果 树 学 报 2020,37(6):909-919
Journal of Fruit Science

DOI:10.13925/j.cnki.gsxb.20190636

‘富士’苹果不同O_2/CO_2简易气调贮藏的生理特性

王 雷,田晓宁,田雪婷,吴晗笑,李 瑞,刘 佳,任小林*

(西北农林科技大学园艺学院,陕西杨凌 712100)

摘 要:【目的】探索‘富士’苹果果实长期贮藏过程中的最适O_2/CO_2比例,为采后‘富士’苹果果实贮藏提供理论依据。**【方法】**以‘富士’苹果果实为材料,在(1±0.5)℃贮藏条件下,采用不同比例O_2/CO_2简易气调长期贮藏,测定不同贮藏条件下果实品质、相对电导率、丙二醛(MDA)、ATP、过氧化氢(H_2O_2)含量、超氧阴离子(O_2^-)生成速率、PLD、SOD、线粒体H^+-ATPase、线粒体Ca^{2+}-ATPase、SDH和CCO活性的指标,从膜脂代谢和能量代谢两个角度来分析不同比例O_2/CO_2简易气调过程中‘富士’果实发生CO_2伤害的原因。**【结果】**‘富士’苹果长期贮藏过程中,不同比例O_2/CO_2简易气调均可有效维持果实质量、硬度、可滴定酸含量、可溶性固形物含量;但当处理中O_2浓度小于10%、CO_2浓度大于5%时,果实发生CO_2伤害,果实中与能量产生相关的线粒体H^+-ATPase、线粒体Ca^{2+}-ATPase、SDH、CCO活性降低,ATP含量减小,同时SOD活性减弱,O_2^-、H_2O_2产生增加,PLD活性被激活,膜结构的完整性被破坏,褐变发生。**【结论】**‘富士’苹果果实长期贮藏过程中保鲜效果最好的是处理Ⅰ(3%CO_2+12%O_2+85%N_2),当O_2浓度小于10%、CO_2浓度大于5%时,细胞维持较低能量水平,膜脂过氧化严重,CO_2伤害发生。

关键词:‘富士’苹果;CO_2伤害;膜脂代谢;能量代谢

中图分类号:S661.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1009-9980(2020)06-0909-11

Effect of different O_2/CO_2 proportions on the physiological characteristics of ‘Fuji’ apple fruit during modified atmosphere storage

WANG Lei, TIAN Xiaoning, TIAN Xueting, WU Hanxiao, LI Rui, LIU Jia, REN Xiaolin*

(*College of Horticulture, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, Shaanxi, China*)

Abstract:【Objective】In this test, ‘Fuji’ apple fruit was used as the material and stored at (1±0.5) ℃ to study the effect of different ratios of O_2/CO_2 treatment on fruit quality, including firmness, titratable acid and soluble solids content, relative conductivity, MDA, ATP and H_2O_2 contents, O_2^- production rate, PLD, SOD, mitochondrial H^+-ATPase, mitochondrial Ca^{2+}-ATPase, SDH, and CCO activity during modified atmosphere storage. In order to explore the causes of CO_2 damage to ‘Fuji’ fruit with different ratios of O_2/CO_2 treatment from the perspectives of lipid and energy metabolisms, the optimum O_2/CO_2 ratio of the ‘Fuji’ apple during modified atmosphere storage was determined, which provided a theoretical basis for ‘Fuji’ apple storage after harvest.【Methods】‘Fuji’ apples were picked from the Baoji Qianyang Apple Experimental Farm of Northwest A & F University, China, on 23 October 2018. After standing at room temperature for 24 hours to dissipate the field heat, 600 healthy fruits with the same maturity and sizewithout diseases, pests and mechanical damage were selected for subsequent experiments. The fruits were then divided into four groups and 150 fruits were contained per group. The fruits of four groups were put into sealed plastic buckets with a volume of 120 L, and stored in a refrigerator at (1±0.5) ℃ and with 85%-90% relative humidity. The gas ratios of four groups included treatment Ⅰ 3%CO_2+12%O_2+85%N_2; treatment Ⅱ 5%CO_2+10%O_2+85%N_2; treatment Ⅲ 10%CO_2+5%O_2+85%N_2;

收稿日期:2020-01-10 接受日期:2020-03-26

作者简介:王雷,男,硕士,研究方向为园艺产品采后生理及贮藏保鲜。Tel:18829354831,E-mail:wanglei1054310909@nwafu.edu.cn

*通信作者 Author for correspondence. Tel:13659203327,E-mail:renxl@nwsuaf.edu.cn

and CK was just common air. ‘Fuji’ apple samples were taken out every 30 days, and 10 fruits were taken for each treatment. Relevant indexes were determined and some samples were saved for subsequent tests. The O_2/CO_2 ratio was readjusted after sampling. ‘Fuji’ apples were stored for 150 days. 【Results】During the long-term storage of ‘Fuji’ apples, compared with ordinary refrigeration, simple air-conditioning with different ratios of O_2/CO_2 treatment can effectively maintain fruit quality, including hardness, titratable acid content, and soluble solids content. Among them, Treatment I had the best effect on delaying fruit weight loss. At the same time, the effects of the three treatments on the soluble solids and titratable acid contents were not significantly different. The CO_2 injury of ‘Fuji’ apple was visualized as flesh browning. CK and Treatment Ⅰ fruits did not have CO_2 damage during the long-term storage. Treatment Ⅰ had no significant effect on the membrane integrity. When the O_2 concentration was less than 10% and the CO_2 concentration was more than 5% during the long-term storage, the flesh of ‘Fuji’ apple browned worse with the decrease of the O_2/CO_2 ratio. Cell membrane lipid metabolism and energy level were the main factors that affected browning. The energy level of cells played an important role in maintaining cell membrane integrity. In this study, during the long-term storage of ‘Fuji’ apples, Treatment Ⅰ had no significant effect on the mitochondrial H^+-ATPase and CCO activity. When the O_2 concentration was less than 10% and the CO_2 concentration was more than 5%, mitochondrial H^+-ATPase and CCO activity decreased. At the same time, with the decrease of the O_2/CO_2 ratio, mitochondrial Ca^{2+}-ATPase and SDH activity as well as the ATP content of ‘Fuji’ apple fruit decreased. Damage to membrane integrity was considered to be one of the main causes of browning. The lipid metabolism of cells was related to PLD and SOD. In this study, during the long-term storage of ‘Fuji’ apples, Treatment Ⅰ can maintain lower O_2^- production rate, as well as H_2O_2 and MDA contents. When the O_2 concentration was less than 10% and the CO_2 concentration was more than 5%, O_2^- production rate and H_2O_2 content increased. With the decrease of the O_2/CO_2 ratio, SOD activity decreased, PLD activity, relative conductivity and MDA content increased, and the flesh of ‘Fuji’ apple browned worse.【Conclusion】In this study, the best preservation effect on ‘Fuji’ apple fruit during modified atmosphere storage was Treatment Ⅰ(3%CO_2+12%O_2+85%N_2). During the long-term storage of ‘Fuji’ apples, compared with ordinary refrigeration, simple air-conditioning with different ratios of O_2/CO_2 treatment can effectively maintain fruit quality, including hardness, as well as titratable acid and soluble solids contents. However, when the O_2 concentration was less than 10% and the CO_2 concentration was more than 5% during the long-term storage, the flesh of ‘Fuji’ apple browned worse with the decrease of the O_2/CO_2 ratio. The mitochondrial H^+-ATPase, mitochondrial Ca^{2+}-ATPase, SDH and CCO activities related to energy production in the fruit decreased, resulting in decreased ATP content. Cells maintained lower energy levels. This led to a decreased SOD activity and increased production of O_2^- and H_2O_2, and PLD activity was activated. This caused the membrane integrity to be destroyed and CO_2 injury to occur.

