

# 不同保鲜方法对枸杞抗坏血酸过氧化物基因表达和植物激素含量的影响

方婕, 罗毅皓\*, 孙万成

(青海大学农牧学院, 青海西宁 810000)

**摘要:** 为探究枸杞鲜果保鲜机理, 利用体积分数 75%乙醇溶液、乳酸涂膜、壳聚糖涂膜和气调处理对枸杞鲜果进行保鲜处理, 测定保鲜前后营养成分变化指标及相关酶活性, 利用实时定量 PCR (RT-qPCR) 技术, 测定枸杞抗坏血酸过氧化物 (*LcAPX*) 基因的相对表达量, 同时测定枸杞鲜果贮存后的激素含量, 研究不同处理方法对新鲜枸杞的保鲜效果及其对关键基因相对表达量的影响。结果表明, 不同处理能明显提高保鲜效果, 其中化学保鲜剂以脱乙酰度 96.1%、浓度为 1.5 g/L 的壳聚糖溶液涂膜处理效果最佳, 气调处理能保持枸杞鲜果的感官品质, 降低相关酶的活性; 同时, 经保鲜处理的枸杞鲜果 *LcAPX* 基因相对表达量均低于 1, 气调处理效果最佳, 相对表达量为 0.35。贮存后的枸杞鲜果其生长素 (Auxin/ICAlD) 上升幅度最大, 由 2.43 上升至 28.71, 脱落酸 (ABA) 含量由 3.59 上升至 18.10, 均较空白对照组上升, 乙烯 (ETH) 由 17.70 下降至 8.56, 赤霉素 (GA) 含量由 17.7 降低至 6.49, 与激素变化规律基本一致。

**关键词:** 枸杞鲜果; 保鲜; 酶活性; 基因表达; 植物激素

文章编号: 1673-9078(2022)09-190-197

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2022.9.1037

## Effects of Different Preservation Methods on Ascorbate Peroxidase Gene Expression and Phytohormone Content of *Lycium chinense*

FANG Jie, LUO Yihao\*, SUN Wancheng

(College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810000, China)

**Abstract:** In order to explore the mechanism of fresh *Lycium chinense* fruit preservation, fresh *Lycium chinense* fruits were subjected to preservation treatments, 75% ethanol solution, lactic acid coating, chitosan coating and modified atmosphere treatment. The changes of nutrients and the activities of related enzymes before and after preservation were determined, Real-time quantitative PCR (qRT-qPCR) technology was used to determine the relative gene expression of ascorbate peroxide (*LcAPX*) in *Lycium chinense*, while the hormone content of fresh *Lycium chinense* fruit after storage was determined. The effects of different treatments on the preservation of fresh *Lycium chinense* and the relative expressions of key genes were studied. The results showed that different treatments could significantly improve the fresh-keeping effect. Among them, the best preservation was with the chemical, the chitosan coating solution with a degree of deacetylation of 96.1% and a concentration of 1.5 g/L. The modified atmosphere treatment could maintain the sensory quality of fresh fruits and reduce the activities of related enzymes. In the meantime, the relative expression levels of *LcAPX* gene in the fresh *Lycium chinense* fruits subjected to preservation treatments were all lower than 1, with that being 0.35 (the best) for the modified atmosphere treatment. After storage, the content of auxin (ICAlD) of the fresh fruit exhibited the largest increase (increased from 2.43 to 28.71), while the content of ABA increased from 3.59 to 18.10, which were all higher than those of the blank control group. The content of ethylene (ETH) decreased from 17.70 to 8.56, and the content of gibberellin (GA) decreased from 17.7 to 6.49, which were essentially consistent with the changing trends of hormones.

**Key words:** fresh fruit of *Lycium chinense*; preservation; enzyme activity; gene expression; phytohormone

引文格式:

方婕,罗毅皓,孙万成.不同保鲜方法对枸杞抗坏血酸过氧化物基因表达和植物激素含量的影响[J].现代食品科技,2022,38(9):190-197

FANG Jie, LUO Yihao, SUN Wancheng. Effects of different preservation methods on ascorbate peroxidase gene expression and phytohormone Content of *Lycium chinense* [J]. Modern Food Science and Technology, 2022, 38(9): 190-197

收稿日期: 2021-09-16

作者简介: 方婕 (1999-), 女, 在读研究生, 研究方向: 食品科学, E-mail: 1010562909@qq.com

通讯作者: 罗毅皓 (1976-), 女, 副教授, 研究方向: 功能食品及农畜产品加工, E-mail: 291649347@qq.com

枸杞 (*Lycium chinense*), 茄科枸杞属, 果实呈纺锤形或卵形, 果肉柔润香甜, 是我国泡茶、酿酒的理想原料之一, 具有清热明目、补虚益精、护肾补血等药理作用<sup>[1]</sup>。枸杞广泛分布于我国、朝鲜及日本等地, 中华枸杞和宁夏枸杞是我国的主要分布品种, 宁夏枸杞主要生长在我国的西北部地区<sup>[2]</sup>。枸杞鲜果富含甜菜碱、枸杞多糖、类胡萝卜素、维生素等营养活性物质<sup>[3]</sup>, 目前有研究表明, 枸杞多糖具有提高免疫力、延缓衰老、减轻疲劳的作用<sup>[4]</sup>。青海省红枸杞品质上等, 籽少肉厚, 研究表明, 柴达木红枸杞富含大量的维生素和 18 种人体必需氨基酸, 有机硒、硒和锌浓度也是相对较高的, 这有助于促进人类健康和智力的发展<sup>[5]</sup>。

