

# 葡萄果实采后自溶软化与细胞膜完整性及线粒体内能量代谢的关系

张群<sup>1,2</sup>, 周文化<sup>1</sup>, 谭欢<sup>2</sup>, 叶纯<sup>1</sup>, 刘细霞<sup>3</sup>

(1. 中南林业科技大学食品学院, 湖南长沙 410004) (2. 湖南省农业科学院农产品加工研究所, 湖南长沙 410125)  
(3. 湖北省野生植物资源重点实验室, 湖北黄石 435002)

**摘要:** 研究葡萄衰老自溶软化与细胞膜完整性及能量代谢特性的关系。采后葡萄经涂膜和热处理后, 低温(4±0.5) °C贮藏, 定期测定果肉自溶指数、膜透性和MDA含量、H<sup>+</sup>-ATPase、Ca<sup>2+</sup>-ATPase、SDH、CCO代谢酶活及ATP、ADP、AMP、总腺苷含量和能荷变化, 以未处理为对照。结果显示: (1) 果实中膜完整性、能量和能荷水平, 能量代谢酶活均呈下降趋势, 但涂膜和热处理要高于对照。在降低自溶软化指数、维持膜完整性和ATP水平上, 涂膜显著优于热处理 ( $p < 0.05$ )。 (2) 果实自溶软化指数与膜透性和丙二醛呈极显著正相关 ( $r=0.73, 0.79, p < 0.01$ ), 与线粒体蛋白量、能量代谢酶活、能量和能荷水平呈极显著负相关 ( $r=-0.79 \sim -0.54, p < 0.01$ )。葡萄贮藏中自溶软化进程与细胞膜完整性和能量代谢特性紧密相关, 且涂膜和热处理有利于保持细胞膜完整性, 缓解能量代谢酶活下降, 维持较高的能量和能荷水平, 延缓自溶软化, 且涂膜效果优于热处理。

**关键词:** 葡萄; 自溶软化; 细胞膜完整性; 能量代谢

文章编号: 1673-9078(2016)12-45-54

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.12.008

## Changes in Cell Membrane Integrity and Mitochondrial Energy Metabolism of Postharvest Grape Fruits during Aril Breakdown

ZHANG Qun<sup>1,2</sup>, ZHOU Wen-hua<sup>1</sup>, TAN Huan<sup>2</sup>, YE Chun<sup>1</sup>, LIU Xi-xia<sup>3</sup>

(1. Food Science and Engineering, Central South University of Forestry Science & Technology University, Changsha 410004, China) (2. Hunan Agricultural Sciences Academy of Agricultural Products Processing Institute, Changsha 410125, China) (3. Key Laboratory of Wild Plant Resources in Hubei Province, Huangshi 435002, China)

**Abstract:** The effects of coating and heat treatment on aril breakdown of "Red globe" grape fruit and its relation to energy metabolism were investigated in the present study. Fruits were coated in 1% chitosan solution or heated to 45 °C in water, and then stored at 4±0.5 °C. Untreated fruits were used as controls (CK). Aril breakdown index, membrane permeability, MDA content, activities of metabolism-related enzymes (H<sup>+</sup>-ATPase, Ca<sup>2+</sup>-ATPase, SDH, and CCO), ATP, ADP, AMP, total adenosine contents, and energy charge were determined during storage at seven-day intervals. The results showed that membrane integrity, energy levels, and activities of metabolism-related enzymes were decreased. However, after coating and heat treatment, these remained at a higher level than those of CK. In terms of reducing aril breakdown index, and maintaining membrane integrity and ATP level, coating treatment was significantly better than heat treatment ( $p < 0.05$ ). Aril breakdown indices had highly significant positive correlations ( $r=0.73, 0.79, p < 0.01$ ) with membrane permeability and MDA content, but were highly negatively correlated ( $r=-0.79 \sim -0.54, p < 0.01$ ) with energy levels and energy charge. Aril breakdown indices had extremely significant negative correlations ( $r=-0.75 \sim -0.70, p < 0.01$ ) with mitochondrial protein content and activities of metabolism-related enzymes. Aril breakdown indexes were closely related with changes in membrane integrity and activities of energy metabolism. Coating and heat treatments maintained membrane integrity and high energy levels, and also alleviated the decline of metabolism-related enzyme activities and delayed aril breakdown. Furthermore, coating treatment was better than heat treatment.

**Key words:** grape fruits; aril breakdown; membrane integrity; energy metabolism

收稿日期: 2016-01-09

基金项目: 湖南省重点科技专项 (2015NK3027); 湖北省重点实验室开放课题基金项目

作者简介: 张群 (1972-), 女, 博士, 研究员, 主要从事果蔬贮藏与加工的科研工作

通讯作者: 周文化 (1969-), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事农产品加工与贮藏的科研和教学工作

葡萄营养丰富,味美多汁,深受消费者喜爱。但葡萄果实皮薄、汁液多、抵抗力差且极易腐烂。且葡萄果实成熟于高温多雨夏季,采后易发生果肉软化和流汁,和龙眼采后“自溶”现象类似,严重影响食用品质。龙眼采后自溶是细胞壁组分及降解酶活性的变化导致细胞壁成分变化所致<sup>[1]</sup>,但对葡萄自溶软化的机理未见报道。果实的自溶软化与能量代谢密切相关, $H^+$ -ATPase、 $Ca^{2+}$ -ATPase、琥珀酸脱氢酶(succinic dehydrogenase, SDH)和细胞色素氧化酶(cytochrome C oxidase, CCO)是线粒体呼吸代谢过程中的关键酶,线粒体结构和功能的破坏导致这些酶活性的下降,影响能量合成,从而导致细胞能量供应不足,加速机体的衰老和死亡<sup>[2]</sup>。近年来的研究发现,园艺作物采后衰老与能量合成下降而造成的细胞能量亏缺有关<sup>[3]</sup>。随着贮藏时间的延长,果蔬细胞膜渗透性和膜脂过氧化产物丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量逐渐增加,膜脂过氧化作用损害线粒体的结构和功能,破坏线粒体膜的完整性,膜的破坏使线粒体上的4种呼吸链能量代谢酶无法存在,它们的功能亦随之丧失,使细胞合成ATP的能力受损,ATP酶的活性下降,最终导致细胞死亡<sup>[4]</sup>。

果实的采后软化衰老受到多种内在生理因素和外在贮藏环境条件的影响,果实成熟软化与其呼吸代谢关系密切<sup>[4]</sup>,但目前对果实成熟软化中线粒体呼吸代谢酶的作用研究较少。线粒体能量代谢功能对细胞的增殖、衰老、凋亡有着至关重要的作用,膜脂降解将会使线粒体膜完整性受损,从而影响线粒体的能量代谢活动<sup>[4]</sup>,因而线粒体内呼吸代谢酶和细胞膜完整性的变化及它们对果实衰老的影响有待于进一步试验研究。本文研究拟采用“红地球”葡萄为研究对象,对其进行涂膜和热处理并低温贮藏,以未处理为对照,探悉果肉自溶指数、膜完整性、三磷酸腺苷(Adenosine triphosphate, ATP)、二磷酸腺苷(Adenosine diphosphate, ADP)、单磷酸腺苷(Adenosine diphosphate, AMP)含量、腺苷总量及能荷(Energy charge, EC)和线粒体呼吸代谢相关酶活的变化,以期揭示葡萄果肉自溶软化与细胞膜完整性和线粒体上呼吸链能量代谢酶的关系,以期从细胞完整性和能量代谢角度探讨葡萄果肉自溶软化的机理,为延缓采后葡萄果实软化衰老、延长果实保鲜期提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 原料

