

褪黑素延缓去壳黄甜笋木质化和褐变作用

周成敏, 陈凯鹏, 黄文仕, 郑 剑

Effects of Melatonin Treatment on Lignification and Browning in Bamboo Shoots (*Acidosasa edulis*) Without Sheaths During Cold Storage

ZHOU Chengmin, CHEN Kaipeng, HUANG Wenshi, and ZHENG Jian

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2023020305>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

高压静电场处理对鲜切黄甜竹笋冷藏下品质的影响

Effects of High-Voltage Electrostatic Field (HVEF) Treatment on the Quality of Fresh-Cut Bamboo Shoots (*Acidosasa edulis*) During Cold Storage

食品工业科技. 2021, 42(23): 319-325 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020120141>

外源褪黑素对甜樱桃果实褐变和品质的影响

Effect of Exogenous Melatonin Treatment on Browning and Quality of Sweet Cherry

食品工业科技. 2022, 43(5): 340-347 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021060226>

外源褪黑素处理对采后荔枝褐变及活性氧代谢的影响

Effects of Exogenous Melatonin on Browning and Active Oxygen Metabolism of Postharvest *Litchi*

食品工业科技. 2021, 42(6): 282-287 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2020060279>

外源褪黑素处理对红托竹荪鲜品贮藏品质的影响

Effect of Exogenous Melatonin Treatments on the Storage Quality of *Dictyophora rubrovolvata*

食品工业科技. 2022, 43(16): 363-370 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021120009>

褪黑素结合丁香酚处理对红桃贮藏品质的影响

Effect of Melatonin Coupling with Eugenol Treatment on Storage Quality of Red *Amygdalus persica*

食品工业科技. 2022, 43(23): 341-346 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2022070080>

褪黑素处理对百香果采后贮藏品质的影响

Effect of Melatonin Treatment on Storage Quality of Passion Fruit after Harvest

食品工业科技. 2021, 42(20): 294-300 <https://doi.org/10.13386/j.issn1002-0306.2021010068>



关注微信公众号, 获得更多资讯信息

周成敏, 陈凯鹏, 黄文仕, 等. 褪黑素延缓去壳黄甜笋木质化和褐变作用 [J]. 食品工业科技, 2024, 45(22): 272–280. doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020305

ZHOU Chengmin, CHEN Kaipeng, HUANG Wenshi, et al. Effects of Melatonin Treatment on Lignification and Browning in Bamboo Shoots (*Acidosasa edulis*) Without Sheaths During Cold Storage[J]. Science and Technology of Food Industry, 2024, 45(22): 272–280. (in Chinese with English abstract). doi: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020305

· 贮运保鲜 ·

褪黑素延缓去壳黄甜笋木质化和褐变作用

周成敏¹, 陈凯鹏², 黄文仕³, 郑 剑^{4,*}

(1. 丽水市农林科学研究院, 浙江丽水 323000;

2. 遂昌县焦滩乡人民政府, 浙江遂昌 323300;

3. 遂昌县生态林业发展中心, 浙江遂昌 323300;

4. 浙江农林大学, 浙江杭州 311300)

摘 要: 为了研究外源褪黑素延缓冷藏去壳黄甜竹笋木质化和褐变的效果, 将无机械伤、无病害且外观和尺寸比较均匀接近的黄甜竹笋剥壳、清洗, 于 150 $\mu\text{L/L}$ 次氯酸钠溶液中杀菌 5 min, 清洗后于空气中晾干。再于 0.2 mmol/L 褪黑素溶液和清水 (对照) (均含有 0.05% 吐温-80 和 3 mL 无水乙醇) 中 22 $^{\circ}\text{C}$ 下浸泡 30 min, 室温下空气中自然晾干约 60 min, 而后于 $(6\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 和 RH 75%–80% 下贮藏 15 d, 定期取样测定其品质指标以及与木质化、褐变、抗氧化相关酶的活性和基因表达量。结果表明, 褪黑素处理显著地 ($P<0.05$) 下调了苯丙氨酸解氨酶 (PAL)、过氧化物酶 (POD) 和肉桂醇脱氢酶 (CAD) 基因表达量及活性, 从而抑制了笋肉组织的木质化进程; 同时, 褪黑素处理一方面显著地 ($P<0.05$) 提高去壳黄甜笋中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活性并上调了对应基因表达量, 以降低过氧化氢 (H_2O_2) 含量和超氧阴离子自由基 ($\text{O}_2^{\cdot-}$) 的产生速率, 从而延缓了相对电导率上升及丙二醛 (MDA) 的累积; 另一方面, 褪黑素降低了多酚氧化酶 (PPO) 活性并下调对应基因表达量, 最终抑制了竹笋切面褐变。综上, 外源褪黑素处理能够有效抑制冷藏去壳黄甜竹笋的褐变和木质化。

关键词: 竹笋, 褪黑素, 木质化, 褐变, 冷藏

中图分类号: TS255.1

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2024)22-0272-09

DOI: 10.13386/j.issn1002-0306.2023020305



本文网刊:

Effects of Melatonin Treatment on Lignification and Browning in Bamboo Shoots (*Acidosasa edulis*) Without Sheaths During Cold Storage

ZHOU Chengmin¹, CHEN Kaipeng², HUANG Wenshi³, ZHENG Jian^{4,*}

(1. Lishui Institute for Agricultural and Forest Science, Lishui 323000, China;

2. Jiaotan Township Government People's Government of Suichang County, Suichang 323300, China;

3. Suichang County Ecological Forestry Development Center, Suichang 323300, China;

4. College of Food and Health, Zhejiang A&F University, Hangzhou 311300, China)

Abstract: The effects of melatonin treatment on inhibiting lignification and browning, including firmness, lignin content, enzyme activities, and the expression level of genes encoding corresponding enzymes in bamboo (*Acidosasa edulis*) shoots without sheaths during cold storage were investigated. Bamboo shoots without physical injuries or infections and similar in shape and size were removed from their sheaths and cleaned with tap water and then disinfected with 150 $\mu\text{L/L}$ sodium hypochlorite for 5 min, rinsed with tap water, and air-dried. The bamboo shoots were soaked in 0.2 mmol/L melatonin

收稿日期: 2023-02-28

基金项目: 丽水市科技局高层次人才项目 (2020RC02); 丽水市科技特派员项目 (2020TPY34); 浙江农林大学科研创新启动基金 (2020FR028)。

作者简介: 周成敏 (1972–), 男, 本科, 副研究员, 研究方向: 竹类培育及加工, E-mail: 826250646@qq.com。

* 通信作者: 郑剑 (1978–), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 农产品贮藏与加工, E-mail: zhengjian622@126.com。

solution and water (control) (both containing 0.05% Tween-80 and 3 mL anhydrous ethanol) at 22 °C for 30 minutes, air-dried at room temperature for approximately 60 min and subsequently stored at 6±1 °C accompanied by 75%~80% RH for 15 days. Quality parameters and activities of key enzymes and gene expression involved in lignification and browning of bamboo shoots were periodically determined during cold storage to investigate the related mechanism. The results showed that melatonin treatment significantly ($P<0.05$) decreased the activities of phenylalanine ammonia lyase (PAL), peroxidase (POD) and cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD), and the expression of these lignin synthesis-related enzymes, which contributed to retarding lignification process in bamboo shoots. Meanwhile, melatonin treatment decreased hydrogen peroxide (H_2O_2) content and the production rate of superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$), delayed the increase of MDA content and relative leakage rate by significantly ($P<0.05$) increasing the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and the expression of their encoding genes. On the other hand, melatonin treatment reduced the activities of polyphenol oxidase (PPO) and the expression of the encoding genes in bamboo shoots, consequently delaying the enzymatic browning of bamboo shoots. Thus, exogenous melatonin treatment could effectively inhibit browning and lignification of cold shelled yellow sweet bamboo shoots.

