

王 斌, 袁 晓, 蒋园园, 等. 采后黄瓜冷害及耐冷性调控研究进展[J]. 江苏农业学报, 2023, 39(2): 596-608.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2023.02.034

## 采后黄瓜冷害及耐冷性调控研究进展

王 斌<sup>1,2</sup>, 袁 晓<sup>2</sup>, 蒋园园<sup>1,2</sup>, 王玉昆<sup>1,2</sup>, 朱世江<sup>3</sup>

(1. 韶关学院广东省粤北食药资源利用与保护重点实验室, 广东 韶关 512005; 2. 韶关学院英东生物与农业学院, 广东 韶关 512005; 3. 华南农业大学园艺学院, 广东 广州 510642)

**摘要:** 黄瓜是冷敏型果菜类蔬菜, 采后黄瓜在低温贮藏期间很容易发生冷害, 降低采后品质, 缩短贮藏寿命, 造成较大的采后损失。因此, 探明采后黄瓜冷害发生机制, 并有针对性地提出冷害防控措施, 是当下果蔬采后保鲜研究领域迫切需要解决的科技问题。近年来, 在采后黄瓜冷害防控及耐冷性调控研究方面取得了一系列进展。本文重点从采后黄瓜冷害症状、冷害发生过程中的生理生化变化和防控技术等角度, 总结了采后黄瓜冷害及耐冷性调控研究方面的进展, 可以为采后黄瓜的低温贮藏和冷害防控研究提供借鉴和参考。

**关键词:** 采后黄瓜; 低温贮藏; 冷害; 防控技术; 耐冷性

**中图分类号:** S642.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2023)02-0596-13

## Research advances in chilling injury and the regulation of chilling tolerance of postharvest cucumber fruit

WANG Bin<sup>1,2</sup>, YUAN Xiao<sup>2</sup>, JIANG Yuan-yuan<sup>1,2</sup>, WANG Yu-kun<sup>1,2</sup>, ZHU Shi-jiang<sup>3</sup>

(1. Guangdong Provincial Key Laboratory of Utilization and Conservation of Food and Medicinal Resources in Northern Region, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China; 2. Henry Fok College of Biology and Agriculture, Shaoguan University, Shaoguan 512005, China; 3. College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

**Abstract:** Cucumber is a kind of chilling-sensitive fruit vegetable. Harvested cucumber is subjected to chilling injury under cold storage conditions, which will reduce the postharvest quality and shorten the storage life, and cause great postharvest losses. Therefore, the urgent scientific-technical issue to be solved in the field of postharvest preservation of fruits and vegetables is to ascertain the mechanisms of chilling injury in harvested cucumber and propose purposeful technical measures for the prevention of chilling injury. In recent years, a series of important progresses about prevention technologies of chilling injury and the regulation of chilling tolerance in harvested cucumber have been made. This article comprehensively summarized research advances on chilling injury and chilling tolerance of harvested cucumber fruit, from the perspectives of chilling injury symptoms, physiological and biochemical changes during the occurrence of chilling injury, and prevention techniques. This article can provide references for the research of cold storage technology and prevention technologies of chilling injury in harvested cucumber.

**Key words:** harvested cucumber; cold storage; chilling injury; prevention techniques; chilling tolerance

收稿日期: 2022-06-13

基金项目: 广东省基础与应用基础研究基金项目(2022A1515011913)

作者简介: 王 斌(1991-), 男, 甘肃秦安人, 博士, 讲师, 研究方向为采后果蔬分子生物学。(E-mail) b\_wang@sgu.edu.cn

通讯作者: 朱世江, (E-mail) sjzhu@scau.edu.cn

黄瓜是葫芦科黄瓜属植物, 起源于喜马拉雅山南麓一带的热带雨林地区, 是典型的热带、亚热带蔬菜作物<sup>[1]</sup>。黄瓜最初由丝绸之路开拓者张骞出使西域时带入中国, 目前在世界各地广泛栽种。中国是黄瓜的主产区, 黄瓜也是中国重要的果菜类蔬菜,

是许多省份市销和出口的主要蔬菜之一<sup>[2-3]</sup>。农户及相关农业企业种植黄瓜,产生了很大的经济效益和社会效益,有助于乡村振兴。

采后黄瓜组织鲜嫩,含水量高,生理代谢依然旺盛,常温条件下不耐贮藏<sup>[4]</sup>。低温贮藏可明显降低采后果蔬的呼吸强度,减少营养物质损耗,抑制病原微生物活动,因此,低温贮运成为保证采后黄瓜品质,减少采后损失,并延长贮藏寿命的重要方法之一<sup>[5]</sup>。但采后黄瓜对低温特别敏感,在低于 10 ℃ 的环境中贮藏会产生冷害<sup>[6]</sup>。发生冷害的采后黄瓜,很容易被致病菌感染,引发较为严重的次生病害,降低采后黄瓜的商品性,造成较大的采后损失<sup>[7]</sup>,极大限制了低温贮运保鲜技术在采后黄瓜中的应用。据统计,果蔬物流总量中约 30% 的采后损失是由冷害导致的<sup>[8]</sup>。由此可见,探明采后黄瓜冷害发生机制,有针对性地研发冷害防控技术,是当下果蔬采后保鲜领域中迫切需要的科学与技术问题。

近年来,随着研究方法的迭代升级,分子生物学的蓬勃发展,以及测序技术和生物信息学的广泛应用,相关科研工作者从生理生化、分子生物学、组学(基因组、蛋白质组、转录组等)等多个层次,深入探究了采后黄瓜冷害发生及调控机理,并研发了许多能有效控制采后黄瓜冷害的保鲜新技术,但在该领域尚未见近几年相关研究成果的综合性概括与总结。为此,本文从采后黄瓜冷害症状、冷害发生过程中的生理生化变化和防控技术等角度,较为全面地总结了采后黄瓜冷害及耐冷性研究方面的进展情况,以期对采后黄瓜的低温贮运和冷害防控研究提供借鉴和参考。

## 1 采后黄瓜冷害及冷害症状

影响采后果蔬贮藏期和货架期的主要因素是贮藏环境温度<sup>[9]</sup>。低温贮藏是目前保持采后果蔬品质的重要手段之一。但在过低温度的环境下贮运时,采后黄瓜会发生冷害现象<sup>[10]</sup>。采后果蔬冷害是由零上低温导致的物理性伤害,属于细胞内部发生结构损伤而产生的物理伤害<sup>[11]</sup>。在低温贮藏条件下,冷藏黄瓜的冷害症状主要表现为果皮表面出现向果肉内部凹陷的水渍状或点蚀状斑点(图 1A)。此时,黄瓜果实的冷害症状与果刺脱落的症状非常相似,不仔细辨别很难区分开来。区别在于果刺脱落发生在果刺凸起的位置,而冷害症状主要

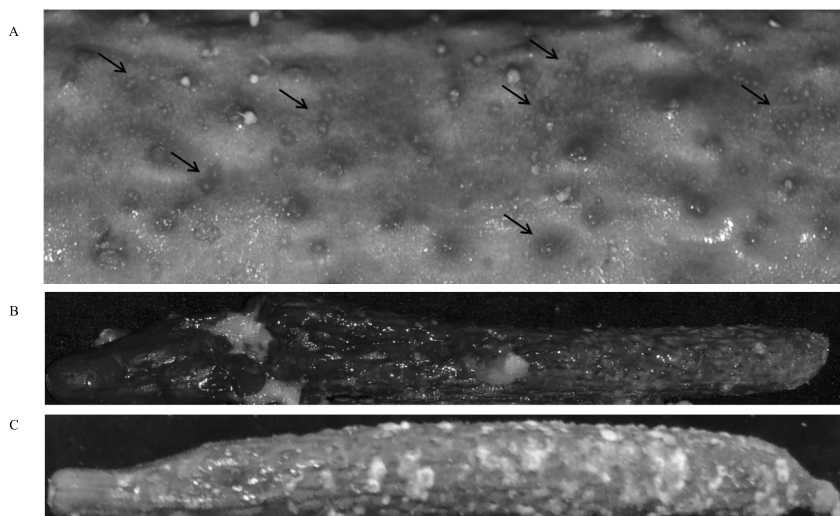
出现在光滑的果面(图 1A)。冷害严重时可能还会发生脱水现象,且受害部位的颜色明显加深,斑点逐渐扩大<sup>[11]</sup>。关于采后黄瓜果皮表现出水渍状凹陷斑点的原因,Tatsumi 等<sup>[12]</sup>认为是以下多个因素共同作用的结果:(1)气孔周围出现裂缝;(2)包括薄壁组织在内的内部组织塌陷;(3)气孔附近表皮细胞下沉,刺激气孔的蒸腾作用;(4)黏液沉积。

采后黄瓜冷害的严重程度主要与贮藏温度、贮藏时间、品种或基因型,以及采收成熟度等因素有关。通常而言,贮藏环境的温度越低,贮藏时间越久,冷害越严重,冷害症状也愈加明显。但短时间的冷激处理反而能提高采后黄瓜的耐冷性,降低冷害发生<sup>[13]</sup>。华北类型黄瓜品种的耐冷性明显高于华南类型的黄瓜品种<sup>[14-15]</sup>。处于早期发育阶段的黄瓜果实更易发生冷害,而成熟度高的果实有更强的耐冷性<sup>[16]</sup>。