南方葡萄(“红地球”葡萄),采自湖南省澧县张公

庙镇葡萄园,采前10 d停止施水,采收时间为早上7:00~9:00,采收无病害、无霉变、无机械损伤的果实,采收后装入周围铺有报纸的塑料筐内,并于采收当日运回中南林业科技大学食品学院果蔬贮藏实验室风冷24 h,备用。

### 1.2 主要仪器设备

高效液相色谱仪:日本Shimadzu公司,型号为PDA 2010AT;高效冷冻离心机:美国贝克曼库尔特有限公司,型号为Avanti J-26XP;紫外分光光度计:日本Shimadzu公司,型号为UV 7100;电子天平:梅特勒-托利多仪器上海有限公司,型号为Mettler Toledo AL 204;电导率仪:上海雷磁仪器有限公司,型号为DDS-11A。

### 1.3 试验方法

#### 1.3.1 果实采后处理方法

(1)涂膜处理(coating treatment):在1%壳聚糖溶液中浸泡20 min,果实全部浸没,晾干备用。晾干后装入0.03 mm厚的PE保鲜袋中,每袋装果2.5 kg。在 $(4\pm 0.5)$  °C下贮藏。每隔7 d取样观察和测定果实自溶指数、膜渗透性和过氧化物含量、能量物质及能量代谢酶活等生理生化指标。

(2)热处理(heat treatment)<sup>[5]</sup>:于45 °C的热水中浸泡20 min,果实全部浸没,晾干备用。将每个处理3次重复,装入0.03 mm厚的PE保鲜袋中,每袋装果2.5 kg,在 $(4\pm 0.5)$  °C贮藏,每隔7 d取样观察和测定相应指标。

(3)对照组(CK):不做处理,装入0.03 mm厚的PE保鲜袋中,每袋装果2.5 kg。在 $(4\pm 0.5)$  °C下贮藏,每隔7 d取样观察和测定相应指标。

#### 1.3.2 果肉自溶评价

参照林河通等的方法<sup>[1]</sup>。每次随机取50个果实,按照果肉自溶面积大小把果肉自溶程度分为5级。0级:果肉有弹性、果肉无自溶;1级:果肉变软、果肉自溶面积 $<1/4$ ;2级:果肉变软、流汁, $1/4 \leq$ 果肉自溶面积 $<1/2$ ;3级:果肉变软、流汁, $1/2 \leq$ 果肉自溶面积 $<3/4$ ;4级:果肉糜烂,果肉自溶面积 $\geq 3/4$ 。果肉自溶指数= $\Sigma$ (果肉自溶级数 $\times$ 该级果数)/总果数。

#### 1.3.3 细胞膜透性的测定

用电导仪测定葡萄果肉圆片浸提液的电导值,煮沸后再测定浸提液的电导值,以前后2次电导值之比所得的相对电导率(%)变化来表示细胞膜透性的大小。

#### 1.3.4 丙二醛(MDA)的测定

参照Xuewu Duan等的方法<sup>[6]</sup>,稍有修改。5 g葡

葡萄果肉组织中加入 25 mL、10%的三氯乙酸 (TCA), 冰浴研磨, 27000 r/min 冷冻 (4 °C) 离心 10 min, 上清液用 10%的 TCA 定容到 10 mL。取 1 mL 上清液加 2 mL、0.6%硫代巴比妥酸 (TBA) (TBA 配制时用 10% 三氯乙酸定容), 混合, 沸水浴中煮沸 20 min, 冷却至室温后再次离心, 分别测定上清液在 450 nm, 532 nm 和 600 nm 波长处的吸光度。

MDA 浓度  $\text{nmol}/(\text{g FW}) = [6.45 \times (\text{OD}_{532} - \text{OD}_{600}) - 0.56 \times \text{OD}_{450}] \times V / (V_s \times m \times 1000)$

式中 V 提取液的总体积, mL;  $V_s$  测定所用提取液体积, mL; m 样品质量, g; OD 值分别为不同波长下的吸光度。

### 1.3.5 能量物质

参照 Liu H 等方法<sup>[7]</sup>, 略做调整。葡萄果肉组织(2 g)用液氮研磨后加入 10 mL、0.6 mol/L 高氯酸冰浴研磨后, 提取 1 min, 16000 r/min 冷冻(4 °C)离心 15 min, 取 5 mL 上清液迅速用 1.0 mol/L KOH 中和至 pH 6.5~6.8, 冰浴中稳定 30 min 使高氯酸沉淀, 之后经 8000 r/min 冷冻 (4 °C) 离心 5 min, 取上清液定容至 5 mL, 并过 0.45  $\mu\text{m}$  微孔滤膜过滤。按 Liu H 等的 HPLC 法测定 ATP、ADP 和 AMP 的含量, 色谱条件为 Shimadzu C18 反相柱(250 mm $\times$ 4.6 mm i.d, 5.0  $\mu\text{m}$ ), 检测波长 254 nm, 流动相为 pH 7.0 的 20 mmol/L 磷酸氢二钾缓冲溶液 (A), 60%乙腈 (B) 相, A 与 B 体积比为 4:6, 柱温 30 °C, 流速 0.8 mL/min; 进样体积 20  $\mu\text{L}$ 。定量方法采用外标法, 根据标准品保留时间和峰面积进行定性定量, 能荷  $EC = ([\text{ATP}] + 0.5 \times [\text{ADP}]) / ([\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}])$ 。

### 1.3.6 葡萄果实线粒体的提取

参照 Liang wusheng 等方法<sup>[8]</sup>。取 50 g 葡萄果肉用液氮研磨后, 加入 100 mL 提取液(50 mmol/L pH 7.5 Tris-HCl, 内含 0.25 mol/L 蔗糖、0.3 mol/L 甘露醇、1 mmol/L EDTA、0.5% PVP)于 4 °C 匀浆, 然后用 4 层纱布过滤, 滤液在 4 °C、4000 r/min 离心 10 min; 取上清液在 4 °C、14000 r/min 离心分离 20 min; 将沉淀用 10 mL 洗涤液(10 mmol/L Tris.HCl pH 7.2, 内含 0.25 mol/L 蔗糖、0.3 mol/L 甘露醇、1 mmol/L EDTA)洗涤, 再在 4 °C、4000 r/min 离心 10 min; 得到的上清液在 4 °C、14000 r/min 离心 20 min, 得到的沉淀即为线粒体, 用 1.5 mL 悬浮液(10 mmol/L Tris-HCl pH 7.2, 内含 0.25 mol/L 蔗糖、0.3 mol/L 甘露醇、1 mmol/L EDTA)悬浮。

### 1.3.7 线粒体内蛋白含量的测定

按照考马斯亮蓝 G250 染色法测定, 以牛血清蛋白作标准曲线。蛋白质含量以  $\mu\text{g}/(\text{g FW})$  表示。

### 1.3.8 线粒体 $\text{H}^+$ -ATPase 酶活性的测定

参照赵颖颖等方法<sup>[9]</sup>。3 mL 反应体系中含有 30 mmol/L Tris-HCl pH 8.0, 3 mmol/L  $\text{Mg}_2\text{SO}_4$ , 0.1 mmol/L  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 50 mmol/L  $\text{NaNO}_3$ , 50 mmol/L KCl, 0.1 mmol/L 钼酸铵, 加入线粒体制备液, 然后加入 30 mmol/L ATP-Tris (pH 8.0)启动反应, 并立即放置于 37 °C 水浴锅中反应 20 min, 再用 55%三氯乙酸(TCA)终止反应。以释放出无机磷的量来表示  $\text{H}^+$ -ATPase 活性。酶活性单位以  $\mu\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{protein} \cdot \text{min})$  表示。

