 引物

Table 1 The oligonucleotide sequences of specific primers for Real-time PCR

基因名	正向引物序列 (5'-3')	反向引物序列 (5'-3')
<i>PAL1</i>	GAAAGCGAGTAGTGATTGGGTG	TGTGGGATGTTTCCTTCGTG
<i>PAL2</i>	GGCATGGCGTCGATGGTTCTC	GGGTGATGTTTGTAGTCGGTGAGTC
<i>PAL3</i>	CAATCGGTGTTGGCGGAGGTC	GTGCGTCAGATGATCGGTGAACCTC
<i>PAL4</i>	GCGACCAAGATGATAGAGCGTGAG	CGATGGCTAAGCGGGTGTGTGTC
<i>PAL5</i>	GCTTTAGCCAACGGTGAGACTGAG	TCTAGCCGCATCCACTTCCTTAGG
<i>PAL6</i>	CCGTTACGCCACCAAGTCCATC	ACCTCCGTGAATCGCCTTGTTC
<i>PAL7</i>	TGGCACGGACACTTATGGAATCAC	CGTCATCTTCGTCGCCTGTAGC
<i>PAL8</i>	GGCTACAAGAGCGGCGATGC	GAGGTGTGATGTCGTGGTTGAGG
<i>PAL9</i>	GTAGCAGCGATCTCGACCGTTG	GCCTTTGCCATACTCTCCATCAC
<i>4CL1</i>	GCAGAAACAGAGCAGCAACAACAG	AGTCGTGGAGAGGGAGGTGATTG
<i>4CL7</i>	CTCCCTGGTTCTCTCCCGACAC	GACGAAGGCGGCGGAAGAAG
<i>CAD1</i>	CGGCTTGGTGCGGATCTGTTC	GAAGCGGAAGAAGCGGATGAGTG
<i>CAD6</i>	CGCTGGAACCTTATGTCTGGTTGG	CTTACACTTCCCACAAGCACTCTC
<i>CAD7</i>	TGGTGGGACTAGGCGGTTTAGG	GTCACGGCTCACCAAGAAGAGATC
<i>CAD10</i>	CCCGATGGTTTACCGAGTGATTCC	CAAGCCCACCAAGTCCACTTACAC
<i>CAD11</i>	GTTGGATGCTGCGGAGGTTGTAG	TGGTGAACGACGGTGGCTCTAG
<i>POD31</i>	TCCTCATCTCCTCGCCTCCAC	GGTCGGGTTGGTGATTTGTTTGC
<i>POD37</i>	GCGAGCATACTTCGTCTTCACT	TCTACGGCAGCCTTCATCC
<i>POD42</i>	CCGCTTCTCTTGGCTCCGTAAC	GCTCCTGTCGTGTTCTTTCTCTCC
<i>POD47</i>	CTTTGGCCGCAGGTCTTATC	CCTCAATGAAACAGTCGTGGAA
<i>POD55</i>	GATGTGGTCTTAGTGGGGATG	AGCCGTGATGGGTGTTTGT
<i>POD63</i>	CGCCGATAGCTCCCTCTTCC	AATGCGAGAATCCGATGGTGTGG
<i>PAO1</i>	GGATGAGCAAGAGGCGGATATGTG	TGTCAGCATCGGCAGCAAACC
<i>PAO2</i>	GTGGTACTTATGCCGATGGAAGG	AGCAACTCCTCCTGGTCCCAAC
<i>RbohG</i>	GCAGCGACATAGTCCCTAAGC	GTCCGTGTCTCCAGCGTTTCC
<i>RbohF</i>	CTCCGACGATGAAACGCACCTC	CTGCTTCGCCCTTCGCCACTG
<i>RbohB</i>	CCTCGGCGATTGGACATCACAAAC	AGAGCCCCTTTGACTTGTGACG
<i>SOD1</i>	CAATGCTGCTGCCGCACTC	GGGAAAGAGCCAAGCACAAGGG
<i>SOD2</i>	CATACTGGGAGGGCGGTTGTTG	GCCTGCGTTTCTGTTGATTGTC
<i>SOD3</i>	CCTCCGTCCACTCTCCGTTCC	AGTTACCCCTTGAGCACAGCAACAG

1.3.6 实时荧光定量 PCR

RNA 提取: 利用提取试剂盒, 参照说明书步骤[天根生化科技(北京)有限公司]。取 0.1 g 组织样品, 加入 500 μ L 裂解液后迅速震荡摇匀, 经过离心、洗脱、沉淀总 RNA, 保存备用。

将提取的 RNA 用多功能酶标仪微孔板进行 RNA 浓度检测。采用艾瑞科生物公司反转录试剂盒 (Evo M-ML V Kit with gDNA Clean for qPCR II) 将 1 μ g RNA 反转录合成得到 cDNA, 进行荧光定量 PCR 扩增分析。配制 20 μ L qPCR 反应体系。根据参考文献选取 *GAPDH* 为内参基因^[31]。荧光定量 PCR 引物设计参考实验室测定的转录组数据 (表 1), 参考说明书进行运行程序设定。每个样品 3 次重复。目标基因的相对表达量通过利用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 公式的计算方法进行计算^[32], 得到的表达量数据经过 log2 转换后, 用 Ttools 绘制热图分析^[33]。

1.3.7 数据处理与分析

实验均重复 3 次, Excel 2013 进行数据整理、Origin Pro 9 作图, SPSS 23.0 数据处理软件对测定的数据进行统计分析。

2 结果与讨论

2.1 H_2O_2 处理对菜心呼吸速率的影响

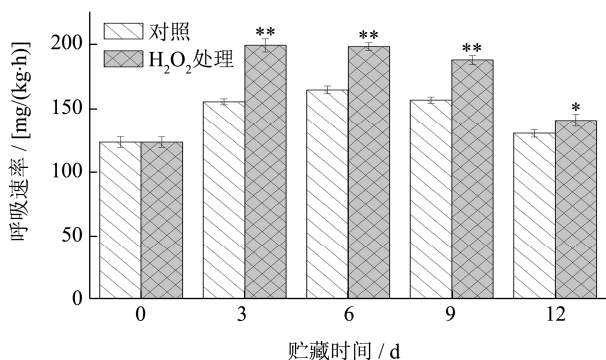


图 1 H_2O_2 处理对菜心呼吸速率的影响

Fig.1 Effects of hydrogen peroxide treatment on respiration rate in Chinese flowering cabbage