Key words: bamboo shoot; melatonin; lignification; browning; cold storage

黄甜竹 (*Acidosasa edulis*) 是禾本科酸竹属 (*Acidosasa*) 混生竹, 主要分布在我国福建、江西、浙江一带。黄甜竹出笋时间集中在每年 4~5 月份, 其笋味道鲜爽清甜、笋肉组织口感细腻, 富含蛋白质、氨基酸、膳食纤维等多种营养素; 然而由于出笋期间环境温度较高, 采后黄甜竹笋难以贮藏, 尤其是极易快速褐变和木质化。

褪黑素 (Melatonin, MT) 是一种色氨酸衍生物, 不仅存在于哺乳动物和人类体内, 也广泛存在于植物组织中。相关研究指出, 褪黑素是一种新的植物生长激素, 与植物生长发育、成熟衰老以及胁迫应答和抗病等过程密切相关^[1]。樱桃采前喷洒外源褪黑素能够提高其内源褪黑素含量, 进而诱导细胞分裂素合成和抑制果实成熟^[1]。采后相关研究发现, 外源褪黑素处理能够有效地延缓贮藏期间果实品质的下降、保持细胞膜完整性和延缓褐变。有学者研究发现, 褪黑素处理能够抑制车厘子^[2]、猕猴桃^[3] 等果实采后冷藏期间品质劣变, 主要体现在延缓了果实硬度下降和失重, 通过提高抗氧化酶活性进而抑制活性氧累积, 同时抑制细胞膜通透性增加, 进而延缓了褐变和果肉色泽明亮度下降; 褪黑素处理也能够显著地减轻 25 °C 下贮藏的荔枝果实褐变^[4], 其主要机制在于褪黑素处理通过调控细胞膜脂质代谢和能量代谢, 抑制了细胞膜渗透性增加, 延迟了细胞的衰亡和褐变进程。近年来研究发现, 采后外源褪黑素处理对于抑制果蔬采后木质化也有明显的效果。采用 50 μmol/L 褪黑素通过抑制 PAL、4CL、CAD 和 POD 酶活性, 进而有效地延缓了冷藏期间枇杷的木质化进程^[5]; 在高节笋上, 褪黑素可能通过降低木质素合成相关酶活性以及提高了抗氧化能力, 进而延缓了高节笋贮藏过程中木质化进程^[6]; 类似的结果在茭白采后木质化进程中也得到证实^[7]。在延缓采后果蔬褐变方面, 有研究发现, 外源 MT 处理显著延缓了草莓褐变, 其与提高了 *FaTDC*、*FaT5H* 等 MT 合成基因表达, 进而诱导草莓果实累积 MT 有关^[8]。贾乐等^[9] 和代惠芹等^[10] 研究发现, 外源褪黑素处理显著地提高了香菇和双孢

蘑菇组织的抗氧化能力和抑制了褐变相关酶活性, 从而有效地延缓了组织褐变。

去壳竹笋能够为竹笋相关预制菜的加工提供洁净的原料, 也是竹笋类净菜加工的主体原料。然而, 关于褪黑素对去壳冷藏黄甜竹笋组织褐变和木质化的影响研究尚未见报道。因此, 本研究拟重点探究外源褪黑素处理对去壳黄甜竹笋冷藏期间木质化和褐变的影响及对有关酶的研究, 以探索去壳竹笋新型保鲜方法。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

黄甜竹笋 五月初早上 6:00 采集于浙江省丽水市遂昌县实验基地, 现场采挖同一竹林、笋体直径和长度基本相同、外观完好、无病虫害的黄甜竹笋, 于 1.5 h 内运回实验室; L-苯丙氨酸、愈创木酚、4-香豆酸、辅酶 A (coenzyme A)、三氯乙酸 (trichloroacetic acid, TCA)、硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA)、氮蓝四唑 (nitro-blue tetrazolium, NBT)、核黄素、邻苯二酚、聚乙二醇 6000、β-巯基乙醇、四氯化钛、浓硫酸、丙酮、曲拉通 X-100、次氯酸钠、吐温-80 等 均为分析纯, 国药集团化学试剂有限公司; 褪黑素、松柏醇, 美国 Sigma 公司; PureLink® plant RNA Extraction Kit、PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit、SYBR® Premix Ex Taq™ (Tli Rnase Plus) 日本 TaKaRa Bio Inc 公司。

Micro 17R 型高速冷冻离心机 美国 Thermo Fisher 公司; T6 型紫外可见分光光度计 北京普析通用仪器有限责任公司; TPAV-120 恒温恒湿箱 日本 ISUZU 公司; TA.XT PlusC 质构仪 英国 SMS 公司; 柯尼卡 CR-10Plus 色差仪 日本柯尼卡公司; iQTM5 多重实时荧光定量 PCR 仪 美国 Bio-Rad 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 材料处理 切除基部 3 cm 竹笋组织, 小心剥除笋壳, 用 150 μl/L 次氯酸钠溶液浸泡 5 min 杀菌

后,用自来水冲洗 3~4 遍。选取 324 根去壳笋,将其分成 2 组,分别浸入 0.2 mmol/L 褪黑素溶液和清水(溶液中均含 0.05% 的吐温-80 和 3 mL 无水乙醇)中室温下浸泡 30 min。然后,捞出于阴凉处自然晾干,分别放入洁净塑料筐中,外罩 0.05 mm 厚保鲜袋,不封口,于 6 ± 1 °C, RH 75%~80% 下贮藏 15 d。期间每 3 d 取样,测定基部切面的色差,笋体基部切口往上 2~4 cm 的组织用于检测相关指标,每个实验三次重复。

1.2.2 测定指标与方法

1.2.2.1 色泽 用色差仪测定笋基部切面 L^* 值。每 3 d 随机取 9 根黄甜竹笋,测定笋基部切面 L^* 值,其中每株在切面测定 3 个点,取平均值。

