

低温下乙烯对采后菜薹木质化及相关基因表达的影响

宋康华, 贾志伟, 常金梅, 孙曼丽, 张鲁斌*

(中国热带农业科学院亚热带作物研究所, 海南省热带园艺产品采后生理与保鲜重点实验室, 广东湛江 524091)

摘 要: 为了探讨低温条件下乙烯对采后菜薹木质化的影响, 以‘四九菜薹’为试材, 分别用不同浓度 (100、200 和 500 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$) 乙烯利处理, 置于 1 $^{\circ}\text{C}$ 低温下贮藏, 并于 0、24、48、72 和 96 h 取样, 进行木质素含量、相关酶活性测定以及相关基因表达分析。结果表明: 不同浓度乙烯利处理均提高了菜薹茎部的木质素含量和木质素合成途径中 4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (4-CL)、过氧化氢酶 (POD) 的活性; 200 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯处理提高了 2 个乙烯响应因子 (ERF) *BcERF2*、*BcERF1B* 以及 2 个 POD 基因 *BcPOD67*、*BcPOD69* 的表达。乙烯利处理促进了采后菜薹木质化的进程, 推测乙烯可能通过乙烯响应因子 *BcERF2* 和 *BcERF1B* 调控 *BcPOD69*、*BcPOD67* 等参与木质素的生物合成。

关键词: 菜薹; 乙烯; 木质化; ERF; POD

中图分类号: S 634.5

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2019) 04-0775-09

Lignification Induced by Ethephon and Related Gene Expression in Postharvest Flowering Chinese Cabbage at Low Temperature

SONG Kanghua, JIA Zhiwei, CHANG Jinmei, SUN Manli, and ZHANG Lubin*

(South Subtropical Crops Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences, Key Laboratory of Hainan Province for Postharvest Physiology and Technology of Tropical Horticultural Products, Zhanjiang, Guangdong 524091, China)

Abstract: The purpose of this study was to investigate the effects of ethephon on the stem lignification of postharvest flowering Chinese cabbage (FCC, *Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee) stored at low temperature. The postharvest FCC were treated with different concentrations of ethephon (100, 200 and 500 $\mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$), placed in an incubator at 1 $^{\circ}\text{C}$. The control was treated with distilled water. The content of lignin and activity of enzymes (4-coumaric acid coenzyme A ligase, 4-CL; peroxidase, POD; cinnamate dehydrogenase, CAD) related to lignification were detected by spectrophotometer. The gene expression levels of *BcERF2*, *BcERF1B*, *BcPOD67* and *BcPOD69* were evaluated by real-time PCR. The results showed that the content of lignin in the treated FCC stems significantly increased and the activities of POD and 4-CL also showed a rising trend during storage. With the increase of ethephon concentration, the content of lignin and activities of POD and 4-CL gradually

收稿日期: 2018-12-03; 修回日期: 2019-03-31

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31571904); 海南自然科学基金项目 (2016CXTD014); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项项目 (1630062017033)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: rubzhang@126.com)

increased. The expression levels of *BcERF2*, *BcERF1B*, *BcPOD67* and *BcPOD69* were higher than the control, which were consistent with the lignin change in treated FCC with ethylene ($200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$) during storage. In summary, the ethephon treatment accelerated the lignification process of postharvest FCC at low temperature. The ethephon was involved in lignin biosynthesis, which may through the regulation *BcPOD67* and *BcPOD69* by transcription factors *BcERF2* and *BcERF1B*.

Keywords: flowering Chinese cabbage; ethylene; lignification; ERF; POD

菜薹 (*Bcassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee) 供食部分为花薹, 常温下采收后其切口部位往往会迅速褐变腐烂, 叶片黄化萎蔫, 花薹继续开花生长甚至向上弯曲, 茎部木质化等现象, 严重影响商业价值和食用 (张利娟, 2012)。低温贮藏是采后菜薹最重要的贮藏方式, 已有研究表明在 $1 \sim 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 下, 1-MCP 处理的菜薹, 贮藏 1 个月后仍能保持原有的品质 (段学武, 2011)。但是低温增加菜薹对乙烯的敏感性, 同时无法控制其木质化。韩明等 (2002) 的研究表明, 低温条件 ($0 \sim 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$) 下, 菜薹的呼吸作用明显被抑制, 但对乙烯的产生没有影响。Li 等 (2017b) 也发现低温条件下蔬菜的乙烯敏感性显著增强。本项目组研究发现, 低温贮藏, 菜薹乙烯释放无法控制, 茎组织木质化不断加强。乙烯信号传导可能促进了低温下采后菜薹木质化的进程。