注: 图中*和**代表在同一贮藏时期的 H_2O_2 处理与对照分别在 $p=0.05$ 和 $p=0.01$ 水平上存在显著差异, 下同。

如图 1, 菜心采后呼吸速率变化呈现先升高后下降的趋势, H_2O_2 处理菜心在第 3 d 出现呼吸峰, 为 199.31 mg/(kg·h), 在贮藏 3~9 d 内呼吸速率都处于较高水平为 187.87~199.31 mg/(kg·h); 而对照组在第 6 d 达到高峰, 呼吸峰值为 164.72 mg/(kg·h)。采后菜心经 5 mmol/L H_2O_2 处理, 贮藏期间的呼吸速率均显著性高于对照组 (图 1)。植物组织的呼吸速率上升将导致各

生理活动的快速变化, 各营养物质如糖类、淀粉消耗加快, 呼吸电子传递链等生理效用发生改变。Lin 等^[34]报道, H_2O_2 处理龙眼增加呼吸强度, 对照组和 H_2O_2 处理组在贮藏期 6 d 达到呼吸高峰, 但对照组呼吸速率明显低于处理组, 在本研究中, H_2O_2 处理增加了呼吸强度, 并提前了呼吸峰的出现, 推测 H_2O_2 处理增加呼吸作用, 可能引起菜心在采后贮藏过程中营养品质的下降。

2.2 H_2O_2 处理对菜心茎木质素含量的影响

菜心采后叶片黄化衰老与茎木质化是影响其采后品质劣变的主要因素。菜心茎部木质素积累导致硬度增加, 口感“变粗”^[35]。如图 2 所示, 随着贮藏时间的延长, 菜心茎组织的木质化现象加剧, 木质素含量不断增加, H_2O_2 处理显著性地促进木质素含量积累, 在贮藏期 12 d 时, H_2O_2 处理组木质素含量达到 11.27 mg/g, 相比 0 d 增加了 5.86 mg/g, 而对照组仅增加到 8.30 mg/g, 处理组比对照组高了 35.78%。 H_2O_2 参与木质素的聚合和沉积过程, 是木质化过程的关键调节步骤^[25]。Wang 等^[10]通过基因表达和蛋白组学研究发现, 采后菜心茎部木质化与硬度呈正相关性 ($r^2 = 0.90$, $p < 0.01$), 并且伴随着 H_2O_2 含量发生改变, 高氧气调包装处理减缓菜心茎部木质化, 诱导抗氧化酶积累, 缓解 ROS 快速积累。任艳芳等^[12]研究发现适宜浓度 H_2O_2 处理小白菜降低 O_2^- 产生速率及 H_2O_2 含量, 缓解盐胁迫。而在本研究 H_2O_2 处理加剧了木质素含量的增加, 可能增加了内源 ROS 含量导致品质劣变快速发生。

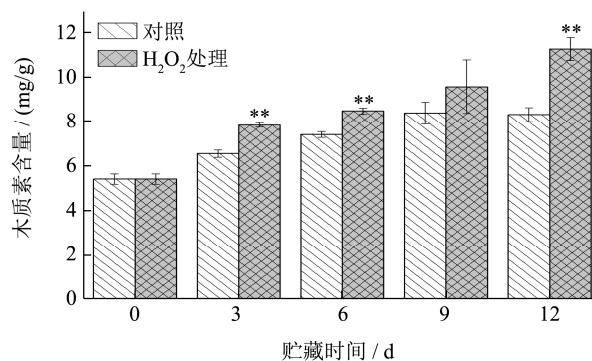


图 2 H_2O_2 处理对菜心木质素含量的影响

Fig.2 Effects of hydrogen peroxide treatment on lignin content in Chinese flowering cabbage

2.3 H_2O_2 处理对菜心内源 H_2O_2 含量的影响

活性氧在采后果蔬品质劣变中具有重要的调节作用。正常生长状态下, 植物组织 ROS 作为重要的信号物质, 维持正常生长和对抗环境胁迫; 但在衰老、失水、病原菌侵染等逆境胁迫下, ROS 平衡系统失衡,

果蔬体内会积累超量的 ROS 物质,加速果蔬采后衰老^[36,37]。由图 3 所示, H₂O₂ 处理组的菜心茎部组织内 H₂O₂ 含量随贮藏时间不断增加, 贮藏 12 d 时, H₂O₂ 含量为 30.82 mmol/g, 比对照组高 2.71 倍, 对照组的 H₂O₂ 含量在贮藏 6 d 最高 (19.02 mmol/g) 后开始下降; 处理组的内源 H₂O₂ 含量均显著高于对照组 ($p<0.01$), 5 mmol/L H₂O₂ 处理增加了茎部组织内源 H₂O₂ 含量。Lin 等^[34]报道 H₂O₂ 处理增加了龙眼果皮 ROS 产生, ROS 清除酶活性降低, 加速龙眼果皮褐变。庞学群等^[20]研究发现一定浓度的 H₂O₂ 处理香蕉, 加速了内源 H₂O₂ 积累, 并且增加 ROS 清除酶超氧化物歧化酶 (SOD) 和 POD 活性, 但降低氧化氢酶 (CAT) 活性。刘欢等^[23]也发现 H₂O₂ 处理草莓, H₂O₂ 含量高于对照组, 在贮藏 3~4 d 达到最大值。由此可见, H₂O₂ 处理增加果蔬贮藏期内源 H₂O₂ 含量, 外源 H₂O₂ 处理可能打破了组织 ROS 产生与清除的平衡状态, 引起相关生理状态发生改变。

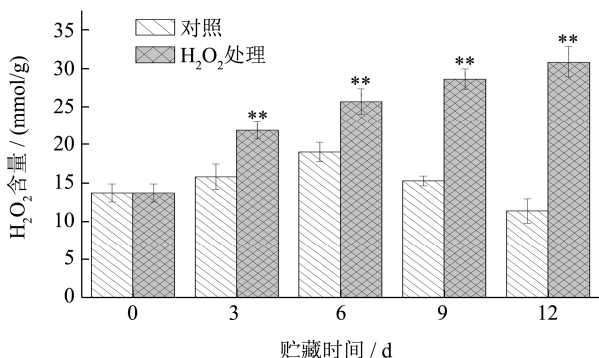


图 3 H₂O₂ 处理对菜心内源 H₂O₂ 含量的影响

Fig.3 Effects of hydrogen peroxide treatment on endogenous hydrogen peroxide content in Chinese flowering cabbage