1.2.2.2 相对电导率、丙二醛(MDA)、超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)生成速率和过氧化氢(H_2O_2)含量 均参照曹建康等^[11]的方法并稍作修改:a. 相对电导率测定:取自笋基部切口向上 2~3 mm 的约 1 mm 厚度笋肉组织圆环,用打孔器间隔 120°取直径 10 mm 的圆片,将 9 片圆片放入大试管中,加入 20.0 mL 去离子水,真空渗透 10 min,后摇床振荡 15 min,分别测定煮沸前后的电导率,计算获得相对电导率;b. 丙二醛含量测定:称取 3.0 g 冷冻竹笋组织,加入 5.0 mL TCA 溶液,于 4 °C、10000×g 离心 20 min,去 2.0 mL 上清液,分别于 450、532 和 600 nm 测定吸光度值,计算获得丙二醛含量;c. $O_2^{\cdot-}$ 生成速率测定:称取 3.0 g 冷冻笋肉组织,加入 5.0 mL 提取缓冲液(含 1 mmol/L EDTA, 0.3% Triton X-100 和 2% PVP),冰浴下研磨匀浆,于 12000×g、4 °C 离心 20 min,取 1.0 mL 上清液,加入 1.0 mL 50 mmol/L、pH7.8 磷酸缓冲液和 1.0 mL 1 mmol/L 的盐酸羟胺溶液,摇匀后于 25 °C 保温 1 h。取出后加入对氨基苯磺酸溶液和 α -萘胺溶液,保温后显色,测定 530 nm 处吸光度值,依据标准曲线查出超氧阴离子物质的量,通过计算获取 $O_2^{\cdot-}$ 生成速率;d. H_2O_2 含量测定:称取 5.0 g 冷冻竹笋组织样品,加入 5.0 mL 预冷的丙酮,在通风橱中冰浴条件下研磨成匀浆后,于 12000×g、4 °C 离心 20 min,吸取 1.0 mL 提取液,按照与制作标准曲线相同的方法进行测定,需用-20 °C 预冷丙酮将离心得到的沉淀物反复洗涤 2~3 次,直到除去色素,再将沉淀用硫酸完全溶解后进行比色,计算获取 H_2O_2 含量。

1.2.2.3 硬度 取 1.0~1.4 cm 厚笋肉,用质构仪 P/2 探头进行穿刺实验,测试深度为 4 mm,穿刺速度为 0.5 mm/s,感应力为 5 g,单位为 N。

1.2.2.4 纤维素和木质素含量 参照 Zeng 等^[12]的方法并稍作修改:a. 纤维素含量测定:称取 30.0 g 竹笋样品,加 50 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH7.2)室温振荡提取 3 h,后 14000×g 离心 15 min,残渣用水、乙醇和丙酮洗涤,空气晾干;称取 50 mg 残渣,加入 5 mL 2 mmol/L 三氟乙酸,120 °C 保温 90 min;残渣

用水和乙醇离心洗涤,后加入 5 mL 12 mmol/L 硫酸溶解,稀释后定容,恩酮作为显色剂进行比色定量;b. 木质素含量测定:称取 50.0 g 竹笋样品,加 20 mL 浓度 72% 的 H_2SO_4 ,研磨匀浆,于室温下静置 6 h,混合液转入 500 mL 平底烧瓶,加入 200 mL 去离子水,100 °C 回流 2.5 h,接着趁热过滤,用 90 °C 热去离子水反复洗涤,105 °C 烘干至恒重,结果以鲜重百分比表示。

1.2.2.5 PAL、CAD、POD、PPO 活性 PAL、POD、PPO 活性参照曹建康等^[11]的方法,CAD 活性测定参照 Zeng 等^[12]的方法并稍作修改:a. PAL 活性测定:称取 3.0 g 冷冻笋肉,冰浴研磨成匀浆,而后离心,取 2 支试管,都分别加入 3.0 mL 50 mmol/L、pH8.8 硼酸缓冲液、0.5 mL 20 mmol/L L-苯丙氨酸溶液,两支试管中分别加入 0.5 mL 酶提取液和 0.5 mL 煮沸 5 min 的失活酶液作为对照,37 °C 保温 60 min 后,加入 0.1 mL 6 mol/L 盐酸终止反应,与波长 290 nm 处测定吸光度值;b. POD 活性测定:称取 3.0 g 冷冻笋肉,加入 5.0 mL 提取缓冲液,冰浴研磨成匀浆,离心取上清液。反应体系为:3.0 mL 25 mmol/L 愈创木酚溶液和 0.5 mL 酶提取液,加入 200 μ L 0.5 mol/L H_2O_2 溶液迅速混合启动反应,于 470 nm 处测定吸光度值;c. PPO 活性:称取 3.0 g 冷冻笋肉,加入 5.0 mL 提取缓冲液,冰浴研磨成匀浆,离心取上清液。反应体系为:4.0 mL 50 mmol/L、pH5.5 的乙酸-乙酸钠缓冲液溶液和 1 mL 50 mmol/L 邻苯二酚溶液,加入 100 μ L 酶提取液,于 420 nm 处测定吸光度值;d. CAD 活性测定:称取 5.0 g 冷冻笋肉,加入 10 mL Tris-HCl 缓冲液提取(200 mmol/L、pH7.5),研磨提取后 14000×g 离心 15 min。反应体系为:100 mmol/L Tris-HCl 缓冲液(pH8.8)、20 mmol/L 松柏醇、5 mmol/L NADP⁺和 50 μ L 酶提取液,400 nm 波长下测定吸光度值。

1.2.2.6 SOD、CAT 活性 参照 Li 等^[13]的方法并稍作修改:称取 5.0 g 冷冻笋肉,加入 5.0 mL 0.2 mmol/L 磷酸缓冲液(pH7.8),冰浴研磨成匀浆,而后 4 °C、8000×g 离心 10 min,取上清液。a. SOD 活性测定:取 5 支试管,各加入提取液 0.05 mL(作为对照的 2 支试管以缓冲液代替),2.25 mL pH7.8、50 mmol/L 的磷酸盐缓冲液,0.2 mL 195 mmol/L 的蛋氨酸溶液,0.1 mL 1 mmol/L 的 EDTA 溶液,0.2 mL 1.125 mmol/L 的 NBT 溶液,再加入 0.1 mL 60 mmol/L 的核黄素溶液,混匀后将 1 支对照管置于暗处,其它各管置于 4000 lx 光强度下反应 30 min,迅速取出,置于暗处终止反应。以不照光管作为空白参比调零,迅速测定波长 560 nm 下其它各管的吸光度值;b. CAT 活性测定:吸取 2.0 mL 蒸馏水,再加入 1.0 mL 0.2% H_2O_2 ,最后加入 0.1 mL 提取液,迅速混合,同时开始计时。以蒸馏水为参比,于波长 240 nm 下测定吸光度值。

表 1 定量 PCR 引物序列及反应条件
Table 1 Real-time PCR primers and conditions

物种名称	基因名称	基因序列号	引物序列	扩增长度(bp)	溶解温度(℃)
<i>Phyllostachys edulis</i> (毛竹)	<i>Actin</i>	FJ601918.1	F: TGCCCTTGATTATGAGCAGG R: AACCTTTCTGCTCCGATGGT	108	60
<i>Phyllostachys edulis</i> (毛竹)	<i>cinnamyl alcohol dehydrogenase (CAD)</i>	EF549577.1	F: GGTCACCGTGATCAGCTCGT R: TTACCTTCATTGCTCGGCG	104	60
<i>Phyllostachys edulis</i> (毛竹)	<i>polyphenol oxidase (PPO)</i>	PH01000032G1250	F: ATAGCGCTGATGAAGGCGAT R: TGGATCTGCACGTTTCAGCTC	132	60
<i>Phyllostachys edulis</i> (毛竹)	<i>Peroxidase (POD)</i>	FP092331.1	F: GGCATGATCCACCAGCTCAC R: TTCCTCTGATCTCCCCCTG	116	60
<i>Phyllostachys prominens</i> (高节竹)	<i>phenylalanine ammonia-lyase (PAL)</i>	AY450643.2	F: CTCCGTGTTTGCCAAGGTTG R: GAGCGGCCCTCAGTGATTCT	132	60
<i>Phyllostachys edulis</i> (毛竹)	<i>superoxide dismutase (SOD)</i>	PH01002962G0030	F: GCCACCTACGTCGCCAACTA R: GAACTTGATGGCGCTCTGGA	104	60
<i>Bambusa emeiensis</i> (慈竹)	<i>catalase (CAT)</i>	PH01000019G1840	F: CATGCATGCGTTTGGATTTC R: CAGAATAGCCGCTTTGAGCG	102	60