发生冷害的采后黄瓜抗病性明显降低,容易被环境中的病原微生物侵染。当转移至室温货架贮藏时,环境中的致病微生物通过冷害伤口侵入组织,导致采后黄瓜发生严重的次生病害(图 1B、图 1C),进而迅速腐烂、变质。由冷害引起的次生病害症状与环境微生物的类型有关,若侵入的病原微生物以细菌为主,则组织表现为水样化溃烂(图 1B);若侵入的病原微生物以霉菌为主,则发生冷害部位长满霉状物(图 1C)。此时,由于组织严重腐烂,造成大量脱水,并产生难闻的酸腐味,采后黄瓜的商品性明显降低,甚至完全丧失商品价值。通常,采后黄瓜的次生病害并不是由单一类型的微生物引起的,而是由多种细菌性、真菌性微生物共同作用的结果。次生病害严重程度与冷害严重程度密切相关,冷害越严重,相应的次生病害症状也越严重。因此,可使用冷害指数和次生病害病情指数综合评估采后黄瓜冷害的严重程度<sup>[17]</sup>。

## 2 采后黄瓜冷害发生过程中的生理生化变化

采后果蔬冷害是细胞内部结构渐进性损伤的结果,最终会引发一系列的生理功能故障<sup>[8]</sup>。在采后黄瓜冷害发生过程中,在生理生化方面会发生明显变化,主要表现为细胞膜相变、膜脂过氧化、活性氧自由基清除能力下降、呼吸异常升高、能量供应不足、激素平衡失调、渗透性物质含量增加、细胞壁降解等。



黑色箭头指示位置为冷害症状,但冷害症状不局限于箭头所示位置。

图 1 采后黄瓜的冷害症状(A)和次生病害症状(B、C)

Fig.1 Chilling injury symptoms (A) and secondary disease symptoms (B and C) of postharvest cucumber

## 2.1 细胞膜变化

细胞膜是细胞生命活动赖以延续的基础,细胞膜损伤后,将引起组织的生理代谢紊乱。正常情况下,植物细胞膜呈现出液晶态的流动相,但当植物遭遇低温胁迫后,膜脂逐步向凝胶态的凝固相转变<sup>[18]</sup>。膜脂相变的结果导致细胞膜流动性降低,细胞膜透性增大,胞内的电解质向胞外渗漏,细胞内外的离子平衡失调,引发一系列的代谢过程紊乱<sup>[19]</sup>。此外,冷害还会改变镶嵌在细胞膜上的膜蛋白结构,导致相关酶活性变化,催化产生一些有毒物质,对细胞产生毒害作用。

采后黄瓜细胞膜透性增大的直接表现是,细胞渗出物的电导值明显增加<sup>[20]</sup>。采后黄瓜细胞膜损伤程度与贮藏低温、持续时间密切相关。贮藏环境温度越低,细胞膜损伤的也越严重。刘云芬<sup>[21]</sup>比较了不同贮藏温度(0℃、5℃、10℃、15℃和20℃)下黄瓜果皮细胞膜透性的变化,发现0℃温度下贮藏的黄瓜果皮电导率始终大于其他贮藏温度下的电导率,采后黄瓜在贮藏6d后,0℃和5℃条件下贮藏的黄瓜果皮电导率急剧上升,而10℃条件下贮藏的果皮电导率增加幅度最小。由此,该作者提出,10℃低温可能是采后黄瓜比较合适的贮藏温度。陈健华等<sup>[22]</sup>也观察到了类似现象,即贮藏温度越低,电导率变化越明显,出现跃变的时间越早,则采后黄瓜冷害发生得越早;随着贮藏时间的延长,细胞膜电导

率随之增加,冷害也逐渐加重。这些研究结果表明,低温使黄瓜果皮的细胞膜结构遭受了严重的物理破坏,导致细胞膜渗透性增大,造成细胞外渗物质增加,冷害加剧。

目前,在许多采后果蔬中,比如香蕉、番茄、甜椒、桃子、枇杷、甜瓜等,已证实果实在发生冷害后,细胞膜的选择透过能力降低,膜内向膜外的离子渗漏明显增加<sup>[23-28]</sup>。由此可知,相对电导率是反应采后果蔬冷害严重程度的一个可靠指标。由于黄瓜果皮直接与贮藏环境相接触,可通过监测黄瓜果皮相对电导率在低温贮藏期间的变化,准确判断采后黄瓜的冷害程度<sup>[7,20]</sup>。

若采后黄瓜在胁迫环境下保存时间较短,一般不会对细胞膜造成永久损伤,或者损伤后可恢复到初始状态,不产生冷害。但若低温胁迫环境持续的时间过长,将导致细胞膜不可逆的损伤,最终引起胞内代谢失调,细胞功能紊乱,冷害发生。比如,采后黄瓜在2.5℃条件下贮藏18h,细胞膜透性不会明显增加,但在2.5℃条件下贮藏13d后,细胞内容物大量外渗,细胞膜遭受到不可逆损伤<sup>[29]</sup>。采后黄瓜在5℃条件下贮藏3d,未观察到细胞膜透性的明显增加,但在贮藏12d后,采后黄瓜果皮表现出十分明显的冷害症状,且相对电导率大幅增加<sup>[5,7,17]</sup>。

在冷害发生的过程中,细胞膜的膜脂组分也会发生明显变化<sup>[30]</sup>。利用气相色谱仪分析黄瓜果实



的膜脂组分,发现黄瓜果实细胞膜脂脂肪酸主要由棕榈酸和硬脂酸 2 种饱和脂肪酸,以及油酸、亚油酸和亚麻酸 3 种不饱和脂肪酸组成。其中,饱和脂肪酸中棕榈酸的相对含量最高,而不饱和脂肪酸主要以亚麻酸和亚油酸为主<sup>[10]</sup>。在低温贮藏过程中,黄瓜果实中 2 种饱和脂肪酸(棕榈酸和硬脂酸)和 1 种不饱和脂肪酸(油酸)的相对含量均逐渐增加,而 2 种主要不饱和脂肪酸(亚麻酸和亚油酸)含量逐渐降低<sup>[10]</sup>。磷脂酶 D (PLD) 和脂氧合酶 (LOX) 是采后黄瓜中参与细胞膜脂质降解的 2 个主要脂质氧化酶,在低温贮藏期间,采后黄瓜果实中 PLD、LOX 活性增加,不饱和脂肪酸含量降低<sup>[31]</sup>。这些研究结果表明,在低温贮藏期间,采后黄瓜的膜脂不饱和度明显降低,这可能也是细胞膜流动性下降、渗透性增加的重要原因之一。一些可抑制 PLD、LOX 活性的采后处理措施,比如热处理,能提高不饱和脂肪酸相对含量和细胞膜的膜脂不饱和度,从而更有利于保持细胞膜的流动性<sup>[10,31]</sup>。

## 2.2 自由基清除能力下降

植物体内的活性氧(ROS)自由基主要包括过氧化氢( $H_2O_2$ )、超氧阴离子( $O_2^{\cdot-}$ )和羟基自由基( $\cdot OH$ )<sup>[11]</sup>。采后果蔬细胞内具有一套高效的抗氧化防御系统,正常贮藏条件下,自由基含量维持在一个平衡状态,机体产生的活性氧等自由基能及时通过抗氧化防御系统清除,避免对细胞造成氧化损伤<sup>[8]</sup>。但在低温贮藏条件下,一方面,低温胁迫刺激细胞产生大量的活性氧自由基;另一方面,与活性氧清除有关的抗氧化酶活性降低,活性氧的清除能力下降,使得活性氧不能及时清除。这就导致细胞内活性氧含量急剧增加,对细胞膜及其他大分子物质造成严重的氧化损伤<sup>[32-33]</sup>。

许多研究结果表明,在低温贮藏期间,采后黄瓜中  $O_2^{\cdot-}$  产生速率和  $H_2O_2$  含量随贮藏时间延长而急剧增加,与活性氧清除有关的抗氧化酶[如过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)、超氧化物歧化酶(SOD)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)]的活性随贮藏时间延长而逐渐降低<sup>[4,6-7]</sup>。采后黄瓜中非酶类抗氧化物(如抗坏血酸、还原型谷胱甘肽)的含量也随冷藏时间延长而逐渐下降<sup>[7,34]</sup>。一些能增强采后黄瓜抗氧化能力的采后处理措施,能缓解采后黄瓜的冷害,减少活性氧对生物大分子的氧化损伤<sup>[35-36]</sup>。说明低温贮藏会降低采后黄瓜抗氧化酶

的活性,抑制非酶抗氧化物的生物合成,从而降低活性氧清除能力。

过量积累的活性氧还会导致细胞膜脂过氧化。4℃贮藏的采后黄瓜,在贮藏 7 d 时,磷脂酰胆碱和磷脂酰乙醇胺的含量降低,而磷脂酸含量相应增加,说明在低温贮藏过程中,采后黄瓜的膜脂发生了过氧化反应<sup>[37]</sup>。丙二醛(MDA)是细胞膜脂过氧化的最终产物,其含量与冷害严重程度密切相关,MDA 含量越高暗示冷害越严重<sup>[38]</sup>。有研究结果表明,在低温贮藏期间,采后黄瓜的 MDA 含量随贮藏时间延长而明显增加<sup>[11,34]</sup>。因此,MDA 含量增加也常作为判断采后黄瓜冷害发生的重要指标之一,通过监测 MDA 含量变化,可判断细胞膜脂的过氧化程度,间接反映采后黄瓜冷害情况<sup>[4,7]</sup>。这些结果表明,活性氧等自由基的清除能力下降,使活性氧在细胞中过量积累,对细胞膜及其他生物大分子造成氧化损伤,可能是采后黄瓜发生冷害的重要原因之一。

