

DOI:10.11937/bfyy.201620005

草莓果实采后衰老过程中能量代谢的变化

郭金丽, 陈贵华, 樊 丽, 朱冠宇, 刘 欢, 李连国

(内蒙古农业大学 农学院, 内蒙古 呼和浩特 010019)

摘 要:以‘红颜’草莓果实为试材,研究了果实采后衰老过程中线粒体呼吸相关酶活性及能量水平的变化,以了解能量与草莓果实衰老的关系。结果表明:随着草莓果实的衰老,草莓果实线粒体琥珀酸脱氢酶(SDH)、 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性均明显下降,细胞色素氧化酶(CCO)活性上升;三磷酸腺苷(ATP)含量持续下降,二磷酸腺苷(ADP)和磷酸腺苷(AMP)含量上升;ATP、ADP、AMP 3 种能量物质含量差异明显,其中 ATP 含量远高于 ADP 和 AMP 含量,ATP 含量代表了草莓果实中的能量水平,且能荷(EC)与 ATP 协同变化;试验表明,草莓果实衰老与线粒体呼吸相关酶活性下降、线粒体功能下降而导致的能量不足有关。

关键词:草莓果实;衰老;线粒体;呼吸相关酶;能量

中图分类号:S 668.4 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)20-0018-04

近年来有研究开始逐渐关注园艺植物果实品质和衰老与能量水平的关系。如刘亭等^[1]研究发现,通过短期厌氧和纯氧处理均降低了荔枝果实褐变指数和细胞膜透性,提高了呼吸强度、ATP 含量、能荷值和交替氧化呼吸途径在总呼吸中的比例,表明能量水平与呼吸活性密切相关,并参与荔枝果实采后衰老和品质变化的调控;陈莲等^[2]经呼吸解偶联剂 2,4-二硝基苯酚(DNP)处理龙眼果实后,果皮 ATP 含量降低,膜脂过氧化程度加重,果皮褐变指数增大,表明 DNP 导致能量亏缺使细胞膜系统的损伤修复能力下降,加速果皮褐变。还有其它研究也进行了此方面的探索^[3-6]。以上研究结果认为,园艺植物果实采后衰老和品质劣变受能量水平调节。

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)果实柔软多汁、营养价值高,果实成熟后极易衰老与腐烂。草莓是典型的非跃变型果实,有关草莓果实衰老生理的研究很多,有关能量水平与草莓果实衰老的关系鲜见报道。该试验以‘红颜’草莓为试材,通过研究草莓果实衰老过程中能量代谢的变化,探索草莓果实衰老与能量水平的关系,了解侧重于能量方面的草莓果实衰老生理,为草莓果实

贮藏和保鲜提供相关参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试‘红颜’草莓种植于呼和浩特市新城区农丰果蔬种植农民专业合作社温室。

1.2 试验方法

选择全红期、大小一致、无病虫害的‘红颜’草莓果实,采摘后立即运回实验室,洗净晾干后以保鲜袋包装,于常温(25±1)℃贮藏,之后 1 d 取样 1 次用液氮速冻,于-80℃保存,用于三磷酸腺苷(ATP)、二磷酸腺苷(ADP)、磷酸腺苷(AMP)、能荷(EC)、琥珀酸脱氢酶(SDH)、细胞色素氧化酶(CCO)、 H^+ -ATPase、 Ca^{2+} -ATPase 的测定,共测 5 次。

1.3 项目测定

ATP、ADP、AMP 含量的测定使用 ELITE Lachrom Pump L-2130 高效液相色谱仪(配 HITACHI UV-VIS Detector L-2420 紫外检测器, HITACHI Autosampler L-2200 自动进样器及 HITACHI Column Oven L-2300 柱温箱);HC-2518R 高速冷冻离心机。标准品:5'-ATP 钠盐、5'-ADP 钠盐、5'-AMP 钠盐(Sigma 公司)。其它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-C18(4.6 mm×250 mm, 5 μm);流动相为 35 mmol·L⁻¹ NaH₂PO₄ 缓冲液(pH 6.8),流速为 1.0 mL·min⁻¹,紫外检测波长为 259 nm;柱温为 30℃;自动进样器进样量为 10 μL。能荷=(ATP+0.5 ADP)/(ATP+ADP+AMP)。