2.4 H₂O₂ 处理对菜心木质素合成酶活力的影响

木质素生物合成受多种关键合成酶的调节^[38]。PAL 和 4-CL 是参与苯丙烷代谢途径的重要酶, 合成木质素前体物质。PAL 酶活力先上升后下降, 对照组在贮藏第 6 d, 酶活力值最大, 为 51.33 U/g, 但比处理组 (62.84 U/g) 低 18.31%, 而 H₂O₂ 处理组在贮藏第 9 d, 达到峰值为 74.67 U/g, 比对照组 (40.21 U/g) 高 85.70%, 在贮藏 6~9 d 均显著高于对照组 ($p<0.05$) (图 4a)。与 PAL 不同的是, 4-CL 活性逐渐上升, 尤其是 9 d 后快速升高; 在贮藏 12 d H₂O₂ 处理组 (196.77 U/g) 的 4-CL 活性显著高于对照组 (160.77 U/g) 酶活性 22.39% (图 4b)。PAL、4-CL 主要负责参与类黄酮、木质素等下游产物生物合成的前体物质的产生。罗政等^[39]发现在采

后菜心常温贮藏过程中, PAL 酶活性在贮藏 3 d 达到峰值, 随后下降; 本实验在低温贮藏环境, 两组处理分别在贮藏 6 d、9 d 酶活力值最大, 随后下降, 低温环境下酶活力变化被延迟。孙涵等^[40]研究双宝蘑菇木质化进程中, 4-CL 酶活力不断上升, 与木质素变化积累一致, 认为, 4-CL 与木质素合成显著相关; 本研究中, H₂O₂ 处理组 4-CL 酶活力持续上升, 木质素含量不断升高, 与该结果一致。Hu 等^[41]利用反义抑制技术下调杨树 4-CL 基因, 木质素含量减少 45%, 也证实 4-CL 是木质素合成的重要参与者。在菜心采后贮藏过程中, H₂O₂ 处理通过促进 PAL、4-CL 活力, 影响木质素合成前体物质的产生, 促进木质素合成速率。

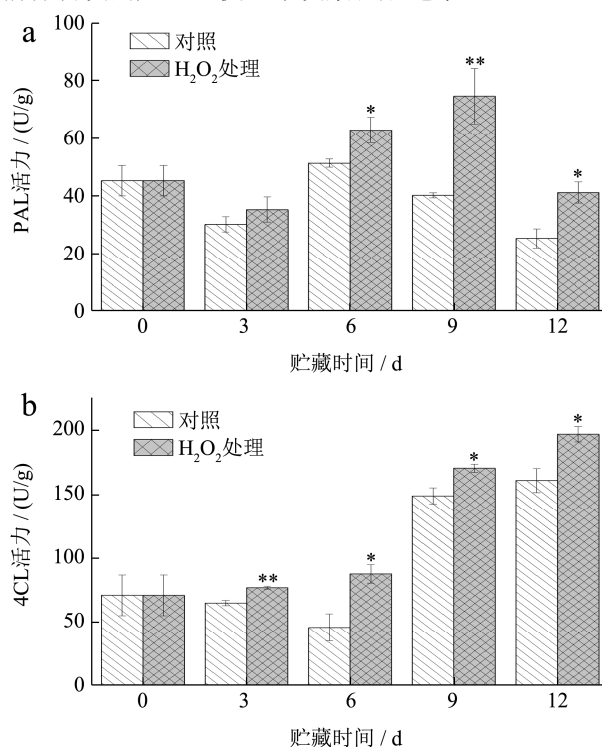


图 4 H₂O₂ 处理对菜心木质素合成前期关键酶 PAL (a) 和 4-CL (b) 活力的影响

Fig.4 Effects of hydrogen peroxide treatment on enzyme activity of PAL (a) and 4-CL (b) in Chinese flowering cabbage

CAD 在木质素单体形成的最后步骤起重要调节作用, CAD 酶活力水平上升是木质化的标志^[42]。在本研究中发现对照组和 H₂O₂ 处理组均在贮藏 3 d (240.67 U/g vs 263.33 U/g) 和 9 d (234.00 U/g vs 270.33 U/g) 酶活力较高, H₂O₂ 处理组分别提高了 9.41%, 15.53%, 在贮藏 6 d 和 12 d 时, 处理组和对照组酶活力值都有所下降, H₂O₂ 处理促进 CAD 酶活增加, 加快了木质素单体物质的合成 (图 5a)。Kováčik 等^[43]报道认为 ROS 水平的减少降低了 Cu 诱导的洋甘菊根部木质化, 主要归因于抑制 CAD 酶活性, ROS 水平与 CAD 酶活性变化趋势具有一致性, 在菜心组织中作为 ROS 主要形式

之一的 H_2O_2 影响 CAD 酶活性。

POD 主要是参与木质醇单体脱氢聚合。由图 5b 可知, H_2O_2 处理组 POD 活力在贮藏期有所上升, 保持较高的酶活性, 在贮藏 3 d 时, H_2O_2 处理组酶活性最大 170.33 U/g, 比对照组 (140.95 U/g) 高 20.84%, 在贮藏 12 d 时, H_2O_2 处理组酶活性下降为 128.22 U/g, 比对照组低 14.92%, 对照组达到最大酶活性为 150.71 U/g, 对照组 POD 活性的升高速率相对于处理组较缓慢, H_2O_2 处理促进 POD 活力在贮藏前期上升, 贮藏后期下降。杨腾达等^[44]报道在桑叶菜木质化过程中, 真空预冷通过抑制贮藏后期 (贮藏 6 d 后) POD 酶活力变化, 调节木质素的合成, 而本研究中, 处理组 POD 酶活力主要在贮藏前期 (贮藏 9 d 前) 高于对照组。外源褪黑素喷施茶树, 加速了茶树木质素积累, 发现处理 8 d 和 16 d 后, POD 酶活性增加了 2.04 倍和 3.79 倍^[45]; 本研究中, 处理组酶活性变化在贮藏 3 d 时变化最大, 增加 20.84%, 变化差异相对于褪黑素处理茶树较小, 可能与处理方式和品种差异相关, 但也说明 POD 参与到木质素调节过程。