1.2.2.7 木质素代谢和褐变相关酶基因表达 参照 Zheng 等^[14] 和戴丹等^[15] 的方法并稍作修改。逆转录实验采用 SuperScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit 进行逆转录试验; Real-time PCR 检测: 用多重实时荧光定量 PCR 仪进行扩增, 引物及条件如表 1, 扩增总体积为 25 μL, 反应体系共 25 μL, 包括: ddH₂O 10.5 μL, SYBR Premix Ex Taq™(2×)12.5 μL, PCR-F(10 μmol/L)0.5 μL, PCR-R(10 μmol/L)0.5 μL, 模板 cDNA1.0 μL。反应条件: 95 ℃ 预变性 1 min; 50 个循环(95 ℃ 变性 10 s; 60 ℃ 退火 25 s, 收集荧光); 在 55~95 ℃ 之间分析熔解曲线。

1.3 数据处理

实验采用随机设计法设计 3 组生物学重复实验。数值表示为平均值±标准差(n=3), 统计学差异分析采用 SPSS 软件进行 Duncan’s multiple range test 检测, 当 $P<0.05$ 时, 认为处理组之间存在显著差异。

2 结果与分析

2.1 褪黑素处理对黄甜竹笋的硬度和基部切面褐变的影响

2.1.1 褪黑素处理对黄甜竹笋的硬度的影响 冷藏

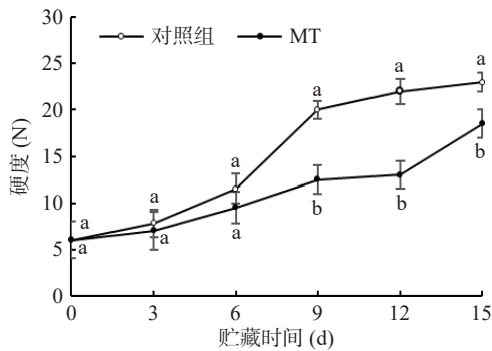


图 1 褪黑素处理对 6 ℃ 下冷藏黄甜竹笋硬度的影响

Fig.1 Effects of melatonin treatment on firmness of bamboo shoots during storage at 6 ℃

注: 不同小写字母表示同一贮藏时间数据差异显著($P<0.05$); 图 3~图 9 同。

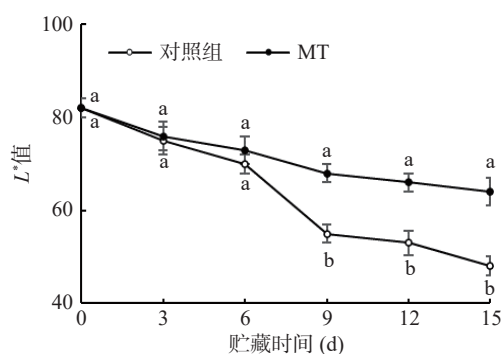
过程中, 黄甜竹笋笋肉组织的硬度随着冷藏时间的延长呈逐渐上升趋势, MT 处理在 9~15 d 内显著 ($P<0.05$)减缓了笋肉硬度的上升, 相较于对照组, 褪黑素处理组的笋肉组织硬度下降幅度为 20%~41%; 在冷藏第 15 d 时, 褪黑素处理组的去壳黄甜竹笋硬度较 0 d 增加了 2 倍, 对照组硬度较 0 d 增加了 2.83 倍(图 1)。

由图 2 可见, 冷藏 15 d 后, 对照组去壳黄甜竹笋的笋体和基部切面褐变明显, 而褪黑素处理组的笋体和基部切面仅颜色较刚去壳时变暗一些, 基本呈现均匀的棕黄色, 具有较好的外观品质。同时, 冷藏过程中, 黄甜竹笋的 L^* 值呈逐渐下降趋势, 且褪黑素处理组的黄甜竹笋 L^* 值在 9~15 d 高于对照组且差异显著 ($P<0.05$), 增幅为 24%~33%; 褪黑素处理组的去壳黄甜竹笋基部切面色差 L^* 较 0 d 降低了 22%, 对照组 L^* 较 0 d 降低了 41%(图 3)。说明褪黑素处理能够抑制去壳黄甜竹笋笋肉组织硬度增加和基部切面 L^* 下降。



图 2 褪黑素处理的黄甜竹笋冷藏 15 d 后外观

Fig.2 Appearance of bamboo shoots treated with melatonin after 15 d of cold storage

图3 褪黑素处理对6℃下冷藏黄甜竹笋 L^* 值的影响Fig.3 Effects of melatonin treatment on L^* value of bamboo shoots during storage at 6 °C

2.2 褪黑素处理对去壳黄甜竹笋的木质化影响

2.2.1 褪黑素处理对木质素和纤维素含量影响 冷藏过程中, 黄甜竹笋笋肉组织的木质素、纤维素含量随着冷藏时间的延长呈逐渐上升趋势, 褪黑素处理组在12~15 d内显著($P<0.05$)抑制了木质素含量的累

积, 相较于对照组, 褪黑素处理组的黄甜竹笋中木质素含量的降低幅度为30%~54%; 在第6、12 d显著($P<0.05$)抑制了纤维素含量的累积, 相较于对照组, 褪黑素处理的黄甜竹笋中纤维素含量的降低幅度分别为17%和15%。在冷藏第15 d时, 褪黑素处理组的去壳黄甜竹笋木质素和纤维素较0 d分别增加了2.22倍和0.93倍, 对照组对应指标较0 d分别增加了3.63倍和1.01倍。说明褪黑素处理能够有效抑制去壳黄甜竹笋中木质素和纤维素的累积(图4A和图4B)。

2.2.2 褪黑素处理对PAL、POD和CAD活性及基因表达的影响 如图5所示, 对照组与褪黑素处理组黄甜竹笋中PAL和POD活性在贮藏期内均总体呈现上升趋势, 且伴有明显波动, 褪黑素处理组黄甜竹笋中PAL和POD活性分别在6~15 d、6 d和12~15 d内显著($P<0.05$)低于对照组, 降低的幅度分别为14%~25%、31%和17%~35%(图5A和图5C); 对照组黄甜竹笋中CAD活性呈先上升后下降再上