枸杞属于呼吸非跃变型果实, 采后的鲜果带有大量的田间热, 呼吸作用十分旺盛, 使果实内物质消耗较快, 细胞膜在衰老进程中会遭到破坏, 从而导致组织结构变化, 极易腐烂变质<sup>[6]</sup>。枸杞成熟后, 体内会产生大量的乙烯, 这些成分在枸杞收获后会大量释放出来, 乙烯的存在会加快枸杞的呼吸消耗速率, 促进枸杞的进一步衰老和死亡, 提高枸杞的腐烂速率<sup>[7]</sup>。目前枸杞的保鲜方法主要有低温贮藏、气调冷藏、化学试剂保鲜及生物酶活性保藏。

壳聚糖涂层能够保护细胞膜结构的完整性, 减缓褐色色素的形成<sup>[8]</sup>。冯美等<sup>[9]</sup>研究表明, 外源一氧化氮处理可有效降低果实失重率和果实腐烂指数, 延缓果实可溶性固形物含量的下降, 抑制乙烯的产生和呼吸速率, 提高超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (POD) 的活性。王瑞庆等<sup>[10]</sup>研究表明 CF 保鲜剂 (主要成分: 0.05 g/L 水杨酸、4 g/L 氯化钙、1 g/L 抗坏血酸、1 g/L 柠檬酸) 处理可以降低枸杞果实的腐烂率, 提高固/酸比和香气等其他感官品质, 但其加速了可溶性固形物和可滴定酸含量的减少, 对色泽、果皮状况、含液量和质地无明显影响。

目前, 国内关于不同处理对新鲜枸杞保鲜效果及其对关键基因表达影响的研究鲜有报道。本文以新鲜红枸杞为研究对象, 通过不同保鲜处理比较分析保鲜的效果, 确定一种较好的保鲜方法, 同时研究不同处理对抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 基因表达的影响, 为形成有效并绿色环保的枸杞保鲜工艺提供技术支持。抗坏血酸过氧化物酶是一种很好的活性氧清除剂, 是清除  $H_2O_2$  的关键酶, 参与植物生长发育和多种逆境胁迫的响应过程。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与试剂

柴达木红枸杞; cDNA 第一链合成试剂盒、SYBR Green Master Mix、枸杞 *Lcactin* 引物、枸杞 *LcAPX* 引物、TRIzol (细胞裂解液), 生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 愈创木酚、邻苯二酚, 上海麦克林生化科技有限公司。

### 1.2 仪器与设备

荧光定量仪 (CFX96)、凝胶成像系统 (Gel Doc XR), 美国 BIO-RAD 公司; 梯度 PCR 仪 (System 9700), 美国 ABI 公司; 核酸电泳仪 (JY600), 北京君意东方电泳仪设备有限公司; 全波长紫外分光光度计 (UV-1780), 日本 SHIMADZU 公司; 多管涡旋振荡器 (MIX-200) 上海净信。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 样品处理

将采购的新鲜枸杞在 10 °C 预冷 30 min。

#### 1.3.2 保鲜处理

酒精保鲜处理: 将处理后的枸杞样品置于经过体积分数 75% 酒精擦拭过的保鲜盒中, 用体积分数 75% 酒精分别喷洒枸杞表面形成一层保护膜, 喷洒比例分别为枸杞重量的 1%、2% 和 3%, 将保鲜盒分别置于室温和 4 °C 冰箱中冷藏。壳聚糖保鲜处理: 将不同脱乙酰度的壳聚糖用 1.0 mol/L 乙酸溶解后加氢氧化钠调 pH 值至 5.4, 加水调配成质量浓度为 1.0 g/L、1.5 g/L 和 2.0 g/L 的溶液, 将果实分别在 9 种壳聚糖溶液中浸泡处理 3 min, 室温下自然干燥成膜, 每个脱乙酰度每个浓度处理 2 盒, 用保鲜盒包装; 分别置于室温和 4 °C 冰箱中冷藏。

乳酸保鲜处理: 将乳酸加水配成体积分数为 3%、4% 和 5% 的溶液, 将果实分别在 3 种乳酸溶液中浸泡处理 3 min, 处理完将枸杞自然干燥成膜, 每个浓度处理 2 盒, 用保鲜盒包装; 分别置于室温和 4 °C 冰箱中冷藏。

气调保鲜: 随机选取果肉致密的枸杞 20 g 左右放入 PE 塑料袋中, 50% 氮气和 50% 空气充气, 同时设置一组空白实验; 将包装好的枸杞鲜果在 4 °C 冰箱中保存 15 d, 每组每 5 d 采样一次。采样后, 将样品分为两部分: 一部分用于测定 APX 基因的相对表达量, 标记后放入 -80 °C 冰箱保存, 以确保遗传物质不受影响; 另一部分用于测定酶活性, 并在 -20 °C 冰箱保存。

#### 1.3.3 感官评定

枸杞鲜果感官评价指标及评分见表 1。

表1 感官分析评定标准

Table 1 Standard for sensory quality evaluation

得分	颜色	果皮	香味	液汁	质地
9	鲜红/光亮	饱满, 无破损	浓重品种香味	很多	硬饱满
7	红/较光亮	较饱满, 无破损	中等浓重	较多	较饱满
5	中等红	稍微破损	香气轻无异味	中	中等饱满
3	暗红	明显皱缩, 有破损	轻微异味	少	软