Key words: ‘Fuji’ apple; CO_2 injury; Lipid metabolism; Energy metabolism

‘富士’苹果是我国栽培面积最广的苹果品种，随着冷藏和气调贮藏的应用，CO_2伤害已经成为‘富士’苹果贮藏过程中最易发生的生理病害之一。张薇薇[1]、宋春华等[2]指出气调贮藏可以有效保持‘富士’苹果的营养物质；白鸽[3]、曲怡宁[4]、田蓉[5]发现气调贮藏可以维持‘富士’果实品质，但果实易受CO_2伤害，发生果肉褐变。因此，探究‘富士’果实长期气调冷藏过程发生CO_2伤害的原因，确定‘富士’苹果果实长期贮藏过程中的最适O_2/CO_2比例尤为重要。

‘富士’苹果CO_2伤害直观表现为果肉褐变[5]。细胞的膜脂代谢和能量水平是影响褐变发生的主要因素[6-7]。细胞的膜脂代谢与磷脂酶D (phospholipase D, PLD)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)有关[8-9]。其中，PLD能破坏细胞膜脂质，损伤细胞膜[10]；而SOD可以降解超氧阴离子(O_2^-)，保护细胞免受伤害[8]。线粒体H^+-ATPase、线粒体Ca^{2+}-ATPase、琥珀酸脱氢酶(succinic dehydrogenase, SDH)和细胞色素C氧化酶(cytochrome C oxidase, CCO)是植物体内参与能量代谢的重要酶[11]。线粒体H^+-ATPase通过向外泵出H^+产生跨膜质子推动力从而合成ATP[12]；线粒体Ca^{2+}-ATPase能调节线粒体内Ca^{2+}的平衡，维持线粒体功能[13]；SDH催化琥珀酸脱氢生成延胡索酸，同时产生部分ATP；而CCO是电子传递链末端的氧化酶，通过氧化磷酸化提供能量[14]。

笔者以‘富士’苹果果实为材料，在(1±0.5)℃贮藏下，研究不同比例O_2/CO_2简易气调长期贮藏对‘富士’苹果果实生理特性的影响，以期从膜脂代谢和能量代谢两个角度来探讨不同比例O_2/CO_2简易气调过程中‘富士’果实发生CO_2伤害的原因，确定‘富士’苹果果实长期贮藏过程中的最适O_2/CO_2比例，为采后‘富士’苹果果实贮藏提供理论依据。

1　材料和方法

1.1　材料与试验设计

试验所用‘富士’苹果于2018年10月23日采自西北农林科技大学千阳苹果试验站，采收后立即运往西北农林科技大学园艺学院园艺产品贮藏与加工实验室。室温放置24 h散去田间热后，选取成熟度、大小一致，无病虫害及机械损伤的健康果实600个。将果实分为4组，每组150个果子。将4组果实分别放入体积为120 L的密封塑料桶中，并放入(1±0.5)℃、相对湿度85%~90%的冷库中贮藏，4组气体的比例分别为：处理Ⅰ：3%CO_2+12%O_2+85%N_2；处理Ⅱ：5%CO_2+10%O_2+85%N_2；处理Ⅲ：10%CO_2+5%O_2+85%N_2；对照(CK)组为空气。每30 d取1次样，每次每个处理取10个果实，取样后重新调气。试验共贮藏150 d。

1.2　测定指标及方法

1.2.1　褐变率及褐变指数　在贮藏结束时，统计每种贮藏条件下果实的褐变率及褐变指数。纵切观察果肉褐变情况。根据果肉褐变严重程度分为四个等级，分别为：(a)未发生果肉褐变；(b)果肉褐变面积＜25%；(c)25%≤果肉褐变面积＜50%；(d)果肉褐变面积≥50%。

褐变指数计算公式为[15]：

$$\text{褐变指数}=\frac{b+2c+3d}{3(a+b+c+d)};$$

其中，(a)未发生果肉褐变果实的个数；(b)果肉褐变面积＜25%果实的个数；(c)25%≤果肉褐变面积＜50%果实的个数；(d)果肉褐变面积≥50%果实的个数。

1.2.2　失重率、果肉硬度、可溶性固形物含量和可滴定酸含量测定　失重率测定参照甘瑾等[16]的方法；果肉硬度用GS-15型水果质地分析仪测定；可溶性固形物含量用日本Atago爱宕PAL-1型数显糖度计测定；可滴定酸含量用GMK-835F型苹果酸度计测定。

1.2.3　电导率、丙二醛(MDA)含量、O_2^-产生速率和H_2O_2含量的测定　电导率测定方法参照徐艳艳[17]的方法。

MDA含量测定采用硫代巴比妥酸显色法；O_2^-产生速率测定采用羟胺氧化法；H_2O_2含量测定采用H_2O_2与四氯化钛反应产生过氧化物—钛复合物黄色沉淀，将该沉淀溶于硫酸后在波长412 nm处比色测定。具体操作方法参照《果蔬采后生理生化实验指导》[13]。

1.2.4　PLD、SOD活性的测定　PLD活性的测定根据水解底物PC释放胆碱进行衡量的。具体操作参照赵宇瑛[18]的方法。

SOD活性测定采用氮蓝四唑(NBT)光化学反应法，具体操作方法参照《果蔬采后生理生化实验指导》[13]。

1.2.5　ATP含量的测定　ATP含量的测定采用植物三磷酸腺苷(ATP)ELISA检测试剂盒检测。

1.2.6　线粒体H^+-ATPase、线粒体Ca^{2+}-ATPase、SDH、CCO活性的测定　需要先提取线粒体，再依次测定，测定具体方法参照陈文烜[19]的方法。

1.2.7　数据分析　使用Microsoft Excel 2010进行数据处理、Origin 2020进行绘图、SPSS 17.0进行方差分析，并利用Duncan多重性比较，进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果褐变率及褐变指数的影响

‘富士’苹果在贮藏结束时，对照与处理Ⅰ果实均未出现果肉褐变；处理Ⅱ果实褐变率为13.46%，褐变指数为5.77%；处理Ⅲ果实褐变率最高，为32.65%，褐变指数最大，为12.24%（图1）。结果表明，处理Ⅰ不会导致‘富士’苹果果肉褐变，当O_2浓度小于10%、CO_2浓度大于5%时，O_2/CO_2比值降低会加剧‘富士’苹果果肉褐变。

