



# 草莓果实线粒体呼吸代谢与超微弱发光的关系

孙 聪,白 杨,李连国,郭金丽\*

(内蒙古农业大学 园艺与植保学院,呼和浩特 010010)

**摘要:**该试验以草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)品种‘红颜’果实为试材,采用水杨基氧肟酸(SHAM)抑制线粒体交替呼吸途径,使细胞色素途径单独运行,并用电子传递与氧化磷酸化偶联促进剂[二磷酸腺苷(ADP)、琥珀酸钠( $C_4H_4Na_2O_4$ )]和抑制剂[2,4-二硝基苯酚(DNP)、原钒酸钠溶液( $NaVO_4$ )]对线粒体提取液进行处理,对比分析在促进和抑制呼吸代谢情况下,草莓果实线粒体呼吸代谢与超微弱发光(UWL)的变化及二者之间的关系。结果显示:(1)草莓果实线粒体经促进剂处理后,呼吸代谢关键酶琥珀酸脱氢酶(SDH)、细胞色素氧化酶(COX)、ATP合酶( $H^+-ATPase$ )活性以及呼吸速率、三磷酸腺苷(ATP)含量均随着促进剂浓度的增加而增加,UWL强度亦增强,且各浓度下的呼吸代谢指标和UWL强度均高于对照;经抑制剂处理后,以上呼吸代谢各指标及UWL强度的变化与促进剂处理相反,且均低于对照。(2)各促进剂、抑制剂处理条件下,草莓果实线粒体呼吸代谢各指标均与其UWL强度呈正相关。研究表明,草莓果实线粒体UWL强度随着呼吸代谢的变化而变化;促进剂促进了呼吸代谢,导致UWL强度增加,而抑制剂却抑制了呼吸代谢,导致UWL强度减弱;线粒体是UWL产生的细胞器之一,线粒体呼吸代谢过程中激发了UWL。

**关键词:**草莓果实;线粒体;呼吸代谢;超微弱发光

中图分类号:Q942.5

文献标志码:A

## Relationship between Mitochondrial Respiratory Metabolism and Ultraweak Luminescence in Strawberry Fruit

SUN Cong, BAI Yang, LI Lianguo, GUO Jinli\*

(College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010010, China)

**Abstract:** In this experiment, the ‘Hongyan’ strawberry fruit (*Fragaria ananassa* Duch.) was used as test material, and salicylhydroxamic acid (SHAM) was used to inhibit the mitochondrial alternative pathway to make the cytochrome pathway run alone. The mitochondrial extract was treated with electron transfer and oxidative phosphorylation coupling accelerators [adenosine diphosphate (ADP) and succinic acid disodium salt ( $C_4H_4Na_2O_4$ )] and inhibitors [2,4-dinitrophenol (DNP) and sodium vanadate solution ( $NaVO_4$ )]. Under the condition of promoting and inhibiting respiratory metabolism, the changes of mitochondrial respiratory metabolism and ultra weak luminescence (UWL) and the relationship between them were compared and analyzed in strawberry fruit. The results showed that: (1) the mitochondria of strawberry fruit were treated with accelerator, the key enzymes activity of respiratory metabolism including succinate dehydrogenase (SDH), cytochrome oxidase (COX), ATP synthase ( $H^+-ATPase$ ), respiration rate and adenosine triphosphate (ATP) content increased with the increase of concentration, and the intensity of UWL

收稿日期:2019-07-10;修改稿收到日期:2019-10-09

基金项目:国家自然科学基金(31260455)

作者简介:孙 聪(1993—),女,在读博士研究生,主要从事果树生理生态及栽培研究。E-mail:1025924102@qq.com

\*通信作者:郭金丽,博士,教授,硕士生导师,主要从事果树生理生态及栽培研究。E-mail:guojinli1111@163.com

increased with the increase of concentration. The respiratory metabolic index and UWL intensity at each concentration were higher than those of the control. After treatment with inhibitor, the changes of respiratory metabolism indexes and UWL intensity were opposite to those of accelerator, and all of them were lower than those of the control. (2) The correlation analysis showed that all indexes of respiratory metabolism were positively correlated with UWL. The above results showed that the mitochondrial UWL intensity of strawberry fruit changed with the change of respiratory metabolism; the accelerator promoted the respiratory metabolism and led to the increase of UWL intensity; on the contrary, the inhibitor inhibited respiratory metabolism and led to the decrease of UWL intensity; It suggested that mitochondria was one of the organelles that produced UWL, and UWL was stimulated in the process of mitochondrial respiration and metabolism.