### 1.3.4 过氧化氢酶 (PPO) 活性测定

采用邻苯二酚法<sup>[11]</sup>测定。称量约 5 g 的果实放入研钵中 (事先预冷), 然后加入 5 mL PBS 缓冲液 (0.05 mol/L pH 5.5) 研磨, 4 °C 离心 15 min (1 000 r/min) 得到酶的粗提物。依次加入 1.5 mL PBS 缓冲液和 0.5 mL 邻苯二酚溶液 (0.1 mol/L), 35 °C 水浴保温 20 min, 然后加入 0.5 mL 酶液, 立即开始测定。在 420 nm 波长下每 30 s 测量吸光度变化, 总测定时间为 3 min。重复测量 2 次, 用 PBS 缓冲液调零。

### 1.3.5 多酚氧化酶 (POD) 活性测定

采用愈创木酚法<sup>[12]</sup>测定。称量约 5 g 果实置于事先预冷的研钵中, 然后加入 5 mL PBS 缓冲液 (0.05 mol/L pH 5.5) 研磨, 4 °C 离心 15 min (1 000 r/min) 得到酶的粗提物。依次加入 2.9 mL 磷酸缓冲液、1.0 mL 过氧化氢溶液 (2%)、1.0 mL 愈创木酚溶液 (0.05 mol/L)、0.5 mL 酶液。溶液在 35 °C 水浴中保温 20 min, 迅速冷却, 在 470 nm 波长下每 30 s 测量吸光度值的变化, 总反应时间为 3 min, 重复测定 2 次, 用 PBS 缓冲液置零。

### 1.3.6 抗坏血酸过氧化物酶 (APX) 活性测定

称取 5 g 果实, 置于事先预冷的研钵中, 加入 5 mL 预冷的 PBS 缓冲液 (pH 值 7.5 0.1 mol/L), 充分研磨, 4 °C 离心 15 min (1 000 r/min), 得到酶的粗提取物。依次加入 2.6 mL 反应缓冲液 (含 2.9 mg EDTA 和 8.8 mg 抗坏血酸, 等体积 pH 7.5 缓冲液至 100 mL) 和 0.1 mL 酶提取物, 加入 0.3 mL 过氧化氢溶液 (2 mol/L) 开始测定。在 290 nm 处测量吸光度值的变化。

### 1.3.7 *LcAPX* 基因相对表达水平的测定

枸杞总 RNA 的提取及 cDNA 的合成 采用 TRIzol 提取液提取每组样品的总 RNA, 反转录合成 cDNA 并进行电泳检测。

QRT-PCR 引物设计及反应条件的优化: 引物设计: 根据枸杞 *LcAPX* 基因, 由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成, 用于 QRT-PCR。

*LcAPX* 引物: 上游序列 5'-3'AGGGCTTCTACA GTTGCCATCAG, 下游序列 5'-3'GTGAGCCTCAGCA TAGTCAGCAA; 内参引物: 上游序列 5'-3'CCATCTA CGAGGAGGGTTACGCTTTG, 下游序列 5'-3'AGTC

AAGAGCCACATAGGCAAGC。用上述内参引物及枸杞 *LcAPX* 引物进行 QRT-PCR。采用相对定量法, 以 0 d 未处理的鲜样为对照。

反应体系: 2X SYBR Green Master Mix 10 μL, 上、下游引物各 0.8 μL, cDNA 模板 2 μL, ddH<sub>2</sub>O 补足至 20 μL。

QRT-PCR 反应程序: 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s, 58 °C 复性 30 s, 39 个循环。融解曲线的程序: 95 °C 变性 10 s; 65 °C 复性 5 s, 40 °C 冷却 30 s, 重复 3 次, 记录 CT 值。其中, CT 值定义为: 每个反应中的荧光信号达到阈值所需要的循环数。结果取算术平均值。

### 1.3.8 植物激素测定

取出超低温保存的枸杞样本, 用研磨仪研磨 (30 Hz, 1 min) 至粉末状; 取 50 mg 研磨后的样本, 加入适量内标, 用 1 mL 甲醇/水/甲酸 (15:4:1, V/V/V) 进行提取; 提取液浓缩后用 100 μL 80% 甲醇/水溶液复溶, 过 0.22 μm 滤膜, 置于进样瓶中, 用于 LC-MS/MS 分析。

色谱质谱数据采集系统主要包括超高效液相色谱 (Ultra Performance Liquid Chromatography, UPLC) (ExionLC™ AD) 和串联质谱 (Tandem Mass Spectrometry, MS/MS) (QTRAP® 6500+)。

液相条件主要包括: 色谱柱: Waters ACQUITY UPLC HSS T3 C18 柱 (1.8 μm, 100 mm×2.1 mm i.d.); 流动相: A 相, 超纯水 (加入 0.04% 的乙酸); B 相, 乙腈 (加入 0.04% 的乙酸); 梯度洗脱程序: 0 min A/B 为 95:5 (V/V), 1.0 min A/B 为 95:5 (V/V), 8.0 min 为 5:95 (V/V), 9.0 min 为 5:95 (V/V), 9.1 min 为 95:5 (V/V), 12.0 min 为 95:5 (V/V); 流量 0.35 mL/min; 柱温 40 °C; 进样量 2 μL。

质谱条件主要包括: 电喷雾离子源 (Electrospray Ionization, ESI) 温度 550 °C, 正离子模式下质谱电压 5 500 V, 负离子模式下质谱电压 -4 500 V, 气帘气 (Curtain Gas, CUR) 35 psi。在 Q-Trap 6500+ 中, 每个离子对是根据优化的去簇电压 (declustering potential, DP) 和碰撞能 (collision energy, CE) 进行扫描检测。