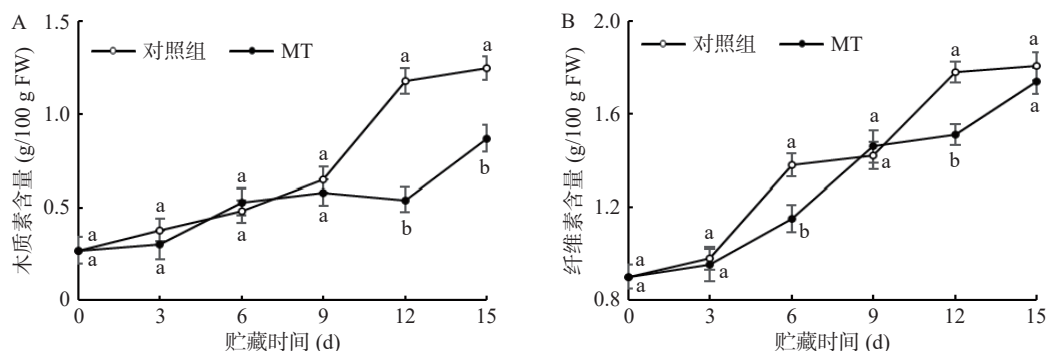
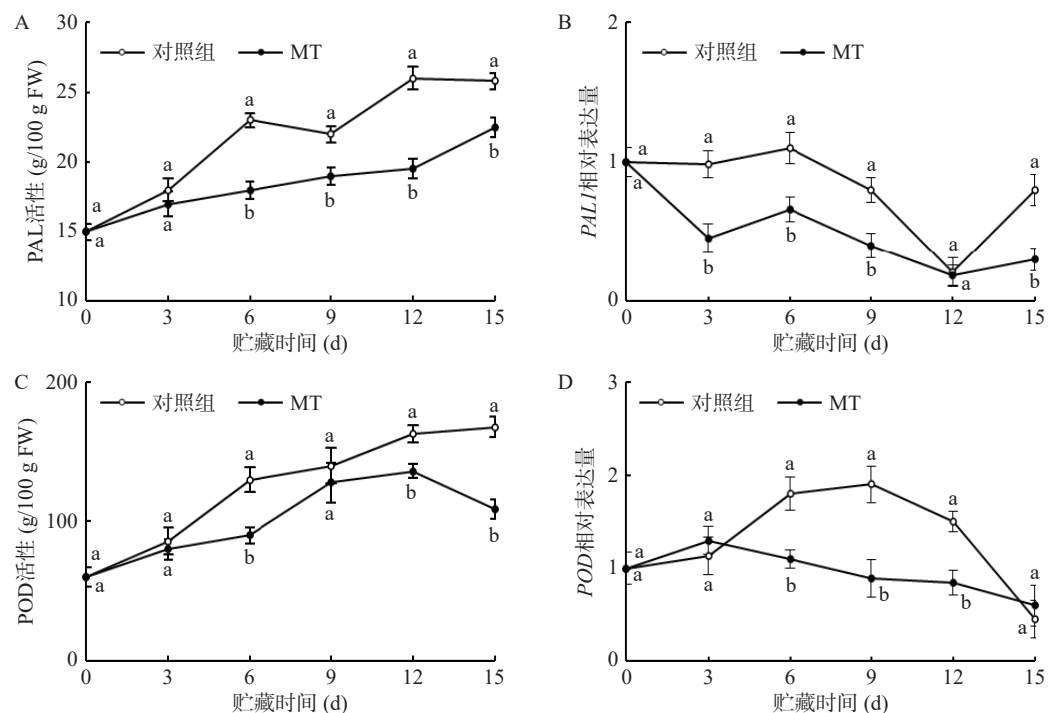


图4 褪黑素处理对6℃下冷藏竹笋木质素含量和纤维素含量的影响

Fig.4 Effects of melatonin treatment on content of cellulose and lignin of bamboo shoots during storage at 6 °C



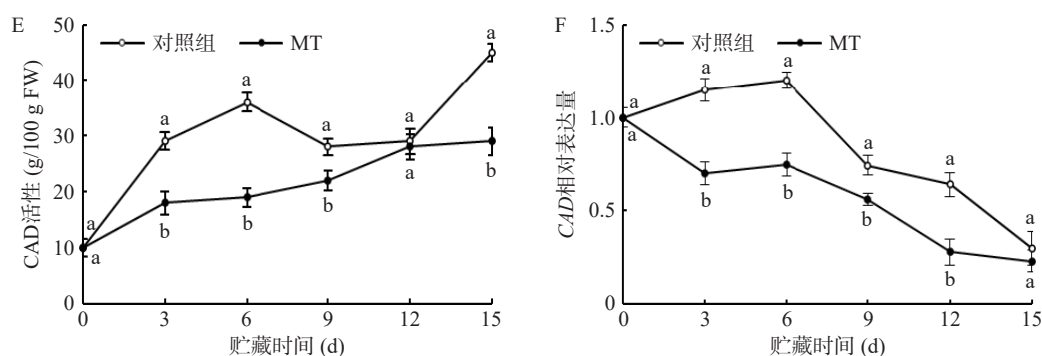


图 5 褪黑素处理对 6 °C 下冷藏竹笋的 PAL、POD、CAD 活性(左)和基因表达(右)的影响

Fig.5 Effects of melatonin treatment on activity (left) and relative gene expression level (right) of PAL, POD and CAD of bamboo shoots during storage at 6 °C

升的波动变化,而褪黑素处理组黄甜竹笋中 CAD 活性呈平缓上升,且在 3~9 d 和第 15 d 低于对照组且差异显著($P<0.05$),降低的幅度分别为 21%~47% 和 36%(图 5E)。

在冷藏期间,对照组中 *PAL1* 基因相对表达水平先上升而后下降再上升,褪黑素处理组黄甜竹笋中 *PAL1* 先下降后上升再下降而后平缓上升,褪黑素处理组黄甜竹笋中 *PAL1* 基因相对表达水平在第 3~9 d、第 15 d 显著($P<0.05$)低于对照组,分别降低了 34%~54% 和 63%(图 5B);对照组和褪黑素处理组黄甜竹笋中 *POD* 基因相对表达水平均先上升后下降,褪黑素处理在 6~12 d 显著($P<0.05$)下调了黄甜竹笋中 *POD* 基因相对表达水平,相较于对照组,下调幅度为 39%~53%(图 5D);对照组中 *CAD* 基因相对表达水平总体先上升后下降,而褪黑素处理组黄甜竹笋中 *CAD* 基因相对表达水平总体呈先下降后上升再下降的趋势,褪黑素处理组的黄甜竹笋中 *CAD* 基因相对表达水平在 3~12 d 显著($P<0.05$)低于对照组,降低的幅度为 24%~56%(图 5F)。以上结果说明褪黑素处理有助于抑制木质素代谢关键酶活性,并下调对应基因表达水平,进而抑制木质化进程。

2.3 褪黑素处理对去壳黄甜竹笋褐变影响

2.3.1 褪黑素处理对 MDA 含量和电导率的影响

MDA 含量随着冷藏时间的延长也呈现上升趋势,在贮藏的前 6 d 内,褪黑素处理组的黄甜竹笋的 MDA 含量与对照组差异不明显,而后 9~15 d 显著($P<0.05$)低于对照组,降低幅度为 33%~47%(图 6A)。冷藏过程中,黄甜竹笋的电导率随着贮藏时间的延长逐渐升高,在冷藏的 0~6 d 内,褪黑素处理组黄甜竹笋的电导率与对照组差异不明显,其后的 9~15 d 内,显著($P<0.05$)低于对照组,降低幅度为 25%~46%(图 6B)。在冷藏第 15 d 时,褪黑素处理组的去壳黄甜竹笋 MDA 含量和相对电导率较 0 d 分别增加了 2.33 倍和 1.89 倍,对照组对应指标较 0 d 分别增加了 5.33 倍和 4.33 倍。说明,褪黑素处理能够有效抑制去壳黄甜竹笋 MDA 累积和相对电导率上升。