**Key words:** strawberry fruit; mitochondria; respiratory metabolism; ultraweak luminescence

生物光子辐射(biophoton emission)是自然界普遍存在的一种生物发光现象,其光子辐射非常微弱,强度仅为 $1\sim 10^3 \text{ h}\nu \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ ,波长范围为180~800 nm,因其辐射强度极低,又被称为超微弱发光(ultra weak luminescence, UWL)或自发光(spontaneous luminescence)<sup>[1]</sup>。UWL普遍存在于生命体中,生命体的各个器官、组织、细胞都会向外辐射光子,该现象通常被认为是生物分子在生命代谢活动过程中从高能级向低能级的跃迁,它是生命活动的一种“能量损耗”<sup>[2]</sup>。UWL作为一个灵敏反映有机体生理生化反应状态的特征性指标,自20世纪80年代开始应用于农业科学等领域,研究内容主要集中在UWL与种子活性、果实品质及抗逆性的关系等方面<sup>[3-4]</sup>。这些研究主要探讨了UWL与生长发育的关系,并未进行UWL的激发机制等深层次的研究。有学者认为:UWL的激发与机体内细胞分裂、能量代谢、光合作用和信息传递等过程均密切相关<sup>[5,6]</sup>。但它们是如何激发UWL的还鲜有报道。

呼吸代谢是线粒体呼吸作用的主要代谢过程,它包括底物降解(底物氧化)和能量产生(末端氧化)两大部分,是典型的酶反应过程<sup>[7]</sup>。其中琥珀酸脱氢酶(SDH)、细胞色素氧化酶(COX)和ATP合酶( $\text{H}^+ \text{-ATPase}$ )是整个代谢过程中的关键酶,它们的变化能直接反映线粒体的功能。呼吸速率则是直接反映呼吸代谢强度的关键指标。呼吸代谢运行过程中释放的能量是植物体其他生命活动的能量来源,中间产物是植物体内许多重要物质生物合成的原料。呼吸代谢模式的改变与细胞、组织或机体的功能和活动状态密切相关。刘亭等发现过短期厌氧和纯氧处理均可提高荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)果实呼吸强度和ATP含量,延缓果实衰老和品质劣变<sup>[8]</sup>。Li等<sup>[9]</sup>研究表明, $\text{CO}_2$ 处理能降低采后西兰花(*Brassica oleracea* L. var. *botrytis* L.)呼吸速

率,抑制ATP含量及能荷水平的下降,延缓西兰花衰老。以上研究结果说明呼吸代谢的变化对植物果实的贮藏及品质均有影响,但呼吸代谢是否与UWL有关仍鲜有研究。因此,本试验以‘红颜’草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)果实为试材,通过促进剂和抑制剂调节线粒体呼吸代谢强度,研究呼吸代谢与UWL的变化,探讨线粒体呼吸代谢与UWL产生的关系,以期为进一步揭示植物中UWL的激发机制提供理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料与处理

试验于2017年在内蒙古农业大学进行,以呼和浩特市赛罕区新农蔬果采摘园的‘红颜’草莓为材料,选择全红期、大小一致且无病虫害的草莓果实,采摘后立即运回实验室,洗净晾干后参照Liang等<sup>[10]</sup>的方法提取线粒体。随后,以采用 $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的水杨基氧肟酸(SHAM,抑制交替呼吸途径,使细胞色素途径单独运行)处理的线粒体提取液作为对照,对经过SHAM处理的线粒体提取液分别进行如下处理:

(1)促进电子传递与氧化磷酸化偶联。采用二磷酸腺苷(ADP)和琥珀酸钠( $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_4$ )作为促进剂,设置ADP处理浓度分别为0、0.1、0.2、0.3、0.4 mmol·L<sup>-1</sup>, $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_4$ 处理浓度分别为0、2、4、6、8 mmol·L<sup>-1</sup>。

(2)抑制电子传递与氧化磷酸化偶联。采用2,4-二硝基苯酚(DNP)和原钒酸钠溶液( $\text{NaVO}_4$ )作为抑制剂,设置DNP处理浓度分别为0、0.25、0.50、0.75、1.00 mmol·L<sup>-1</sup>, $\text{NaVO}_4$ 处理浓度分别为0、1、2、3、4 mmol·L<sup>-1</sup>。

每处理3次重复,处理后立即进行各项试验指标的测定。

## 1.2 测定指标及方法

**1.2.1 超微弱发光强度** 超微弱发光(UWL)强度采用北京建新力拓科技有限公司生产的超微弱发光测试仪(BPCL-2-SH)进行测定。开机预热30 min后,将1 mL 经过 $40 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  SHAM 处理的90 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的线粒体提取液分别加入1 mL 不同浓度促进剂和抑制剂的溶液中,打开光窗,立即进行测定<sup>[11]</sup>。

**1.2.2 呼吸代谢相关酶活性** 琥珀酸脱氢酶(SDH)活性的测定参考 Ackrell 等<sup>[12]</sup> 和马春媚<sup>[13]</sup> 的方法;细胞色素氧化酶(COX)活性的测定参考 Errede 等的方法<sup>[14]</sup>;ATP 合酶( $\text{H}^+$ -ATPase)活性的测定参照何飞龙等的方法<sup>[15]</sup>。