### 1.3.9 数据统计与分析

所有试验数据均进行方差的分析,以平均值±标准差(x±SD)的形式表示。所使用的分析软件为SPSS 18.0。作图所使用软件为Origin 9.0。

## 2 结果与讨论

### 2.1 不同处理方式下贮存 10 d 枸杞鲜果感官品质评分

#### 品质评分

不同处理方式对枸杞鲜果感官品质评分的影响见图1。如图1所示,气调处理可以显著改善贮存枸杞的感官品质,乙醇喷洒处理后腐烂较为严重,失去了枸杞固有的香味。气调处理效果较好,除在液汁方面与对照组无差异(p>0.05),其余结果均优于对照组(p<0.05)。葛玉萍等<sup>[7]</sup>用30、50、70 μm 3种厚度的保鲜膜密封包装新鲜枸杞,在4℃下进行保鲜试验,结果表明,50 μm 保鲜膜保鲜效果最好,但试验未设置对照,因此,气调包装作用效果并不明确。李颖超等<sup>[13]</sup>用塑料薄膜单层覆盖包裹枸杞,分别在25℃和0℃下进行贮藏,薄膜包装果实的腐烂率均明显高于对照,可能由于包装未处于密封状态,包装内未形成气调环境,而包装内部湿度相对较高,果实表面的病原物更易萌发、生长和繁殖所致。

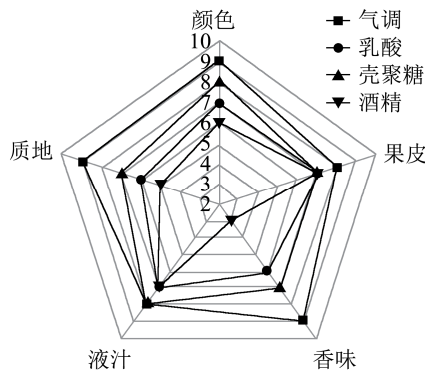


图1 不同处理方式下枸杞鲜果感官品质评分

Fig.1 Sensory quality score of fresh fruit of *Lycium chinense* under different treatments

### 2.2 不同处理方式下枸杞鲜果过氧化氢酶

#### (POD) 活性变化情况

不同处理方式下枸杞鲜果过氧化氢酶(POD)活性的影响见图2。

过氧化氢酶有过氧化氢的存在下,可以将酚类物质氧化为醌类物质,进一步转化为褐色化合物,导致植物中大量的酶促褐变<sup>[13]</sup>。由图2可知,随着贮藏时

间的延长,POD活性一直呈上升趋势,经过处理的枸杞鲜果POD酶活性上升较未处理的枸杞鲜果上升较慢,贮藏第5天后,处理与对照间的差异逐渐明显,第10天时,气调处理者的POD活性较同期对照低8.2 U/g FW,贮藏15 d时,处理果实的POD酶活性仍低于对照(p<0.05),这表明经处理后特别是气调处理可有效降低POD酶活性,从而减缓枸杞鲜果的酶促褐变。侯田莹等<sup>[14]</sup>研究发现POD活力的增加表明果蔬进入衰老阶段,新鲜度下降,褐变增加。因此,抑制或者延缓POD活性的增加能延长贮藏时间,结合本实验研究,气调处理对于抑制枸杞组织POD活力有效果。

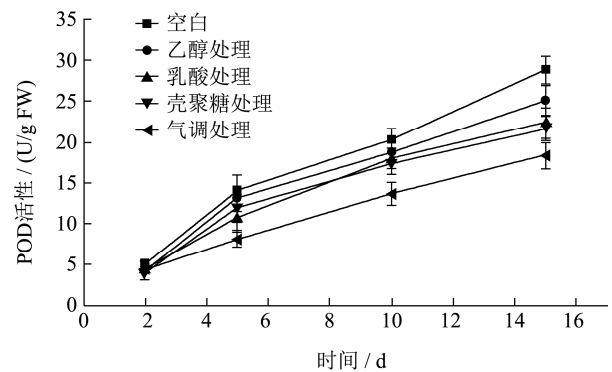


图2 不同处理方式下枸杞鲜果过氧化氢酶(POD)活性变化情况

Fig.2 Changes of peralase (POD) activity in fresh fruits of *Lycium chinense* under different treatments

### 2.3 不同处理方式下枸杞鲜果多酚氧化酶

#### (PPO) 活性变化情况

不同处理方式下枸杞鲜果多酚氧化酶(PPO)活性的变化见图3。

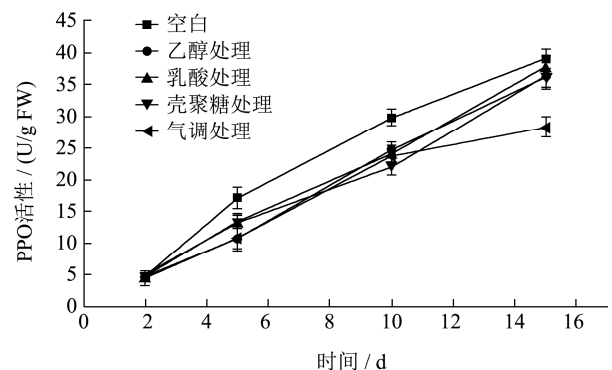


图3 不同处理方式下枸杞鲜果多酚氧化酶(PPO)活性变化情况

Fig.3 Changes of polyphenol oxidase (PPO) activity in fresh fruits of *Lycium chinense* under different treatments