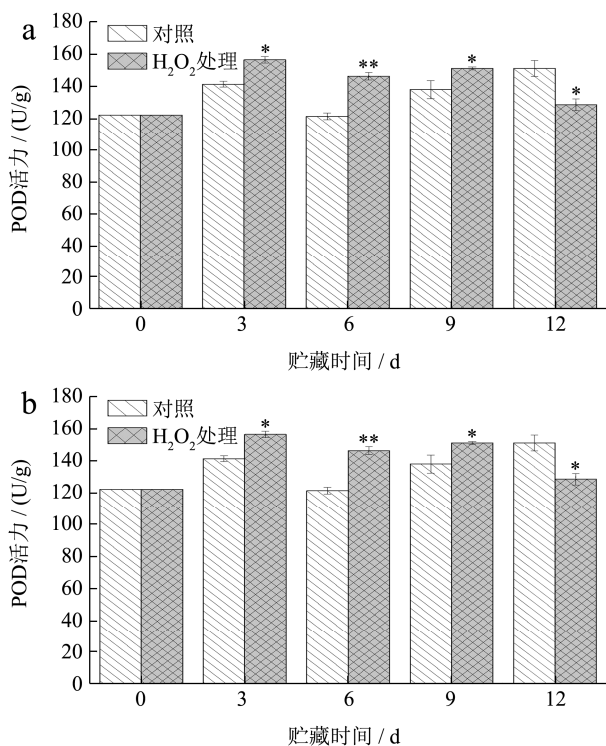


图 5 H_2O_2 处理对菜心木质素合成前期关键酶 CAD (a) 和 POD (b) 活力的影响

Fig.5 Effects of hydrogen peroxide treatment on enzyme activity of CAD (a) and POD (b) in Chinese flowering cabbage

上述研究结果表明, H_2O_2 处理可能通过加快 PAL、4-CL、CAD、POD 活力变化, 因而导致菜心采后贮藏过程中木质素合成增加。Wen 等^[11]报道高氧气调包装通过抑制 PAL、4-CL、CAD、POD 活性来调控菜心采

后木质化。Wang 等^[10]报道菜心 H_2O_2 与木质素含量积累之间存在相关性, 采后贮藏过程中。在水稻中, 发现 H_2O_2 与木质素同时大量生成抵御病原菌^[46]。因此, 外源 H_2O_2 处理可增加呼吸速率, 内源 H_2O_2 产生, 并影响木质素生物合成关键酶活性水平的变化, 从而加快菜心采后茎组织木质化而导致品质劣变。

2.4 H_2O_2 处理对菜心木质素合成酶基因表达的影响

木质素合成途径涉及多种酶参与, 这些酶大部分都是综合性的酶类, 参与植物体内多种生理生化反应, 可受到外界环境刺激诱导参与植物木质化防御及衰老过程^[47,48]。随着对木质素合成的不断探索, 各合成酶基因被克隆、鉴定, 研究发现 PAL、4-CL、CAD、POD 等都是由多基因家族编码, 通过对其表达模式、功能调控的研究, 发现各基因成员之间的功能机理存在着差异^[49-52]。本研究以 GAPDH 基因为内参, 参考课题组转录组数据, 设计实时荧光定量引物, 比较分析了 9 个 PAL 基因, 3 个 4-CL 基因, 9 个 CAD 基因, 6 个 POD 基因的表达差异。如图 6 所示, 相对于其他木质素合成基因, POD37、PAL4、PAL8 在对照组及处理组贮藏期内表达水平处于较高; PAL9、4-CL1、4-CL4、POD42、POD55 在整个贮藏期表达量低; PAL3、PAL5、PAL6、CAD2、CAD4 在对照组贮藏早期 3 d 表达量最高, 在 H_2O_2 处理组则在贮藏 6 d、9 d 表达最强; PAL1、PAL2、CAD3、CAD11 相对于对照组, 在 H_2O_2 处理组 3 d 基因表达受到抑制; CAD7、CAD10、POD47 在贮藏中期 6 d、9 d 表达较高, 而 H_2O_2 处理组分别贮藏期 3 d、12 d 促进 CAD7、POD47 表达, CAD10 在贮藏期 6 d 被抑制表达; 4-CL7、CAD1、CAD5、CAD6、POD31、POD63 贮藏期内, 对照组表达量较低, 而在贮藏期 12 d, H_2O_2 处理组促进这些基因表达。

从以上结果得出, 在采后菜心贮藏过程中, PAL、4-CL、CAD、POD 在木质素合成途径各不同时段发挥功能, 各基因家族成员表达模式不同, 发挥各自不同的作用, 在不同的贮藏期影响木质素合成。这与前人的报道是相似的, 发现 PAL 多基因家族中, 基因启动子序列的顺式作用元件不同, 可能是受不同的转录调控机制, 表现出不同成员的表达特异性^[49]。在拟南芥 At4-CL 基因家族功能和表达特性也存在明显差异, 与木质素的合成相关的 At4-CL1 和 At4-CL2 基因主要在维管束组织中表达; 而 At4CL-3 与调控类黄酮合成相关, 主要在花中表达^[48]。已发现的多种植物 CAD 基因成员之间的功能机理存在着差异, 多个 CAD 同时参

与到木质素单体合成^[50]。在植物体内，超级基因家族编码的 *POD* 参与到各个生命活动，而在植物木质化过程中，拟南芥、烟草中都已鉴定到其作为氧化剂催化 H_2O_2 共同参与木质素单体聚合^[52,53]。因此，菜心采后贮藏过程中茎部木质素合成，表达丰度较高的 *POD37*、*PAL4*、*PAL8* 基因可能与木质素生物合成有重要关系。尽管如此，这些显著表达的基因是否作为主要调控基因参与到采后菜心茎组织的木质素合成，及 H_2O_2 处理在不同贮藏期诱导表达的差异基因与 ROS 信号途径的关系，尚需进一步进行功能验证及分析。

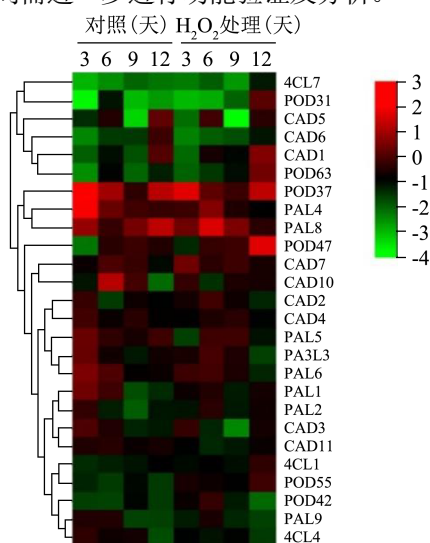


图 6 H_2O_2 处理对菜心木质素合成酶基因表达的影响

Fig.6 Effects of hydrogen peroxide treatment on gene expression on lignin synthesis related gene in Chinese flowering cabbage

注：该聚类热图是根据 qPCR 进行的基因表达量经 \log_2 转换后的数值绘图得出，各贮藏期的基因表达值是与第 0 d 相比。刻度表示 \log_2 变化：红色表示增加；绿色表示减少。附表 1 中提供了各贮藏期的基因表达值 \pm SE。