SDH 活性的测定参照 ACKRELL 等^[7]和朱广廉^[8]

第一作者简介:郭金丽(1972-),女,内蒙古呼和浩特人,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事果树生理和栽培及植物超微弱发光等研究工作。E-mail:guojinli1111@163.com。

责任作者:李连国(1959-),男,辽宁朝阳人,博士,教授,博士研究生导师,现主要从事果树生理生态及栽培等研究工作。E-mail:nmndllg@foxmail.com。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31260455)。

收稿日期:2016-07-21

的方法;CCO 活性的测定参照 ERREDE 等^[9]的方法; H^+ -ATPase 活性的测定参照 ZHANG 等^[10]的方法; Ca^{2+} -ATPase 活性的测定参照何龙飞等^[11]的方法。

1.4 数据分析

采用 Excel 统计软件进行处理,用 SPSS 软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 草莓果实采后衰老过程中呼吸代谢相关酶的变化

2.1.1 SDH 和 CCO 活性的变化 由图 2 可知,草莓果实采后常温贮藏下,SDH 活性先于贮藏第 2 天小幅上升,为 $4.125 U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$,后迅速下降,至贮藏结束时仅为 $1.200 U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$;SDH 活性整体下降,贮藏结束时较贮藏前下降了 60.49%(图 1)。CCO 活性在贮藏前 3 d 基本没有明显的变化,之后上升;CCO 活性整体呈上升趋势,贮藏结束时较贮藏前上升了 50.00%。SDH、CCO 是线粒体中重要的呼吸相关酶,SDH 和 CCO 活性下降会阻碍三羧酸循环和呼吸链的顺利进行,从而导致线粒体功能障碍,影响能量生成效率。草莓果实采后衰老过程中 SDH 活性下降而 CCO 活性上升,但 SDH 活性下降更为明显。

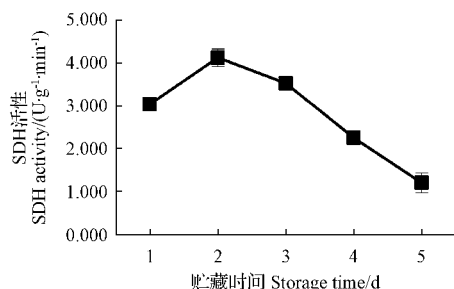


图 1 草莓果实衰老过程中 SDH 活性的变化

Fig. 1 The variation of SDH activity during the process of fruit senescence in strawberry

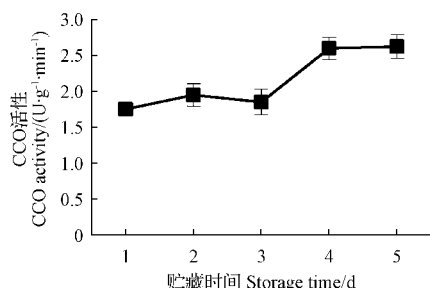


图 2 草莓果实衰老过程中 CCO 活性的变化

Fig. 2 The variation of CCO activity during the process of fruit senescence in strawberry

2.1.2 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性的变化 从图 3 可以看出,草莓果实采后常温贮藏下, H^+ -ATPase 活性先缓慢升高,于第 3 天达到峰值为 $22.373 \mu g \cdot g^{-1}$,

之后迅速下降; H^+ -ATPase 活性整体呈下降趋势,贮藏结束时较贮藏前下降了 40.62%。由图 4 可知, Ca^{2+} -ATPase 活性先缓慢升高,于第 4 天达到峰值为 $2.266 \mu g \cdot g^{-1}$,之后急速下降; Ca^{2+} -ATPase 活性整体呈下降趋势,贮藏结束时较贮藏前下降了 83.92%。 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性反映线粒体的功能特性和维持细胞能量水平的能力。草莓果实采后衰老过程中 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性下降表明线粒体维持细胞能量的能力下降。