从图3中可以看出,随着贮藏天数的增加,PPO酶活性逐渐增加,其中气调处理和壳聚糖处理在0~5 d内增幅较为平缓,相比未经处理的枸杞鲜果,其多酚氧化酶活性始终高于经过处理的枸杞鲜果(p<0.05),

这表明,经处理后可一定程度上抑制酚类物质转变成醌类物质,从而减缓枸杞鲜果的酶促褐变。赵建华等<sup>[15]</sup>在研究采后枸杞鲜果褐变与活性氧代谢中发现:在枸杞果实贮藏5~20 d内,4℃下果实总酚含量高于10℃,PPO活性随时间呈现先下降后上升的趋势。这就说明在枸杞果实贮藏前期伴随着PPO活性降低果实体内的总酚含量随之而增大,但随着贮藏时间延续果实体内抗氧化能力不断下降,膜脂氧化作用加重总酚含量不再随PPO活性降低或增大而变化却呈现出下降的趋势。侯田莹等<sup>[14]</sup>研究枸杞头生理特性变化中发现枸杞头组织中PPO活性很弱,几乎检测不到,这与大多数果蔬含有较高PPO活性的结果不同,推测不同类型、品种的蔬菜间PPO的活性作用存在差别。本试验中PPO活性一直呈上升趋势,推测可能是保鲜处理对枸杞PPO活性变化产生影响。

#### 2.4 不同处理方式下枸杞鲜果抗坏血酸过氧

化物酶(APX)活性变化情况

不同处理方式下枸杞鲜果抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性的变化见图4。

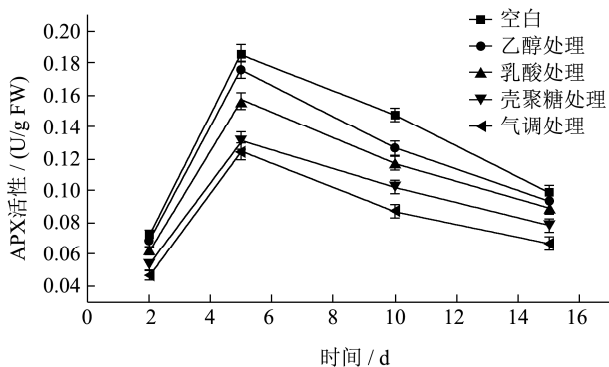


图4 不同处理方式下枸杞鲜果抗坏血酸过氧化物酶(APX)活性变化情况

Fig.4 Changes of ascorbate peroxidase (APX) activity in fresh fruits of *Lycium chinense* under different treatments

由图4可知,在贮藏过程中,抗坏血酸过氧化物酶活性先升高后降低,在第5 d时空白组的APX活性达到了0.188 U/g FW,气调处理组的APX活性仅为0.124 U/g FW,在5~15 d内,空白组的APX活性仍高于处理组( $p < 0.05$ )。这说明枸杞鲜果经过处理后会减轻受到的CO<sub>2</sub>伤害,从而降低组织细胞收到过氧化氢的伤害。魏增宇<sup>[16]</sup>研究发现鲜切苹果抗坏血酸过氧化物酶活性呈现先增加后降低的趋势这表明鲜切苹果受到二氧化碳的伤害是一个不断累积的过程随着鲜切苹果受到的二氧化碳伤害的不断累积抗坏血酸过氧化物酶不断降低机体受到的伤害进一步加剧。本试验中枸

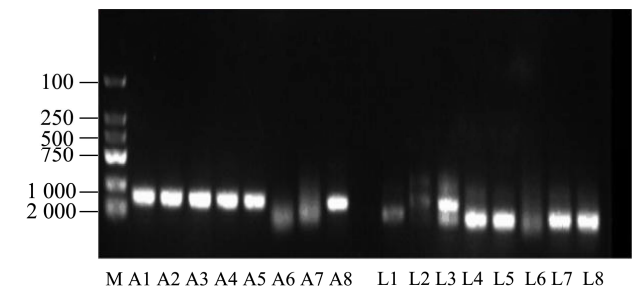
杞抗坏血酸过氧化物酶活性同样呈现先增加后降低的趋势,这与魏增宇研究结果相一致。

#### 2.5 不同处理方式下枸杞鲜果抗坏血酸过氧化物酶基因(LcAPX)表达量变化

##### 2.5.1 总RNA的提取和cDNA的合成结果 cDNA电泳结果

总RNA的提取和cDNA的合成结果见图5。

提取后的RNA经检测后,其 $A_{260}/A_{280}$ 值在1.8~2.2之间,表明纯度符合要求,其 $A_{260}/A_{230}$ 值大于1.6,表明质量符合规定,无盐类干扰,可以用于反转录cDNA。从图可以看出,样品内参基因actin和基因LcAPX<sup>[17]</sup>(即后续qRT-PCR的引物)常规PCR电泳检测成功扩增出约1 500 bp和2 000 bp的目的条带,可用于后续qRT-PCR实验。



M A1 A2 A3 A4 A5 A6 A7 A8 L1 L2 L3 L4 L5 L6 L7 L8

图5 样品cDNA电泳图

Fig.5 cDNA electrophoresis of the sample

注:泳道M为DNA Marker, A为Reference gene (actin), L为LcAPX, 1~4为空白对照贮藏0、5、10、15 d, 5~8为壳聚糖处理贮藏0 d。