2.5 H_2O_2 处理对 ROS 生成酶及清除酶基因表达的影响

植物中 ROS 的产生及信号途径受到呼吸爆发氧化酶 (respiratory burst oxidase homologue, Rboh) 的调控，Rboh 是 ROS 的重要来源，由多基因编码。在本研究中， H_2O_2 处理促进了 *RbohF*、*RbohB* 两个基因表达增强，抑制 *RbohG* 基因的表达。研究报道，在拟南芥组织中 *RbohD* 和 *RbohF* 表达诱导生成 ROS，增强抗性^[54]；在水稻组织中，*OsRbohA* 与 *OsRbohE* 在免疫时期负责产生 H_2O_2 时间段不同，*OsRbohA* 主要负责生成早期 H_2O_2 ，而晚期 H_2O_2 的产生是 *OsRbohE* 生成^[55]。可见，*Rboh* 基因家族各成员在表达上的差异而影响 H_2O_2 的

生成。*PAO1* 和 *PAO2* 基因都是编码多胺氧化酶 (PAO) 的基因，多胺氧化酶催化多胺氧化降解成 H_2O_2 ^[56]，也是 ROS 产生的方式之一。本研究结果 *PAO1* 和 *PAO2* 基因表达丰度较低，不是主要的 ROS 产生基因 (图 7)。

植物体内本身具有一系列的 ROS 清除机制，ROS 清除酶是重要的方式之一，包括 POD、过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 等。通过对菜心 *SOD*、*CAT* 基因表达差异发现， H_2O_2 处理增加 *SOD1*、*SOD2*、*SOD3*、*CAT3* 基因表达。刘建新等^[57]研究也发现外源 H_2O_2 处理燕麦提高 SOD、CAT、POD 和 APX 酶活性，抗氧化能力增强。刘欢等^[23]报道 H_2O_2 处理草莓增加了超氧阴离子产生速率，CAT 活性下降。本研究结果显示 H_2O_2 处理增加了 ROS 清除酶基因的表达，*RbohF*、*RbohB* 两个基因表达也增强。因此，我们推测 H_2O_2 处理激发了 ROS 清除酶系统的作用，但同时增加了 H_2O_2 含量生成的速率，而 ROS 清除酶系统并未表达达到清除过量的 ROS 的水平，导致 H_2O_2 含量增加。研究已表明，外源 H_2O_2 处理植物形成氧化胁迫，而适度的氧化胁迫激活内源 H_2O_2 ，再经受各胁迫响应时，抗氧化防护能力增强^[58-60]。可见，不同浓度的 H_2O_2 对植物本身的作用效果不同，表现出不同的生理生化效应。

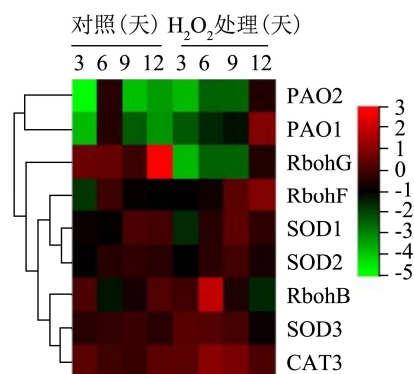


图 7 H_2O_2 处理对菜心 ROS 生成酶基因及清除酶基因表达的影响

Fig.7 Effects of hydrogen peroxide treatment on gene expression on ROS production enzyme gene and scavenger enzyme gene in Chinese flowering cabbage

注：该聚类热图是根据 qPCR 进行的基因表达量经 \log_2 转换后的数值绘图得出，各贮藏期的基因表达值是与第 0 d 相比。刻度表示 \log_2 变化：红色表示增加；绿色表示减少。附表 1 中提供了各贮藏期的基因表达值 \pm SE。

3 结论

采后菜心木质化导致硬度的增加、质地变差、贮藏性能下降、严重影响口感和质量。本研究采用 5 mmol/L H_2O_2 处理菜心较对照组加速了呼吸速率，茎木质素含量增加了 35.78%，内源 H_2O_2 含量上升 2.71 倍，

可能引起采后菜心薹茎在贮藏过程中的加速衰老进程。进一步发现 H_2O_2 处理促进木质素代谢关键调节酶 PAL、CAD、4-CL、POD 等活性及其基因水平的变化; PAL、CAD 活性在贮藏 9 d 比对照组酶活性分别提高 85.70%、15.53%, 4-CL 活性在贮藏 12 d 比对照组酶活性分别提高 22.39%, POD 活性在贮藏 3 d 比对照组高 20.84%。基因水平上分析发现贮藏期内茎木质素合酶基因 *POD37*、*PAL4*、*PAL8*, 活性氧生成酶基因 *RbohB*、*RbohG*, 活性氧清除酶基因 *SOD1*、*SOD2*、*SOD3*、*CAT3* 等表达丰度较高, H_2O_2 处理提高了这些基因在不同贮藏时期内的表达。由此可见, 5mmol/L H_2O_2 处理菜心不利于菜心贮藏保鲜, H_2O_2 对采后菜心木质化具有重要的调节作用。结合本研究结果推断外源 H_2O_2 调控木质素合成途径主要有: (1) 内源 H_2O_2 积累, ROS 清除酶系统也被激发, 但无法及时清除大量的 ROS 导致 ROS 代谢失衡, 积累的 ROS 作用于木质素单体聚合过程, 加速木质素合成代谢; (2) ROS 代谢失衡被认为是影响果蔬采后衰老的重要因素之一, 易导致呼吸代谢紊乱, H_2O_2 处理导致了采后菜心的呼吸代谢增加, 并引起一系列衰老反应, 加速了菜心木质化的进程。尽管如此, 基于 H_2O_2 浓度效应对菜心采后品质劣变的调节作用及其分子调控机制尚待进一步研究。