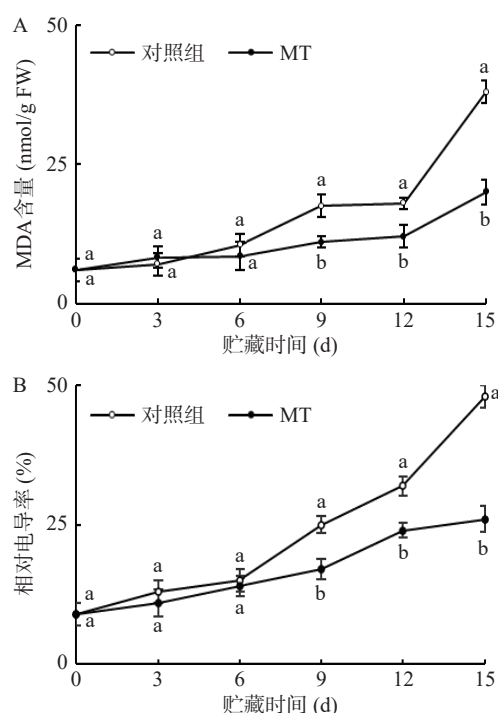


图 6 褪黑素处理对 6 °C 下冷藏竹笋 MDA 含量、相对电导率的影响

Fig.6 Effects of melatonin treatment on MDA content and relative electrical conductivity of bamboo shoots during storage at 6 °C

2.3.2 褪黑素处理对活性氧生成及其清除酶系的影响

2.3.2.1 褪黑素处理对 H_2O_2 含量和 $O_2^{\cdot-}$ 生成速率的影响

H_2O_2 含量随着冷藏时间的延长总体呈先上升后下降的波动变化趋势,在冷藏的 6~9 d 和第 15 d,褪黑素处理组黄甜竹笋的 H_2O_2 含量显著($P<0.05$)低于对照组,降低幅度分别为 29%~33% 和 41%(图 7A)。冷藏期间,对照组中 $O_2^{\cdot-}$ 的生成速率呈先上升后下降在上升的趋势,褪黑素处理组黄甜竹笋中 $O_2^{\cdot-}$ 的生成速率呈缓慢上升而后下降的趋势,在冷藏的 3~6 d 和第 12~15 d,褪黑素处理组黄甜竹笋的 $O_2^{\cdot-}$ 生成速率显著($P<0.05$)低于对照组,降低的幅度分别为 25%~29% 和 12%~29%(图 7B)。在冷藏第 15 d 时,褪黑素处理组的去壳黄甜竹笋 H_2O_2

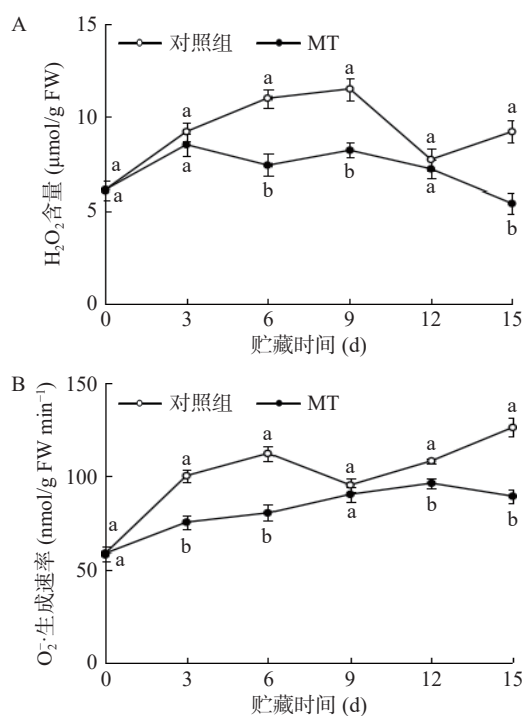


图7 褪黑素处理对6 °C下冷藏竹笋H₂O₂含量和O₂·⁻生成速率的影响

Fig.7 Effects of melatonin treatment on H₂O₂ content and O₂·⁻ production rate in bamboo shoots during storage at 6 °C

含量较0 d减少了11%, O₂·⁻生成速率较贮藏初期增加了53%,而未经褪黑素处理的二者则分别增加了51%和116%。说明褪黑素处理能够有效抑制去壳黄甜竹笋H₂O₂累积和O₂·⁻生成速率上升,从而能有效地降低去壳黄甜竹笋贮藏期间细胞的活性氧胁迫。

2.3.2.2 褪黑素处理对SOD和CAT活性和基因表达的影响 对照组与褪黑素处理组黄甜竹笋中SOD活性在贮藏期内总体呈现上升趋势且伴有轻微

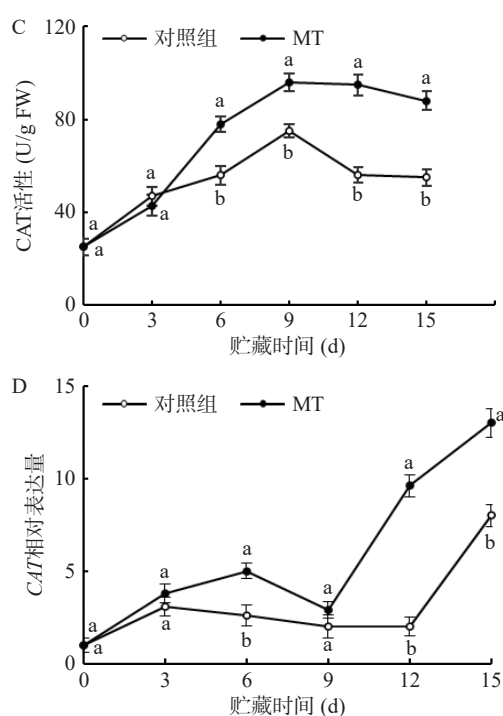
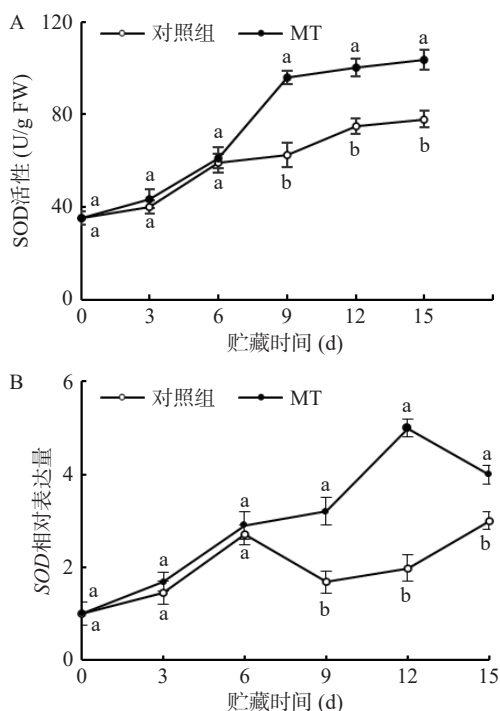


图8 褪黑素处理对6 °C下冷藏竹笋SOD和CAT活性及基因表达的影响

Fig.8 Effects of melatonin treatment on activity and relative gene expression level of SOD and CAT of bamboo shoots during storage at 6 °C