##### 2.5.2 不同处理方式下枸杞鲜果抗坏血酸过氧化物酶基因(LcAPX)表达量变化

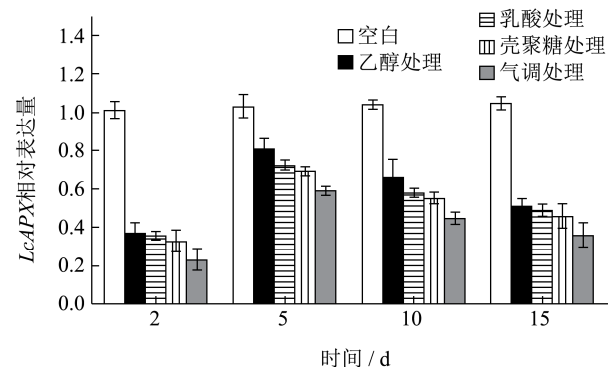


图6 不同处理方式下枸杞鲜果抗坏血酸过氧化物酶(LcAPX)表达量变化比较

Fig.6 Comparison of ascorbate peroxidase (LcAPX) expression level in fresh fruits of *Lycium chinense* under different treatments ( $n=5, \bar{x} \pm s$ )

不同处理方式下枸杞鲜果抗坏血酸过氧化物酶



(*LcAPX*) 表达量变化见图 6。

由图 6 可知, 第 2、5、10、15 天, 4 种包装的枸杞 *LcAPX* 基因相对表达水平, 随着贮存天数的增加, 曲线先上升后下降。以空白组为对照, 设 *LcAPX* 表达量为 1, 各处理后 *LcAPX* 表达量均低于 1, 说明各处理可抑制 *LcAPX* 基因的表达, 其中贮藏 5 d 时乙醇处理在处理组中表达水平最高, 相对表达量达到了 0.81, 乳酸处理、壳聚糖处理及气调处理的相对表达量分别为 0.71、0.68 和 0.59。第 15 天时, 处理组 *LcAPX* 表达量水平降低幅度较大, 其中气调处理的相对表达量达到了 0.379, 各处理组 *LcAPX* 表达量均显著低于对照组 ( $p < 0.05$ )。

## 2.6 贮存 10 d 后枸杞关键激素含量

贮存 10 d 后枸杞鲜果关键激素含量对比见表 2。

表 2 贮存 10 d 后与空白对照组含量对比

Table 2 The expression levels were compared with blank control group and the group after storage for 10 days

激素名称	分类	空白对照组/(ng/g)	试验组/(ng/g)	对比
DZ	CK	3.41	0.19	down
IP	CK	0.03	0.01	down
ACC	ETH	17.70	8.56	down
GA1	GA	17.70	6.49	down
SAG	SA	134	12.81	down
ABA	ABA	3.59	18.12	up
IAN	Auxin	0.07	0.23	up
IAA-Trp	Auxin	0.054	0.26	up
ICA	Auxin	1.12	42.51	up
IAA	Auxin	0.40	8.62	up
ICAlD	Auxin	2.43	28.71	up
MEIAA	Auxin	0.22	3.72	up
cZROG	CK	0.97	6.75	up
2MeScZR	CK	0.09	0.53	up
IPR	CK	0.04	1.05	up
OPC-6	JA	3.32	24.23	up
JA-ILE	JA	0.08	0.27	up
OPDA	JA	1.17	53.11	up
SA	SA	17.23	1 940	up

由表 9 可见, 贮存 10 d 后, 与对照组相比较, 枸杞鲜果乙烯 (ETH) 类包括 1-氨基环丙烷羧酸 (ACC), 赤霉素 (GA) 类包括赤霉素 1 (GA1) 含量有所下降, 生长素 (auxin) 类包括吲哚-3-乙腈 (IAN)、吲哚乙酸-色氨酸 (IAA-Trp)、吲哚-3-甲酸 (ICA)、吲哚-3-乙酸 (IAA)、吲哚-3-甲醛 (ICAlD)、吲哚-3-乙酸甲酯 (MEIAA), 脱落酸 (ABA) 和茉莉酸 (JA) 包括 12-

氧-植物-二烯酸 (OPDA)、氧化戊烯基环戊烷己酸 (OPC-6)、茉莉酸-异亮氨酸 (JA-ILE) 含量均较空白对照组上升 ( $p < 0.05$ ), 细胞分裂素 (CK) 类包括顺式玉米核苷-O-糖苷 (cZROG)、2-甲硫基顺式玉米素核苷 (2MeScZR)、异戊烯腺嘌呤核苷 (IPR) 含量上升, 二氢玉米素 (DZ)、异戊烯腺嘌呤 (IP) 含量下降 ( $p < 0.05$ ), 水杨酸 (SA) 含量上升, 水杨酸-2-O- $\beta$ -葡萄糖苷 (SAG) 含量下降 ( $p < 0.05$ )。

生长素 (Auxin) 具有促进植物器官伸长的作用, 可以减少植物蒸腾作用的水分损失<sup>[18]</sup>, 有研究表明, 生长素在果实采收时含量达到高峰, 试验结果表明, 枸杞果实在贮存后生长素含量上升且变化量明显, 推测是果实在贮存后熟过程中分泌了大量生长素来减少果实水分的蒸腾。