### 1.3.9 线粒体 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 酶活性的测定

参照赵颖颖等方法<sup>[9]</sup>。3 mL 反应体系中含有 30 mmol/L pH 8.0 Tris-HCl, 0.1 mmol/L  $\text{Na}_3\text{VO}_4$ , 50 mmol/L  $\text{NaNO}_3$ , 50 mmol/L KCl, 0.1 mmol/L 钼酸铵, 加入线粒体制备液, 以加或不加 3 mmol/L  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  引起的酶活性之差表示线粒体  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 酶活性, 然后加入 30 mmol/L ATP-Tris (pH 8.0)启动反应, 之后步骤与  $\text{H}^+$ -ATPase 酶活性测定相同, 也以释放出无机磷的量来表示  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性。酶活性单位以  $\mu\text{g}/(\text{mg} \cdot \text{protein} \cdot \text{min})$  表示。

### 1.3.10 线粒体琥珀酸脱氢酶 (succinated dehydrogenase, SDH)活性的测定

参照赵颖颖等方法<sup>[9]</sup>。测定样品的反应混合液内含有 0.2 mol/L pH 7.4 磷酸钾缓冲液, 0.2 mol/L pH 7.4 琥珀酸钠, 0.9 mmol/L 2,6-二氯酚靛钠(DCPIP)和蒸馏水。将反应混合液放置在 30 °C 条件保温 5 min, 然后加入线粒体制备液混匀, 测定时加入 0.33%甲硫酚嗪 (PMS)摇匀, 于紫外分光光度计上测定 DCPIP 在 600 nm 处的还原速度, 以此来表示 SDH 的酶活性, 结果以  $\text{OD}/(\text{mg protein} \cdot \text{min})$  表示。

### 1.3.11 线粒体细胞色素氧化酶(cytochrome oxidase, CCO)活性的测定

参照赵颖颖等方法<sup>[9]</sup>。取线粒体制备液 0.2 mL, 加入 0.04%细胞色素 C 水溶液 0.2 mL, 重蒸水 2 mL。将试样在 37 °C 预热 2 min, 加入 0.5 mL、0.4%二甲基对苯二胺溶液。用秒表记下反应开始的时间, 保温 3 min, 至出现红色, 颜色在 10 min 内稳定, 于 510 nm 比色, 结果以  $\text{OD}/(\text{mg protein} \cdot \text{min})$  表示。

### 1.3.12 数据分析

数据测定均重复 3 次, 取其平均值。所有图表绘制采用 Sigmaplot, 数据采用 Excel 2010 和 SPSS 19.0 进行相关性和差异显著性分析。

## 2 结果与讨论

### 2.1 果肉自溶软化指数的变化

葡萄采后极易出现自溶软化, 葡萄果肉自溶指数

随着贮藏时间的延长而增加,结果如图1所示,对照组(CK组)、热处理组(Heat treatment)与涂膜组(Coating treatment)葡萄果肉自溶指数在0~14 d内无显著性差异( $p>0.05$ ),但14 d后对照组的自溶指数显著高于涂膜和热处理组( $p<0.05$ ),热处理组则显著高于涂膜组( $p<0.05$ )。采后贮藏不同时间,葡萄果肉自溶软化速率不同。0~7 d内涂膜、热处理组和对照组自溶指数随贮藏时间的延长均呈显著性升高( $p<0.05$ ),7~14 d内对照组与热处理组自溶指数变化不显著( $p>0.05$ ),涂膜组则在7~21 d内变化不显著( $p>0.05$ ),涂膜组自溶指数增加趋势缓于对照组和热处理组。贮藏到35 d时,对照组的大部分果肉发生自溶软化和腐烂,之后果肉自溶指数变化不大,但已经软化自溶的果肉其腐烂程度还会进一步增加。在贮藏后期,涂膜组葡萄的自溶指数比对照组和热处理组低( $p<0.05$ ),涂膜可延缓葡萄果实的自溶软化,与Meng xianghong等<sup>[9]</sup>对葡萄果实涂膜处理结果一致。数据分析表明,葡萄自溶指数( $y$ )与贮藏时间( $x$ )呈极显著线性正相关( $y=0.086x+0.251$ ,  $R=0.72$ ,  $p<0.01$ )。葡萄采后经适当处理可延缓果肉的自溶软化,但涂膜效果比热处理显著。随贮藏时间延长葡萄果实质地会不断发生软化,其机理一般认为果胶物质变化所致,其与能量物质的关系鲜见研究报道。

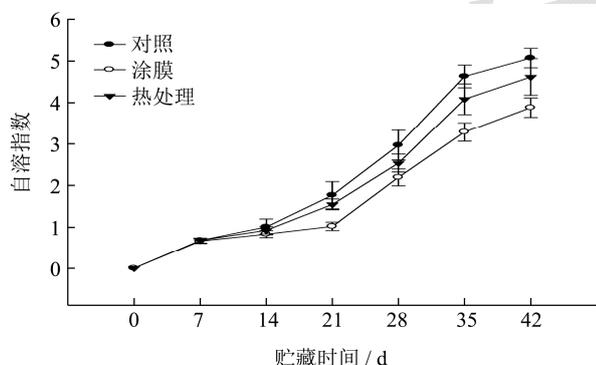


图1 葡萄果实贮藏期间果肉自溶指数的变化

Fig.1 Changes in aril breakdown index in grape fruits during storage

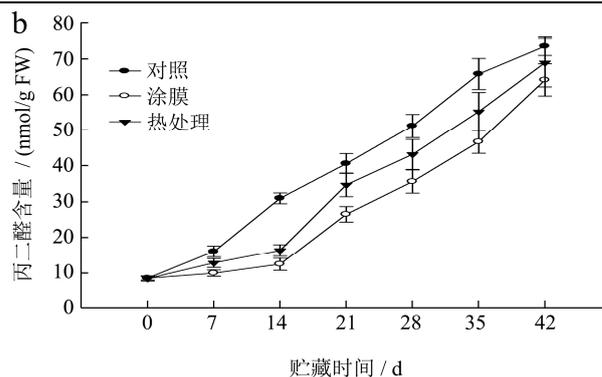
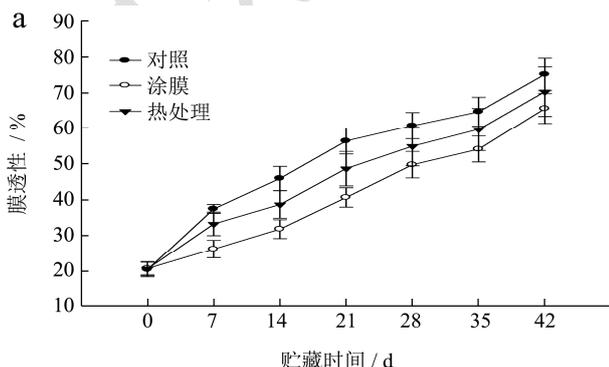


图2 葡萄果实贮藏期间细胞膜渗透性(a)和丙二醛(b)的变化

Fig.2 Changes in membrane permeability (a) and MDA content (b) in grape fruits during storage