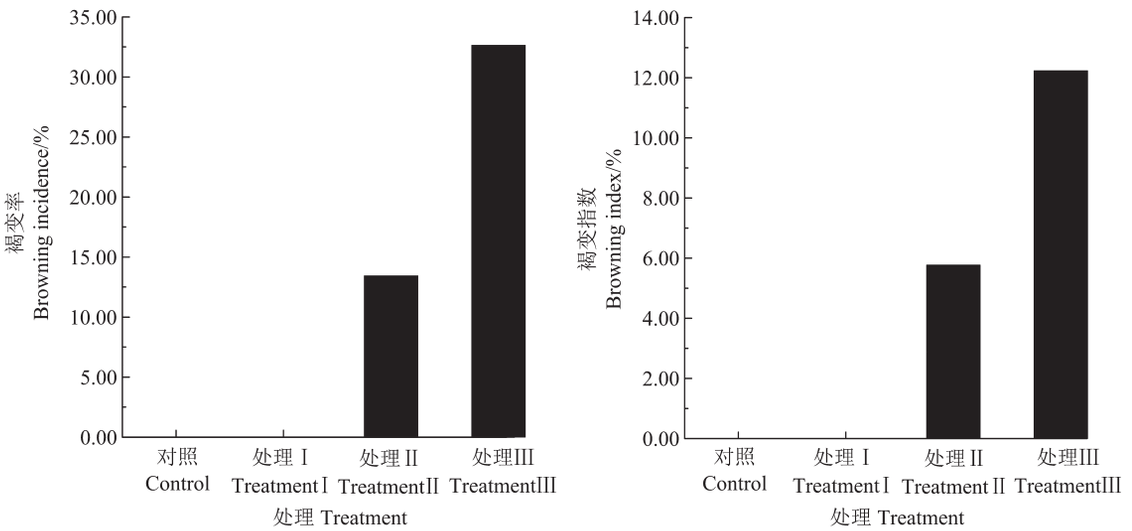

图1 不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果褐变率及褐变指数的影响

Fig. 1 Effects of different O_2/ CO_2 on browning rate and browning index of ‘Fuji’ apple in modified atmosphere storage

2.2 不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果果实品质的影响

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实失重率呈现上升趋势。与三个处理组相比，对照组果实失重率最高，在贮藏结束时为1.63%；处理Ⅰ果实失重率上升最慢，在贮藏60、90、120、150 d时，对照组与处理Ⅰ果实失重率差异显著，贮藏结束时，其失重率仅为1.08%；处理Ⅱ和处理Ⅲ果实失重率无明显差异（表1）。结果表明，与对照组相比，不同O_2/CO_2简易气调均可以有效维持‘富士’苹果果实质量，其中处理Ⅰ‘富士’苹果失重率最低，效果最好。

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实硬度呈下降趋势。与三个处理组相比，对照组果实硬度下降最快，在贮藏结束时为6.38 kg·cm^{-2}，与其他三组差异显著；处理Ⅰ果实硬度下降较为明显，在贮藏结束时为7.23 kg·cm^{-2}；处理Ⅱ和处理Ⅲ果实硬度无明显差异，均维持较高的果实硬度（表1）。结果表明，与对照组相比，不同O_2/CO_2简易气调均可以有效维持‘富士’苹果果实硬度。

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实可溶性固形物含量呈现先上升后下降的趋势。在贮藏前90 d，四组‘富士’苹果果实可溶性固形物含量无明显差异；在贮藏结束时，对照组果实可溶性固形物含量最低，仅为12.91%，与处理Ⅱ和处理Ⅲ差异显著；处理Ⅲ可溶性固形物含量最高，为14.70%，与对照组、处理Ⅰ和处理Ⅱ差异显著（表1）。结果表明，与对照组相比，不同O_2/CO_2简易气调过程中‘富士’苹果果实可溶性固形物含量更高，且随着O_2/CO_2比值减小，‘富士’苹果果实可溶性固形物含量增加。

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实可滴定酸含量呈现下降趋势。从30 d开始，对照组果实可滴定酸含量一直维持较低水平，在第30天时，含量仅为0.22%，与处理Ⅰ和处理Ⅲ差异显著；在贮藏90、120、150 d时，处理Ⅰ、处理Ⅱ和处理Ⅲ果实可滴定酸含量无明显差异（表1）。结果表明，与对照组相比，不同O_2/CO_2简易气调均延缓了‘富士’苹果果实可滴定酸含量降低，且三组处理对‘富士’苹果果实

表1　不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果果实品质的影响

Table 1　Effects of different O_2 / CO_2 on fruit quality changes of ‘Fuji’ apple in modified atmosphere storage

测定项目 Measuring item	处理 Treatment	贮藏时间 Storage time/d					
		0	30	60	90	120	150
失重率 Weight loss ration/%	对照 Control	0.00 a	0.43 a	0.75 b	1.10 b	1.24 b	1.63 b
	处理Ⅰ Treatment Ⅰ	0.00 a	0.36 a	0.52 a	0.89 a	0.93 a	1.08 a
	处理Ⅱ Treatment Ⅱ	0.00 a	0.38 a	0.63 ab	1.09 b	1.14 b	1.17 a
	处理Ⅲ TreatmentⅢ	0.00 a	0.41 a	0.55 a	0.99 ab	1.06 ab	1.21 a
硬度 Firmness/(kg·cm^{-2})	对照 Control	7.99 a	8.21 a	7.41 a	7.02 a	6.74 a	6.38 a
	处理Ⅰ Treatment Ⅰ	7.99 a	8.35 a	7.59 a	7.59 ab	7.10 ab	7.23 b
	处理Ⅱ Treatment Ⅱ	7.99 a	8.00 a	7.84 a	7.65 ab	7.73 c	7.56 b
	处理Ⅲ Treatment Ⅲ	7.99 a	8.44 a	7.98 a	7.94 b	7.64 bc	7.80 b
w（可溶性固形物） Soluble solid content/%	对照 Control	14.07 a	14.38 a	15.35 a	13.44 a	13.41 a	12.91 a
	处理Ⅰ Treatment Ⅰ	14.07 a	14.92 a	15.30 a	13.81 a	14.19 a	13.42 ab
	处理Ⅱ Treatment Ⅱ	14.07 a	14.88 a	14.90 a	14.17 a	14.25 a	13.79 b
	处理Ⅲ Treatment Ⅲ	14.07 a	14.53 a	15.56 a	13.95 a	14.00 a	14.70 c
w（可滴定酸） Titratable acid content/%	对照 Control	0.30 a	0.22 a	0.23 a	0.20 a	0.17 a	0.16 a
	处理Ⅰ Treatment Ⅰ	0.30 a	0.35 b	0.30 ab	0.28 b	0.20 a	0.21 a
	处理Ⅱ Treatment Ⅱ	0.30 a	0.29 ab	0.28 ab	0.26 b	0.19 a	0.19 a
	处理Ⅲ Treatment Ⅲ	0.30 a	0.33 b	0.36 b	0.24 ab	0.20 a	0.20 a

可滴定酸含量的影响无明显差异。

2.3　不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果相对电导率、丙二醛（MDA）含量的影响

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实相对电导率呈上升趋势。在贮藏 60、90、150 d 时，处理Ⅲ果实相对电导率显著高于其他三组；贮藏 30、120 d 时处理Ⅱ和处理Ⅲ果实相对电导率无明显差异，但都显著高于对照组及处理Ⅰ果实相对电导率；对照组及处理Ⅰ果实相对电导率无明显差异（图 2）。结果表明，处理Ⅰ对‘富士’苹果长期贮藏过程中相对电导率变化无明显影响，当 O_2 浓度小于 10%、CO_2 浓度大于 5%时，相对电导率随着 O_2/CO_2 比值的降低而增加。