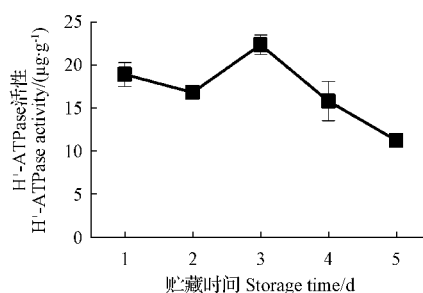


图 3 草莓果实衰老过程中 H^+ -ATPase 活性的变化

Fig. 3 The variation of H^+ -ATPase activity during the process of fruit senescence in strawberry

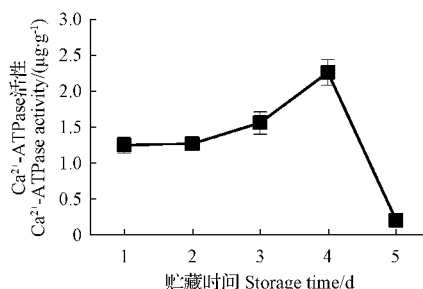


图 4 草莓果实衰老过程中 Ca^{2+} -ATPase 活性的变化

Fig. 4 The variation of Ca^{2+} -ATPase activity during the process of fruit senescence in strawberry

2.2 草莓果实采后衰老过程中能量水平的变化

由图 5 可知,在草莓果实采后衰老过程中,ATP 含量持续下降,采后 3 d 内快速下降,之后下降较缓慢;ATP 含量采后第 1 天为 $0.621 mg \cdot g^{-1}$,采后第 5 天为 $0.131 mg \cdot g^{-1}$,下降了 78.90%。ADP 含量和 AMP 含量整体均上升;ADP 含量从采后第 1~3 天缓慢下降,之后小幅上升,AMP 含量持续上升。由图 6 可知,随着果实的衰老,3 种能量组分组成的能荷在 0.57~0.85,能荷整体呈下降趋势;采后第 1 天为 0.83,采后第 5 天为 0.57,下降了 31.33%。研究表明,在草莓果实采后衰老过程中,草莓果实中线粒体中以 ATP 含量最高,ADP 含量次之,AMP 含量最低,且 ATP 含量远高于 ADP 和 AMP 含量,ATP 含量决定了草莓果实线粒体的能量水平;在草莓果实衰老期间,ATP 含量及能荷整体呈下降

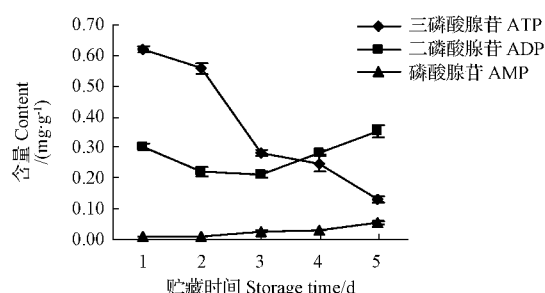


图5 草莓果实衰老过程中 ATP、ADP、AMP 含量的变化

Fig. 5 The variation of ATP, ADP, AMP contents during the process of fruit senescence in strawberry

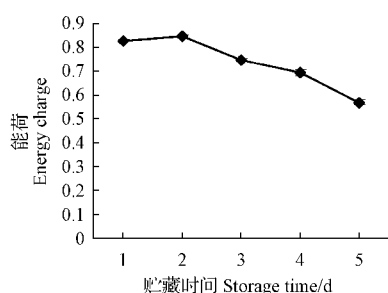


图6 草莓果实衰老过程中能荷的变化

Fig. 6 The variation of energy charge during the process of fruit senescence in strawberry