## 2.2 细胞膜完整性的变化

采后果实衰老,细胞内膜结构破坏,透性增加,细胞内电解质大量外渗,电导率增大。果实相对电导率大小可表示细胞膜透性的大小<sup>[3]</sup>。由图2a可知,“红地球”葡萄果实细胞膜的相对电导率随贮藏时间的延长而增加,在同一贮藏时间,经过涂膜处理的葡萄果肉细胞膜相对电导率要低于对照组和热处理组。统计分析发现,涂膜组、热处理组和对照组三者之间的果实细胞膜透性差异显著( $p<0.05$ ),涂膜组显著低于热处理组( $p<0.05$ ),热处理组显著低于对照组( $p<0.05$ )。研究认为涂膜和热处理能有效延缓“红地球”葡萄果实细胞膜相对电导率的增加和延缓果实衰老软化,较好地维持细胞膜的完整性,在减轻葡萄果实自溶软化方面起到了有效的作用<sup>[9]</sup>,但涂膜效果要优于热处理。相关分析结果表明,葡萄自溶指数( $y$ )与组织细胞膜透性( $x$ )呈极显著正相关( $y=0.072x-1.301$ ,  $R=0.73$ ,  $p<0.01$ ) (图2a)。细胞膜透性增加,促进了相关酶如果胶酶等与底物接触而加速软化。MDA作为膜脂过氧化产物,在果蔬贮藏过程中由于衰老或冷害发生,其含量不断增加<sup>[8]</sup>。从图2b可以看出,葡萄果实在贮藏过程中MDA逐渐积累,在整个贮藏期间,三组葡萄组织的MDA含量有显著差异性( $p<0.05$ ),涂膜组显著低于热处理组( $p<0.05$ ),热处理组显著低于对照组( $p<0.05$ )。对照组果实的MDA含量随贮藏时间的延长呈现显著性上升( $p<0.05$ ),而涂膜组在在贮藏前期(0~14 d)未见显著性上升( $p>0.05$ ),14 d后呈显著性上升( $p<0.05$ )。涂膜和热处理显著( $p<0.05$ )抑制了果实中MDA含量的上升,表明涂膜和热处理减轻膜脂过氧化程度,维持较好细胞膜完整性,有利于果实线粒体维持正常的呼吸代谢,延缓衰老,但涂膜处理要

优于热处理。王丽娇等<sup>[11]</sup>研究发现涂膜处理可减少西兰花膜脂过氧化物 MDA 的积累, 减缓衰老。壳聚糖形成的薄膜能减缓果内外气体交换, 抑制果实呼吸, 减少水分散失, 延缓果实衰老进程。数据分析表明, 葡萄自溶指数(y)与组织细胞过氧化物 MDA 含量(x)呈极显著线性相关( $y=0.061x-0.049$ ,  $R=0.79$ ,  $p<0.01$ )。葡萄自溶软化过程与膜脂过氧化和线粒体的能量代谢密切联系, 其机理可能是在果实衰老软化中, MDA 含量逐渐增加, 细胞膜脂过氧化程度增大, 线粒体膜完整性受损, 线粒体膜上的呼吸代谢酶的功能丧失, 影响其代谢, 影响了能量的供应<sup>[12]</sup>。

### 2.3 低温贮藏下葡萄果肉组织的 ATP、ADP、AMP、腺苷总量及能荷的变化

#### AMP、腺苷总量及能荷的变化

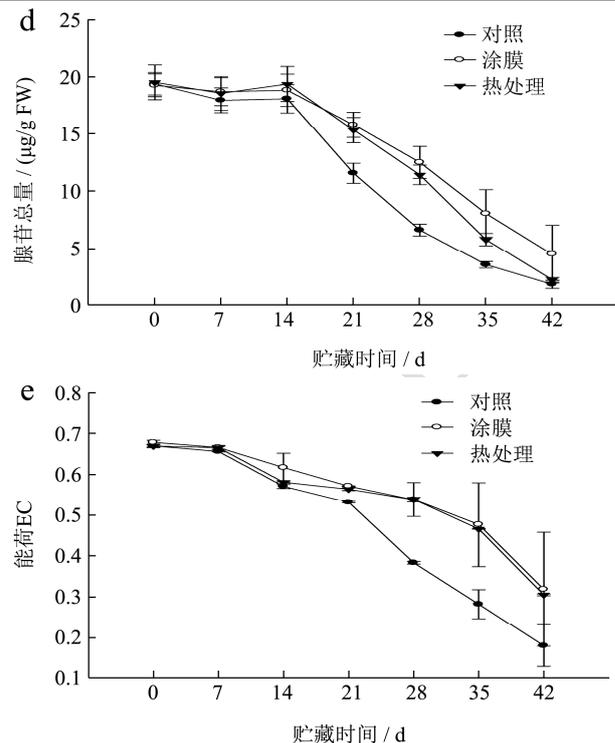
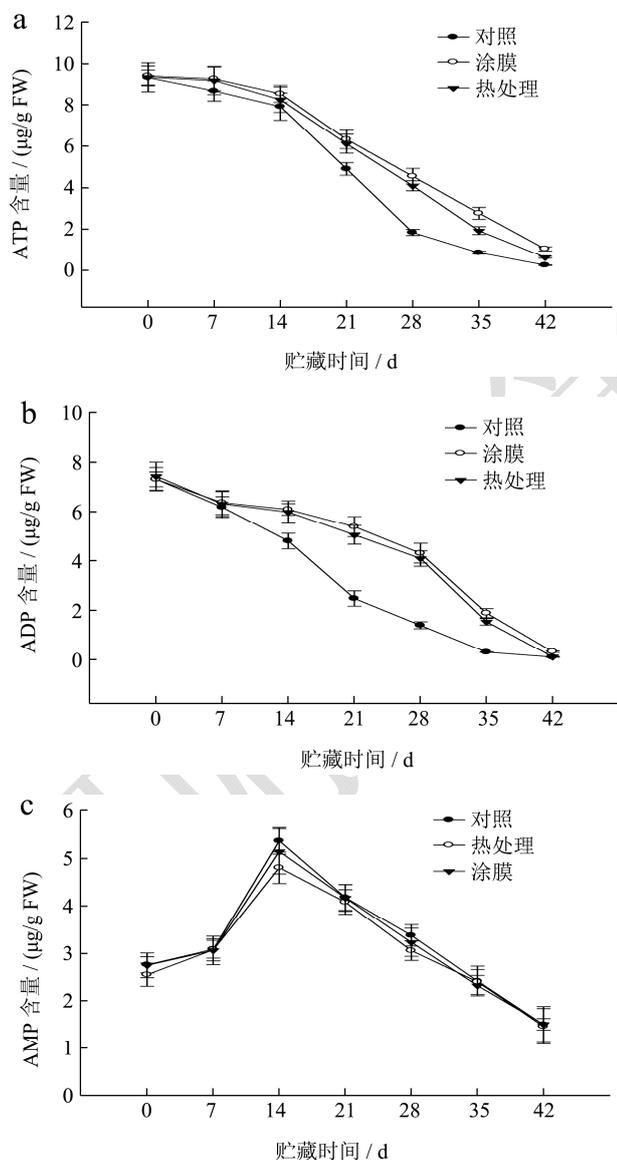