**1.2.3 线粒体呼吸速率和 ATP 含量** 线粒体呼吸速率使用汉莎 Chorolab-2 氧电极测定。ATP 含量使用 ELITE Lachrom pump L-2130 高效液相色谱仪测定(基本配置:HITACHI UV-VIS Deteetor L-2300 紫外检测器,Hitachi Autosampler L-2200 自动进样器,Hitachi Column Oven L-2300 柱温箱),HC-2518R 高速冷冻离心机。标准品 5'-ATP 钠盐为 Sigma 公司产品,其他化学试剂为国产色谱纯,试验用水为 Milli-Q 超纯水(美国 Millipore 公司)。日立液相色谱柱 LaChrom-C<sub>18</sub>(4.6 mm×250 mm,5 μm);流动相为 35 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  Na<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 缓冲液(pH 6.8),流速为 1.0 $\text{mL} \cdot \text{min}^{-1}$ ,紫外检测波长为 259 nm;柱温为 30 °C;自动进样器进样量为 10 μL<sup>[16]</sup>。

## 1.3 数据统计分析

采用 Excel 2016 软件进行数据整理和绘图,SPSS 软件进行相关性分析。

## 2 实验结果

### 2.1 草莓果实线粒体 UWL 强度的变化

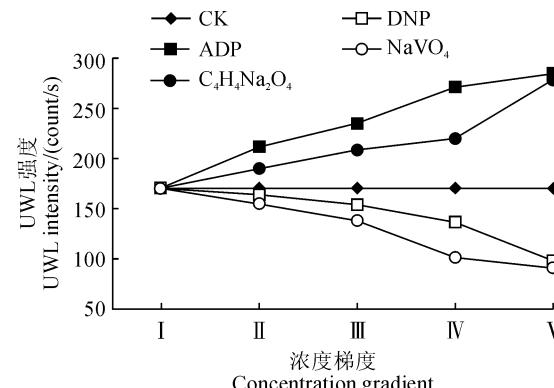
图 1 显示,随着电子传递与氧化磷酸化偶联促进剂 ADP 和 C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 处理浓度的增大,草莓果实线粒体 UWL 强度逐渐增加;而随着电子传递与氧化磷酸化偶联抑制剂 DNP 和 NaVO<sub>4</sub> 处理浓度的增加,UWL 强度逐渐降低。同时,各浓度 ADP、C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 处理的草莓线粒体 UWL 强度均高于对照(CK),而各浓度 DNP、NaVO<sub>4</sub> 处理的草莓线粒体 UWL 强度均低于对照(图 1)。

### 2.2 草莓果实线粒体呼吸代谢的变化

**2.2.1 呼吸代谢相关酶活性的变化** 图 2 显示,随着电子传递与氧化磷酸化偶联促进剂 ADP 和 C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 处理浓度的增加,草莓果实线粒体 SDH、

COX 和 H<sup>+</sup>-ATPase 活性整体均呈升高趋势;随着抑制剂 DNP 和 NaVO<sub>4</sub> 处理浓度的增加,草莓果实线粒体 SDH、COX 和 H<sup>+</sup>-ATPase 活性整体均呈降低趋势。ADP 和 C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 处理后的 SDH、COX 和 H<sup>+</sup>-ATPase 活性高于对照,而 DNP 和 NaVO<sub>4</sub> 处理后的 SDH、COX 和 H<sup>+</sup>-ATPase 活性低于对照。

**2.2.2 呼吸速率的变化** 随着促进剂 ADP 和 C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 处理浓度的增大,草莓果实线粒体呼吸速率基本呈上升趋势;而随着抑制剂 DNP 和 NaVO<sub>4</sub> 处理浓度的逐渐增加,草莓果实线粒体呼吸速率整体呈下降趋势。同时,促进剂 ADP 和 C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 处理的呼吸速率都基本高于对照,而抑制剂 DNP 和 NaVO<sub>4</sub> 处理的呼吸速率低于对照(图 2)。这说明促进剂促进了草莓线粒体呼吸代谢,增加了代谢相关



CK. 对照,40 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 水杨基羟肟酸(SHAM);ADP. 二磷酸腺苷, I、II、III、IV、V 浓度分别为 0、0.01、0.2、0.3、0.4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. 琥珀酸钠, I、II、III、IV、V 浓度分别为 0、2、4、6、8 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;

DNP. 2,4-二硝基苯酚, I、II、III、IV、V 浓度分别为 0、0.25、0.5、0.75、1.00 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;NaVO<sub>4</sub>. 原钒酸钠, I、II、III、IV、V 浓度分别为 0、1、2、3、4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ;下同

图 1 ADP、C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub>、DNP、NaVO<sub>4</sub> 处理下草莓果实线粒体 UWL 强度的变化

CK. Control, 40 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  salicylyhydroxamic acid (SHAM);ADP. Adenosine diphosphate, the concentration of I, II, III, IV, V are 0, 0.1, 0.2, 0.3 and 0.4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively; C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Succinic acid disodium salt, the concentration of I, II, III, IV, V are 0, 2, 4, 6 and 8 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively; DNP. 2,4-dinitrophenol, the concentration of I, II, III, IV, V are 0, 0.25, 0.50, 0.75 and 1.00 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively; NaVO<sub>4</sub>. Sodium vanadate solution, the concentration of I, II, III, IV and V are 0, 1, 2, 3 and 4 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , respectively; The same as below