## 2.3 呼吸强度异常升高

采后果蔬仍是有生命的生物体,采收后仍然需要通过呼吸作用,为自身的生命活动提供能量。当采后果蔬产生冷害时,呼吸作用一般会异常升高,这可能是因为呼吸链中一些酶的活性发生了改变<sup>[39-40]</sup>。若低温胁迫持续时间较短,这种呼吸作用异常升高的现象是可逆的;当持续时间达到一定时长,则异常升高的呼吸作用不会降低到正常水平,这与细胞膜损伤的可逆/不可逆修复是相类似的。比如,将采后黄瓜在 5℃低温贮藏 4 d,呼吸速率明显加快,之后贮藏在 25℃条件下,呼吸强度又恢复到正常水平。但在低温下贮藏的时间大于 8 d 时,呼吸速率不能恢复到正常水平<sup>[16]</sup>。

采后黄瓜发生冷害时,呼吸代谢异常可能与以下 3 个方面<sup>[8]</sup>有关:(1)呼吸效率降低,为满足生命活动所需能量,需要加强呼吸作用;(2)抗氰呼吸途径被激活,以利于活性氧的清除;(3)发生了无氧呼吸,导致乙醇、乙醛等有毒产物在细胞内积累,对细胞造成严重的毒害作用。呼吸作用加快,使有机物过快消耗,产品品质快速下降。同时,过快的呼吸作用还可能导致能量亏缺,使采后黄瓜抵御冷害的能力减弱,最终产生冷害症状。

## 2.4 能量供应能力下降

在正常条件下,植物细胞通常能够合成足够的能量以维持组织的正常代谢过程<sup>[41]</sup>。正如前文所

述,在低温胁迫条件下,采后果蔬的呼吸强度会异常升高,导致能量过度损耗,使线粒体的呼吸活性增强,继而促进电子传递链中 ROS 的产生;而 ROS 反过来又会造成线粒体氧化损伤,阻断三磷酸腺苷(ATP)合成进程,进而引起能量供给不足<sup>[8]</sup>。较高的能量水平有利于细胞膜脂的合成以及损伤修复,减缓膜脂的过氧化程度,抑制膜脂相关降解酶的活性和膜透性的增加,从而较好地维持细胞膜的完整性,提高采后果蔬的抗冷性,延缓冷害发生<sup>[39]</sup>。

有研究表明,在低温贮藏过程中,随着冷害的发生,黄瓜果实内 ATP、二磷酸腺苷(ADP)含量以及能荷水平明显下降,一磷酸腺苷(AMP)含量上升,与能量代谢有关的酶活性降低,比如,  $H^+$ -ATPase、 $Ca^{2+}$ -ATPase、琥珀酸脱氢酶(SDH)和线粒体细胞色素 C 氧化酶(CCO)等,细胞膜脂过氧化加剧,膜透性增加,果皮表面出现严重的水渍状斑点<sup>[42]</sup>。使用冷激、外源水杨酸以及两者的结合处理,能提高采后黄瓜的能量代谢水平,减少呼吸电子传递链 ROS 的产生,从而维持细胞膜结构和功能的完整性,进而提高采后黄瓜抗冷性<sup>[43]</sup>。另外,硫化氢( $H_2S$ )处理诱导采后黄瓜耐冷性,减轻冷害症状,与提高能量代谢有关酶活性以及改善能量供应密切相关<sup>[44]</sup>。由此可见,采后黄瓜冷害发生可能与能量供给不足有关。进一步说明,通过调控采后黄瓜的能量代谢水平,促进细胞膜功能与结构的恢复具有减轻采后黄瓜冷害的作用。

## 2.5 激素水平变化

在采后果蔬响应或适应低温胁迫过程中,植物激素起着非常重要的作用。在低温贮藏初期,采后黄瓜中乙烯的产生量保持在较低水平,但在  $2.0\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温环境贮藏 9 d 后,黄瓜果实的乙烯释放量急剧增加<sup>[45]</sup>。采后黄瓜在  $2.5\text{ }^{\circ}\text{C}$  低温环境贮藏 14 d 时,1-氨基环丙烷-1-羧酸(ACC)酶活性和 ACC 氧化酶的活性被明显诱导,乙烯释放量增加<sup>[46]</sup>。表明冷害发生过程中乙烯合成速率明显增加,异常增加的乙烯可能是采后黄瓜对低温胁迫的一种生理反应。采后黄瓜在冷害发生过程中,除乙烯合成增加外,与内源脱落酸(ABA)、赤霉素(GA)、吲哚乙酸(IAA)和茉莉酸(JA)等植物激素合成和信号转导有关的表达被低温处理抑制或强化,说明植物激素水平在冷害过程中也会发生变化<sup>[47]</sup>。低温锻炼或外源 ABA 处理可提高内源 ABA 含量和采后黄瓜耐冷

性,ABA 抑制剂处理采后黄瓜能增加冷害指数<sup>[20]</sup>,说明内源 ABA 含量与采后黄瓜冷害发生密切相关。以上结果表明,采后黄瓜冷害发生可能与内源激素合成不足或激素间平衡失调有关,尚需更多研究进一步阐明不同植物激素在采后黄瓜冷害发生过程中的具体作用及其相互作用。

## 2.6 渗透调节物质含量增加

当植物处于逆境胁迫条件下时,为应对环境胁迫,通常会做出应激反应,来缓解胁迫所造成的伤害<sup>[48]</sup>。其中,诱导渗透调节相关基因的表达,促进渗透物质的合成积累,提高细胞内渗透势,保持胞内外渗透平衡,提高细胞的保水力,是植物应对低温胁迫的重要方式之一<sup>[49]</sup>。将采后黄瓜贮藏在低温条件下时,能促使渗透调节物质的积累,提高细胞内的渗透势,避免细胞因脱水而受到伤害。脯氨酸是植物体内最有效的一种亲和性渗透调节物质,有研究发现,在冷害发生过程中,采后黄瓜中蛋白质的降解速率超过合成速率,总蛋白质含量下降,但游离氨基酸随之积累,尤其是脯氨酸含量明显增加,以保持原生质与环境渗透平衡,防止细胞失水<sup>[50]</sup>。外源  $H_2S$  处理能提高采后黄瓜耐冷性,与其诱导鸟氨酸  $\delta$ -氨基转移酶(OAT)、 $\Delta$ -1-吡咯啉-5-羧酸合成酶(P5CS)活性,抑制脯氨酸脱氢酶(PDH)活性,促进脯氨酸的积累有关<sup>[44]</sup>。随着冷害发生,采后黄瓜果实中的总可溶性固形物和总可溶性蛋白质的含量也随之增加,阶段降温处理通过诱导可溶性固形物和可溶性蛋白质的积累,提高采后黄瓜的抗渗透能力,从而降低冷害发生率<sup>[4]</sup>。多胺是生物体代谢过程中产生的一类低分子量的次生代谢产物,主要包括腐胺(Put)、亚精胺(Spd)和精胺(Spm),具有稳定细胞膜结构的功能<sup>[51]</sup>。受到低温胁迫时,黄瓜果实内源多胺含量增加,能抑制蛋白质的降解,调节细胞渗透平衡<sup>[52]</sup>。这些研究结果表明,低温诱导渗透调节物质的积累,是采后黄瓜适应低温胁迫的一种方式,当渗透调节物质积累的量不足以抵御低温胁迫时,便会产生冷害。

综上所述,低温贮藏会诱导采后黄瓜果实中渗透调节物质的合成积累,以应对低温胁迫,但通常低温诱导的渗透调节物质不足以抵御低温胁迫,仍会发生冷害。因此,采用其他采后处理方式,诱导渗透调节物质的合成积累,可能是增强采后黄瓜耐冷性,减少冷害发生的重要策略。



## 2.7 细胞壁降解

植物细胞壁主要由木质素、纤维素、半纤维素和果胶质等多糖大分子物质组成<sup>[53]</sup>。在纤维素酶(*Cx*)、 $\beta$ -半乳糖苷酶( $\beta$ -*Gal*)、果胶甲酯酶(*PME*)和多聚半乳糖醛酸酶(*PG*)等水解酶的作用下,细胞壁会发生降解,引起果蔬组织软化<sup>[54]</sup>。采后黄瓜在低温条件下贮藏时,可能会增强纤维素酶和果胶酶等细胞壁水解酶的活性<sup>[55]</sup>。采用适当梯度的热水处理能抑制与细胞壁降解相关的酶的活性,减少细胞壁组分的降解,从而降低采后黄瓜果实的冷害发生率<sup>[56]</sup>。沈丽雯等<sup>[57]</sup>认为,利用热激处理调控细胞壁代谢,能提高采后黄瓜耐冷性,减轻冷害症状,推测是因为热激处理抑制了采后黄瓜 *PG*、 $\beta$ -*Gal*、*Cx* 和 *PME* 等细胞壁水解相关酶的活性,延缓了细胞壁组分的降解,从而维持细胞壁结构的完整性。由此可见,采后黄瓜冷害的发生与细胞壁代谢异常有关。因此,施用一些可调节细胞壁降解的物质作为采后处理措施,或许能降低采后黄瓜冷害发生率<sup>[58]</sup>。比如,使用一氧化氮、褪黑素、草酸、氯化钙等处理降低采后果蔬冷害发生率,都和与调控细胞壁降解相关的酶的活性、维持细胞壁完整性有关<sup>[59-62]</sup>。园艺产品采收后,成熟会引发细胞壁降解,采后黄瓜尽管贮藏低温条件下,但成熟进程仍在继续,细胞壁降解主要是由成熟引起的还是冷害造成的,尚需更多研究进一步明确,因为提高采后果蔬耐冷性的许多处理措施同样也能延缓成熟进程<sup>[63-65]</sup>。