图3 葡萄果实贮藏期间 ATP (a)、ADP (b)、AMP (c)、腺苷总量 (d) 和能荷 (e) 的变化

Fig.3 Changes in levels of ATP (a), ADP (b), AMP (c), total adenosine (d), and energy charge (e) in grape fruits during storage

ATP 是植物维持生命活动最重要的能量, 其含量在一定程度上能够反映植物本身的能量状况<sup>[3]</sup>。由图 3a 可知, 葡萄果实 ATP 含量在贮藏期间总体呈下降的趋势, 与赵颖颖等<sup>[9]</sup>对桃的研究结果一致。统计分析表明, 在 0~14 d 内 ATP 含量下降比较平缓, 三组葡萄果肉组织中 ATP 含量无显著性差异 ( $p>0.05$ ); 14d 后快速下降, 且三组呈现出显著性差异, 涂膜组果肉组织中 ATP 含量显著高于热处理组 ( $p<0.05$ ), 热处理显著高于对照组 ( $p<0.05$ )。涂膜和热处理组在 0~14 d 内, ATP 含量随贮藏时间的延长未见显著性下降 ( $p>0.05$ ), 后期则出现显著性下降 ( $p<0.05$ )。但对照组则在整个贮藏期内均呈显著性下降 ( $p<0.05$ )。涂膜与热处理可保持贮藏期较高的 ATP 含量, 但涂膜效果要优于热处理。可能经热处理的果实因其呼吸作用中各种酶活性受到抑制或破坏, 保持一个较低的呼吸水平。

由图 3b 可以看出, 三组果实 ADP 含量在贮藏期间呈下降趋势, 与赵颖颖等对桃的研究结果一致<sup>[9]</sup>。在整个贮藏期间, 涂膜和热处理组 ADP 含量无显著性差异, 但含量均高于对照组。对照组果实中 ADP

含量随贮藏时间的延长呈显著性下降 ( $p<0.05$ ), 但涂膜和热处理组则在贮藏 28 d 后才出现显著性下降 ( $p<0.05$ ), 涂膜和热处理可延缓葡萄果实贮藏中后期 ADP 含量的下降, 但两者差异不显著。

由图 3c 可知, 三组葡萄果实 AMP 含量在贮藏期间总体呈下降的趋势。在整个贮藏期间, 三组葡萄果实中的 AMP 含量未见显著性差异 ( $p>0.05$ ), 不同处理对 AMP 含量影响不大, 与荔枝果实衰老与能量物质 ATP、ADP 负相关, 与 AMP 无关结果相似<sup>[3]</sup>。

由图 3d 可知, 葡萄果实的腺苷总量总体上呈下降趋势。在 0~21 d 有上升, 之后显著下降。进一步比较发现, 在整个贮藏期间, 经涂膜和热处理的葡萄果实腺苷含量要高于对照组。在~14 d 内三组处理果实中腺苷总量差异不显著 ( $p>0.05$ ), 但中后期涂膜和热处理的葡萄果实腺苷含量显著高于对照组 ( $p<0.05$ )。

能荷大小是细胞中腺苷酸系统的能量状态, 是对细胞中高能磷酸键状态的一种数量上的衡量。细胞内的能荷水平可调节植物呼吸代谢的全程, 涉及糖酵解、三羧酸循环、电子传递系统和氧化磷酸化等途径, 是细胞内最重要的能量转换与调节系统<sup>[7]</sup>。由图 3E 可知, 三组果实组织中 EC 呈下降趋势。贮藏后期, 对照组 EC 随贮藏时间的延长呈显著性下降 ( $p<0.05$ ), 涂膜和热处理组在 28 d 内无显著性下降 ( $p>0.05$ )。进一步比较发现, 在整个贮藏期间, 涂膜和热处理组果实的能荷高于对照组, 涂膜和热处理可缓解 EC 的下降, 但两者差异不显著 ( $p>0.05$ )。

果蔬的衰老劣变与能量代谢有着密切关系<sup>[3,7,9,13]</sup>, 本试验 ATP 和 ADP 含量及能荷等的变化趋势与自溶指数变化呈现极显著负相关 ( $p<0.05$ )。数据分析结果表明, 果肉自溶指数 ( $y$ ) 与 ATP 含量 ( $x$ ) 呈极显著负相关 ( $y=-0.379x+4.136$ ,  $R=0.76$ ,  $p<0.01$ ); 与 ADP 含量 ( $x$ ) 呈极显著负相关 ( $y=-0.495x+4.050$ ,  $R=0.76$ ,  $p<0.01$ ); 与 AMP 含量 ( $x$ ) 呈极显著负相关 ( $y=-0.800x+4.579$ ,  $R=0.54$ ,  $p<0.01$ ); 与腺苷总量 ( $x$ ) 呈极显著负相关 ( $y=-0.205x+4.677$ ,  $R=0.79$ ,  $p<0.01$ ); 与 EC ( $x$ ) 呈极显著负相关 ( $y=-8.781x+6.624$ ,  $R=0.78$ ,  $p<0.01$ )。证明葡萄果实自溶软化与能量和能荷水平密切相关, 这与 Li P Y 等<sup>[13]</sup>对芒果衰老劣变结果类似。

## 2.4 果肉组织能量代谢的变化

### 2.4.1 果肉组织线粒体蛋白含量的变化

线粒体是细胞能量代谢和物质转化的中枢, 具有氧化磷酸化并释放能量和与之相偶联的磷酸化酶系作用转换为 ATP, 从而推动细胞的各种生命活动。由图 4 可知, 随贮藏时间的延长, 葡萄果肉组织中线粒体

蛋白含量呈下降趋势, 但涂膜组葡萄果肉组织中线粒体蛋白含量高于对照组。0~7 d 内三组葡萄果实中线粒体蛋白含量无显著性差异 ( $p>0.05$ ), 7 d 后则出现涂膜和热处理组果实中线粒体蛋白含量显著性高于对照组 ( $p<0.05$ )。对照组和热处理组果实中线粒体蛋白含量随贮藏时间的延长呈显著性的下降 ( $p<0.05$ ), 涂膜组在 14 d 前无显著性下降 ( $p>0.05$ ), 涂膜可缓解果实中线粒体蛋白的下降。本研究中自溶指数( $y$ )与线粒体蛋白( $x$ )呈极显著负相关 ( $y=-0.022x+5.180$ ,  $R=0.75$ ,  $p<0.01$ ), 充足的线粒体蛋白是保证细胞能量物质合成的基础, 也是线粒体结构完整程度的表征物<sup>[14]</sup>。研究结果证明葡萄果实组织的线粒体蛋白含量高, 细胞结构完整, 自溶指数低。