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实 MDA 含量呈现上升趋势。在贮藏 30 d 时，四组未表现出明显差异；在贮藏 60、120 d 时，处理Ⅲ 果实 MDA 含量显著高于其他三组；在贮藏 90、150 d 时，处理Ⅱ和处理Ⅲ果实 MDA 含量无明显差异，但均显著高于对照组及处理Ⅰ；在贮藏 90、120、150 d 时，处理Ⅰ果实 MDA 含量相对较低（图 2）。结果表明，相较于其他三组，处理Ⅰ可以维持更低的 MDA 含量，当 O_2 浓度小于 10%、CO_2 浓度大于 5%时，‘富士’苹

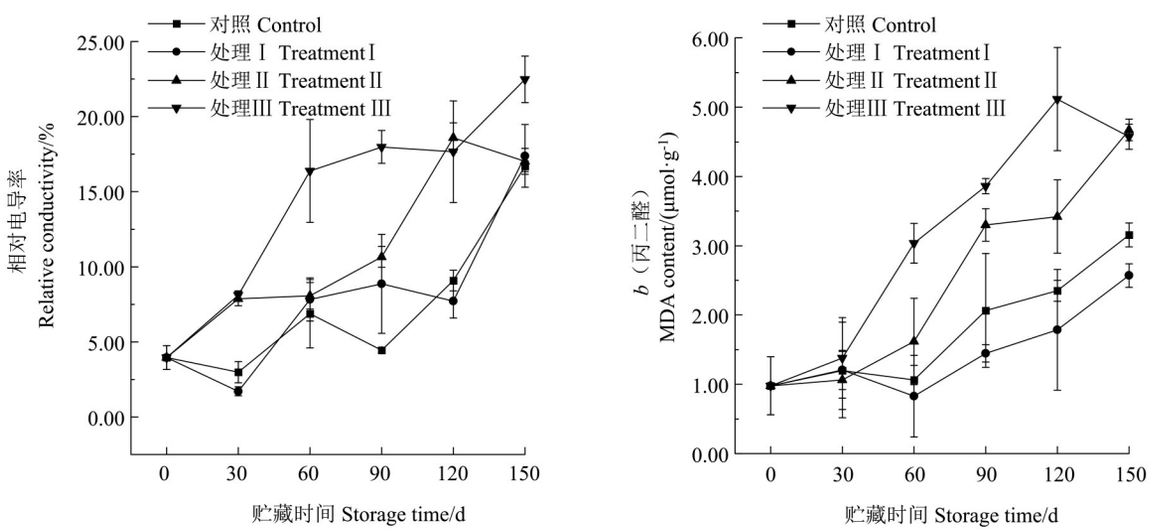

图2　不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果相对电导率及MDA含量的影响

Fig. 2　Effects of different O_2 / CO_2 on relative conductivity and MDA content of ‘Fuji’ apple in modified atmosphere storage

果 MDA 含量随着 O_2/CO_2 比值的降低而增加。

2.4 不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果O_2^-产生速率和H_2O_2含量的影响

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实 O_2^- 产生速率整体呈上升趋势。处理Ⅲ在贮藏第 60 天时，果实 O_2^- 产生速率增加，并显著高于其他三组，但在第 120 天时出现下降；处理Ⅱ在贮藏第 90 天时果实 O_2^- 产生速率出现显著上升趋势，在贮藏 90、120 d 时果实 O_2^- 产生速率显著高于对照组及处理Ⅰ；而处理Ⅰ在贮藏 120、150 d 时，果实维持较低的 O_2^- 产生速率，在贮藏结束时，与其他三组差异显著（图 3）。结果表明，相较于其他三组，处理Ⅰ中 O_2^- 产生速率更低，当 O_2 浓度小于 10%、CO_2 浓度大于 5%时，‘富士’苹果 O_2^- 产生速率随着 O_2/CO_2 比值的降低而增大。

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实 H_2O_2 含量整体呈上升趋势。处理Ⅲ果实 H_2O_2 含量整体呈先上升后下降的趋势，在贮藏第 60 天时，H_2O_2 含量显著提升，且高于其他三组，但在贮藏第 120 天时明显下降；处理Ⅱ果实 H_2O_2 含量整体呈上升趋势，在贮藏 120、150 d 时，显著高于其他三组；在贮藏 30、60、90、120 d 时，处理Ⅰ果实 H_2O_2 含量显著低于其他三组（图 3）。结果表明，相较于其他三组，处理Ⅰ显著降低了‘富士’苹果长期贮藏过程中 H_2O_2 含量，当 O_2 浓度小于 10%、CO_2 浓度大于 5%时，H_2O_2 含量

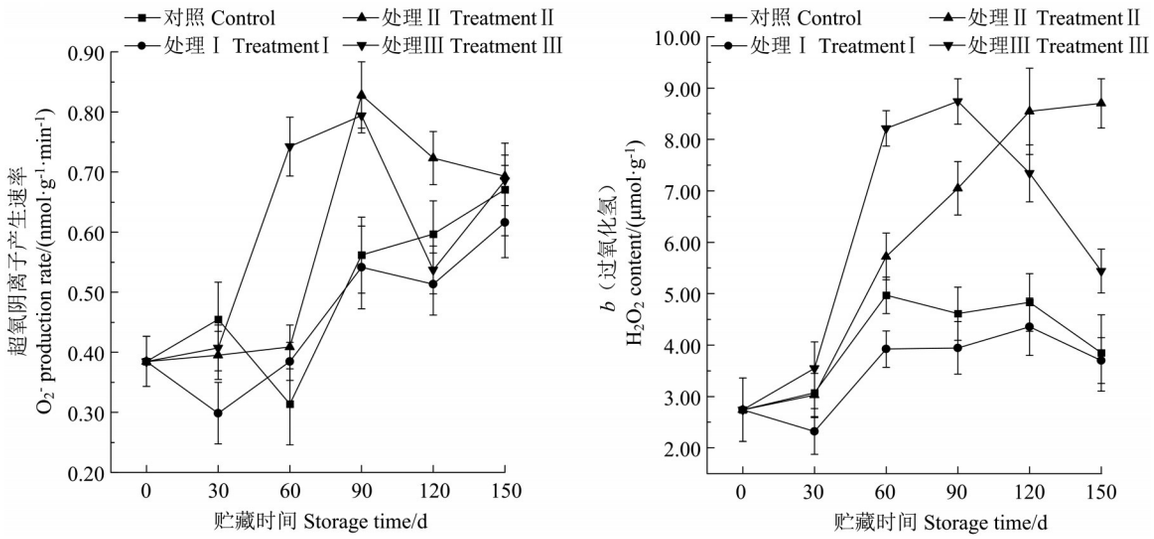

图3 不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果O_2^-产生速率和H_2O_2含量的影响

Fig. 3 Effects of different O_2 / CO_2 on O_2^- production rate and H_2O_2 content of ‘Fuji’ apple in modified atmosphere storage

显著增加。

2.5 不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果SOD、PLD活性的影响

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实 SOD 活性整体呈下降趋势。在贮藏第 60 天时，处理Ⅲ果实 SOD 活性大幅下降，显著低于其他三组，并且在之后的贮藏过程中一直保持较低含量；在贮藏第 120 天时显著下降，处理Ⅱ果实 SOD 活性为 6.83 $U\cdot g^{-1}\cdot min^{-1}$；在贮藏 90、150 d 时，对照组果实 SOD 活性显著高于其他三个组（图 4）。结果表明，‘富士’苹果 SOD 活性随着 O_2/CO_2 比值的降低而减小。