赤霉素 (GA) 可以促进果实发育<sup>[18]</sup>, 脱落酸 (ABA) 能够抑制细胞分裂, 促进果实衰老和脱落。有研究表明 GA 和 ABA 在调节植物发育过程中呈现出拮抗的关系, GA 促进生长, 然而 ABA 促进衰老<sup>[19]</sup>。试验结果显示贮存后的枸杞果实 GA 含量下降, ABA 含量上升, 枸杞采收后已经开始步入后熟和衰老, GA 分泌量必定降低, ABA 含量的上升可以促进果实的衰老。

乙烯 (ETH) 有促进果实成熟, 促进器官脱落和衰老的作用<sup>[20]</sup>, 这与脱落酸的作用相似; 有研究表明当果实进入衰老期后, ABA 含量才会出现上升, 并且在后熟衰老的过程中, ABA 含量高于乙烯<sup>[21]</sup>。与乙烯相比, ABA 具有促进果实成熟和衰老的“优先”效应, 乙烯则为辅助因子。实验结果显示 ABA 含量上升而 ETH 含量下降, 推测可能是 ABA 含量高峰还未出现, 此时乙烯仍作为一种辅助因子存在, 随着贮存时间的延长, 乙烯含量可能会逐渐升高。庞发虎等<sup>[22]</sup>研究表明果实硬度随乙烯释放量的增加而下降, 果实呼吸强度随 ABA 释放量的增加而下降。曹永庆等<sup>[23]</sup>研究表明当果实进入衰老期后, ABA 含量才会出现上升, 并且在后熟衰老的过程中, ABA 含量高于乙烯; 与乙烯相比, ABA 具有促进果实成熟和衰老的“优先”效应, 乙烯则为辅助因子。

茉莉酸 (JA) 具有按捺成长, 促进衰老的作用, 试验结果显示, 贮存后的枸杞果实 JA 含量上升, 表明 JA 分泌量的增加促进了枸杞的后熟和衰老。

细胞分裂素 (CK) 能促进细胞分裂, 主要分布在细胞分裂最活跃的部位, 试验结果显示 CK 部分含量上升, 部分含量下降, 推测这与果实的细胞分裂部位有关。

植物被病原微生物感染后, 水杨酸 (SA) 可以诱导相关蛋白的合成, 增强植物对病害的抵抗力<sup>[24]</sup>, 试

验结果显示 SA 部分含量上升,部分含量下降,推测这与枸杞受到微生物感染有关。有关 CK 和 SA 含量变化的结果有待进一步研究。

### 3 结论

对枸杞鲜果表面进行乙醇喷洒、乳酸涂膜、壳聚糖涂膜处理和气调保鲜,发现其能提升保鲜效果,延长贮存时间。并在一定程度上影响了枸杞成熟至腐败过程中关键基因的相关表达,但这可能与处理方法与贮藏环境有关,因此还需要进一步探究其机理。

### 参考文献

- [1] 朱燕飞.枸杞子药理作用概述[J].浙江中西医结合杂志,2005,15(5):322-323  
ZHU Yanfei. Overview of pharmacological effects of wolfberry fruit [J]. Zhejiang Journal of Integrated Traditional and Western Medicine, 2005, 15(5): 322-323
- [2] 余意,李静,张小波.基于遥感和地理信息系统技术宁夏枸杞适宜性的分布范围[J].世界中医药,2018,13(9):2308-2312  
YU Yi, LI Jing, ZHANG Xiaobo. Distribution range of suitability of *Lycium barbarum* in Ningxia based on remote sensing and GIS technology [J]. World Traditional Chinese Medicine, 2018, 13(9): 2308-2312
- [3] 孙桂菊,左平国.枸杞多糖功效研究及应用状况[J].东南大学学报(医学版),2010,29(2):209-215  
SUN Guiju, ZUO Pingguo. Functions of *Lycium barbarum* polysaccharide and its applicational status [J]. Journal of Southeast University (Medical Edition), 2010, 29(2): 209-215
- [4] 蒋万志,张洪泉.枸杞多糖在免疫和抗衰老方面的研究进展[J].中国野生植物资源,2010,29(2):5-7,14  
JIANG Wanzhi, ZHANG Hongquan. Research progress on immunity and anti-aging of *Lycium barbarum* polysaccharides [J]. China Wild Plant Resources, 2010, 29(2): 5-7, 14
- [5] 雷菁清,刘文静,肖明,等.青海柴达木红枸杞粉体研究[J].农产品质量与安全,2021,1:89-95  
LEI Jingqing, LIU Wenzhuo, XIAO Ming, et al. Study on the powder of red medlar of Qaidam in Qinghai Province [J]. Quality and Safety of Agricultural Products, 2021, 1: 89-95
- [6] 冯美,张宁.枸杞呼吸特性研究[J].北方园艺,2010,19:188-190  
FENG Mei, ZHANG Ning. Study on respiration characteristics of *Lycium barbarum* [J]. Northern Horticulture, 2010, 19: 188-190
- [7] 葛玉萍.宁夏枸杞果实采后生理特性及贮藏保鲜技术的研究[D].银川:宁夏大学,2008  
GE Yeping. Study on postharvest physiological characteristics and storage technology of *Lycium barbarum* fruit in Ningxia [D]. Yinchuan: Ningxia University, 2008
- [8] 胡文玉,吴姣莲.壳聚糖的性质和用途及其在农业上的应用前景[J].植物生理学通讯,1994,4:294-296  
HU Wenyu, WU Jiaolian. Properties and applications of chitosan and its application prospect in agriculture [J]. Plant Physiology Communications, 1994, 4: 294-296
- [9] 冯美,张宁.一氧化氮处理对采后枸杞鲜果生理效应的影响[J].北方园艺,2016,12:135-138  
FENG Mei, ZHANG Ning. Effects of nitric oxide treatment on physiological effects of postharvest *Lycium barbarum* fruit [J]. Northern Horticulture, 2016, 12: 135-138
- [10] 王瑞庆,魏雯雯,徐新明,等.CF 保鲜剂对鲜食枸杞贮藏品质的影响[J].北方园艺,2012,10:169-171  
WANG Ruiqing, WEI Wenwen, XU Xinming, et al. Effect of CF preservative on storage quality of fresh *Lycium barbarum* [J]. Northern Horticulture, 2012, 10: 169-171
- [11] 李桂琴,刘坤,高志华,等.鸭梨果肉多酚氧化酶的活性研究与纯化[J].河北农业大学学报,2010,33(5):45-49  
LI Guiqin, LIU Kun, GAO Zhihua, et al. Study on activity and purification of polyphenol oxidase from pulp in Yali pear [J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2010, 33(5): 45-49
- [12] 赵炀,李永生,高秀峰.基于愈创木酚荧光减量准确测定过氧化物酶活性的新方法[J].分析化学,2015,7:93-99  
ZHAO Yang, LI Yongsheng, GAO Xiufeng. New method for accurate determination of peroxidase activity based on fluorescence declination of guaiacol [J]. Chinese Journal of Analytical Chemistry, 2015, 7: 93-99
- [13] 李颖超,毕阳,王毅,等.塑料薄膜包装对常温和低温条件下枸杞鲜果主要贮藏性状的影响[J].食品工业科技,2011,32(2):302-304  
LI Yingchao, BI Yang, WANG Yi, et al. Effects of film packaging on major storage characters of fresh wolfberry fruit during room and low temperature storage [J]. Science and Technology of Food Industry, 2011, 32(2): 302-304
- [14] 侯田莹,章泳,姜丽,等.不同贮藏条件下枸杞头生理特性变化的研究[J].食品科学,2008,10:593-597  
HOU Tianying, ZHANG Yong, JIANG Li, et al. Changes of physiological characteristics of *Lycium barbarum* under different storage conditions [J]. Food Science, 2008, 10: 593-597
- [15] 赵建华,李浩霞,安巍,等.采后枸杞鲜果褐变与其活性氧代