Fig. 1 The changes of mitochondrial UWL in strawberry fruits treated by ADP, C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, DNP and NaVO<sub>4</sub>

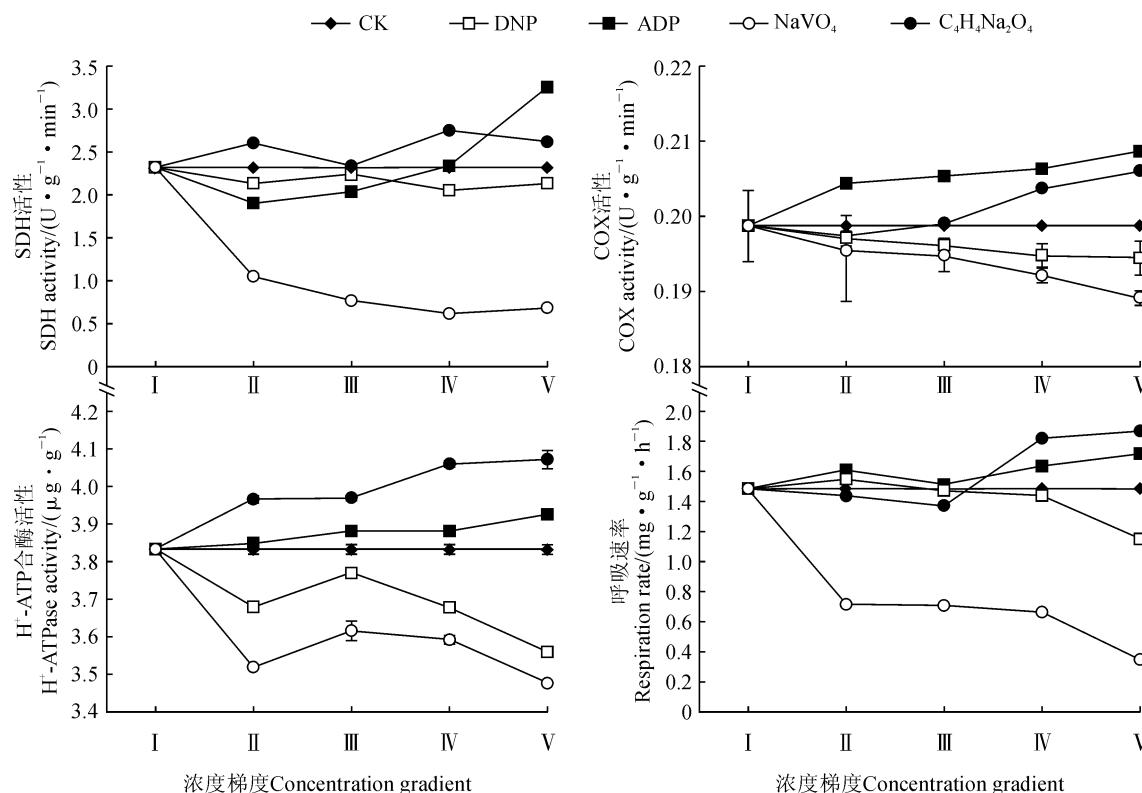


图 2 ADP、 $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_4$ 、DNP、NaVO<sub>4</sub> 处理下草莓果实线粒体 SDH、COX、 $\text{H}^+$ -ATPase 活性和呼吸速率的变化

Fig. 2 The changes of mitochondrial SDH, COX,  $\text{H}^+$ -ATPase activities and mitochondrial respiratory rate in strawberry fruits treated by ADP,  $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_4$ , DNP and NaVO<sub>4</sub>

酶活性,进而提高了呼吸速率;抑制剂抑制了呼吸代谢,减弱了相关酶活性,进而降低了呼吸速率。

**2.2.3 ATP 含量的变化** 图 3 表明,随着促进剂 ADP 和  $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_4$  处理浓度的增加,草莓果实线粒体 ATP 含量整体呈逐渐上升趋势;而随着抑制剂 DNP 和 NaVO<sub>4</sub> 处理浓度的增加,ATP 含量整体呈逐渐下降趋势。同时,ADP、 $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_4$  处理的草莓果实线粒体 ATP 含量都高于对照,而 DNP、NaVO<sub>4</sub> 处理的 ATP 含量均低于对照。