波动,CAT活性在贮藏期内总体呈现先上升后下降趋势且伴有波动,褪黑素处理组黄甜竹笋中SOD和CAT活性分别在9~15 d和6~15 d内显著($P<0.05$)高于对照组,增幅分别为33%~54%和28%~70%(图8A和图8C)。冷藏期间,对照组中SOD基因相对表达水平呈先上升后下降再上升的趋势,褪黑素处理组的黄甜竹笋中SOD基因相对表达水平总体呈先上升后下降的趋势;对照组与褪黑素处理组的黄甜竹笋中CAT基因相对表达水平总体呈先上升而后下降再上升的趋势且伴有较大波动,褪黑素处理组在9~15 d显著($P<0.05$)提高了黄甜竹笋中SOD基因相对表达水平,相较于对照组,增幅为33%~153%(图8B),在第6 d和12~15 d显著($P<0.05$)提高了黄甜竹笋中CAT基因相对表达水平,相较于对照,增幅分别为92%和63%~380%(图8D)。

2.3.3 褪黑素处理对黄甜竹笋PPO活性和基因表达的影响 在贮藏期内对照组与褪黑素处理组黄甜竹笋中PPO活性总体呈现上升趋势,伴有轻微波动,褪黑素处理组黄甜竹笋中PPO酶活性6~15 d内显著($P<0.05$)低于对照组,降低的幅度为26%~43%(图9A)。对照组与褪黑素处理组的黄甜竹笋中PPO基因相对表达水平冷藏期间总体呈先上升而后下降的趋势且伴有波动,褪黑素处理在第3 d和9~15 d显著($P<0.05$)降低了黄甜竹笋中PPO基因相对表达水平,相较于对照组,降低的幅度分别为62%和53%~77%(图9B)。



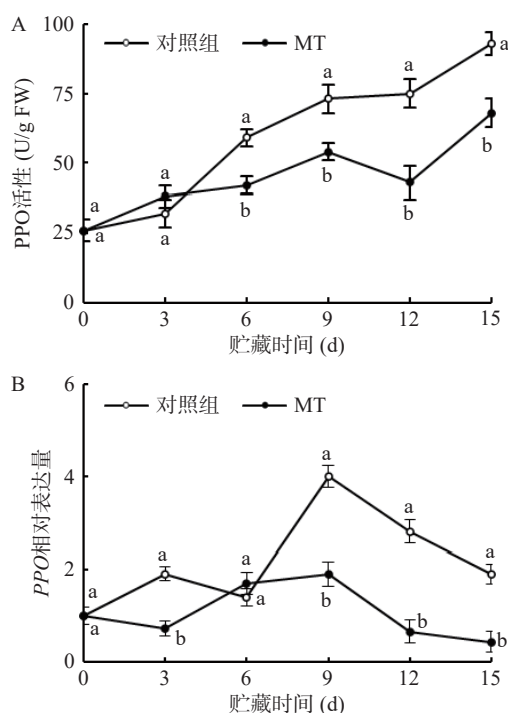


图9 褪黑素处理对6℃下冷藏竹笋PPO活性和基因表达的影响

Fig.9 Effects of melatonin treatment on activity and relative gene expression level of PPO of bamboo shoots during storage at 6 °C

3 讨论

竹笋采后极易发生木质化,表现为木质素和纤维素快速累积,导致笋肉硬度增加、食用品质下降^[12,14,16]。植物组织中的木质素经由苯丙烷类途径合成,是一系列酶促反应联动的结果。PAL、CAD和POD在催化合成木质素单体并聚合成为木质素大分子的代谢中起主要作用^[12,16]。采后适度热处理^[17]和外源草酸^[16]均可通过抑制PAL、CAD和POD活性进而延缓笋的木质化,延缓笋肉硬度上升。而木质素的合成必然受到相关关键酶的基因表达调控。例如,*EjCAD1*、*EjPOD*两个基因参与了调控枇杷果实中木质素合成^[18],梨组织中木质素合成则受到*PpCAD1*和*PpCAD2*基因的调控^[19]。另外,许多研究表明,PAL、CAD和POD活性与对应基因的表达协同调控木质素的合成^[18,20-21]。Yang等^[7]发现,褪黑素处理显著抑制了采后20℃下贮藏的茭白中PAL、CAD和POD活性和对应基因表达量,进而延缓了茭白的木质素累积。Li等^[13]研究指出,外源褪黑素抑制了去壳高节笋中PAL、POD和CAD活性和调控次生细胞壁生物合成的转录因子*SND2*、*KNAT7*、*MYB20*和*MYB85*的表达,进而延缓了笋肉组织木质化。本研究结果也表明,褪黑素处理降低了黄甜竹笋中PAL、CAD和POD活性,下调了*PAL1*、*POD*和*CAD*的基因表达水平,进而延缓了木质素和纤维素的累积,抑制了笋肉木质化。

除了木质化外,竹笋贮藏期间还易发生褐变。果蔬褐变的发生主要是在有氧条件下,酚类底物在

PPO、POD等酶催化下发生酶促反应的结果^[22]。研究证明,活性氧(reactive oxygen species, ROS)很大程度上参与了细胞衰老尤其是对细胞膜的破坏^[23],因为活性氧水平的提高不仅会改变细胞膜的完整性,也会与不饱和脂肪酸发生反应进而导致脂质过氧化,进而加速组织褐变^[24]。在果蔬成熟过程中,抗氧化酶如:SOD、POD、CAT、APX等在清除活性氧方面起着重要的作用,SOD将 O_2^- 转化为 H_2O_2 ,同时CAT、POD将 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2 ^[25-26],SOD和清除 H_2O_2 的酶系的协同作用共同赋予了细胞抗氧化的能力和对活性氧胁迫的耐受性。相关研究表明,褪黑素处理之所以能够减轻香蕉^[27]、双孢菇^[24]、红毛丹^[28]、鲜切甘薯^[23]褐变均与其抑制了组织中的PPO、POD的活性以及下降了其基因表达量有关。而如水杨酸处理雷竹笋^[29]、外源草酸处理去壳高节笋^[16]同样也是由于降低了POD和PPO活性从而延缓了褐变。除了PPO和POD外,活性氧及其清除酶系也可能参与了采后果实褐变过程。在红毛丹^[28]、鲜切甘薯^[23]研究中均发现,外源褪黑素处理除了可抑制果实中POD和PPO活性外,还同时提高SOD和CAT活性,抑制 H_2O_2 和MDA累积,延缓相对电导率上升。另外,草酸处理能抑制去壳马蹄笋褐变中也存在类似的机制^[15]。本研究同样表明,褪黑素处理显著($P<0.05$)抑制了冷藏下去壳黄甜竹笋中PPO和POD活性上升,下调了PPO和POD基因表达水平;提高了SOD和CAT活性,同时上调了SOD和CAT基因表达水平,延缓了 H_2O_2 含量的累积和降低了 O_2^- 的生成速率,进而抑制了笋肉组织MDA的累积和电导率的上升,有效延缓了笋基部切面褐变。

以上结果综合表明,褪黑素处理能够有效调控冷藏下去壳黄甜竹笋的木质素合成代谢和褐变关键酶活性及基因表达水平,进而达到延缓木质化和抑制褐变的效果。

4 结论

采后0.2 mmol/L褪黑素处理显著($P<0.05$)抑制了冷藏下去壳黄甜竹笋中PPO和POD活性,下调了PPO和POD基因表达水平;提高了SOD和CAT活性,同时上调了SOD和CAT基因表达水平,抑制了 H_2O_2 的累积和 O_2^- 生成速率上升,抑制了笋肉组织MDA的累积和电导率的上升,有效延缓了笋基部切面褐变;同时褪黑素处理也显著($P<0.05$)地下调了*PAL1*、*POD*和*CAD*的基因表达水平,抑制了冷藏下黄甜竹笋中PAL、CAD和POD活性,延缓了笋肉组织中木质素累积,保持了较好的感官和食用品质。