‘富士’苹果长期贮藏过程中，果实 PLD 活性整体呈现上升趋势。处理Ⅲ果实 PLD 活性整体呈先上升后下降在上升的趋势，在贮藏第 60 天时，PLD 活性显著提升，但在贮藏 90、120 d 时明显下降，在贮藏第 150 天时再次上升，并与其他三组差异显著；处理Ⅱ果实 PLD 活性在贮藏第 60 天时显著上升，且高于其他三组，在贮藏第 90 天时又大幅度下降，在贮藏 120、150 d 时，呈上升趋势；贮藏第 150 天时，对照组果实 PLD 活性显著低于其他三组（图 4）。结果表明，‘富士’苹果 PLD 活性随着 O_2/CO_2 比值的降低而增加。

2.6 不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果ATP含量的影响

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实 ATP 含量整体呈下降趋势。在贮藏 30、90、150 d 时，处理Ⅲ果实 O_2^- 产生速率显著低于其他三组；在贮藏第 120 天时，处理Ⅱ果实 ATP 含量下降，且显著低于对照组和处理Ⅰ，为 51.54 $nmol\cdot g^{-1}$；在贮藏过程中，对照

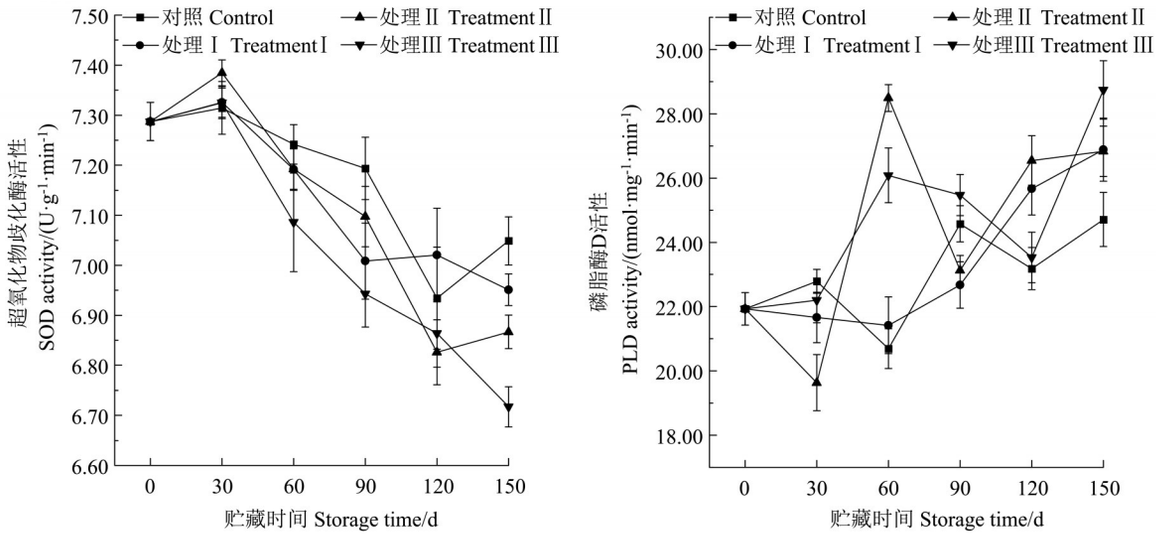

图4　不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果SOD、PLD活性的影响

Fig. 4　Effects of different O_2 / CO_2 on SOD and PLD activities of ‘Fuji’ apple in modified atmosphere storage

组果实 ATP 含量维持较高水平，且在贮藏 60、120 d 时显著高于其他三组（图 5）。结果表明，‘富士’苹果 ATP 含量随着 O_2/CO_2 比值的降低而减小。

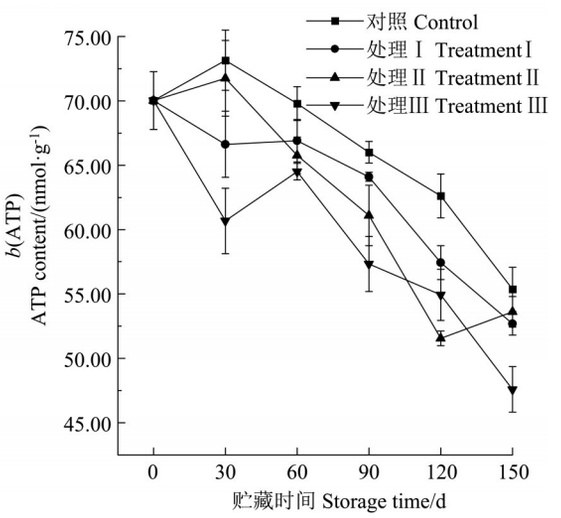

图5　不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果ATP含量的影响

Fig. 5　Effects of different O_2 / CO_2 on ATP content of ‘Fuji’ apple in modified atmosphere storage

2.7　不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果线粒体H^+-ATPase、线粒体Ca^{2+}-ATPase活性的影响

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实线粒体 H^+-ATPase 活性整体呈下降趋势。处理Ⅲ果实线粒体 H^+-ATPase 活性在贮藏第 90 天时明显下降，在贮藏 90、120、150 d 时，显著低于其他三组；在整个贮藏过程中，处理Ⅱ果实线粒体 H^+-ATPase 活性显著低于对照组及处理Ⅰ；在贮藏 120、150 d 时，对照及处理Ⅰ果实线粒体 H^+-ATPase 活性无明显差异（图 6）。结果表明，处理Ⅰ对‘富士’苹果长期贮藏过程中线粒体 H^+-ATPase 活性无明显影响，当 O_2 浓度小于 10%、CO_2 浓度大于 5%时，‘富士’苹果线粒体 H^+-ATPase 活性随着 O_2/CO_2 比值的降低而减小。

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实线粒体 Ca^{2+}-ATPase 活性整体呈现下降趋势。处理Ⅲ果实线粒体 Ca^{2+}-ATPase 活性呈现明显下降趋势，在贮藏 30、60、120、150 d，均显著低于其他三组；处理Ⅱ果实线粒体 Ca^{2+}-ATPase 活性在贮藏第 90 d 出现明显下降趋势，之后维持较低的酶活性；在贮藏 90、150 d 时，对照组果实线粒体 Ca^{2+}-ATPase 活性显著高于处理Ⅰ（图 6）。结果表明，‘富士’苹果线粒体 Ca^{2+}-ATPase 活性随着 O_2/CO_2 比值的降低而减小。

2.8　不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果琥珀酸脱氢酶（SDH）、细胞色素氧化酶（CCO）活性的影响

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实 SDH 活性整体呈现下降趋势。在贮藏第 60 天时，处理Ⅱ和处理Ⅲ果实 SDH 活性均出现明显下降趋势，并显著低于对照及处理Ⅰ；在贮藏 90、120 d 时，处理Ⅲ果实 SDH 活性显著低于其他三组；在贮藏第 150 天时，处理Ⅱ和处理Ⅲ果实 SDH 活性差异较小，且显著低于对照及处理Ⅰ；在贮藏 60、120 d 时，对照组果实 SDH 活性最高，并显著高于其他三组（图 7）。结果表明，‘富士’苹果 SDH 活性随着 O_2/CO_2 比值的降低而减小。