趋势,ADP 和 AMP 含量整体呈上升趋势。

3 讨论与结论

线粒体是细胞能量代谢和物质转化的中枢,是呼吸作用和能量物质 ATP 产生的重要场所,线粒体产生能量的能力随着机体的衰老而减弱,当线粒体受到损伤后,线粒体功能出现障碍,能量合成受到抑制,导致细胞能量供应不足,进而加速机体的衰亡^[12]。SDH、CCO、 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 是线粒体中重要的呼吸相关酶,其活性变化能够反映线粒体的功能特性。SDH 是线粒体内膜的结合酶,三羧酸循环顺利进行的主要酶之一,为细胞能量生成和生命活动所必需。CCO 是线粒体电子传递链末端氧化酶,主要通过氧化磷酸化为细胞提供能量,如果 CCO 缺失或其功能障碍将会导致线粒体呼吸链电子传递中断,使 ATP 生成减少,细胞生命活动所需能量供应不足;另外呼吸电子传递链障碍会导致氧化不完全也会造成活性氧生成增多,这些均可导致细胞死亡^[13-14]。 H^+ -ATPase 是细胞膜质子泵,通过把细胞质内的 H^+ 泵出膜外,产生跨膜 pH 梯度和电势梯度,在跨膜质子电动势的催化下合成 ATP^[15]。 Ca^{2+} -ATPase 是细胞器膜上的 Ca^{2+} 泵,可水解 ATP,将细胞内 Ca^{2+} 泵到细胞外,维持细胞内 Ca^{2+} 浓度,是维持细胞稳态的重要机制之一,细胞质内 Ca^{2+} 过量积累则会打破线粒体内环境平衡,导致线粒体功能障碍^[16]。

近年来开始研究园艺作物果实衰老和品质与能量的关系,如发现减压贮藏和低温预贮能较好地保持水蜜桃果实 SDH、CCO、 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 等活性,使 ATP 含量和能荷在整个贮藏期间均维持在较高水平,从而达到保鲜的作用^[17-18]。采用 1-甲基环丙烯(1-MCP)处理‘南果梨’果实通过保持较高的 ATP 含量和能荷,从而延长了‘南果梨’的货架期^[19]。以上研究表明,线粒体呼吸相关酶活性下降表示线粒体功能下降,能量合成受到抑制,导致细胞能量供应不足,进而加速机体的衰亡;且果实衰老相关的能量水平主要体现在 ATP 上。该试验在草莓果实衰老过程中,草莓果实线粒体 SDH、 H^+ -ATPase 和 Ca^{2+} -ATPase 活性均明显下降,说明草莓果实衰老过程中线粒体功能下降。草莓果实衰老过程中,ATP 含量持续下降,ADP 和 AMP 含量上升;ATP、ADP、AMP 3 种能量物质含量差异明显,其中 ATP 含量远高于 ADP 和 AMP 含量,且能荷与 ATP 协同变化。说明 ATP 含量代表了草莓果实线粒体的能量水平,并决定了能荷的大小和变化,反映了草莓果实衰老过程中能量下降的特性。以上呼吸相关酶活性及能量水平的变化表明,在草莓果实衰老过程中呼吸相关酶活性下降表示线粒体功能下降,线粒体合成 ATP 能力下降,从而导致能量水平下降和不足,是导致或加速草莓果实衰老的生理基础之一。

参考文献

- [1] 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.
- [2] 陈莲,陈梦茵,林河通,等.解偶联剂 DNP 处理对采后龙眼果实皮褐变和活性氧代谢的影响[J].中国农业科学,2009,42(11):4019-4026.
- [3] SAQUET A A,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.
- [4] 徐青,郑国琦,郑紫燕,等.枸杞果实 ATP 酶超微细胞化学定位研究[J].西北植物学报,2009,29(8):1568-1577.
- [5] 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.
- [6] 陈梦茵,林河通,洪延康,等.DNP 和 ATP 对 *Phomopsis longanae* Chi 侵染的龙眼果实病害发生、能荷状态和呼吸代谢的调控[J].现代食品科技,2015,31(5):49-58,89.
- [7] ACKRELL B A C,KEARNEY E B,SINGER T P. Mammalian succinate dehydrogenase[J]. Methods in Enzymology,1978,53:466-483.
- [8] 朱广廉.植物生理学实验[M].北京:北京大学出版社,1990:34-37.
- [9] ERREDE B,KAMEN M D,HATEFI Y. Preparation and properties of complex IV (Cytochrome c; Oxygen oxidoreductase EC 1.9.3.1)[J]. Methods in Enzymology,1978,53:40-47.
- [10] ZHANG J H,LIU Y P,PAN Q H,et al. Changes in membrane-associated H^+ -ATPase activities and amounts in young grape plants during the cross adaptation to temperature stresses[J]. Plant Science,2006,170(4):768-777.
- [11] 何龙飞,沈振国.铝胁迫对小麦根系液泡膜 ATP 酶、焦磷酸酶活性

和膜脂组成的效应[J]. 植物生理学报, 1999, 25(4): 350.