参考文献

- [1] 杨暹,郭巨先,刘玉涛.华南特产蔬菜菜心的营养成分及营养评价[J].食品科技,2002,9:76-79
YANG Xian, GUO Juxian, LIU Yutao. The nutritive composition and assessment of *Brassica parachinensis* [J]. Food Science and Technology, 2002, 9: 76-79
- [2] 陈羽白,林海英,赵华海,等.菜心真空预冷效果的试验研究[J].农业工程学报,2003,5:161-165
CHEN Yubai, LIN Haiying, ZHAO Huahai, et al. Effect of vacuum precooling for flowering Chinese cabbage [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2003, 5: 161-165
- [3] 邓义才,曹健,张衍荣,等.菜心的保鲜试验研究[J].中国果菜, 2005,2:38
DENG Yicai, CAO Jian, ZHANG Yanrong, et al. Experiment study on the fresh-keeping of Chinese flowering cabbage [J]. China Fruit & Vegetable, 2005, 2: 38
- [4] 王光,张鲁斌,张法梅,等.BTH 处理对菜心耐贮性的影响研究[J].广东农业科学,2009,12:123-125
WANG Guang, ZHANG Lubin, ZHANG Famei, et al. Effects of BTH treatment on storability of Chinese flowering cabbage [J]. Guangdong Agriculture Sciences, 2009, 12: 123-125
- [5] 王萍,王玲,于新,等.不同高氧包装方式对菜心的保鲜作用[J].现代食品科技,2021,37(2):155-163
WANG Ping, WANG Ling, YU Xin, et al. The fresh-keeping effect of different high-oxygen packaging methods on non-heading Chinese cabbage [J]. Modern Food Science and Technology, 2021, 37(2): 155-163
- [6] TAN Xiaoli, FAN Zhongqi, SHAN Wei, et al. Association of BrERF72 with methyl jasmonate-induced leaf senescence of Chinese flowering cabbage through activating JA biosynthesis-related genes [J]. Horticulture Research, 2018, 5(22): 1-11
- [7] TAN Xiaoli, FAN Zhongqi, KUANG Jianfei, et al. Melatonin delays leaf senescence of Chinese flowering cabbage by suppressing ABFs-mediated abscisic acid biosynthesis and chlorophyll degradation [J]. Journal of Pineal Research, 2019, 67(1): e12570
- [8] FAN Zhongqi, TAN Xiaoli, SHAN Wei, et al. Characterization of a transcriptional regulator, BrWRKY6, associated with gibberellin-suppressed leaf senescence of Chinese flowering cabbage [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 8(66): 1791-1799
- [9] FAN Zhongqi, TAN Xiaoli, SHAN Wei, et al. BrWRKY65, a WRKY transcription factor, is involved in regulating three leaf senescence-associated genes in Chinese flowering cabbage [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 6(18): 1228
- [10] WANG Ling, WEN Ming, CHEN Feiping, et al. High oxygen atmospheric packaging (HOAP) retards the H_2O_2 -production by regulating the accumulation of oxidative-related proteins in Chinese flowering cabbage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 165(4): 111183
- [11] WEN Ming, Wang Huihui, Chen Yulong, et al. Inhibition effect of super atmospheric O_2 packaging on H_2O_2 -production and the key enzymes of lignin biosynthesis in fresh-cut Chinese cabbage [J]. Postharvest Biology and Technology, 2020, 159(1): 111027
- [12] 任艳芳,何俊瑜,杨军,等.外源 H_2O_2 对盐胁迫下小白菜种子萌发和幼苗生理特性的影响[J].生态学报,2019,39(20): 7745-7756
REN Yanfang, HE Junyu, YANG Jun, et al. Effects of exogenous hydrogen peroxide on seed germination and physiological characteristics of pakchoi seedlings (*Brassica chinensis* L.) under salt stress [J]. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(20): 7745-7756

- [13] 张曼,戴蓉,张顺凯,等.H₂O₂ 浸种对油菜种子低温萌发的缓解效应[J].南京农业大学学报,2017,40(6):963-970
ZHANG Man, DAI Rong, ZHANG Shunkai, et al. Alleviation effects of seed soaking with H₂O₂ on seed germination in rape under low temperature stress [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2017, 40(6): 963-970
- [14] 周玉萍,刘华伟,冯永新,等.过氧化氢与氯化钙对香蕉幼苗抗寒性的影响[J].广州大学学报(自然科学版),2002,2:33-36
ZHOU Yuping, LIU Huawei, FENG Yongxin, et al. Effects of H₂O₂ and CaCl₂ on cold-resistance abilities in banana plantlets [J]. Journal of Guangzhou University (Natural Science Edition), 2002, 2: 33-36
- [15] 王琳,陈奇,武孔焕,等.过氧化氢预处理增强敏感型黑豆抗铝能力的生理机制[J].西北植物学报,2013,33(2):336-342
WANG Lin, CHEN Qi, WU Konghuan, et al. Physiology mechanisms of pretreatment with hydrogen peroxide enhancing the capacity of the sensitive black soybean resistance to Al stress [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2013, 33(2): 336-342
- [16] 周建波,吴茂森,胡俊,等.H₂O₂ 对水稻白叶枯病菌过氧化氢酶相关基因 crg 表达的诱导作用[J].植物病理学报,2009,39(4):399-404
ZHOU Jianbo, WU Maosen, HU Jun, et al. Induction of bacterial catalase-related gene expression by H₂O₂ produced during interaction of ricesuspension-cultured cells with *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* or applied exogenously [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2009, 39(4): 399-404
- [17] 刘佩,徐欣欣,刘同信,等.过氧化氢处理对采后‘黄冠’梨果皮褐变及果实品质的影响[J].食品科学,2017,38(19):241-247
LIU Pei, XU Xinxin, LIU Tongxin, et al. Effects of H₂O₂ treatment on postharvest quality and skin browning of ‘Huangguan’ pears [J]. Food Science, 2017, 38(19): 241-247
- [18] 赵习娟,刘扬,李进才,等.H₂O₂ 处理对采后樱桃番茄和芒果抗冷性的影响[J].天津大学学报,2010,43(9):844-848
ZHAO Xiheng, LIU Yang, LI Jincan, et al. Effect of H₂O₂ treatment on cold tolerance of postharvest cherry-tomato and mango fruits [J]. Journal of Tianjin University, 2010, 43(9): 844-848
- [19] 王菲,生吉萍,范蓓,等.冷激及 H₂O₂ 处理对采后番茄果实抗病性的诱导[J].食品科学,2008,5:453-456
WANG Fei, SHENG Jiping, FAN Bei, et al. Induced disease-resistance of postharvest tomato by cold-shock and H₂O₂ treatment [J]. Food Science, 2008, 5: 453-456
- [20] 庞学群,潘少丽,王海波,等.过氧化氢在香蕉果实采后耐冷性诱导中的作用[J].园艺学报,2007,6:1373-1378
PANG Xuequn, PAN Shaoli, WANG haibo, et al. Role of hydrogen peroxide on chilling resistance of postharvest banana fruits [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2007, 6: 1373-1378
- [21] 林毅雄,林艺芬,陈艺晖,等.过氧化氢对采后龙眼果实贮藏品质的影响[J].食品科学,2016,37(22):244-248
LIN Yixiong, LIN Yifen, CHEN Yihui, et al. Effects of hydrogen peroxide on quality of harvested longan fruits during storage [J]. Food Science, 2016, 37(22): 244-248
- [22] LIN Yifeng, LIN Hetong, ZHANG Shen, et al. The role of active oxygen metabolism in hydrogen peroxide-induced pericarp browning of harvested longan fruit [J]. Postharvest Biology and Technology, 2014, 96: 42-48
- [23] 刘欢,梁爽,李巧玲,等.采后 H₂O₂ 和茶多酚处理对草莓果实活性氧代谢和衰老的影响[J].云南农业大学学报(自然科学),2017,32(3):504-509
LIU Huan, LIANG Shuang, LI Qiaoling, et al. The effects of H₂O₂ and tea polyphenol treatments on reactive oxygen metabolism and ageing in postharvest strawberry fruit [J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science), 2017, 32(3): 504-509
- [24] Tan Xiaoli, Zhao Yating, Shan Wei, et al. Melatonin delays leaf senescence of postharvest Chinese flowering cabbage through ROS homeostasis [J]. Food Research International, 2020, 138: 109790
- [25] Karkonen Anna, Koutaniemi Sanna. Lignin biosynthesis studies in plant tissue cultures [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2010, 52(2): 176-185
- [26] Huang W N, Liu H K, Zhang H H, et al. Ethylene-induced changes in lignification and cell wall-degrading enzymes in the roots of mungbean (*Vigna radiata*) sprouts [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2013, 73: 412-419
- [27] Lisker N, Cohen L, Chalutz E, et al. Fungal infections suppress ethylene-induced phenylalanine ammonia-lyase activity in grapefruits [J]. Physiological Plant Pathology, 1983, 22(3): 331-338
- [28] Knobloch Karl-Heinz, Hahlbrock Klaus. 4-Coumarate: CoA ligase from cell suspension cultures of *Petroselinum hortense* Hoffm: partial purification, substrate specificity, and further properties [J]. Academic Press, 1977, 184(1): 237-248
- [29] Goffner Deborah, Joffroy I, Grima-pettenati J, et al. Purification and characterization of isoforms of cinnamyl alcohol dehydrogenase from *Eucalyptus xylem* [J]. Planta, 1992, 188(1): 48-53