## 2.8 果实叶绿体功能损伤

植物叶绿体是进行光合作用的主要器官,采后黄瓜在冷害低温下贮藏时,叶绿体可能发生降解,导致叶绿体功能损伤。本课题组近几年的研究结果表明,采后黄瓜在 5℃ 低温条件下贮藏时,黄瓜果皮的叶绿素荧光强度和 PS II 最大光化学量子产量值会迅速下降<sup>[4,7,20,47]</sup>。冷驯化处理能提高叶绿素荧光强度,延缓黄瓜果皮的叶绿体降解速率,增强采后黄瓜耐冷性<sup>[7,47]</sup>。这些结果说明,伴随着冷害的发生,叶绿体会发生降解,电子的传递活性被抑制,因此叶绿体降解可能与采后黄瓜冷害发生有关。

综上,采后黄瓜在冷害发生过程中会发生许多生理生化变化,除细胞膜变化与冷害的关系较为明确之外,即膜脂相变可能是冷害发生的重要原因,其他生理生化变化与冷害的因果关系还不明了。即这些生理生化变化是由冷害引起的,还是这些变化是

导致冷害发生的原因,目前仍未有确凿的证据确认。

## 3 采后黄瓜冷害防控技术及生物技术在调控采后黄瓜耐冷性中的研究与应用

### 3.1 物理方法

物理方法主要通过调节温度诱导采后黄瓜抗冷性,从而达到控制冷害的目的。据文献报道,气调贮藏、包装、高湿贮藏等物理方法,也可以延缓采后黄瓜冷害的发生。几种主要的物理防控技术及其产生的生理效应总结在表 1 中。

适宜温度的热处理是一种有效控制采后果蔬冷害的采后处理方法。关于热处理控制采后黄瓜冷害,国内外有许多研究报道。热处理主要通过提高细胞膜脂不饱和度,保持细胞膜流动性和完整性,提高组织抗氧化活性,增强精氨酸合成能力,促进内源植物激素(多胺、脱落酸、一氧化氮等)的合成,促进热激蛋白和可溶性渗透物质的积累,从而提高采后黄瓜的耐冷性。比如,将采后黄瓜在 39.4℃ 的热水中处理 24.4 min,能诱导 4.0℃ 冷藏黄瓜的抗冷性,提高活性氧清除酶的活性,保持细胞膜的完整性,抑制膜脂过氧化进程,从而降低冷藏条件下采后黄瓜的冷害发生率<sup>[66]</sup>。但热处理不当也会对采后黄瓜品质产生不利影响,经不适温度或时长的热处理后,采后黄瓜可能会表现出果皮黄化、组织软化、产生异味等不良变化<sup>[67]</sup>。此外,热处理还可与其他物理处理(比如包装、涂膜、短波紫外线照射等)或化学处理(比如使用过氧化氢、茉莉酸甲酯、草酸等)结合使用<sup>[68-70]</sup>,能明显提高冷害防控效果。

将采后黄瓜在低温贮藏前,先在稍高于冷害临界温度的环境中预贮一段时间,这种处理方法被称为冷驯化、冷锻炼或低温预贮<sup>[20,71]</sup>。冷驯化通过诱导采后黄瓜启动自身抗冷防御系统,增强其对低温胁迫的适应能力,达到减轻冷害的目的<sup>[7,20]</sup>。冷驯化处理对采后黄瓜冷害的控制效果与处理温度和时长有关。将采后黄瓜在 10℃ 条件下冷驯化处理 1~3 d,然后再贮藏于 5℃ 条件下,经过 12 d 的低温贮藏,冷驯化处理能有效控制采后黄瓜冷害,且冷驯化处理 3 d 的效果最好<sup>[7]</sup>。本课题组近几年的研究结果表明,冷驯化诱导采后黄瓜耐冷性的作用机制,可能与增强抗氧化能力、诱导耐冷相关基因表达和蛋白质积累、激活 DNA 损伤修复机制、促进苯丙烷类

物质的合成等有关<sup>[7,20,47,72]</sup>。冷驯化处理激活耐冷性调控相关转录因子的活性,进一步强化耐冷相关基因的表达,可能也是诱导采后黄瓜耐冷性的重要分子机制<sup>[5]</sup>。

间歇升温是指通过短期升温处理的方式,中断低温胁迫对采后果蔬的持续性伤害<sup>[73]</sup>。一些研究表明,间歇升温处理降低了采后黄瓜在低温贮藏期间的乙烯释放速率和离子渗出,延缓果实表面凹陷和腐烂发生,提高 CAT 活性<sup>[74]</sup>。同时,间歇升

温处理还能提高冷藏黄瓜的代谢活性,减少冷害过程中有毒物质的积累,缓解有害物质对采后果蔬细胞的毒害作用<sup>[8]</sup>。

此外,冷激处理、短时高压静电场处理、臭氧处理、逐渐(缓慢)降温、高湿贮藏、气调贮藏、包装、可食性涂膜等<sup>[35,42,75-80]</sup>物理措施,也能有效减少采后黄瓜冷害发生。这些处理方法既可单独使用,也可与其他物理或化学方法联合使用,联合使用能取得更好的冷害防控效果。

表 1 几种主要的可控制采后黄瓜冷害的物理方法与生理效应

Table 1 The major physical methods for controlling chilling injury and their physiological effects in harvested cucumber fruit

方法	主要生理效应	文献出处
热处理	提高不饱和脂肪酸与饱和脂肪酸的比例,维持细胞膜流动性,促进可溶性渗透性物质(蛋白质和多糖等)积累,增强精氨酸合成能力,诱导热激蛋白积累。	[10]、[31]、[66]、[69]、[70]
冷驯化	提高抗氧化酶活性,诱导非酶抗氧化物合成和渗透性物质积累,缓解活性氧过量积累而导致的氧化胁迫损伤,激活 DNA 损伤修复机制,诱导耐冷相关基因表达,调节苯丙烷类物质的合成。	[7]、[17]、[20]、[47]、[71]、[72]
间歇升温	抑制乙烯生成和释放,提高代谢活性和抗氧化活性,降低有毒物质对细胞造成毒害作用。	[73]、[74]
逐渐降温	维持细胞膜完整性,诱导渗透性物质积累,激活抗氧化系统,抑制膜脂过氧化。	[4]、[77]
高湿贮藏	保持细胞膜完整性和流动性,维持细胞活性氧代谢平衡。	[76]
包装和可食性涂膜	提高保水能力,抑制呼吸作用和组织软化。	[78]、[79]

### 3.2 化学方法

化学方法是通过施用一定剂量的化学药剂,诱导采后黄瓜的耐冷性,减少冷害发生。可控制采后黄瓜冷害的化学药剂总体可分为 2 类:植物激素类和化学诱抗剂类。几种主要的化学防控方法及其产生的生理效应见表 2。

植物激素与植物对逆境胁迫的抗性密切相关,生物学家据此探究了不同植物激素对采后黄瓜冷害的防控作用。外源施用多种植物激素,可有效诱导采后黄瓜产生抗冷性,从而减少冷害发生。已报道的可抑制采后黄瓜冷害的植物激素有:水杨酸、油菜素内酯、脱落酸、茉莉酸甲酯、褪黑素等<sup>[20,81-83]</sup>。此外,一些类激素化合物也可诱导采后黄瓜的耐冷性,比如 6-苄基氨基嘌呤<sup>[84]</sup>、一氧化氮<sup>[85-86]</sup>、过氧化氢<sup>[87]</sup>、H<sub>2</sub>S<sup>[88]</sup>等。植物激素对采后黄瓜耐冷性的诱导作用,主要是通过激活抗氧化防御系统,影响次生代谢物含量,调节细胞膜脂和细胞壁代谢,诱导自身抗冷防御系统,从而提高抗冷性。另外,植物激素还是重要的信号物质,可通过信号转导途径调节耐冷相关基因的表达,诱导采后黄瓜耐冷性。外源植物激素处理采后黄瓜,还会影响内源植物激素的含量

和种类,且植物激素间还存在复杂的相互作用,协同调控耐冷反应<sup>[72]</sup>。

钙离子是植物生长发育的必须营养元素,在植物适应逆境胁迫的过程中,钙离子可能以“第二信使”的角色,通过钙调蛋白发挥作用<sup>[89]</sup>。外源钙离子处理能缓解采后黄瓜冷害,其可能通过调节细胞壁降解酶和抗氧化系统酶的活性,保持细胞膜完整性<sup>[90]</sup>。此外,一些研究指出,外源施用  $\gamma$ -氨基丁酸、L-精氨酸、精胺等化学物质,也可有效抑制采后黄瓜冷害<sup>[91-93]</sup>。相比于植物激素,化学诱抗剂的使用成本要低很多,在采后黄瓜产业中应用的可行性更高。但随着消费者对食品安全关注度的提高,使用化学诱抗剂时,应兼顾考虑食品安全性和冷害防控效果。