### 2.3 草莓果实线粒体呼吸代谢与超微弱发光强度的关系

草莓果实线粒体呼吸代谢与 UWL 强度的相关性分析结果(表 1)显示,经促进剂和抑制剂处理后,草莓果实线粒体呼吸代谢过程中 SDH、COX、 $\text{H}^+$ -ATPase 活性,以及呼吸速率、ATP 含量均与其 UWL 强度呈正相关。其中,经 ADP 处理后,COX、 $\text{H}^+$ -ATPase 活性与 UWL 强的呈显著正相关,ATP 含量与 UWL 强度呈极显著正相关;经  $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_4$  处理后,COX 活性与 UWL 强度呈显著正相关,ATP 含量与 UWL 强度呈极显著正相关;经 DNP 处理后,草莓线粒体呼吸速率、ATP 含量

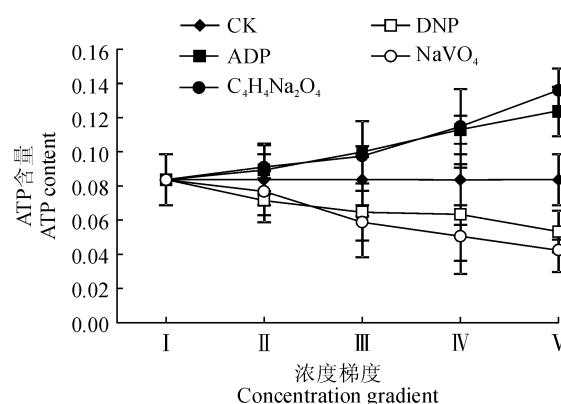


图 3 ADP、 $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_4$ 、DNP、NaVO<sub>4</sub> 处理下草莓果实线粒体 ATP 含量的变化

Fig. 3 The changes of mitochondrial ATP content in strawberry fruits treated by ADP,  $\text{C}_4\text{H}_4\text{Na}_2\text{O}_4$ , DNP and NaVO<sub>4</sub>

与 UWL 强度呈显著正相关;经 NaVO<sub>4</sub> 处理后,草莓线粒体 COX 活性、ATP 含量与 UWL 强度呈极显著正相关。以上分析结果说明,草莓果实线粒体呼吸代谢过程中的关键酶(SDH、COX、 $\text{H}^+$ -ATPase)活性及 ATP 含量均与 UWL 强度呈正相关,暗示呼吸代谢过程应是激发 UWL 的来源之一。

表 1 ADP、C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub>、DNP、NaVO<sub>4</sub> 处理下草莓果实线粒体呼吸代谢与 UWL 强度的相关分析

Table 1 The correlation between UWL and respiratory metabolism in mitochondria of strawberry fruits treated by ADP, C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, DNP and NaVO<sub>4</sub>

处理 Treatment	呼吸代谢 Respiratory metabolism	UWL 回归方程 UWL regression equation	相关系数 R Correlation coefficient
二磷酸腺苷 ADP	琥珀酸脱氢酶 SDH(X <sub>1</sub> )	$Y = 51.163 X_1 + 113.31$	0.585
	细胞色素氧化酶 COX(X <sub>2</sub> )	$Y = 11836 X_2 - 2188.1$	0.954*
	ATP 合酶 H <sup>+</sup> -ATPase(X <sub>3</sub> )	$Y = 1182.4 X_3 - 4347$	0.921*
	呼吸速率(X <sub>4</sub> )	$Y = 401.76 X_4 - 406.43$	0.821
	三磷酸腺苷 ATP(X <sub>5</sub> )	$Y = 2716 X_5 - 42.554$	0.971**
琥珀酸钠 C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> Na <sub>2</sub> O <sub>4</sub>	琥珀酸脱氢酶 SDH(X <sub>1</sub> )	$Y = 107.53 X_1 - 58.043$	0.500
	细胞色素氧化酶 COX(X <sub>2</sub> )	$Y = 9792.3 X_2 - 1754.3$	0.888*
	ATP 合酶 H <sup>+</sup> -ATPase(X <sub>3</sub> )	$Y = 359.12 X_3 - 1216.5$	0.842
	呼吸速率(X <sub>4</sub> )	$Y = 135.81 X_4 - 3.925$	0.764
	三磷酸腺苷 ATP(X <sub>5</sub> )	$Y = 1910.5 X_5 + 13.44$	0.979**
2,4-二硝基苯酚 DNP	琥珀酸脱氢酶 SDH(X <sub>1</sub> )	$Y = 148.9 X_1 - 179.22$	0.529
	细胞色素氧化酶 COX(X <sub>2</sub> )	$Y = 14035 X_2 - 2608.4$	0.858
	ATP 合酶 H <sup>+</sup> -ATPase(X <sub>3</sub> )	$Y = 239.88 X_3 - 744.11$	0.863
	呼吸速率(X <sub>4</sub> )	$Y = 177.08 X_4 - 107.37$	0.947*
	三磷酸腺苷 ATP(X <sub>5</sub> )	$Y = 2315.2 X_5 - 11.578$	0.895*
原钒酸钠溶液 NaVO <sub>4</sub>	琥珀酸脱氢酶 SDH(X <sub>1</sub> )	$Y = 26.702 X_1 + 105.11$	0.639
	细胞色素氧化酶 COX(X <sub>2</sub> )	$Y = 9063.7 X_2 - 1626.8$	0.966**
	ATP 合酶 H <sup>+</sup> -ATPase(X <sub>3</sub> )	$Y = 163.95 X_3 - 460.52$	0.665
	呼吸速率(X <sub>4</sub> )	$Y = 65.815 X_4 + 79.15$	0.810
	三磷酸腺苷 ATP(X <sub>5</sub> )	$Y = 1904.8 X_5 + 11.878$	0.971**