植物木质素合成是维管束发育过程合成和响应植物胁迫信号合成的复杂代谢过程, 从苯丙氨酸开始, 通过一系列复杂反应生成单体化合物, 最后经过氧化反应和聚合反应生成木质素 (李潞滨 等, 2007)。肉桂酸脱氢酶 (CAD)、过氧化物酶 (POD) 和 4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (4-CL) 均是木质素合成途径的重要酶类, CAD 依赖于 NADPH 催化还原肉桂醛及其衍生物, 将木质素前体和木质素类物质转化成木质素单体, 4-CL 参与羟基肉桂酸及其衍生物的辅酶 A 酯化化合物的形成, 是联系木质素前体和各个分支途径的纽带 (Zhao et al., 2016; 田晓明 等, 2017); POD 是在 H_2O_2 参与下催化木质素单体聚合成木质素过程的关键酶 (Li et al., 2017b)。已有研究表明, 乙烯信号促进了绿芦笋 (刘尊英 等, 2003)、竹笋 (Luo et al., 2012)、绿豆 (Huang et al., 2013)、枇杷 (Shan et al., 2008) 等的木质化进程。Zhang 等 (2010) 研究发现常温条件下, 外源乙烯促进了采后菜薹木质素的合成, 但是低温贮藏条件下尚不确定。为了探讨低温条件下乙烯对木质素合成及其合成途径中关键基因的调控方式, 考察了低温条件下乙烯利处理对采后菜薹茎部木质素含量、CAD、4-CL 和 POD 酶活性的影响, 同时对乙烯响应因子 *BcERF2*、*BcERF1B* 和木质素合成关键基因 *BcPOD39*、*BcPOD69* 和 *BcPOD67* 的表达调控进行了分析, 为进一步阐明乙烯调控菜薹木质化机理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菜薹品种为 ‘四九菜薹’ (*Bcassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis* Tsen et Lee), 于 2018 年 4 月 5 日采于广东省湛江市麻章区蔬菜基地。采收成熟度一致 (花蕾期)、大小均匀、叶片无损伤的菜薹, 分别用 100 、 200 和 $500 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯利喷施表面, 以蒸馏水喷施为对照。处理后将菜薹分别放于塑料筐中, 且在对照处理框内放两袋乙烯吸附剂, 然后用厚度为 0.03 mm 的 PE 袋套住并扎紧口, 放在 $1 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱里贮藏, 24 h 后打开袋口继续贮藏。每处理设 3 次重复。分别于 0 、 24 、 48 、 72 和 96 h 取样。取样部位为菜薹末端约 3 cm 长的茎部表皮 (植株基部第 1 片与第 2 片叶之间)。样品经液氮速冻存于 $-80 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 超低温冰箱, 供生理指标测定和实时荧光定量分析使用。

1.2 木质素含量、相关酶活性的测定

肉桂酸脱氢酶 (CAD) 活性测定参照 Goffner 等 (1992) 的方法并做适当修改。取茎部样品 2 g, 加入 5 mL 提取液 (0.1 mol · L⁻¹ 的磷酸缓冲液, 内含 1.0 mmol · L⁻¹ EDTA, 2% PVP, 15 mmol · L⁻¹ 巯基乙醇, pH 6.25), 冰浴下迅速研磨成匀浆, 于 4 °C 条件下 12 000 r · min⁻¹ 离心 20 min, 取上清液用于酶活性的检测。测定系统含有酶液 0.2 mL、3.2 mmol · L⁻¹ 反式肉桂酸 1 mL、0.1 mol · L⁻¹ 磷酸缓冲液 1 mL、2 mmol · L⁻¹ NADP 0.5 mL。反应液于 37 °C 保温 60 min, 加入 6 mol · L⁻¹ 盐酸 0.2 mL 终止反应。对照不加酶液, 以磷酸缓冲液代替。在 340 nm 下测定吸光度, 以每分钟 OD₃₄₀ 值变化 0.01 为 1 个酶活单位 (U)。

4-香豆酸辅酶 A 连接酶 (4-CL) 活性测定应用双抗体夹心法, 用酶标仪在 450 nm 波长下测定吸光度 (OD 值), 通过标准曲线计算样品中 4-CL 含量, 酶活性单位以 mg · g⁻¹ 表示。

可溶性过氧化物酶 (POD) 活性测定参照 Yingsanga 等 (2008) 的方法。反应液包含 20 mmol · L⁻¹ 愈创木酚, 100 mmol · L⁻¹ 磷酸盐缓冲液 (50 mmol · L⁻¹, pH 7.0), 20 μL 30% H₂O₂ 和 80 μL 粗酶液, 总体积为 3 mL。混匀后于 470 nm 下立即测定其吸光值, 对照用 20 μL 磷酸盐缓冲液代替 H₂O₂ 调 0。以 1 min 内 OD₄₇₀ 值增加 0.01 为 POD 的 1 个酶活力单位 (U · g⁻¹ FW)。