‘富士’苹果在长期贮藏过程中，果实细胞色素

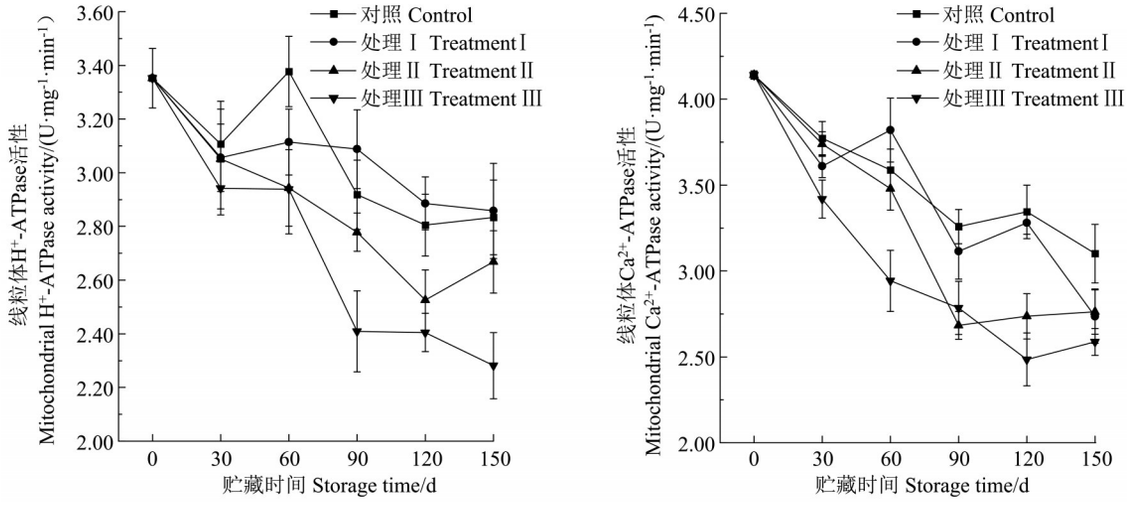

图6 不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果线粒体H^+-ATPase、线粒体Ca^{2+}-ATPase活性的影响

Fig. 6 Effects of different O_2 / CO_2 on H^+-ATPase, Ca^{2+}-ATPase activities of ‘Fuji’ apple in modified atmosphere storage

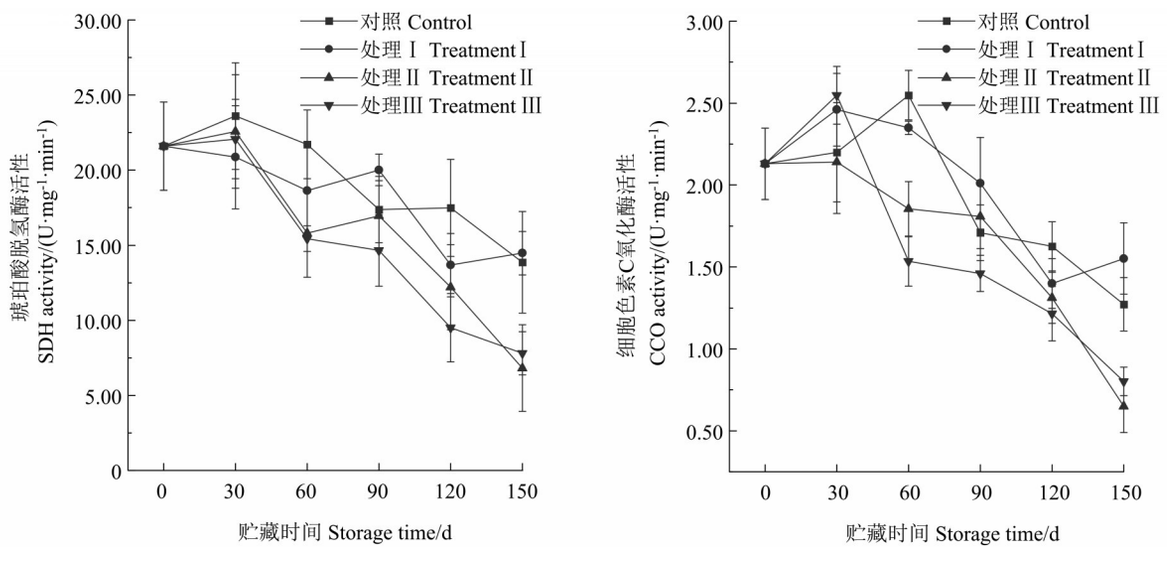

图7 不同O_2/CO_2简易气调对‘富士’苹果SDH、CCO活性的影响

Fig. 7 Effects of different O_2 / CO_2 on SDH and CCO activities of ‘Fuji’ apple in modified atmosphere storage

氧化酶活性整体呈现下降趋势。处理Ⅲ果实细胞色素氧化酶活性在贮藏第 60 天时大幅下降，在贮藏 60、90 d 时，显著低于其他三组；在贮藏第 150 天时，处理Ⅱ果实细胞色素氧化酶活性最低，且显著低于对照及处理Ⅰ；对照组与处理Ⅰ果实细胞色素氧化酶活性无明显差异（图 7）。结果表明，处理Ⅰ对‘富士’苹果长期贮藏过程中细胞色素氧化酶活性无明显影响，当 O_2 浓度小于 10%、CO_2 浓度大于 5%时，‘富士’苹果细胞色素氧化酶活性随着 O_2/CO_2 比值的降低而减小。

3 讨 论

‘富士’苹果 CO_2 伤害最直接的表现为果肉褐变，且褐变情况随着 CO_2 浓度的增加愈发严重[5]。膜完整性损伤被认为是导致褐变发生的主要原因之一[6]。本研究中，‘富士’苹果长期贮藏过程中，对照组和处理Ⅰ果实不会发生 CO_2 伤害，处理Ⅰ对果实相对电导率变化无明显影响，且可以维持更低的 MDA 含量；当 O_2 浓度小于 10%、CO_2 浓度大于 5%时，相对电导率和 MDA 含量随着 O_2/CO_2 比值的降低而增加，果肉褐变情况严重。说明‘富士’苹果 CO_2 伤害发生与相对电导率和 MDA 含量有关，CO_2 伤害越严重，相对电导率和 MDA 含量越高。这与田蓉[5]、寇莉苹等[20]发现‘富士’苹果果肉褐变后 MDA 含量和相对电导率呈上升趋势的研究结果相一致；Zhang 等[21]在研究南果梨褐变程度时也观察

到该结果。

细胞的膜脂代谢与 PLD 和 SOD 有关[8-9]。荔枝低温贮藏、香蕉在 7 ℃低温胁迫会激活 PLD 活性，加速果肉褐变[22-23]；黄瓜采后热处理、香蕉在 14 ℃可以降低 PLD 活性，抑制果实褐变[9,23]。草酸处理辣椒、杧果果实、茉莉酸甲酯处理枇杷果实、1 ℃贮藏乌梅均能显著诱导增强果实中 SOD 活性，降低 O_2^-、H_2O_2 产生，有助于维持膜结构的完整性，减少褐变发生[24-29]。本研究中，‘富士’苹果长期贮藏过程中，处理Ⅰ果实 O_2^- 产生速率、H_2O_2 含量维持较低水平，当 O_2 浓度小于 10%、CO_2 浓度大于 5%时，O_2^- 产生速率增大，H_2O_2 含量增加。同时，随着 O_2/CO_2 比值的降低，‘富士’苹果 SOD 活性减小，PLD 活性增加。这可能是由于果实处于低能量供应水平，会激活 PLD 活性[23]，同时抑制 SOD 活性，导致 O_2^- 和 H_2O_2 含量增加[30]。