注: Y 为 UWL 强度( $\text{count} \cdot \text{s}^{-1}$ );  $X_i$  为对应呼吸代谢指标; \* 和 \*\* 分别表示在  $P < 0.05$  和  $P < 0.01$  水平下显著和极显著相关;  $|R| \geq 0.8$  为高度相关,  $0.5 \leq |R| < 0.8$  为中度相关,  $0.3 \leq |R| < 0.5$  为低度相关,  $|R| < 0.3$  基本不相关

Note: Y is the UWL intensity ( $\text{count} \cdot \text{s}^{-1}$ );  $X_i$  is the corresponding respiratory metabolism index; \* indicates that the correlation is significant at  $P < 0.05$ , and \*\* indicate that the correlation is extremely significant at  $P < 0.01$  level;  $|R| \geq 0.8$  is highly correlated,  $0.5 \leq |R| < 0.8$  is moderately correlated,  $0.3 \leq |R| < 0.5$  is low correlation, and  $|R| < 0.3$  means substantially irrelevant

### 3 讨 论

目前,有关 UWL 机制的假说主要集中于能量发光机制、活性氧发光机制、代谢发光机制和 DNA 发光机制等方面<sup>[17]</sup>。近年来,关于 UWL 代谢发光机制的研究备受关注。林桂玉等<sup>[18]</sup>研究发现,菊花 (*Chrysanthemum*) 花芽分化期叶片 UWL 强度与呼吸速率和能量水平等生理代谢密切相关;毛大璋等<sup>[19]</sup>在用 NaN<sub>3</sub> 抑制绿豆 [*Vigna radiata* (Linn.) Wilczek] 萌发过程中电子传递的试验结果显示,萌发绿豆的 UWL 与呼吸作用等氧化过程有关;杨起简等<sup>[20]</sup>在研究不同胁迫处理对几种作物籽粒萌发过程中 UWL 的影响中发现,不同胁迫处理会导致各种作物幼苗呼吸和线粒体氧化磷酸化能力降低,

同时也会导致 UWL 强度降低。这些研究结果均表明 UWL 与代谢密切相关。

在高等植物中,线粒体呼吸代谢过程中呼吸链(也叫电子传递链)可分为两类:一类是 NADH 复合体 I 进入呼吸链;另一类是琥珀酸经过复合体 II 进入呼吸链<sup>[21]</sup>。当琥珀酸通过复合体 II 进入呼吸链后,起连接氧化磷酸化与电子传递枢纽作用的 SDH 将琥珀酸中的 H<sup>+</sup> 脱掉形成 H<sub>2</sub>, 经过辅酶 Q 传递给复合体 III 并形成 2 个 H<sup>+</sup>, H<sup>+</sup> 被传递给复合体 IV 时,线粒体所特有的氧化磷酸化过程中的关键酶 COX 将 H<sup>+</sup> 氧化,最终形成 H<sub>2</sub>O,其中 COX 催化将细胞色素电子传递到 O<sub>2</sub> 的反应是能量代谢中主要的不可逆步骤<sup>[22]</sup>。而在线粒体整个呼吸过程中,呼吸电子传递链会形成跨电子膜质子梯度, H<sup>+</sup>-

ATPase 利用这一跨膜质子梯度合成 ATP<sup>[11]</sup>。研究发现,外源 NO 处理可通过抑制线粒体 SDH 和 COX 活性来降低呼吸强度<sup>[23]</sup>。Serlin 等<sup>[24]</sup>发现,通过测定 H<sup>+</sup>-ATPase 活性,能够进一步证明细胞能量的降低可能是由线粒体功能下降引起的。因此,SDH、COX 和 H<sup>+</sup>-ATPase 活性的变化均可作为反映线粒体呼吸代谢的重要指标。ATP 作为生物体内的“能量货币”,是能量的直接被利用形式,也是细胞内能量水平的重要表征,其含量的多少能够直接反映植物生命代谢活动的强弱,同时也可能影响细胞膜结构的完整性<sup>[25]</sup>。

本试验中发现,经电子传递与氧化磷酸化偶联促进剂 ADP 和 C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 处理后,草莓果实线粒体 SDH、COX 和 H<sup>+</sup>-ATP 活性随促进剂浓度的增加而增强;当加入 ADP 后,由于电子传递与氧化磷酸化相互偶联,质子通过 H<sup>+</sup>-ATP 进入线粒体内,减少对电子传递的限制并伴随产生 ATP<sup>[21]</sup>;促进剂 C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>Na<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 则是通过增加呼吸链的底物琥珀酸,从而使电子传递链高速进行,同时能够维持草莓果实线粒体膜结构的完整性,使有氧呼吸代谢增强<sup>[26-27]</sup>。草莓果实线粒体呼吸速率的相应变化结果也证明了这一点。同时,经抑制剂 DNP 和 Na-VO<sub>4</sub> 处理后,草莓果实线粒体 SDH、COX 和 H<sup>+</sup>-ATP 活性随抑制剂浓度的增加而降低;表明此时草