- [30] Fang W, Kao C H. Enhanced peroxidase activity in rice leaves in response to excess iron, copper and zinc [J]. *Plant Science*, 2000, 158(1-2): 71-76
- [31] HUANG Xinmin, LEI Yuling, GUAN Hongling, et al. Transcriptomic analysis of the regulation of stalk development in flowering Chinese cabbage (*Brassica campestris*) by RNA sequencing [J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 15517
- [32] Livak Kenneth J, Schmittgen Thomasd. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-delta delta C(T)) method [J]. *Methods (San Diego, Calif.)*, 2001, 25(4): 402-408
- [33] CHEN Chengjie, CHEN Hao, ZHANG Yi, et al. TB tools: an integrative toolkit developed for interactive analyses of big biological data [J]. *Molecular Plant*, 2020, 13(8): 1194-1202
- [34] LIN Yixiong, LIN Yifeng, CHEN Yihui, et al. Hydrogen peroxide induced changes in energy status and respiration metabolism of harvested longan fruit in relation to pericarp browning [J]. *Journal of Agricultural & Food Chemistry*, 2016, 64(22): 4627-4632
- [35] 贾志伟,孙曼丽,常金梅,等.菜心采后褪黑素处理的低温保鲜效果分析[J].*中国热带农业学报*,2019,40(7):1413-1420
JIA Zhiwei, SUN Manli, CHANG Jinmei, et al. Effect of melatonin treatment on the preservation of the flower stalk of *Brassica campestris* L. ssp. *chinesis* var. *utilis tsen et lee* after harvest under low temperature [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2019, 40(7): 1413-1420
- [36] 王馨,胡文忠,陈晨,等.活性氧在果蔬采后成熟衰老过程中的作用及几种气体处理对其影响的研究进展[J].*食品工业科技*,2017,38(5):375-379
WANG Xin, HU Wenzhong, CHEN Chen, et al. The role of reactive oxygen in harvested fruits and vegetables during maturation and senescence and the influences which handled by several gas treatments [J]. *Science and Technology of Food Industry*, 2017, 38(5): 375-379
- [37] 刘竟运,林育钊,范中奇,等.活性氧在采后果蔬品质劣变中的作用及其控制技术研究进展[J].*亚热带农业研究*,2020, 16(1):52-59
LIU Jingyun, LIN Yuzhao, FAN Zhongqi, et al. Research progress on the role of reactive oxygen species in quality deterioration of harvested fruits and vegetables and its control technologies [J]. *Subtropical Agriculture Research*, 2020, 16(1): 52-59
- [38] YOON Jinmi, CHOI Heebak, AN Gynheung. Roles of lignin biosynthesis and regulatory genes in plant development [J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2015, 57(11): 902-912
- [39] 罗政,许超群,陈飞平,等.LED光照对气调保鲜菜心叶绿素合成代谢的影响[J].*保鲜与加工*,2021,21(7):8-16
LUO Zheng, XU Chaoqun, CHEN Feiping, et al. Effects of LED light on chlorophyll synthesis and metabolism of Chinese flowering cabbages under controlled atmosphere fresh keeping [J]. *Storage and Process*, 2021, 21(7): 8-16
- [40] 孙涵,王相友,李玲.高氧动态气调对双孢蘑菇细胞壁代谢及木质化进程的影响[J].*食品科学*,2018,39(11):255-262
SUN Han, WANG Xiangyou, LI Ling. Effect of high-oxygen dynamic controlled atmosphere on cell wall metabolism and lignification process of *Agaricus bisporus* [J]. *Food Science*, 2018, 39(11): 255-262
- [41] HU Wenjing, Harding S A, Lung J, et al. Repression of lignin biosynthesis promotes cellulose accumulation and growth in transgenic trees [J]. *Nature Biotechnology*, 1999, 17(8): 808-812
- [42] Mansell Richard L, Babbel Gareth R, Zenk Meihhart H. Multiple forms and specificity of coniferyl alcohol from cambial dehydrogenase regions of higher plants [J]. *Phytochemistry*, 1976, 15(12): 1849-1853
- [43] Kováčik Jozef, Jiří Grúz, Bořiroj Klejdus, et al. Lignification and related parameters in copper-exposed *Matricaria chamomilla* roots: role of H₂O₂ and NO in this process [J]. *Plant Science*, 2010, 179(4): 383-389
- [44] 杨腾达,陈于陇,曾凡坤,等.真空预冷调控桑叶采后木质化的机理初探[J].*现代食品科技*,2021,37(4):131-138
YANG Tengda, CHEN Yulong, ZENG Fankun, et al. A preliminary study on the regulating mechanism of vacuum precooling on the lignification of mulberry leaf vegetables after harvest [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2021, 37(4): 131-138
- [45] HAN Miaohua, NI Yang, WAN Qiwen, et al. Exogenous melatonin positively regulates lignin biosynthesis in *Camellia sinensis* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2021, 179: 485-499
- [46] HUANG Wenkun, JI Hongli, Gheysen Godelieve, et al. Thiamine-induced priming against root-knot nematode infection in rice involves lignification and hydrogen peroxide generation [J]. *Molecular Plant Pathology*, 2016, 17(4): 614-624
- [47] Sharma Sangeeta, Singh Harminder Pal, Batish Daizy Rani, et al. Nitric oxide induced modulations in adventitious root growth, lignin content and lignin synthesizing enzymes in the hypocotyls of *Vigna radiata* [J]. *Plant Physiology and*