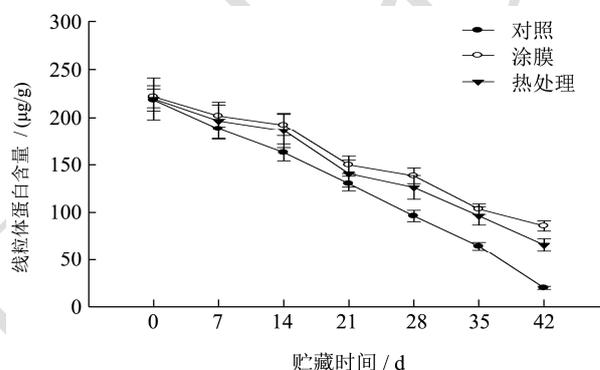


图 4 贮藏期间葡萄果实细胞内线粒体蛋白含量的变化

Fig.4 Changes in mitochondrial protein content in grape fruits during storage

### 2.4.2 果肉组织中 $H^+$ -ATPase、 $Ca^{2+}$ -ATPase、SDH 和 CCO 酶活性的变化

$H^+$ -ATPase 是植物中的一种质子泵, 其活性增强有利于加强胞内  $H^+$  外排的能力, 通过外泌  $H^+$  产生跨膜电化学梯度, 建立跨膜推动力  $\Delta pH$ , 在跨膜质子电动势的催化下合成 ATP, 是能量代谢的重要指标<sup>[4]</sup>。由图 5a 可知三组葡萄果实的  $H^+$ -ATPase 酶活性一直呈下降趋势。这可能是由于随着贮藏时间的延长, 呼吸代谢受到抑制, 导致 ATP 合成减少, 从而降低了  $H^+$ -ATPase 的活性。在贮藏 0~14 d 内酶活的下降幅度平缓, 三组果实中  $H^+$ -ATPase 酶活无显著性差异 ( $p>0.05$ )。在整个贮藏期间, 对照组与热处理组的  $H^+$ -ATPase 活性随时间延长呈显著性下降 ( $p<0.05$ ); 而涂膜组则在 7 d 后呈显著下降 ( $p<0.05$ )。涂膜处理可缓解贮藏前期  $H^+$ -ATPase 活性的下降。

$Ca^{2+}$ -ATPase 是细胞器膜上  $Ca^{2+}$  泵, 是维持细胞稳态的重要机制之一。 $Ca^{2+}$ -ATPase 活性下降, 致使线粒体内  $Ca^{2+}$  的积累, 进一步刺激  $O_2^{\cdot-}$  的产生, 从而加速膜脂过氧化, 导致膜结构破坏, 进一步影响酶活<sup>[9,15-16]</sup>。图 5b 表明, 葡萄果实在低温贮藏过程中

Ca<sup>2+</sup>-ATPase 酶活性呈现下降, 在贮藏末期酶活基本为 0, 这与水蜜桃、草莓果实成熟衰老过程中 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性变化趋势是一致的<sup>[9,15-16]</sup>。三组酶活在贮藏 0~7 d 下降幅度平稳, 且无显著性差异 ( $p>0.05$ ), 7 d 后则涂膜和热处理组显著高于对照组 ( $p<0.05$ )。对照组葡萄果实的 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 酶活性呈持续显著性下降趋势 ( $p<0.05$ ), 涂膜和热处理组在贮藏 0~21 d 内缓慢下降 ( $p>0.05$ ), 21 d 后则显著性快速下降 ( $p<0.05$ )。整个贮藏期间, 涂膜和热处理组 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 酶活始终高于对照组, 但涂膜和热处理组间 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 活性无显著差异 ( $p>0.05$ ), 涂膜和热处理均可更好的保持 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 酶的活性。

呼吸酶中的琥珀酸脱氢酶 (SDH) 位于线粒体内膜上, 是生物体内三羧酸循环(TCA)的重要组分, 是参与三羧酸循环一个重要酶<sup>[9]</sup>。由图 5c 可看出, 葡萄果实在低温贮藏下, SDH 酶活性随贮藏时间的延长呈现下降的趋势<sup>[8]</sup>, 7 d 后对照组显著低于涂膜和热处理组 ( $p<0.05$ )。在不同的贮藏时间段, 下降幅度不同。对照组葡萄果肉组织中的 SDH 酶活下降分 2 段进行, 在 0~28 d 内 SDH 酶活呈现直线下下降趋势, 随贮藏时间的延长呈显著下降 ( $p<0.05$ ), 28 d 后下降幅度变缓。涂膜组则在 0~21 d 内呈缓慢下降 ( $p>0.05$ ), 21~35 d 内呈直线下下降 ( $p<0.05$ ), 35d 后下降变缓。热处理组的 SDH 活性在整个贮藏期间呈显著性下降 ( $p<0.05$ )。在整个贮藏期间, 涂膜组的 SDH 酶活高于对照组和热处理组, 保证三羧酸循环的顺利进行, 但涂膜和热处理间无显著差异 ( $p>0.05$ )。涂膜和热处理可延缓葡萄果肉组织中 SDH 酶活的下降, 有利于维持较高的 SDH 活性, 有利于维持 ATP 的合成能力, 延缓了果肉的自溶软化, 但具体的原因尚有待深入研究。

CCO 是线粒体内膜的标志酶和线粒体电子传递链末端氧化酶, 能够将电子从细胞色素 C 传递给 O<sub>2</sub>, 为氧化磷酸化提供能量<sup>[9]</sup>。有研究表明, 以生命能量逐步丧失为特征衰老的部分原因可能是由于 CCO 作用效率下降的结果<sup>[16]</sup>。如图 5d 所示, 果实线粒体 CCO 酶活性呈现下降趋势<sup>[9]</sup>。在贮藏 0~7 d 内, CCO 酶活下降幅度较平缓, 涂膜和对照组葡萄果实中 CCO 酶活性无显著性差异 ( $p>0.05$ ), 7 d 后呈现显著下降 ( $p<0.05$ ), 涂膜组显著高于对照组 ( $p<0.05$ )。在整个贮藏期间, 对照组 CCO 酶活随贮藏时间的延长呈显著性下降 ( $p<0.05$ ), 涂膜和热处理组则在贮藏中后期呈显著性下降 ( $p<0.05$ ), 且在 14 d 前三组间无显著差异 ( $p>0.05$ )。空白组低的 CCO 酶活可能会致使线粒体内氧化磷酸化代谢效率下降, 进一步影响到细胞的能量代谢; 涂膜和热处理延缓了 CCO 酶活的下