### 3.3 生物技术在调控采后黄瓜耐冷性中的研究与应用

通过生物技术将耐冷相关基因导入黄瓜中,培育耐冷性强的转基因黄瓜新品种,提高采后黄瓜的基础抗冷性,可能是减少采后黄瓜冷害的关键途径。随着基因工程技术的改进,以及对采后黄瓜耐冷性分子调控的深入研究,目前已经可以利用生物技术减少采后黄瓜冷害,从而延长采后黄瓜的冷藏保鲜期。

表 2 几种主要的可控制采后黄瓜冷害的化学方法与其产生的生理效应

Table 2 The major chemical methods for controlling chilling injury and their physiological effects in harvested cucumber fruit

类别	化学药剂	主要生理效应	文献出处
植物激素类	茉莉酸及茉莉酸甲酯	调节果实的抗氧化防御系统相关酶的活性,影响次生代谢产物合成和代谢,影响脯氨酸、多胺和 $\gamma$ -氨基丁酸的含量,维持细胞膜渗透平衡,参与细胞内信号转导,诱导耐冷相关基因表达。	[81]、[82]
	水杨酸及水杨酸甲酯	诱导脯氨酸、多胺积累,增加胞内游离 $\text{Ca}^{2+}$ 含量,调节细胞能量代谢,增强抗坏血酸-谷胱甘肽循环,诱导热激蛋白合成积累。	[8]、[43]
	褪黑素	抑制呼吸速率和乙烯释放,保持细胞器结构完整性,增强对活性氧的清除能力,诱导内源 $\gamma$ -氨基丁酸合成,促进次生代谢产物的合成积累。	[52]、[79]、[83]
化学诱抗剂类	过氧化氢	作为多种植物激素信号的中间信号,激活抗氧化防御系统。	[69]
	一氧化氮	激活抗氧化防御系统,缓解膜脂过氧化,调节植物体内激素平衡,参与细胞内信号转导。	[85]
	硫化氢	可能作为一种气体信号分子,提高抗氧化酶活性,促进多胺合成和脯氨酸积累。	[44]、[88]
	6-苄基氨基嘌呤	调节抗氧化系统和能量代谢状态。	[84]
	钙处理	增加胞内游离 $\text{Ca}^{2+}$ 含量,调节细胞壁降解酶和抗氧化系统酶的活性,保持细胞膜完整性。	[90]
	$\gamma$ -氨基丁酸、L-精氨酸和精胺	促进脯氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、L-精氨酸和精胺的积累,诱导内源 $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)的生物合成,增强抗氧化防御酶活性,维持细胞膜和细胞壁代谢平衡,调节能量代谢。	[91]、[92]、[93]

在模式植物(比如拟南芥)耐冷性的研究中,发现许多基因与植物耐冷性有关。这些耐冷基因主要包括:抗冻蛋白基因、冷诱导基因、抗氧化酶编码基因、乙烯合成及信号转导相关基因、CBF(C-repeat binding transcription factor)途径基因、热激蛋白等其他功能蛋白基因以及转录因子、脯氨酸、甜菜碱、小分子糖类等渗透物质合成相关酶编码基因等<sup>[49, 94-99]</sup>。在植物中过表达上述基因,均能提高植物抗冷性,尤其是转入低温诱导转录因子基因,能使植物无需冷驯化就具有耐冷特征,这使得培育耐冷性强的黄瓜新品种成为可能<sup>[8]</sup>。但在黄瓜中,有关耐冷基因挖掘及功能鉴定的研究还不够深入,相关研究也较少,特别是在与采后黄瓜耐冷性密切相关的基因方面的研究非常少。与黄瓜耐冷性有关的基因及潜在功能总结见表3。

低温处理诱导黄瓜一氧化氮合酶基因1(*NOA1*)的表达,拟南芥 *noa1* 突变体中过表达 *Cs-NOA1*,可部分修复拟南芥 *noa1* 突变导致的耐冷性降低,且能诱导可溶性糖和淀粉的积累,上调 *CBF* 基因的表达<sup>[100]</sup>。在黄瓜中过表达拟南芥 *CBF1* 基因,提高了转基因黄瓜的耐冷性<sup>[101]</sup>。*ICE1* 是调控 *CBF3* 基因表达的正调控因子,过表达 *CsICE1* 的转基因黄瓜耐冷性显著强于野生型,且过表达 *CsICE1* 显著上调了下游耐冷相关基因的表达<sup>[102]</sup>。在烟草中过表达黄瓜抗坏血酸氧化酶(*AOX*)编码基因,能显著提高 *AOX* 活性,降低还原态抗坏血酸含量和二

氧化碳同化速率<sup>[103]</sup>。棉子糖系列寡糖(RFOs)是重要的渗透调节物质,肌醇半乳糖苷合成酶(*GolS*)在调控 RFOs 合成过程中发挥关键作用<sup>[104]</sup>。黄瓜基因组中共含有4个 *GolS* 基因。在多种非生物胁迫处理后,4个黄瓜 *GolS* 基因在叶片中的表达显著上调,其中 *GolS1* 表达上调能在低温胁迫条件下促进同化物在韧皮部的装载,提高叶片光合作用效率,促进 RFOs 积累<sup>[105]</sup>。低温、干旱胁迫处理诱导黄瓜 *GolS4* 在叶片中的表达,过表达 *GolS4* 可提高 RFOs 含量,降低 ROS 含量;相反,沉默 *GolS4* 表达的转基因黄瓜在干旱胁迫处理后,更容易萎蔫<sup>[106]</sup>。这些研究结果表明,通过生物技术手段培育转基因黄瓜,是提高黄瓜基础耐冷性的重要途径。

目前,在采后黄瓜耐冷性的研究中,发现一些基因可能与黄瓜果实抗冷性密切相关。黄瓜 *CsCAT3* 是一个过氧化氢酶编码基因,该基因表达与茉莉酸甲酯和一氧化氮诱导的采后黄瓜耐冷性密切相关,在拟南芥中过表达 *CsCAT3*,能提高拟南芥对活性氧的清除能力<sup>[21]</sup>。冷驯化诱导的采后黄瓜耐冷性也可能与 *CsCAT3* 表达有关<sup>[6]</sup>。在黄瓜果实中,富甘氨酸 RNA 结合蛋白3(*GRP3*)基因和 DNA 损伤诱导蛋白1(*DDI1*)基因的表达可被低温处理所诱导,在拟南芥中过表达 *CsGRP3* 和 *CsDDI1*,能显著提高转基因拟南芥抗冷性,并增强对活性氧的清除活性<sup>[20, 72-73]</sup>。进一步研究发现,低温诱导的转录因子 *CsMYB62*,可直接与 *CsGRP3* 启动子结合,激活其表



达,表明 CsMYB62 可能是调控采后黄瓜耐冷性的重要转录调节因子<sup>[5,107]</sup>。陈珊等<sup>[108]</sup>分析了黄瓜 *HSF* 家族基因响应冷驯化处理的表达模式,发现 *CsHSF7*、*CsHSF11* 基因响应低温胁迫,并与黄瓜果实耐冷性有关,且 *CsHSF7* 转录因子具有转录激活活性。低温处理后,黄瓜 *CsERF17* 的表达明显上调,*CsERF17* 也具有转录激活活性,可激活 *CsDGK1*、*CsPLDα1*、*CsPLDβ1*、*CsFAD2*、*CsSAD1* 和 *CsSPK1/2* 等膜脂合成代谢基因的表达<sup>[109]</sup>。这些结果表明,*CsCAT3*、*CsMYB62*、*CsGRP3*、*CsDDI1*、*CsHSF7* 及 *CsERF17* 等基因的表达与采后黄瓜耐冷性密切相关。

同一基因在不同物种和同一物种不同器官中的功能存在较大差异。*COLD1* 是一个 G 蛋白偶联受

体蛋白,与植物耐冷性密切相关。在水稻中,低温处理诱导 *COLD1* 基因的表达,且 *COLD1* 蛋白能与 Gα 亚基 RGA 相互作用,激活 Ca<sup>2+</sup> 通道和 G 蛋白的三磷酸尿苷酶活性,触发下游耐冷防御机制<sup>[110]</sup>。在玉米、高粱和斑茅等单子叶植物中也观察到类似现象,即低温处理诱导 *COLD1* 基因表达<sup>[111-112]</sup>。本课题组近期的研究表明,在黄瓜幼苗中,低温处理不会影响 *COLD1* 基因的表达,却显著抑制其在果实中的表达,暗示着黄瓜 *COLD1* 表达可能与黄瓜耐冷性负相关<sup>[113]</sup>。由此可见,同一基因的功能具有明显的物种和组织特异性,因此,未来更应重点鉴定耐冷相关基因在采后黄瓜耐冷性中的作用,以期为使用生物技术培育黄瓜新种质提供核心基因资源。

表 3 与黄瓜耐冷性密切相关的基因及对应功能

Table 3 Genes closely related to the chilling tolerance in cucumber and their functions