莓果实线粒体内电子传递与氧化磷酸化偶联受到抑制,导致线粒体膜质通透性增加,内膜受损,电子链传递被破坏,呼吸链上的电子泄露,质子梯度减小,能量合成受阻,果实线粒体能量降低<sup>[7]</sup>。另外,草莓果实线粒体 ATP 含量的变化随促进剂浓度的增加而上升,随抑制剂浓度的增加而下降。说明促进剂能使电子传递与氧化磷酸化正常高效进行,增加 H<sup>+</sup>-ATP 活性,促进能量合成;抑制剂能抑制电子传递与氧化磷酸化偶联,导致膜透性增加,电子泄露,进而阻碍能量合成。此外,经相关性分析发现,促进剂和抑制剂处理草莓果实线粒体时,其呼吸代谢的 SDH、COX、H<sup>+</sup>-ATP 活性,以及呼吸速率和 ATP 含量均与 UWL 强度呈正相关关系,这进一步证明呼吸代谢与 UWL 有关,且呼吸代谢可能是激发 UWL 的直接来源之一。

综上所述,电子传递和光合磷酸化偶联促进剂促进了草莓果实线粒体呼吸代谢强度,亦使 UWL 强度增加;相反,抑制剂抑制了草莓果实呼吸代谢强度,亦使 UWL 强度减弱;而且,呼吸代谢过程中 SDH、COX、H<sup>+</sup>-ATP 活性,以及呼吸速率和 ATP 含量均与 UWL 强度呈正相关关系,证明草莓果实线粒体 UWL 强度随着呼吸代谢的变化而变化。这进一步表明线粒体是产生 UWL 的细胞器之一,且呼吸代谢过程中激发了 UWL。