[12] HALESTRAP A, DORAN E, GILLESPIE J, et al. Mitochondria and cell death[J]. Biochem Soc Trans, 2000, 28: 170-177.

[13] 蔡琰, 余美丽, 邢宏杰, 等. 低温预贮处理对冷藏水蜜桃冷害和品质的影响[J]. 农业工程学报, 2010, 26(6): 334-338.

[14] 陈京京, 金鹏, 李会会, 等. 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): 275-280.

[15] 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.

[16] 熊杰, 冯亦璞. 丁基苯酚对线粒体呼吸链复合酶活性的影响[J]. 药理学报, 1999, 34(4): 241-245.

[17] 文烜, 宋丽丽, 廖小军. 减压贮藏技术对水蜜桃采后能量代谢的影响[J]. 农业机械学报, 2014, 45(10): 226-230.

[18] 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.

[19] 程顺昌, 魏宝东, 朱益鹏, 等. 1-MCP 和 CO₂ 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.

Dynamic Variation of Energy Metabolism During Aging Process in Strawberry Fruit

GUO Jinli, CHEN Guihua, FAN Li, ZHU Guanyu, LIU Huan, LI Lianguo

(College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010019)

Abstract: The dynamic variation of mitochondria respiratory metabolism-related enzyme activities and energy level were studied during aging process in ‘Hongyan’ strawberry fruit in order to understand the relationship between energy and aging of strawberry fruit. The results showed that, in storage process of strawberry fruit, the activities of mitochondria respiratory metabolism-related enzyme succinic dehydrogenase (SDH), H⁺-ATPase, Ca²⁺-ATPase decreased obviously, cytochrome oxidase (CCO) activity increased. ATP content decreased continuously, contents of ADP, AMP increased, contents of three energy level were different and ATP content was much higher than contents of ADP and AMP, ATP content was the dominant energy resource in fruit. Energy charge had similar trend with ATP. In conclusion, decline of activities of mitochondria respiratory metabolism-related enzyme stated the decline of mitochondria function which resulted in energy deficiency. Energy deficiency played a role in aging of strawberry fruit.

Keywords: strawberry fruit; aging; mitochondria; respiratory metabolism-related enzyme; energy

责任传媒 深度调查 专业分析 权威发布 贴心服务

《中国果业信息》2017 年征订启事

《中国果业信息》由农业部主管, 中国农业科学院柑桔研究所主办, 全国唯一一份专注水果产前、产中及产后各环节的综合指导类国家级行业大刊, 尽可能为您提供最权威、最真实、最有效的信息。一刊在手, 掌握中国果业。特色栏目有“记者调查”“产业论坛”“统计分析”“资讯·国际动态”“资讯·国内动态”“资讯·产销行情”“科技动态·技术”“科技动态·品种”“水果与健康”等, 是各级政府职能部门、水果产业技术体系专家团队等发布相关信息的有效平台, 是果品生产、加工、流通和销售企业、协会、基地等宣传展示品牌的理想窗口, 是国内外人士获取中国及全球水果生产发展、科技成果、加工销售及进出口贸易动态等信息的权威渠道, 是广大消费者科学消费、营养保健的重要参考。

月刊, 每月末出版。16 开本, 64 页。部分彩色印刷。每期定价 8 元, 全年 96 元。邮发代号 78-10, 全国各地邮局(所)均可订阅。全年均可随时汇款到编辑部邮购, 每期加收快递费 5 元。

编辑部电话: (023) 68349199

E-mail: gyxx@cric.cn QQ: 1056887528

广告部电话/传真: (023) 68349198

广告专用 E-mail: wsl@cric.cn

在线投稿网址: <http://tsg.cric.cn>

中国果业网: <http://www.zhgygy.com>

通信地址: 重庆市北碚区歇马镇柑桔研究所

邮编: 400712

收件人: 中国果业信息

开户行: 农行重庆北碚歇马支行

户名: 中国农业科学院柑桔研究所

账号: 31091201040002333 (汇款时务必写明用途和联系电话)