基因	功能	文献出处
<i>NOA1</i>	调控内源一氧化氮合成,增强抗氧化酶活性。	[100]
<i>CBF1</i>	直接调控 CBF 转录因子下游靶基因和下游低温响应基因( <i>COR</i> )的表达。	[101]
<i>ICE1</i>	激活 CBF 途径,直接调控 <i>CBF</i> 基因的表达。	[102]
<i>AOX</i>	调节抗坏血酸和谷胱甘肽氧化还原状态,调节二氧化碳同化速率。	[103]
<i>GolS1/GolS4</i>	促进同化物在韧皮部的装载,调控棉子糖系列寡糖合成,提高细胞渗透、抗氧化能力。	[105]、[106]
<i>CAT3</i>	提高活性氧清除能力。	[6]、[21]
<i>GRP3</i>	转录后调控,增强抗氧化酶活性。	[20]
<i>DDI1</i>	DNA 损伤修复,增强抗氧化酶活性。	[72]
<i>MYB62</i>	直接调控 <i>GRP3</i> 表达,可能还调控其他耐冷相关基因的表达。	[5]、[107]
<i>HSF7</i>	调控热激蛋白的表达和积累。	[108]
<i>ERF17</i>	激活膜脂合成代谢相关基因的表达,调控膜脂合成代谢。	[109]

## 4 展 望

黄瓜是中国重要的果菜类蔬菜,在采后贮藏和物流运输过程中,常因温度控制不当而引起冷害,造成较严重的经济损失。因此,研发采后黄瓜冷害防控技术,对于保持采后黄瓜贮藏品质具有重要意义。其中,阐明采后黄瓜冷害发生机制,是研发采后黄瓜抗冷保鲜新技术的基础。现有的一些理论虽能在一定程度上解释采后黄瓜冷害发生机理,但这些理论尚缺乏准确数据的支持。比如自由基伤害学说,一般认为活性氧自由基会对生物大分子造成氧化损伤,损伤后的生物大分子具体形态是怎样的? 冷害

发生过程中,具体是哪些活性氧自由基被诱导生成? 考虑到冷害是由低温胁迫导致的,后续研究应该重点探究采后黄瓜是如何感知低温信号,并将低温信号向下游传递,最终对低温作出抗性反应的。这些关键问题的探明,有助于深入揭示采后黄瓜冷害的发生机制。

现有的可控制采后黄瓜冷害的处理方法主要包括物理方法、化学方法和生物技术法。物理方法主要有热处理、冷驯化、逐渐降温、高湿贮藏、包装等,化学方法主要是使用植物激素或化学诱抗剂诱导采后黄瓜产生抗冷性,从而减少冷害发生。从目前的研究情况来看,单一防控技术虽能降低采后黄瓜冷

害发生,但整体防控效果还不尽如人意,且多数研究只侧重在试验条件下的冷害防控效果,对应用效果和应用成本的考虑还比较少。后续研究可重点探讨物理方法与化学方法相结合对采后黄瓜冷害的影响,以提高冷害防控的可靠性,降低应用成本。考虑到这些处理技术的实际应用效果还受到原料品质、贮运条件、食品安全性以及保鲜成本等多种因素的制约,因此在后续的研发中,应兼顾考虑冷害防控技术的可靠性、安全性、通用性、实用性等要求,提高冷害防控效果,促进采后黄瓜产业可持续发展。

尽管一些采后处理可抑制采后黄瓜冷害的发生,但采后处理通常需要使用专门的处理设备或药剂,这会明显增加生产成本,不利于采后黄瓜产业的可持续发展。通过挖掘具有重要应用价值的耐冷基因,并通过分子育种的方法,培育抗冷黄瓜新品种,再结合采后处理技术,是减少甚至避免采后冷害的重要途径。近几年对黄瓜耐冷性的研究中,初步发现许多基因具有潜在的应用价值。但在离体的采后黄瓜中,耐冷相关基因的功能,是否与仍处于生长发育阶段的黄瓜类似,目前还未进行系统比较。因此,深度挖掘耐冷相关基因资源,尤其是与采后黄瓜果实耐冷性密切相关的基因,并利用生物技术培育冷敏性低的黄瓜新品种,是未来一段时间的重点研究方向。比较转录组学或蛋白质组学结合生物信息学的研究方法,可能是快速、高效筛选耐冷相关基因的重要研究手段。另外,还可运用多组学联合分析的方法,从遗传、代谢和转录调控等角度,解析采后黄瓜冷害的发生机制。最近几年,以 CRISPR-Cas9 系统为代表的基因编辑技术得到快速发展,并不断成熟完善,已有在黄瓜中成功编辑特定基因的研究报道<sup>[114]</sup>,未来可利用该技术研究特定基因的功能,以降低消费者对转基因技术的顾虑。

## 参考文献:

- [1] WALTERS T W. Historical overview on domesticated plants in China with special emphasis on the Cucurbitaceae[J]. *Economic Botany*, 1989, 43(3):297-313.
- [2] 梁肇均,陈 林,王 瑞,等. 广东黄瓜育种研究进展[J]. *广东农业科学*, 2021, 48(9):22-31.
- [3] 曹齐卫,杜连达,杨宗辉,等. 黄瓜耐盐种质资源的筛选与评价[J]. *核农学报*, 2022, 36(5):865-875.
- [4] 王 斌,朱世江. 阶段降温对冷藏黄瓜耐冷性的诱导作用[J]. *江苏农业学报*, 2020, 36(4):1028-1035.
- [5] 王 斌,武春爽,汤冰琳,等. 黄瓜果实 *CsMYB62* 克隆及其对 *CsGR-RBP3* 表达的调控[J]. *核农学报*, 2022, 36(5):907-917.
- [6] 王 斌,武春爽,何金明,等. *CsCAT3* 克隆与其在冷驯化诱导采后黄瓜耐冷性中的作用初探[J]. *核农学报*, 2021, 35(10):2267-2276.
- [7] WANG B, ZHU S J. Pre-storage cold acclimation maintained quality of cold-stored cucumber through differentially and orderly activating ROS scavengers[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2017, 129:1-8.
- [8] 张丹丹,屈红霞,段学武,等. 热带果蔬采后冷害研究进展[J]. *热带作物学报*, 2020, 41(10):2062-2079.
- [9] 千春录,朱 芹,高 姗,等. 外源褪黑素处理对采后水蜜桃冷藏品质及冷害发生的影响[J]. *江苏农业学报*, 2020, 36(3):702-708.
- [10] 许婷婷,张婷婷,姚文思,等. 热处理对低温胁迫下黄瓜活性氧代谢和膜脂组分的影响[J]. *核农学报*, 2020, 34(1):85-93.
- [11] VALENZUELA J L, MANZANO S, PALMA F, et al. Oxidative stress associated with chilling injury in immature fruit: postharvest technological and biotechnological solutions[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2017, 18(7):1467.
- [12] TATSUMI Y, MAEDA K, MURATA T. Morphological changes in cucumber fruit surfaces associated with chilling injury[J]. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 1987, 56(2):187-192.
- [13] 裴倩如,朱本忠,田慧琴,等. 冷激处理对黄瓜低温贮藏中冷害的影响[J]. *北方园艺*, 2014, 4(1):127-130.
- [14] 吴 燕,陈 杰,高青海. 不同基因型黄瓜幼苗对低温胁迫恢复过程的生理响应[J]. *分子植物育种*, 2018, 16(9):2948-2954.
- [15] 李恒松,朱文莹,彭佳林,等. 黄瓜耐冷性遗传分析与连锁标记筛选[J]. *上海交通大学学报(农业科学版)*, 2015, 33(1):14-18.
- [16] 千春录. 黄瓜果实成熟度与耐冷性的关系及其生理机制研究[D]. 杭州:浙江大学, 2012.
- [17] WANG B, SHEN F, ZHU S J. Proteomic analysis of differentially accumulated proteins in cucumber (*Cucumis sativus*) fruit peel in response to pre-storage cold acclimation[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 8:2167.
- [18] LYONS J M. Chilling injury in plants[J]. *Annual Review of Plant Physiology*, 1973, 24: 445-466.
- [19] 章 艳,张长峰. 采后果蔬冷害发生机理及控制研究进展[J]. *保鲜与加工*, 2012, 12(4):40-46.
- [20] WANG B, WANG G, SHEN F, et al. A glycine-rich RNA-binding protein, CsGR-RBP3, is involved in defense responses against cold stress in harvested cucumber (*Cucumis sativus* L.) fruit[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2018, 9:540.
- [21] 刘云芬. MeJA 和 NO 诱导冷藏黄瓜抗冷性与抗氧化防御系统的关系[D]. 广州:华南农业大学, 2016.
- [22] 陈健华,张 敏,车贞花,等. 不同贮藏温度及时间对黄瓜果实冷害发生的影响[J]. *食品工业科技*, 2012, 33(9):394-397.