降, 果实内线粒体处于较好的功能状态, 呼吸代谢水平较高。

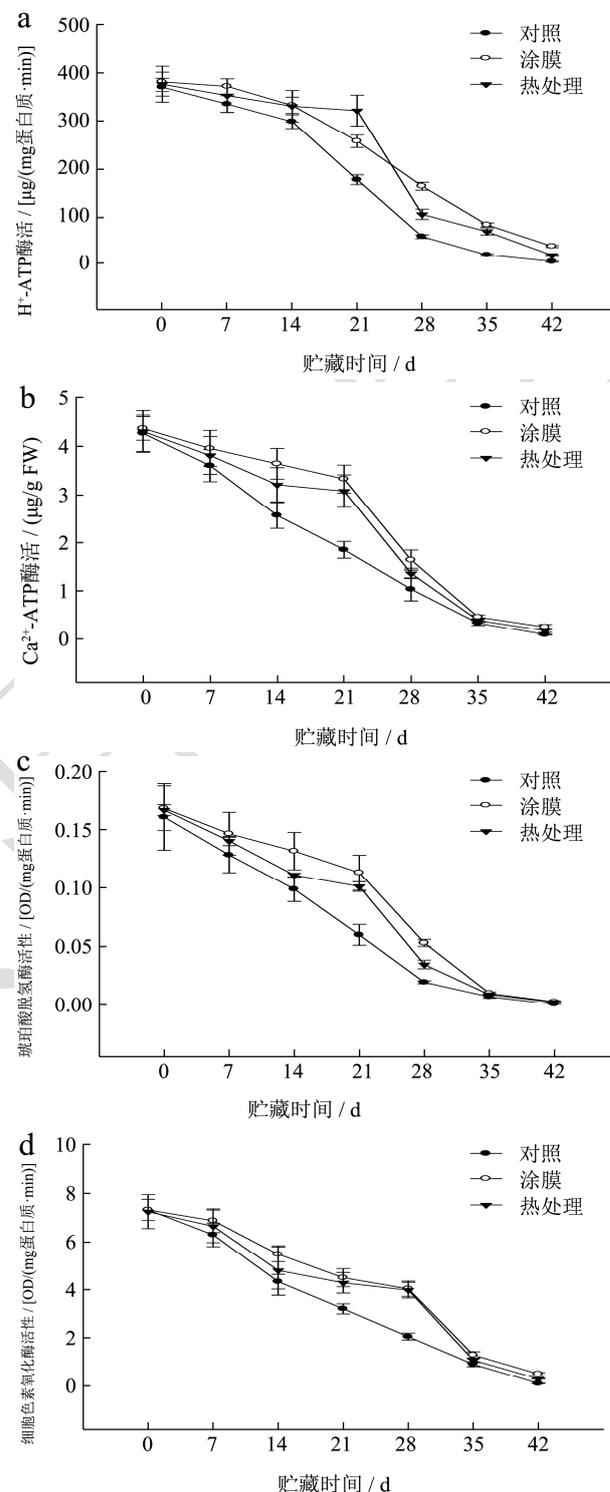


图5 葡萄果实 H<sup>+</sup>-ATPase (a)、Ca<sup>2+</sup>-ATPase (b)、琥珀酸脱氢酶 (c) 和细胞色素氧化酶 (d) 活性的变化

Fig.5 Changes in activities of H<sup>+</sup>-ATPase (a), Ca<sup>2+</sup>-ATPase (b), SDH (c), and CCO (d) in grape fruits during storage

当能量代谢酶活性下降会使线粒体结构和功能遭到破坏, 从而影响 ATP 生成效率, 能量下降则会引起细胞膜结构和完整性遭到破坏<sup>[3,4,7,12]</sup>, 从而导致自溶

软化的发生。数据分析结果表明, 自溶指数 (y) 与 H<sup>+</sup>-ATPase 酶活 (x) 呈极显著负相关 (y=-0.009x + 3.96, R=0.75, p<0.01); 与 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 酶活 (x) 呈极显著负相关 (y=-0.778x+3.830, R=0.73, p<0.01); 与 SDH 酶活 (x) 呈极显著负相关 (y=-18.981x+3.557, R=0.70, p<0.01); 与 CCO 酶活 (x) 呈极显著负相关 (y=-0.488x+3.970, R=0.73, p<0.01)。涂膜和热处理有利于保持细胞中线粒体蛋白的含量, 保持了果实细

胞膜的完整性, 延缓 MDA 含量的升高, 维持葡萄果实组织中 SDH、CCO、H<sup>+</sup>-ATPase 和 Ca<sup>2+</sup>-ATPase 酶的活性, 减缓能量水平的下降, 延缓了果实自溶软化。

### 3.1 葡萄果肉自溶软化与能量代谢酶活及细胞膜完整性的相关性关系

表 1 果肉自溶软化与能量代谢酶活及细胞膜完整性的皮尔逊相关性分析

Table 1 Pearson correlation analysis among aril breakdown, energy metabolism enzyme activities, and membrane integrity of grape

指标	自溶指数	膜透性	丙二醛 MDA	三磷酸腺苷 ATP	二磷酸腺苷 ADP	单磷酸腺苷 AMP	腺苷总量
自溶指数	1						
膜透性	0.73**	1					
丙二醛 MDA	0.79**	0.97**	1				
三磷酸腺苷 ATP	-0.76**	-0.92**	-0.97**	1			
二磷酸腺苷 ADP	-0.76**	-0.92**	-0.96**	0.97**	1		
单磷酸腺苷 AMP	-0.54**	-0.33*	-0.49**	0.55**	0.50**	1	
腺苷总量	-0.79**	-0.89**	-0.95**	0.98**	0.97**	0.63**	1
H <sup>+</sup> -ATP 酶	-0.75**	-0.90**	-0.95**	0.99**	0.96**	0.54**	0.97**
Ca <sup>2+</sup> -ATP 酶	-0.73**	-0.91**	-0.95**	0.97**	0.97**	0.49**	0.96**
琥珀酸脱氢酶 SDH	-0.70**	-0.92**	-0.94**	0.97**	0.96**	0.45**	0.94**
细胞色素氧化酶 CCO	-0.73**	-0.92**	-0.95**	0.97**	0.98**	0.44**	0.95**
线粒体蛋白能荷 EC	-0.75**	-0.92**	-0.95**	0.97**	0.97**	0.48**	0.96**
	-0.76**	-0.87**	-0.92**	0.91**	0.92**	0.49**	0.89**

指标	H <sup>+</sup> -ATP 酶	Ca <sup>2+</sup> -ATP 酶	琥珀酸脱氢酶 SDH	细胞色素氧化酶 CCO	线粒体蛋白	能荷 EC
自溶指数						
膜透性						
丙二醛 MDA						
三磷酸腺苷 ATP						
二磷酸腺苷 ADP						
单磷酸腺苷 AMP						
腺苷总量						
H <sup>+</sup> -ATP 酶	1					
H <sup>+</sup> -ATPase	0.98**	1				
Ca <sup>2+</sup> -ATP 酶	0.97**	0.99**	1			
琥珀酸脱氢酶 SDH	0.95**	0.97**	0.96**	1		
细胞色素氧化酶 CCO	0.95**	0.95**	0.95**	0.97**	1	
线粒体蛋白	0.89**	0.87**	0.86**	0.90**	0.93**	1

注: \*\*表示在  $p < 0.01$  水平显著相关; \*表示在  $p < 0.05$  水平显著相关。

自溶指数与膜的完整性呈极显著正相关 ( $r=0.73\sim 0.79$ ,  $p < 0.01$ )。细胞膜透性增加, MDA 升高, 降低细胞膜的稳定性, 导致细胞膜内容物外渗, 细胞间区室结构破坏, 大分子可以进入, 降解酶作用于细胞有机物, 果肉出现自溶软化。

自溶指数与线粒体蛋白、 $H^+$ -ATPase、 $Ca^{2+}$ -ATPase、SDH 和 CCO 酶活呈极显著负相关 ( $r=-0.75\sim -0.70$ ,  $p < 0.01$ )。线粒体呼吸代谢酶活性下降会使线粒体结构和功能遭到破坏, 从而影响 ATP 生成效率, 造成细胞能量亏损, 细胞膜结构和完整性遭到破坏, 从而导致自溶软化发生。当果实衰老时线粒体内呼吸酶活性减小, 线粒体受到了活性氧自由基的伤害, 受损伤的线粒体又会导致呼吸链电子传递时“漏”出大量自由基, 形成恶性循环加速果实衰老<sup>[11,14,16]</sup>。自溶指数与能量物质 ATP、ADP、AMP、腺苷总量和能荷呈极显著负相关 ( $r=-0.79\sim -0.54$ ,  $p < 0.01$ )。采后荔枝的衰老程度与 ATP 含量和能荷值负相关<sup>[3,7]</sup>, 桃果实发生冷害时,  $H^+$ -ATPase、 $Ca^{2+}$ -ATPase、SDH、CCO 等线粒体呼吸代谢酶活性减少<sup>[4]</sup>, ATP、ADP、AMP 和 EC 水平也显著降低, 果实细胞膜透性和膜脂过氧化程度不断加剧<sup>[3,7,9,16]</sup>, 本研究结果与前人的结果一致。