木质素含量利用植物木质素酶联免疫分析试剂盒 (江苏江莱生物科技有限公司) 双抗体夹心法测定。

1.3 相关基因实时荧光定量表达分析

对 200 μL · L⁻¹ 乙烯利处理的菜薹进行 ERF 和 POD 等基因表达的荧光定量分析。采用艾莱德植物 RNA 快速提取试剂盒提取样品 RNA, 并用 PrimeScriptTM RT reagent Kit with gDNA Eraser 进行 RT-PCR 反转录。

根据 RNASeq 的测序序列设计引物 (表 1)。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列
Table 1 Primer sequences of real-time quantitative PCR

| 基因 Gene | GenBank 登录号 GenBank number | 正向引物序列 (5' - 3') Forward primer | 反向引物序列 (5' - 3') Reverse primer |
|-----------------|-------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|
| <i>Bcactin7</i> | XM_009107781 | GCTTAACCTAAGGCTAACAG | AGACGGAGGATAGCGTGAGG |
| <i>BcERF2</i> | XM_009130702 | GATCCGGTGAGGATCACGTCAA | CACATCAAGCTTCGAAACCAAC |
| <i>BcERF1B</i> | XM_009109848 | CGAGCCAAACCCTAATACC | GGAACATCAAGAAAGCCAGA |
| <i>BcPOD39</i> | XM_009109933 | GTCTTGTTATCCGGCGCGCAC | CCTGTGTGGTATTGTCGGCAA |
| <i>BcPOD67</i> | XM_009128506 | GACTCCGTCCTTCTGTTAGGT | GTCGCGTACGGACAAGCCTTG |
| <i>BcPOD69</i> | XM_009152232 | CGTAACTCTTGTGGCGGACA | CTGATGCGTCTCCGGTTAGAG |

对各个处理样品进行 RNA 提取以及 cDNA 第 1 链反转录 (参照 TaKaRa 反转录试剂盒)。仪器为罗氏实时定量 PCR 仪器。反应体系为 20.0 μL, 含有 10.0 μL SYBC Premix Ex TaqTM II (TaKaRa), 1.0 μL cDNA, 8.2 μL ddH₂O, 上、下游引物各 0.4 μL (引物浓度 10 μmol · L⁻¹)。运行程序为: 95 °C 预变性 3 min, 95 °C 变性 20 s, 58 °C 退火 20 s, 72 °C 延伸 20 s, 40 次循环。每个样品 3 次重复。采用 Livak 和 Schmittgen (2001) 的 2^{-ΔΔCT} 公式计算基因相对表达量。

数据统计分析应用 SPSS 16.0 进行单因素方差分析, 采用 Duncan's 法检测差异显著性。

2 结果与分析

2.1 乙烯利对低温贮藏菜薹木质素含量的影响

如图 1 所示, 低温贮藏条件下, 各处理菜薹茎部的木质素含量皆随贮藏时间的延长而逐渐增加, 且随乙烯利处理浓度的增加而增加。在 24 h 时, $100 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯利处理的木质素较同期对照升高了 31.97%, $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 升高了 59.73%, $500 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 升高了 78.85%。由此可见, 乙烯利处理可诱导菜薹茎部木质素的合成。

2.2 乙烯利处理对低温贮藏下菜薹 CAD、POD 和 4-CL 酶活性的影响

如图 2 所示, 低温贮藏条件下, 100 和 $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯利处理后的 CAD 活性均较同期对照显著下降, $500 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理在 24、48 和 72 h 时显著降低, 在 96 h 时与对照差异不显著。

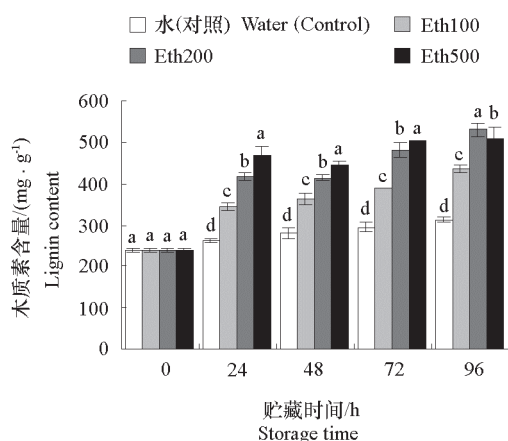


图 1 乙烯利处理对低温贮藏菜薹茎部木质素含量的影响
Fig. 1 Effect of ethephon on content of lignin in stems of flowering Chinese cabbage at low temperature