- [23] SONG C B, WU M B, ZHOU Y, et al. NAC-mediated membrane lipid remodeling negatively regulates fruit cold tolerance[J]. Horticulture Research, 2022, 9:39.
- [24] SALAZAR-SALAS N Y, VALENZUELA-PONCE L, VEGA-GARCIA M O, et al. Protein changes associated with chilling tolerance in tomato fruit with hot water pre-treatment[J]. Postharvest Biology and Technology, 2017, 134:22-30.
- [25] GABRIELA L A, GERARDO L J, ODIN V M, et al. Antioxidant enzymatic changes in bell pepper fruit associated with chilling injury tolerance induced by hot water[J]. Journal of Food Biochemistry, 2021, 45(11):e13966.
- [26] ZHAO Y Y, SONG C C, BRUMMELL D A, et al. Salicylic acid treatment mitigates chilling injury in peach fruit by regulation of sucrose metabolism and soluble sugar content[J]. Food Chemistry, 2021, 358(2):129867.
- [27] ZHANG M X, SHI Y N, LIU Z M, et al. An EjbHLH14-EjHB1-EjPRX12 module is involved in methyl jasmonate alleviation of chilling-induced lignin deposition in loquat fruit[J]. Journal of Experimental Botany, 2021, 73(5):1668-1682.
- [28] ZHANG T, CHE F B, ZHANG H, et al. Effect of nitric oxide treatment on chilling injury, antioxidant enzymes and expression of the *CmCBF1* and *CmCBF3* genes in cold-stored Hami melon (*Cucumis melo* L.) fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2017, 127:88-98.
- [29] CABRERA R M, SALTVEIT M E. Physiological response to chilling temperatures of intermittently warmed cucumber fruit[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1990, 115(2):256-261.
- [30] CAO S F, YANG Z F, CAI Y T, et al. Fatty acid composition and antioxidant system in relation to susceptibility of loquat fruit to chilling injury[J]. Food Chemistry, 2011, 127(4):1777-1783.
- [31] MAO L C, PANG H Q, WANG G Z, et al. Phospholipase D and lipoxygenase activity of cucumber fruit in response to chilling stress[J]. Postharvest Biology and Technology, 2007, 44(1):42-47.
- [32] 胡均如, 张敏. 热处理提高采后果蔬低温贮藏期间活性氧清除能力的机制[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(12):269-276.
- [33] LI T T, YUN Z, ZHANG D D, et al. Proteomic analysis of differentially expressed proteins involved in ethylene-induced chilling tolerance in harvested banana fruit[J]. Frontiers in Plant Science, 2015, 6:845.
- [34] MARTINEZ C, VALENZUELA J L, JAMILENA M. Genetic and pre- and postharvest factors influencing the content of antioxidants in cucurbit crops[J]. Antioxidants, 2021, 10(6):894.
- [35] RU L, JIANG L F, WILLIS R B H, et al. Chitosan oligosaccharides induced chilling resistance in cucumber fruit and associated stimulation of antioxidant and *HSP* gene expression[J]. Scientia Horticulturae, 2020, 264:109187.
- [36] SAAD M M. Effect of some postharvest treatments on reducing chilling injury of cucumber fruits during cold storage[J]. Annals of Agricultural Science, Moshthohor, 2019, 57(2):455-468.
- [37] PARKIN K L, KUO S J. Chilling-induced lipid degradation in cucumber (*Cucumis sativa* L. cv Hybrid C) fruit[J]. Plant Physiology, 1989, 90(3):1049-1056.
- [38] 李朋超, 孟陆丽, 程谦伟, 等. 不同温度对香蕉果实丙二醛、呼吸速率和能量代谢影响[J]. 食品工业, 2021, 42(9):152-157.
- [39] 袁梦麒, 潘永贵. 采后果蔬冷害与能量关系研究进展[J]. 热带农业科学, 2015, 35(8):92-97.
- [40] HE X M, LI L, SUN J, et al. Adenylate quantitative method analyzing energy change in postharvest banana (*Musa acuminata* L.) fruits stored at different temperatures[J]. Scientia Horticulturae, 2017, 219:118-124.
- [41] MAEDA H A, FERNIE A R. Evolutionary history of plant metabolism[J]. Annual Review of Plant Biology, 2021, 72:185-216.
- [42] 姜玉, 张苗, 汤静, 等. 冷激结合水杨酸处理对黄瓜果实冷害及能量和脯氨酸代谢的影响[J]. 核农学报, 2021, 35(1):128-137.
- [43] 姜玉. 冷激结合水杨酸处理减轻黄瓜果实冷害及机理研究[D]. 南京:南京农业大学, 2020.
- [44] WANG J D, ZHAO Y Q, MA Z Q, et al. Hydrogen sulfide treatment alleviates chilling injury in cucumber fruit by regulating antioxidant capacity, energy metabolism and proline metabolism[J]. Foods, 2022, 11(18):2749.
- [45] 彭燕. 采后黄瓜对机械损伤和低温胁迫的响应机制研究[D]. 杭州:浙江大学, 2012.
- [46] MCCOLLUM T G, DOOSTDAR H, MAYER R T, et al. Immersion of cucumber fruit in heated water alters chilling-induced physiological changes[J]. Postharvest Biology and Technology, 1995, 6(1):55-64.
- [47] WANG B, WU C S, WANG G, et al. Transcriptomic analysis reveals a role of phenylpropanoid pathway in the enhancement of chilling tolerance by pre-storage cold acclimation in cucumber fruit[J]. Scientia Horticulturae, 2021, 288:110282.
- [48] 李倩, 沈春生, 林启昉, 等. 采后香蕉果实冷害发生与控制技术研究进展[J]. 果树学报, 2021, 38(5):817-827.
- [49] GUO X Y, LIU D F, CHONG K. Cold signaling in plants: insights into mechanisms and regulation[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2018, 60(9):745-756.
- [50] 张海英, 王有年, 韩涛, 等. 外源甜菜碱对黄瓜果实冷藏期间延缓冷害的影响[J]. 中国农业科学, 2008, 41(8):2407-2412.
- [51] JAHAN M S, SHU S, WANG Y, et al. Melatonin alleviates heat-induced damage of tomato seedlings by balancing redox homeostasis and modulating polyamine and nitric oxide biosynthesis[J]. BMC Plant Biology, 2019, 19(1):414.
- [52] MADEBO M P, LUO S M, WANG L, et al. Melatonin treatment induces chilling tolerance by regulating the contents of polyamine,  $\gamma$ -aminobutyric acid, and proline in cucumber fruit[J]. Journal of Integrative Agriculture, 2021, 20(11):3060-3074.
- [53] JAMET E, DUNAND C. Plant cell wall proteins and development