- Biochemistry, 2019, 141: 225-230
- [48] LIU Jiexia, FENG Kaiwang, XU Guanglong, et al. Elevated CO₂ induces alteration in lignin accumulation in celery (*Apium graveolens* L.) [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2018, 127: 310-319
- [49] Diane Shufflebottom, Keith Edwards, Wolfgang Schuch, et al. Transcription of two members of a gene family encoding phenylalanine ammonia-lyase leads to remarkably different cell specificities and induction patterns [J]. Plant Journal for Cell & Molecular Biology, 1993, 3(6): 835-845
- [50] Ehlting Jürgen, Buttner Danieal, WANG Qing, et al. Three 4-coumarate: coenzyme A ligases in *Arabidopsis thaliana* represent two evolutionarily divergent classes in angiosperms [J]. Plant Journal, 1999, 19(1): 9-20
- [51] 曹佳强,李波,杨洋,等.木质素生物合成中肉桂醇脱氢酶基因(CAD)的研究进展[J].分子植物育种,2014,12(5):1034-1043
CAO Jiaqiang, LI Bo, YANG Yang, et al. Advanced progress in the cinnamyl alcohol dehydrogenase gene involved in lignin biosynthesis [J]. Molecular Plant Breeding, 2014, 12(5): 1034-1043
- [52] Passardi F, Cosio C, Penel C, et al. Peroxidases have more functions than a Swiss army knife [J]. Plant Cell Reports, 2005, 24(5): 255-265
- [53] Lagrimini Mark. Wound-induced deposition of polyphenols in transgenic plants over expressing peroxidase [J]. Plant Physiology, 1991, 96(2): 577-583
- [54] Kwak Junem, Mori Izumic, Pei Zhenming, et al. NADPH oxidase *AtrbohD* and *AtrbohF* genes function in ROS-dependent ABA signaling in *Arabidopsis* [J]. EMBO Journal, 2003, 22(11): 2623-2633
- [55] 刘秋圆,贺浩华,胡丽芳.植物 *Rboh* 基因功能及其活性调节机制的研究进展[J].生物技术通报,2013,11:8-13
LIU Qinyuan, HE Haohua, HU Lifang, et al. Research progress in plant *Rboh* genes function and activity regulation mechanism [J]. Biotechnology Bulletin, 2013, 11: 8-13
- [56] 张灵,陶亚军,方琳,等.植物多胺的代谢与生理研究进展[J].植物生理学报,2020,56(10):2029-2039
ZHANG Ling, TAO Yajun, FANG Lin, et al. Metabolism and physiological function of polyamine in plants [J]. Plant Physiology Journal, 2020, 56(10): 2029-2039
- [57] 刘建新,王金成,王瑞娟,等.外源过氧化氢提高燕麦耐盐性的生理机制[J].草业学报,2016,25(2):216-222
LIU Jianxin, WANG Jincheng, WANG Ruijuan, et al. The physiological mechanisms through which exogenous H₂O₂ increases the resistance of *Avena nuda* to salt stress [J]. Acta Prataculturae Sinica, 2016, 25(2): 216-222
- [58] Miller Gad, Suzuki Nobuhiro, Ciftci-yilmaz Suzuki, et al. Reactive oxygen species homeostasis and signalling during drought and salinity stresses [J]. Plant, Cell & Environment, 2010, 33(4): 453-467
- [59] 刘杨.H₂O₂ 对冷敏型果蔬采后抗冷性的影响[D].天津:天津大学,2009
LIU Yang. Effect of H₂O₂ on the cold resistance of cold-sensitive fruits and vegetables after harvest [D]. Tianjin: Tianjin University, 2009
- [60] 李文波.1-MCP、MeSA、H₂O₂ 对脱涩柿果实冷害的影响[D].淄博:山东理工大学,2012
LI Wenbo. Effect of 1-MCP、MeSA、H₂O₂ on cold injury of destringented persimmon fruit during cold storage [D]. Zibo: Shandong University of Technology, 2012

(上接第 144 页)

- [21] 鲁安娜,尉鑫欣,陈波,等.酸乳冷链物流模拟振动的理化性质及微观结构研究[J].发酵科技通讯,2019,48(1):19-22
LU Anna, WEI Xinxin, CHEN Bo, et al. Research on physicochemical properties and microstructure of yogurt-yogurt cold chain logistics simulation vibration [J]. Fermentation Science and Technology Communication, 2019, 48(1): 19-22
- [22] 年益莹.冷链物流运输过程中鲟鱼的品质变化及其品质控制[D].大连:大连工业大学,2018
NIAN Yiyang. Quality change and quality control of sturgeon in cold chain logistics transportation process [D]. Dalian: Dalian Polytechnic University, 2018
- [23] 钱韻芳,王尊,王硕,等.模拟冷链物流过程中温度波动对带鱼品质及水分迁移的影响[A].中国食品科学技术学会第十五届年会论文摘要集[C].中国食品科学技术学会,2018: 2
QIAN Yunfang, WANG Zun, WANG Shuo, et al. Simulation of the effect of temperature fluctuation on hairtail quality and water migration in cold chain logistics process [A]. Chinese Institute of Food Science and Technology. Abstracts of the 15th annual conference of Chinese Society of Food Science and Technology [C]. Chinese Institute of Food Science and Technology, 2018: 2