参考文献

- [1] TIJERO V, MUNOZ P, MUNNE-BOSCH S. Melatonin as an inhibitor of sweet cherries ripening in orchard trees[J]. *Plant Physiology and Biochemistry*, 2019, 140: 88–95.
- [2] WANG F, ZHANG X P, YANG Q Z, et al. Exogenous melatonin delays postharvest fruit senescence and maintains the quality of sweet cherries[J]. *Food Chemistry*, 2019, 301: 125311.
- [3] WANG X, LIANG D, XIE Y, et al. Melatonin application increases accumulation of phenols substances in kiwifruit during storage[J]. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 2019, 31(5): 361–367.
- [4] WANG T, HU M J, YUAN D B, et al. Melatonin alleviates pericarp browning in litchi fruit by regulating membrane lipid and energy metabolisms[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2020, 160: 111066.
- [5] WANG D, CHEN Q Y, CHEN W W, et al. Melatonin treatment maintains quality and delays lignification in loquat fruit during cold storage[J]. *Scientia Horticulturae*, 2021, 284: 110126.
- [6] 楼君, 索金伟, 张慧, 等. 褪黑素处理对高节竹笋低温贮藏过程中木质化的影响[J]. *林业科学*, 2019, 55(12): 41–49. [LOU J, SUO J W, ZHANG H, et al. Effect of melatonin treatment on lignification of *Phyllostachys prominens* shoots during low temperature storage[J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2019, 55(12): 41–49.]
- [7] YANG B Q, HAN Y C, WU W J, et al. Impact of melatonin application on lignification in water bamboo shoot during storage[J]. *Food Chemistry*: X, 2022, 13: 100254.
- [8] LIU C H, ZHENG H H, SHENG K L, et al. Effects of melatonin treatment on the postharvest quality of strawberry fruit[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2018, 139: 47–55.
- [9] 贾乐, 韩廷超, 房祥军, 等. 褪黑素处理对香菇采后品质及活性氧代谢的影响[J]. *食品科学*, 2021, 42(23): 229–236. [JIA L, HAN Y C, FANG X J, et al. Effect of melatonin treatment on postharvest quality and reactive oxygen species metabolism of *Lentinus edodes*[J]. *Food Science*, 2021, 42(23): 229–236.]
- [10] 代惠芹, 董桂君, 刘树泽, 等. 褪黑素处理对双孢蘑菇采后贮藏品质的影响[J]. *食用菌学报*, 2021, 37(6): 143–149. [DAI H Q, DONG G J, LIU S Z, et al. Effect of melatonin on postharvest storage quality of *Agaricus bisporus*[J]. *Acta Edulis Fungi*, 2021, 37(6): 143–149.]
- [11] 曹建康, 姜微波, 赵玉梅. 果蔬采后生理生化实验指导[M]. 北京: 中国轻工业出版社, 2007: 101–105, 142–144. [CAO J K, JIANG W B, ZHAO Y M. Experiment guidance of postharvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007: 101–105, 142–144.]
- [12] ZENG F F, LUO Z S, XIE J W, et al. Gamma radiation control quality and lignification of bamboo shoots (*Phyllostachys praecox* f. *prevernalis*.) stored at low temperature[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2015, 102: 17–24.
- [13] LI C T, SUO J W, XUAN L L, et al. Bamboo shoot-lignification delay by melatonin during low temperature storage[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2019, 156: 110933.
- [14] ZHENG J, LI S E, MARATAB A, et al. Effects of UV-B treatment on controlling lignification and quality of bamboo (*Phyllostachys prominens*) shoots without sheaths during cold storage[J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2020, 19(5): 1387–1395.
- [15] 戴丹, 郑剑, 周成敏, 等. 草酸对冷藏去壳马蹄笋的保鲜效果及机制研究[J]. *核农学报*, 2021, 35(10): 2294–2304. [DAI D, ZHENG J, ZHOU C M, et al. Effects of oxalic acid on edible quality of bamboo shoots (*Bambusa oldhami*) without sheaths during cold storage and the related mechanism[J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2021, 35(10): 2294–2304.]
- [16] ZHENG J, LI S E, XU Y H, ZHENG X L. Effect of oxalic acid on edible quality of bamboo shoots (*Phyllostachys prominens*) without sheaths during cold storage[J]. *LWT-Food Science and Technology*, 2019, 109: 194–200.
- [17] LUO Z S, FENG S M, PANG J, et al. Effect of heat treatment on lignification of postharvest bamboo shoots (*Phyllostachys praecox* f. *prevernalis*.) [J]. *Food Chemistry*, 2012, 135(4): 2182–2187.
- [18] SHAN L L, LI X, WANG P, et al. Characterization of cDNAs associated with lignification and their expression profiles in loquat fruit with different lignin accumulation[J]. *Planta*, 2008, 227(6): 1243.
- [19] LU G L, LI Z J, ZHANG X F, et al. Expression analysis of lignin-associated genes in hard end pear (*Pyrus pyrifolia* Whangkeumbae) and its response to calcium chloride treatment conditions[J]. *Journal of Plant Growth Regulation*, 2015, 34(2): 251–262.
- [20] BAUCHER M, HALPIN C, PETIT-CONIL M, et al. Lignin: genetic engineering and impact on pulping[J]. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 2003, 38(4): 305–350.
- [21] ANTEROLA A M, LEWIS N G. Trends in lignin modification: a comprehensive analysis of the effects of genetic manipulations/mutations on lignification and vascular integrity[J]. *Phytochemistry*, 2002, 61(3): 221–294.
- [22] OLIVAS G I, MATTINSON D S, BARBOSA-CÁNOVAS G V. Alginate coatings for preservation of minimally processed ‘Gala’ apples[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2006, 45(1): 89–96.
- [23] LI Y X, ZHANG L, ZHANG L, et al. Exogenous melatonin alleviates browning of fresh-cut sweetpotato by enhancing anti-oxidative process[J]. *Scientia Horticulturae*, 2022, 297: 110937.
- [24] SHEKARI A, HASSANI R N, AGHDAM M S, et al. The effects of melatonin treatment on cap browning and biochemical attributes of *Agaricus bisporus* during low temperature storage[J]. *Food Chemistry*, 2021, 348: 129074.
- [25] MONDAL K, SHARMA N S, MALHOTRA S P, et al. Antioxidant systems in ripening tomato fruits[J]. *Biologia Plantarum*, 2004, 48(1): 49–53.
- [26] MAGRI A, PETRICCIONE M. Melatonin treatment reduces qualitative decay and improves antioxidant system in highbush blueberry fruit during cold storage[J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2022, 102(10): 4229–4237.
- [27] WANG Z Q, PU H L, SHAN S S, et al. Melatonin enhanced chilling tolerance and alleviated peel browning of banana fruit under low temperature storage[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2021, 179: 111571.
- [28] WEI D L, YANG J L, XIANG Y, et al. Attenuation of postharvest browning in rambutan fruit by melatonin is associated with inhibition of phenolics oxidation and reinforcement of antioxidative process[J]. *Frontiers in Nutrition*, 2022, 9: 905006.
- [29] LUO Z S, WU X, XIE Y, et al. Alleviation of chilling injury and browning of postharvest bamboo shoot by salicylic acid treatment[J]. *Food Chemistry*, 2012, 131(2): 456–461.