- [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(8): 2731.
- [54] 张淑杰,胡婷婷,刘红开,等. 果蔬采后硬度变化研究进展[J]. 保鲜与加工, 2018, 18(4):141-146.
- [55] 沈丽雯. 热激处理对黄瓜品质影响及诱导抗冷性机理的研究[D]. 雅安:四川农业大学, 2015.
- [56] 李佳乐,张 敏,胡均如,等. 梯度热水处理减轻贮后黄瓜冷害与细胞壁代谢的关系[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(3): 233-240.
- [57] 沈丽雯,刘 娟,董红敏,等. 热激处理减轻黄瓜冷害与细胞壁代谢的关系[J]. 食品工业科技, 2015, 36(23): 329-332.
- [58] MERCER M D, SMITTLE D A. Storage atmospheres influence chilling injury and chilling injury-induced changes in cell wall polysaccharides of cucumber[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science, 1992, 117(6):930-933.
- [59] CAO S, BIAN K, SHI L, et al. Role of melatonin in cell-wall disassembly and chilling tolerance in cold-stored peach fruit [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2018, 66(22):5663-5670.
- [60] ZHAO Y Y, TANG J X, SONG C C, et al. Nitric oxide alleviates chilling injury by regulating the metabolism of lipid and cell wall in cold-storage peach fruit [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2021, 169:63-69.
- [61] 李佩艳,尹 飞,党东阳,等. 草酸处理对桂七芒果冷害及细胞壁代谢的影响[J]. 核农学报, 2020, 34(12):2742-2748.
- [62] 杨文慧,黄玉咪,徐 超,等. 氯化钙和草酸处理减轻香蕉果实贮藏冷害[J]. 中国南方果树, 2020, 49(5):78-82.
- [63] MAZUMDER M N N, MISRAN A, DING P, et al. Effect of harvesting stages and calcium chloride application on postharvest quality of tomato fruits[J]. Coatings, 2021, 11(12):1445.
- [64] YAN R, XU Q H, DONG J X, et al. Effects of exogenous melatonin on ripening and decay incidence in plums (*Prunus salicina* L. cv. Taoxingli) during storage at room temperature [J]. Scientia Horticulturae, 2022, 292:110655.
- [65] EUM H L, KIM H B, SANG B C, et al. Regulation of ethylene biosynthesis by nitric oxide in tomato (*Solanum lycopersicum* L.) fruit harvested at different ripening stages[J]. European Food Research and Technology, 2009, 228(3):331-338.
- [66] 赵昱瑄,张 敏,姜 雪,等. 短时热处理对低温逆境下黄瓜不同部位的冷害及活性氧代谢影响[J]. 食品与发酵工业, 2020, 46(7):180-187.
- [67] AGHDAM M S, BODDOK S. Postharvest heat treatment for mitigation of chilling injury in fruits and vegetables[J]. Food and Bioprocess Technology, 2014, 7:37-53.
- [68] 郝佳诗,王 愈,尹建云,等. 短波紫外线结合热处理对黄瓜冷害及抗氧化代谢的影响[J]. 浙江农林大学学报, 2018, 35(3):476-482.
- [69] 郑鄢燕,代晓霞,生吉萍,等. 热处理与内源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对黄瓜抗冷性和抗氧化酶活性的影响[J]. 食品科学, 2012, 33(22):314-318.
- [70] 赵昱瑄,张 敏,姜 雪,等. 不同贮藏温度结合热处理对黄瓜品质及生理生化指标的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2020, 47(6):1023-1030.
- [71] 史君彦,王云香,周念念,等. 低温预贮对黄瓜耐冷性的影响[J]. 食品工业, 2019, 40(12):5-8.
- [72] WANG B, WANG G, ZHU S J. DNA damage inducible protein 1 is involved in cold adaption of harvested cucumber fruit[J]. Frontiers in Plant Science, 2020, 10:1723.
- [73] TOMOHISA H. Effects of pre- and intermittent warming of cucumber fruits on chilling injury, titratable acidity, sugar and ascorbic acid contents[J]. Science Reports of Faculty of Agriculture Kobe University, 1987, 17(2):175-180.
- [74] ZHANG N, YANG Z, CHEN A G, et al. Effects of intermittent heat treatment on sensory quality and antioxidant enzymes of cucumber[J]. Scientia Horticulturae, 2014, 170:39-44.
- [75] 丹 阳,李里特,张 刚. 短时高压静电场处理对黄瓜采后生理的影响[J]. 食品科学, 2005, 26(10):240-242.
- [76] 贾雯茹. 高湿贮藏减轻黄瓜果实冷害的作用研究[D]. 南京:南京农业大学, 2019.
- [77] 代 慧,何晓梅,段志蓉,等. 泡沫箱包装的逐渐降温功能对黄瓜冷害的抑制[J]. 食品与发酵工业, 2021, 47(18):77-85.
- [78] KAHRAMANOLU B, USANMAZ S. Improving postharvest storage quality of cucumber fruit by modified atmosphere packaging and biomaterials[J]. Hortscience, 2019, 54(11):2005-2014.
- [79] 王 锋,赵旗峰,张晓萍,等. 壳聚糖-纳米 ZnO-褪黑素复合涂膜对黄瓜冷害的影响及其机制研究[J]. 食品与发酵工业, 2022, 48(9):201-207.
- [80] 梁芸志,季丽丽,陈存坤,等. 臭氧处理对采后黄瓜贮藏品质的影响[J]. 食品安全质量检测学报, 2017, 8(5):1559-1564.
- [81] LIU Y F, YANG X X, ZHU S J, et al. Postharvest application of MeJA and NO reduced chilling injury in cucumber (*Cucumis sativus*) through inhibition of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> accumulation[J]. Postharvest Biology and Technology, 2016, 119:77-83.
- [82] 齐海萍,刘程惠,田密霞,等. 茉莉酸甲酯在采后果蔬品质控制中的应用[J]. 食品安全质量检测学报, 2015, 6(7):2415-2419.
- [83] 辛丹丹,司金金,张若曦,等. 外源褪黑素处理对黄瓜采后冷藏期抗冷性的影响[J]. 西北农林科技大学学报, 2018, 46(9): 108-114.
- [84] CHEN B X, YANG H Q. 6-Benzylaminopurine alleviates chilling injury of postharvest cucumber fruit through modulating antioxidant system and energy status[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013, 93(8):1915-1921.
- [85] YANG H Q, WU F H, CHENG J Y. Reduced chilling injury in cucumber by nitric oxide and the antioxidant response[J]. Food Chemistry, 2011, 127(3):1237-1242.
- [86] 王云香,王 清,高丽朴,等. 外源 NO 处理对黄瓜采后生理特性的影响[J]. 北方园艺, 2018(18):109-113.
- [87] 赵习娟,李进才. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理对采后黄瓜抗冷性的影响[J]. 天津农业科学, 2011, 17(4):1-4.

- [88] 崔文玉,李 昶,许新月,等.  $H_2S$  的信号分子作用及其对果蔬采后生理代谢的调控研究进展[J]. 保鲜与加工, 2020, 20(4):226-229.
- [89] 张 敏,解 越. 采后果蔬低温贮藏冷害研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2016, 35(1):1-11.
- [90] 魏宝东,赵银玲,白 冰,等. 采前喷钙对黄瓜采后冷藏品质的影响[J]. 食品科学, 2015, 36(18):225-230.
- [91] HASAN M U, REHMAN R, MALIK A U, et al. Pre-storage application of L-arginine alleviates chilling injury and maintains post-harvest quality of cucumber (*Cucumis sativus*) [J]. Journal of Horticultural Science and Technology, 2019, 2(4):102-108.
- [92] 李昶,郑秋丽,徐冬颖,等. 外源精胺处理对采后黄瓜品质的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(14):248-251.
- [93] MALEKZADEH P, KHOSRAVI-NEJAD F, HATAMNIA A A, et al. Impact of postharvest exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid treatment on cucumber fruit in response to chilling tolerance[J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2017, 23(4):827-836.
- [94] DING Y L, SHI Y T, YANG S H. Molecular regulation of plant responses to environmental temperatures [J]. Molecular Plant, 2020, 13(4):544-564.
- [95] ZHENG S, SU M, WANG L, et al. Small signaling molecules in plant response to cold stress [J]. Journal of Plant Physiology, 2021, 266:153534.
- [96] YUAN P, YANG T, POOVAIAH B W. Calcium signaling-mediated plant response to cold stress[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(12):3896.
- [97] DIAO P F, CHEN C, ZHANG Y Z, et al. The role of NAC transcription factor in plant cold response[J]. Plant Signaling and Behavior, 2020, 15(9):1785668.
- [98] SHI Y T. Molecular regulation of CBF signaling in cold acclimation [J]. Trends in Plant Science, 2018, 23(7):623-637.
- [99] BAILLO E H, KIMOTHOR R N, ZHANG Z, et al. Transcription factors associated with abiotic and biotic stress tolerance and their potential for crops improvement[J]. Genes, 2019, 10(10):771.
- [100] LIU X W, LIU B, XUE S D, et al. Cucumber (*Cucumis sativus* L.) nitric oxide synthase associated gene1 (*CsNOA1*) plays a role in chilling stress[J]. Frontiers in Plant Science, 2016, 7:1652.
- [101] GUPTA N, RATHORE M, GOYARY D, et al. Marker-free transgenic cucumber expressing *Arabidopsis CBF1* gene confers chilling stress tolerance[J]. Biologia Plantarum, 2012, 56(1):57-63.
- [102] LIU L Y, DUAN L S, ZHANG J C, et al. Cucumber (*Cucumis sativus* L.) over-expressing cold-induced transcriptome regulator *ICE1* exhibits changed morphological characters and enhances chilling tolerance[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 124(1):29-33.
- [103] SANMARTIN M, DROGOUDI P D, LYONS T, et al. Over-expression of ascorbate oxidase in the apoplast of transgenic tobacco results in altered ascorbate and glutathione redox states and increased sensitivity to ozone[J]. Planta, 2003, 216:918-928.
- [104] DE KONING R, KIEKENS R, TOILI M E M, et al. Identification and expression analysis of the genes involved in the raffinose family oligosaccharides pathway of *Phaseolus vulgaris* and *Glycine max* [J]. Plants, 2021, 10(7):1465.
- [105] DAI H B, ZHU Z H, WANG Z G, et al. Galactinol synthase 1 improves cucumber performance under cold stress by enhancing assimilate translocation [J]. Horticulture Research, 2022, 9:uhab063.
- [106] MA S, LYU J G, LI X, et al. Galactinol synthase gene 4 (*CsGolS4*) increases cold and drought tolerance in *Cucumis sativus* L. by inducing RFO accumulation and ROS scavenging[J]. Environmental and Experimental Botany, 2021, 185:104406.
- [107] 王 斌,黄泳彦,易景怡,等. 黄瓜 *GR-RBP3* 启动子克隆及低温对其活性的诱导[J]. 山东农业科学, 2022, 54(7):15-23.
- [108] 陈 珊,王晓晨,邝健飞,等. 黄瓜果实耐冷性与 *CsHSFs* 基因表达关系的研究[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(5):85-91.
- [109] 赵普莹. ERFs 调控黄瓜果实贮藏冷害及其与膜脂代谢关系研究[D]. 广州:华南农业大学, 2018.
- [110] MA Y, DAI X Y, XU Y Y, et al. *COLD1* confers chilling tolerance in rice[J]. Cell, 2015, 160(6):1209-1221.
- [111] JIN Y N, CUI Z H, MA K, et al. Characterization of *ZmCOLD1*, novel GPCR-Type G protein gene involved in cold stress from *Zea mays* L. and the evolution analysis with those from other species [J]. Physiology and Molecular Biology of Plants, 2021, 27(3):619-632.
- [112] ANUNANTHINI P, MANOJ V M, PADMANABHAN T S, et al. In silico characterisation and functional validation of chilling tolerant divergence 1 (*COLD1*) gene in monocots during abiotic stress [J]. Functional Plant Biology, 2019, 46(6):524-532.
- [113] 武春爽,程榕欣,黄泳彦,等. 黄瓜 *CsCOLD1* 基因的特征及低温下表达变化[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(24):43-50.
- [114] WANG Z Y, ZHOU Z Y, WANG L M, et al. The CsHEC1-CsO-VATE module contributes to fruit neck length variation via modulating auxin biosynthesis in cucumber[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2022, 9(39):e2209717119.

(责任编辑:王 妮)