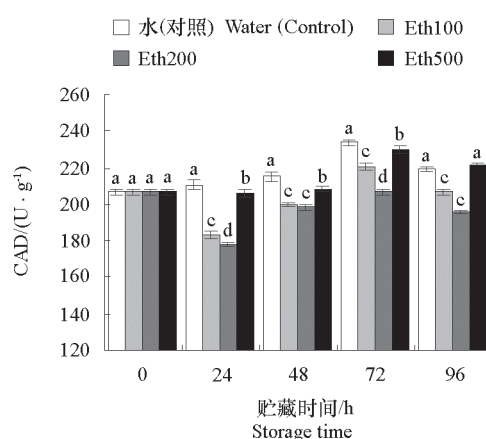


图 2 乙烯利处理对低温贮藏菜薹茎部 CAD 活性的影响
Fig. 2 Effect of ethephon on activity of CAD in stems of flowering Chinese cabbage at low temperature

在整个贮藏过程中, POD 酶活性随贮藏时间延长而呈逐渐上升的趋势, 且随乙烯利处理浓度的增加而相应提高; 100 、 200 和 $500 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯利处理菜薹, POD 酶活性在处理后的各个时间点中均显著高于对照 (图 3)。

在贮藏过程中, 对照组菜薹的 4-CL 活性相对稳定, $100 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理组除在 24 h 时显著高于同期对照外, 其他时期与对照差异不显著, 而 200 和 $500 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯利处理组 4-CL 酶活性随着贮藏时间延长而逐渐增强, 且均显著高于同期对照 (图 4)。

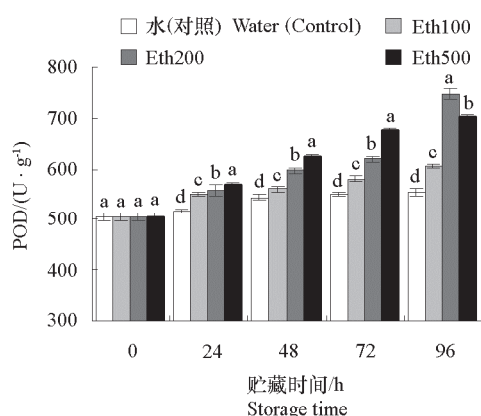


图3 乙烯利处理对低温贮藏菜薹茎部 POD 酶活性的影响
Fig. 3 Effect of ethephon on activity of POD in stems of flowering Chinese cabbage at low temperature

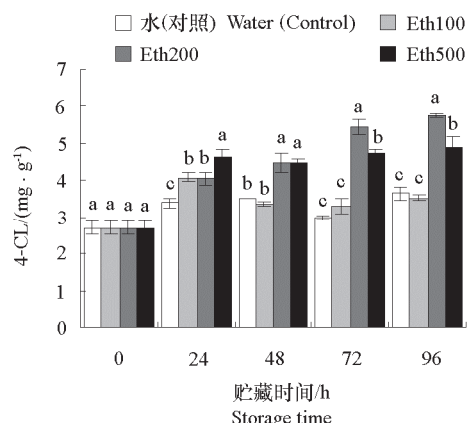


图4 乙烯利处理对低温贮藏菜薹茎部 4-CL 酶活性的影响
Fig. 4 Effect of ethephon on activity of 4-CL in stems of flowering Chinese cabbage at low temperature

2.3 乙烯利处理对低温贮藏菜薹 *BcERF* 的表达分析

ERF 基因是乙烯信号的响应因子, 在乙烯信号转导中起重要作用。取对照和 $200 \mu\text{L} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙烯处理样品进行荧光定量表达分析发现, 随着贮藏时间的延长, 对照的 *BcERF1B* 表达量呈升高趋势, 而乙烯利处理的在贮藏 24 h 和 48 h 时其表达量显著高于对照, 72 h 和 96 h 时低于对照; *BcERF2* 与 *BcERF1B* 变化趋势相似 (图 5)。

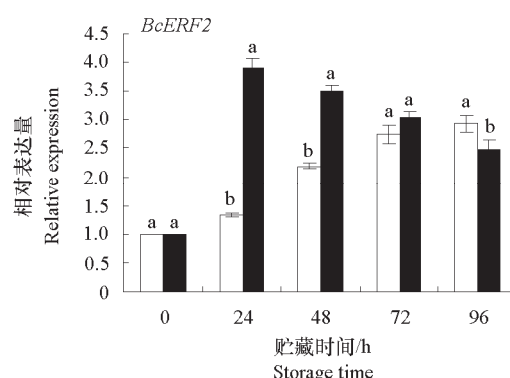
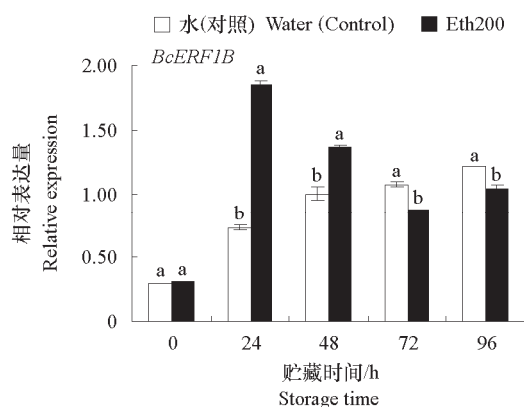