细胞的能量水平对维持细胞膜完整性有重要作用[7]。纯氧、厌氧和 ATP 处理荔枝果实均能提高能量水平，保持细胞膜完整性，减轻果皮褐变[31-33]；桃果实在低温冷藏过程中褐变与能量水平呈负相关，采用低温预贮、冷锻炼处理、茉莉酸甲酯处理能维持采后桃果实体内较高 ATP 的含量，减轻桃褐变的发生[12，34-36]。桃果实果肉褐变时，线粒体 H^+-ATPase、线粒体 Ca^{2+}-ATPase、SDH 和 CCO 活性下降，ATP 水平降低[34]；水蜜桃、梨减压处理可以减慢线粒体 H^+-ATPase、线粒体 Ca^{2+}-ATPase、SDH 和 CCO 活性的下降速度，从而保证了线粒体能量代谢的正常进行[19]；草酸处理显著提高杧果和番茄中线粒体 H^+-ATPase、线粒体 Ca^{2+}-ATPase、SDH 活性，从而抑制褐变发生[37]。本研究中，‘富士’苹果长期贮藏过程中，处理Ⅰ对果实线粒体 H^+-ATPase、CCO 活性无明显影响，当 O_2 浓度小于 10%、CO_2 浓度大于 5%时，果实线粒体 H^+-ATPase、CCO 活性减小。同时，随着 O_2/CO_2 比值的降低，Ca^{2+}-ATPase、SDH 活性降低，ATP 含量减小。说明低 O_2 和高 CO_2 环境抑制了线粒体 H^+-ATPase、线粒体 Ca^{2+}-ATPase、SDH 和 CCO 活性。这些酶活性被抑制会导致果实线粒体生成 ATP 的机制受到阻碍，果实能量下降[37]。

4　结　论

相较于普通冷藏，不同比例 O_2/CO_2 简易气调均可以有效维持‘富士’苹果果实品质。当 O_2 浓度小于 10%、CO_2 浓度大于 5%时，果实中线粒体 H^+-ATPase、线粒体 Ca^{2+}-ATPase、SDH、CCO 活性降低，使 ATP 含量减小，细胞维持较低能量水平，导致 SOD 活性减弱，O_2^- 和 H_2O_2 增加，同时 PLD 被激活，膜结构完整性被破坏，褐变发生。本研究中‘富士’苹果果实长期贮藏过程中简易气调保鲜效果最好的是处理Ⅰ（3%CO_2+12%O_2+85%N_2）。

参考文献 References：

[1] 张薇薇 . 富士苹果不同贮藏条件下品质变化和消费者接受度差异研究[D]. 哈尔滨：东北农业大学，2018.
ZHANG Weiwei. Study on the difference of quality and consumer acceptance of fuji apple under different storage conditions [D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018.

[2] 宋春华，邓学超，刘亚琼，殷磊，姚利利，孙兆平，王颉 . 富士苹果硅窗气调贮藏保鲜研究[J]. 河北农业大学学报，2018，41(1)：64-69.
SONG Chunhua, DENG Xuechao, LIU Yaqiong, YIN Lei, YAO Lili, SUN Zhaoping, WANG Xie. Study on silicon window controlled atmosphere storage ‘Fuji’ apple[J]. Journal of Hebei Agricultural University, 2018, 41(1): 64-69.

[3] 白鸽 .1-MCP 处理时期对气调贮藏富士苹果品质、相关酶活性和基因表达的影响[D]. 西安：陕西师范大学，2016.
BAI Ge. Effects of 1-MCP treatment period on the quality, related enzyme activity and gene expression of Fuji apple during modified atmosphere storage[D]. Xi’an: Shaanxi Normal University, 2016.

[4] 曲怡宁 . 苹果果实贮藏期二氧化碳伤害特性观察与研究[D]. 杨凌：西北农林科技大学，2019.
QU Yining. Observation and study on CO_2 damage characteristics of apple fruit during storage[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2019.

[5] 田蓉 . 不同包装和不同 CO_2 充气处理对红富士苹果保鲜效果及抗性生理的影响[D]. 杨凌：西北农林科技大学,2015.
TIAN Rong. Effects of different packaging and inflatable packaging at different CO_2 concentrations on postharvest quality and resistance physiology of ‘Red Fuji’ apple[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2015.

[6] SUN J, YOU X R, LI L, PENG H X, SU W Q, LI C B, HE Q G, LIAO F. Effects of a phospholipase D inhibitor on postharvest enzymatic browning and oxidative stress of litchi fruit[J]. Postharvest Biology and Technology, 2011, 62: 288-294.

[7] WANG H, QIAN Z J, MA S M, ZHOU Y C, PATRICK J W, DUAN X W, JIANG Y M, QU H X. Energy status of ripening and postharvest senescent fruit of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) [J]. BMC Plant Biology, 2013, 13: 55.

[8] ALSCHER R G, ERTURK N, HEATH L S. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants[J].

Journal of Experimental Botany, 2002, 53: 1331-1341.

[9] MAO L C, PANG H Q, WANG G Z, WANG G Z, ZHU C G. Phospholipase D and lipoxygenase activity of cucumber fruit in response to chilling stress[J]. Postharvest Biology Technology, 2007, 44: 42-47.

[10] CRONJÉ P J R, ZACARÍAS L, ALFÉREZ F. Susceptibility to postharvest peel pitting in *Citrus* fruits as related to albedo thickness, water loss and phospholipase activity[J]. Postharvest Biology Technology, 2017, 123: 77-82.

[11] 阚娟，王红梅，金昌海，黄力华 . 桃果实成熟过程中活性氧和线粒体呼吸代谢相关酶的变化[J]. 食品科学，2009，30(8)：275-279.
KAN Juan, WANG Hongmei, JIN Changhai, HUANG Lihua. Changes of active oxygen and mitochondria respiratory metabolism-related enzymes during maturation of peach fruit[J]. Food Science, 2009, 30(8): 275-279.

[12] 赵颖颖，陈京京，金鹏，袁若暂，李会会，郑永华 . 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 Yingying, CHEN Jingjing, JIN Peng, YUAN Ruoxi, LI Huihui, ZHENG Yonghua. Effect of low temperature conditioning on chilling injury and energy status in cold-stored peach fruit [J]. Food Science, 2012, 33(4): 276-281.

[13] 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.
CAO Jiankang, JIANG Weibo, ZHAO Yumei. Experiment guidance of post-harvest physiology and biochemistry of fruits and vegetables[M]. Beijing: China Light Industry Press, 2007.

[14] 马伟科，张宏艳 . 线粒体细胞色素 C 与细胞调亡[J]. 实用医学杂志，2007，23(23)：3786-3788.
MA Weike, ZHANG Hongyan. Mitochondrial cytochrome C and cell apoptosis[J]. The Journal of Practical Medicine, 2007, 23(23): 3786-3788.

[15] 魏雯雯，吕平，冯建华，徐新明，杨相政，贾连文 .CO_2高透性富士苹果保鲜膜的研制与应用[J]. 北方园艺，2014(20)：141-143.
WEI Wenwen, LÜ Ping, FENG Jianhua, XU Xinming, YANG Xiangzheng, JIA Lianwen. Development and application of high CO_2 permeability of plastic wrap Fuji apple[J]. Northern Horticulture, 2014(20): 141-143.