- 谢的关系[J].西北植物学报,2008,28(10):2023-2027
- ZHAO Jianhua, LI Haoxia, AN Wei, et al. Relationship between postharvest browning of fresh fruits of *Lycium barbarum* and active oxygen metabolism [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2008, 28(10): 2023-2027
- [16] 魏增宇.1-MCP 结合 CO<sub>2</sub> 处理对鲜切苹果贮藏期间品质变化影响[D].天津:天津科技大学,2019
- WEI Zengyu. Effect of 1-MCP combined with CO<sub>2</sub> treatment on quality change of fresh cut apple during storage [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2019
- [17] 乔枫,耿贵工,曾阳,等.枸杞抗坏血酸过氧化物酶基因的克隆与表达分析[J].中国农业大学学报,2019,24(4):64-72
- QIAO Feng, GENG Guigong, ZENG Yang, et al. Cloning and expression analysis of ascorbate peroxidase gene from *Lycium barbarum* [J]. Journal of China Agricultural University, 2019, 24(4): 64-72
- [18] 夏慧.GA 和其它植物激素的相互作用[J].生物技术世界, 2015,33(8):227
- XIA Hui. Interaction between GA and other plant hormones [J]. Biotechnology World, 2015, 33(8): 227
- [19] 吴国辉.植物生长素的作用机理[J].农机化研究,2004,21(6): 288
- WU Guohui. Mechanism of plant auxin action [J]. Journal of Agricultural Mechanization Research, 2004, 21(6): 288
- [20] 李节法.赤霉素促进梨果实库强的转录组学和蛋白质组学研究[D].上海:上海交通大学,2015
- LI Jiefu. Gibberellin promotes transcriptomic and proteomic studies of pear fruit pool strength [D]. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2015
- [21] 郁达.乙烯生物合成及其代谢调控[J].生物学杂志,1989,18(2):8-12
- YU da. Ethylene biosynthesis and its metabolic regulation [J]. Chinese Journal of Biology, 1989, 18(2): 8-12
- [22] 庞发虎,赵爱玲,余明玉,等.脱落酸和乙烯利与采后梨枣生理及质量指标的相关性分析[J].南方农业学报,2015,46(11): 2001-2005
- PANG Fahu, ZHAO Ailing, YU Mingyu, et al. Analysis on correlation of abscisic acid and ethephon with physiological and quality indexes of postharvest *Zizyphus jujuba* cv. *Lizao* [J]. Journal of Southern Agriculture, 2015, 46(11): 2001-2005
- [23] 曹永庆,冷平,潘烜,等.脱落酸在桃果实成熟过程中的作用[J].园艺学报,2009,36(7):1037-1042
- CAO Yongqing, LENG Ping, PAN Xuan, et al. Role of abscisic acid in fruit ripening of peach [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2009, 36(7): 1037-1042
- [24] 郑伟尉,臧运祥.水杨酸(SA)与植物抗病性生关系的研究进展[J].河北果树,2005,22(1):1-3
- ZHENG Weiwei, ZANG Yunxiang. Research progress on the relationship between salicylic acid (SA) and plant disease resistance [J]. Hebei Fruit Trees, 2005, 22(1): 1-3