图5 乙烯利处理对低温贮藏菜薹茎部 *BcERF1B* 和 *BcERF2* 表达水平的影响

Fig. 5 Effect of ethephon on expression of *BcERF1B* and *BcERF2* in stems of flowering Chinese cabbage at low temperature

2.4 乙烯利处理对低温贮藏中菜薹 *BcPOD* 的表达分析

乙烯利处理后, 3 个 POD 家族成员基因的表达变化如图 6 所示。对照和乙烯利处理的 *BcPOD69* 和 *BcPOD67* 表达量均呈逐渐上升趋势; *BcPOD69* 表达量显著高于对照, *BcPOD67* 表达量在 24 和 72 h 时显著高于对照。

BcPOD39 表达呈逐渐下降的趋势, 乙烯利处理 24 和 48 h 时 *BcPOD39* 表达受到了严重抑制, 但之后高于对照。

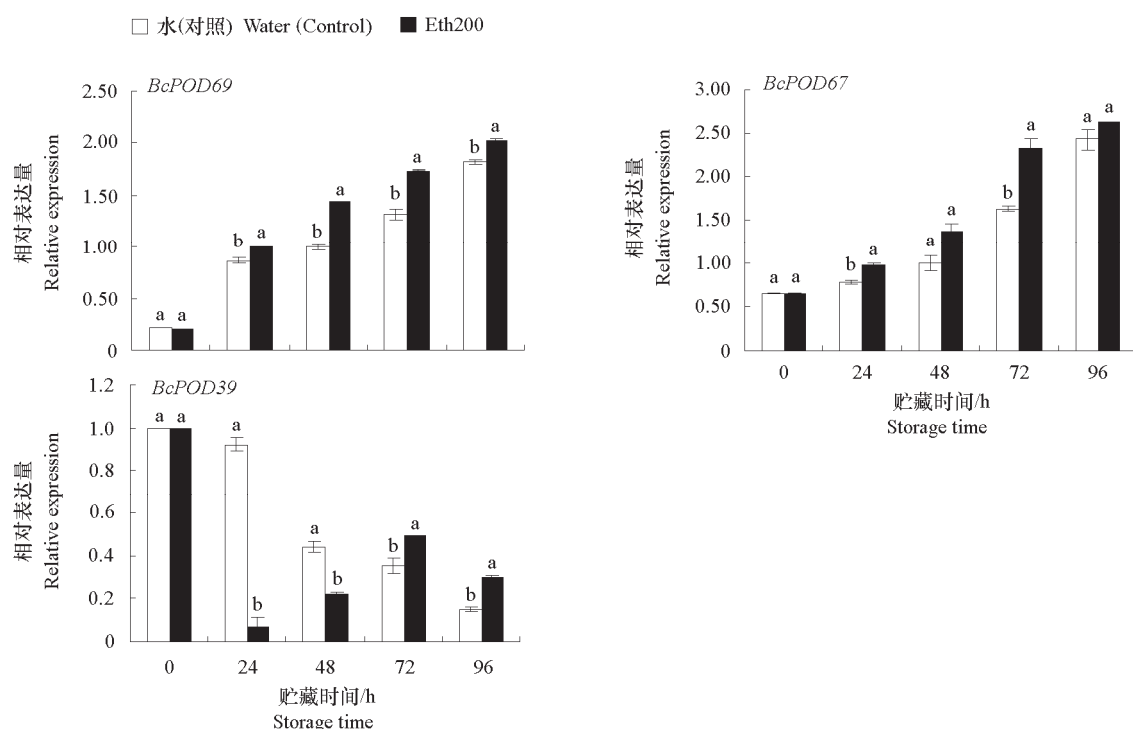


图 6 乙烯利处理对低温贮藏菜薹茎部 *BcPOD69*、*BcPOD67* 和 *BcPOD39* 表达的影响
Fig. 6 Effect of ethephon on expression of *BcPOD69*, *BcPOD67* and *BcPOD39* in stems of flowering Chinese cabbage at low temperature