线粒体蛋白、四种能量代谢酶与膜透性、MDA 呈极显著负相关 ( $r=-0.95\sim -0.90$ ,  $p < 0.01$ ), MDA 含量持续升高, 膜透性增加, 线粒体膜脂过氧化加剧, 从而影响线粒体的代谢功能。有研究证明线粒体蛋白氧化损伤与果实成熟衰老有关系<sup>[16]</sup>。 $Ca^{2+}$ -ATPase 酶活性下降,  $Ca^{2+}$ 信使系统紊乱, 进一步刺激  $O_2^{\cdot-}$ 产生, 进而破坏膜的完整性<sup>[14-15]</sup>。CCO 活性下降, 影响线粒体功能的稳定性, 使呼吸代谢失衡, ATP 合成减少, 促使果实不断软化衰老<sup>[9,14,16]</sup>。葡萄自溶软化衰老与膜完整性和线粒体能量代谢有密切联系, 它们相互作用, 影响果实的衰老。

### 3 结论

3.1 本研究比较了涂膜处理、热处理和对照三组葡萄果实低温贮藏下果肉自溶软化与细胞膜完整性和能量呼吸代谢酶活性的变化及相互关系。研究认为葡萄采后低温贮藏下, 在自溶软化过程中出现能量亏损, 细胞膜完整性遭受破坏, 能量和能荷水平和能量代谢酶活性下降。自溶指数与膜透性呈显著性正相关 ( $p < 0.01$ ), 与能量物质、能荷水平、线粒体蛋白和能量呼吸代谢酶活呈极显著负相关 ( $p < 0.01$ )。表明葡萄果肉衰老中的自溶软化与膜完整性和能量呼吸代谢特

性有密切关系。

3.2 涂膜和热处理均缓解膜脂过氧化, 维持葡萄组织能量代谢酶活和高能量水平, 降低果肉的自溶软化。但涂膜处理在维持膜的完整性, 减少果肉自溶软化和维持高的 ATP 水平方面要显著优于热处理 ( $p < 0.05$ )。具体涂膜和热处理对葡萄贮藏期间的生理差异待进一步研究。

### 参考文献

- [1] 林河通,赵云峰,席均芳.果实采后果肉自溶过程中细胞壁组分及其降解酶活性的变化[J].植物生理与分子生物学学报,2007,33(2):137-145  
LIN He-tong, ZHAO Yun-feng, XI Yu-fang. Changes in cell wall components and cell wall-degrading enzyme activities of postharvest *longan* fruit during aril breakdown [J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology, 2007, 33(2): 137-145
- [2] 李辉,林毅雄,林河通,等.1-MCP 延缓采后‘油木奈’果实衰老及其与能量代谢的关系[J].现代食品科技,2015,31(4): 121-127  
LI Hui, LIN Yi-xiong, LIN He-tong, et al. Delayed senescence in harvested ‘younai’ plums induced by 1-MCP treatment and its relation to energy metabolism [J]. Modern Food Science and Technology, 2015, 31(4): 121-127
- [3] H Wang, Z Qian, S Ma, et al. Energy status of ripening and postharvest senescent fruit of Litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) [J]. Bmc. Plant Biology, 2013, 13(2): 1-16
- [4] 祝美云,白欢,梁丽松,等.冷锻炼处理减轻低温贮藏桃果实冷害的能量代谢机理[J].农业工程学报,2012,28(23):257-264  
ZHU Mei-yun, BAI Huan, LIANG Li-song, et al. Mechanism of energy metabolism on cold acclimation treatment for alleviating chilling injury of peach fruit during low temperature storage [J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2012, 28(23): 257-264
- [5] Wu Z M, Yuan X Z, Li H, et al. Heat acclimation reduces postharvest loss of table grapes during cold storage-analysis of possible mechanisms involved through a proteomic approach [J]. Postharvest Biology and Technology, 2015, 10(5): 26-33
- [6] Xue-wu Duan, Ting Liu, Dan-dan Zhang, et al. Effect of pure oxygen atmosphere on antioxidant enzyme and antioxidant activity of harvested litchi fruit during storage [J]. Food

- Research International, 2011, 44(7): 1905-1911
- [7] Liu H, Song L L, You Y L, et al. Cold storage duration affects litchi fruit quality, membrane permeability, enzyme activities and energy charge during shelf time at ambient temperature [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2011, 60(1): 24-30
- [8] LIANG Wu-sheng, PAN Juan, LIANG Hou-guo. Activation of cyanide resistant respiration by pyruvate in mitochondria of aged potato tuber slices [J]. *Journal of Plant Physiology & Molecular Biology*, 2003, 29(4): 317-321
- [9] 赵颖颖,陈京京,金鹏,等.低温预贮对冷藏桃果实冷害及能量水平的影响[J].*食品科学*,2012,33(4):276-281
- ZHAO Ying-ying, CHEN Jing-jing, JIN Peng, et al. Effect of low temperature conditioning on chilling injury and energy status in cold-stored peach fruit [J]. *Food Science*, 2012, 33(4): 276-281
- [10] Meng X, Li B, Liu J, et al. Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage [J]. *Food Chemistry*, 2008, 106(2): 501-508
- [11] 王丽娇,孙兴丽,岳本芳,等.微真空条件下复合保鲜剂对西兰花采后衰老的影响[J].*现代食品科技*,2013,29(6):1243-1246
- WANG Li-jiao, SUN Xing-li, YUE Ben-fang, et al. Effects of compound preservatives on senescence of postharvest broccoli under micro-vacuum conditions [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(6): 1243-1246
- [12] 王红梅.线粒体呼吸代谢相关酶对桃果实成熟衰老及采后软化的影响[D].扬州:扬州大学,2007
- WANG Hong-mei. Effect of respiratory metabolism associated enzymes in mitochondria on peach fruit siring and softening [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2007
- [13] Li P Y, Zheng X L, Liu Y, et al. Pre-storage application of oxalic acid alleviates chilling injury in mango fruit by modulating proline metabolism and energy status under chilling stress [J]. *Food Chemistry*, 2014, 142(1): 72-78
- [14] 程顺昌,魏宝东,朱益鹏,等.1-MCP 和 CO<sub>2</sub> 对‘南果梨’冷藏后货架期能量代谢特性的影响[J].*西北植物学报*,2013, 33(6):1177-1182
- CHENG Shun-chang, WEI Bao-dong, ZHU Yi-peng, et al. Effect of 1-MCP and CO<sub>2</sub> treatments on energy metabolism characteristics of ‘nanguo’ pear fruits during shelf life after cold storage [J]. *Acta Bot. Boreal.-Occident. Sin.*, 2013, 33(6): 1177-1182
- [15] 关军锋,高敏,樊秀彩,等.草莓果实成熟衰老与 Ca<sup>2+</sup>、CaM、Ca<sup>2+</sup>-ATPase 和活性氧代谢的关系[J].*中国农业科学*,2002, 35(11):1385-1389
- GUAN Jun-feng, GAO Min, FAN Xiu-cai, et al. Relationship between maturation, senescence and Ca<sup>2+</sup>, CaM Content, Ca<sup>2+</sup>-ATPase activity, and active oxygen metabolism in strawberry fruits [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2002, 35(11): 1385-1389
- [16] J Kan, H M Wang, C H Jin. Changes of reactive oxygen species and related enzymes in mitochondrial respiration during storage of harvested peach fruits [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2011, 10(1): 149-158