## 参考文献:

- [1] 郭金丽,刘欢,梁爽,等.活性氧调控下草莓果实衰老过程中活性氧与超微弱发光的关系[J].果树学报,2017,34(3):363-369.
- GUO J L, LIU H, LIANG S, et al. Relationship between reactive oxygen species and ultra-weak luminescence in strawberry fruit senescence regulated by reactive oxygen species[J]. *Journal of Fruit Trees*, 2017, 34(3): 363-369.
- [2] 王伟华,庞靖祥,黄金昭,等.生物光子的发展及应用[J].生物医学工程研究,2015,34(3):196-200.
- WANG W H, PANG J X, HUANG J Z, et al. The development and application of biophoton[J]. *Biomedicine Engineering Research*, 2015, 34(3): 196-200.
- [3] 程海鹏,王君晖,池浩超,等.豌豆种子萌发过程中超微弱发光的研究[J].浙江大学学报,2001,28(6):682-685.
- CHENG H P, WANG J H, CHI H C, et al. Study on ultra-weak luminescence of pea seeds during germination[J]. *Journal of Zhejiang University*, 2001, 28(6): 682-685.
- [4] 袁佐清.生物超微弱发光研究进展[J].安徽农业科学,2008,(8): 3 092-3 094.
- YUAN Z Q. Advances in ultra-weak bioluminescence studies [J]. *Anhui Agricultural Science*, 2008, (8): 3 092-3 094.
- [5] SLAWINSKI J. Luminescence research and its relation to ultraweak cell radiation [J]. *Experientia*, 1988, 33 (7): 559-571.
- [6] 刘欢,梁爽,闫宇彤,等.活性氧和能量调控下草莓果实衰老与超微弱发光的关系[J].西北植物学报,2017,37(6):1 182-1 188.
- LIU H, LIANG S, YAN Y Y, et al. Relationship between senescence and ultra-weak luminescence in strawberry fruit regulated by reactive oxygen species and energy[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2017, 37(6): 1 182-1 188.
- [7] 阚娟,王红梅,金昌海,等.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 J, WANG H M, JIN C H, et al. Changes of reactive oxygen species (Ros) and enzymes related to mitochondrial respiration and metabolism in peach fruits during ripening[J]. *Food Science*, 2009, 30(8): 275-279.
- [8] 刘亭,钱政江,杨恩,等.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.
- [9] LIU T, QIAN Z J, YANG E, et al. Relationship between respiratory activity and energy metabolism and deterioration of litchi fruit quality[J]. *Journal of Fruit Trees*, 2010, 27(6): 946-951.
- [10] LI L, LÜ FY, GUO Y Y. Respiratory pathway metabolism and energy metabolism associated with senescence in postharvest Broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *italica*) florets in response to O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> controlled atmospheres[J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2016, 111: 330-336.
- [11] LIAW W S, PAN J, LIANG H G. Activation of cyanide-resistant respiration by pyruvate in mitochondria of aged potato tuber slices[J]. *Plant Physiology and Plant Molecular Biology Arch*, 2003, 29(4): 317-321.
- [12] 刘 欢. 活性氧和能量调控下草莓采后衰老过程中超微弱发光的变化及其激发机制[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2016.
- [13] ACKRELL BAC, KEARNEY EB, SINGER TP. Mammalian succinate dehydrogenase[J]. *Methods in Enzymology*, 1967, 53: 466-483.
- [14] ERREDE B, KAMEN MD, HATEFI Y. Preparation and properties of complex IV (Ferrocytochrome c: Oxygen oxidoreducatase EC)[J]. *Method Enzymol*, 1967, 53: 40-47.
- [15] 何龙飞, 沈振国, 刘友良. 铝胁迫对小麦根系液泡膜 ATP 酶、焦磷酸酶活性和膜脂组成效应[J]. 植物生理学报, 1999, 25(4): 350-356.
- HE L F, SHEN Z G, LIU Y L. Effects of aluminum stress on vacuolar ATP enzyme, pyrophosphatase activity and membrane lipid composition in wheat roots[J]. *Journal of Plant Physiology*, 1999, 25(4): 350-356.
- [16] 朱冠宇. 草莓果实发育成熟及衰老过程中超微弱发光的变化及侧重于活性氧和能量水平的激发机制[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2015.
- [17] 孟亚芬. 干旱胁迫下葡萄超微弱发光的变化及其发生机制[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2017.
- [18] 林桂玉, 黄在范, 张翠华, 等. 菊花花芽分化期超微弱发光及生理代谢的变化[J]. 园艺学报, 2008, 35(12): 1 819-1 824.
- LIN G Y, HUANG Z F, ZHANG C H, et al. Changes of ultra-weak luminescence and physiological metabolism during flower bud differentiation of *Chrysanthemum morifolium*[J]. *Journal of Horticulture*, 2008, 35(12): 1 819-1 824.
- [19] 毛大璋, 沈 恽, 张月敬, 等. 代谢抑制剂对萌发绿豆超弱发光的影响[J]. 生物物理学报, 1988, 4(2): 116-120.
- MAO D Z, SHEN X, ZHANG Y J, et al. The effect of the metabolic inhibitor on the super-weak luminescence of the germinative mung bean [J]. *Biophysics*, 1988, 4(2): 116-120.
- [20] 杨起简. 几种作物籽粒萌发时超弱发光与其抗逆性关系[J]. 生物化学与生物物理进展, 1993, 20(4): 315-317.
- YANG Q J. The relationship between ultra-weak luminescence and stress resistance of several crops during seed germination[J]. *Advances in Biochemistry and Biophysics*, 1993, 20(4): 315-317.
- [21] 刘美君, 孙学娟, 张子山, 等. 植物线粒体呼吸状态的研究方法及其在植物生物学中的应用[J]. 植物生理学报, 2014, 50(1): 111-116.
- LIU M J, SUN X J, ZHANG Z S, et al. Study on the mitochondrial respiration state of plants and its application in plant biology [J]. *Acta Physiologica Sinica*, 2014, 50(1): 111-116.
- [22] 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.
- [23] 高 珊, 王 泉, 高吉刚, 等. 外源 NO 协同 N-乙酰半胱氨酸对肥城桃果实线粒体抗氧化系统的调控作用[J]. 华北农学报, 2017, 32(5): 163-170.
- GAO S, WANG Q, GAO J G, et al. Effects of exogenous NO and N-acetylcysteine on mitochondrial antioxidant system in Feicheng peach fruit[J]. *Journal of Agricultural Sciences of North China*, 2017, 32(5): 163-170.
- [24] SERLIN BS, SOPORY SK, ROUX SJ. Modulation of oat mitochondrial ATPase activity by Ca<sup>2+</sup> and phytochrome [J]. *Plant Physiology*, 1984, 74: 827-833.
- [25] 杨 杨. 一氧化氮参与调控番茄果实采后成熟衰老信号机制研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2018.
- [26] SAQUET AA, STREIF J, BANGERTH F. Changes in ATP, ADP and pyridine nucleotide levels related to the incidence of physiological disorders in "Conference" pears and "Jonagold" apples during controlled atmosphere storage[J]. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 2000, 75: 243-249.
- [27] 陈 莲, 陈梦茵, 林河通, 等. 解偶联剂 DNP 处理对采后龙眼果实果皮褐变和活性氧代谢的影响[J]. 中国农业科学, 2009, 42(11): 4 019-4 026.
- CHEN L, CHEN M Y, LIN H T, et al. Effects of uncoupling agent DNP on pericarp browning and reactive oxygen metabolism of longan fruit after harvest[J]. *Chinese Agricultural Science*, 2009, 42(11): 4 019-4 026.

(编辑:裴阿卫)