3 讨论

低温胁迫可诱导植株内源乙烯的合成, 如葡萄 (孙小明, 2016)、温州蜜柑 (徐荣江和林家桦, 1999)、苹果 (Lara & Vendrell, 2003)、枇杷 (Zeng et al., 2015) 等。研究发现, 0 °C 低温处理黄瓜幼苗引起乙烯释放量的剧烈增加 (王合理, 1999), 而且低温胁迫提高了植株的乙烯敏感性 (Satoru et al., 2014; Li et al., 2017a), 说明乙烯在植株低温胁迫的应激反应中发挥重要作用。本研究的结果表明在 1 °C 低温下, 菜薹木质素含量随乙烯利浓度的升高而升高。这与枇杷 (郑永华 等, 2000)、猕猴桃 (李桦 等, 2017; 索江涛, 2018)、桃 (蔡琰, 2010) 等果实的采后木质化研究结果一致。由此可知, 外源乙烯提高了低温下菜薹木质素的含量, 加速了木质化进程, 说明乙烯在低温胁迫的木质化过程中有重要作用。

陈惠云等 (2014) 研究发现乙烯处理毛竹春笋提高了木质素合成相关酶 CAD 和 POD 的活性及其基因的表达, 促进组织中木质素的积累; Huang 等 (2013) 研究发现乙烯利处理绿豆根部, 提高了木质化关键基因 POD 的表达, 从而提高了茎部木质化程度。相反采后乙烯受体抑制剂 1-MCP 处

理可以抑制木质素含量的提高,降低 POD 和 PAL 等木质化相关酶活性,延缓竹笋(Song et al, 2011)、绿笋(刘尊英和姜微波, 2005)、菜豆(苏新国 等, 2003)和枇杷(Cai et al, 2006)的木质化进程。本研究的结果表明乙烯利处理后显著提高了 POD、4-CL 酶的活性,而且随着乙烯处理浓度升高,酶活性逐渐升高,但乙烯利处理降低了菜薹茎部 CAD 酶的活性,该结果中乙烯对 POD 酶活性的调控作用与前人研究结果一致,而乙烯对 4-CL 和 CAD 酶活性的调控研究尚未见报道。

BcPOD 表达分析表明,乙烯信号主要提高了 *BcPOD67* 和 *BcPOD69* 的表达,同时发现乙烯提高了乙烯响应因子 *BcERF2* 和 *BcERF1B* 的表达。但是,乙烯利处理抑制了 *BcPOD39* 表达,其调控机理还需进一步研究。生物信息学分析表明,在 *POD67* 和 *POD69* 启动子区存在 ERF 结合元件(GCC-box),推测乙烯对木质化的调控是通过 ERF 调控 POD 完成。

综上所述,低温条件下乙烯利处理提高了菜薹茎部木质素含量,促进了木质化进程;乙烯利处理提高了木质素合成相关酶 4-CL、POD 的活性,降低了 CAD 活性进而促进菜薹茎部的木质素积累,其具体调控途径可能是通过 *BcERF* 乙烯响应因子(*BcERF2*、*BcERF1B*)调控 *BcPOD* 基因(*BcPOD67*、*BcPOD69*)来诱导木质素的生物合成,但具体的调控机制还需进一步研究。

References

- Cai C, Chen K S, Xu W P, Zhang W S, Li X, Lan F. 2006. Effect of 1-MCP on postharvest quality of loquat fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 40 (2): 155 - 162.
- Cai Yan, Yu Meili, Xing Hongjie, Di Huatao, Pei Jiaoyan, Xu Feng, Zheng Yonghua. 2010. Effects of low temperature conditioning on chilling injury and quality of cold stored juicy peach fruit. *Transactions of the CSAE*, 26 (6): 334 - 338. (in Chinese)
- 蔡 琰, 余美丽, 邢宏杰, 狄华涛, 裴娇艳, 许 凤, 郑永华. 2010. 低温预贮处理对冷藏水蜜桃冷害和品质的影响. *农业工程学报*, 26 (6): 334 - 338.
- Chen Huiyun, Sun Zhidong, Wu Fenghua, Yang Huqing. 2014. Effects of ethylene and 1-MCP treatment on the lignification process and expression of *ERS1* in Mao bamboo shoots. *Zhejiang Agriculture Science*, (3): 336 - 338. (in Chinese)
- 陈惠云, 孙志栋, 吴峰华, 杨虎清. 2014. 乙烯、1-MCP 对毛竹春笋老化和 *ERS1* 基因表达的影响. *浙江农业科学*, (3): 336 - 338.
- Duan Xuewu. 2011. A method of storage and preservation of the heart of Tsai Tai: China, CN201110154408. (in Chinese)
- 段学武. 2011. 一种菜薹贮藏保鲜方法: 中国, CN201110154408.
- Goffey D, Joffroy I, Grima P J. 1992. Purification and characterization of isoforms of cinnamyl alcohol dehydrogenase from *Eucalyptus xylem*. *Planta*, 188 (1): 48 - 53.
- Han Ming, Chen Weixin, Wu Zhenxian, Su Meixia. 2002. Effects of controlled atmosphere storage on respiration and ethylene production of flowering Chinese cabbage//Proceedings of the fifth youth Symposium of the Chinese horticultural society. Guangzhou: Chinese Society for Horticulture Science: 769 - 773. (in Chinese)
- 韩 明, 陈维信, 吴振先, 苏美霞. 2002. 自发气调贮藏对菜薹呼吸强度和乙烯释放量的影响//中国园艺学会第五届青年学术讨论会论文集. 广州: 中国园艺学会: 769 - 773.
- Huang W N, Liu H K, Zhang H H, Chen Z, Guo Y D, Kang Y F. 2013. Ethylene-induced changes in lignification and cell wall-degrading enzymes in the roots of mungbean (*Vigna radiata*) sprouts. *Plant Physiology and Biochemistry*, 73: 412 - 419.
- Lara I, Vendrell M. 2003. Cold-induced ethylene biosynthesis is differentially regulated in peel and pulp tissues of 'Granny Smith' apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 29 (7): 109 - 119.
- Li H, Suo J T, Han Y, Liang C Q, Jin M J, Zhang Z K, Rao J P. 2017a. The effect of 1-methylcyclopropene, methyl jasmonate and methyl salicylate on lignin accumulation and gene expression in postharvest 'Xuxiang' kiwifruit during cold storage. *Postharvest Biology and Technology*, 124:

- 107 – 118.
- Li Hua, Liang Chunqiang, Lü Jiang, Hu Miao, Li Jiaying, Rao Jingping. 2017. Effects of oxalic acid treatment on lignification and related enzymes activities in ‘Huayou’ kiwifruit during cold storage. *Acta Horticulturae Sinica*, 44 (6): 1085 – 1093. (in Chinese)
- 李 桦, 梁春强, 吕 荏, 胡 苗, 李佳颖, 饶景萍. 2017. 草酸对冷藏‘华优’猕猴桃果实木质化及相关酶活性的影响. *园艺学报*, 44 (6): 1085 – 1093.
- Li Lubin, Liu Lei, He Congfen, Dong Yinmao, Peng Zhenhua. 2007. Research progress on the genes encoding the key enzymes in biosynthetic pathway of lignin. *Molecular Plant Breeding*, 5 (6): 45 – 51. (in Chinese)
- 李璐滨, 刘 蕾, 何聪芬, 董银卯, 彭镇华. 2007. 木质素生物合成关键酶基因的研究进展. *分子植物育种*, 5 (6): 45 – 51.
- Li Y X, Wills R B H, Golding J B. 2017b. Interaction of ethylene concentration and storage temperature on postharvest life of the green vegetables pakchoi, broccoli, mint, and green bean. *Journal of Pomology & Horticulture Science*, 92 (3): 288 – 293.
- Liu Zunying, Jiang Weibo. 2005. Effects of GA₃ on postharvest lignification of green asparagus. *Scientia Agricultura Sinica*, 38 (2): 383 – 387. (in Chinese)
- 刘尊英, 姜微波. 2005. 常温下 GA₃ 处理对绿芦笋采后木质化的影响. *中国农业科学*, 38 (2): 383 – 387.
- Liu Zunying, Lü Yanchun, Jiang Weibo. 2003. Effect of 1-MCP and ethylene on postharvest quality of green asparagus. *Journal of China Agriculture University*, 8 (6): 26 – 28. (in Chinese)
- 刘尊英, 吕艳春, 姜微波. 2003. 1-甲基环丙烯及乙烯对绿芦笋采后品质的影响. *中国农业大学学报*, 8 (6): 26 – 28.
- Livak J, Schmittgen T D. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{-ΔΔCT} method. *Methods*, 25: 402 – 408.
- Luo Z S, Feng S M, Pang J, Mao L C, Shou H L, Xie J W. 2012. Effect of heat treatment on lignification of postharvest bamboo shoots (*Phyllostachys praecox* f. *prevernalis*). *Food Chemistry*, 135 (4): 2182 – 2187.
- Satoru M, Yoshinori I, Masamichi Y. 2014. Low temperature increases ethylene sensitivity in *Actinidia chinensis* ‘Rainbow Red’ kiwifruit. *Journal of Japanese Society for Horticultural Science*, 83 (4): 322 – 326.
- Shan L L, Li X, Wang P, Cai C, Zhang B, Sun C D, Zhang W S, Xu C H, Ferguson L, Chen K S. 2008. Characterization of cDNAs associated with lignification and their expression profiles in loquat fruit with different lignin accumulation. *Planta*, 227 (6): 1243 – 1254.
- Song L L, Gao H Y, Chen W X, Chen H J, Mao J L, Zhou Y J, Duan X W, Joyce D C. 2011. The role of 1-methylcyclopropene in lignification and expansion gene expression in peeled water bamboo shoot (*Zizania caduciflora* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91 (14): 2679 – 2683.
- Su Xinguo, Zheng Yonghua, Zhang Lan, Feng Lei, Wang Feng, Jiang Yueming. 2003. Effects of 1-MCP treatments on senescence and decay of vegetable soybean pods during storage period. *Scientia Agricultura Sinica*, 36 (3): 318 – 323. (in Chinese)
- 苏新国, 郑永华, 张 兰, 冯 磊, 汪 峰, 蒋跃明. 2003. 菜用大豆采后用不同浓度 1-MCP 处理对贮藏期间衰老及腐烂的影响. *中国农业科学*, 36 (3): 318 – 323.
- Sun Xiaoming. 2016. Study on the mechanism of grape cold resistance regulated by ethylene response factor 057 and 080 [Ph. D. Dissertation]. Wuhan: University of Chinese Academy of Sciences (Wuhan Botanical Garden). (in Chinese)
- 孙小明. 2016. 乙烯响应因子 ERF057 和 ERF080 调控葡萄抗寒性的机理研究 [博士论文]. 武汉: 中国科学院大学武汉植物园.
- Suo Jiangtao. 2018. Studies on lignification characteristics of chilling injury and fruit cold resistance mechanisms in postharvest kiwifruit [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 索江涛. 2018. 猕猴桃采后冷害木质化特点及其果实抗冷机制研究 [博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Tian Xiaoming, Yan Lihong, Xiang Guangfeng, Jiang Liyuan. 2017. Research progress on 4-coumarate: coenzyme a ligase (4CL) in plants. *Biotechnology Bulletin*, 33 (4): 19 – 26. (in Chinese)