[16] 甘瑾，张弘，马李一，郑华，陈智勇，石雷，陈晓鸣 . 漂白紫胶涂膜对苹果常温贮藏品质的影响[J]. 食品科学，2009，30(4)：444-447.
GAN Jin, ZHANG Hong, MA Liyi, ZHENG Hua, CHEN Zhiyong, SHI Lei, CHEN Xiaoming. Effect of bleached shellac on quality of apple at room temperature storage[J]. Food Science, 2009, 30(4): 444-447.

[17] 徐艳艳 . 苹果冰点温度贮藏品质及质构变化研究[D]. 福州：福建农林大学，2014.
XU Yanyan. Study on the storage quality and texture of apple in freezing-point storage[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2014.

[18] 赵宇瑛 . 黄瓜磷脂酶 D 和抗氧化系统对采后机械损伤胁迫的相应[D]. 杭州：浙江大学，2011.
ZHAO Yuying. Responses of phospholipase and antioxidant system to mechanical wounding in postharvest cucumber fruits[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011.

[19] 陈文烜 . 水蜜桃、梨减压保鲜技术及机制研究[D]. 北京：中国农业大学，2015.
CHEN Wenxuan. The study of technology and mechanism of hypobaric storage on peach and pear fruit after harvest[D]. Beijing: China Agricultural University, 2015.

[20] 寇莉苹，刘兴华，丁武，李彦萍 . 富士苹果贮藏期间果肉褐变的生化特性研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版)，2000，30(S1)：61-64.
KOU Liping, LIU Xinghua, DING Wu, LI Yanping. Studies on the biochemical characteristics of flesh browning of ‘Fuji’ apple in storage[J]. Journal of Northwest Sci-Tech University of A & F (Nature Science Edition), 2000, 30(S1): 61-64.

[21] ZHANG L, WANG J W, ZHOU X, SHI F, FU W W, JI S J. Effect of ATP treatment on enzymes involved in energy and lipid metabolisms accompany peel browning of ‘Nanguo’ pears during shelf life after low temperature storage[J]. Scientia Horticulturae, 2018, 240: 446-452.

[22] LIU H, SONG L L, YOU Y L, LI Y B, DUAN X W, JIANG Y M, JOYCE D C, ASHRAF M, LU W J. 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: 24-30.

[23] HE X M, LI L, SUN J, LI C B, SHENG J F, ZHENG F J, LI J M, LIU G M, LING D N, TANG Y Y. Adenylate quantitative method analyzing energy change in postharvest banana (*Musa acuminate* L.) fruits stored at different temperatures[J]. Scientia Horticulturae, 2017, 219: 118-124.

[24] 朱丽琴，张伟，汪伟，陈宇欢 . 外源草酸对辣椒保鲜效果和抗氧化防御系统的影响[J]. 江西农业大学学报，2013，35(3)：521-524.
ZHU Liqin, ZHANG Wei, WANG Wei, CHEN Yuhuan. Effects of exogenous oxalic acid on preservation and antioxidant defense system of hot pepper fruits[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2013, 35(3): 521-524.

[25] CAO S F, ZHENG Y H, WANG K T, JIN P, RUI H J. Methyl jasmonate reduces chilling injury and enhances antioxidant enzyme activity in postharvest loquat fruit[J]. Food Chemistry, 2009, 115: 1458-1463.

[26] 郑小林，田世平，李博强，徐勇 . 草酸对冷藏期间桃果实抗氧化系统和 PPO 活性的影响[J]. 园艺学报，2005，32(5)：788-792.
ZHENG Xiaolin, TIAN Shiping, LI Boqiang, XU Yong. Changes in antioxidant systems and polyphenol oxidase activity in peach fruit treated with exogenous oxalic acid during storage at low temperature[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2005, 32(5): 788-

792.

[27] 郑小林，田世平，徐勇，李博强 . 气调贮藏下草酸处理对芒果果实成熟和腐烂的影响[J]. 果树学报，2005，22(4)：351-355.
ZHENG Xiaolin, TIAN Shiping, XU Yong, LI Boqiang. Effects of exogenous oxalic acid on ripening and decay incidence in mango fruit during storage at controlled atmosphere[J]. Journal of Fruit Science, 2005, 22(4): 351-355.

[28] 郑小林，田世平，李博强 . 外源草酸延缓采后芒果成熟及其生理基础的研究[J]. 中国农业科学，2007，40(8)：1767-1773.
ZHENG Xiaolin, TIAN Shiping, LI Boqiang. Physiological roles of exogenous oxalicacid in delaying ripening of mango fruit during storage[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2007, 40(8): 1767-1773.

[29] IMAHORI Y, TAKEMURA M, BAI J. Chilling-induced oxidative stress and antioxidant response in mume (*Prunus mume*) fruit during low temperature storage[J]. Postharvest Biology and Technology, 2008, 49(1): 54-60.

[30] KAN J, WANG H M, JIN C H. 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.

[31] DUAN X W, JIANG Y M, SU X G, LIU H, LI Y B, ZHANG Z Q, ZHENG Y H, JINAG W B. Role of pure oxygen treatment in browning of litchi fruit after harvest[J]. Plant Science, 2004, 167 (3): 665-668.

[32] YANG E, LU W J, QU H X, LIN H D, WU F W, YANG S Y, CHEN Y L, JIANG Y M. Altered energy status in pericarp browning of litchi fruit during storage[J]. Pakistan Journal of Botany, 2009, 41(5): 2271-2279.

[33] 刘亭，钱政江，杨恩，吴富旺，屈红霞，蒋跃明 . 呼吸活性和能量代谢与荔枝果实品质劣变的关系[J]. 果树学报，2010，27 (6)：946-951.
LIU Ting, QIAN Zhengjiang, YANG En, WU Fuwang, QU Hongxia, JIANG Yueming. Respiratory activity and energy metabolism of harvested litchi fruit and their relationship to quality deterioration[J]. Journal of Fruit Science, 2010, 27(6): 946-951.

[34] 陈京京，金鹏，李会会，蔡玉婷，赵颖颖，郑永华 . 低温贮藏对桃果实冷害和能量水平的影响[J]. 农业工程学报，2012，28 (4)：275-281.
CHEN Jingjing, JIN Peng, LI Huihui, CAI Yuting, ZHAO Yingying, ZHENG Yonghua. Effects of low temperature storage on chilling injury and energy status in peach fruit[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2012, 28(4): 275-281.

[35] 祝美云，白欢，梁丽松，王贵禧 . 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 Meiyun, BAI Huan, LIANG Lisong, WANG Guixi. 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, 2012, 28(23): 257-264.

[36] JIN P, ZHU H, WANG J, CHEN J J, WANG X L, ZHENG Y H. Effect of methyl jasmonate on energy metabolism in peach fruit during chilling stress[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2013, 93(8): 1827-1832.

[37] 李佩艳 . 草酸处理对冷敏型果实采后冷害的缓解效应及其机制研究[D]. 杭州：浙江工商大学，2014.
LI Peiyan. Oxalic acid treatment alleviates chilling injury in chilling sensitive fruits during cold storage[D]. Hangzhou: Zhejiang Gongshang University, 2014.