- 田晓明, 颜立红, 向光锋, 蒋利媛. 2017. 植物 4 香豆酸: 辅酶 A 链接酶研究进展. 生物技术通报, 33 (4): 19 - 26.
- Wang Heli. 1999. Progress of research on the chilling and freezing tolerance of cucumber. Journal of Tarim University of Agricultural Reclamation, (4): 58 - 60. (in Chinese)
- 王合理. 1999. 黄瓜低温冷害及耐冷性研究. 塔里木大学学报, (4): 58 - 60.
- Xu Rongjiang, Lin Jiahua. 1999. Changes in some physiological characteristics during the onset of edema disease in Wenzhou mandarin orange. Plant Physiology Communications, 183 (6): 28 - 30. (in Chinese)
- 徐荣江, 林家桦. 1999. 温州蜜柑水肿病发病过程中的一些生理品质变化. 植物生理学通讯, 183 (6): 28 - 30.
- Yingsanga P, Srilaong V, Kanlayanarat S, Noichinda S, McGlasson W B. 2008. Relationship between browning and related enzymes (PAL, PPO and POD) in rambutan fruit (*Nephelium lappaceum* Linn.) cvs. Rongrien and See-Chompoo. Postharvest Biology and Technology, 50 (2 - 3): 164 - 168.
- Zeng J K, Li X, Xu Q, Chen J Y, Yin X R, Ferguson I B, Chen K S. 2015. *EjAP2-1*, an *AP2/ERF* gene, is a novel regulator of fruit lignification induced by chilling injury, via interaction with *EjMYB* transcription factors. Plant Biotechnology Journal, 13 (5): 1325 - 1334.
- Zhang Lijuan. 2012. Effects of 1-MCP and ethylene on senescence of Tsai Tai in relation to changes of proteome expression[M. D. Dissertation]. Guangzhou: South China Agricultural University. (in Chinese)
- 张利娟. 2012. 1-MCP 和乙烯调控菜薹衰老进程及其与蛋白质表达关系的变化[硕士论文]. 广州: 华南农业大学.
- Zhang L B, Wang G, Chang J M, Liu J S, Cai J H, Rao X W, Zhang L J, Zhong J J, Xie J H, Zhu S J. 2010. Effects of 1-MCP and ethylene on expression of three CAD genes and lignification in stems of harvested Tsai Tai (*Brassica chinensis*). Food Chemistry, 123 (1): 32 - 40.
- Zhao S G, Wen J, Wang H X, Zhang Z H, Li X B. 2016. Changes in lignin content and activity of related enzymes in the endocarp during the walnut shell development period. Horticultural Plant Journal, 2 (3): 141 - 146.
- Zheng Yonghua, Li Sanyu, Xi Yufang. 2000. Changes of cell wall substances in relation to flesh woodiness in cold stored loquat fruits. Acta Phytophysiological Sinica, 26 (4): 306 - 310. (in Chinese)
- 郑永华, 李三玉, 席玟芳. 2000. 枇杷冷藏过程中果肉木质化与细胞壁物质变化的关系. 植物生理学报, 26 (4): 306 - 310.